

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

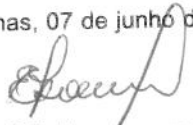
**ESTUDO DOS EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA SOBRE A QUALIDADE
MICROBIOLÓGICA, A OXIDAÇÃO LIPÍDICA E AS PROPRIEDADES
SENSORIAIS DA CARNE MECANICAMENTE SEPARADA DE FRANGO,
ARMAZENADA REFRIGERADA E CONGELADA**

Heliana de Azevedo Gomes
Bióloga (UFSCAR)
Msc. Ciência e Tecnologia de Alimentos (USP)

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por **Heliana de Azevedo Gomes**, aprovada pela Comissão Julgadora em 07 de junho de 2002.

Campinas, 07 de junho de 2002


Prof. Dr. Edir Nepomuceno da Silva
Presidente da Banca

Prof. Dr. Edir Nepomuceno da Silva
Orientador

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Doutor em Tecnologia de Alimentos.

Campinas
Estado de São Paulo – Brasil
2002

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

i
UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

UNIDADE B.2
Nº CHAMADA T/UNICAMP
G585e
V _____ EX _____
TOMBO EC/ 49896
PROC 16-837102
C _____ DX _____
PREÇO R\$ 11,00
DATA _____
Nº CPD _____

CM00170311-9

BIB ID 246945

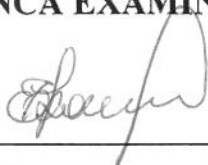
FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. – UNICAMP

Gomes, Heliana de Azevedo
G585e Estudo dos efeitos da radiação gama sobre a qualidade microbiológica, a oxidação lipídica e as propriedades sensoriais da carne mecanicamente separada de frango, armazenada refrigerada e congelada / Heliana de Azevedo Gomes. – Campinas, SP: {s.n.}, 2002.

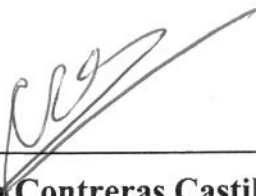
Orientador: Edir Nepomuceno da Silva
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Carne de ave. 2.Microbiologia – Alimentos. 3. Lipídios – Oxidação. 4.Avaliação Sensorial. I.Silva, Edir Nepomuceno da. II.Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos. III.Título.

BANCA EXAMINADORA



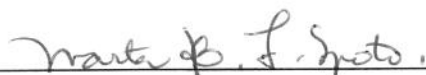
Prof. Dr. Edir Nepomuceno da Silva (Orientador)
(FEA – UNICAMP)



Dra. Carmem Josefina Contreras Castillo (Membro)
(ITAL – Campinas)

Profa. Dra. Helena Maria André Bolini Cardello (Membro)
(DEPAN – UNICAMP)

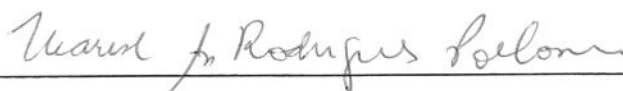
Prof. Dr. José Luiz Pereira (Membro)
(DCA – UNICAMP)



Dra. Marta Helena Fillet Spoto (Membro)
(CENA – USP)



Prof. Dr. Mauro Faber de Freitas Leitão (Membro)
(FEA – UNICAMP)



Profa. Dra. Marise Aparecida Rodrigues Pollonio (Membro)
(FEA – UNICAMP)

200231575

Ao meu filho Luiz Gustavo, minha maior riqueza,
Aos meus pais Octávio e Josefa, meus pilares,
dedico mais este degrau galgado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus por tudo.

Ao Prof. Dr. Edir Nepomuceno da Silva, pela orientação deste trabalho e confiança em mim depositados.

Ao Sr. Wilson Cervi da Costa, Chefe de Divisão do Laboratório de Poços de Caldas/CNEN, grande entusiasta pela ciência e amigo, a quem agradeço a viabilização de todas as condições de trabalho para o desenvolvimento deste estudo.

Aos técnicos Cláudio Vitor Roque, Armando Luiz Brusqui e Oswaldo Teles da Costa, do Laboratório de Ensaio Biológicos da CNEN pela amizade, companheirismo, disposição em ajudar e espírito de equipe, durante o desenvolvimento deste trabalho.

À FAPESP pelo apoio financeiro e ao CNPQ pela bolsa concedida.

À Dirce Yorika Kabuki, à Raquel Manhani, à Norma Teruko Nago Miya e à Judite das Graças Lata Guimarães pelo auxílio técnico ao longo do desenvolvimento deste estudo.

Ao Laboratório de Higiene e Legislação do Departamento de Tecnologia de Alimentos pela infra-estrutura disponibilizada.

Ao Prof. Dr. José Luiz Pereira, que gentilmente cedeu o equipamento mini VIDAS – Biomerriéux possibilitando a realização dos ensaios de enterotoxinas estafilocócicas.

À todos os funcionários da Comissão Nacional de Energia Nuclear do Laboratório de Poços de Caldas pela inestimável colaboração técnica e administrativa, sem as quais não seria possível a realização deste trabalho.

À Cooperativa Agropecuária Holambra pelas amostras de CMSF e infra-estrutura cedidas.

À Ana Paola Gonçalves dos Santos Valias, amiga e companheira nas intermináveis viagens, durante o desenvolvimento deste estudo.

Ao CENA e ao IPEN/CNEN pela cessão da fonte de ^{60}Co utilizada na irradiação das amostras de CMSF.

À Dra. Bárbara Rzycki do IPEN/CNEN pela realização da dosimetria durante a irradiação das amostras de CMSF.

À Kátia M. V. A. B. Cipolli, pesquisadora responsável pelo Laboratório de Análise Sensorial do Centro de Tecnologia de Carnes do ITAL, pela colaboração na realização da análise sensorial.

Ao Luis Gonzaga Gomes, meu marido e melhor amigo, pela ajuda nos momentos mais difíceis.

À Profa. Vera Gomes Lourenço pelas correções do Português.

Ao Prof. Gerson Mourão pela análise estatística dos resultados desse trabalho de tese.

À Profa. Dra. Hilary Menezes pela tradução de artigos para o Inglês.

À Sra. Elizena Silveira que zelou do Luis Gustavo com tanto carinho e dedicação nas minhas ausências.

À todas as pessoas que direta ou indiretamente ajudaram no desenvolvimento deste trabalho.

Muito obrigada.

ÍNDICE GERAL

INTRODUÇÃO GERAL	01
Referências Bibliográficas	06
OBJETIVOS GERAIS	09
CAPÍTULO 1	10
1. Revisão Bibliográfica	11
1.1. Carne mecanicamente separada de frango	11
1.2. Oxidação lipídica	12
1.3. Aspectos microbiológicos da carne mecanicamente separada de frango	16
1.4. Irradiação de alimentos	21
1.4.1. Considerações gerais	21
1.4.2. Aspectos microbiológicos da irradiação de alimentos	28
1.4.3. Aspectos químicos e sensorial relacionados à irradiação de carne de aves	33
Referências Bibliográficas	38
CAPÍTULO 2	54
Efeito da Radiação Gama Sobre a Qualidade Microbiológica e a Oxidação Lipídica da Carne Mecanicamente Separada de Frango, Armazenada Sob Refrigeração	55
Resumo	55
1. Introdução	55
2. Material e Métodos	57
2.1. Desenho experimental	57
2.2. Irradiação	57
2.3. Análises microbiológicas	58
2.4. Enterotoxina estafilocócica	59
2.5. Análises químicas	59
2.6. Análise estatística	60
3. Resultados e Discussão	61
3.1. Análises microbiológicas	61
3.2. Enterotoxinas estafilocócicas	65
3.3. Efeito da radiação ionizante sobre enterotoxina estafilocócica	69
3.4. Análise química	72
4. Conclusões	74
Referências Bibliográficas	75
Legendas das Figuras	81
Tabelas	84

CAPÍTULO 3	89
Effect of Gamma Radiation on Refrigerated Mechanically Deboned Chicken Meat as Determined by Sensory Analysis	90
Abstract	90
1. Introduction	90
2. Materials and Methods	92
2.1. Experimental design	92
2.2. Irradiation	92
2.3. Sensory analysis	92
2.4. Color analysis	93
2.5. Chemical analysis	93
2.6. Microbiological analysis	94
2.7. Statistical analysis	94
3. Results and Discussion	95
3.1. Sensory analysis	95
3.2. Chemical analysis	96
3.3. Color analysis	98
3.4. Microbiological analysis	99
4. Conclusions	100
References	101
Figure caption	104
Tables	109
 CAPÍTULO 4	 111
Efeitos da Radiação Gama Sobre a Qualidade Microbiológica, a Oxidação Lipídica e as Propriedades Sensoriais da Carne Mecanicamente Separada de Frango, Armazenada Refrigerada, Após Descongelamento	112
Resumo	112
1. Introdução	112
2. Material e Métodos	114
2.1. Desenho experimental	114
2.2. Irradiação	114
2.3. Análises microbiológicas	115
2.4. Análise sensorial	116
2.5. Análises químicas	117
2.6. Análise estatística	117
3. Resultados e Discussão	118
3.1. Análises microbiológicas	118
3.2. Análise sensorial	121
3.3. Análise química	123
4. Conclusões	125
Referências Bibliográficas	126
Legendas das figuras	129
Tabelas	135

CAPÍTULO 5	138
Effects of Ionizing Radiation on Mechanically Deboned	
Chicken Meat During Frozen Storage	139
Abstracts	139
Introduction	140
Materials and Methods	141
Experimental design	141
Irradiation	142
Microbiological analysis	142
Chemical analysis	143
Sensory analysis	143
Statistical analysis	144
Results and Discussion	145
Microbiological analysis	145
Chemical analysis	148
Sensory analysis	149
Conclusions	151
References	152
Figure caption	156
Tables	161
 CAPÍTULO 6	 163
Evaluation of the 2-Thiobarbituric Acid Method for the	
Measurement of Lipid Oxidation in Mechanically Deboned	
Gamma Irradiated Chicken Meat	164
Abstract	164
Introduction	164
Materials and Methods	166
Experimental design	166
Irradiation	167
TBA method analysis	167
Statistic	168
Results and Discussion	168
Conclusions	172
References	173
Figure caption	176
 CONCLUSÕES GERAIS	 180

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

- Figura 1. Valores de bactérias psicrotróficas em amostras de CMSF irradiadas ou não, ao longo do armazenamento refrigerado ($+2 \pm 1$ °C). O dia zero de armazenamento refere-se ao primeiro dia de análise após irradiação da CMSF. As barras verticais representam os valores de desvio padrão. 82
- Figura 2. Valores de TBARS em amostras de CMSF irradiadas ou não, ao longo do armazenamento refrigerado ($+2 \pm 1$ °C). O dia zero de armazenamento refere-se ao primeiro dia de análise após irradiação da CMSF. As barras verticais representam os valores de desvio padrão. 83

CAPÍTULO 3

- Figure 1. Mean values for the sensory attributes of odour and appearance in MDCM samples, irradiated or otherwise, throughout refrigerated storage ($+2 \pm 1$ °C). Vertical lines indicate standard deviation. 105
- Figure 2. Correlation between the mean values obtained to the sensory attributes of oxidized odour and TBARS mean values in MDCM samples, irradiated or otherwise, throughout refrigerated storage ($+2 \pm 1$ °C). 106
- Figure 3. Mean values for L*, a* and b* for the color of MDCM samples, irradiated or otherwise, throughout refrigerated storage ($+2 \pm 1$ °C). Vertical lines indicate standard deviation. 107
- Figure 3. Mean values for total psychrotrophic bacterial plate count in MDCM samples, irradiated or otherwise, throughout refrigerated storage ($+2 \pm 1$ °C). Vertical lines indicate standard deviation. 108

CAPÍTULO 4

- Figura 1. Valores médios de bactérias psicrotróficas em amostras **d-1** e **d-90** de CMSF, irradiadas ou não, ao longo do armazenamento refrigerado ($+2 \pm 1$ °C). O dia zero de armazenamento refere-se ao primeiro dia de análise após irradiação da CMSF. As linhas verticais indicam o desvio padrão. 130

- Figura 2. Valores médios para o atributo sensorial odor de irradiado em 131 amostras d-1 e d-90 de CMSF, irradiadas ou não, ao longo do armazenamento refrigerado ($+2 \pm 1$ °C). O dia zero de armazenamento refere-se ao primeiro dia de análise após irradiação da CMSF. As linhas verticais indicam o desvio padrão.
- Figura 3. Valores médios para o atributo sensorial odor de oxidado em 132 amostras **d-1** e **d-90** de CMSF, irradiadas ou não, ao longo do armazenamento refrigerado ($+2 \pm 1$ °C). O dia zero de armazenamento refere-se ao primeiro dia de análise após irradiação da CMSF. As linhas verticais indicam o desvio padrão.
- Figura 4. Valores médios para o atributo sensorial odor cor marrom em 133 amostras **d-1** e **d-90** de CMSF, irradiadas ou não, ao longo do armazenamento refrigerado ($+2 \pm 1$ °C). O dia zero de armazenamento refere-se ao primeiro dia de análise após irradiação da CMSF. As linhas verticais indicam o desvio padrão.
- Figura 5. Valores médios de TBARS em amostras **d-1** e **d-90** de CMSF, 134 irradiadas ou não, ao longo do armazenamento refrigerado ($+2 \pm 1$ °C). O dia zero de armazenamento refere-se ao primeiro dia de análise após irradiação da CMSF. As linhas verticais indicam o desvio padrão.

CAPÍTULO 5

- Figure 1. Mesophyllic bacteria (a) and psychrotrophic bacteria (b) in MDCM 157 samples irradiated at different doses of gamma radiation during frozen storage. The vertical lines indicate standard deviation.
- Figure 2. Fecal coliform values in non-irradiated MDCM during frozen 158 storage. The vertical lines indicated standard deviation.
- Figure 3. Values obtained from the evaluation of sensorial brown color 159 attributes in MDCM samples irradiated at different doses of gamma radiation during frozen storage. Vertical lines indicate standard deviation.
- Figure 4. Average values obtained from the evaluation of sensorial odour 160 (irradiated odour and oxidized odour) in samples of MDCM irradiated at different doses of gamma radiation during frozen storage. Vertical lines indicate standard deviation.

CAPÍTULO 6

Figure 1. Absorbance scans of the red pigment produced by the reaction of 177
thiobarbituric acid (TBA) with the TBA-reactive substances in
distilled MDCM.

Figure 2. Standard curves for the distillation of malonaldehyde and the linear 178
equation for the MDCM samples irradiated with doses of 4.0 and
5.0 kGy and non-irradiated samples.

Figure 3. K values for the MDCM samples (a) MDCM stored under 179
refrigeration ($+2 \pm 1$ °C) after 2 days frozen storage (b) MDCM
stored refrigerated ($+2 \pm 1$ °C) after 90 days frozen storage (c)
MDCM stored frozen (-18 ± 1 °C). 0.0 kGy (o), 4.0 kGy (•).

ÍNDICE DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1.	Valores de bactérias psicrotróficas obtidos em amostras de CMSF irradiadas ou não, ao longo do armazenamento refrigerado. O dia zero de armazenamento refere-se ao primeiro dia de análise após irradiação da CMSF. Os resultados estão expressos em $\log(\text{UFC}).\text{g}^{-1} \pm$ desvio padrão.	84
Tabela 2.	Valores de <i>S. aureus</i> obtidos em amostras de CMSF irradiadas ou não, ao longo do armazenamento refrigerado ($2 \pm 1^{\circ}\text{C}$). O dia zero de armazenamento refere-se ao primeiro dia de análise após irradiação da CMSF. Os valores estão expressos em $\log(\text{UFC}).\text{g}^{-1}$.	85
Tabela 3.	Linhagens de <i>Staphylococcus</i> spp. produtoras de enterotoxinas estafilocócicas, isoladas de CMSF. O dia zero de armazenamento refere-se ao primeiro dia de análise após irradiação da CMSF.	86
Tabela 4.	Resultados obtidos para a detecção de enterotoxinas estafilocócicas em CMSF irradiada ou não.	87
Tabela 5.	Valores de TBARS obtidos em amostras de CMSF irradiadas ou não, ao longo do armazenamento refrigerado. O dia zero de armazenamento refere-se ao primeiro dia de análise após irradiação da CMSF. Os valores são expressos em $\text{mg Mal.kg}^{-1} \text{ CMSF} \pm$ desvio padrão.	88

CAPÍTULO 3

Table 1.	Definitions used for evaluating the sensorial attributes in MDCM.	109
Table 2.	TBARS values of irradiated and non-irradiated MDCM samples storage under refrigeration ($+2 \pm 1^{\circ}\text{C}$). Results expressed as $\text{mg Malonaldehyde.kg}^{-1}$ of MDCM $\pm$ standard deviation.	110

CAPÍTULO 4

Tabela 1.	Definições usadas para a avaliação dos atributos sensoriais da CMSF.	135
Tabela 2.	Valores de bactérias psicrotróficas obtidos em amostras de CMSF irradiadas ou não, ao longo do armazenamento refrigerado. O dia zero de armazenamento refere-se ao primeiro dia de análise após irradiação da CMSF.	136

Tabela 3. Valores de *S. aureus* obtidos em amostras **d-1** de CMSF irradiadas 137
ou não, ao longo do armazenamento refrigerado (2 ± 1 °C). O dia
zero de armazenamento refere-se ao primeiro dia de análise após
irradiação da CMSF. Os valores estão expressos em log (UFC).g⁻¹.

CAPÍTULO 5

Table 1. Definitions used for evaluating the sensorial attributes in MDCM. 161

Table 2. TBARS values evaluated in MDCM samples during frozen storage. 162

Estudo dos Efeitos da Radiação Gama Sobre a Qualidade Microbiológica, a Oxidação Lipídica e as Propriedades Sensoriais da Carne Mecanicamente Separada de Frango, Armazenada Refrigerada e Congelada

Candidata: Msc. Heliana de Azevedo Gomes

Orientador: Prof. Dr. Edir Nepomuceno da Silva

RESUMO

A carne mecanicamente separada de frango (CMSF), vem sendo amplamente empregada em produtos cárneos tradicionais, como os embutidos emulsionados. O processo de separação mecânica provoca trituração dos ossos, liberação da medula, ruptura de células, tornando a CMSF um meio favorável a reações bioquímicas e ao desenvolvimento de microrganismos.

Dentre os processos que se têm desenvolvido visando a reduzir a carga de microrganismos deterioradores e patogênicos em alimentos, tem-se a irradiação utilizando fonte de ^{60}Co . A irradiação de alimentos apresenta como principais vantagens a possibilidade de ser efetuada em produtos já embalados e em temperaturas de refrigeração ou de congelamento, vindo ao encontro das características de perecibilidade da CMSF, a qual sendo um produto cominuído, de fácil deterioração, exige resfriamento rápido seguido de congelamento, imediatamente após a saída da linha de processamento.

O processamento com radiação ionizante provoca alterações químicas no alimento, incluindo a produção de compostos voláteis e de radicais livres. A irradiação da carne no estado congelado reduz ou elimina os efeitos sensoriais negativos deste processo.

Nesse contexto, o presente estudo foi realizado visando a avaliar os efeitos da radiação gama, doses de 3,0 e de 4,0 kGy, sobre a qualidade microbiológica, a oxidação lipídica e as propriedades sensoriais da CMSF fresca, durante armazenamento refrigerado ($2 \pm 1^{\circ}\text{C}$) e congelado ($-18 \pm 1^{\circ}\text{C}$).

Os resultados mostraram que a irradiação da CMSF aumentou a vida útil dessa matéria prima armazenada sob refrigeração, em relação às amostras não irradiadas. Uma vez que a dose de 3,0 kGy produziu aumento na vida útil da CMSF refrigerada, maior ou igual ao observado para as amostras irradiadas com 4,0 kGy, esta dose foi considerada a mais adequada para irradiar essa matéria prima. A CMSF irradiada foi classificada como inteiramente aceitável até 90 dias de armazenamento congelado em relação à qualidade microbiológica, a oxidação lipídica e as propriedades sensoriais, enquanto que, foram detectadas amostras de CMSF não irradiadas inaceitáveis em relação à ocorrência de *S. aureus* e coliformes fecais, até 30 dias de armazenamento congelado. O processo de irradiação produziu compostos voláteis característicos, percebidos como odor de irradiado. Estes foram dissipados da CMSF ao longo do armazenamento refrigerado e congelado. Para a CMSF não irradiada a principal variável que limitou sua vida útil foi a contaminação bacteriana, enquanto que, para as amostras de CMSF irradiadas, o principal fator limitante foi a oxidação lipídica.

Study of the effects of gamma radiation on the microbiological quality, lipid oxidation and sensory properties of mechanically deboned chicken meat throughout refrigerated and frozen storage.

Candidate: Msc. Heliana de Azevedo Gomes

Advisor: Prof. Dr. Edir Nepomuceno da Silva

ABSTRACT

Mechanically deboned chicken meat (MDCM) is widely used in traditional meat products such as sausages. The process of mechanical separation results in grinding of the bones, liberating the marrow and rupturing cells, thus making the MDCM a favorable medium for biochemical reactions and microbiological growth.

Irradiation using a Co^{60} source is one of the processes which has been developed aimed at reducing contamination by spoilage and pathogenic microorganisms in foods. The main advantages of food irradiation are the possibilities of treating the already packaged products at refrigerated and frozen temperatures, ideal for a highly perishable product such as MDCM, which, being a ground, easily spoiled product, requires rapid cooling followed by freezing, immediately after processing.

Processing with ionizing radiation results in chemical alterations in the food, including the production of volatile compounds and free radicals. Irradiation of meat in the frozen state reduces or eliminates the negative sensory effects of this process.

In this context, this study aimed at evaluating the effects of gamma radiation at doses of 3.0 and 4.0 kGy, on the microbiological quality, lipid oxidation

and sensory properties of MDCM, at the refrigerated ($2 \pm 1^{\circ}\text{C}$) and frozen ($-18 \pm 1^{\circ}\text{C}$) storage.

The results showed that irradiation increased the shelf life of this raw material when stored under refrigeration, as compared to non-irradiated samples. Since doses of 3.0 kGy produced increases in the shelf life of refrigerated MDCM equal or greater than those produced by doses of 4.0 kGy, this dose was considered the most adequate for the irradiation of this raw material. According to the results of microbiological, chemical and sensorial testing in irradiated MDCM samples with doses of 3.0 kGy and 4.0 kGy, the material studied presented conditions that were adequate for human consumption during the 90 days of frozen storage, whereas samples of non-irradiated MDCM were shown to be unacceptable with respect to the occurrence of *S. aureus* and fecal coliforms after only 30 days of frozen storage. The irradiation process produced characteristic volatile compounds, perceived as irradiation odor. These were lost from the MDCM during refrigerated and frozen storage. For the non-irradiated MDCM samples, bacterial contamination was the main limiting factor with respect to the shelf life, whereas for the irradiated MDCM samples this factor was lipid oxidation.

INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil ocupa posição de destaque no cenário mundial de produtos aviários, já que, no ano de 2001, sua produção foi 6.563.960 toneladas de carne de frango, ficando atrás apenas dos Estados Unidos da América (FACTA, 2002). O abate e o processamento de frangos geram subprodutos como dorso, pescoço, ossos de coxa e caixa torácica, ainda com quantidade significativa de carne, impossível de ser retirada manualmente de forma econômica. Estas partes, que representam cerca de 24 % da parte comestível da carcaça, têm sido submetidas à separação mecânica da carne remanescente (Giddings & Marcotte, 1991; Xavier & Beraquet, 1994). O produto resultante do processo, ou seja, a carne mecanicamente separada de frango (CMSF), vem sendo amplamente empregada em produtos cárneos tradicionais, como os embutidos emulsionados, em substituição às matérias-primas cárneas de custo mais elevado. A legislação brasileira, recentemente publicada, permite que mortadela e salsicha contenham até 60 % de CMS em sua composição, enquanto que a lingüiça poderá conter no máximo 20 % de CMS (Brasil, 2000). O processo de separação mecânica provoca a trituração dos ossos, a liberação da medula, a ruptura de células, tornando a CMSF um meio favorável a reações bioquímicas e ao desenvolvimento de microrganismos, inclusive os patogênicos (Froning, 1976 e Xavier & Beraquet, 1994). A utilização da CMSF em produtos emulsionados de ampla aceitação no mercado constitui um aspecto sócio-econômico importante. Portanto, estudos de processos abordando a estabilidade da CMSF durante armazenamento podem constituir conhecimento tecnológico para a melhoria do uso e aplicação desta matéria-prima.

A relevância de estudos acerca das características microbiológicas da CMSF, na área de tecnologia de alimentos, está intimamente relacionada ao

desenvolvimento e à utilização de processos que controlem a carga microbiana total, bem como os patógenos de origem alimentar, a níveis seguros para o consumidor.

Dentre os processos que se têm desenvolvido visando a reduzir a carga de microrganismos deterioradores e patógenos em alimentos, tem-se a irradiação utilizando fonte de ^{60}Co . A irradiação de alimentos apresenta como principais vantagens a possibilidade de ser efetuada em produtos já embalados (o que evita sua recontaminação) e em temperaturas de refrigeração ou de congelamento. Deste modo, esse tipo de processamento pode tornar-se adequado para o controle de microrganismos na CMSF já que as vantagens do processo de irradiação vêm ao encontro das características de perecibilidade do referido alimento que, sendo um produto cominuído, de fácil deterioração, exige resfriamento rápido seguido de congelamento, imediatamente após a saída da linha de processamento.

Inúmeras pesquisas acerca de processos, visando a estender a vida de prateleira da carne de frango e da carne fresca pré-embalada, foram iniciadas no final da segunda guerra mundial. Entretanto, os estudos relativos à irradiação de produtos aviários foram mais impulsionados a partir de 1990, quando o “Food and Drug Administration” dos Estados Unidos (E.U.A.) aprovou a irradiação de alimentos para o controle de patógenos de origem alimentar em aves e, quando em 1992, seu Departamento de Agricultura aprovou o controle de microrganismos pela irradiação de carcaças inteiras ou partes de aves cruas desossadas, mecanicamente separadas, refrigeradas ou congeladas (Pszczola, 1993 e Thayer, 1993).

O processamento com radiação ionizante poderá viabilizar a produção de alimentos adequados ao consumo humano, em relação aos microrganismos causadores de doenças de origem alimentar comumente envolvidos em surtos, que podem estar presentes em CMSF, a exemplo de *Salmonella* spp., de *Staphylococcus aureus* e de *Clostridium perfringens*.

O número de bactérias reconhecidas como causadoras de doença de origem alimentar tem aumentado nos últimos anos. Este incremento tem sido atribuído a fatores, como a produção e o processamento de alimentos em massa, confinamento dos animais usados para consumo humano, migração urbana de pessoas, aumento no tráfego internacional de alimentos e rações, bem como a maior poluição ambiental. A emergência destes patógenos tem aumentado o interesse no uso da irradiação como um processo de preservação na indústria de alimentos.

No Brasil, o regulamento técnico para a irradiação de alimentos foi recentemente publicado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária: resolução n.º 21, de 16 de janeiro de 2001. De acordo com tal resolução, “qualquer alimento poderá ser tratado por radiação desde que sejam observadas as seguintes condições: a dose mínima absorvida deve ser suficiente para alcançar a finalidade pretendida e a dose máxima absorvida deve ser inferior àquela que comprometeria as propriedades funcionais e ou os atributos sensoriais do alimento” (Brasil, 2001).

Atualmente, o Brasil conta com quatro irradiadores de alimentos de ^{60}Co em funcionamento e mais três irradiadores em fase de licenciamento pela Comissão Nacional de Energia Nuclear. De acordo com Paulinelli (citado por Giurliani, 1996), no Brasil, as empresas exportadoras de carne bovina, suína e de frango deverão ser as primeiras a adotar a irradiação por dois fatores: trabalham com grandes volumes de produção, o que torna o investimento compensador e se preocupam com a qualidade, condição indispensável para a exportação.

Assim como outros tipos de processamento, a irradiação provoca alterações químicas no alimento, incluindo a produção de compostos voláteis e de radicais livres. A irradiação da carne no estado congelado reduz ou elimina os efeitos sensoriais negativos deste processo, principalmente aqueles associados com a produção de “off-flavour”, odor de irradiado e formação de radicais livres. Os radicais livres também são catalisadores da oxidação lipídica que é uma das principais causas da deterioração da qualidade de produtos cárneos crus ou cozidos,

durante o armazenamento refrigerado ou congelado (Shahidi, 1997). A oxidação lipídica torna-se mais importante quando o produto contém ácidos graxos polinsaturados. A gordura presente na CMSF é rica em ácidos graxos poliinsaturados pela presença de fosfolipídeos, aportados de fração da medula óssea e da medula espinhal que a acompanha. O ferro hemínico de mesma procedência constitui um catalisador da oxidação. Enfim, a cominuição durante o processo de extrusão provoca mistura de oxigênio com a CMSF, tornando-se o principal fator envolvido com o desenvolvimento de “off flavour” e alteração de cor durante o armazenamento (Froning, 1976; Paquin, 1985; Pollonio, 1994 e Kannatt et al., 1997).

Alguns estudos têm abordado a sensibilidade de patógenos de origem alimentar à radiação gama em CMSF esterilizada (Thayer et al., 1991, Thayer & Boyd, 1992, Thayer et al, 1995). Entretanto, são limitadas as informações acerca dos efeitos da radiação gama sobre a microbiota presente nessa matéria-prima (Paquin, 1985, Gallien et al., 1983), bem como estudos sobre a estabilidade da CMSF irradiada, enfatizando-se as alterações lipídicas (Kannatt et al., 1997).

Na França, a irradiação de CMSF congelada está implementada em escala industrial, havendo instalações que irradiam somente essa matéria-prima. Entretanto, faltam estudos acerca de suas características microbiológicas, sensoriais, cor e as alterações lipídicas ao longo do armazenamento congelado e refrigerado. Tais estudos, além de contribuir para avaliar a viabilidade de utilização da CMSF irradiada em formulações crus, uma vez que o processo poderá assegurar uma matéria-prima livre de patógenos, também são de crucial importância para a segurança na cadeia produtiva industrial. Eles poderão prever possíveis alterações na CMSF irradiada, armazenada sob congelamento, frente a variações de temperatura, quando ocorre alguma falha durante transporte, armazenamento ou na produção de alimentos que contenham essa matéria-prima.

No presente trabalho, os itens referentes à Introdução Geral, Objetivos Gerais, Revisão Bibliográfica e Conclusões Gerais estão formatados de acordo com

as normas do curso de pós-graduação em Tecnologia de Alimentos do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos – UNICAMP. Alguns capítulos que compõem este trabalho de Tese de Doutorado estão formatados nos padrões para publicação de revistas científicas:

- Capítulo 2: Meat Science;
- Capítulo 3: Food Control;
- Capítulo 4: Food Control;
- Capítulo 5: Celular and Molecular Biology;
- Capítulo 6: Food Chemistry.

O capítulo 2 aborda os efeitos da radiação ionizante sobre a qualidade microbiológica e a oxidação lipídica da CMSF armazenada sob refrigeração, enquanto o capítulo 3, enfatiza as propriedades sensoriais da CMSF irradiada, ao longo do armazenamento refrigerado. Já o capítulo 4, avalia os efeitos da radiação ionizante sobre a CMSF para amostras irradiadas congeladas. Parte dessas amostras foi descongelada após um dia e o outro grupo após 90 dias. Em seguida, a CMSF foi mantida sob refrigeração e avaliada em relação a todas as variáveis acima citadas. Por outro lado, o capítulo 5 visa a avaliar os efeitos da radiação gama sobre algumas características da CMSF, armazenada sob congelamento. Finalmente, o capítulo 6 faz referência ao método do ácido tiobarbitúrico, utilizado para avaliar o estado de oxidação lipídica da CMSF em todos os experimentos realizados no presente estudo.

Referências Bibliográficas

1. BRASIL. Instrução normativa n ° 4 de 31 de março de 2000. **Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de carne mecanicamente separada de aves, bovinos e suínos (Diário Oficial da União de 5 de abril de 2000)**. Brasília, Imprensa Oficial da União. 2000.
2. BRASIL. Resolução-RDC n.º 21 de 26 de janeiro de 2001. **Regulamento técnico para irradiação de alimentos (Diário Oficial da União de 29 de janeiro de 2001)**. Brasília, Imprensa Oficial da União. 2001.
3. FUNDAÇÃO APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS. Comunicação pessoal. 2002.
4. FRONING, G. W. Mechanically deboned poultry meat. **Food Technology**, v. 30, n. 9, p. 50-63, 1976.
5. GALLIEN, C. L.; PAQUIN, J.; SADAT-SHAFAI, T. Use of electron beams for decontamination of mechanically separated poultry meat. **Radiation Physical Chemistry**, v. 22, n. 3/5, p. 759-763, 1983.
6. GIDDINGS, G. G. & MARCOTTE, M. Poultry irradiation: for hygiene/safety and market-life enhancement. **Food Reviews International**, v. 7, n. 3, p. 259-282, 1991.
7. GIURLIANI, S. Minas investe na irradiação de alimentos. **Brasil Nuclear**, v. 3, n. 10, p. 12-16, julho/setembro, 1996.
8. KANATT, S. R.; PAUL, P.; SOUZA, S. F.; THOMAS, P. (1997). Effect of gamma irradiation on lipid peroxidation in chicken lamb and buffalo meat during chilled storage. **Journal Food Safety**, v. 17, n. 4, p. 283-294, 1997.

9. PAQUIN, M. (1985). Resultats de L' irradiation des viandes separees mecaniquement. **RTVA**, p. 43-46, 1985.
10. POLLONIO, M.A.R. **Estudo das propriedades funcionais das proteínas miofibrilares e oxidação lipídica de carne de frango mecanicamente desossada**, Campinas, 1994. 141 pp. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – FEA, UNICAMP.
11. PSZCZOLA, D. Irradiated poultry makes U.S. debut in midwest and Florida markets. **Food Technology**, p. 89-96, 1993.
12. SHAHIDI, F. **Flavor of meat and meat products**. London: BAP. 1997.
13. THAYER, D. W. Extending shelf life of poultry and red meat by irradiation processing. **Journal Food Protection**, v.56, n. 10, p. 831-833, 1993.
14. THAYER, D. W. & BOYD, G. Gamma ray processing to destroy *Staphylococcus aureus* in mechanically deboned chicken meat. **Journal of Food Science**, v. 57, n. 4, p. 848-851, 1992.
15. THAYER, D. W.; SANGPRASERTCHAI, S.; BOYD, G. Effects of heat and ionizing radiation on *Salmonella typhimurium* in mechanically deboned chicken meat. **Journal of Food Protection**, v. 54, n. 9, p. 718-724, 1991.
16. THAYER, D. W.; BOYD, G.; HUHTANEN, C. N. Effects of ionizing radiation and anaerobic refrigerated storage on indigenous microflora, *Salmonella* and *Clostridium botulinum* types A and B in vacuum-canned, mechanically deboned chicken meat. **Journal Food Protection**, v. 58, n. 7, p. 752-757, 1995.

17.XAVIER, C. V. A. & BERAQUET, N. J. Vida de prateleira de carne mecanicamente separada de frango estocada sob refrigeração, **Coletânea do Instituto Tecnologia Alimentos**, v. 24, n.1, p. 91-104, 1994.

OBJETIVOS GERAIS

Os objetivos gerais do presente estudo são:

1. Estudar algumas características da Carne Mecanicamente Separada de Frango (CMSF) quanto ao efeito da radiação gama sobre a qualidade microbiológica, a oxidação lipídica e as propriedades sensoriais da CMSF, durante armazenamento refrigerado e congelado;

2. Avaliar o método do ácido tiobarbitúrico para a determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico em CMSF gama irradiada, armazenada refrigerada e congelada.

CAPÍTULO 1

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1. Carne mecanicamente separada de frango

A crescente comercialização de frangos em pedaços aumentou a oferta de subprodutos, tais como dorso, pescoço, ossos de coxa e caixa torácica, ainda com quantidade significativa de carne, impossível de ser retirada manualmente de forma econômica. Estas partes, representam cerca de 24 % da porção comestível da carcaça, têm sido submetidas à separação mecânica da carne remanescente, aumentando a utilização de carne de aves em produtos processados (Froning, 1976; Giddings & Marcotte, 1991 e Xavier & Beraquet, 1994). Este processo de separação mecânica provoca a trituração dos ossos e conseqüente liberação da medula, rompendo células e tornando a carne mecanicamente separada de frango (CMSF) um meio favorável a reações químicas e ao desenvolvimento de microrganismos, inclusive os patogênicos. Sendo assim, recomenda-se que a desossa e a cominuição devem ocorrer preferencialmente abaixo de 10 °C, para reduzir as possibilidades de crescimento microbiano (ICMSF, 1980).

O Brasil apresenta potencial para a produção de mais de 200 mil toneladas de CMSF ao ano, entretanto, somente recentemente foi publicado pelo Ministério da Agricultura, o regulamento técnico para a fixação de identidade e qualidade de carne mecanicamente separada de aves, bovinos e suínos. De acordo com esse regulamento, entende-se por “carne mecanicamente separada de frango a carne obtida por processo mecânico de moagem e separação de ossos de animais de açougue, destinada à elaboração de produtos cárneos específicos” (Brasil, 2000).

As variações na composição de CMS de aves estão intimamente relacionadas a fatores como: idade da ave, relação carne/ossos, corte, máquina de desossa, conteúdo de pele e desnaturação protéica (Froning, 1976). De acordo com diferentes autores, a composição centesimal da CMSF pode variar de 60,05 a 69,89

% de umidade, 8,5 a 25,0 % de proteína, 6 a 30,42 % de gordura e 0,62 a 1,5 % de cinzas (Dhilon & Maurer, 1975; Froning, 1976; Paquin, 1985; Ang, 1986; Thayer et al., 1991; Pollônio, 1994 e Thayer et al., 1995).

Satterlee et al. (1971) pesquisaram a influência da quantidade de pele sobre a composição da CMSF, sendo observado que a gordura da pele passa através da rosca junto com a carne, enquanto que a maior parte da proteína da pele, o colágeno, não passa pela rosca, mas é lançada junto com o resíduo de ossos. Sendo assim, a carne de dorso, contendo grande quantidade de pele, poderá apresentar características emulsificantes reduzidas, devido a seu alto teor em gordura e baixo conteúdo em proteínas.

Sob condições de refrigeração, a vida de prateleira de carne fresca é limitada pelo crescimento de microrganismos deterioradores psicrotróficos aeróbios. Problemas relacionados à oxidação lipídica têm importância, já que estão relacionados ao “flavour” de deterioração, afetando a aceitabilidade da carne armazenada (Kanatt et al., 1997).

1.2. Oxidação lipídica

Problemas de cor e de “flavour” da CMS de aves têm sido enfatizados em inúmeros estudos. O oxigênio é misturado com a CMSF durante o processo de extrusão e a oxidação torna-se o principal fator envolvido com o desenvolvimento de “off flavour” e alteração de cor durante o armazenamento. Além da incorporação de oxigênio, a desossa mecânica libera componentes lipídicos e heme da medula óssea que são misturados junto com a CMSF. As hemeproteínas têm sido consideradas os biocatalisadores predominantes na oxidação lipídica de CMSF (Lee et al., 1975). Pollonio (1994) verificou que o ferro hemínico foi o principal responsável pelo processo de oxidação lipídica em amostras de CMSF, armazenadas cruas e congeladas. Na CMSF, devido à incorporação de medula óssea, o principal pigmento presente é a hemoglobina (Froning, 1976 e Pollonio, 1994).

As operações, como desossa mecânica, rompem a estrutura das membranas, facilitando a liberação de ferro. Sob tais condições, o oxigênio pode reagir diretamente com o íon ferroso na carne e ativar o oxigênio a um radical superóxido, altamente reativo (*O_2) (Ahn et al., 1993).

A autoxidação dos lipídeos em produtos cárneos envolve a peroxidação de ácidos graxos insaturados, em particular daqueles associados com fosfolipídeos localizados nas membranas celulares. A suscetibilidade ao processo oxidativo depende da capacidade dos ácidos graxos doarem um átomo de hidrogênio, com produção de um radical livre de lipídeo que, por sua vez, reage com oxigênio molecular para formar um radical peróxi. Assim, os átomos de carbono adjacentes às duplas ligações tendem a doar um átomo de hidrogênio, levando à formação de radicais estabilizados por ressonância (Halliwell & Gutteridge, 1990). Uma vez que a autoxidação dos lipídeos procede via mecanismo de cadeia de radicais livres é catalisada por muitos fatores, tais como: presença de calor, luz, radiação ionizante, íons metálicos e metaloporfirinas (Shahidi, 1997).

Abaixo são relacionadas as principais etapas envolvidas na autoxidação lipídica, de acordo com Shahidi (1997):

Iniciação



Propagação



Terminação



Os produtos primários da autoxidação lipídica são hidroperóxidos, os quais não causam problemas de “flavour” e de ranço. Entretanto, a decomposição de tais hidroperóxidos em produtos secundários como hidrocarbonetos, alcoóis, cetonas e aldeídos influenciam significativamente o “flavour” e sabor das carnes. Dependendo da composição dos ácidos graxos nos lipídeos, a proporção desses produtos de oxidação irá variar extensivamente (Gray, 1978).

Moerk & Ball (1974) realizaram pesquisa a fim de avaliar a autoxidação lipídica em CMSF, durante armazenamento por 15 dias a 4 °C. Os resultados mostraram que, aparentemente, não ocorreu oxidação nos triglicerídeos insaturados, os quais compreenderam 92,6 % do total de lipídeos na CMSF. Por outro lado, houve considerável deterioração de ácidos graxos polinsaturados fosfolipídicos. Os fosfolipídeos representaram 1,4% da fração lipídica total.

Pikul & Kummerow (1991) verificaram que fosfolipídeos presentes em ácidos graxos, contendo quantidades elevadas de ácidos graxos polienóicos, aparentemente são os principais responsáveis pela geração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em fígado, coração e plasma de frango.

O malonaldeído é produto da decomposição dos peróxidos lipídicos nas carnes e tem sido extensivamente estudado e sua determinação, utilizada como medida do estado de oxidação lipídica em carnes. Uma vez que geralmente está ligado a material biológico, deve ser submetido a tratamento ácido antes de sua determinação. A reação rósea entre o ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) e o malonaldeído tem absorbância máxima à 532 nm.

Devido a sua simplicidade, aceitabilidade e boa correlação com a análise sensorial, o teste do TBA permanece o procedimento mais difundido para a estimativa do estado de oxidação da carne e produtos cárneos (Shahidi, 1997). O

teste do TBA, realizado com o procedimento de destilação, é considerado ser mais sensível e também mais adequado para amostras ricas em gordura (>10 %), onde pode ocorrer turbidez em extratos de amostras (Shahidi & Hong, 1991 e Fernández et al., 1997).

Diferentes métodos para a detecção do malonaldeído têm sido propostos, os quais apresentam maior especificidade do que o teste de TBA espectrofotométrico, entretanto, também apresentam limitações. O método utilizando HPLC (cromatografia líquida de alta performance) tem mostrado maior especificidade em relação ao malonaldeído do que o teste espectrofotométrico de Tarladgis et al. (1960), entretanto, é mais demorado para ser realizado e também mais caro, uma vez que a vida útil da coluna é limitada.

Métodos utilizando cromatografia gasosa (CG) podem apresentar maior eficiência na separação do malonaldeído do que o HPLC. Entretanto, assim como os métodos que utilizam HPLC, requerem um tempo relativamente longo para preparação das amostras, o qual chega a mais de vinte e quatro horas. Os métodos de TBA muitas vezes são preferidos ao invés dos métodos cromatográficos, devido à sua simplicidade e rapidez, especialmente quando um grande número de amostras é analisado num curto período de tempo, como no caso de análises diárias (Raharjo & Sofos, 1993).

Como enfatizado anteriormente, o calor catalisa as reações de oxidação lipídica, além de acelerar o desenvolvimento microbiano. Deste modo, recomenda-se que, “a carne mecanicamente separada não utilizada diretamente como ingrediente de um produto cárneo, logo após o processo de separação, deverá ser refrigerada a uma temperatura não superior a +4 °C por, no máximo 48 horas. No caso de congelamento, a CMSF deve ser mantida em temperatura não superior a – 18°C, por período máximo de 90 dias” (Brasil, 2000).

1.3. Aspectos microbiológicos da carne mecanicamente separada de frango

A redução na temperatura de armazenamento, aumenta a vida de prateleira em termos de qualidade microbiológica da CMSF, já que a maior parte dos patógenos não cresce abaixo de 6 °C (ICMSF,1996).

Os microrganismos presentes na CMSF são determinados primariamente pela microbiota que está presente sobre a carcaça inteira. As *Pseudomonas* psicrótróficas são a principal causa de deterioração de carcaças de aves armazenadas resfriadas e embaladas em filmes permeáveis ao oxigênio (ICMSF, 1980). Russell et al. (1996) conduziram estudo para identificar as bactérias responsáveis pela deterioração de carcaças de frango fresco e verificaram que as espécies bacterianas mais comumente isoladas foram *Shewanella putrefaciens* A, B e D, *Pseudomonas fluorescens* A e B, *P. putida*, *P. fragi*, *Enterococcus faecalis* e *E. faecium*. Outras bactérias isoladas, com menor frequência, das carcaças deterioradas, foram *Acinetobacter* spp., *Aeromonas* spp. e *Alteromonas* spp.

O regulamento técnico para a CMSF (Brasil, 2000) não prevê limite para a contagem total de bactérias mesófilas. Entretanto, de acordo com São Paulo (1992) as carnes em geral incluindo aves podem apresentar valores máximos para contagem padrão em placas de 3×10^6 unidades formadoras de colônia (UFC).g⁻¹, enquanto os valores de coliformes fecais não devem ultrapassar 3×10^2 número mais provável (NMP).g⁻¹. Testes utilizando indicadores fecais tais como a *Escherichia coli*, coliformes fecais e Enterobacteriaceae podem avaliar a quantidade de material fecal presente na carcaça de aves. Desde que a superfície das aves invariavelmente contém tais microrganismos, existe pequena correlação entre sua ocorrência e a de patógenos, como a *Salmonella* spp.. Sendo assim, testes diretos para patógenos de interesse são mais indicados (ICMSF, 1980).

Dentre os patógenos freqüentemente associados à carne de aves, incluindo a CMSF, tem-se a *Salmonella* spp., o *Clostridium perfringens* e o

Staphylococcus aureus (Mulder & Dorresteyn, 1975 e ICMSF, 1980). De acordo com Brasil (2000), os três microrganismos patogênicos supra-citados devem ter suas populações controladas na CMSF, de modo que, os valores máximos permitidos para *Salmonella*, *S. aureus* e *C. perfringens* são, respectivamente: $n = 5, c = 2$ em 25 g; $n = 5, c = 2, M = 5 \times 10^3$ (UFC).g⁻¹ e $n = 5, c = 2, M = 1 \times 10^3$ UFC.g⁻¹.

O *S. aureus*, microrganismo que pode estar presente colonizando pele e mucosas do Homem e animais, incluindo as aves, pode produzir enterotoxinas termoestáveis e causar intoxicação alimentar humana.

Até o momento, são conhecidos nove tipos de enterotoxinas estafilocócicas imunologicamente distintas, as quais foram denominadas de enterotoxina estafilocócica A (EEA) (Casman, 1960), EEB (Bergdoll et al., 1959), EEC₁, EEC₂ (Bergdoll et al., 1965), EEC₃ (Reiser et al., 1984), EED (Casman et al., 1967), EEE (Bergdoll et al., 1971), EEG (Betley et al., 1992), EEH (Su & Wong, 1995) e “TSTS”-1, associada à síndrome do choque tóxico (Schlievert et al., 1981) e não considerada como uma enterotoxina.

A quantidade de enterotoxinas presente nos alimentos envolvidos em surtos de intoxicação alimentar estafilocócica pode variar consideravelmente, de menos de 1 ng.g⁻¹ a mais de 1 µg.g⁻¹ (Bergdoll, 1990). De acordo com a literatura, valores entre 94 – 187 ng de enterotoxina foram suficientes para causar a doença em crianças, após a ingestão de leite achocolatado contaminado por enterotoxina estafilocócica do tipo A (Evenson et al., 1988). O número de *S. aureus* necessário para produzir enterotoxina em níveis detectáveis no alimento não é conhecido, mas a melhor estimativa aponta para valores entre 10⁶ a 10⁷ UFC.g⁻¹ de alimento (Bergdoll, 1992).

Estudos têm mostrado que os dedos das depenadeiras em linhas de abate de aves são locais preferenciais para o crescimento de linhagens endêmicas de *S. aureus* e *Staphylococcus* coagulase negativos e essas linhagens têm-se mostrado até

oito vezes mais resistentes ao cloro do que linhagens isoladas da flora natural da pele de aves. (Notermans et al., 1982; Dodd et al., 1988; Bolton et al., 1988; Purdy et al., 1988 e Mead & Scott, 1994).

De acordo com Herten et al. (1989), a produção de enterotoxina por *S. aureus* parece ser mais influenciada pela temperatura do que pela competição bacteriana. Estes autores verificaram que, em temperatura de 37 °C, enterotoxina estafilocócica foi produzida em carne de frango, quando a população de *S. aureus* atingiu 6×10^6 a 2×10^7 UFC.g⁻¹, na presença de outros organismos deterioradores em números similares. Os *S. aureus* procedentes de equipamentos em linhas de abate de aves e de carne tem mostrado produzir enterotoxinas (Isigigi et al., 1992).

A ocorrência de *S. aureus* enterotoxigênico procedente de carcaças de frango e de plantas de processamento dispõe de ampla divulgação científica (Gibbs et al., 1978; Gibbs et al., 1978a; Gibbs & Patterson, 1978; Shiozawa et al., 1980; Raska et al., 1981; Harvey et al., 1982 e Evans et al., 1983), ainda que faltem trabalhos referentes à CMSF. As linhagens de *S. aureus* produtoras de enterotoxina estafilocócica do tipo A e do tipo D têm sido mais comumente isoladas a partir de carcaças de frango e de abatedouros de aves (Gibbs et al., 1978; Harvey et al., 1982; Raska et al., 1981 e Shiozawa et al., 1980).

Linhagens atípicas de *S. aureus* também podem apresentar produção de enterotoxinas. Evans et al. (1983) demonstraram que, de um total de 20 linhagens atípicas de *S. aureus* (a maioria apresentava reação fraca ou negativa para o teste de coagulase, não fermentava o manitol anaerobicamente, mas produzia termonuclease), isoladas a partir de frangos apresentando necrose na cabeça do fêmur, 3 (15%) foram capazes de produzir enterotoxina. Destas, uma produziu enterotoxina A, enquanto as outras duas linhagens produziram enterotoxina estafilocócica D.

A literatura tem notificado a produção de enterotoxinas por diferentes espécies de estafilococos coagulase negativas, tais como: *S. lentus*, *S. xylosus*, *S. sciuri*, *S. hyicus*, e *S. chromogenes*, que são freqüentemente encontradas em aves (Devriese et al., 1985; Valle et al., 1990 e Vernozzy-Rozand, 1996). Estudos recentes têm demonstrado que linhagens de *Staphylococcus* coagulase negativas são capazes de crescer e produzir enterotoxina, tanto em meios de cultivo laboratoriais, bem como no próprio alimento (Pereira, 1996, Oliveira, 1999). Crass & Bergdoll (1986) descreveram uma linhagem coagulase negativa isolada de frango, responsável por um surto de intoxicação alimentar devido à produção de enterotoxina A.

A carne de aves, estando comumente contaminada por *S. aureus*, tem sido associada a incidentes de envenenamento alimentar estafilocócico em todo o mundo (Halpin-Dohnalek & Marth, 1989).

De acordo com Alkanahl & Gasim (1993), durante o período de 1982-1986, 90 surtos e 1531 casos de doenças de origem alimentar foram notificados na Arábia Saudita. A carne de frango esteve entre os alimentos mais freqüentemente associados ao envenenamento alimentar, representando 22,2% dos incidentes. O *S. aureus* foi o agente suspeito da maioria dos incidentes, superando *Salmonella* spp. Wieneke et al. (1993) avaliaram 359 surtos e casos esporádicos de intoxicação alimentar estafilocócica no reino unido, durante o período de 1969 a 1990. Os resultados mostraram que a carne bovina, a carne de aves e seus produtos foram veículos da doença em 75 % dos incidentes, sendo o presunto e a carne de frango os alimentos mais freqüentemente implicados.

Atualmente, a *Salmonella* spp. é um dos microrganismos mais freqüentemente envolvidos em casos e surtos de doenças de origem alimentar em diversos países, inclusive no Brasil. Na Inglaterra e países vizinhos, 90 % dos casos são causados por *Salmonella*. Nos Estados Unidos, Canadá e Japão dados indicam que os relatos de ocorrência de salmonelose de origem alimentar aumentam a cada ano (Franco & Landgraf, 1996).

A *Salmonella* reside no trato intestinal de animais infectados de modo que, entre os animais, as aves são o reservatório mais importante. As carcaças de frango são freqüentemente contaminadas com *Salmonella*, que atinge as carcaças a partir do trato intestinal ou material fecal presente nas penas e depenadeiras. Alguns pontos críticos durante abate de aves estão envolvidos com o problema de contaminação cruzada, tais como as etapas de depenagem, evisceração e resfriamento. A contaminação cruzada dos manipuladores, equipamentos e utensílios podem disseminar a bactéria para carcaças e partes não contaminadas e continuam a ocorrer, durante as outras etapas do processamento e preparo do alimento (ICMSF, 1996). Inúmeros surtos de toxinfecção alimentar causados por *Samonella* são conhecidos, envolvendo os mais variados tipos de alimentos. Verifica-se, no entanto, que a carne de aves e outros tipos de carne são os mais freqüentemente envolvidos (Franco & Landgraf, 1996). Lotes de CMSF têm apresentado até 20 % de rejeição devido à contaminação por *Salmonella* (Giddings & Marcotte, 1991).

Muitos sorotipos são adaptados ao homem, a exemplo da *S. typhi*, *S. paratyphi* A, *S. paratyphi* C e *S. senday* causando a síndrome da septicemia tifóide em seres humanos. Outros sorotipos, entretanto, causam gastroenterite no Homem, de modo que os sorotipos envolvidos variam geograficamente e ao longo do tempo. No Reino Unido, Estados Unidos e Brasil a *S. enteritidis* é o sorotipo dominante responsável pela doença, sendo que os ovos e aves são considerados os principais transmissores deste sorotipo para o Homem (Cooke, 1990 e ICMSF, 1996). Em relação à patogenicidade, estudos têm mostrado que pequenos números de *Salmonella*, ou seja, doses infectantes de até 50 células por grama, podem ser desencadeadoras de doença em alimentos com elevado teor lipídico (Franco & Landgraf, 1996).

Nesse contexto, vários procedimentos têm sido desenvolvidos visando a eliminar a *Salmonella* em alimentos, incluindo o tratamento térmico, a irradiação, bem como a combinação de diferentes tipos de processamentos.

Alimentos à base de carne bovina e de carne de frango têm sido os principais causadores de intoxicação alimentar por *C. perfringens*. A maioria dos surtos relatados é associada à alimentação em estabelecimentos institucionais e quase todos os casos de toxinfecção alimentar descritos, envolvendo o *C. perfringens*, foram causados por cepas do tipo A (Franco & Landgraf, 1996). Tais cepas causam a intoxicação alimentar na forma clássica, causada por uma enterotoxina produzida durante a esporulação do *C. perfringens* no intestino. Grandes quantidades de toxina são necessários (8 a 10 mg) para causar a doença, de modo que o alimento ingerido deverá conter valores entre 10^5 a 10^6 células ou mais por grama, para causar doença no Homem (Franco & Landgraf, 1996).

De acordo com a literatura, a frequência de ocorrência de células vegetativas de *C. perfringens* em amostras de CMSF está entre 2,7 a 62 % (Ostovar et al., 1971; Mulder, 1975; Lillard, 1977).

A relevância de estudos acerca das características microbiológicas da CMSF na área de tecnologia de alimentos está intimamente relacionada ao desenvolvimento e utilização de processos e técnicas que controlem a carga microbiana total, bem como os patógenos de origem alimentar, a níveis seguros para o consumidor.

1.4. Irradiação de alimentos

1.4.1. Considerações gerais

Dentre os processos que se têm desenvolvido visando a reduzir a carga de microrganismos deterioradores e de patógenos, tem-se a irradiação, a qual apresenta como principais vantagens poder ser efetuada em produtos já embalados e em temperaturas de refrigeração ou de congelamento. Este tipo de processamento pode tornar-se interessante para o controle de microrganismos na CMSF, aumentando sua vida-de-prateleira, já que as vantagens do processo de irradiação vêm ao encontro

das características de perecibilidade do referido alimento, o qual sendo um produto cominuído, de fácil deterioração, exige resfriamento rápido a 2 °C, seguido de congelamento, imediatamente após a saída da linha de processamento (Baldini, 1994).

De acordo com Farkas (1998), a carne de aves e bovina, bem como ovos e derivados, peixes, condimentos e outros ingredientes alimentares desidratados são bons candidatos à descontaminação microbiana por irradiação.

O Brasil apresenta grande potencial para o crescimento na produção de aves, uma vez que tem uma população de 161.000.000 de habitantes e o consumo de carne de aves é cerca de 10 kg “per capita” por ano, considerado baixo em relação a países desenvolvidos, onde o consumo está entre 18 a 20 kg “per capita” por ano. Além disso, nosso país é o maior produtor de soja do mundo e um dos maiores produtores de milho, os dois principais grãos utilizados na ração animal. A implantação do processo de irradiação para carne de aves poderá viabilizar o aumento da vida de prateleira das partes nobres armazenadas sob refrigeração. Além disso, a irradiação da CMSF que é um subproduto significativo do abate de aves, representando cerca de 24 % da parte comestível da carcaça, poderá aumentar a capacidade competitiva da indústria avícola (Giddings & Macotte, 1991 e Moretti, 1990).

A energia eletromagnética aplicada para a irradiação de alimentos é do mesmo tipo das ondas de rádio, luz do sol ou microondas, entretanto, por causa dos altos níveis de energia que são necessários para a penetração nos alimentos, utiliza-se um determinado grupo de radiação eletromagnética, chamado de radiação ionizante .

As radiações ionizantes são emitidas por inúmeros elementos radioativos, durante seu decaimento (Potter & Hotchkiss, 1995). A fonte de radiação ionizante mais utilizada em alimentos é a de ^{60}Co . A unidade de dose de radiação é o

gray(Gy), equivalente a um joule de energia absorvida por kilograma de material. Os efeitos do processo dependem da quantidade de energia absorvida (Hackwood,1991).

Existem pesquisas para demonstrar que a irradiação de alimentos com fontes dos isótopos ^{60}Co ou ^{137}Cs , fontes de raios-X de 5,0 MeV ou menos, bem como aceleradores de elétrons com energia menor que 10 MeV não induzem radioatividade nos alimentos (Thayer, 1990; Diehl & Josephson, 1994). Para que a radiação ionizante induza reação nuclear, ela deve apresentar energia suficiente para excitar o núcleo (energia limiar). Somente três tipos de núcleos provavelmente presentes em alimentos apresentam valores de energia limiar, que permitam reações com raios X ou raios gama de 5 MeV ou menos. Estes são ^2H em 2,23 MeV, ^{17}O em 4,14 MeV e ^{13}C em 4,95 MeV (Thayer, 1990). Quando submetidos a fontes de energia que atinjam os limiares acima citados, cada um destes átomos formam um isótopo estável (^1H , ^{16}O , e ^{12}C , respectivamente) devido a emissão de um nêutron. Os fluxos de nêutron, a partir das reações com estes constituintes isotópicos menores, são baixos e não levam a outras reações nucleares nos alimentos. As emissões, a partir de ^{60}Co (1,3 MeV) ou ^{137}Cs (0,661 MeV), são de energia mais baixa do que estes níveis limiares. O nível limiar efetivo para indução de radioatividade detectável em alimentos irradiados por feixe de elétrons é 10,5MeV (Thayer, 1990).

Em 1983, a “Codex Alimentarius Commission” adotou o “Codex General Standard for Irradiated Food” permitindo como limite médio a dose de 10 kGy. Tal norma foi elaborada por uma junta de especialistas em alimentos irradiados, composta por membros da FAO/IAEA/WHO (“Food Agriculture Organization of the United Nations/International Atomic Energy Agency/World Health Organization”) sendo concluído que a irradiação de qualquer alimento com doses médias de até 10 kGy não apresentam qualquer perigo toxicológico, nem introduzem qualquer problema microbiológico ou nutricional especial (Hackwood,1991 e Diehl & Josepson, 1994). Desde setembro de 1997, a WHO coloca que o limite de 10 kGy

não deve existir, uma vez que evidências científicas indicam que alimentos irradiados com dose de até 75 kGy são seguros ao consumidor, desde que a qualidade sensorial seja aceitável e os microrganismos patogênicos mortos (Farkas, 1998).

A irradiação de alimentos tem sido estudada, testada e avaliada intensivamente por mais de 40 anos, e atualmente, esta tecnologia tem sido aceita para uso comercial em muitos países. A irradiação de 222 tipos distintos de alimentos encontra-se aprovada em 52 países, de modo que 24 destes países, inclusive o Brasil, já utilizam a irradiação de alimentos em escala comercial (ICGFI, 2001). Cerca de meio milhão de toneladas de produtos alimentícios são irradiados, anualmente, no mundo. Em 1998, duzentos irradiadores utilizando radiação gama estavam em operação, sendo que, destes, 60 irradiadores comerciais têm oferecido serviço para irradiar alimentos (McMurray et al., 1998; Ladeira, 1999 e Woods, 2000). Os países que aprovam a irradiação de carne de frango são: África do Sul, Bangladesh, Brasil, Canadá, Chile, Estados Unidos, França, Holanda, Hungria, Índia, Israel, Iugoslávia, Reino Unido, Síria e Tailândia (Moretti, 1990 e Thomas, 1998).

O Brasil aprovou a irradiação de alguns tipos de alimentos em agosto de 1973 e de outros alimentos em março de 1985, quando foi incluída a permissão para irradiar a carne de frango, com doses de até 7 kGy. A legislação brasileira, em relação à irradiação de alimentos, vem se atualizando constantemente, haja vista os avanços científicos relativos ao processamento de diferentes tipos de alimentos por irradiação. Recentemente, o Ministério da Saúde publicou a resolução n.º 21 de 26 de janeiro de 2001, que trata do regulamento técnico para a irradiação de alimentos. De acordo com a legislação vigente, a irradiação de alimentos é definida como “processo físico de tratamento que consiste em submeter o alimento, já embalado ou a granel, a doses controladas de radiação ionizante, com finalidades sanitária, fitossanitária e ou tecnológica. Qualquer alimento poderá ser tratado por radiação desde que sejam observadas algumas condições, dentre elas: a dose mínima

absorvida deve ser suficiente para alcançar a finalidade pretendida e a dose máxima absorvida deve ser inferior àquela que comprometeria as propriedades funcionais e ou os atributos sensoriais do alimento” (Brasil, 2001).

A desarmonia que existe na legislação e em métodos padronizados que identifiquem alimentos irradiados são as principais barreiras no tráfego internacional para a comercialização de alimentos irradiados (Hackwood, 1991). Esta situação vem mudando gradativamente, de modo que, em novembro de 2001, a “Comisión del Codex Alimentarius” apresentou um anteprojeto ainda não publicado, sobre a revisão do código internacional de práticas recomendadas para o tratamento dos alimentos por irradiação. Tal ação visa, cada vez mais, aprimorar e padronizar os princípios para o tratamento de produtos alimentícios com radiações ionizantes. De acordo com Roberts (1999) e Del Mastro (1997), os países da América Latina, Ásia/Pacífico, África e Oriente Médio têm realizado esforços no sentido da elaboração de documentos que visem à harmonização das leis relativas à irradiação de alimentos.

Uma nova diretiva europeia em relação ao tratamento de alimentos com radiação ionizante foi adotada em março de 1999, a qual prevê métodos analíticos padronizados para a detecção de alimentos irradiados (Mazotti & Zonta, 1999). Pesquisas intensivas têm possibilitado o desenvolvimento de métodos sensíveis e validados para a detecção de alimentos irradiados (Haire et al., 1997). Os métodos para detectar se o alimento foi irradiado têm importância no tráfego internacional de alimentos irradiados. O país importador poderá certificar-se de que o alimento atende às suas normas legais, bem como assegura ao consumidor livre escolha quanto à aceitação do processo de irradiação de alimentos (Derr, 1993 e Masotti & Zonta, 1999).

A sobrevivência de células microbianas ao processamento com radiação ionizante depende de alguns fatores, que incluem a natureza e extensão do dano direto produzido ao DNA. Além disso, a sobrevivência das células depende da

capacidade das células em resistir à radiação ionizante e sofrer reparo. A resistência também depende de condições ambientais extracelulares, tais como o pH, a temperatura, a presença ou ausência de oxigênio, bem como a composição química do alimento no qual a célula está presente. A radiação ionizante danifica o DNA a nível celular, debilitando, assim, processos bioquímicos (Diehl, 1995 e Monk et al., 1995).

Independente das publicações técnicas e científicas sobre a efetividade da irradiação com um processo seguro para a preservação de alimentos, um segmento de consumidores recebe o processo como inseguro e indesejável. Entretanto, esta percepção parece estar decrescendo. Os consumidores bem como a indústria de alimentos reconhecem que a irradiação é uma alternativa atrativa aos aditivos químicos para a preservação de alimentos (Derr, 1993 e McMurray et al., 1998). Por exemplo, os efeitos antimicrobianos do nitrito em carnes curadas podem ser atingidos com o tratamento por irradiação (Monk et al., 1995). Produtos sazonais como condimentos e vegetais desidratados são os mais comumente comercializados irradiados, especialmente após a proibição da fumigação de alimentos com óxido de etileno em 1/01/91, pela União Européia (Michell, 1994). A irradiação pode perfeitamente substituir este processo, sendo até mais indicada na medida em que não acrescenta nenhuma substância, nem altera o aspecto físico, sabor ou valor nutritivo de tais produtos (Giurliani, 1996 e Farkas, 1998).

Nos Estados Unidos, em 1993, a carne de aves e frutas irradiadas foram colocadas no mercado a preços competitivos sendo bem recebidas pelo público (Pszczola, 1993).

Ainda que as inúmeras pesquisas, acerca da extensão da vida de prateleira da carne de frango e da carne fresca pré-embalada, tenham sido iniciadas no final da segunda guerra mundial, os estudos relativos à irradiação de produtos aviários têm sido mais impulsionados a partir de 1990, quando o “Food and Drug Administration” dos Estados Unidos (E.U.A.) aprovou a irradiação de alimentos

para o controle de patógenos de origem alimentar em aves e quando, em 1992, seu Departamento de Agricultura aprovou o controle de microrganismos pela irradiação de carcaças inteiras ou partes de aves cruas desossadas, mecanicamente separadas, refrigeradas ou congeladas (Pszczola, 1993 e Thayer, 1993).

De acordo com Paulinelli (citado por Giurliani, 1996), no Brasil, as empresas exportadoras de carne bovina, suína e de frango deverão ser as primeiras a adotar a irradiação por dois fatores: trabalham com grandes volumes de produção, o que torna o investimento compensador e se preocupam com a qualidade, condição indispensável para a exportação.

O funcionamento de uma instalação de irradiação é sensivelmente mais caro do ponto de vista financeiro e mais econômico do ponto de vista energético, quando comparado a uma instalação térmica equivalente, a exemplo da cadeia do frio (Paquin, 1985). O investimento inicial de uma planta para irradiação de carne de frango poderá variar de 2,6 a 14,5 milhões de dólares, respectivamente, para irradiação anual variando de 52 a 416 milhões de libras (Morrison et al., 1992).

Morrison et al. (1992) avaliaram a relação custo/benefício da irradiação de carne de aves, considerando-se uma planta de irradiação de médio e grande porte, integrada ao sistema de embalagem, bem como os custos anuais das doenças de origem alimentar devido a *Salmonella* e a *Campylobacter*. Os resultados deste estudo mostraram que, quando os custos representam até três centavos de dólar por libra de carne irradiada, os benefícios à saúde pública superam os custos com o processo de irradiação. Na França, os custos com a irradiação de CMSF, utilizando acelerador de elétrons, é cerca de um centavo de dólar por kilograma (Giddings & Macotte, 1991).

Ao contrário de uma instalação térmica, uma mesma instalação de irradiação poderá processar diferentes tipos de alimentos (carne, cereais, frutas,

condimentos, tubérculos), possibilitando sua implantação na forma de cooperativa, reduzindo a relação custo/benefício.

1.4.2. Aspectos microbiológicos da irradiação de alimentos

O maior benefício da irradiação de alimentos é, sem dúvida, seu efeito sobre os microrganismos. O tratamento com doses de até 10 kGy pode produzir produtos alimentícios adequados para o consumo humano, em relação aos microrganismos causadores de doenças de origem alimentar comumente envolvidos em surtos, a exemplo de *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Clostridium perfringens*.

A mecanização das linhas de abate de aves impede o contato manual do trabalhador com a matéria-prima durante sua produção. Tal medida permite ao produto enquadrar-se nos padrões microbiológicos exigidos, muito embora a contaminação por *Salmonella*, desclassifica até 20 % dos lotes de CMSF (Giddings & Marcotte, 1991). Diante da incapacidade das medidas higiênicas impedirem tal contaminação, seria interessante aplicar-se tratamento térmico brando sobre a CMSF. Entretanto, as consequências de tal tratamento sobre as propriedades funcionais das proteínas são impeditivas à sua aplicação, uma vez que inviabilizam a incorporação da CMSF em emulsões finas. Tornam-se, deste modo, imperativas pesquisas de processos eficientes e compatíveis à matéria-prima em questão (Paquin, 1985).

Nos Estados Unidos, as enfermidades provocadas por alimentos contaminados por *Salmonella* e outras bactérias patogênicas de origem alimentar, causam perdas econômicas significativas, envolvendo internações em hospitais, faltas no trabalho, destruição do produto e indenizações, culminando em cifras da ordem de US\$ 5 a US\$ 17 bilhões ao ano (Institute of Food Technologists, 1988). O centro de controle de doenças e prevenção dos Estados Unidos notificam cerca de 30.000 casos de salmonelose anualmente, de modo que, em 1997, uma alta

proporção do total de 1800 mortes foram atribuídas a doenças de origem alimentar. Uma importante proporção destes casos é devida ao consumo de carne de aves (Molins et al., 2001). A irradiação de carcaças de aves com doses de até 3 kGy poderia reduzir em 1000 vezes os casos de salmonelose humana (Monk et al., 1995).

Os dados estatísticos canadenses mostraram que, cerca de 17 % de todas as infecções por *Salmonella*, são veiculadas por aves. A radiação ionizante possibilita a desinfecção de aves congeladas, embaladas, sem perda de seu valor nutricional (Gruiz & Kiss, 1987). De acordo com Molins et al. (2001), até o momento a irradiação é o único processo físico que pode eliminar patógenos do alimento, sem aumento substancial da temperatura do produto e sem causar qualquer alteração física ou química significativa no alimento.

O número de bactérias reconhecidas como sendo capazes de causar doença alimentar tem aumentado nos últimos anos. Este aumento tem sido atribuído a inúmeros fatores, como a produção e processamento de alimentos em massa, confinamento dos animais usados para consumo humano, migração urbana de pessoas, aumento no tráfego internacional de alimentos e rações e aumento na poluição ambiental (Altekruse & Swerdlow, 1996). A emergência destes patógenos tem aumentado o interesse no uso da irradiação de alimentos como uma técnica de preservação na indústria de alimentos.

A radiação ionizante pode ser efetiva num programa de análise de perigos e pontos críticos de controle, para destruir patógenos entéricos associados a produtos aviários (Molins et al., 2001).

Dentre as bactérias gram negativas patogênicas, a *Salmonella* tem se mostrado a mais resistente à radiação ionizante. Outros patógenos bacterianos gram negativos incluindo *Escherichia coli* O157:H7, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila* e *Campylobacter* spp. apresentam relativamente baixa resistência à radiação ionizante. Sendo assim, processos modelados para eliminar a *Salmonella*,

também deverão eliminar outras bactérias patogênicas gram negativas (Tarjan, 1985 e Monk et al., 1995).

As populações dos patógenos entéricos mais comuns associados à carne e produtos aviários, tais como *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157:H7, *S. aureus*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Shewanella putrefaciens* e *Aeromonas hydrophila* podem ser significativamente reduzidas ou eliminadas utilizando-se baixas doses de radiação ionizante (< 3,0 kGy) (Thayer, 1995 e Thayer & Boyd, 1996). Estes autores enfatizaram que os efeitos da temperatura devem ser cuidadosamente avaliados, uma vez que baixas temperaturas durante o processo de irradiação resultam em menores alterações das propriedades sensoriais da carne e produtos aviários, mas podem demandar maiores doses de radiação para inativar os patógenos de origem alimentar. Células vegetativas de *Clostridium perfringens* têm apresentado valor D₁₀ variando de 0,586 kGy a 0,826 kGy, respectivamente em bife e em carne de porco irradiados na presença de ar (Monk et al., 1995).

Alguns estudos têm abordado a sensibilidade de patógenos de origem alimentar à radiação gama em CMSF esterilizada (Thayer et al., 1990; Thayer et al., 1991; Thayer & Boyd, 1992 e Thayer et al., 1995). Entretanto, são limitadas as informações acerca dos efeitos da radiação gama sobre a microbiota presente nessa matéria-prima (Paquin, 1985; Gallien et al., 1983 e Gallien et al., 1985), bem como estudos sobre a estabilidade da CMSF irradiada e armazenada, enfatizando-se alterações lipídicas (Grozdanov et al., 1994).

Os estudos realizados por Gallien et al. (1983), Gallien et al. (1985) e Paquin (1985) avaliaram o efeito da radiação gama sobre a qualidade microbiológica da CMSF congelada (-18 °C), irradiada em acelerador de elétrons; entretanto, a vida útil dessa matéria-prima ao longo do armazenamento não foi determinada. Os valores de dose considerados adequados para irradiar a CMSF, frente a microrganismos como a *Salmonella* spp., o *S. aureus* e bactérias mesófilas variaram bastante, ou seja de 2,5 kGy a 5,0 kGy. De acordo com Gallien et al. (1985) os

resultados mostraram que a persistência da *Salmonella* spp. na CMSF tratada com radiação ionizante dependeu, não somente da dose de radiação, mas também do nível de contaminação inicial. Os efeitos da radiação ionizante sobre os patógenos de origem alimentar e sobre a vida de prateleira da carne dependem de inúmeros fatores, tais como a dose de radiação absorvida, a temperatura, a atmosfera, a taxa de dose e tipo de embalagem utilizado durante a irradiação, bem como o tempo e temperatura de armazenamento antes da cocção do alimento (Thayer et al., 1993).

O estudo realizado por Thayer et al. (1990) abordou a resistência de *Samonella* spp., inoculada em CMSF, à radiação gama. Os resultados mostraram que, para a dose de 1,8 kGy, a *S. enteritidis* e a *S. typhimurium* foram grandemente protegidas contra os efeitos da radiação ionizante, quando irradiadas em temperatura abaixo de -20°C . Além disso, os resultados mostraram que a *S. enteritidis* apresenta resistência muito maior à radiação ionizante quando comparada à *S. typhimurium*. Para a dose de 3,0 kGy, estes autores concluíram que se pode obter redução de cerca de 5,3 ciclos logaritmos de *S. enteritidis* em CMSF. Estes autores enfatizaram ainda que não se conhece qual é o efeito da microflora natural da CMSF sobre as espécies de *Salmonella*, após o processo de irradiação.

Mulder (1982) demonstrou que, após irradiar carcaças de frango com dose de 2,5 kGy, as poucas células viáveis de *Salmonella* remanescentes morrem quando as carcaças são armazenadas a -18°C .

Thayer et al. (1991) examinaram os efeitos da dose de radiação precedida ou seguida de tratamento com calor e, ainda, armazenamento refrigerado e aquecimento sobre a sobrevivência de *S. typhimurium* inoculada em CMSF, a fim de determinar se a irradiação e o calor agem sinergisticamente neste meio. Os resultados mostraram que o tratamento da CMSF com radiação gama tornou *Salmonella* mais sensível aos efeitos do calor. No caso da aplicação de 3 minutos de aquecimento a 60°C antes da irradiação (0,9 kGy) a 0°C , o número de células sobreviventes decresceu 4 a 6 ciclos logarítmicos. Quando a irradiação foi realizada

antes do aquecimento, o decréscimo na população de *Salmonella* foi de 8 a 9 ciclos logarítmicos. Aumentando-se a dose de radiação gama, a sensibilidade da *Salmonella* presente em CMSF ao calor não variou, quando a carne irradiada foi armazenada por até 6 semanas a 5 °C antes do aquecimento.

Outro estudo realizado por estes autores avaliou a sobrevivência de *S. typhimurium* ATCC 14028 sobre a superfície de coxa de frango ou em CMSF, quando irradiadas na presença de ar ou vácuo, em temperaturas de -20 a +20 °C. Os resultados indicaram que a resposta de *S. typhimurium* à radiação gama foi similar em coxa de frango ou em CMSF, de modo que o número de células viáveis por grama de CMSF ou por centímetro quadrado de coxa foi reduzido cerca de 2,8 a 5,1 unidades logarítmicas, quando irradiadas a 0 °C, para doses entre 1,5 a 3,0 kGy. A radiação ionizante foi significativamente mais letal às células bacterianas em temperaturas acima do congelamento. As análises de covariância não revelaram qualquer diferença significativa entre os efeitos da radiação gama, quando as amostras foram irradiadas na presença de ar ou no vácuo (Thayer & Boyd, 1991).

Thayer & Boyd (1992) inocularam CMSF com *S. aureus* ATCC 13565 e em cultura mista, com as linhagens B121, B124 e B767, irradiaram com raios gama, verificando-se que as linhagens de *S. aureus* testadas foram muito sensíveis à radiação gama neste substrato e que a dose de radiação máxima de 3,0 kGy, recomendada para irradiação de carne de aves nos Estados Unidos, poderá destruir 6,3 log (UFC de *S. aureus*).g⁻¹ do alimento. Deste modo, o uso de tal dose de radiação em CMSF poderá prover proteção significativa para o consumidor contra o referido microrganismo.

O estudo realizado por Thayer et al. (1995), consistiu em avaliar CMSF enlatada a vácuo, alterada com esporos de *Clostridium botulinum* ou *S. enteritidis*, seguido de irradiação com dose de 0,0, 1,5 e 3,0 kGy e armazenada a 5 °C durante 0, 2 e 4 semanas. O objetivo foi determinar se os sinais de deterioração ocorreriam antes da produção de toxina e se poderia haver aumento no potencial

para produção de toxina botulínica na CMSF irradiada. Os resultados mostraram que nenhuma das amostras armazenadas a 5 °C desenvolveu toxina botulínica, mas, quando mantida em temperatura abusiva (28 °C), tornaram-se tóxicas dentro de dezoito horas e apresentaram sinal óbvio de deterioração (estufamento da lata e odor pútrido). Células de *S. enteritidis* foram detectadas em amostras irradiadas com dose de 1,5 kGy na primeira semana de armazenamento, mas não em amostras irradiadas com dose de 3,0 kGy. Ao contrário do esperado, a população de *Staphylococcus* presente nas amostras decresceu, entretanto não foi eliminada com doses de radiação entre 1,5 e 3,0 kGy.

O sucesso do tratamento com irradiação utilizando baixas doses de radiação ionizante depende do subsequente armazenamento do alimento em temperaturas de refrigeração, quando o crescimento dos microrganismos sobreviventes é retardado ou prevenido (Monk et al., 1995).

1.4.3. Aspectos químicos e sensorial relacionados à irradiação de carne de aves

Assim como o processamento térmico, o processamento com radiação ionizante induz a alterações químicas, em maior ou em menor extensão, nos componentes individuais do alimento: lipídios, proteínas, carboidratos, água, vitaminas.

As principais alterações químicas que ocorrem devido à irradiação, incluem a produção de compostos voláteis, os quais são os principais responsáveis pelo "flavour" e "off-flavour" e também a formação de radicais livres, formados pela dissociação de moléculas excitadas e por reações iônicas. Os mecanismos para a formação de radicais livres dominam para a formação de produtos radiolíticos estáveis. Radicais livres são partes de moléculas, grupos de átomos, ou átomos únicos que possuem um elétron desapareado (Potter & Hotchkiss, 1995).

Mattison et al., (1986) verificaram que o odor de irradiado em lombo de porco desenvolveu-se imediatamente após a irradiação, desaparecendo durante o armazenamento ou após cocção.

De acordo com Du et al. (2000) e Angelini et al. (1975), os compostos contendo enxofre parecem ser os principais componentes responsáveis pelo odor de irradiado em carnes. As diferenças de “off odours” entre carne de frango crua irradiada e não irradiada não se apresentaram correlacionadas com a oxidação (Du et al. (2000). Patterson & Stevenson (1995) observaram que o dimetil trissulfeto foi o mais potente composto volátil relacionado ao desenvolvimento de “off-odour” em carne de frango irradiada, seguido pelo *cis*-3- e *trans*-6-nonenais, oct-1-en-3-um e bis(methylthio-) metano.

Radicais livres produzidos durante a irradiação causam autooxidação dos lipídeos da carne na presença de oxigênio (Urbain, 1986). Também tem sido notificado que alterações químicas em termos de produtos voláteis em vários tipos de gordura foram similares frente ao aquecimento convencional e irradiação (Nawar, 1993). Lakritz & Schwartz (1995) verificaram que pele e gordura de frango irradiadas apresentaram aumento na concentração de oxi-ácidos graxos com o aumento na dose de radiação, notificando-se também alterações na concentração de hidroxí-ácidos graxos, mas tal comportamento nem sempre foi linear. Alguns lipídeos de frango não produziram nenhuma das duas classes de compostos acima.

De acordo com Du et al. (2000), os aldeídos representaram 90 % dos compostos voláteis detectados em frango fresco irradiado ou não irradiado, após 7 dias de armazenamento refrigerado (+ 4 °C), sendo observada correlação positiva entre aldeídos e TBARS.

De acordo com Paquin (1985) e como já enfatizado anteriormente, a exposição à radiação ionizante é acompanhada por reações de oxidação. Este fenômeno torna-se mais importante quando o produto exposto contém ácidos graxos

polinsaturados. A gordura presente na CMSF é notadamente rica em ácidos graxos poliinsaturados pela presença de fosfolipídeos, aportados da fração da medula óssea e da medula espinhal que a acompanha. O ferro hemínico de mesma procedência constitui um catalisador da oxidação. Enfim, a estrutura finamente cominuída provoca mistura de ar que aumenta o risco de oxidação, tornando-se, portanto, indispensável verificar as conseqüências do tratamento com radiação ionizante sobre os lipídios da CMSF.

De acordo com Grozdanov et al. (1994), os valores de TBARS para a CMSF irradiada com doses de 2,0 e 3,0 kGy ou não irradiadas, foram respectivamente, 4,65 mg malonaldeído.kg⁻¹, 7,18 mg malonaldeído.kg⁻¹ e 2,14 mg malonaldeído.kg⁻¹, após 60 dias de armazenamento congelado. Estes autores verificaram que somente para período de armazenamento congelado superior a 30 dias, os valores de TBARS para as amostras de CMSF irradiadas foram significativamente superiores aos valores determinados em CMSF não irradiada.

Gruiz & Kiss (1987) realizaram pesquisa visando a avaliar alterações químicas nos lipídeos dos tecidos de aves irradiadas congeladas, ao longo do período de armazenamento. Os resultados demonstraram que a irradiação com dose de 4 kGy não levou ao aparecimento de compostos não detectáveis em amostras não irradiadas. Durante o armazenamento, alterações lipídicas similares ocorreram em amostras irradiadas e controle.

No estudo realizado por Kanatt et al. (1997), as amostras de carne de frango, de ovelha e de búfalo irradiadas com dose de 2,5 kGy apresentaram menores valores de ácidos graxos livres do que as amostras controle, durante armazenamento refrigerado. Estes autores abordaram que *Pseudomonas* trata-se de um microrganismo lipolítico, predominante em carne fresca, mas muito sensível à radiação, e por isso, consideraram que a eliminação de *Pseudomonas*, com o tratamento por irradiação, foi provavelmente a razão para os baixos valores de ácidos graxos livres em amostras de carne irradiada. Estes mesmos autores

verificaram o efeito de baixas doses de radiação gama (2,5 kGy) sobre as alterações oxidativas (valor de TBA) em carne de frango, de ovelha e de búfalo, procedendo-se a irradiação e armazenamento das carnes em estado não congelado (0 – 3 °C). Os resultados mostraram que o efeito imediato da irradiação foi um ligeiro aumento nos valores de TBA e conteúdo de carbonila não resultando em deterioração do “flavour”, sugerindo que a oxidação lipídica não foi o principal problema na carne irradiada armazenada em temperatura de refrigeração.

Segundo Lee et al. (1996), altas temperaturas durante a irradiação, utilizando-se doses de até 10 kGy, têm resultado em aumento no valor de TBA e no valor de peróxido.

Kiss & Kovács-Domján (1984) estudaram o efeito da irradiação sobre a qualidade microbiológica e sensorial de carcaças de frango congeladas e concluíram que doses entre 3 a 4 kGy podem assegurar qualidade microbiológica e organoléptica às carcaças.

A aplicação de radiação ionizante às carcaças de aves decresce o número de microrganismos potencialmente patogênicos e, ao mesmo tempo, aumenta a vida de prateleira do produto. Tal efeito benéfico é conseguido aplicando-se doses entre 2 a 9 kGy; mas em aves, dose acima de 5 kGy podem causar efeitos sensoriais indesejáveis (Mulder, 1984).

Abu-Tarboush et al. (1997) avaliaram a qualidade microbiológica e sensorial de frango irradiado e armazenado a 4 °C. Os resultados mostraram que os provadores foram capazes de detectar rancidez na carne de coxa crua e odor pronunciado de ozônio na carne de peito, particularmente para as amostras irradiadas com 7,5 kGy ou mais. A dose de 5,0 kGy mostrou-se a melhor para estender a aceitabilidade do odor em frango cru e cozido.

Os efeitos da radiação ionizante sobre as propriedades organolépticas do frango fresco dependem da temperatura do alimento durante a irradiação, da dose absorvida e duração do armazenamento refrigerado após o tratamento. Altas doses de radiação gama podem causar grande aumento na quantidade de compostos voláteis em carne e decrescer a aceitabilidade do odor. A irradiação de carcaças no estado congelado e o tratamento térmico de aves irradiadas reduzem ou eliminam o efeito sensorial negativo do processo (ICMSF, 1980; Lescano et al., 1991; Potter & Hotchkiss, 1995 e Thayer & Boyd, 1991).

Durante a irradiação, a absorção de energia ionizante pelas cadeias polipeptídicas provocam diferentes tipos de reação, de acordo com a dose absorvida, temperatura e presença ou ausência de oxigênio. As reações podem conduzir à ruptura de ligações peptídicas, uma desaminação primária e secundária, oxidação de grupamentos tióis (SH) e redução de pontes dissulfídicas (SS), acarretando modificações estruturais nas proteínas (Latreille et al., 1993).

Os efeitos da irradiação, em conjunto com as embalagens varia, dependendo do grupo de carne ou de ave e da composição atmosférica dentro da embalagem. O “Food and Drug Administration” dos E.U.A. aprova somente embalagens permeáveis ao oxigênio, mas não à umidade ou a microrganismos para irradiar CMSF ou outras carnes de aves frescas, utilizando baixas baixas doses de radiação ionizante. O polietileno é aprovado para a irradiação de alimentos pré-embalados utilizando-se doses de até 60 kGy (Diehl, 1995). Informações mais completas ainda são necessárias para assegurar o uso adequado de embalagem a vácuo ou atmosfera modificada em combinação à irradiação (Lee et al., 1996).

Referências Bibliográficas

1. ABU-TARBOUSH, H. M., AL-KAHTANI, H. A., ATIA, M., ABOU-ARAB, A. A., BAJABER, A. S. & EL-MAJADDIDI, M. A. Sensory and microbial quality of chicken as affected by irradiation and postirradiation storage at 4.0 °C. **Journal Food Protection**, v. 60, n. 7, p. 761-770, 1997.
2. AHN, D. U.; WOLFE, F.H.; SIM, J.S. The effect of free and bound iron on lipid peroxidation in turkey meat. **Poultry Science**, v. 72, n. 1, p. 209-215, 1993.
3. ALKANAHHL, H.A. & GASIM, Z. Foodborne disease incidents in the eastern province of Saudi Arabia - a five year summary, 1982-1986. **Journal of Food Protection**, v. 55, n. 1, p. 84-7, January, 1993.
4. ALTEKRUSE, S. F. & SWERDLOW, D. L. The future of foodborne diseases. **Chemistry and Industry**, v. 19, p. 132-135, 1996.
5. ANG, C. Y. W. Effect of further processing and storage of mechanically deboned chicken on proximate composition, thiamin, riboflavin and TBA values. **Journal of Food Science**, v. 51, n. 4, p. 861-864, 1986.
6. ANGELINI, P., MERRITT JR, C., MENDELSON, J. M., & KING, J. F. Effect of irradiation on volatile constituents of stored haddock flesh. **Journal of Food Science**, v. 40, p. 197-199, 1975.
7. BALDINI, F. Setor de corte e desossa. In: Fundação APINCO. **Abate e processamento de frangos** (p. 25-30), Campinas, FACTA, 1994.
8. BERGDOLL, M.S. Analytical methods for *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 10, n. 2, p. 91-100, 1990.

9. BERGDOLL, M. S. Staphylococcal intoxication in mass feeding. In: Tu, A. T. ed. *Food poisoning: handbook of natural toxins*. New York, Marcel Dekker, Inc. 1992.
10. BERGDOLL, M.S.; SURGALLA, M.J. and DACK, G.M. Staphylococcal enterotoxin: identification of a specific precipitating antibody with enterotoxin neutralizing property. **Journal Immunology**. **83**:334-338, 1959.
11. BERGDOLL, M.S.; BORJA, C.R.; AVENA, R.M. Identification of a new enterotoxin as enterotoxin C. **Journal Bacteriology**, v. 90, n. 5, p. 1481-1485, November, 1965.
12. BERGDOLL, M.S.; BORJA, C.R. ROBBINS, R.N.; WEISS, K.F. Identification of enterotoxin E. **Infection and Immunology**, v. 4, p. 593-595, 1971.
13. BETLEY, M.J.; BORST, D.W.; REGASSA, L.B. Staphylococcal enterotoxins, toxic shock syndrome toxin and streptococcal pyrogenic exotoxins: a comparative study of their molecular biology. **Chem. Immunol.** **55**: 1-35, 1992.
14. BOLTON, K.J.; DODD, C.E.R.; MEAD, G.C.; WAITES, W.M. Chlorine resistance of strains of *Staphylococcus aureus* isolated from poultry processing plants. **Letters in Applied Microbiology**, v. 6, n. 2, p. 31-4, February, 1988.
15. BRASIL. Instrução normativa n ° 4 de 31 de março de 2000. **Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de carne mecanicamente separada de aves, bovinos e suínos (Diário Oficial da União de 5 de abril de 2000)**. Brasília, Imprensa Oficial da União. 2000.

16. BRASIL. Resolução-RDC n.º 21 de 26 de janeiro de 2001. **Regulamento técnico para irradiação de alimentos (Diário Oficial da União de 29 de janeiro de 2001)**. Brasília, Imprensa Oficial da União. 2001.
17. CASMAN, E.P. Further serological studies of staphylococcal enterotoxin. **Journal Bacteriology**. V. 79, p. 849-856, 1960.
18. CASMAN, E.P.; BENNETT, R.W.; DORSEY, A.E.; ISSA, J.A. Identification of a fourth staphylococcal enterotoxin, enterotoxin D. **Journal Bacteriology**, v. 94, n. 6, p. 1875-1882, December, 1967.
19. COOKE, E. M. Epidemiology of foodborne illness: UK. **Lancet**. v. 29, p. 790-793. 1990.
20. CRASS, B. A. & BERGDOLL, M. Involvement of coagulase-negative staphylococci in toxic shock syndrome. **Journal Clinical Microbiology**, v. 23, p. 43-45, 1986.
21. CRASS, B.A. & BERGDOLL, M. Involvement of coagulase-negative staphylococci in toxic syndrome. **Journal Clinical Microbiology**, v. 23, p. 43-45, 1986.
22. . N. L. Regulation on trading of irradiated food in Latin America. In: **Seminario Nacional de Aceptacion y Comercio de Alimentos Irradiados, Memórias** Toluca: Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares. 1997. p. 111-114.
23. DERR, D. D. International regulatory status and harmonization of food irradiation. **Journal Food Protection**. v. 56, n. 10, p. 886-892. 1993.

24. DEVRIESE, L. A.; SCHLEIFER, K. H.; ADEGAKE, G. O. Identification of coagulase-negative staphylococci from farm animals. **Journal Applied Bacteriology**, v. 58, p. 45-55, 1985.
25. DHILON, A. S. & MAURER, A. J. Stability study of comminuted poultry meats in frozen storage. **Poultry Science**, v. 54, p. 1407-1414, 1975.
26. DIEHL, J. F. **Safety of irradiated foods**. 2 ed. New York: Marcel Dekker, Incorporation, 1995.
27. DIEHL, J. F. & JOSEPHSON, E. S. Assessment of wholesomeness of irradiated foods: a review. **Acta Alimentaria**, v. 23, n.2, p. 195-214, 1994.
28. DODD, C.E.R.; MEAD, G.C.; WAITES, W.M. Detection of the sitte of contamination by *Staphylococcus aureus* within the defeathering machinery of a poultry processing plant. **Letters in Applied Microbiology**, v. 7, n. 3, p. 63-6, September, 1988.
29. DU, M.; AHN, D. U.; NAM, K. C.; SELL, J. L. Influence of dietary conjugated linoleic acid on volatile profiles, color and lipid oxidation of irradiated raw chicken meat. **Meat Science**, v. 56, p. 387-395, 2000.
30. EVANS, J.B.; ANANABA, G.A.; PATE, C.A.; BERGDOLL, M.S. Enterotoxin production by atypical *Staphylococcus aureus* from poultry. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 54, p. 257-261, 1983.
31. EVENSON, M.L.; HINDS, M. W.; BERNSTEIN, R.S.; BERGDOLL, M.S. Estimation of human dose of staphylococcal enterotoxin A from a large outbreak of staphylococcal food poisoning involving chocolate milk. **International Journal Food Microbiology**. v. 7, p. 311-316, 1988.

32. FARKAS, J. Irradiation as a method for decontaminating food: a review. **International Journal Food Microbiology**, v. 44, p. 189-204, 1998.
33. FERNÁNDEZ, J.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. A. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. **Food Chemistry**, v. 59, n. 3, p. 345-353, 1997.
34. FRANCO, B. D. G. M. & LANDGRAF, M. Microbiologia de alimentos. São Paulo: Atheneu, 1996. cap. 4.
35. FRONING, G. W. Mechanically deboned poultry meat. **Food Technology**, v. 30, n. 9, p. 50-63, 1976.
36. GALLIEN, C. L.; PAQUIN, J.; SADAT-SHAFAI, T. Use of electron beams for decontamination of mechanically separated poultry meat. **Radiation Physics Chemistry**, v. 22, n. 3/5, p. 759-763, 1983.
37. GALLIEN, C. L.; PAQUIN, J.; FERRADINI, C.; SADAT-SHAFAI, T. Electron beam processing in food industry technology and costs. **Radiation Physics Chemist**, v. 25, n. 1/3, p. 81-96, 1985.
38. GIBBS, P.A. & PATTERSON, J.T. Biochemical characteristics and enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* strains isolated from poultry. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 44, n. 1, p. 57-74, February, 1978.
39. GIBBS, P.A.; PATTERSON, J.T.; HARVEY, J. Biochemical characteristics and enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* strains isolated from poultry. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 44, p. 57-74, 1978.

40. GIBBS, P.A.; PATTERSON, J.T.; THOMPSON, J.K. Characterization of poultry isolates of *Staphylococcus aureus* by a new set of poultry phages. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 44, p. 387-400, 1978a.
41. GIDDINGS, G. G. & MARCOTTE, M. Poultry irradiation: for hygiene/safety and market-life enhancement. **Food Reviews International**, v. 7, n. 3, p. 259-282. 1991.
42. GIURLIANI, S. Minas investe na irradiação de alimentos. **Brasil Nuclear**, v. 3, n. 10, p. 12-16, julho/setembro, 1996.
43. GRAY, J.I. Measurement of lipid oxidation. A review. **Journal American Oil Chemistry**, v. 55, n. 7, p. 539-546, 1978.
44. GROZDANOV, A.; DIMITROVA, N.; ATANASOVA, T.; DILOVA, N.; KALOYANOV, I.; MONOV, G. Irradiation treatment of mechanically deboned meat to achieve decontamination and storage life extension. In: **Proceedings of the Final Research Co-ordination in the Middle East and Europe**. France: IAEA. 1994. p. 17-32.
45. GRUIZ, K. & KISS, I. Effect of ionizing radiation on the lipids in frozen poultry. **Acta Alimentaria**, v. 16, n. 2, p. 111-127, 1987.
46. HACKWOOD, S. An introduction to the irradiation processing of foods. In T. Stuart. **Food irradiation**. London; Elsevier. 1991. cap. 1, 2 and 7.
47. HAIRE, D.L.; CHEN, G.; JANZEN, E.G., FRAZER, L.; LYNCH, J. A. identification of irradiated foodstuffs: a review of the recent literature. **Food Research International**. v. 30, n. 3/4, p. 249-264, 1997.

48. HALLIWELL, B. & GUTTERIDGE, J.M.C. Role of free radicals and catalytic metals ions in human diseases: an overview. **Methods Enzymology**, v. 186, n. 1, p. 1-85, 1990.
49. HALPIN-DOHNALEK, M.I. & MARTH, E.H. *Staphylococcus aureus*: production of extracellular compounds and behavior in foods - a review. **Journal of Food Protection**, v. 52, n. 4, p. 267-82, April, 1989.
50. HARVEY, J.; PATTERSON, J. T.; GIBBS, P. A. Enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* strains isolated from poultry: raw poultry carcasses as a potential food-poisoning hazard. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 52, p. 251-258, 1982.
51. HERTEN, H.; BOARD, R.G.; MEAD, G.C. Conditions affecting growth and enterotoxin production by *Staphylococcus aureus* on temperature abused chicken meat. **Letters Applied Microbiology**, v. 9, p. 145-148, 1989.
52. INSTITUTE OF FOOD TECHNOLOGISTS. Bacteria associated with foodborne diseases. **Food Technology**, v. 42, n. 4, p. 181-200, April, 1988.
53. INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. Ionizing irradiation. In: **Microbial ecology of foods: factors affecting life and death of microorganisms**. Zaragoza: Acribia, 1980.v. I. cap. 3. p.46-69.
54. _____. **Microorganisms in foods**. London: Blackie Academic & Professional. 1996. v.5. cap. 6 e cap. 14.
55. INTERNATIONAL CONSULTIVE GROUP OF FOOD IRRADIATION. Database. Disponível em: <http://www.aica.org/icgfi/data.htm>. Acesso em: 10 abr. 2002.

56. ISIGIDI, B. K.; MATHIEU, A-M.; DEVRIESE, L. A.; GODARD, C.; VAN HOOF, J. Enterotoxin production in different *Staphylococcus aureus* biotypes isolated from food and meat plants. **Journal Applied Bacteriology**, v. 72, p. 16-20, 1992.
57. KANATT, S. R.; PAUL, P.; SOUZA, S. F.; THOMAS, P. Effect of gamma irradiation on lipid peroxidation in chicken lamb and buffalo meat during chilled storage. **Journal Food Safety**, v. 17, n. 4, p. 283-294, 1997.
58. KISS, I.; KOVÁCS-DOMJÁN, H. Improving the microbiological quality of chicken by radiation energy. In: **Microbial association and interactions in food**. 1984. p. 69-76.
59. LADEIRA, L. C. D. O que é a irradiação de alimentos. **Revista Brasileira de Ecologia do Século 21**, v. 9, n. 42, p. 14-21, 1999.
60. LAKRITZ, L. & SCHWARTZ, D. P. Formation of oxo- and hydroxyfatty acids in irradiated chickens. **Meat Science**, v. 40, n. 2, p. 279-285, 1995.
61. LATREILLE, M.; LACROIX, M.; ICART, L.; SIMARD, C.; GAGNON, M. Effect de la dose et du débit de dose d'irradiation sur la capacité émulsifiante des protéines de poulet. **Sciences des Aliments**, v. 13, p. 97-107, 1993.
62. LEE, Y.; HARGUS, G.L.; KIRKPATRICK, J.A.; BERNER, D.L.; FORSYTHE, R.H. Mechanism of lipid oxidation in mechanically deboned chicken meat. **Journal Food Science**, v. 40, p. 964-967, 1975.
63. LEE, M.; SEBRANEK, J.G.; OLSON, D. G.; DICKSON, J. S. Irradiation and packaging of fresh meat and poultry. **Journal Food Protection**, v. 59, n. 1, p. 62-72, 1996.

64. LESCANO, G.; NARVAIZ, P.; KAIRIYAMA, E.; KAUPERT, N. Effect of chicken breast irradiation on microbiological, chemical and organoleptic quality. **Lebensmittel Wissenschaft Technologie**, v. 24, n. 2), p. 130-134, 1991.
65. LILLARD, H. S. Effect of freezing on incidence and levels of *Clostridium perfringens* in mechanically deboned chicken meat. **Poultry Science**, v. 56, n. 6, p. 2052-2055, 1977.
66. MASOTTI, P. & ZONTA, F. Food irradiation: an update of legal and analytical aspects. **Italian Journal Food Science**, v. 4, n. 11, p. 305-316, 1999.
67. MATTISON, M. I.; KRAFT, A. A.; OLSON, D. G.; WALKER, H. W.; RUST, R. E.; JAMES, D. G. Effect of low dose irradiation of pork loins on microflora, sensory characteristics and fat stability. **Journal Food Science**, v. 51, p. 284-287, 1986.
68. MCMURRAY, C. H.; PATTERSON, M.; STEWART, E. M. Food irradiation: a question of preservation. **Chemistry and Industry**, v. 1, p. 433-438, 1998.
69. MEAD, G. C. & SCOTT, M. J. Coagulase-negative staphylococci and coliform bacteria associated with mechanical defeathering of poultry carcasses. **Letters Applied Microbiology**, v. 18, p. 62-64, 1994.
70. MICHELL, G.E. Irradiation preservation of meats. **Food Australia**, v. 46, n. 11, p. 512-517, 1994.
71. MOERCK, K. E. & BALL, H. R. Jr. Lipid autoxidation in mechanically deboned chicken meat. **Journal Food Science**, v. 39, n. 5, p. 876-879, 1974.

72. MOLINS, R. A.; MOTARJEMI, Y.; KÄFERSTEIN, F. K. Irradiation: a critical control point in ensuring the microbiological safety of raw foods. **Food Control**. v. 12, p. 347-356, 2001.
73. MONK, J. D.; BEUCHAT, L.R.; DOYLE, M.P. Irradiation inactivation of food-borne microorganisms. **Journal Food Protection**, v. 58, n. 2, p. 197-208, 1995.
74. MORETTI, R. H. Role of irradiation in processing and marketing of chicken and other meat products. In: **Proceedings of an advisory group meeting held in Vienna**. Roma: IAEA. 1990. p. 57-63.
75. MORRISON, R. M.; ROBERTS, T.; WITUCKI, L. Irradiation of U.S. poultry – benefits, costs, and export potential. **Food Review**. p. 16-21. 1992.
76. MULDER, R. W. A. W. The use of low temperature and radiation to destroy Enterobacteriaceae and Salmonellae in broiler carcasses. **Journal Food Technology**, v. 17, p. 461-466, 1982.
77. MULDER, R. W. A. W. Ionizing energy treatment of poultry. **Food Technology in Australia**, v. 36, n. 9, p. 418-420, 1984.
78. MULDER, R. W. A. W. & DORRESTEIJN, L. W. J. Microbiological quality of mechanically deboned poultry meat. **World's Poultry Science Association**, v. 50, n. 1, p. 50-57, 1982.
79. NAWAR, W. W. Comparison of chemical consequences of heat and irradiation treatments of lipids. In: **Recent Advances in Food Irradiation**, Amsterdam: Elsevier, 1993.

80. NOTHERMANS, S.; DUFRENNE, J.; VAN LEEUWEN, W.J. Contamination of broiler chickens by *Staphylococcus aureus* during processing; incidence and origin. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 52, p. 275-280, 1982.
81. OLIVEIRA, A. M. **Investigação do comportamento em alimentos de estafilococos enterotoxigênicos coagulase negativos**. Campinas, 1999. 92 pp. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – FEA, UNICAMP.
82. OSTOVAR, K.; MACNEIL, J. H.; O'DONNELL, K. Poultry product quality. 5. Microbiological evaluation of mechanically deboned poultry meat. **Journal Food Science**, v. 36, p. 1005-1007, 1971.
83. PAQUIN, M. Resultats de L' irradiation des viandes separees mecaniquement. **RTVA**, p. 43-46, 1985.
84. PATTERSON, R. L. S. & STEVENSON, M. H. Irradiation-induced off-odour in chicken and its possible control. **British Poultry Science**, v. 36, p. 425-441, 1995.
85. PEREIRA, M. L. **Staphylococci coagulase negativos pauciprodutores de enterotoxinas e relato de um surto por espécie coagulase positiva**. Campinas, 1996. 141 pp. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – FEA, UNICAMP.
86. PIKUL, J. & KUMMEROW, F. A. Thiobarbituric acid reactive substance formation as affected by distribution of polyenoic fatty acids in individual phospholipids. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 39, p. 451-457, 1991.
87. POLLONIO, M. A. R. **Estudo das propriedades funcionais das proteínas miofibrilares e oxidação lipídica de carne de frango mecanicamente desossada**. Campinas, 1994. 141 pp. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – FEA, UNICAMP.

88. POTTER, N. N. & HOTCHKISS, J. H. **Food Science**. New York: Chapman & Hall, 1995. p. 245-263.
89. PSZCZOLA, D. Irradiated poultry makes U.S. debut in midwest and Florida markets. **Food Technology**, p. 89-96, 1993.
90. PURDY, J.; DODD, C. E. R.; FOWLER, D. R.; WAITES, W. M. Increase in microbial contamination of defeathering machinery in a poultry processing plant after changes in the method of processing. **Letters Applied Microbiology**, v. 6, p. 35-38, 1988.
91. RAHARJO, S. & SOFOS, J. N. Methodology for measuring malonaldehyde as a product of lipid peroxidation in muscle tissues: a review. **Meat Science**, v. 35, p. 145-169, 1993.
92. RASKA, K.; MATEJOVSKÁ, V.; MATEJOVSKÁ, D.; BERGDOLL, M. S.; PETRÁS, P. To the origin of contamination of foodstuffs by enterotoxigenic staphylococci. **Zbl. Bakt. Suppl.**, v. 10, p. 381-385, 1981.
93. REISER, R.F.; ROBBINS, R.N.; NOLETO, A.L.; KHOE, G.P.; BERGDOLL, M.S. Identification, purification, and some physicochemical properties of staphylococcal enterotoxin C₃. **Infection and Immunology**, v. 45, p. 625-630, 1984.
94. ROBERTS, P. B. Harmonization of regulations on food irradiation. In: **International Conference on Ensuring the Safety and Quality of Food Through Radiation Processing**. Antalya: FAO/IAEA/WHO. 1999. P. 6-7.
95. RUSSELL, S. M.; FLETCHER, D. L.; COX, N. A. Spoilage bacteria of fresh broiler chicken carcasses. **Poultry Science**, v. 75, p. 2041-2047. 1996.

96. SÃO PAULO (Estado). Decreto nº 12.342 de 27/9/78. **Código Sanitário**: revisto e atualizado até dezembro de 1990. São Paulo, Imprensa Oficial do Estado. 1992.
97. SATTERLEE, L.D.; FRONING, G.W.; JANKY, D.M. Influence of skin content on composition of mechanically deboned poultry meat. **Journal Food Science**, v. 36, p. 979-981, 1971.
98. SCHLIEVERT, P.M.; SHANDS, K.N.; DAN, B.B. Identification and characterization of an enterotoxin from *Staphylococcus aureus* associated with toxic shock syndrome. **Journal Infection Disease**, v. 143, p. 509-516, 1981.
99. SHAHIDI, F. **Flavor of meat and meat products**. London: BAP. 1997.
100. SHAHIDI, F. & HONG, C. Evaluation of malonaldehyde as a marker of oxidative rancidity in meat products. **Journal Food Biochemistry**, v. 15, p. 97-105, 1991.
101. SHIOZAWA, K.; KATO, E.; SHIMIZU, A. Enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* strains isolated from chickens. **Journal of Food Protection**, v. 43, n. 9, p. 683-685, 1980.
102. SU, C. & WONG, C.L. Identification and purification of a new staphylococcal enterotoxin H. **Applied Environmental Microbiology**. v. 61, n. 4, p. 1438-1443, 1995.
103. TARJÁN, V. Investigation into the radiosensitivity of *Campylobacter fetus* subspecies *jejuni* in ground chicken meat. **International Journal Food Microbiology**. v. 1, p. 321-326, 1985.

104. TARLADGIS, B. G.; WATTS, B. M.; YOUNATHAN, M. T. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. **Journal American Oil Chemists Society**, v. 37, p. 44-48, 1960.
105. THAYER, D.W. Food irradiation and concerns. **Journal Food Quality**, v. 13, p. 147-169, 1990.
106. THAYER, D. W. Extending shelf life of poultry and red meat by irradiation processing. **Journal Food Protection**, v. 56, n. 10, p. 831-833, 1993.
107. THAYER, D. W. Use of irradiation to kill enteric pathogens on meat and poultry. **Journal Food Safety**. v. 15, p. 181-192, 1995.
108. THAYER, D.W. & BOYD, G. Survival of *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 on the surface of chicken legs or in mechanically deboned chicken meat gamma irradiated in air or vacuum at temperatures of -20C to + 20C. **Poultry Science**, v. 70, n. 4, p. 1026-1033, 1991.
109. THAYER, D. W. & BOYD, G. Gamma ray processing to destroy *Staphylococcus aureus* in mechanically deboned chicken meat. **Journal of Food Science**, v. 57, n. 4, p. 848-851, 1992.
110. THAYER, D. W. & BOYD, G. Inactivation of *Sewanella putrefaciens* by gamma irradiation of red meat and poultry. **Journal Food Safety**, v. 16, p. 151-160, 1996.
111. THAYER, D. W.; BOYD, G.; MULLER, W. S.; LIPSON, C. A.; HAYNE, W. C.; BAER, S. H. Radiation resistance of *Salmonella*. **Journal Industrial Microbiology**, v. 5, p. 383-390, 1990.

112. THAYER, D. W.; SANGPRASERTCHAI, S.; BOYD, G. Effects of heat and ionizing radiation on *Salmonella typhimurium* in mechanically deboned chicken meat. **Journal of Food Protection**, v. 54, n. 9, p. 718-724, 1991.
113. THAYER, D. W.; FOX, J. B.; LAKRITZ, L. Effects of ionizing radiation treatments on the microbiological, nutritional, and structural quality of meats. In: **Food flavor and safety: molecular analysis and design**. Washington: American Chemical Society. 1993. cap. 23.
114. THAYER, D. W.; BOYD, G.; HUHTANEN, C. N. Effects of ionizing radiation and anaerobic refrigerated storage on indigenous microflora, *Salmonella* and *Clostridium botulinum* types A and B in vacuum-canned, mechanically deboned chicken meat. **Journal Food Protection**, v. 58, n. 7, p. 752-757, 1995.
115. THOMAS, P. Food irradiation scenario in India. **ICARID**, p. 181-188, 1998.
116. URBAIN, W. M. Food irradiation. In: **Food Science and Technology: a series of monographs**. Orlando: Academic Press, 1986. 450p.
117. VALLE, J.; GOMEZ-LUCIA, E.; PIRIZ, S.; GOYACHE, J.; ORDEN, J. A.; VADILLO, S. Enterotoxin production by staphylococci isolated from healthy goats. **Applied Environmental Microbiology**, v. 66, n. 5, p. 1323-1326, 1990.
118. VERNOSY-ROZAND, C.; MAZEY, C.; PREVOST, G.; LAPEYRE, C.; BER, M.; BRUN, Y.; FLEURETTE, J. Enterotoxin production by coagulase-negative staphylococci isolated from goats milk and cheese. **International Journal Food Microbiology**, v. 30, p. 271-280, 1996.
119. WIENEKE, A. A.; ROBERTS, D.; GILBERT, R. J. Staphylococcal food poisoning in the united Kingdom, 1969-90. **Epidemiol. Infect.** v. 110, p. 519-531. 1993.

120. WOODS, R.J. Radiation processing: current status and future possibilities. **Journal Radioanalytical Nuclear Chemistry**, v. 243, n. 1, p. 255-260, 2000.
121. XAVIER, C. V. A. & BERAQUET, N. J. Vida de prateleira de carne mecanicamente separada de frango estocada sob refrigeração. **Coletânea do Instituto Tecnologia Alimentos**, v. 24, n. 1), p. 91-104, 1994.

CAPÍTULO 2

EFEITO DA RADIAÇÃO GAMA SOBRE A QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E A OXIDAÇÃO LIPÍDICA DA CARNE MECANICAMENTE SEPARADA DE FRANGO, ARMAZENADA SOB REFRIGERAÇÃO

Resumo

A radiação ionizante foi usada com o objetivo de reduzir a contaminação bacteriana em carne mecanicamente separada de frango (CMSF). As análises microbiológicas e a oxidação lipídica foram determinadas em CMSF mantida sob refrigeração (+ 2 °C) por 12 dias. Considerando-se em conjunto a contagem total de bactérias psicotróficas, os valores de coliformes fecais e valores de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, as amostras de CMSF não irradiadas e aquelas irradiadas com doses de 3,0 e 4,0 kGy apresentaram-se aceitáveis, respectivamente, por 4, 10 e 6 dias de armazenamento refrigerado. Para a CMSF não irradiada, a principal variável que limitou sua vida útil foi a contaminação bacteriana, enquanto que, para as amostras de CMSF irradiadas com doses de 3,0 kGy e 4,0 kGy, o principal fator limitante foi a oxidação lipídica. O processo de irradiação da CMSF com doses de 3,0 kGy e 4,0 kGy foi capaz de reduzir ou eliminar a contaminação da CMSF por *Staphylococcus aureus* e reduzir as quantidades de enterotoxina estafilocócica eventualmente presentes nessa matéria-prima.

Palavras chave: carne mecanicamente separada de frango, microbiologia, irradiação de alimentos, oxidação lipídica, ácido 2-tiobarbitúrico.

1. Introdução

O abate e processamento de frangos gera subprodutos como dorso, pescoço, ossos de coxa e caixa torácica, ainda com quantidade significativa de

carne, impossível de ser retirada manualmente de forma econômica. Estas partes, que representam cerca de 24 % da parte comestível da carcaça, têm sido submetidas à separação mecânica da carne remanescente (Giddings & Marcotte, 1991; Xavier & Beraquet, 1994). O produto resultante do processo, ou seja, a carne mecanicamente separada de frango (CMSF), vem sendo amplamente empregada em produtos cárneos tradicionais, como embutidos emulsionados, em substituição às matérias-primas cárneas de custo mais elevado. O processo de separação mecânica provoca a trituração dos ossos, liberação da medula, ruptura de células, tornando a CMSF um meio favorável a reações bioquímicas e ao desenvolvimento de microrganismos, inclusive os patogênicos (Froning, 1976; Xavier & Beraquet, 1994).

O uso da radiação ionizante no processamento de carnes para reduzir a carga de microrganismos deterioradores e de patógenos é bem documentado (Thayer, 1993). O processo de irradiação pode ser efetuado em produtos já embalados, evitando sua recontaminação e, em temperaturas de refrigeração ou de congelamento, vindo ao encontro das características de perecibilidade da CMSF, a qual exige resfriamento rápido seguido de congelamento, imediatamente após saída do processador (Baldini, 1994). A irradiação da carne no estado congelado reduz ou elimina os efeitos sensoriais indesejáveis deste processo, principalmente aqueles associados com a produção de "off-flavour", odor de irradiado e formação de radicais livres (Lescano, Narvaiz, Kairiyama & Kaupert, 1991; Thayer & Boyd, 1991; Lee, Sebranek, Olson & Dickson, 1996). Os radicais livres são catalisadores da oxidação lipídica, que é uma das principais causas da deterioração da qualidade de produtos cárneos crus e cozidos tornando-se ainda mais importante em produtos ricos em ácidos graxos polinsaturados, como ocorre na CMSF. (Paquin, 1985, Shahidi, 1997).

Estudos têm abordado a sensibilidade de patógenos de origem alimentar à radiação gama quando esses são inoculados em CMSF esterilizada (Thayer & Boyd, 1991; Thayer, Sangprasertchai & Boyd, 1991; Thayer & Boyd, 1992; Thayer, Boyd & Huhtanen, 1995). Entretanto, são limitadas as informações acerca dos

efeitos da radiação gama sobre a microbiota presente nesta matéria-prima (Paquin, 1985; Gallien, Paquin & Sadat-Shafai, 1983), bem como estudos que abordem as alterações lipídicas em CMSF irradiada, ao longo do armazenamento refrigerado (Kannatt, Paul, Souza & Thomas, 1997). Neste contexto, o presente estudo foi realizado visando a avaliar a qualidade microbiológica e a oxidação lipídica em CMSF gama irradiada, ao longo de seu armazenamento refrigerado.

2. Material e Métodos

2.1. Desenho experimental

Sessenta e três unidades amostrais de 200 g de CMSF, produzidas a partir de dorso sem pele, foram coletadas em um abatedouro comercial de frango. As amostras foram embaladas em sacos de polietileno de baixa densidade, congeladas (-18 ± 1 °C) por uma noite em túnel. Em seguida, os lotes individuais mantidos congelados com gelo seco foram irradiados com doses de 3,0 kGy, 4,0 kGy e não irradiados. Após irradiação, as amostras foram armazenadas sob refrigeração (2 ± 1 °C), avaliadas quanto à oxidação lipídica e à qualidade microbiológica periodicamente, até que apresentassem contagem total de bactérias mesófilas acima dos limites permitidos pela legislação (São Paulo, 1992).

2.2. Irradiação

Utilizou-se uma fonte de radiação de ^{60}Co do tipo “gammacell” com atividade de 10,300 Ci, produzindo uma taxa de dose de $7,32 \text{ kGy.h}^{-1}$. A rotina dosimétrica foi conduzida com dosímetros “Far West Technology”. As amostras de CMSF foram dispostas no campo de radiação de modo a minimizar diferenças na dose de radiação. Os erros padrão médio das doses de radiação absorvidas em relação às doses aplicadas foram $\pm 0,22$ e $\pm 0,28$, respectivamente, para doses de 3,0 e 4,0 kGy.

2.3. Análises microbiológicas

A contagem padrão total de bactérias mesófilas e psicrotróficas foi realizada utilizando-se “Plate Count Agar” (Vanderzant & Splittstoesser, 1992). No caso da determinação de ocorrência de *Salmonella* spp., frações de 25 g de cada amostra de CMSF foram inoculadas em água peptonada tamponada como meio de pré-enriquecimento (ABNT, 1991). Em seguida, alíquotas foram transferidas para os meios de enriquecimento caldo tetracionato e caldo Rapaport Vassiliadis. Após período de incubação, foram transferidas alçadas para os meios sólidos ágar bismuto sulfito, ágar xilose desoxicolato e ágar entérico de Hectoen. Colônias típicas foram submetidas a testes bioquímicos (kit API 20E, bioMérieux), de acordo com Andrews & June (1998).

Para verificar a ocorrência de *Staphylococcus aureus* foi utilizado o meio ágar Baird-Parker contendo gema de ovo e telurito, de modo que colônias típicas foram submetidas a testes bioquímicos de identificação, de acordo com Bennett & Lancette (1998).

A presença de *Clostridium perfringens* foi verificada utilizando-se o meio ágar triptose sulfito cicloserina com sobrecamada e a incubação realizada em jarra de anaerobiose (fabricante BBL) contendo envelope para sistema anaeróbio com catalisador de paládio (fabricante BBL). Colônias típicas foram submetidas a testes bioquímicos de identificação de acordo com Vanderzant & Splittstoesser (1992).

A determinação da ocorrência de microrganismos pertencentes ao grupo dos coliformes foi realizada usando-se o método dos tubos múltiplos (série de três tubos). O meio de cultivo caldo lauril sulfato triptose foi utilizado como meio presuntivo para a presença de coliformes, e o Caldo EC para a confirmação da presença de coliformes fecais. O número mais provável por grama (MPN.g⁻¹) de coliformes fecais foi determinado por meio de tabela de número mais provável, apropriada às diluições inoculadas (Vanderzant & Splittstoesser, 1992).

2.4. Enterotoxina estafilocócica

Linhagens identificadas como *S. aureus* e linhagens de *Staphylococcus* spp. coagulase negativas foram avaliadas quanto à produção de enterotoxinas utilizando-se o teste “VIDAS-Staph enterotoxin”, com leitura em equipamento mini-VIDAS - bioMérieux (Bennett & Lancette, 1998), de acordo com as instruções do fabricante. Além disso, amostra de CMSF foi analisada quanto à presença de enterotoxinas estafilocócicas, antes e após o processo de irradiação. O teste VIDAS detecta as enterotoxinas estafilocócicas dos tipos A, B, C, D e E apresentando sensibilidade de, no mínimo, 1 ng.mL⁻¹. Resultados de valor de leitura < 0,13 são considerados negativos. Em seguida, as linhagens e as amostras de CMSF positivas para enterotoxina estafilocócica foram avaliadas, utilizando-se o teste Reversed Passive Latex Agglutination (RPLA, staphylococcal enterotoxins - OXOID), visando a determinar o tipo de enterotoxina estafilocócica produzido. Este teste detecta as enterotoxinas estafilocócicas dos tipos A, B, C e D, de modo que sua sensibilidade, de acordo com o fabricante, é de 0,5 ng.mL⁻¹.

Foi realizado teste para verificar o efeito da radiação gama sobre enterotoxina estafilocócica do tipo C (EEC), produzida por linhagem bacteriana isolada da própria CMSF. Duas amostras de CMSF e também dois extratos das respectivas amostras, preparados com solução tampão, de acordo com as especificações do fabricante do “kit-VIDAS Staph” foram inoculados com EEC. As amostras assim preparadas foram checadas como positivas para EEC, utilizando-se o teste RPLA, congeladas a -18 ± 1 °C e irradiadas com dose de 3,0 kGy, utilizando-se fonte de ⁶⁰Co e também acelerador de elétrons.

2.5. Análises químicas

A oxidação lipídica foi medida como valores de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), utilizando-se uma versão modificada do método de Tarladgis, Watts & Younathan (1960). A modificação foi a adição de butilato de

hidroxitolueno, antes da etapa de homogeneização da amostra de CMSF, a fim de prevenir a autoxidação, de acordo com as recomendações de Pikul, Leszczynski & Kummerow (1983). Os resultados foram expressos como mg Malonaldeído.kg⁻¹ CMSF. As análises foram realizadas em triplicata, para cada amostra avaliada. Para amostras de CMSF de 10 g e 89,1 % de recuperação do padrão 1,1,3,3, tetraetoxipropano, o valor médio da constante de destilação (k) foi 5,0. Os valores médios para a composição centesimal da CMSF foram 66,6 % de umidade (Horwitz, 1980), 19,1 % de gordura (Horwitz, 1980), 13,2 % de proteína (Horwitz, 1980) e 1,0 % de cinzas (Horwitz, 1980). As análises de composição centesimal foram realizadas em triplicata.

2.6. Análise estatística

Para a avaliação microbiológica e química, foram realizadas 4 replicações do experimento e os resultados analisados pelo modelo linear geral do programa estatístico SAS, do Instituto SAS (1997). As análises de variância foram realizadas utilizando-se o método dos quadrados mínimos. As médias foram comparadas utilizando-se o Teste t de “Student”. O modelo estatístico utilizado para as análises de variância foi o seguinte:

$$y_{ijk} = \mu + T_i + H_{j(i)} + e_{ijk}$$

y_{ijk} = variável dependente;

μ = média geral da variável dependente;

T_i = efeito fixo do $i^{\text{ésimo}}$ tratamento ($i=1,2,3$);

$H_{j(i)}$ = efeito fixo do $j^{\text{ésimo}}$ tempo dentro do $i^{\text{ésimo}}$ tratamento ($j=0, 2, 4, \dots, 14$);

e_{ijk} = erro aleatório;

3. Resultados e Discussão

3.1. Análises microbiológicas

Os valores médios obtidos para a contagem de bactérias psicrotróficas ao longo do armazenamento refrigerado foram os seguintes: $5,78 \pm 1,45 \log (\text{UFC}).\text{g}^{-1}$, $5,02 \pm 1,37 \log (\text{UFC}).\text{g}^{-1}$ e $4,72 \pm 1,24 \log (\text{UFC}).\text{g}^{-1}$, respectivamente, para amostras de CMSF não irradiadas, irradiadas com dose de 3,0 kGy e 4,0 kGy. Por outro lado, os valores médios obtidos para a contagem de bactérias mesófilas ao longo do armazenamento refrigerado foram os seguintes: $5,93 \pm 1,21 \log (\text{UFC}).\text{g}^{-1}$, $5,06 \pm 1,68 \log (\text{UFC}).\text{g}^{-1}$ e $4,42 \pm 1,34 \log (\text{UFC}).\text{g}^{-1}$, respectivamente, para amostras de CMSF não irradiadas, irradiadas com dose de 3,0 kGy e 4,0 kGy. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) quando comparados os valores recíprocos obtidos para contagens de bactérias psicrotróficas e mesófilas em CMSF. Sendo assim, no presente estudo, para a variável contagem total de bactérias, os microrganismos psicrotróficos foram considerados indicadores microbiológicos de vida útil da CMSF armazenada sob refrigeração (Figura 1). Os resultados apresentados eram esperados, uma vez que os microrganismos psicrotróficos são um sub-grupo dos mesófilos, de modo que os microrganismos comumente associados com a deterioração em alimentos refrigerados são os psicrotróficos e não os psicrófilos (Vandenzant & Splittstoesser, 1992). Os resultados obtidos para a contagem total de bactérias psicrotróficas em CMSF irradiada e não irradiada apresentaram o comportamento previsível e esperado, como mostra a Figura 1 (Gallien et al., 1983; Paquin, 1985; Murano, 1995).

Ao longo do período de armazenamento refrigerado, houve aumento significativo ($p < 0,05$) nos valores de bactérias psicrotróficas quando avaliadas amostras de CMSF irradiadas ou não. Os valores de bactérias psicrotróficas foram significativamente maiores ($p < 0,05$) para as amostras de CMSF não irradiadas (média = $5,78 \pm 1,7 \log (\text{UFC}).\text{g}^{-1}$), até o 8º dia de armazenamento refrigerado,

quando comparado às contagens obtidas para amostras irradiadas com doses de 3,0 kGy (média = $3,67 \pm 0,8 \log(\text{UFC}).\text{g}^{-1}$) e 4,0 kGy (média = $3,44 \pm 0,9 \log(\text{UFC}).\text{g}^{-1}$). As amostras de CMSF irradiadas com doses de 3,0 kGy e 4,0 kGy não apresentaram, entre si, diferença significativa ($p > 0,05$) para os valores de bactérias psicrotróficas, até 12 dias de armazenamento refrigerado. Os resultados mostraram que as amostras de CMSF irradiadas com doses de 3,0 kGy e 4,0 kGy, somente apresentaram valores de bactérias psicrotróficas, significativamente superiores ($p < 0,05$) aos valores iniciais (dia zero) detectados em amostras de CMSF não irradiadas (bactérias psicrotróficas: $3,85 \pm 0,6 \log(\text{UFC}).\text{g}^{-1}$), após 10 dias de armazenamento refrigerado (Tabela 1).

A legislação brasileira não estabelece valores limites para a contagem total de bactérias em CMSF, entretanto, contagem máxima de $6,48 \log(\text{UFC}).\text{g}^{-1}$ é considerada satisfatória em carne e aves (São Paulo, 1992). De acordo com esta legislação (São Paulo, 1992), as amostras de CMSF não irradiadas apresentaram contagem total de bactérias fora dos padrões recomendados ou seja, maior que $6,48 \log(\text{UFC}).\text{g}^{-1}$, após 6 ($6,68 \pm 0,9 \log(\text{UFC}).\text{g}^{-1}$) dias de armazenamento refrigerado. Amostras de CMSF irradiadas com doses de 3,0 kGy e 4,0 kGy somente mostraram valores para contagem total de bactérias psicrotróficas acima dos limites aceitáveis pela legislação, ou seja, respectivamente, $7,04 \pm 1,2 \log(\text{UFC}).\text{g}^{-1}$ e $6,61 \pm 0,6 \log(\text{UFC}).\text{g}^{-1}$, após 12 dias de armazenamento refrigerado.

Dos resultados apresentados, pode-se inferir que as amostras de CMSF não irradiadas, além de apresentar maior número de bactérias psicrotróficas ao longo de todo o período de armazenamento refrigerado, também apresentaram maior taxa de crescimento bacteriano em relação às amostras irradiadas (Figura 1 e Tabela 1). A radiação ionizante além de matar células também causa injúria celular, o que poderá alterar a taxa de crescimento de células sobreviventes ao processo de irradiação (Lamuka, Sunki, Cahwan, Rao & Shackelford, 1992; Thayer & Boyd, 1996).

Os valores médios iniciais (tempo zero) de coliformes fecais em amostras de CMSF não irradiadas foram $2,20 \pm 0,9 \log(\text{NMP}).\text{g}^{-1}$ e não apresentaram aumento significativo ($p < 0,05$) até 8 dias de estocagem refrigerada. Estes valores estiveram dentro dos limites recomendados pela legislação (São Paulo, 1992), que permite valor máximo de $2,48 \log(\text{NMP}).\text{g}^{-1}$ para coliformes fecais em carne. Os microrganismos pertencentes ao grupo dos coliformes mostraram-se bastante radiosensíveis neste experimento uma vez que não foram detectados em amostras de CMSF irradiadas com doses de 3,0 kGy e 4,0 kGy, ao longo do período de armazenamento refrigerado. De acordo com Paquin (1985), os coliformes fecais foram reduzidos de 0,5 a 1,0 ciclo logaritmo, quando CMSF foi irradiada congelada, com doses de 1,0 a 2,0 kGy.

Estudos abordando contagem total de bactérias em CMSF têm, em geral, realizado a determinação dos valores de microrganismos mesófilos ao invés de psicrotróficos. Sendo assim, com o intuito de comparar resultados obtidos em diferentes pesquisas, serão realizados alguns comentários rápidos acerca dos valores de bactérias mesófilas obtidos no presente estudo, sem, no entanto, entrar em detalhes de análise estatística ou apresentação de tabelas.

No presente estudo, o número de bactérias mesófilas presente em CMSF não irradiada, analisada no tempo 0 de armazenamento refrigerado, variou de $3,36 \log(\text{UFC}).\text{g}^{-1}$ a $5,64 \log(\text{UFC}).\text{g}^{-1}$ sendo que o valor médio observado foi de $4,44 \log(\text{UFC}).\text{g}^{-1}$. Estes resultados concordaram com os valores obtidos por diferentes autores (Ostovar, MacNeil & O'Donnell, 1971; Lillard, 1977; Bijker, van Lodtestijn & Mossel, 1987 e Xavier & Beraquet, 1994). Os valores de bactérias mesófilas aeróbias presentes em CMSF irradiada com doses de 3,0 kGy e 4,0 kGy, avaliados no dia 0 de armazenamento refrigerado, foram reduzidos em média, respectivamente, em $1,29 \log(\text{UFC}).\text{g}^{-1}$ e $1,66 \log(\text{UFC}).\text{g}^{-1}$, quando comparados aos valores médios obtidos para a amostra não irradiada. Os resultados do presente estudo não concordaram com aqueles obtidos por Gallien, Paquin, Ferradini & Sadat-Shafai (1985), os quais irradiaram amostras de CMSF congeladas (-18 ± 1

$^{\circ}\text{C}$), com doses de 3,0 kGy e de 4,0 kGy, e verificaram redução da flora mesofílica total, respectivamente, de 1,95 e 2,16 $\log(\text{UFC}).\text{g}^{-1}$. Fatores como a composição da CMSF e taxa de dose durante a irradiação podem influenciar a redução da carga microbiana em CMSF, submetida às mesmas doses de radiação ionizante.

No presente estudo realizou-se pesquisa intensiva visando à identificação de linhagens bacterianas isoladas de meios de cultivo para detecção presuntiva de *Salmonella* spp. (1181 linhagens) bem como de *C. perfringens* (65 linhagens) e nenhuma das cepas testadas foram confirmadas, respectivamente, como pertencentes a esse gênero ou espécie (Andrews & June, 1998; Vanderzant & Splittstoesser, 1992).

O *S. aureus* foi detectado ao longo do período de armazenamento refrigerado da CMSF irradiada e não irradiada (Tabela 2). Verifica-se que até o 6 $^{\circ}$ dia de armazenamento refrigerado foram detectadas amostras de CMSF não irradiadas, classificadas como inaceitáveis frente à contaminação por *S. aureus*, ou seja, apresentando valores para contagem maiores do que 3,70 $\log(\text{UFC}).\text{g}^{-1}$ (Brasil, 2000).

Para o tempo zero de armazenamento refrigerado as amostras de CMSF não irradiadas e contaminadas por *S. aureus* apresentaram valores médios de contagem de $3,59 \pm 0,38 \log(\text{UFC}).\text{g}^{-1}$. Considerando-se o limite de detecção do método utilizado neste estudo, as amostras de CMSF irradiadas reduziram os valores iniciais de *S. aureus*, no mínimo, 2,60 ciclos logaritmos. Os resultados deste estudo estão de acordo com aqueles obtidos para a CMSF inoculada com *S. aureus*, mantida a 0 $^{\circ}\text{C}$ e irradiada com dose de 3,0 kGy, quando a redução deste microrganismo foi de, no máximo, 6,3 $\log(\text{UFC}).\text{g}^{-1}$ (Thayer & Boyd, 1992).

No presente estudo, ao longo do período de armazenamento refrigerado, foram detectadas amostras de CMSF irradiadas com dose de 3,0 kGy positivas quanto à ocorrência de *S. aureus*, mas ainda aceitáveis frente à legislação, ou seja,

apresentando contagens menores do que $2,70 \log(\text{UFC}).\text{g}^{-1}$ (Brasil, 2000). Somente no 6º dia sob refrigeração verificou-se amostras de CMSF irradiadas com dose de 3,0 kGy contaminadas por *S. aureus*, de modo que o valor médio obtido, considerando-se somente as amostras positivas, foi de $1,52 \pm 0,3 \log (\text{UFC}).\text{g}^{-1}$ (Tabela 2). Este valor foi em média, 1,84 ciclos logaritmos menor do que os valores recíprocos de *S. aureus* determinados nas amostras de CMSF não irradiadas. Lamuka et al. (1992) verificaram que, carcaças de frango fresco irradiadas com dose de 2,5 kGy também reduziram os valores de *Yersinia* spp. e *Campylobacter* spp. a níveis não detectáveis no dia zero de armazenamento refrigerado, mas algumas células recuperaram-se da injúria do processo de irradiação e cresceram, respectivamente, a partir do 3º e do 6º dias de armazenamento refrigerado (+ 4 °C). No presente estudo, o *S. aureus* não foi detectado em amostras de CMSF irradiadas com dose de 4,0 kGy.

3.2. Enterotoxinas estafilocócicas

A partir de 307 linhagens bacterianas isoladas do crescimento em ágar Baird-Parker, 29 (9,4 %) foram confirmadas como *S. aureus* coagulase positivas. Estas e mais outras seis linhagens caracterizadas como *Staphylococcus* spp. coagulase negativas foram submetidas aos testes de produção e detecção de enterotoxinas estafilocócicas. Desse total de 35 linhagens, nove eram provenientes de amostras de CMSF irradiadas com dose de 3,0 kGy e apresentaram-se negativas quanto à produção de enterotoxina estafilocócica dos tipos A, B, C, D e E. A partir de 5 linhagens de *Staphylococcus* spp. produtoras de enterotoxina, 60,0 % (3 linhagens) foram positivas para enterotoxina estafilocócica A (Tabela 3). Gibbs, Patterson & Harvey (1978) verificaram que a maior parte das linhagens de *S. aureus* enterotoxigênicas isoladas de frangos produziram enterotoxina do tipo A. Por outro lado, outros autores têm verificado que linhagens de *S. aureus* produtoras de enterotoxina do tipo D são as mais freqüentemente isoladas de frango (Harvey, Patterson & Gibbs, 1982, Raska, Matějovská, Matějovská, Bergdoll & Petrás, 1981, Shiozawa, Kato & Shimizu, 1980).

As linhagens código 61 e código 105 foram confirmadas como produtoras de enterotoxina estafilocócica pelo teste VIDAS, mas não pelo teste RPLA (Tabela 3). Provavelmente estas linhagens de *Staphylococcus* spp. produziram enterotoxina estafilocócica do tipo E que não é detectada no teste RPLA. Outra hipótese está relacionada à possibilidade destas linhagens serem pauciprodutoras de inúmeras enterotoxinas estafilocócicas, com níveis abaixo do limite de detecção pelo teste RPLA. O método VIDAS utiliza anticorpos policlonais e não é específico para tipos de enterotoxinas estafilocócicas (enterotoxinas dos tipos A, B, C, D e E) presentes no extrato avaliado. Sendo assim, utilizando-se o método VIDAS, pode-se detectar enterotoxinas estafilocócicas em amostras de CMSF contendo diferentes enterotoxinas produzidas em baixas concentrações.

No presente estudo, a CMSF não irradiada apresentou-se contaminada por linhagens de *Staphylococcus* spp. coagulase negativas (linhagens código 35, 61 e 105) produtoras de enterotoxina estafilocócica. Vale ressaltar que, a partir de 29 linhagens confirmadas como *S. aureus*, apenas 6,9 % (2 linhagens) mostraram-se positivas para a produção enterotoxina estafilocócica, enquanto, a partir de seis linhagens de *Staphylococcus* spp. coagulase negativas, 50,0 % (3) produziram enterotoxina estafilocócica. Estudos recentes têm demonstrado que linhagens de *Staphylococcus* spp. coagulase negativas são capazes de crescer e produzir enterotoxina, tanto em meios de cultura laboratoriais, bem como no próprio alimento (Pereira, 1996; Oliveira, 1999).

Foi realizado teste para verificar a presença de enterotoxina estafilocócica em amostra procedente de um dos lotes de CMSF. O resultado obtido pelo método VIDAS mostrou que a CMSF estava contaminada com enterotoxina estafilocócica (Tabela 4). O teste VIDAS apresenta limite mínimo de detecção de 1 ng.mL^{-1} , quando o valor de leitura para o teste é 0,13. Considerando-se a diluição que o alimento sofreu em solução tampão durante a preparação de seu extrato para leitura do teste VIDAS, quando a leitura de valor de teste é 0,13, a concentração de enterotoxina estafilocócica no alimento será em torno de $1,5\text{ ng.g}^{-1}$. A legislação

brasileira permite até 60 % de CMS na formulação de salsichas (Brasil, 2000). Sendo assim, 100 g de salsicha contendo 60 % de CMSF apresentando $1,5 \text{ ng.g}^{-1}$ de enterotoxina estafilocócica estará contaminada com 90 ng de enterotoxina estafilocócica. De acordo com a literatura, valores entre 94 – 187 ng de enterotoxina foram suficientes para causar a doença em crianças, após a ingestão de leite achocolatado contaminado por enterotoxina estafilocócica do tipo A (Evenson, Hinds, Bernstein & Bergdoll, 1988). Uma vez que o valor de leitura determinado na amostra de CMSF contaminada por enterotoxina estafilocócica e avaliada no presente estudo foi 0,48 e portanto, bem acima do limite de detecção do teste VIDAS, alimentos contendo esta matéria-prima poderiam vir a causar intoxicação alimentar estafilocócica.

A partir de 7 linhagens de *S. aureus* procedentes de amostras desse lote de CMSF, uma foi confirmada como produtora de enterotoxina estafilocócica do tipo C. Os valores de *S. aureus* detectados nesse lote foram menores que $2,7 \text{ log(UFC).g}^{-1}$, ou seja, número considerado como inteiramente aceitável para CMSF (Brasil, 2000). O número de *S. aureus* necessário para produzir enterotoxina em níveis detectáveis no alimento não é conhecido, mas a melhor estimativa aponta para valores entre 10^6 a 10^7 UFC.g^{-1} de alimento (Bergdoll, 1992). Sendo assim, no caso dessa matéria-prima, outras fases da linha de produção e abate de frango devem estar envolvidas com o crescimento e produção de enterotoxina por *Staphylococcus* spp..

Estudos têm mostrado que os dedos das depenadeiras no abate de aves são locais preferenciais para o crescimento de linhagens endêmicas de *S. aureus* e *Staphylococcus* coagulase negativos. Essas linhagens têm-se mostrado até oito vezes mais resistentes ao cloro do que linhagens isoladas da flora natural da pele de aves. (Dodd, Mead & Waites, 1988; Bolton, Dodd, Mead & Waites, 1988; Purdy, Dodd, Fowler & Waites, 1988; Notermans, Dufrenne & van Leeuwen, 1982; Mead & Scott, 1994). De acordo com Dodd et al. (1988), amostras tomadas nos dedos das depenadeiras atingiram 10^3 UFC/suabe na entrada da primeira máquina, mas

aumentaram para 10^7 UFC/suabe na coleta de saída, decrescendo nas análises de amostras da segunda e terceira depenadeiras. Alta temperatura, umidade e constante suprimento de nutrientes durante a depenagem permitem o crescimento, proliferação e competição de *S. aureus* com outras bactérias neste ambiente.

De acordo com Herten, Board & Mead (1989), a produção de enterotoxina por *S. aureus* parece ser mais influenciada pela temperatura do que pela competição bacteriana. Estes autores verificaram que, em temperatura de 37°C , enterotoxina estafilocócica foi produzida em carne de frango, quando a população de *S. aureus* atingiu $6 \times 10^6 - 2 \times 10^7$ UFC.g⁻¹, com a presença de outros organismos deterioradores em números similares. Os *S. aureus* procedentes de equipamentos em linhas de abate de aves têm mostrado produzir enterotoxinas. (Isigigi, Mathieu, Devriese, Godard & Van Hoof, 1992).

De acordo com a literatura anterior, na linha de abate de frango existem locais favoráveis ao crescimento de *S. aureus* (depenadeiras, esteiras e equipamentos em geral), e este microrganismo, por sua vez, pode produzir enterotoxinas, contaminar as carcaças e a pele das aves durante o processamento. É bem conhecido que a CMSF produzida na indústria apresenta, em sua composição, certa quantidade de pele, mesmo a CMSF produzida a partir de dorso denominado de “sem pele”.

Outro aspecto a ser considerado para explicar a presença de enterotoxina estafilocócica em CMSF apresentando baixas contagens de *S. aureus* é a possibilidade de produção de enterotoxina por linhagens de *Staphylococcus* spp. coagulase negativas que não são consideradas frente a legislação brasileira (Brasil, 2000). Como já enfatizado anteriormente no presente estudo, a CMSF não irradiada apresentou-se contaminada por linhagens de *Staphylococcus* spp. coagulase negativas produtoras de enterotoxina, as quais podem crescer e produzir enterotoxinas no alimento (Pereira, 1996; Oliveira, 1999). De acordo com Mead & Scott (1994), linhagens endêmicas de *Staphylococcus* coagulase negativas (*S. sciuri*) contaminaram as carcaças de frango após a depenagem. A literatura tem notificado a

produção de enterotoxinas por diferentes espécies de estafilococos coagulase negativas, tais como: *S. lentus*, *S. xylosus*, *S. sciuri*, *S. hyicus*, e *S. chromogenes*, freqüentemente encontradas em aves (Devriese, Schleifer & Adegake, 1985; Valle, Gomez-Lucia, Piriz, Goyache, Orden & Vadillo, 1990; Vernozzy-Rozand et al., 1996). Crass & Bergdoll (1986) descreveram uma linhagem de estafilococos coagulase negativa, produtora de enterotoxina A, que foi isolada de frango envolvido num caso de intoxicação alimentar estafilocócica.

Os resultados apresentados no presente estudo alertam sobre a possibilidade de linhagens de *Staphylococcus* spp. coagulase negativas, presentes em CMSF, estarem envolvidas na etiologia dessa intoxicação alimentar.

3.3. Efeito da radiação ionizante sobre enterotoxina estafilocócica

Uma vez que foi detectada amostra de CMSF contaminada por enterotoxina estafilocócica, parte de tal amostra bem com seu extrato (produzido em solução tampão de acordo com as recomendações do fabricante do teste VIDAS) foram submetidos ao processo de irradiação com dose de 3,0 kGy. Os resultados mostraram que a irradiação com dose de 3,0 kGy reduziu a contaminação por enterotoxina estafilocócica em amostra de CMSF, a níveis não detectáveis pelo método VIDAS. Por outro lado, quando o extrato da mesma carne, ou seja, também contaminado por enterotoxina estafilocócica foi irradiado, o resultado para contaminação por enterotoxina estafilocócica permaneceu positivo (Tabela 4). A fim de estudar o efeito da irradiação com dose de 3,0 kGy sobre enterotoxina estafilocócica, o teste foi repetido com controles positivos, constituídos por CMSF contaminada com enterotoxina estafilocócica tipo C (produzida por linhagem isolada de CMSF no presente estudo). Tanto a irradiação utilizando fonte de ^{60}Co como acelerador de elétrons apresentaram efeito na redução da quantidade de toxina, medida pelo teste VIDAS (Tabela 4).

Os resultados obtidos concordaram com aqueles descritos anteriormente (Tabela 4), de modo que as amostras de CMSF irradiadas em fonte de Co-60 ou em aceleradores de elétrons apresentaram maior redução (menores leituras no teste VIDAS) na contaminação por enterotoxina estafilocócica do que os respectivos extratos de CMSF, irradiados nas mesmas condições experimentais. Tal fato pode ser explicado, uma vez que, durante o processo de irradiação, a absorção de radiação ionizante por cadeias polipeptídicas pode provocar diferentes tipos de reação, de acordo com a dose absorvida, temperatura e presença ou ausência de oxigênio. As reações podem conduzir à ruptura de ligações peptídicas, uma desaminação primária e secundária, oxidação de grupamentos tióis (SH) e redução de pontes dissulfídicas (SS), acarretando modificações estruturais nas proteínas (Latreille, Lacroix, Icart, Simard & Gagnon, 1993). Informações sobre os efeitos da irradiação sobre toxinas em alimentos são restritos, particularmente, acerca das enterotoxinas estafilocócicas, as quais são resistentes à desnaturação pelo calor (Tatini, 1976). Os resultados do presente estudo, entretanto, não concordaram com os poucos estudos citados na literatura, os quais verificaram que alimentos têm maior efeito protetor sobre as enterotoxinas estafilocócicas dos tipos A e B durante o processo de irradiação, quando os resultados obtidos foram comparados a meios líquidos, incluindo alguns tipos de solução tampão (Read & Bradshaw, 1967; Rose, Modi, Tranter, Bailey, Stringer & Hambleton, 1988).

É difícil fazer-se uma simples e válida comparação entre os resultados apresentados nos poucos estudos existentes, uma vez que a variedade de meios complexos, tipos de enterotoxinas e de alimentos testados, bem como os tampões usados nesses estudos, podem variar sua proteção sobre as toxinas, frente ao processo de irradiação. Além disso, as técnicas usadas no presente estudo, para a detecção de enterotoxinas estafilocócicas são significativamente mais sensíveis, por exemplo, do que a técnica de imunodifusão usada por Read & Bradshaw (1967). No presente estudo, utilizou-se enterotoxina C produzida por uma linhagem de *S. aureus* isolada da própria CMSF e não a toxina purificada, a qual muitas vezes está complexada à proteína não tóxica e essa última, por sua vez, poderá oferecer

proteção adicional contra a desnaturação frente ao processo de irradiação (Rose et al., 1988).

A CMSF é uma matéria-prima que apresenta componentes pró-oxidantes devido à incorporação de oxigênio no processo de produção e também devido ao aporte de fosfolipídeos e pigmentos heme da medula óssea, além de apresentar alta porcentagem de lipídeos em sua composição. Tais características, associadas a radicais livres produzidos durante o processo de irradiação podem ter efeito sinérgico e devem ser considerados, frente às alterações das enterotoxinas estafilocócicas quando irradiadas nesse substrato. Em outros sistemas cárneos, apresentando características intrínsecas distintas, poderão ser determinados diferentes tipos de relação dose de radiação ionizante e efeito sobre enterotoxinas estafilocócicas.

São necessários estudos complementares para verificar se o tipo de substrato, bem como as condições de irradiação, têm efeito diferenciado na proteção dos diferentes tipos de enterotoxinas estafilocócicas, frente à radiação ionizante. Para bactérias patogênicas, por exemplo, fatores como o substrato, a faixa de dose de radiação aplicada, o microrganismo, bem como a temperatura durante o processo de irradiação, têm mostrado influenciar significativamente o valor D_{10} .

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, verificou-se que o processo de irradiação da CMSF possibilita aumentar a segurança ao consumidor e à cadeia produtiva industrial, no que diz respeito à contaminação por *Staphylococcus* spp. e suas enterotoxinas, uma vez que pode eliminar a contaminação da CMSF por *S. aureus* e reduzir as quantidades de enterotoxina estafilocócica eventualmente presente nessa matéria-prima.

3.4. Análise química

Os valores de TBARS para amostras de CMSF não irradiadas apresentaram-se constantes ($p > 0,05$) ao longo de todo o período sob refrigeração, ou seja, até 8 dias de armazenamento. Para as amostras de CMSF irradiadas com doses de 3,0 kGy e 4,0 kGy, observou-se aumento significativo ($p < 0,05$) nos valores de TBARS ao longo do armazenamento refrigerado. As amostras de CMSF irradiadas com doses de 3,0 kGy e 4,0 kGy apresentaram valores de TBARS significativamente maiores ($p < 0,05$) do que as amostras de CMSF não irradiadas, após 4, 6 e 8 dias de armazenamento refrigerado (Figura 2 e Tabela 5). Este comportamento esteve de acordo com os resultados de estudo sobre peroxidação lipídica em carne de frango irradiada (2,5 kGy) e armazenada sob refrigeração (0 a 3 °C) (Kannat et al., 1997; Kannatt, Paul, Souza & Thomas, 1998). Os resultados obtidos eram esperados, uma vez que o processamento de alimento com radiação ionizante leva à produção de radicais livres que são catalisadores da oxidação lipídica (Paquin, 1985; Hackwood, 1991; Potter & Hotchkiss, 1995; Shahidi, 1997). De acordo com Du, Ahn, Nam & Sell (2000), os aldeídos representaram 90 % dos compostos voláteis detectados em carne de frango fresca irradiada (3,0 kGy) ou não irradiada, após sete dias sob refrigeração. Houve correlação positiva entre aldeídos e valores de TBARS.

Quando comparados entre si os valores de TBARS obtidos em amostras de CMSF processadas com doses de 3,0 kGy e 4,0 kGy, observou-se que até 6 dias de armazenamento refrigerado não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre valores recíprocos de TBARS, de modo que, aos 8 e 12 dias de armazenamento, as amostras de CMSF irradiadas com dose de 4,0 kGy (8 dias: $5,82 \pm 1,6$ mg Mal.kg⁻¹, 12 dias: $6,17 \pm 1,5$ mg Mal.kg⁻¹) apresentaram valores de TBARS significativamente maiores ($p < 0,05$) do que as amostras de CMSF irradiadas com dose de 3,0 kGy (8 dias: $3,87 \pm 1,6$ mg Mal.kg⁻¹, 12 dias: $4,97 \pm 1,9$ mg Mal.kg⁻¹) (Figura 2 e Tabela 5).

Alguns autores têm considerado valores de TBARS tão baixos quanto 1,0 mg Mal.kg⁻¹, como limite, a partir do qual a rancidez da carne devido à oxidação lipídica torna-se evidente sensorialmente (Tarladgis et al., 1960). Por outro lado, produtos cárneos tais como a carne de frango ou salsichas contendo CMSF em sua formulação, têm sido considerados aceitáveis sensorialmente quando os valores de TBARS atingem valores de até 4,34 e 4,77 mg Mal.kg⁻¹ de amostra, respectivamente (Kannatt et al., 1998; Lee, Williams, Sloan & Littell, 1997). Outros autores determinaram os efeitos de diferentes técnicas de embalagem e o uso de aditivos na vida de prateleira de CMSF mantida sob refrigeração (0-2 °C) e observaram que a rancidez parece não ser um ponto crítico no armazenamento refrigerado do produto, uma vez que os provadores não detectaram em nenhum momento o odor de ranço até o sétimo dia, quando os valores de TBARS variaram de cerca de 1,0 a 3,0 mg Mal.kg⁻¹ de amostra (Xavier & Beraquet, 1994).

O estudo desenvolvido sobre a estabilidade da CMSF durante armazenamento congelado mostrou que os valores de TBARS atingiram 3,9 mg Mal.kg⁻¹ de amostra após 6 meses de armazenamento. Salsichas formuladas a partir da mesma fonte de carne (após 0, 3 e 6 meses de congelamento) foram consideradas altamente aceitáveis, tanto por medidas objetivas como subjetivas (Dhilon & Maurer, 1975). Uma vez que dados da literatura indicaram valor de 3,9 mg Mal.kg⁻¹ de CMSF altamente aceitáveis para formulações contendo esta matéria-prima, este valor foi tomado no presente estudo como limite máximo considerado aceitável para amostras de CMSF, ao longo do armazenamento refrigerado. Sendo assim, as amostras de CMSF não irradiadas e irradiadas com doses de 3,0 kGy e 4,0 kGy apresentaram-se aceitáveis quanto aos valores de TBARS, respectivamente, por, no mínimo 8 dias, 10 e 6 dias sob refrigeração.

4. Conclusões

Considerando-se em conjunto a contagem total de bactérias psicrotróficas e os números de TBARS, verificou-se que a irradiação aumentou a vida útil da CMSF uma vez que as amostras não irradiadas e aquelas irradiadas com doses de 3,0 kGy e 4,0 kGy apresentaram-se aceitáveis, respectivamente, por 4 ($4,87 \pm 0,8 \log (\text{UFC}).\text{g}^{-1}$ e $0,16 \pm 0,1 \text{ mg Mal.kg}^{-1}$), 10 ($6,15 \pm 0,8 \log (\text{UFC}).\text{g}^{-1}$ e $3,26 \pm 1,4 \text{ mg Mal.kg}^{-1}$) e 6 ($4,16 \pm 0,4 \log (\text{UFC}).\text{g}^{-1}$ e $2,62 \pm 1,5 \text{ mg Mal.kg}^{-1}$) dias de armazenamento refrigerado.

O processo de irradiação da CMSF com doses de 3,0 kGy e 4,0 kGy possibilitou aumentar a segurança ao consumidor e à cadeia produtiva industrial, no que diz respeito à contaminação por *Staphylococcus* e suas enterotoxinas, uma vez que pode eliminar a contaminação da CMSF por *S. aureus* e reduzir as quantidades de enterotoxina estafilocócica eventualmente presente nessa matéria-prima.

Para a CMSF não irradiada, a principal variável que limitou sua vida útil foi a contaminação bacteriana, enquanto que, para as amostras de CMSF irradiadas com doses de 3,0 kGy e 4,0 kGy, o principal fator limitante foi a oxidação lipídica.

Referências Bibliográficas

- Andrews, W. H. & June, G. A. (1998). Salmonella. In: *Bacteriological Analytical Manual* (cap. 5.), Arlington, AOAC.
- Associação Brasileira de Normas Técnicas. (1991). *Salmonella: determinação em alimentos* (MB 3465). São Paulo, ABNT.
- Baldini, F. (1994). Setor de corte e desossa. In: *Fundação APINCO. Abate e processamento de frangos* (p. 25-30), Campinas, FACTA.
- Bennett, R. W. & Lancette, G. A. (1998). *Staphylococcus aureus*. In: *Bacteriological Analytical Manual* (cap. 12), Arlington, AOAC.
- Bergdoll, M. S. (1992). Staphylococcal intoxication in mass feeding. In: Tu, A. T. ed. *Food poisoning: handbook of natural toxins*. New York, Marcel Dekker, Inc.
- Bijker, P. G. H., van Logtestijn, J. G. & Mossel, D. A. A. (1987). Bacteriological quality assurance (BQA) of mechanically deboned meat (MDM). *Meat Science*, 20(4), 237-252.
- Bolton, K.J., Dodd, C.E.R., Mead, G.C. & Waites, W.M. Chlorine resistance og strains of *Staphylococcus aureus* isolated from poultry processing plants. *Letters in Applied Microbiology*, 6(2), 31-4, 1988.
- Brasil. (2000). *Instrução normativa n º 4: regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de carne mecanicamente separada de aves, bovinos e suínos (Seção 1, nº 66, Brasil, 5 de abril de 2000)*. Brasília, Imprensa Oficial da União.
- Crass, B. A. & Bergdoll, M. (1986). Involvement of coagulase-negative staphylococci in toxic shock syndrome. *Journal Clinical Microbiology*, 23, 43-45.
- Devriese, L. A., Schleifer, K. H. & Adegake, G. O. (1985). Identification of coagulase-negative staphylococci from farm animals. *Journal Applied Bacteriology*, 58, 45-55.
- Dhilon, A. S. & Maurer, A. J. (1975). Stability study of comminuted poultry meats in frozen storage. *Poultry Science*, 54, 1407-1414.
- Dodd, C.E.R., Mead, G.C. & Waites, W.M. Detection of the sitte of contamination by *Staphylococcus aureus* within the defeathering machinery of a poultry processing plant. *Letters in Applied Microbiology*, 7(3), 63-6, 1988.

- Du, M., Ahn, D. U., Nam, K. C. & Sell, J. L. (2000). Influence of dietary conjugated linoleic acid on volatile profiles, color and lipid oxidation of irradiated raw chicken meat. *Meat Science*, 56, 387-395.
- Evenson, M.L., Hinds, M. W., Bernstein, R.S. & Bergdoll, M.S. Estimation of human dose of staphylococcal enterotoxin A from a large outbreak of staphylococcal food poisoning involving chocolate milk. *International Journal Food Microbiology*. 7, 311-316, 1988.
- Froning, G. W. (1976). Mechanically deboned poultry meat. *Food Technology*, 30(9), 50-63.
- Gallien, C. L., Paquin, J. & Sadat-Shafai, T. (1983). Use of electron beams for decontamination of mechanically separated poultry meat. *Radiation Physics Chemistry*, 22(3-5), 759-763.
- Gallien, C. L., Paquin, J., Ferradini, C. & Sadat-Shafai, T. (1985). Electron beam processing in food industry technology and costs. *Radiation Physics Chemist*, 25(1-3), 81-96.
- Gibbs, P. A., Patterson, J. T. & Harvey, J. (1978). Biochemical characteristics and enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* strains isolated from poultry. *Journal of Applied Bacteriology*, 44, 57-74.
- Hackwood, S. (1991). An introduction to the irradiation processing of foods. In T. Stuart. *Food irradiation* (cap. 1,2 and 7). London, Elsevier.
- Harvey, J., Patterson, J. T. & Gibbs, P. A. (1982). Enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* strains isolated from poultry: raw poultry carcasses as a potential food-poisoning hazard. *Journal of Applied Bacteriology*, 52, 251-258.
- Herten, H., Board, R.G. & Mead, G.C. Conditions affecting growth and enterotoxin production by *Staphylococcus aureus* on temperature abused chicken meat. *Letters Applied Microbiology*, 9: 145-148, 1989.
- Horwitz, W. (1980). *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. Washington, AOAC.
- Isigidi, B. K., Mathieu, A-M., Devriese, L. A., Godard, C. & Van Hoof, J. (1992). Enterotoxin production in different *Staphylococcus aureus* biotypes isolated from food and meat plants. *Journal Applied Bacteriology*, 72, 16-20.

- Kanatt, S. R., Paul, P., Souza, S. F. & Thomas, P. (1997). Effect of gamma irradiation on lipid peroxidation in chicken lamb and buffalo meat during chilled storage. *Journal Food Safety*, 17(4), 283-294.
- Kanatt, S. R., Paul, P., Souza, S. F. & Thomas, P. (1998). Lipid peroxidation in chicken meat during chilled storage as affected by antioxidants combined with low-dose gamma irradiation. *Journal Food Science*, 63(2), 198-200.
- Lamuka, P. O., Sunki, D. R., Chawan, D. R., Rao, D. R. & Shackelford, L. A. (1992). Bacteriological quality of freshly processed broiler chickens as affected by carcass pretreatment and gama irradiation. *Journal Food Science*, 57, 330-332.
- Latreille, M., Lacroix, M., Icart, L., Simard, C. & Gagnon, M. (1993). Effect de la dose et du débit de dose d'irradiation sur la capacité émulsifiante des protéines de poulet. *Sciences des Aliments*, 13, 97-107.
- Lee, M., Sebranek, J.G., Olson, D. G. & Dickson, J. S. (1996). Irradiation and packaging of fresh meat and poultry. *Journal Food Protection*, 59(1), 62-72.
- Lee, T. G., Williams, S. K., Sloan, D. & Litell, R. (1997). Development and evaluation of a chicken breakfast sausage manufactured with mechanically deboned chicken meat. *Poultry Science*, 76, 415-421.
- Lescano, G., Narvaiz, P., Kairiyama, E. & Kaupert, N. (1991). Effect of chicken breast irradiation on microbiological, chemical and organoleptic quality. *Lebensmittel Wissenschaft Technologie*, 24(2), 130-134.
- Lillard, H. S. (1977). Effect of freezing on incidence and levels of *Clostridium perfringens* in mechanically deboned chicken meat. *Poultry Science*, 56(6), 2052-2055.
- Mead, G. C. & Scott, M. J. (1994). Coagulase-negative staphylococci and coliform bacteria associated with mechanical defeathering of poultry carcasses. *Letters Applied Microbiology*, 18, 62-64.
- Murano, E. A. (1995). Irradiation of fresh meats. *Food Technology*, 49(12), 52-54.
- Nothermans, S., Dufrenne, J. & Van Leeuwen, W.J. (1982). Contamination of broiler chickens by *Staphylococcus aureus* during processing; incidence and origin. *Journal of Applied Bacteriology*, 52, 275-280.

- Oliveira, A. M. (1999). *Investigação do comportamento em alimentos de estafilococos enterotoxigênicos coagulase negativos*. PhD thesis. Campinas State University.
- Ostovar, K., MacNeil, J. H. & O'Donnell, K. (1971). Poultry product quality. 5. Microbiological evaluation of mechanically deboned poultry meat. *Journal Food Science*, 36, 1005-1007.
- Paquin, M. (1985). Resultats de L' irradiation des viandes separees mecaniquement. *RTVA*, 43-46.
- Pereira, M. L. (1996). *Staphylococci coagulase negativos pauciprodutores de enterotoxinas e relato de um surto por espécie coagulase positiva*. PhD thesis. Campinas State University.
- Pikul, J., Leszczynski, D. E. & Kummerow, F. A. (1983). Elimination of sample autoxidation by butylated hydroxytoluene additions before thiobarbituric acid assay for malonaldehyde in fat from chicken meat. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 31, 1338-1342.
- Potter, N. N. & Hotchkiss, J. H. (1995). *Food Science* (pp. 245-263), New York, Chapman & Hall.
- Purdy, J., Dodd, C. E. R., Fowler, D. R. & Waites, W. M. (1988). Increase in microbial contamination of defeathering machinery in a poultry processing plant after changes in the method of processing. *Letters Applied Microbiology*, 6, 35-38.
- Raska, K., Matejovská, V., Matejovská, D., Bergdoll, M. S. & Petrás, P. (1981). To the origin of contamination of foodstuffs by enterotoxigenic staphylococci. *Zbl. Bakt. Suppl.*, 10, 381-385.
- Read, R. B. & Bradshaw, J. G. (1967). Gamma irradiation of staphylococcal enterotoxin B. *Applied Microbiology*, 15(3), 603-605.
- Rose, S. A., Modi, N. K., Tranter, H. S., Bailey, N. E., Stringer, M. F. & Hambleton, P. (1988). Studies on the irradiation of toxins of *Clostridium botulinum* and *Staphylococcus aureus*. *Journal Applied Bacteriology*, 65, 223-229.
- São Paulo (Estado). (1992). *Código Sanitário: decreto nº 12.342 de 27/9/78, revisto e atualizado até dezembro de 1990*. São Paulo, Imprensa Oficial do Estado.
- Shahidi, F. (1997). *Flavor of meat and meat products*. London, BAP.

- Shiozawa, K., Kato, E. & Shimizu, A. (1980). Enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* strains isolated from chickens. *Journal of Food Protection*, 43(9), 683-685.
- Tarladgis, B. G., Watts, B. M. & Younathan, M. T. (1960). A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *Journal American Oil Chemists Society*, 37, 44-48.
- Tatini, S. R. (1976). Thermal stability of enterotoxins in food. *Journal Milk Technology*, 39, 432-438.
- Thayer, D. W. (1993). Extending shelf life of poultry and red meat by irradiation processing. *Journal Food Protection*, 56(10), 831-833.
- Thayer, D. W. & Boyd, G. (1991). Effect of ionizing radiation dose temperature and atmosphere on survival of *Salmonella typhimurium* in sterile, mechanically deboned chicken meat. *Poultry Science*, 70(4), 381-388.
- Thayer, D. W. & Boyd, G. (1992). Gamma ray processing to destroy *Staphylococcus aureus* in mechanically deboned chicken meat. *Journal of Food Science*, 57(4), 848-851.
- Thayer, D. W. & Boyd, G. (1996). Inactivation of *Sewanella putrefaciens* by gamma irradiation of red meat and poultry. *Journal Food Safety*, 16, 151-160.
- Thayer, D. W., Sangprasertchai, S. & Boyd, G. (1991). Effects of heat and ionizing radiation on *Salmonella typhimurium* in mechanically deboned chicken meat. *Journal of Food Protection*, 54(9), 718-724.
- Thayer, D. W. & Boyd, G. & Huhtanen, C. N. (1995). Effects of ionizing radiation and anaerobic refrigerated storage on indigenous microflora, *Salmonella* and *Clostridium botulinum* types A and B in vacuum-canned, mechanically deboned chicken meat. *Journal Food Protection*, 58(7), 752-757.
- Valle, J., Gomez-Lucia, E., Piriz, S., Goyache, J., Orden, J. A. & Vadillo, S. (1990). Enterotoxin production by staphylococci isolated from healthy goats. *Applied Environmental Microbiology*, 66(5), 1323-1326.
- Vanderzant, C. & Splittstoesser, D. F. (1992). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Washington, American Public Association.
- Vernozy-Rozand, C., Mazey, C., Prevost, G., Lapeyre, C., Ber, M., Brun, Y. & Fleurette, J. (1996). Enterotoxin production by coagulase-negative staphylococci

isolated from goats milk and cheese. *International Journal Food Microbiology*, 30, 271-280.

Xavier, C. V. A. & Beraquet, N. J. (1994). Vida de prateleira de carne mecanicamente separada de frango estocada sob refrigeração, *Coletânea do Instituto Tecnologia Alimentos*, 24(1), 91-104.

Legendas das Figuras

Figura 1. Valores de bactérias psicrotróficas em amostras de CMSF irradiadas ou não, ao longo do armazenamento refrigerado ($+2 \pm 1$ °C). O dia zero de armazenamento refere-se ao primeiro dia de análise após irradiação da CMSF. As barras verticais representam os valores de desvio padrão.

Figura 2. Valores de TBARS em amostras de CMSF irradiadas ou não, ao longo do armazenamento refrigerado ($+2 \pm 1$ °C). O dia zero de armazenamento refere-se ao primeiro dia de análise após irradiação da CMSF. As barras verticais representam os valores de desvio padrão.

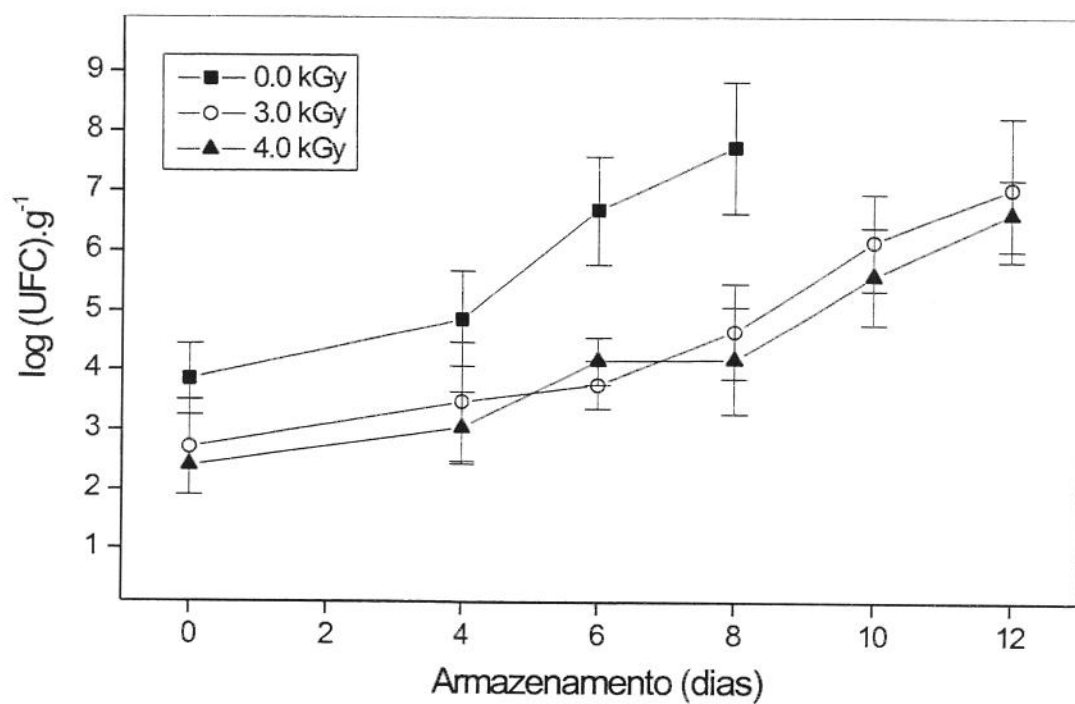


Figura 1.

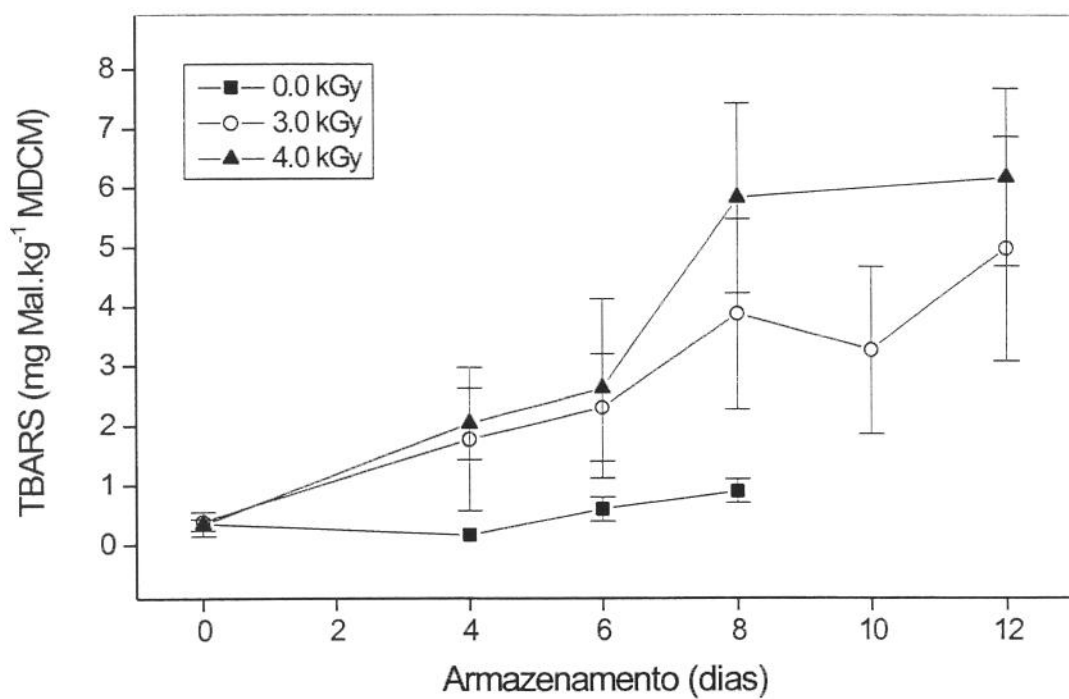


Figura 2.

Tabelas

Tabela 1. Valores de bactérias psicrotróficas obtidos em amostras de CMSF irradiadas ou não, ao longo do armazenamento refrigerado. O dia zero de armazenamento refere-se ao primeiro dia de análise após irradiação da CMSF.

Armazenamento (dias)	0,0 kGy	3,0 kGy	4,0 kGy
	log (UFC).g ⁻¹ ± dp		
0	3,85 ± 0,6 ^{e,f,g,h*}	2,71 ± 0,8 ⁱ	2,40 ± 0,9 ⁱ
4	4,87 ± 0,8 ^d	3,48 ± 1,0 ^{f,g,h,i}	3,04 ± 0,6 ^{g,h,i}
6	6,68 ± 0,9 ^{b,c}	3,76 ± 0,4 ^{e,f,g,h}	4,16 ± 0,4 ^{e,f}
8	7,73 ± 1,1 ^a	4,67 ± 0,8 ^{d,e}	4,18 ± 0,9 ^{e,f}
10	-	6,15 ± 0,8 ^{b,c}	5,59 ± 0,8 ^{c,d}
12	-	7,04 ± 1,2 ^{a,b}	6,61 ± 0,6 ^{a,b}

*: letras iguais na mesma linha ou coluna (p > 0,05)

-: não avaliado

dp: desvio padrão

Tabela 2. Valores de *S. aureus* obtidos em amostras de CMSF irradiadas ou não, ao longo do armazenamento refrigerado (2 ± 1 °C). O dia zero de armazenamento refere-se ao primeiro dia de análise após irradiação da CMSF.

Armazenamento (dias)	Amostra	0,0 kGy	3,0 kGy	4,0 kGy
log (UFC).g ⁻¹				
0	1	3,32	-	-
	2	3,86	-	-
	3	-	-	-
	4	-	-	-
4	5	3,52	-	-
	6	-	-	-
	7	-	-	-
	8	4,72	-	-
6	9	2,39	1,41	-
	10	2,58	-	-
	11	4,34	1,30	-
	12	4,11	1,83	-
8	13 a 16	-	-	-
10	17 a 20		-	-
12	21 a 24		-	-

- : valor < 1,00 log(UFC).g⁻¹;
 espaço em branco: amostra não avaliada

Tabela 3. Linhagens de *Staphylococcus* spp. produtoras de enterotoxinas estafilocócicas, isoladas de CMSF. O dia zero de armazenamento refere-se ao primeiro dia de análise após irradiação da CMSF.

Linhagens de <i>Staphylococcus</i> spp.						Testes para enterotoxinas	
Armazenamento (dias)	Testadas (nº)	Positivas (%)	Código	Coagulase	VIDAS	RPLA	
0	10	3 (30,0)	35	-	+	A,B	
			38	+	+	A	
			105	-	+	-	
2	6	1 (16,7)	45	+	+	A	
4	10	1 (10,0)	61	-	+	-	
6	9	0			-	-	

+ : positivo, - : negativo

Tabela 4. Resultados obtidos para a detecção de enterotoxinas estafilocócicas em CMSF irradiada ou não.

Amostra	Fonte de radiação	Dose (kGy)	Taxa de dose	Enterotoxinas	
				VIDAS (*)	RPLA
CMSF				+ (0,48)	-
CMSF	⁶⁰ Co	3,0	5,50 kGy.h ⁻¹	- (0,09)	
CMSF (extrato)	⁶⁰ Co	3,0	5,50 kGy.h ⁻¹	+ (> 0,13)	-
Controles positivos					
CMSF + EEC				+ (0,81)	EEC
CMSF + EEC	⁶⁰ Co	3,0	5,50 kGy.h ⁻¹	+ (0,27)	EEC
CMSF + EEC (extrato)	⁶⁰ Co	3,0	5,50 kGy.h ⁻¹	+ (0,68)	EEC
CMSF + EEC	Acelerador elétrons	3,0	6,70 kGy.s ⁻¹	+ (0,29)	EEC
CMSF + EEC (extrato)	Acelerador elétrons	3,0	6,70 kGy.s ⁻¹	+ (0,66)	EEC

+ : positivo; - : negativo; lacunas em branco: não avaliado; EEC: enterotoxina estafilocócica tipo C; (*): valor de leitura.

Tabela 5. Valores de TBARS obtidos em amostras de CMSF irradiadas ou não, ao longo do armazenamento refrigerado. O dia zero de armazenamento refere-se ao primeiro dia de análise após irradiação da CMSF. Os valores são expressos em mg Mal.kg⁻¹ CMSF $\pm$ desvio padrão.

Armazenamento (dias)	0,0 kGy	3,0 kGy	4,0 kGy
0	0,35 $\pm$ 0,2 ^{g,h*}	0,39 $\pm$ 0,1 ^{g,h}	0,34 $\pm$ 0,1 ^{g,h}
4	0,16 $\pm$ 0,1 ^h	1,77 $\pm$ 1,2 ^{e,f,g}	2,03 $\pm$ 0,6 ^{d,e,f}
6	0,60 $\pm$ 0,2 ^{g,h}	2,30 $\pm$ 0,9 ^{d,e,f}	2,62 $\pm$ 1,5 ^{d,e,f}
8	0,90 $\pm$ 0,2 ^{f,g,h}	3,87 $\pm$ 1,6 ^{c,d}	5,82 $\pm$ 1,6 ^{a,b}
10	-	3,26 $\pm$ 1,4 ^{c,d,e}	-
12	-	4,97 $\pm$ 1,9 ^{b,c}	6,17 $\pm$ 1,5 ^a

*: letras iguais na mesma linha ou coluna (p > 0,05)

-: não avaliado

CAPÍTULO 3

EFFECT OF GAMMA RADIATION ON REFRIGERATED MECHANICALLY DEBONED CHICKEN MEAT AS DETERMINED BY SENSORY ANALYSIS

Abstract

Samples of mechanically deboned chicken meat (MDCM) were irradiated in the frozen form with doses of 0.0, 3.0 and 4.0 kGy, stored at $2 \pm 1^\circ\text{C}$ and evaluated for their sensory characteristics, color, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and total psychrotrophic bacterial count for up to 12 days. Volatile compounds associated with the odour of irradiated produce, were dissipated from the samples of irradiated MDCM during storage. The oxidized odour perceived in the irradiated samples, was more pronounced than in the non-irradiated samples, in agreement with the TBARS values. Irradiated MDCM showed higher values for a^* (redness) than the non-irradiated samples. Considering the sensory analyses, color, psychrotrophic bacterial counts and TBARS analyses as a whole, the MDCM samples irradiated with doses of 0.0, 3.0 and 4.0 kGy presented a refrigerated acceptable levels of respectively 4, 10 and 6 days.

Keywords: Mechanically deboned chicken meat, food irradiation, lipid oxidation, thiobarbituric acid reactive substances, sensory analysis, color.

1. Introduction

Many research projects aimed at extending the shelf life of chicken meat and pre-packaged fresh meat were started at the end of the Second World War. However studies related to the irradiation of poultry products received their big push as from 1990, when the Food and Drug Administration approved the irradiation of food for the control of food borne pathogens in poultry, and when, in 1992, the United States Department of Agriculture approved the microbial control

of whole carcasses or of refrigerated or frozen mechanically deboned parts of raw birds, by irradiation (Pszczola, 1993; Thayer, 1993).

There is abundant literature on the effects of ionizing radiation on the sensory characteristics of chicken meat (Abu-Tarboush, Al-Kahtani, Atia, Abou-Arab, Bajaber & El-Majaddidi, 1997; Hashim, Ressurreccion & McWatters, 1995). In France the irradiation of frozen MDCM has been implemented on an industrial scale, with whole installations dedicated exclusively to this raw material. However, there is a lack of studies on the sensory characteristics of such material when stored under refrigeration. In addition to contributing to the evaluation of the viability of using irradiated MDCM in raw formulations, since the process could guarantee pathogen free raw material (Boisseau, 1994), such studies are of crucial importance to the safety of the industrial productive chain, since they could forecast possible alterations in frozen stored irradiated MDCM, due to fluctuations in temperature as a result of failures during transport and/or storage, and in manufactured foods containing this raw material.

The main chemical alterations occurring during irradiation include the production of volatile compounds and the formation of free radicals, in large part responsible for the flavour and off-flavour in meats. The free radicals also catalyze lipid auto-oxidation (Potter & Hotchkiss, 1995), and these phenomena become more important when the product contains poly-unsaturated fatty acids. The fat present in MDCM is rich in poly-unsaturated fatty acids due to the presence of phospholipids, originating in the fraction of bone and spinal marrow which accompany it. The hem iron from the same origin acts as an oxidation catalyst (Paquin, 1985; Pollonio, 1994). As a result, the size reduction occurring during the extrusion process results in the inclusion of oxygen into the MDCM, becoming the principal factor involved in the development of off-flavors and color changes during storage (Froning, 1976; Kannatt, Paul, Souza & Thomas, 1997; Pollonio, 1994). Thus it has become essential to study the consequences of processing with ionizing radiation with respect to the sensory characteristics of irradiated MDCM. For this reason the

present study aimed at evaluating the effect of gamma radiation on the appearance, odour and state of lipid oxidation of MDCM during refrigerated storage.

2. Materials and Methods

2.1. Experimental design

MDCM samples (120) weighting 200 g each, produced from chicken backs without skin, were collected from a commercial poultry slaughterhouse. The samples were packaged individually in low density polyethylene bags, sealed, frozen ($18 \pm 1^{\circ}\text{C}$) for one night in a tunnel, and subsequently individual batches were irradiated with doses of 3.0 kGy and 4.0 kGy, and control samples left non-irradiated. After processing, the samples were stored under refrigeration ($2 \pm 1^{\circ}\text{C}$) and evaluated for appearance, odour, color and lipid oxidation until presenting a standard bacterial count above the limits permitted by the legislation (São Paulo, 1992).

2.2. Irradiation

The gamma radiation source was ^{60}Co gammacell with a strength of 10.300 Ci, producing a dose rate of 7.32 kGy.h^{-1} . Routine dosimetry was conducted with Far West Technology dosimeters. The samples were placed in uniform parts of the radiation field and arranged to minimize any differences in the radiation dose. The mean standard errors of absorbed dose from target doses were ± 0.22 and ± 0.28 for doses of 3.0 and 4.0 kGy, respectively.

2.3. Sensory analysis

Fifteen judges were recruited from a list of participants in descriptive tests of meat products, and of these, 9 were selected. The criteria for recruitment were: age between 18 and 43, normal or superior visual acuity, which was checked

by the Farnsworth Munsell 100 Hue Test, chicken consumers and interest and availability to evaluate the appearance and color of irradiated MDCM. The Grid method was used to prepare the list of descriptive terms, using MDCM samples from some of the evolution periods of these and other reference materials (Table 1). Subsequently the sensory test was applied.

The MDCM samples were presented to the judges in white porcelain dishes, avoiding the incorporation of air during the preparation for presentation as much as possible. The sample surfaces were smoothed with a spatula, covered with aluminum foil and kept under refrigeration (3 to 5°C) until the moment of evaluation. The score card was prepared by the taste panel, using a 10 cm non-structured scale, anchored at the extremes by terms of intensity in which 0 = little and 10 = a lot. The definitions used for the selected sensory attributes and evaluated with the MDCM samples, are shown in Table 1. Since the results of the microbiological analyses were not available at the time of the sensory tests, the flavor analysis was not performed, to avoid possible health risks to the judges.

2.4. Color analysis

The color analysis was done using a spectrophotometer (Colorquest II, Hunter Laboratories) calibrated in specular reflectance with aperture of one inch, and a white standard calibration nr. C6299 (March 1996). The following were the standard color readings: white: $x = 77.46$; $y = 82.08$; $z = 88.38$ and gray: $x = 47.71$; $y = 50.83$; $z = 54.94$. The readings for calibration and evaluation of color of MDCM (L^* = lightness, a^* = redness, b^* = yellowness) were performed using a color system of CIELAB, RSIN in D65° and 10° angle.

2.5. Chemical analysis

Lipid oxidation was measured in terms of the thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) values, using a modified version of the method of Tarladgis,

Watts & Younathan (1960). The modification to this procedure was the addition of butylated hydroxytoluene before the blending step, to prevent auto-oxidation (Pikul, Leszczynski & Kummerow, 1983). The results were expressed as mg Malonaldehyde.kg⁻¹ MDCM. The analyses were carried out in triplicate for each of the samples analyzed. With 10-g MDCM samples and 89.1 % recovery, the average K value was 5.0. The average proximate analysis for the meat was 66.6% moisture (Horwitz, 1980), 19.1% fat (Horwitz, 1980), 13.2% protein (Horwitz, 1980) and 1.0% ash (Horwitz, 1980). The proximate analyses were also performed in triplicate.

2.6. Microbiological analysis

The total count of psychrotrophic bacteria was carried out using 25 g of each MDCM sample and blending in 225 mL peptone water. Additional decimal dilutions were prepared for plating in Plate Count agar and the plates were incubated at 7 °C for 10 days before counting the colony forming units (c.f.u.) (Vanderzant & Splittstoesser, 1992). The results were expressed as the logarithm of the colony forming units per gram.

2.7 Statistical analysis

The sensory analysis was performed using a complete block randomized design with three replications, where each replication was evaluated by 3 judges. The tests were carried out in individual computerized booths, each provided with an optical pen, such that the response was marked on the Monitor screen. The Compusense Inc. program for sensory analysis, v. 4.2. was used, and the attributes for appearance were judged under white light and those for odour under red light, to mask possible differences in appearance between the samples. The analysis of variance was applied using the Statistica program v.5.0., and the means test using Dunnett,s and Tukey's tests at a 5% level of significance. During the sensory

analyses, the MDCM samples changed color very quickly, so the statistical treatment was effected at a level of 10% significance.

Each microbiological and chemical analysis was replicated 4 times and the objective analysis of color three times. The statistical calculations were performed using the general linear model of the SAS statistical package, SAS Institute. The analyses of variance was effected using the minimum square method, and the means compared using the Student t Test.

3. Results and Discussion

3.1. Sensory analysis

The results obtained showed that of the 11 sensory attributes initially developed by the taste panel, 3 were selected to make up the score card, since these attributes were considered to be those which best discriminated the samples (Table 1). According to Figure 1, only on day 0 of refrigerated storage was there a significant difference ($p < 0.05$) for irradiated odour (burnt skin, scorched), between the non-irradiated MDCM samples (mean value = 0.3) and those irradiated with a dose of 3.0 kGy (mean value = 4.9) and with a dose of 4.0 kGy (mean value = 5.9). As from the 4th day of refrigerated storage there was no significant difference ($p > 0.05$) between the treatments for irradiated odour as perceived by the panel. Our finding is supported by Mattison, Kraft, Olson, Walker, Rust & James (1986) who found that the irradiated odour developed immediately after irradiation, disappeared during storage or on cooking (Mattison et al., 1986).

According to Du, Ahn, Nam & Sell (2000) and Angelini, Merritt, Mendelshon & King (1975) sulfur compounds appear to be the main volatile components responsible for the irradiated odour of meat. The differences in off-odours between irradiated and non-irradiated raw chicken was not correlated to oxidation. (Du et al., 2000). Patterson & Stevenson (1995) observed that dimethyl

trisulfide was the most potent off-odour in irradiated chicken, followed by *cis*-3- and *trans*-6-nonenals, oct-1-en-3-one and bis(methylthio-)methane. In the present study these compounds could be involved in the initial difference in odour detected in irradiated MDCM. It is also possible that volatile compounds, responsible for the irradiation odour, could have been dissipated through the gas permeable polyethylene bags during the MDCM refrigerated storage.

The oxidized odour perceived in the irradiated MDCM samples was always stronger than that of the non-irradiated samples, throughout the refrigerated storage period. After 8 days of refrigerated storage, there was a significant difference ($p < 0.05$) with respect to oxidized odour between the non-irradiated samples and those irradiated with a dose of 3.0 kGy, and after 12 days there was a significant difference between the non-irradiated samples and those irradiated with doses of 3.0 kGy and 4.0 kGy (Figure 1).

There was a significant difference ($p = 0.10$) for brown color only on the 4th day of refrigerated storage, when comparing the non-irradiated samples (mean value = 6.0) with those processed with a dose of 3.0 kGy (mean value = 3.1). Although not presenting a significant difference ($p > 0.10$) for brown color on the 6th and 8th days of refrigerated storage, the sensory analysis showed that the irradiated samples presented a lighter brown color as compared to the non-irradiated samples. At day 12 of refrigeration the non-irradiated MDCM showed less brown color than the irradiated samples, but the non-irradiated samples were already showing characteristics of deterioration at this point, such as: whitish color and fermented odour (Figure 1).

3.2. Chemical analysis

Results of sensory analysis for the evaluation of oxidation odour were in agreement with TBARS values. Non-irradiated MDCM samples showed lower TBARS values than irradiated samples (Table 2). Moreover, TBARS values for

irradiated samples (3.0 and 4.0 KGy), were always closer to each other than TBARS values for non-irradiated samples. The latter is in agreement with the oxidation odour scores obtained during the refrigeration of MDCM (Figure 1 and Table 2). The Figure 2 show that was correlation between the TBARS values and oxidized odor in MDCM samples, irradiated or otherwise, throughout refrigerated storage. These observations are well supported by previous reports, where it has been shown that sensory evaluation for lipid oxidation in meat is correlated to TBARS values (Shahidi, 1997).

Correlating results of this sensory analyses with those obtained for TBARS values, it was found that there was a significant oxidation odour difference ($p < 0.05$) between irradiated (3.0 KGy) and non-irradiated samples from day 8 of refrigerated storage when the TBARS values was 3.87 ± 1.6 mgMal.kg⁻¹. The same authors have considered a TBARS values of 1.0 mg Mal.kg⁻¹ as the maximum limit to detect rancid meat taste due to lipid oxidation (Tarladgis et al., 1960). However, meat products like poultry meat or sausage containing MDCM in their formulation have been considered sensory acceptable when TBARS values reach respectively 4.34 and 4.77 mg Mal.kg⁻¹ (Kannatt, Paul, Souza & Thomas, 1998; Lee, Willians, Sloan & Littell, 1997). Other authors have determined the effect of different techniques and the use of additives on MDCM shelf life under refrigeration (0-2°C) and concluded that rancideness was not a critical factor for refrigeration since panel tasters did not detected the rancid odour until the 7th day in storage when TBARS values varied between 1.0 a 3.0 mg Mal.kg⁻¹ (Xavier & Beraquet, 1994). MDCM stability during frozen storage showed that TBARS values of 3.9 mg Mal.kg⁻¹ were reached after 6 months in storage. Sausages formulated from the same meat sources (following 0, 3, and 6 months of frozen storage) were considered highly acceptable by objective and subjective measures (Dhilon & Maurer, 1975). Since there was a significant sensory difference ($p < 0.05$) for oxidation odour between irradiated (3.0 kGy) and non irradiated samples at day 8 in refrigeration with TBARS values of 3.87 ± 1.6 mgMal.kg⁻¹, and the literature indicates that MDCM with a 3.9 mg Mal.kg⁻¹ value for formulations containing this raw material are highly

acceptable, we considered in our study this TBARS value as the maximum acceptable limit for MDCM through out refrigeration.

3.3. Color analysis

During the objective color evaluation, L* and b* values did not differ significantly ($p>0.05$) among irradiated (3.0 and 4.0 kGy) and non-irradiated samples. When a* results obtained from MDCM irradiated with 3,0 kGy and 4,0 kGy were compared, it was observed that there was no significant difference between the two treatments, up to 12 days under refrigeration.

Results obtained for the a* value indicated that non-irradiated MDCM samples were less pinkish ($p<0.05$) than the two irradiated treatment samples starting after 4 days under refrigeration through out refrigeration (Figure 3). Our results are in agreement with results obtained by other researchers (Abu-Tarboush et al., 1997; Ahn, Olson, Jo, Chen, Wu & Lee, 1998; Du et al., 2000; Nanke, Sebraneke & Olson, 1998). Irradiation of poultry meat produces a red pigment that has an absorption spectrum similar to the one obtained with oxymyoglobin (Froning, 1995). Millar, Moss & Stevenson, (2000) evaluated the effect of ionizing radiation (5.0 kGy) on poultry legs and maintained them under refrigeration (4°C). Their results showed that a* values for irradiated chicken legs were higher through out the period of storage than non-irradiated samples. These same authors postulated that the red color results from the formation of carboxymyoglobin and/or carboxyhaemoglobin. These pigments seems to be associated to the presence of carbon monoxide developed during irradiation and to the higher haemoglobin content than myoglobin in chicken leg and breast. In MDCM, and due to the incorporation of bone marrow, the principal pigment is haemoglobin (Froning, 1976, Pollonio, 1994). Hence, we believe that a similar process to the one postulated by Millar et al. (2000) could be the cause for the higher a* values observed in irradiated MDCM through out its refrigerated storage.

Even though in this study we have not carried out a sensory analysis of cooked MDCM, several studies have demonstrated that cooked irradiated poultry samples have higher color and odour acceptability through out their storage period than fresh samples (Abu-Tarboush et al., 1997; Lescano, Narvaiz, Kairiyama & Kaupert, 1991). An study on irradiated pork meat showed that irradiation odour developed immediately after irradiation and it disappears after storage or after cooking (Mattison et al., 1986).

3.4. Microbiological analysis

Results obtained for psicrotrophic bacterial counts showed higher counts for non-irradiated MDCM through out refrigeration than for irradiated (3.0 and 4.0 kGy) samples (Figure 4). The latter results were expected (Gallien, Paquin & Sadat-Shafai, 1983 and Paquin, 1985). Psicrotrophic bacterial counts were significantly higher ($p < 0.05$) for non-irradiated MDCM up to day 8 in refrigeration than irradiated samples at 3.0 and 4.0 kGy. Based on the legal code (São Paulo, 1992) non-irradiated and irradiated (3.0 and 4.0 kGy) MDCM samples showed bacterial counts higher that the maximum recommended limit of $6.48 \log(\text{UFC}).\text{g}^{-1}$, after 6 ($6.68 \pm 0.9 \log(\text{UFC}).\text{g}^{-1}$), 12 ($7.04 \pm 1.2 \log(\text{UFC}).\text{g}^{-1}$) and 12 ($6.61 \pm 0.6 \log(\text{UFC}).\text{g}^{-1}$) days, respectively.

4. Conclusions

Results showed that volatile compounds associated with irradiated odour were dissipated from irradiated MDCM samples during refrigerated storage. Irradiated samples with 3.0 kGy (mean score = 3.28 ± 1.3) and 4.0 kGy (mean score = 3.12 ± 1.2) had more pronounced oxidation odor than non-irradiated samples (mean score = 1.18 ± 0.6) and in agreement with the TBARS values (mean value_{0.0 kGy} = 0.5 mg Mal.kg⁻¹, mean value_{3.0 kGy} = 2.76 mg Mal.kg⁻¹, mean value_{4.0 kGy} = 3.40 mg Mal.kg⁻¹). Results obtained for the objective and sensory evaluation of color showed that irradiated samples were more attractive and closer the standard expected for fresh MDCM up the 12th day in refrigeration. Only the non-irradiated MDCM samples showed fermenting product characteristics after 12 days under refrigeration. Considering all evaluated parameters (sensory analysis, psicrotrophic bacterial counts, TBARS values) non-irradiated and irradiated (3.0 and 4.0 kGy) MDCM samples showed useful refrigerated acceptable levels of 4, 10 and 6 days, respectively.

References

- Abu-Tarboush, H. M., Al-Kahtani, H. A., Atia, M., Abou-Arab, A. A., Bajaber, A. S. & El-Majaddidi, M. A. (1997). Sensory and microbial quality of chicken as affected by irradiation and postirradiation storage at 4,0C. *Journal Food Protection*, 60(7), 761-770.
- Ahn, D. U., Olson, D. G., Jo, C., Chen, X., Wu, C. & Lee, J. I. (1998). Effect of muscle type, packaging, and irradiation on lipid oxidation, volatile production, and color in raw pork patties. *Meat Science*, 49(1), 27-39.
- Angelini, P., Merritt Jr, C., Mendelshon, J. M., & King, J. F. (1975). Effect of irradiation on volatile constituents of stored haddock flesh. *Journal of Food Science*, 40, 197-199.
- Boisseau, P. (1994). Irradiation and the food industry in France. *Food Technology*, 48(5), 138-140.
- Dhilon, A. S. & Maurer, A. J. (1975). Stability study of comminuted poultry meats in frozen storage. *Poultry Science*, 54, 1407-1414.
- Du, M., Ahn, D. U., Nam, K. C. & Sell, J. L. (2000). Influence of dietary conjugated linoleic acid on volatile profiles, color and lipid oxidation of irradiated raw chicken meat. *Meat Science*, 56: 387-395.
- Froning, G. W. (1976). Mechanically deboned poultry meat. *Food Technology*, 30(9), 50-63.
- Froning, G. W. (1995). Color of poultry meat. *Poultry Avian Biology Reviews*, 6(1), 83-93.
- Gallien, C. L., Paquin, J. & Sadat-Shafai, T. (1983). Use of electron beams for decontamination of mechanically separated poultry meat, *Radiation Physics Chemistry*, 22(3-5), 759-763.
- Hashim, I. B., Ressurreiccion, A. V. A. & McWatters, K. H. (1995). Descriptive sensory analysis of irradiated frozen or refrigerated chicken, *Journal Food Science*, 60(4), 664-666.
- Horwitz, W. (1980). *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. Washington, AOAC.

- Kanatt, S. R., Paul, P., Souza, S. F. & Thomas, P. (1997). Effect of gamma irradiation on lipid peroxidation in chicken lamb and buffalo meat during chilled storage. *Journal Food Safety*, 17(4), 283-294.
- Kanatt, S. R., Paul, P., Souza, S. F. & Thomas, P. (1998). Lipid peroxidation in chicken meat during chilled storage as affected by antioxidants combined with low-dose gamma irradiation. *Journal Food Science*, 63(2): 198-200.
- Lee, T. G., Williams, S. K., Sloan, D. & Litell, R. (1997). Development and evaluation of a chicken breakfast sausage manufactured with mechanically deboned chicken meat. *Poultry Science*, 76, 415-421.
- Lescano, G., Narvaiz, P., Kairiyama, E. & Kaupert, N. (1991). Effect of chicken breast irradiation on microbiological, chemical and organoleptic quality. *Lebensmittel Wissenschaft Technologie*, 24(2), 130-134.
- Mattison, M. I., Kraft, A. A., Olson, D. G., Walker, H. W., Rust, R. E. & James, D. G. (1986). Effect of low dose irradiation of pork loins on microflora, sensory characteristics and fat stability. *Journal Food Science*, 51, 284-287.
- Millar, S. J., Moss, B. W. & Stevenson, M. H. (2000). The effect of ionizing radiation on the colour of leg and breast of poultry meat. *Meat Science*, 55, 361-370.
- Nanke, K. E., Sebranek, J. G. & Olson, D. G. (1998). Color characteristics of irradiated vacuum-packaged pork, beef, and turkey. *Journal of Food Science*, 63, 1001-1006.
- Paquin, M. (1985). Resultats de L' irradiation des viandes separees mecaniquement. *RTVA*, 43-46.
- Patterson, R. L. S. & Stevenson, M. H. (1995). Irradiation-induced off-odour in chicken and its possible control. *British Poultry Science*, 36: 425-441.
- Pikul, J., Leszczynski, D. E. & Kummerow, F. A. (1983). Elimination of sample autoxidation by butylated hydroxytoluene additions before thiobarbituric acid assay for malonaldehyde in fat from chicken meat. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 31, 1338-1342.
- Potter, N. N. & Hotchkiss, J. H. (1995). *Food Science* (pp. 245-263), New York, Chapman & Hall.

- Pollonio, M. A. R. (1994). *Estudo das propriedades funcionais das proteínas miofibrilares e oxidação lipídica de carne de frango mecanicamente desossada*. PhD thesis. Campinas State University.
- Pszczola, D. (1993). Irradiated poultry makes U.S. debut in midwest and Florida markets. *Food Technology*, 89-96.
- São Paulo (Estado). (1992). *Código Sanitário: decreto nº 12.342 de 27/9/78, revisto e atualizado até dezembro de 1990*. São Paulo, Imprensa Oficial do Estado.
- Shahidi, F. (1997). *Flavor of meat and meat products*. London, BAP.
- Tarladgis, B. G., Watts, B. M. & Younathan, M. T. (1960). A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *Journal American Oil Chemists Society*, 37, 44-48.
- Thayer, D. W. (1993). Extending shelf life of poultry and red meat by irradiation processing. *Journal Food Protection*, 56(10), 831-833.
- Vanderzant, C. & Splittstosser, D. F. (1992). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Washington, American Public Association.
- Xavier, C. V. A. & Beraquet, N. J. (1994). Vida de prateleira de carne mecanicamente separada de frango estocada sob refrigeração, *Coletânea do Instituto Tecnologia Alimentos*, 24(1), 91-104.

Figure caption

Figure 1. Mean values for the sensory attributes of odour and appearance in MDCM samples, irradiated or otherwise, throughout refrigerated storage ($+2 \pm 1$ °C). Vertical lines indicate standard deviation.

Figure 2. Correlation between the mean values obtained to the sensory attributes of oxidized odour and TBARS mean values in MDCM samples, irradiated or otherwise, throughout refrigerated storage ($+2 \pm 1$ °C).

Figure 3. Mean values for L*, a* and b* for the color of MDCM samples, irradiated or otherwise, throughout refrigerated storage ($+2 \pm 1$ °C). Vertical lines indicate standard deviation.

Figure 4. Mean values for total psychrotrophic bacterial plate count in MDCM samples, irradiated or otherwise, throughout refrigerated storage ($+2 \pm 1$ °C). Vertical lines indicate standard deviation.

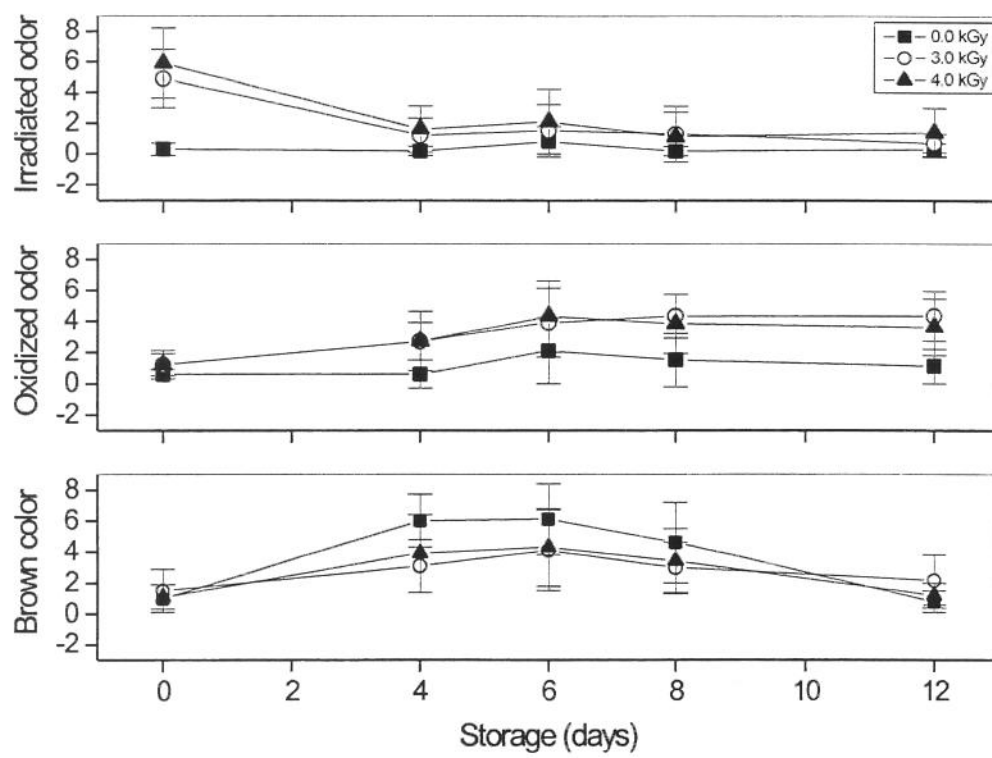


Figure 1.

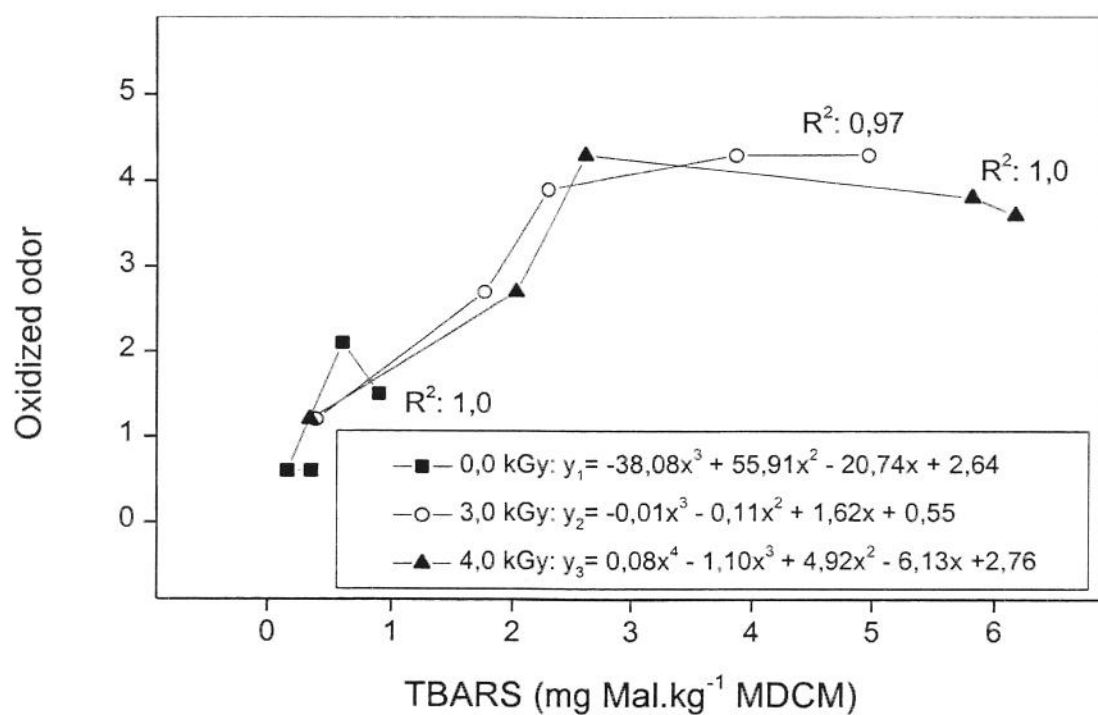


Figure 2.

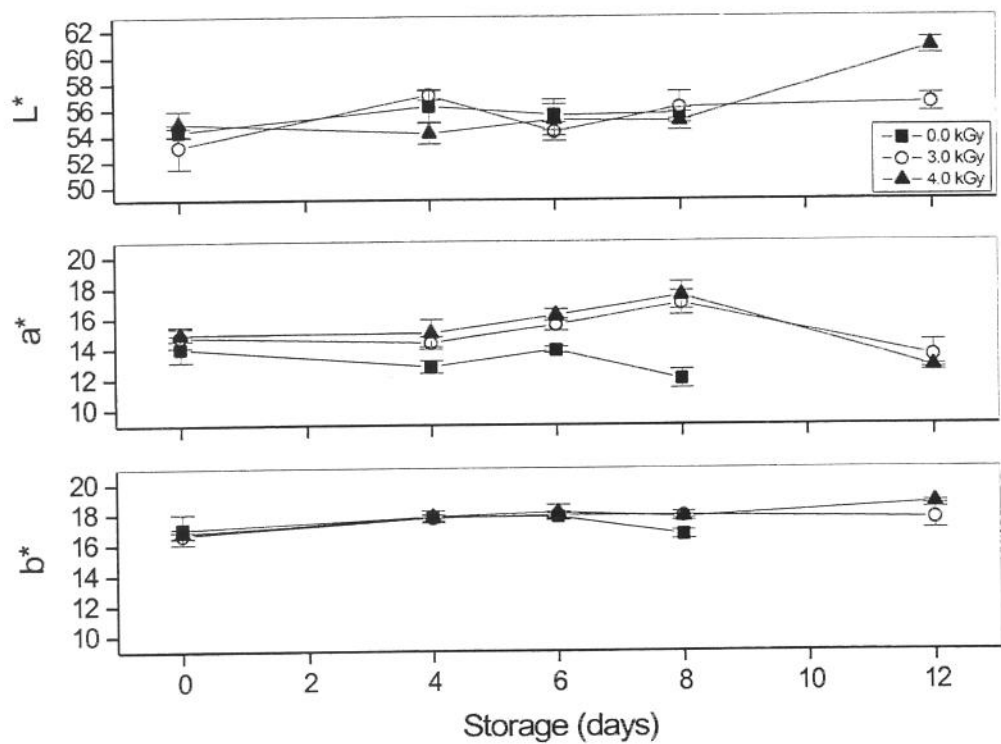


Figure 3.

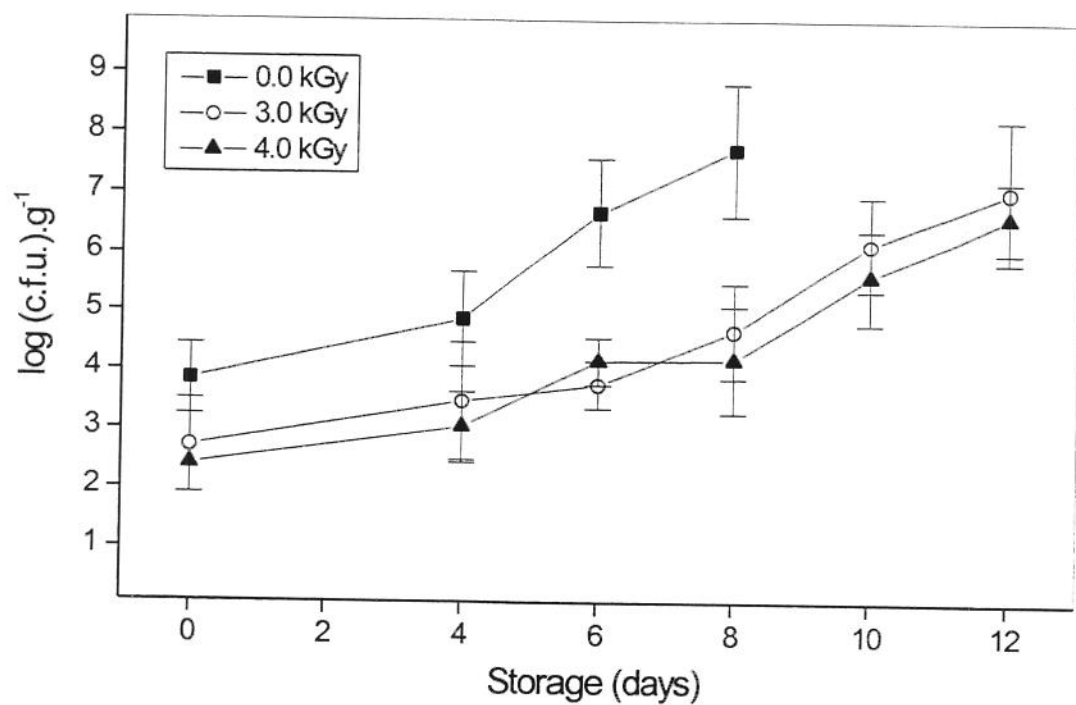


Figure 4.

Tables

Table 1. Definitions used for to evaluate the sensorial attributes in MDCM.

Attribute	Definition	Little	Great
Odour of oxidation	Odour of fat of oxidized chicken	Odour of fresh MDCM	Odour of chicken fat aged by freezing
Odour of irradiation	Odour of burnt chicken skin – after manual feather plucking the feathers are scorched over flame to facilitate the manual removal of feathers	Odour of fresh MDCM	Odour described in the definition
Brown color	Color of MDCM wrapped in polyethylene film and refrigerated for 3 days	Color of fresh MDCM wrapped in polyethylene film and refrigerated for 3 hours	Color of MDCM described in the definition

Table 2. TBARS values of irradiated and non-irradiated MDCM samples storage under refrigeration ($+2 \pm 1$ °C).

Storage (days)	mg Malonaldehyde.kg ⁻¹ MDCM $\pm$ sd		
	0,0 kGy	3,0 kGy	4,0 kGy
0	0,35 $\pm$ 0,2 ^{g,h}	0,39 $\pm$ 0,1 ^{g,h}	0,34 $\pm$ 0,1 ^{g,h}
4	0,16 $\pm$ 0,1 ^h	1,77 $\pm$ 1,2 ^{e,f,g}	2,03 $\pm$ 0,6 ^{d,e,f}
6	0,60 $\pm$ 0,2 ^{g,h}	2,30 $\pm$ 0,9 ^{d,e,f}	2,62 $\pm$ 1,5 ^{d,e,f}
8	0,90 $\pm$ 0,2 ^{f,g,h}	3,87 $\pm$ 1,6 ^{c,d}	5,82 $\pm$ 1,6 ^{a,b}
10	-	3,26 $\pm$ 1,4 ^{c,d,e}	-
12	-	4,97 $\pm$ 1,9 ^{b,c}	6,17 $\pm$ 1,5 ^a

Means within a row or line with no common letter differ significantly ($p < 0.05$);

$n=4$. -: não avaliado

sd: standard deviation

CAPÍTULO 4

EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA SOBRE A QUALIDADE MICROBIOLÓGICA, A OXIDAÇÃO LIPÍDICA E AS PROPRIEDADES SENSORIAIS DA CARNE MECANICAMENTE SEPARADA DE FRANGO, ARMAZENADA REFRIGERADA, APÓS DESCONGELAMENTO

Resumo

Amostras de carne mecanicamente separada de frango (CMSF) foram irradiadas congeladas com doses de 0,0, 3,0 e 4,0 kGy. Parte dessas amostras foi descongelada após um dia (amostras **d-1**) e o outro grupo após 90 dias (amostras **d-90**). Em seguida, a CMSF foi mantida sob refrigeração (2 ± 1 °C) e avaliada quanto à sua qualidade microbiológica, propriedades sensoriais e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, até 14 dias de armazenamento. Compostos voláteis associados ao odor de irradiado foram dissipados da CMSF irradiada com doses de 3,0 e 4,0 kGy durante armazenamento refrigerado. A CMSF **d-1** irradiada com doses de 0,0, 3,0 e 4,0 kGy apresentou-se aceitável sob refrigeração, respectivamente, durante 4, 10 e 6 dias. A CMSF **d-90** irradiada com doses de 0,0, 3,0 e 4,0 kGy apresentou-se aceitável, respectivamente, durante menos do que 4 dias, 6 e 6 dias.

Palavras chave: carne mecanicamente separada de frango, irradiação de alimentos, análise sensorial, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, oxidação lipídica, microbiologia, refrigeração.

1. Introdução

A carne mecanicamente separada de frango (CMSF) vem sendo amplamente empregada em produtos cárneos tradicionais, como os embutidos emulsionados, em substituição às matérias primas cárneas de custo mais elevado. Esta matéria-prima é obtida de partes menos nobres do frango, que representam até 24 % da parte comestível da carcaça. O processo de separação mecânica provoca a trituração dos ossos, liberação da medula, ruptura de células, tornando esta matéria-

prima um meio favorável a reações bioquímicas e ao desenvolvimento de microrganismos (Froning, 1976; Xavier & Beraquet, 1994). O congelamento a -18°C é o método usual recomendado para a conservação da CMSF. A irradiação da CMSF congelada pode constituir uma barreira adicional na conservação deste produto. Entretanto, são escassos os estudos associando o uso de radiação ionizante, diferentes temperaturas de armazenagem e avaliação da vida útil dessa matéria-prima. Tais estudos, além de contribuir para avaliar a viabilidade de utilização da CMSF irradiada em formulações crus, uma vez que o processo poderá assegurar uma matéria-prima livre de patógenos, também são de crucial importância para a segurança na cadeia produtiva industrial. Eles poderão prever possíveis alterações na CMSF irradiada, armazenada sob congelamento, frente a variações de temperatura, quando ocorre alguma falha durante transporte, armazenamento ou na produção de alimentos que contenham essa matéria-prima.

Assim como outros tipos de processamento, a radiação ionizante provoca alterações químicas, incluindo a produção de compostos voláteis e de radicais livres. Os radicais livres são catalisadores da oxidação lipídica: uma das principais causas da deterioração da qualidade de produtos cárneos crus e cozidos durante o armazenamento (Shahidi, 1997). O controle da oxidação lipídica durante o armazenamento da CMSF é de crucial importância, uma vez que esta matéria-prima é rica em ácidos graxos polinsaturados, ferro hemínico aportados da medula óssea e oxigênio proveniente do processo de extrusão.

A irradiação da carne no estado congelado reduz ou elimina os efeitos sensoriais negativos deste processo (Lescano, Narvaiz, Kairiyama & Kaupert, 1991, Thayer & Boyd, 1991, Lee, Sebranek, Olson & Dickson, 1996). Entretanto, são limitadas as informações acerca dos efeitos da radiação gama sobre a microbiota presente nessa matéria-prima (Paquin, 1985, Gallien, Paquin & Sadat-Shafai, 1983; Thayer, Boyd, Muller, Lipson, Hayne & Baer, 1990), bem como sobre sua estabilidade após irradiação e armazenagem refrigerada, enfatizando-se as alterações lipídicas (Kannatt, Paul, Souza & Thomas, 1997). O presente estudo foi

realizado com o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica, propriedades sensoriais e a oxidação lipídica de CMSF gama irradiada armazenada refrigerada, após descongelamento.

2. Material e Métodos

2.1. Desenho experimental

Amostras de CMSF (171) obtidas de dorso sem pele foram coletadas para as análises em duas visitas a um mesmo abatedouro. Cada unidade amostral de 200 g foi acondicionada em saco de polietileno de baixa densidade, transparente, congelada a -18 ± 1 °C em túnel por uma noite e irradiada neste estado. Lotes de amostras foram submetidos a doses de radiação gama de 3,0 kGy e 4,0 kGy. Um lote de CMSF foi mantido sem irradiar e utilizado como controle. Parte desses lotes foi descongelada após um dia (amostras denominadas de **d-1** neste estudo) e o outro grupo após 90 dias (amostras denominadas de **d-90** neste estudo). As análises foram efetuadas nestas amostras de CMSF mantidas sob refrigeração (2 ± 1 °C), até que apresentassem contagem total de bactérias acima dos limites previstos na legislação (São Paulo, 1992).

2.2. Irradiação

Utilizou-se uma fonte de radiação de ^{60}Co do tipo “gammacell” com atividade de 10,300 Ci, produzindo uma taxa de dose de $7,32 \text{ kGy.h}^{-1}$. A rotina dosimétrica foi conduzida com dosímetros “Far West Technology”. As amostras de CMSF foram dispostas no campo de radiação de modo a minimizar diferenças na dose de radiação. Os erros padrão médio das doses de radiação absorvidas em relação às doses aplicadas foram $\pm 0,22$ e $\pm 0,28$, respectivamente, para doses de 3,0 e 4,0 kGy.

2.3. Análises microbiológicas

A contagem padrão total de bactérias mesófilas e psicotróficas foi realizada utilizando-se ágar para contagem em placas (Vanderzant & Splittstoesser, 1992). No caso da determinação de ocorrência de *Salmonella* spp., frações de 25 g de cada amostra de CMSF foram inoculadas em água peptonada tamponada como meio de pré-enriquecimento (ABNT, 1991). Em seguida, alíquotas foram transferidas para os meios de enriquecimento caldo tetracionato e caldo Rapaport Vassiliadis. Após período de incubação, foram transferidas alçadas para os meios sólidos ágar bismuto sulfito, ágar xilose desoxicolato e ágar entérico de Hectoen. Colônias típicas foram submetidas a testes bioquímicos (kit API 20E, bioMérieux), de acordo com Andrews & June (1998).

Para verificar a ocorrência de *Staphylococcus aureus*, foi utilizado o meio ágar Baird-Parker contendo gema de ovo e telurito, de modo que colônias típicas foram submetidas a testes bioquímicos de identificação, de acordo com Bennett & Lancette (1998).

A presença de *Clostridium perfringens* foi verificada utilizando-se o meio ágar triptose sulfito cicloserina com sobrecamada e a incubação realizada em jarra de anaerobiose (fabricante BBL) contendo envelope para sistema anaeróbio com catalisador de paládio (fabricante BBL). Colônias típicas foram submetidas a testes bioquímicos de identificação de acordo com Vanderzant & Splittstoesser (1992).

A determinação da ocorrência de microrganismos pertencentes ao grupo dos coliformes foi realizada usando-se o método dos tubos múltiplos (série de três tubos). O meio de cultivo caldo lauril sulfato triptose foi utilizado como meio presuntivo para a presença de coliformes, e o Caldo EC para a confirmação da presença de coliformes fecais. O número mais provável por grama (MPN.g⁻¹) de

coliformes fecais foi determinado por meio de tabela de número mais provável, apropriada às diluições inoculadas (Vanderzant & Splittstoesser, 1992).

2.4. Análise sensorial

Quinze provadores foram recrutados de uma lista de participantes de testes descritivos de produtos cárneos e destes, nove foram selecionados. O critério de recrutamento foi: faixa etária entre 18 e 43 anos de idade, acuidade visual normal ou superior, a qual foi avaliada pelo teste de Farnsworth Munsell 100 Hue Test, consumidores de frango, interesse e disponibilidade em avaliar aparência e odor de CMSF irradiada. Utilizou-se para o levantamento dos termos descritores o método de Grid, com amostras de CMSF testes de alguns dos períodos de evolução destas e outros materiais de referência. Posteriormente, aplicou-se o teste sensorial.

As amostras de CMSF foram apresentadas aos provadores em potes de porcelana branca, evitando-se ao máximo a incorporação de ar durante o preparo para apresentação. A superfície das amostras foi analisada com espátula e, em seguida, as mesmas foram cobertas com papel alumínio, mantidas sob refrigeração (3 a 5 °C) até o momento da avaliação. A ficha de avaliação foi elaborada juntamente com a equipe, utilizando-se escala não estruturada (10 cm) ancoradas nos extremos por termos de intensidade, em que 0 = pouco e 10 = muito. As definições usadas para os atributos sensoriais selecionados e avaliados na CMSF são mostrados na Tabela 1.

Uma vez que os resultados das análises microbiológicas estavam disponíveis somente após a realização dos testes sensoriais, a avaliação do sabor não foi realizada, para evitar possíveis riscos à saúde dos julgadores.

2.5. Análises químicas

A oxidação lipídica foi medida como valores de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), utilizando-se uma versão modificada do método de Tarladgis, Watts & Younathan (1960). A modificação foi a adição de butilato de hidroxitolueno, antes da etapa de homogeneização da amostra de CMSF, a fim de prevenir a autooxidação, de acordo com as recomendações de Pikul, Leszczynski & Kummerow (1983). Os resultados foram expressos como mg Malonaldeído.kg⁻¹ CMSF. As análises foram realizadas em triplicata, para cada amostra avaliada. Para amostras de 10 g e 89,1 % de recuperação do padrão 1,1,3,3, tetraetoxipropano, o valor médio da constante de destilação (k) foi 5,0. Os valores médio para a composição centesimal da CMSF foram 66,6 % de umidade (Horwitz, 1980), 19,1 % de gordura (Horwitz, 1980), 13,2 % de proteína (Horwitz, 1980) e 1,0 % de cinzas (Horwitz, 1980). As análises de composição centesimal foram realizadas em triplicata.

2.6. Análise estatística

Cada análise microbiológica e química foi replicada quatro vezes para a CMSF armazenada sob refrigeração, após congelamento prévio por 1 dia. Para o experimento utilizando a CMSF armazenada sob refrigeração, após congelamento prévio por 90 dias, o estudo foi replicado 2 vezes. Os cálculos estatísticos foram realizados utilizando-se o modelo linear geral do programa estatístico SAS, do Instituto SAS (1997). As análises de variância foram efetuadas pelo método dos quadrados mínimos e as médias comparadas usando-se o teste T de "Student".

A análise sensorial foi realizada utilizando-se delineamento experimental de blocos inteiramente casualizados com três repetições, onde cada repetição foi avaliada por três julgadores. A análise de variância foi aplicada usando-se o programa Statistica, versão 5,0 e as médias comparadas usando-se o teste de Dunnett e de Tukey, com 5 % de significância. Durante a análise sensorial, a CMSF

apresentou alterações muito rápidas de cor e, por isso, o tratamento estatístico desse atributo sensorial foi realizado com 10 % de significância.

3. Resultados e Discussão

3.1. Análises microbiológicas

Os resultados das contagens de bactérias psicrotróficas para amostras de CMSF irradiadas ou não, estão representados na Figura 1. As análises são referentes a lotes de CMSF previamente congelados por um dia (**d-1**) ou 90 dias (**d-90**). Até o período de análise de oito dias, as amostras de CMSF não irradiadas apresentaram contagens de bactérias psicrotróficas (**d-1**: $7,73 \pm 1,1 \log (\text{UFC}).\text{g}^{-1}$, **d-90**: $8,72 \pm 0,005 \log (\text{UFC}).\text{g}^{-1}$) maiores ($p < 0,05$) do que os valores observados para amostras irradiadas com doses de 3,0 kGy (**d-1**: $4,67 \pm 0,8 \log (\text{UFC}).\text{g}^{-1}$, **d-90**: $4,91 \pm 0,2 \log (\text{UFC}).\text{g}^{-1}$) e 4,0 kGy (**d-1**: $4,18 \pm 0,9 \log (\text{UFC}).\text{g}^{-1}$, **d-90**: $4,15 \pm 0,03 \log (\text{UFC}).\text{g}^{-1}$).

Os valores de bactérias psicrotróficas em amostras **d-1** e **d-90** de CMSF, irradiadas com doses de 3,0 kGy e 4,0 kGy, não diferiram significativamente ($p > 0,05$) entre si, quando comparados valores recíprocos (Tabela 2).

Somente a CMSF não irradiada apresentou valores de bactérias psicrotróficas maiores ($p < 0,05$) nas amostras **d-90** (média = $6,86 \pm 1,59 \log (\text{UFC}).\text{g}^{-1}$), quando os resultados foram comparados àqueles obtidos para a CMSF **d-1** (média = $5,78 \pm 1,75 \log (\text{UFC}).\text{g}^{-1}$), mantidas sob refrigeração (Figura 1 e Tabela 2).

Os resultados das análises obtidos em CMSF **d-1** não irradiadas mostraram que a contagem total de bactérias ultrapassou os limites recomendados, ou seja, $6,48 \log (\text{UFC}).\text{g}^{-1}$ (São Paulo, 1992) no sexto dia sob refrigeração,

enquanto que as amostras irradiadas com doses de 3,0 kGy e 4,0 kGy ultrapassaram estes valores, somente após o 12º dia de armazenagem refrigerada. Por outro lado, as amostras **d-90** de CMSF não irradiadas e aquelas irradiadas com doses de 3,0 kGy e 4,0 kGy, armazenadas sob refrigeração, apresentaram contagem total de bactérias fora dos padrões recomendados, respectivamente, após 4, 12 e 14 dias. De acordo com os resultados obtidos, pôde-se verificar que somente as amostras de CMSF não irradiadas apresentaram redução em sua vida útil, frente aos valores de bactérias psicrotróficas, para amostras **d-90** armazenadas sob refrigeração (Figura 1 e Tabela 2).

Para as amostras **d-1** e **d-90** de CMSF não irradiadas, o primeiro aumento significativo na população de bactérias psicrotróficas, em relação aos valores iniciais, foi observado após 4 dias sob refrigeração. As amostras **d-1** e **d-90** de CMSF irradiadas com dose de 3,0 kGy apresentaram o primeiro aumento significativo na população de bactérias psicrotróficas, em relação aos valores iniciais, após 8 dias sob refrigeração. Por outro lado, para as amostras **d-1** e **d-90** de CMSF irradiadas com dose de 4,0 kGy, o primeiro aumento significativo na população de bactérias psicrotróficas em relação aos valores iniciais foi observado, respectivamente, após 6 e 8 dias sob refrigeração (Tabela 2). De acordo com o resultados obtidos, as amostras **d-1** e **d-90** de CMSF irradiadas apresentaram os valores de bactérias psicrotróficas estáveis em relação às contagens iniciais, por um período de tempo maior do que as amostras não irradiadas, mantidas sob refrigeração. No presente estudo, esse resultado pode estar relacionado à possível injúria de células sobreviventes em amostras de CMSF irradiadas com doses de 3,0 kGy e 4,0 kGy. Thayer & Boyd (1996) realizaram estudo com uma bactéria deterioradora psicrotrófica comum em alimentos e demonstraram que células sobreviventes de *Shewanella putrefaciens* gama irradiadas, submetidas a doses de 0,5, 0,6 e 0,7 kGy sofreram injúria, diretamente relacionada à dose de radiação ionizante aplicada. Radomyski, Murano, Olson & Murano (1994), em sua revisão sobre a eliminação de patógenos de interesse alimentar utilizando baixas doses de

radiação, concluíram que existem poucas informações acerca da resistência à radiação para microrganismos psicrotróficos.

Os valor médio inicial (tempo zero) para coliformes fecais em amostras **d-1** de CMSF não irradiadas foi $2,20 \pm 0,9 \log(\text{NMP}).\text{g}^{-1}$ e não apresentou aumento significativo ($p < 0,05$) até 8 dias de armazenamento refrigerado. Estes valores estão dentro dos limites recomendados pela legislação (São Paulo, 1992) que prevê o máximo de $2,48 \log(\text{NMP}).\text{g}^{-1}$ para coliformes fecais em carne. Os coliformes fecais estiveram presentes somente no dia 0 ($1,00 \pm 1,00 \log (\text{NMP}).\text{g}^{-1}$) de armazenamento refrigerado da CMSF **d-90** não irradiada, apresentando valor dentro dos limites recomendados (São Paulo, 1992). Ostovar, McNeil & O'Donnell (1971) verificaram que os coliformes fecais foram eliminados da CMS de peru após armazenamento congelado (-15°C) por 9 meses.

Os microrganismos pertencentes ao grupo dos coliformes mostraram-se bastante radiosensíveis e não foram detectados em amostras **d-1** e **d-90** de CMSF irradiadas com doses de 3,0 ou 4,0kGy ao longo de todo o experimento. De acordo com Paquin (1985), os coliformes fecais foram reduzidos de 0,5 a 1,0 ciclo logaritmo, quando CMSF foi irradiada congelada, com doses de 1,0 a 2,0 kGy.

No presente estudo realizou-se pesquisa intensiva visando à identificação de linhagens bacterianas isoladas de meios de cultivo para detecção presuntiva de *Salmonella* spp. bem como de *C. perfringens* e nenhuma das cepas testadas foram confirmadas, respectivamente, como pertencentes a esse gênero ou espécie (Andrews & June, 1998; Vanderzant & Splittstoesser, 1992).

Dentre os microrganismos patogênicos avaliados, somente o *S. aureus* foi detectado ao longo do período de armazenamento refrigerado de CMSF **d-1**, irradiada ou não. Os resultados mostraram que para a CMSF **d-1**, até o sexto dia de armazenamento refrigerado, foram detectadas somente nas amostras não irradiadas contagem para *S. aureus* acima dos limites permitidos pela legislação, ou seja,

valores maiores do que $3,70 \log(\text{UFC}).\text{g}^{-1}$ (Brasil, 2000) (Tabela 3). No sexto dia de armazenamento refrigerado, amostras **d-1** de CMSF irradiadas com dose de 3,0 kGy apresentaram-se positivas quanto à ocorrência de *S. aureus*, entretanto, os valores médios detectados, ou seja, a contagem de $1,51 \pm 0,3 \log(\text{UFC}).\text{g}^{-1}$ estiveram abaixo do limite máximo permitido na legislação, como mostra a Tabela 3 (Brasil, 2000). Lamuka, Sunki, Chawan, Rao & Shackelford (1992) verificaram que, carcaças de frango fresco irradiadas com dose de 2,5 kGy também reduziram os valores de *Yersinia* sp. e *Campylobacter* sp. a níveis não detectáveis no dia zero de armazenamento refrigerado, mas algumas células recuperaram-se da injúria do processo de irradiação e cresceram, respectivamente, a partir do terceiro e do sexto dias de armazenamento refrigerado ($+4^{\circ}\text{C}$). De acordo com Thayer & Boyd (1992), a dose de radiação de 3,0 kGy pode destruir $6,3 \log(\text{UFC}).\text{g}^{-1}$ de *S. aureus* em CMSF irradiada embalada a vácuo. Entretanto, no estudo realizado por Thayer, Boyd & Huhtanen (1995), que avaliou a CMSF enlatada a vácuo irradiada e armazenada sob refrigeração, ao contrário do resultado esperado, verificou-se que, a população do *S. aureus* nas amostras de CMSF decresceu, mas não foi eliminada aplicando-se doses de radiação entre 1,5 kGy a 3,0 kGy.

Os resultados mostraram que, o *S. aureus* não foi detectado em amostras **d-90** de CMSF, irradiadas ou não irradiadas.

3.2. Análise sensorial

Os resultados mostraram que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) no odor de irradiado, quando comparados entre si os valores obtidos em amostras **d-1** e **d-90** de CMSF, irradiadas ou não irradiadas, a partir do quarto dia sob refrigeração.

Para a CMSF **d-90** irradiada, observou-se que as notas de odor de irradiado obtidos no dia 0 e armazenamento refrigerado foram menores ($p < 0,05$) do que os valores recíprocos obtidos para amostras **d-1** de CMSF irradiada. Estes

resultados mostraram que os compostos voláteis relacionados ao odor de irradiado foram dissipados após 90 dias de armazenamento congelado. O mesmo comportamento também foi verificado ao longo do armazenamento refrigerado da CMSF **d-1** irradiada (Figura 2). Os compostos voláteis responsáveis pelo odor de irradiado podem ter sido dissipados das amostras de CMSF ao longo do armazenamento refrigerado e congelado, uma vez que o polietileno de baixa densidade é permeável a gases. Patterson & Stevenson (1995) observaram que, o dimethyl trisulfide é o composto de off-odour mais potente, seguido pelo *cis*-3- e *trans*-6-nonenais, oct-1-en-3-um e bis(metiltio-)metano em carne de frango irradiada. No presente estudo estes tipos de compostos podem estar envolvidos com a diferença inicial em odor detectada na CMSF irradiada.

O odor de oxidado percebido para as amostras **d-1** de CMSF irradiadas foi sempre mais intenso do que o odor de oxidado percebido para as amostras **d-1** de CMSF não irradiadas, ao longo da estocagem refrigerada. Já o odor de oxidado, percebido para amostras **d-90** de CMSF refrigerada, não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) quando comparados os resultados obtidos entre amostras irradiadas e não irradiadas (Figura 3).

O congelamento da CMSF por 1 dia ou 90 dias antes do armazenamento refrigerado não influenciou o comportamento para a cor marrom em amostras irradiadas ou não irradiadas. Após 4, 6 e 8 dias de armazenamento refrigerado, as amostras irradiadas apresentaram menores notas de cor marrom quando comparadas às amostras não irradiadas (Figura 4). No final do período de armazenamento refrigerado, ou seja, após 12 (d-1) e 10 (d-90) dias, somente as amostras não irradiadas apresentaram características de produto deteriorado: respectivamente, cor esbranquiçada, odor de fermentado e odor de fermentado e de podre.

3.3. Análise química

Os valores de TBARS obtidos para as amostras **d-1** e **d-90** de CMSF não irradiadas apresentaram-se significativamente menores do que os resultados observados em amostras de CMSF irradiadas com doses de 3,0 kGy e 4,0 kGy. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para os valores médios de TBARS, quando comparados entre si os resultados obtidos para amostras **d-1** de CMSF irradiadas com dose de 3,0 kGy e 4,0 kGy, armazenadas sob refrigeração. Este resultado também foi observado para as amostras **d-90** de CMSF irradiadas com dose de 3,0 kGy e 4,0 kGy, armazenadas sob refrigeração (Figura 5).

Os valores médios de TBARS obtidos para amostras **d-1** de CMSF não irradiadas e irradiadas com dose de 3,0 kGy foram menores ($p < 0,05$) do que os valores recíprocos de TBARS determinados em amostras **d-90** de CMSF, durante estocagem refrigerada (Figura 5).

Para as amostras **d-90** de CMSF não irradiadas observou-se que, no quarto, sexto e oitavo dias de armazenamento refrigerado, os valores de TBARS foram significativamente maiores ($p < 0,05$) quando comparados aos resultados obtidos em **d-1** de CMSF não irradiadas. As amostras **d-90** de CMSF irradiadas com dose de 3,0 kGy e armazenadas durante 6, 10 e 12 dias sob refrigeração, apresentaram valores de TBARS significativamente maiores ($p < 0,05$) em relação aos resultados recíprocos, obtidos para amostras **d-1**. Em relação à CMSF irradiada com dose de 4,0 kGy não foi detectada diferença significativa ($p > 0,05$) entre os valores de TBARS observados para amostras **d-1** e **d-90**, durante armazenamento refrigerado (Figura 5). Para amostras de CMSF não irradiadas ou irradiadas com dose de 3,0 kGy, o congelamento (**d-1** ou **d-90**) antes da armazenagem refrigerada influenciou as alterações oxidativas dessa matéria-prima, enquanto que para amostras de CMSF irradiadas com dose de 4,0 kGy, tal influência não foi detectada. Em CMSF irradiada com 4,0 kGy parece que os efeitos radiolíticos foram

comparativamente, mais pronunciados do que o tempo de congelamento (**d-1** ou **d-90**), sobre as alterações oxidativas da CMSF.

Os resultados de análise sensorial para avaliação do odor de oxidado (Figura 3), concordaram com o comportamento dos valores de TBARS (Figura 5) para as amostras **d-1** e **d-90** de CMSF armazenadas sob refrigeração. Para as amostras **d-90** de CMSF irradiadas e não irradiadas verificou-se que os valores de TBARS estiveram mais próximos entre si, concordando com os resultados da análise sensorial para odor de oxidado (Figuras 3 e 5). É bem notificado na literatura que a avaliação sensorial do estado de oxidação lipídica em carnes apresenta boa correlação com os valores de TBARS (Shahidi, 1997).

Houve diferença sensorial significativa ($p < 0,05$) no odor de oxidado, entre amostras **d-1** de CMSF irradiadas (3,0 kGy) e não irradiadas, a partir do oitavo dia de armazenamento refrigerado, quando o valor de TBARS atingiu $3,87 \pm 1,6 \text{ mgMal.kg}^{-1}$ (CMSF irradiada com 3,0 kGy). De acordo com a literatura, o valor $3,9 \text{ mg Mal.kg}^{-1}$ de CMSF foi considerado altamente aceitável para formulações contendo esta matéria-prima (Dhilon & Maurer, 1975). Sendo assim, este valor foi tomado como limite máximo considerado aceitável para amostras de CMSF, ao longo do armazenamento refrigerado. No presente estudo, as amostras **d-0** e **d-90** de CMSF não irradiadas apresentaram-se aceitáveis quanto aos valores de TBARS, ao longo de todo o período de armazenamento refrigerado (8 dias). As amostras **d-0** e **d-90** de CMSF irradiadas com dose de 3,0 kGy apresentaram valores de TBARS aceitáveis, respectivamente, até 10 e 6 dias sob refrigeração. Já as amostras **d-0** e **d-90** de CMSF irradiadas com dose de 4,0 kGy mostraram-se aceitáveis até 6 dias de armazenamento refrigerado (Figura 5).

Somente as amostras **d-90** de CMSF irradiada com dose de 3,0 kGy apresentaram redução em sua vida útil, em relação à oxidação lipídica, quando comparados valores recíprocos obtidos em amostras **d-1** de CMSF, armazenadas sob refrigeração.

4. Conclusões

Compostos voláteis associados ao odor de irradiado foram dissipados da CMSF irradiada com doses de 3,0 kGy e 4,0 kGy ao longo do armazenamento refrigerado e, também, após congelamento da CMSF por 90 dias. As amostras de CMSF irradiadas apresentaram sempre maior vida útil sob refrigeração do que a CMSF não irradiada. O processo de irradiação de amostras **d-1** de CMSF com doses de 3,0 kGy e 4,0 kGy possibilitou aumentar a segurança ao consumidor e à cadeia produtiva industrial, uma vez que reduziu a contaminação da CMSF por *S. aureus* a níveis aceitáveis, durante armazenamento refrigerado. As amostras **d-1** de CMSF irradiadas com doses de 0,0, 3,0 e 4,0 kGy apresentaram-se aceitáveis sob refrigeração em relação a suas características microbiológicas, valores de TBARS e propriedades sensoriais, respectivamente, por 4, 10 e 6 dias.

As amostras **d-90** de CMSF irradiadas com doses de 0,0, 3,0 e 4,0 kGy apresentaram-se aceitáveis sob refrigeração, em relação a suas características microbiológicas, valores de TBARS e propriedades sensoriais, respectivamente, por período menor do que 4 dias, 6 e 6 dias. Para a CMSF não irradiada a principal variável que limitou seu armazenamento refrigerado foi a contaminação bacteriana, enquanto que, no caso da CMSF irradiada, a oxidação lipídica foi o principal fator limitante do período de armazenamento refrigerado.

Referências Bibliográficas

- Andrews, W. H. & June, G. A. (1998). Salmonella. In: *Bacteriological Analytical Manual* (cap. 5.), Arlington, AOAC.
- Associação Brasileira de Normas Técnicas. (1991). *Salmonella: determinação em alimentos* (MB 3465). São Paulo, ABNT.
- Bennett, R. W. & Lancette, G. A. (1998). *Staphylococcus aureus*. In: *Bacteriological Analytical Manual* (cap. 12), Arlington, AOAC.
- Brasil. (2000). *Instrução normativa n.º 4: regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de carne mecanicamente separada de aves, bovinos e suínos (Seção 1, n.º 66, Brasil, 5 de abril de 2000)*. Brasília, Imprensa Oficial da União.
- Dhilon, A. S. & Maurer, A. J. (1975). Stability study of comminuted poultry meats in frozen storage. *Poultry Science*, 54, 1407-1414.
- Froning, G. W. (1976). Mechanically deboned poultry meat. *Food Technology*, 30(9), 50-63.
- Gallien, C. L., Paquin, J. & Sadat-Shafai, T. (1983). Use of electron beams for decontamination of mechanically separated poultry meat. *Radiation Physics Chemistry*, 22(3-5), 759-763.
- Horwitz, W. (1980). *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. Washington, AOAC.
- Kanatt, S. R., Paul, P., Souza, S. F. & Thomas, P. (1997). Effect of gamma irradiation on lipid peroxidation in chicken lamb and buffalo meat during chilled storage. *Journal Food Safety*, 17(4), 283-294.
- Lamuka, P. O., Sunki, D. R., Chawan, D. R., Rao, D. R. & Shackelford, L. A. (1992). Bacteriological quality of freshly processed broiler chickens as affected by carcass pretreatment and gama irradiation. *Journal Food Science*, 57, 330-332.
- Lee, M., Sebranek, J.G., Olson, D. G. & Dickson, J. S. (1996). Irradiation and packaging of fresh meat and poultry. *Journal Food Protection*, 59(1), 62-72.
- Lescano, G., Narvaiz, P., Kairiyama, E. & Kaupert, N. (1991). Effect of chicken breast irradiation on microbiological, chemical and organoleptic quality. *Lebensmittel Wissenschaft Technologie*, 24(2), 130-134.

- Ostovar, K., MacNeil, J. H. & O'Donnell, K. (1971). Poultry product quality. 5. Microbiological evaluation of mechanically deboned poultry meat. *Journal Food Science*, 36, 1005-1007.
- Paquin, M. (1985). Resultats de L' irradiation des viandes separees mecaniquemente. *RTVA*, 43-46.
- Patterson, R. L. S. & Stevenson, M. H. (1995). Irradiation-induced off-odour in chicken and its possible control. *British Poultry Science*, 36: 425-441.
- Pikul, J., Leszczynski, D. E. & Kummerow, F. A. (1983). Elimination of sample autoxidation by butylated hydroxytoluene additions before thiobarbituric acid assay for malonaldehyde in fat from chicken meat. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 31, 1338-1342.
- Pollonio, M. A. R. (1994). *Estudo das propriedades funcionais das proteínas miofibrilares e oxidação lipídica de carne de frango mecanicamente desossada*. PhD thesis. Campinas State University.
- Radomyski, T., Murano, E. A., Olson, D. G. & Murano, P. S. (1994). Elimination of pathogens of significance in food by low-dose irradiation: a review. *Journal Food Protection*, 57(1), 73-86.
- São Paulo (Estado). (1992). *Código Sanitário: decreto nº 12.342 de 27/9/78, revisto e atualizado até dezembro de 1990*. São Paulo, Imprensa Oficial do Estado.
- Shahidi, F. (1997). *Flavor of meat and meat products*. London, BAP.
- Tarladgis, B. G., Watts, B. M. & Younathan, M. T. (1960). A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *Journal American Oil Chemists Society*, 37, 44-48.
- Thayer, D. W. & Boyd, G. (1991). Effect of ionizing radiation dose temperature and atmosphere on survival of *Salmonella typhimurium* in sterile, mechanically deboned chicken meat. *Poultry Science*, 70(4), 381-388.
- Thayer, D. W. & Boyd, G. (1992). Gamma ray processing to destroy *Staphylococcus aureus* in mechanically deboned chicken meat. *Journal of Food Science*, 57(4), 848-851.
- Thayer, D. W. & Boyd, G. (1996). Inactivation of *Sewanella putrefaciens* by gamma irradiation of red meat and poultry. *Journal Food Safety*, 16, 151-160.

Thayer, D.W., Boyd, G., Muller, W. S., Lipson, C. A., Hayne, W.C. & Baer, S.H. (1990). Radiation resistance of *Salmonella*. *Journal Industrial Microbiology*, 5, 383-390.

Thayer, D. W., Boyd, G. & Huhtanen, C. N. (1995). Effects of ionizing radiation and anaerobic refrigerated storage on indigenous microflora, *Salmonella* and *Clostridium botulinum* types A and B in vacuum-canned, mechanically deboned chicken meat. *Journal Food Protection*, 58(7), 752-757.

Vanderzant, C. & Splittstoesser, D. F. (1992). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Washington, American Public Association.

Xavier, C. V. A. & Beraquet, N. J. (1994). Vida de prateleira de carne mecanicamente separada de frango estocada sob refrigeração, *Coletânea do Instituto Tecnologia Alimentos*, 24(1), 91-104.

Legendas das figuras

Figura 1. Valores médios de bactérias psicotróficas em amostras **d-1** e **d-90** de CMSF, irradiadas ou não, ao longo do armazenamento refrigerado ($+2 \pm 1$ °C). O dia zero de armazenamento refere-se ao primeiro dia de análise após irradiação da CMSF. As linhas verticais indicam o desvio padrão.

Figura 2. Valores médios para o atributo sensorial odor de irradiado em amostras **d-1** e **d-90** de CMSF, irradiadas ou não, ao longo do armazenamento refrigerado ($+2 \pm 1$ °C). O dia zero de armazenamento refere-se ao primeiro dia de análise após irradiação da CMSF. As linhas verticais indicam o desvio padrão.

Figura 3. Valores médios para o atributo sensorial odor de oxidado em amostras **d-1** e **d-90** de CMSF, irradiadas ou não, ao longo do armazenamento refrigerado ($+2 \pm 1$ °C). O dia zero de armazenamento refere-se ao primeiro dia de análise após irradiação da CMSF. As linhas verticais indicam o desvio padrão.

Figura 4. Valores médios para o atributo sensorial odor cor marrom em amostras **d-1** e **d-90** de CMSF, irradiadas ou não, ao longo do armazenamento refrigerado ($+2 \pm 1$ °C). O dia zero de armazenamento refere-se ao primeiro dia de análise após irradiação da CMSF. As linhas verticais indicam o desvio padrão.

Figura 5. Valores médios de TBARS em amostras **d-1** e **d-90** de CMSF, irradiadas ou não, ao longo do armazenamento refrigerado ($+2 \pm 1$ °C). O dia zero de armazenamento refere-se ao primeiro dia de análise após irradiação da CMSF. As linhas verticais indicam o desvio padrão.

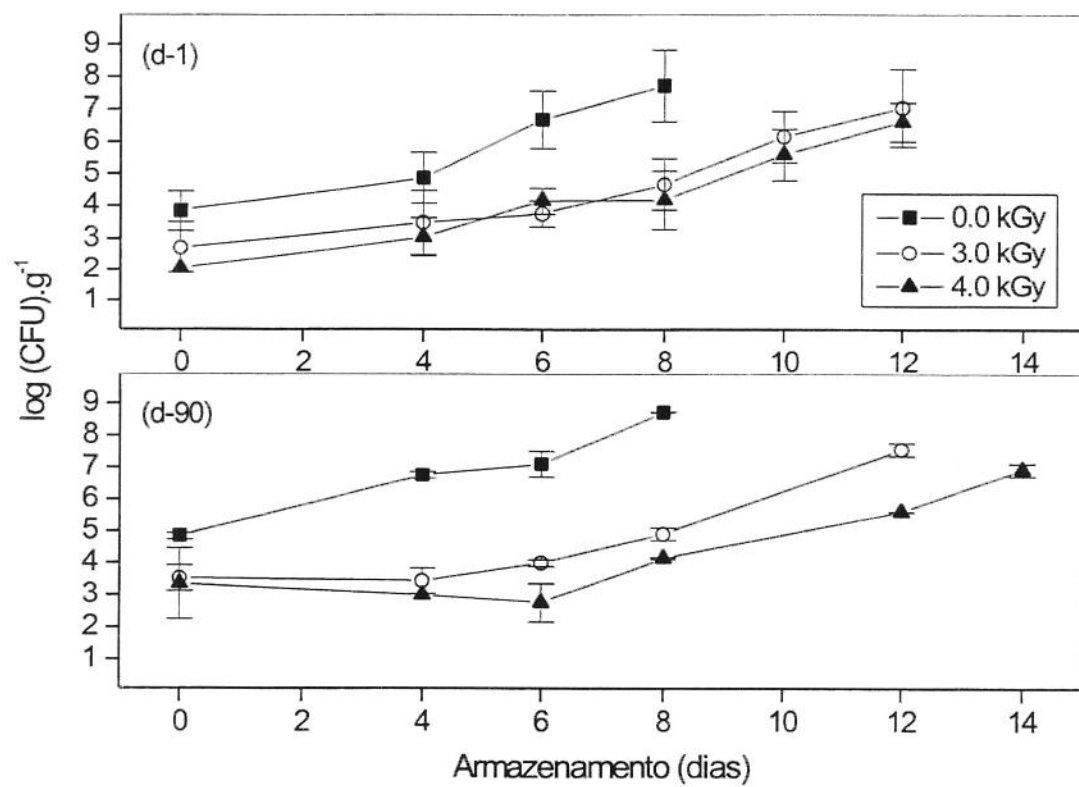


Figura 1.

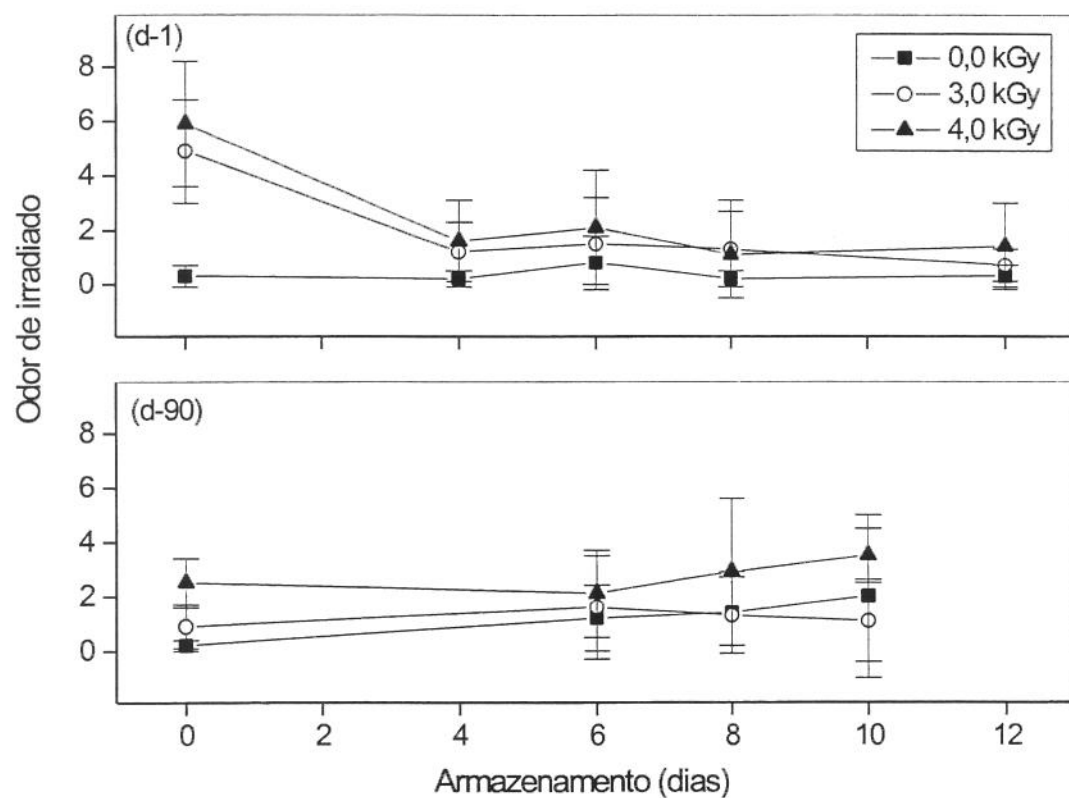


Figura 2.

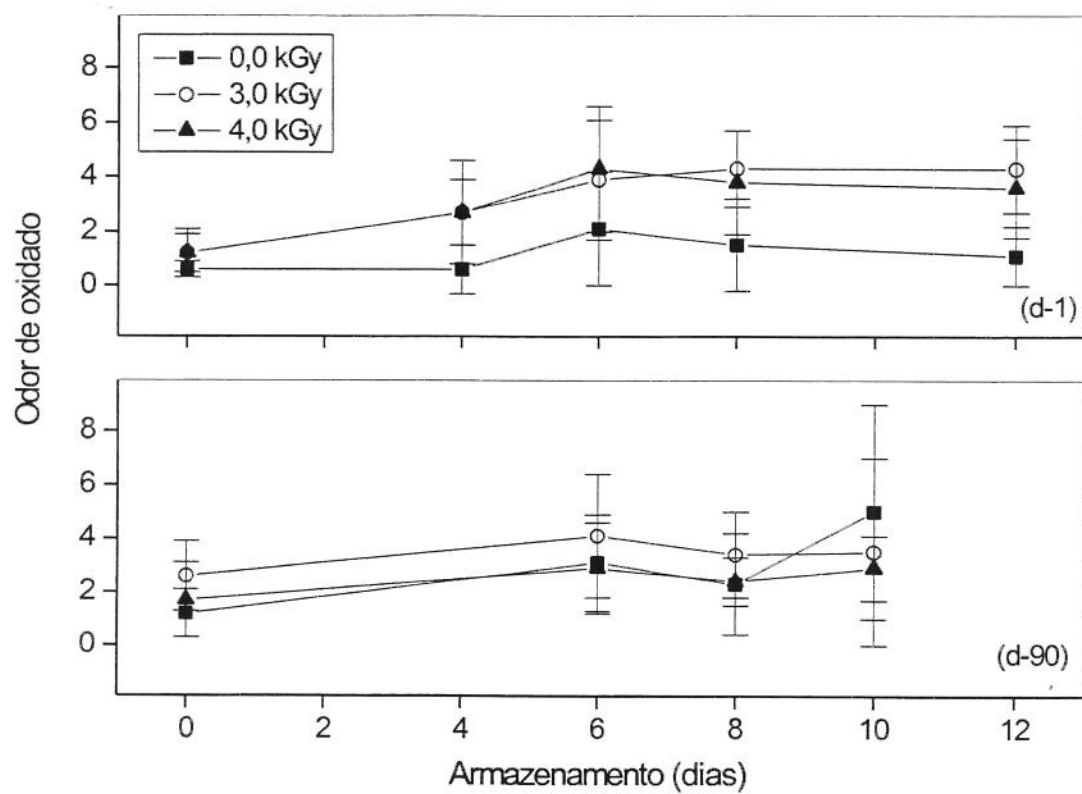


Figura 3.

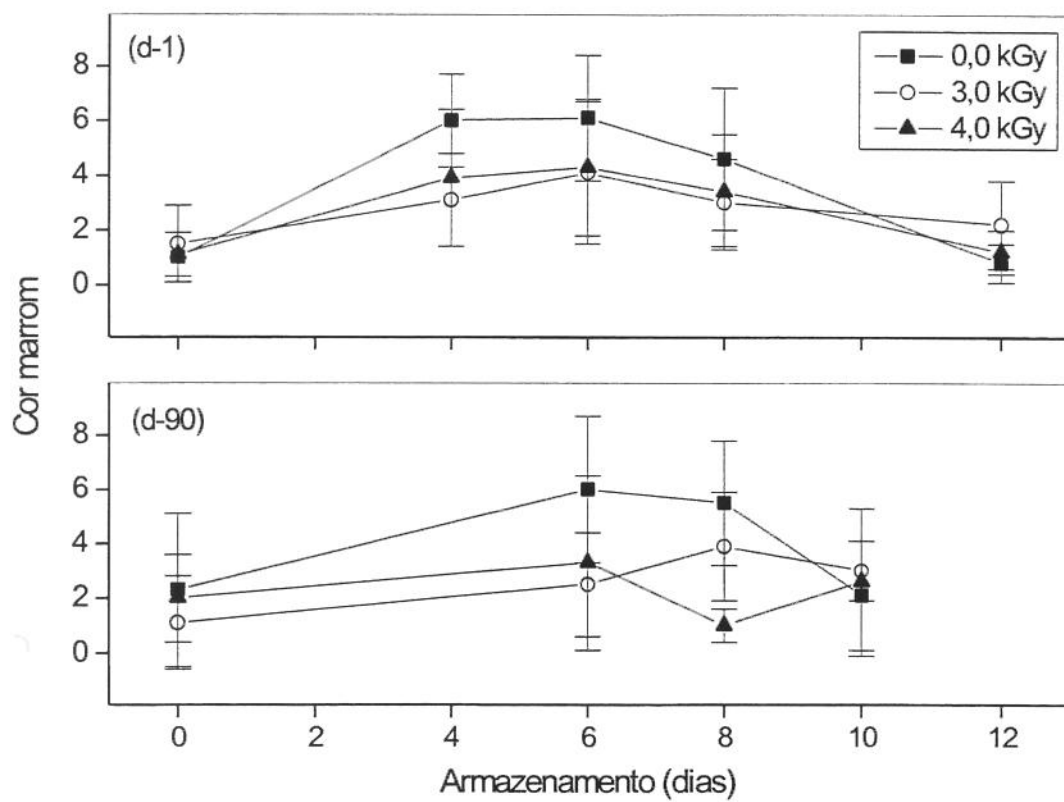


Figura 4.

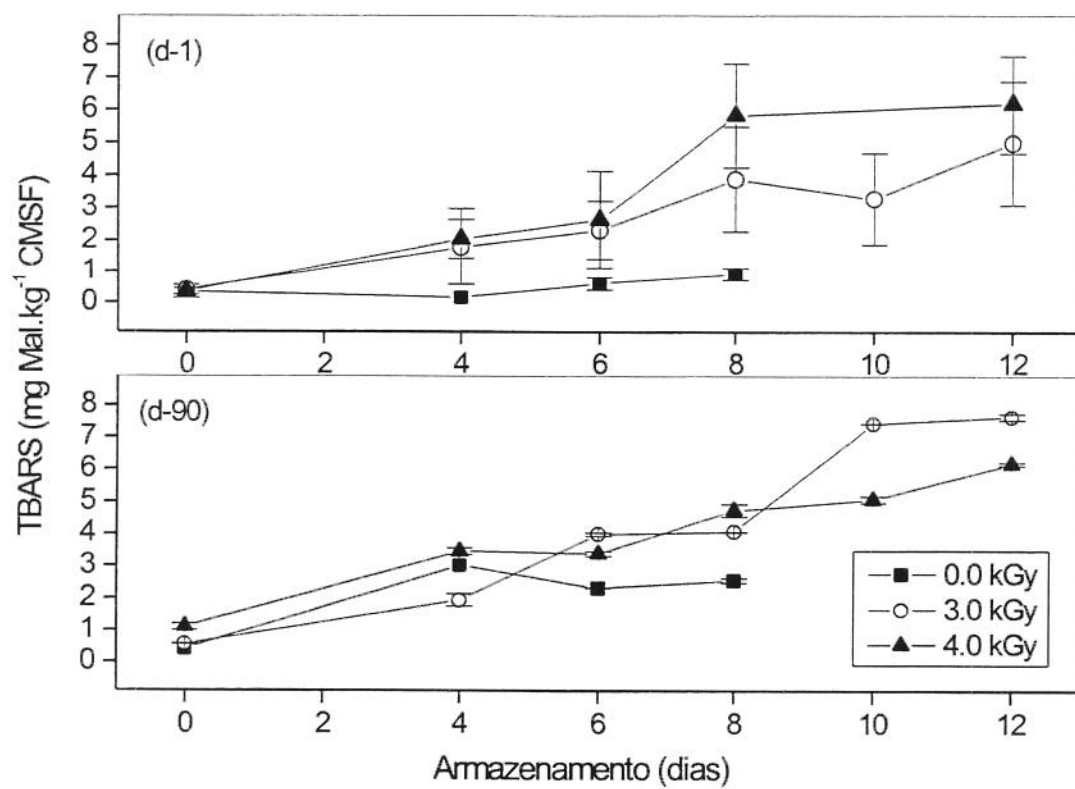


Figura 5.

Tabelas

Tabela 1. Definições usadas para a avaliação dos atributos sensoriais da CMSF.

Atributo	Definição	Pouco	Muito
Odor de oxidado	Odor de gordura de frango oxidada	Odor de CMSF fresca	Odor de gordura de frango envelhecida pelo congelamento
Odor de irradiado	Odor de pele de frango queimada: sapecada – após a depenagem manual as penas restantes são colocadas sobre as chamas para facilitar a remoção das penugens	Odor de CMSF fresca	Odor descrito na definição
Cor marrom	Cor de CMSF coberta com filme de polietileno e refrigerada por três dias	Cor de CMSF fresca coberta com filme de polietileno e refrigerada por três horas	Cor de CMSF descrita na definição

Tabela 2. Valores de bactérias psicrotróficas obtidos em amostras de CMSF irradiadas ou não, ao longo do armazenamento refrigerado. O dia zero de armazenamento refere-se ao primeiro dia de análise após irradiação da CMSF.

		Log (UFC).g ⁻¹					
		0,0kGy		3,0kGy		4,0kGy	
Armazenamento		d-1	d-90	d-1	d-90	d-1	d-90
(dias)							
0		3,85 i,j,k,l	4,84 f,g,h	2,71 l,m	3,53 i,j,k,l,m	2,40 m	3,35 j,k,l,m
4		4,87 f,g,h	6,76 d,e	3,48 j,k,l,m	3,44 j,k,l,m	3,04 k,l,m	3,00 k,l,m
6		6,68 d,e	7,11 b,c,d	3,76 i,j,k,l	4,00 h,i,j,k,l	4,16 h,i,j,k	2,76 l,m
8		7,73 b,c	8,72 a	4,67 g,h,i,j	4,91 f,g,h	4,18 h,i,j,k	4,15 h,i,j,k
10		-	-	6,15 d,e,f	-	5,59 e,f,g	-
12		-	-	7,04 b,c,d	7,56 b,c	6,61 d,e	5,60 e,f,g
14		-	-	-	-	-	6,92 b,d,e

^a: período de congelamento antes da estocagem refrigerada.

-: não avaliado

d-1: amostras descongeladas um dia após a irradiação

d-90: amostras descongeladas 90 dias após a irradiação

Tabela 3. Valores de *S. aureus* obtidos em amostras d-1 de CMSF irradiadas ou não, ao longo do armazenamento refrigerado ($2 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$). O dia zero de armazenamento refere-se ao primeiro dia de análise após irradiação da CMSF.

Armazenamento (dias)	Amostra	0,0 kGy	3,0 kGy	4,0 kGy
log (UFC).g ⁻¹				
0	1	3,32	-	-
	2	3,86	-	-
	3	-	-	-
	4	-	-	-
4	5	3,52	-	-
	6	-	-	-
	7	-	-	-
	8	4,72	-	-
6	9	2,39	1,41	-
	10	2,58	-	-
	11	4,34	1,30	-
	12	4,11	1,83	-
8	13 a 16	-	-	-
10	17 a 20		-	-
12	21 a 24		-	-

- : valor < 1,00 log(UFC).g⁻¹;
 espaço em branco: amostra não avaliada

CAPÍTULO 5

EFFECTS OF IONIZING RADIATION IN MECHANICALLY DEBONED CHICKEN MEAT DURING FROZEN STORAGE

ABSTRACT

Ionizing radiation was used for the purpose of reducing bacterial contamination in mechanically deboned chicken meat (MDCM). Irradiated and non-irradiated MDCM were stored at $-18 \pm 1^{\circ}\text{C}$, and samples were taken at zero time and at 30-days intervals up to 90 days for 2-thiobarbituric acid reactive substances, sensory and microbiological analyses. The numbers for mesophyllic bacteria at zero time for MDCD samples irradiated with doses of 3.0 kGy, 4.0 kGy and for non-irradiated samples, were $3.16 \log(\text{c.f.u.})\cdot\text{g}^{-1}$, $2.79 \log(\text{c.f.u.})\cdot\text{g}^{-1}$ and $4.45 \log(\text{c.f.u.})\cdot\text{g}^{-1}$, respectively. MDCM samples irradiated were negative for the coliform group, and the mesophyllic bacteria counting never were above of the legal limits. The numbers for 2-thiobarbituric acid reactive substances obtained at zero time for the MDCD samples irradiated with doses of 3.0 kGy, 4.0 kGy and for non-irradiated samples were $0.39 \text{ mg Mal}\cdot\text{kg}^{-1}$ MDCD, $0.34 \text{ mg Mal}\cdot\text{kg}^{-1}$ MDCD, $0.35 \text{ mg Mal}\cdot\text{kg}^{-1}$ MDCD, respectively, and increased during frozen storage. Considering the variable analyses in this study, the results obtained for the microbiological, sensory and lipid oxidation evaluations, showed that the MDCD samples irradiated with doses for 3.0 kGy and 4.0 kGy were all considered acceptable during 90 days of frozen storage.

Key words: mechanically deboned chicken meat, food irradiation, thiobarbituric acid reactive substances, lipidic oxidation, sensory analysis, *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, microbiology.

Abbreviations: $^{\circ}\text{C}$: Celsius degree, cm: centimetre, Ci: query, Co: colbalt, c.f.u.: colony formation units, g: gram, h: hour, kGy: kilo Gray, kg: kilogram, log: logarithm, Mal : malonaldehyde, MDCD: mechanically deboned chicken meat, mg:

milligram, MPN: most probable number, p: probability, sd: standard deviation, TBARS: thiobarbituric acid reactive substances.

Running Title: Effects of ionizing radiation on mechanically deboned chicken meat.

INTRODUCTION

Extensive researchs began at the end of World War II on processes with the objective of increasing the shelf life of packaged chicken meat and fresh beef. Studies on the irradiation of poultry products increased after 1990, when the FDA approved the irradiation of food products for the control of pathogens of foodborn from poultry, and also in 1992, when the USDA approved the control of microorganisms by the irradiation of whole bodies or parts, of raw deboned or mechanically separated, refrigerated or frozen, poultry^{31,35}.

The process of irradiation can take place in packaged products to avoid contamination, and at refrigerated or frozen temperatures, to meet the perishability characteristics of MDCM, which requires quick cooling to 2°C, followed immediately by freezing on leaving the processing equipment^{4,37}.

The irradiation of frozen MDCM in France is done on an industrial scale in irradiation facilities that operate solely for that purpose. However, there is a lack of studies on the sensorial, chemical, and microbiological characteristics during the storage of the frozen product¹⁷. These studies, besides contributing to the evaluation of the viability of using irradiated MDCM in raw meat formulations and given that irradiation can guarantee that this raw material is free of pathogens⁶, are also of crucial importance for the safe functioning of the industrial production chain in terms of human health by foreseeing possible alterations in stored and frozen irradiated MDCM.

The principal alterations that occur from irradiation include the production of volatile compounds and the formation of free radicals, which are mainly responsible for the flavor and off-flavor in meat. Free radicals also are catalysts of lipid auto-oxidation ³⁰. These phenomena become more important when the exposed product contains polyunsaturated fatty acids. The fat present in MDCM is rich in polyunsaturated fatty acids due to the presence phospholipids in bone medulla and in spinal medulla. Heminic iron of the same origin constitutes an oxidation catalyst. ²⁷. And to end it, comminution during the extracting process causes a mixture of oxygen with MDCM, which becomes the principal factor involved in the development of off-flavor and the alteration of color during storage ^{11,12,22,29}. Therefore, it becomes indispensable to verify the consequences of treatment by ionizing radiation, as regards to the sensorial characteristics and the state of lipid oxidation of irradiated MDCM. It is in this context that the present study is developed, which is to evaluate the effect of gamma radiation on the sensorial, microbiological and lipid oxidation characteristics in MDCM during frozen storage.

MATERIALS AND METHODS

Experimental design

Thirty-six samples of MDCM from chicken backs without skin were taken at the same commercial poultry slaughterhouse. Each 200 g sample was placed in a transparent, low density, polyethylene bag. The samples were frozen to $-18 \pm 1^{\circ} \text{C}$ in a tunnel, and kept in that state during irradiation and the period of storage. Lots of 12 samples were submitted to gamma radiation doses of 3.0 kGy, 4.0 kGy, or no irradiation (control). Following that the samples, irradiated or not, were drawn at time zero and at 30-day intervals up to 90 days for microbiological, sensory, and 2-thiobarbituric acid-reactive analyses.

Irradiation

The gamma radiation source was ^{60}Co gamma cell at 10,300 Ci, which produced a dose rate of 7.32 kGy.h^{-1} . Routine dosimetry was conducted with Far West Technology dosimeters. The samples were placed in uniform portion of the radiation field and arranged to minimize any differences in the radiation dose. The mean standard error of absorbed dose from targets doses was ± 0.22 and ± 0.28 for doses of 3.0 kGy and 4.0 kGy, respectively.

Microbiological analysis

The standard total count of mesophyllic and psychrotrophic bacteria was carried out using "Plate Count Agar" ³⁸. To determine the occurrence of *Salmonella* spp., a 25-g fraction of each sample of MDCM was inoculated in buffered peptone water as a means of pre-enrichment ³. Then, aliquots were transferred to enrichment mediums of tetrathionate broth and Rappaport Vassiliadis broth. After a period of incubation they were streaked to solid mediums bismuth sulfite agar, xylose lysine deoxycholate agar, and Hektoen enteric agar. Typical colonies were submitted to biochemical tests (bioMérieux API 20E kit) and sorotyping ². To check the occurrence of *S. aureus* a Baird-Parker agar medium with egg yolk and tellurite was used, and typical colonies were tested for biochemical identification ⁵. Identified strains of *S. aureus* were evaluated for the production of enterotoxins: the enterotoxin-bioMérieux Staph VIDAS kit and mini-VIDAS-bioMérieux equipment ⁵ were applied. Then, the positive strains for the production of staphylococcal enterotoxin were evaluated using the detection kit by Reversed Passive Latex Agglutination, SET-RPLA staphylococcal enterotoxins-OXOID, to determine the type of staphylococcal enterotoxin produced. The count of *Clostridium perfringens* was carried out using a D-cycloserine tryptose sulfite agar medium with overlay, and incubated in a BBL anaerobic jar containing anaerobic system envelope with palladium catalyst (BBL). Type colonies were submitted to biochemical identification tests ³⁸. The determination of coliforms was carried out

using the multiple tube method (series of three tubes). The culture medium lauril triptose broth was used as a presumptive medium for the presence of coliforms, and EC broth for a confirmation of the presence of fecal coliforms. The most probable number of fecal coliforms per gram (MPN.g⁻¹) was evaluated by means of a MPN table, appropriate for inoculated dilutions ³⁸.

Chemical analysis

Lipid oxidation was measured as thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) values using a modified version of the method of Tarladgis, Watts, and Younathan ³⁴. The modification of this procedure was the addition of butylated hydroxytoluene before blending step to prevent auto-oxidation ²⁸. The results were expressed as mg Malonaldeido.kg⁻¹ MDCM. The analyses were performed in triplicate for each sample. With 10-g MDCM samples and 89.1 % recovery, the average k value was 5.0. The average proximate analysis for the meat was 66.6 % moisture¹⁹, 19.1 % fat¹⁹, 13.2 % protein¹⁹ and 1.0 % ash¹⁹. The proximate analyses were also performed in triplicate.

Sensory analysis

Fifteen judges were recruited from a list of participants in quantitative tests of meat products, and of these, 9 were selected. The criteria for recruitment were: age between 18 and 43, normal or superior visual acuity, which was checked by the Farnsworth Munsell 100 Hue Test, chicken consumers and interest and availability to evaluate the appearance and color of irradiated MDCM. The Grid method was used to prepare the list of descriptive terms, using MDCM samples from some of the evolution periods of these and other reference materials. Subsequently the sensory test was applied.

The MDCM samples were presented to the judges in white porcelain dishes, avoiding the incorporation of air during the preparation for presentation as

much as possible. The sample surfaces were smoothed with a spatula, covered with aluminum foil and kept under refrigeration (3 to 5°C) until the moment of evaluation. The score card was prepared by the taste panel, using a 10 cm non-structured scale, anchored at the extremes by terms of intensity in which 0 = little and 10 = a lot. The definitions used for the selected sensory attributes and evaluated with the MDCM samples, are shown in Table 1. Since the results of the microbiological analyses were not available at the time of the sensory tests, the flavor analysis was not performed, to avoid possible health risks to the judges.

<Table 1>

Statistical analysis

Responses were expressed as the logarithm of colony formation units per gram. Statistical calculations were performed using the SAS statistical package from SAS Institute. The variance analyses were performed using the minimum squared method. Averages were compared using the Student t Test. Each study was replicated three times for each variable, except for the results obtained after 30 days of frozen storage, which were replicated two times. The statistical alignment for the sensorial test used randomized complete block with three replications, and where each replication was evaluated by three judges. The analysis of variance was applied using the Statistica program v.5.0., and the means test using Dunnett,s and Tukey's tests at a 5% level of significance. During the sensory analyses, the MDCM samples changed color very quickly, so the statistical treatment was effected at a level of 10% significance.

RESULTS AND DISCUSSION

Microbiological analysis

The results obtained showed that in all irradiated MDCM samples, values of less than ($p < 0.05$) were observed for the count of mesophyllic and psychrotrophic aerobic bacteria, when compared with the values found in non-irradiated MDCM, during frozen storage. Also the mesophyllic and psychrotrophic bacteria count decreased successively with the increase in radiation dosage. (Figure 1). This behavior was expected and agrees with results obtained in other studies^{13,25,27}. In no case was there a mesophyllic bacteria count registered above the recommended maximum for meat, that is, $6.48 \log(\text{c.f.u.})\cdot\text{g}^{-1}$ (7).

When charge of mesophyllic bacteria are compared with the results observed for psychrotrophic microorganisms, one can verify that in 83.3 % of the cases similar reciprocal values were found. The results presented were expected, as the psychrotrophic microorganisms are a sub-group of the mesophyllic bacteria, defined as capable of increasing 7 ± 1 °C within 7 to 10 days. The microorganisms most commonly associated with deterioration in refrigerated food are psychrotrophic and not psychophyllic microorganisms³⁸.

Samples of MDCM, irradiated with doses of 3.0 kGy and 4.0 kGy, and not irradiated, maintained stable mesophyllic and psychrotrophic bacteria counts ($p > 0.05$) during frozen storage. The values of mesophyllic bacteria present in MDCM irradiated with 3.0 kGy and 4.0 kGy evaluated on day zero of frozen storage, were reduced in average, respectively, by $1.29 \log(\text{c.f.u.})\cdot\text{g}^{-1}$ and $1.66 \log(\text{c.f.u.})\cdot\text{g}^{-1}$, when compared with the values obtained in non-irradiated MCDM samples. The results of the present study are not in accordance with those obtained in a study that also treated irradiated samples of frozen MDCM in 3.0 kGy and 4.0 kGy, and which presented a reduction of total mesophyllic bacteria of 1.95 and $2.16 \log(\text{c.f.u.})\cdot\text{g}^{-1}$ (13,14). In the quality evaluation study of MDCM gamma

irradiated with 2.0 and 3.0 kGy frozen storage, it was observed reduction about two log cycles of both mesophilic and psychrotrophic bacteria. Bacterial numbers, however, were non significantly different in 2.0 and 3.0 kGy irradiated MDCM¹⁷. Factors such as the composition of MDCM, temperature during irradiation process, and dose rate, can influence these differences in the reduction of microbes in MDCM, even though they were submitted to the same doses of ionized radiation.

<Figure 1>

The microorganisms that belong to the coliform group showed to be highly sensitive to radiation, as they were detected only in samples of non-irradiated MDCM (média = $2.09 \pm 0.75 \log(\text{NMP}).\text{g}^{-1}$) during the period of frozen storage. Therefore, after processing MDCM with ionized radiation, with 3.0 kGy and 4.0 kGy doses, this group of microorganisms does not function as an indicator of hygienic or sanitation conditions for this type of meat. According to Paquin ²⁷, fecal coliforms are reduced from 0.5 to 1.0 logarithm cycles when frozen MDCM was irradiated with doses of 1.0 to 2.0 kGy.

For samples of non-irradiated MDCM the fecal coliform population remained stable up (média = $2.45 \pm 0.26 \log(\text{MPN}).\text{g}^{-1}$) to 60 days of frozen storage ($p > 0.05$). At 90 days of storage a significant reduction ($p < 0.05$) was observed (Figure 2). Only the non irradiated MDCM samples frozen stored for 30 days showed faecal coliforms counts of $2.71 \pm 0.47 \log(\text{MPN}).\text{g}^{-1}$, above the legal acceptable levels⁷ of $2.48 \log(\text{MPN}).\text{g}^{-1}$. According publication²⁶, faecal coliforms were eliminated from frozen (-15°C) mechanically deboned turkey meat MDM after 9 months.

<Figure 2>

Non-irradiated and irradiated MDCM samples showed a negative presence of *Salmonella spp.* and *C. perfringens*. According to the literature, the

frequency of occurrence of vegetative cells of *C. perfringens* in MDCM samples is between 2.7 to 62%^{20,24,26}. As it was a product that did not undergo heat treatment, it would be expected that the number of vegetative cells of *C. perfringens* would be reduced. Lots of MDCM have presented up to 20 % rejection due to *Salmonella* contamination¹⁶.

Among the pathogenic microorganisms evaluated, *S. aureus* was detected only in non-irradiated MDCM samples. Of five independent samples evaluated up to 30 days of frozen storage, three (60.0 %) showed *S. aureus* contamination. These results were 3.32 log(c.f.u.).g⁻¹, 3.86 log(c.f.u.).g⁻¹, and 5.24 log(c.f.u.).g⁻¹, respectively, after zero and 30 days of frozen storage. The levels of contamination, above of 3.70 log (c.f.u.).g⁻¹, according to current Brazilian legislation, place the product quality of the samples described above, as unacceptable⁸.

According to the above results, it can be seen that MDCM irradiated with 3.0 and 4.0 kGy doses were classified as entirely acceptable in terms of *S. aureus* occurrence, at 90 days of frozen storage, whereas two in five non-irradiated MDCM samples observed up to 30 days under frozen storage were not acceptable.

Take in consideration the zero point for frozen storage, the reduction in *S. aureus* population in irradiated samples was 3.59 logarithm cycles when compared with values detected in non-irradiated samples that showed the presence of *S. aureus*. The results of this study are in line with those obtained for MDCM maintained at 0°C and irradiated with a dose of 3.0 kGy, where the maximum reduction of this microorganism was 6.3 log(c.f.u.).g⁻¹ (36). The results showed that as a producer of enterotoxin strain *S. aureus* can survive in non-irradiated MDCM at 30 days under frozen conditions, since after that period of storage the occurrence was verified as a producer strain of C enterotoxin.

Table 2 shows that the values of TBARS for frozen stored irradiated MDCM samples with doses of 3.0 kGy and 4.0 kGy obtained at day zero ($\text{TBARS}_{3,0 \text{ kGy}} = 0.39 \pm 0.1 \text{ mgMal.kg}^{-1}$, $\text{TBARS}_{4,0 \text{ kGy}} = 0.34 \pm 0.1 \text{ mgMal.kg}^{-1}$) and at day 90 ($\text{TBARS}_{3,0 \text{ kGy}} = 1.42 \pm 0.3 \text{ mgMal.kg}^{-1}$, $\text{TBARS}_{4,0 \text{ kGy}} = 1.21 \pm 0.2 \text{ mgMal.kg}^{-1}$), do not differ significantly from those observed for non-irradiated samples ($\text{TBARS}_{\text{day } 0} = 0.35 \pm 0.2 \text{ mgMal.kg}^{-1}$, $\text{TBARS}_{\text{day } 90} = 0.94 \pm 0.2 \text{ mgMal.kg}^{-1}$) ($p > 0.05$). However, after 30 and 60 days of frozen storage the irradiated MDCM samples presented significantly higher values of TBARS ($p < 0.05$) when compared with those observed for non-irradiated samples. Irradiated MDCM samples presented significant increase in values of TBARS ($p < 0.05$) at the very beginning frozen storage, that is, after 30 days of storage. These values remained stable ($p > 0.05$) up to 90 days of frozen storage. On the other hand, the non-irradiated MDCM samples presented stable TBARS ($p > 0.05$) at 60 days of frozen storage (média = $0.32 \pm 0.17 \text{ mgMal.kg}^{-1}$). At 90 days of storage a significant increase occurred in TBARS ($0.94 \pm 0.2 \text{ mgMal.kg}^{-1}$) ($p < 0.05$), which reached levels compatible with the TBARS detected in irradiated samples ($p > 0.05$).

The significant increase in TBARS values, even at the beginning of frozen storage (after 30 days of storage), was in accordance with expectation, as free radicals produced during food irradiation processing are catalyzers of lipidic auto-oxidation. Being chemically unstable they tend to recombine rapidly. Their effect would not be expected up to the end of frozen storage^{30,33}. According to the literature TBARS values observed in irradiated or non-irradiated MDCM during frozen storage are in the range of this test and considered sensorially acceptable for meat products^{1,9,21,23}.

3.0 kGy dose, followed our present results for the period of zero (0.20 ± 0.05 mg Mal.kg⁻¹) and 30 days (1.12 ± 0.26 mg Mal.kg⁻¹), but disagree with the results from day 60th (7.18 ± 0.45 mg Mal.kg⁻¹). For the non-irradiated samples it was verified the same previous observation¹⁷. The TBARS result obtained by Pollônio²⁹ (0.29 ± 0.02 mg Mal.kg⁻¹) was concordant with our present study for the period of zero days for non-irradiated MDCM frozen stored (Table 2). The MDCM evaluated in present study showed more stable lipid oxidation during freezing when the results were compared with the previous studies^{17,29}. MDCM composition, method of TBARS determination, and chicken feed composition are factors that can affect the TBARS values for this raw material. Antioxidants adding to the feed can enhance the protection to the lipid oxidation for both irradiated and non-irradiated chicken meat^{15, 32}.

<Table 2>

Sensory analysis

The results of the sensorial analysis for color showed the at zero, 30, and 90 days of frozen storage the irradiated and non-irradiated MDCM samples presented the same behavior for brown ($p > 0.10$). Although no significant difference was detected the sensorial analysis showed that at 30 and 90 days the irradiated samples showed lower scores for brown than those found in non-irradiated samples (Figure 3). Therefore, for the sensorial analysis results for brown colors, the irradiated samples at 30 and 90 days of freezing temperatures presented colors closer to the expected standard for fresh MDCM than did the non-irradiated samples.

<Figure 3>

From these results it can be verified that control samples of MDCM presented lower scores for the irradiated odour intensity samples, followed by

irradiated samples with a dose of 3.0 kGy and 4.0 kGy during the entire period of freezing (Figure 4). The irradiated odour scores results from day zero showed significant differences from irradiated and non-irradiated frozen samples. From zero to 30 days there was a decline in values ($p < 0.05$) for the irradiated samples that stayed constant till 90 days of freezing. These results showed that the volatile compounds produced on the irradiation process disappeared during freezing. According Grozdanov et al.¹⁷ the panellists were not able to discern the characteristic irradiated odour in frankfurters and chicken meat patties containing 66 % and 20 % irradiated MDCM, respectively. In their study, scores for the irradiated odour decreased during the 90 days of freezing, the same of this work. The differences in off-odours between irradiated and non-irradiated raw chicken are not correlated to oxidation¹⁰. No effects of antioxidant treatment on irradiated off-odour were recorded in frankfurters and chicken meat patties containing irradiated MDCM during freezing¹⁷.

Upon evaluating the oxidated odour intensity for MDCM -samples the results showed that at zero days and after 90 days of frozen storage there was no difference ($p > 0.05$) in the scores of perceived oxidated odour when comparing irradiated and non-irradiated samples. Only at 30 days of frozen storage did irradiated samples present scores for oxidized odour greater ($p < 0.05$) than non-irradiated (Figure 4). The sensorial analysis results for oxidized odour agreed with the behavior observed for TBARS values during frozen storage. The results obtained were expected since food processing with ionized radiation induces a production of free radicals, which are also catalyzers of lipid oxidation^{18,27,30,33}. Literature registers well that the sensorial evaluation of the level of oxidized odour in meat presents a good correlation with TBARS values³³.

<Figure 4>

CONCLUSIONS

According to the results of microbiological, chemical, and sensorial testing in irradiated MDCM samples with doses of 3.0 kGy and 4.0 kGy, the material studied presented conditions that were adequate for human consumption during the 90 days of frozen storage. Non-irradiated MDCM samples presented a quality that was unacceptable for human consumption, in view of the bacterial contamination by *S. aureus* up to after 30 days of frozen storage. Considering all the variables analyzed the dose of 3.0 kGy was considered the best for applying irradiation in MDCM. This dosage presented a charge of microorganisms compatible with the amount detected at 4.0 kGy. The negative effect of 3.0 kGy on sensorial attributes irradiated odour was less when compared to sample irradiated with 4.0 kGy for the duration of frozen storage.

REFERENCES

1. Abu-Tarboush, H.M., Al-Kahtani, H.A., Atia, M., Abou-Arab, A.A., Bajaber, A.S., El-Majaddidi, M.A. Sensory and microbial quality of chicken as affected by irradiation and postirradiation storage at 4,0C. *Journal Food Protection*, 1997, **60**(7): 761-770.
2. Andrews, W.H., June, G.A. *Salmonella*. In: *Food Drug Administration*. 8th. Bacteriological Analytical Manual, 1998, Cap. 5., p. 5.01-1.20.
3. Associação Brasileira de Normas Técnicas. *Salmonella* - Determinação em alimentos. ABNT, 1991, MB3465.
4. Baldini, F. Setor de corte e desossa. In: *Fundação APINCO. Abate e processamento de frangos*, 1994, p. 25-30.
5. Bennett, R.W., Lancette, G. A. *Staphylococcus aureus*. In: *Food Drug Administration*. Bacteriological Analytical Manual. 8ed. Arlington, AOAC, 1998, Cap. 12., pp. 12.01-12.05.
6. Boisseau, P. Irradiation and the food industry in France. *Food Technology*, 1994, **48**(5), 138-140.
7. Código Sanitário. Decreto nº 12.342 de 27/9/78. (Revisto e atualizado até dezembro de 1990). 5º ed. São Paulo, IMESP, 1992, Imprensa oficial do estado.
8. Diário Oficial da União. Instrução normativa n º 4: regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de carne mecanicamente separada de aves, bovinos e suínos. Seção 1, nº 66, Brasil, 5 de abril de 2000.
9. Dhillon, A.S., Maurer, A.J. Stability study of comminuted poultry meats in frozen storage. *Poultry science*, 1975, **54**: 1407-1414.
10. Du, M., Ahn, D. U., Nam, K. C., Sell, J. L. Influence of dietary conjugated linoleic acid on volatile profiles, color and lipid oxidation of irradiated raw chicken meat. *Meat Science*, 2000, **56**: 387-395.
11. Froning, G.W. Color of poultry meat. *Poultry Avian Biology Reviews*, 1995, **6**(1): 83-93.
12. Froning, G.W. Mechanically deboned poultry meat. *Food Technology*, 1976, **30**(9): 50-63.

13. Gallien, C. L., Paquin, J., Sadat-Shafai, T. Use of electron beams for decontamination of mechanically separated poultry meat, *Radiation Physics Chemistry*, 1983, **22**(3-5): 759-763.
14. Gallien, C.-L., Paquin, J., Ferradini, C., Sadat, T. Electron beam processing in food industry technology and costs. *Radiation Physics Chemist.* 1985, **25**(1-3): 81-96.
15. Galvin, K., Morrissey, P. A., Buckley, D. J. Effect of dietary alfa-tocopherol supplementation and gamma-irradiation on alfa-tocopherol retention and lipid oxidation in cooked minced chicken. *Food Chemistry*, 1998, **2**(62): 185-190.
16. Giddings, G.G., Marcotte, M. Poultry irradiation: for hygiene/safety and market-life enhancement. *Food Reviews International*, 1991, **7**(3): 259-282.
17. Grozdanov, A., Dimitrova, N., Atanasova, T., Dilova, N., Kaloyanov, I., Monov, G. Irradiation treatment of mechanically deboned meat to achieve decontamination and storage life extension. In: Proceedings of the Final Research Co-ordination in the Middle East and Europe. France: IAEA. 1994. p. 17-32.
18. Hackwood, S. An introduction to the irradiation processing of foods. In: Stuart, T. ed. *Food irradiation*, London Elsevier, 1991, Cap. 1, 2 e 7.
19. Horwitz, W. ed. Official methods of anlysis of the Association of Official Analytical Chemists. 13 ed. Washington, AOAC, 1980. 1018p.
20. Lillard, H. S. Effect of freezing on incidence and levels of *Clostridium perfringens* in mechanically deboned chicken meat, *Poultry Science*, 1977, **56**(6): 2052-2055.
21. Lee, T. G., Williams, S. K., Sloan, D., Litell, R. Development and evaluation of a chicken breakfast sausage manufactured with mechanically deboned chicken meat. *Poultry Science*, 1997, **76**: 415-421.
22. Kanatt, S.R., Paul, P., Souza, S.F., Thomas, P. Effect of gamma irradiation on lipid peroxidation in chicken lamb and buffalo meat during chilled storage. *Journal Food Safety*, 1997, **17**(4): 283-294.
23. Kanatt, S. R., Paul, P., D'Souza, S. F. D., Thomas, P. Lipid peroxidation in chicken meat during chilled storage as affected by antioxidants combined with low-dose gamma irradiation, *Journal Food Science*, 1998, **63**(2): 198-200.

24. Mulder, R.W.A.W., Dorresteyn, L.W.J. Microbiological quality of mechanically deboned poultry meat. *World's Poultry Science Association*, 1975, 50(1)-50(7).
25. Murano, E. A. Irradiation of fresh meats. *Food Technology*, 1995, 49(12), 52-54.
26. Ostovar, K., MacNeil, J.H., O'Donnell, K. Poultry product quality. 5. Microbiological evaluation of mechanically deboned poultry meat. *Journal Food Science*, 1971, 36: 1005-1007.
27. Paquin, M. Resultats de L irradiation des viandes separees mecaniquement, *RTVA*, 1985, pp. 43-46.
28. Pikul, J., Leszczynski, D. E., Kummerow, F. A. Elimination of sample autoxidation by butylated hydroxytoluene additions before thiobarbituric acid assay for malonaldehyde in fat from chicken meat. *Journal Agricultural Food Chemist*, 1983, 31: 1338-1342.
29. Pollonio, M.A.R. Estudo das propriedades funcionais das proteínas miofibrilares e oxidação lipídica de carne de frango mecanicamente desossada, Campinas, UNICAMP. 1994. (Tese de Doutorado).
30. Potter, N.N., Hotchkiss, J.H. ed. Food Science, New York, Chapman & Hall, 1995, Cap. 11., pp. 245-263.
31. Pszczola, D. Irradiated poultry makes U.S. debut in midwest and Florida markets. *Food Technology*, 1993, 89-96.
32. Sárraga, C., Gárcia Regueiro, J. A. Membrane lipid oxidation and proteolytic activity in thigh muscles from broilers fed different diets. *Meat Science*, 1999, 52: 213-219.
33. Shahidi, F. ed. Flavor of meat and meat products, London, BAP, 1997.
34. Targladis, B.G., Watts, B.M., Younathan, M.T. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *Journal American Oil Chemists Society*, 1960, 37: 44-48, 1960.
35. Thayer, D.W. Extending shelf life of poultry and red meat by irradiation processing. *Journal Food Protection*, 1993, 56(10): 831-833.

36. Thayer, D.W., Boyd, G. Gamma ray processing to destroy *Staphylococcus aureus* in mechanically deboned chicken meat. *Journal of Food Science*, 1992, **57**(4): 848-851.
37. Urbain, W.M. Food irradiation. In: *Food Science and Technology: a series of monographs*, Orlando, Academic Press, 1986. 450p.
38. Vanderzant, C., Splittstosser, D.F. eds. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3 ed. Washington American Public Association, 1992. 1219p.

FIGURE CAPTION

Figure 1. Mesophyllic bacteria (a) and psychrotrophic bacteria (b) in MDCM samples irradiated at different doses of gamma radiation during frozen storage. The vertical lines indicate standard deviation.

Figure 2. Fecal coliform values in non-irradiated MDCM during frozen storage. The vertical lines indicated standard deviation.

Figure 3. Values obtained from the evaluation of sensorial brown color attributes in MDCM samples irradiated at different doses of gamma radiation during frozen storage. Vertical lines indicate standard deviation.

Figure 4. Average values obtained from the evaluation of sensorial odour (irradiated odour and oxidized odour) in samples of MDCM irradiated at different doses of gamma radiation during frozen storage. Vertical lines indicate standard deviation.

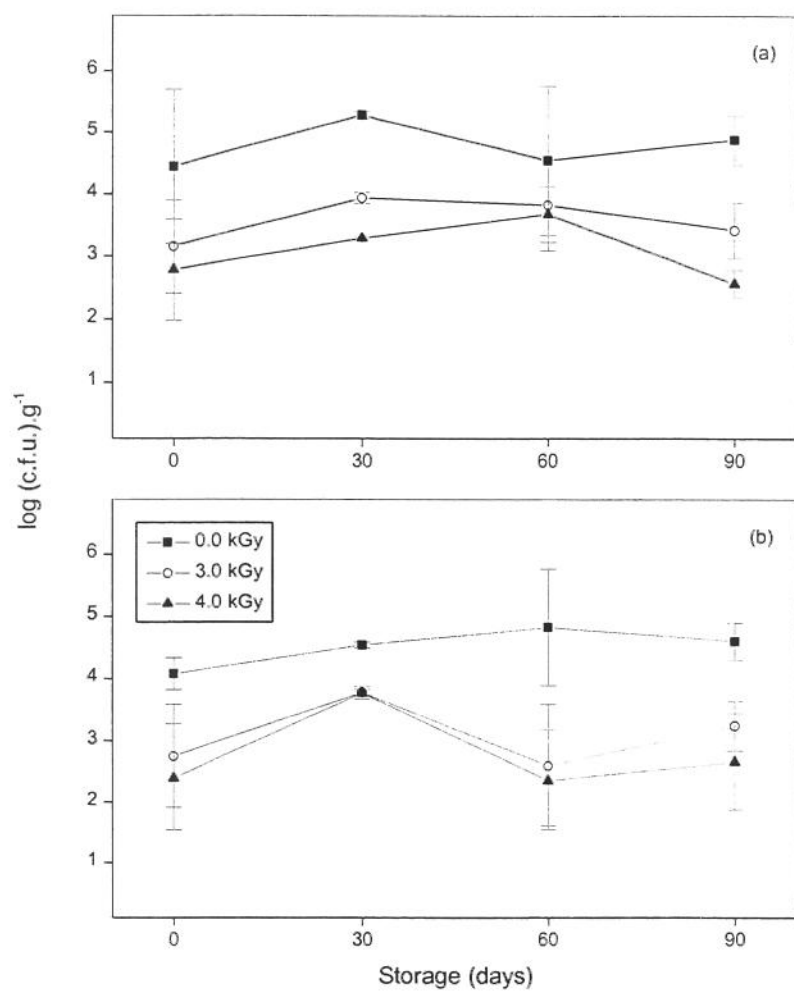


Figure 1.

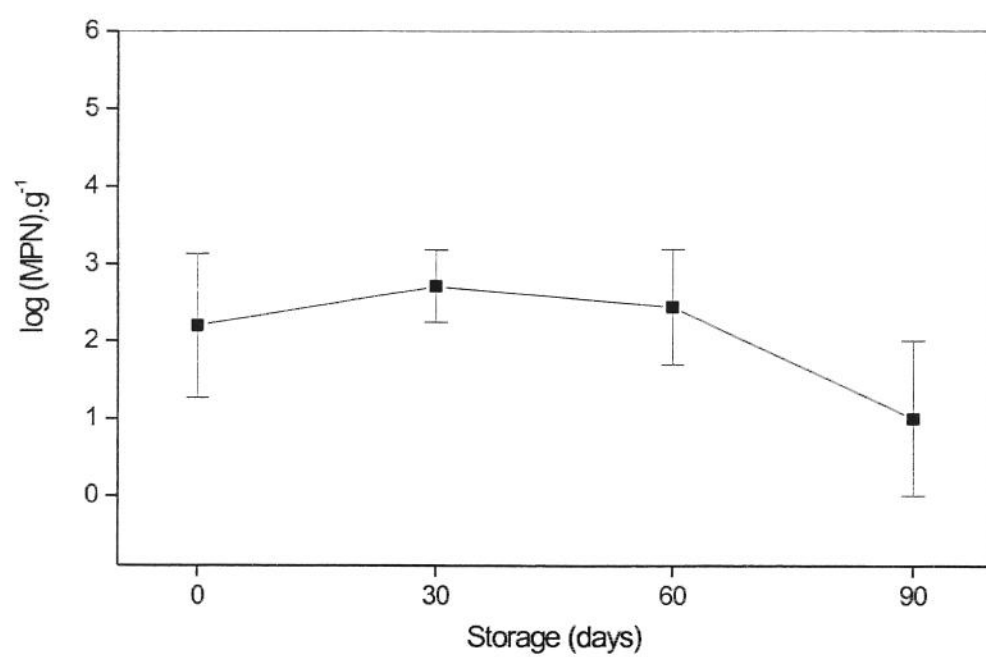


Figure 2.

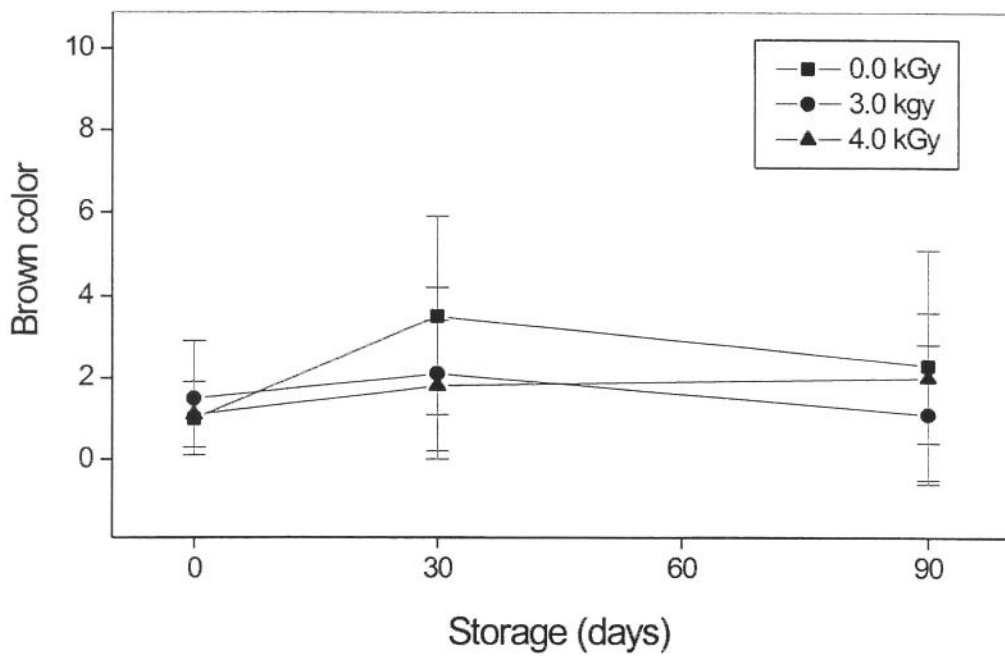


Figure 3.

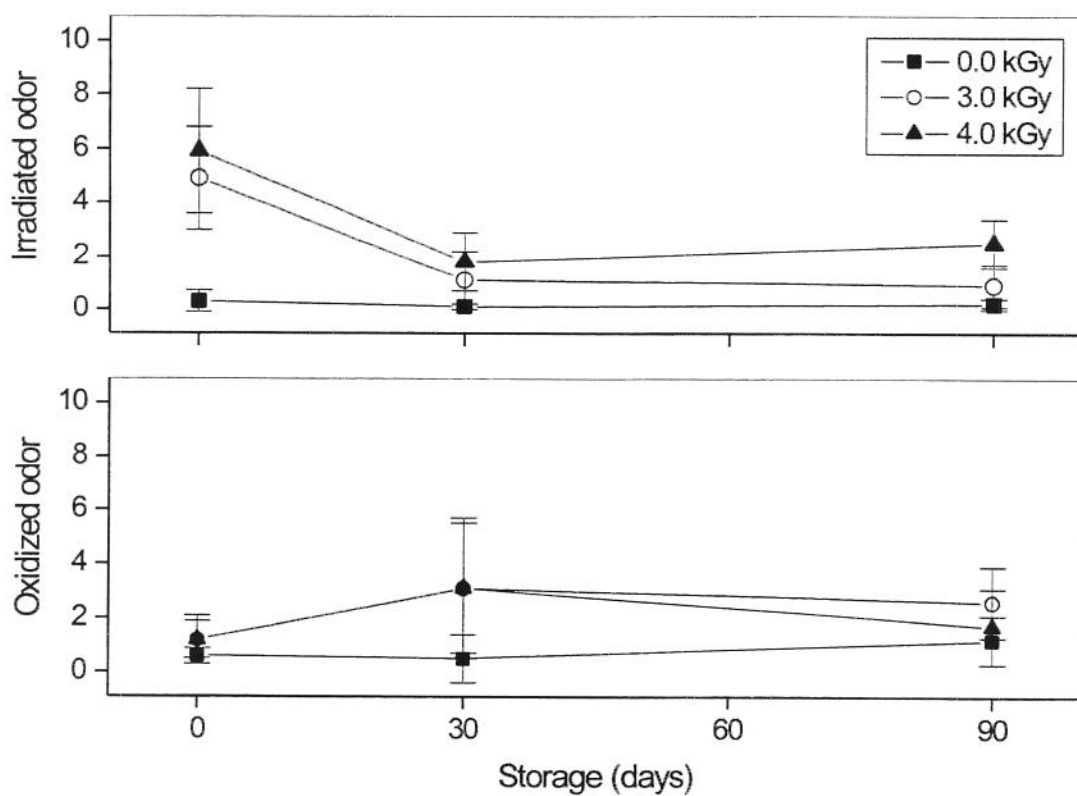


Figure 4.

Tables

Table 1. Definitions used for to evaluate the sensorial attributes in MDCM.

Attribute	Definition	Little	Great
Odour of oxidation	Odour of fat of oxidized chicken	Odour of fresh MDCM	Odour of chicken fat aged by freezing
Odour of irradiation	Odour of burnt chicken skin – after manual feather plucking the feathers are scorched over flame to facilitate the manual removal of feathers	Odour of fresh MDCM	Odour described in the definition
Brown color	Color of MDCM wrapped in polyethylene film and refrigerated for 3 days	Color of fresh MDCM wrapped in polyethylene film and refrigerated for 3 hours	Color of MDCM described in the definition

Table 2. TBARS values evaluated in MDCM samples during frozen storage.

Storage (days)	TBARS (mg Mal.kg ⁻¹)		
	0,0 kGy	3,0 kGy	4,0 kGy
0	0.35 ± 0.2 ^{a*}	0.39 ± 0.1 ^a	0.34 ± 0.1 ^a
30	0.14 ± 0.02 ^a	1.47 ± 0.4 ^b	1.08 ± 0.3 ^b
60	0.48 ± 0.2 ^a	1.28 ± 0.2 ^b	1.52 ± 0.2 ^b
90	0.94 ± 0.2 ^b	1.42 ± 0.3 ^b	1.21 ± 0.2 ^b

* averages followed by the same letter are statistically equal (p > 0.05) by applying the Student t Test.

CAPÍTULO 6

EVALUATION OF THE 2-THIOBARBITURIC ACID METHOD FOR THE MEASUREMENT OF LIPID OXIDATION IN MECHANICALLY DEBONED GAMMA IRRADIATED CHICKEN MEAT

ABSTRACT

This study evaluated the 2-thiobarbituric acid (TBA) method for the measurement of lipid oxidation in samples of mechanically deboned chicken meat (MDCM), both gamma irradiated with doses of 4.0 and 5.0 kGy and non-irradiated. The values for the percent recuperation of 1,1,3,3-tetraethoxy-propane (TEP) and for the conversion factor K for the samples irradiated with doses of 4.0 and 5.0 kGy and the non-irradiated samples were, respectively, 88.6 %, 90.0 % and 88.6 % for the former and 4.98, 4.91 and 4.98 for K. Comparing the results obtained for the samples of MDCM irradiated with doses of 4.0 and 5.0 kGy and the non-irradiated samples, as evaluated by the TBA distillation method, it was observed that the values for percent recuperation of TEP, the values for K and the spectral curves, as also the linear equations of the standard curves for the distillation of malonaldehyde, were similar for all the samples, no singular interference on the TBA test due to the process of irradiating the MDCM, being detected.

Key words: Mechanically deboned chicken meat, 2-thiobarbituric acid, food irradiation, lipid oxidation.

INTRODUCTION

Lipid peroxidation is one of the major causes of quality deterioration in raw and cooked meat products during refrigerated or frozen storage. The 2-thiobarbituric acid (TBA) method is the most widely used test for measuring the extent of lipid peroxidation in red meat and poultry, due to its speed and simplicity (Raharjo and Sofos, 1993; Shahidi, 1997). The TBA test, when performed with the distillation procedure, is considered to be more sensitive and also more suitable for

high fat samples (>10%) where turbidity may occur in the extracted samples (Shahidi & Hong, 1991; Fernández, Pérez-Álvarez and Fernández-López, 1997). The 1,1,3,3-tetraethoxypropane have been used as standard to assess recoveries in the TBA test (Hoyland & Taylor, 1991; Fernández, Pérez-Álvarez and Fernández-López, 1997; Calhoun, Gaebler and Mandigo, 1999; Lawlor, Sheehy, Kerry, Buckley and Morrissey, 2000). The phospholipid fraction of mechanically deboned chicken meat (MDCM) is highly unsaturated, and thus very susceptible to oxidation, showing a great potential to produce 2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) (Dawson and Gartner, 1983; Pikul and Kummerow, 1991). Auto-oxidation of lipids proceeds via a free-radical chain mechanism and is catalysed by many factors such as ionizing radiations (Shahidi, 1997).

In France the irradiation of frozen MDCM has been implemented on an industrial scale, with whole installations dedicated exclusively to this raw material. However, there is a lack of studies on the microbiological quality and lipidic oxidation during refrigerated and frozen storage (Grozdanov, Dimitrova, Atanasova, Dilova, Kaloyanov and Monov, 1994). In addition to contributing to the evaluation of the viability of using irradiated MDCM in raw formulations, since the process could guarantee pathogen free raw material (Boisseau, 1994), such studies are of crucial importance to the safety of the industrial productive chain, since they could forecast possible alterations in frozen stored irradiated MDCM, due to fluctuations in temperature as a result of failures during transport and/or storage, and in manufactured foods containing this raw material. In this context, the MDCM used in the present study was irradiated in frozen state and, thereafter storage frozen or under refrigeration to mimetic the previous situations described.

Numerous studies have shown that gamma irradiation provokes alterations in the lipid components of fresh and frozen chicken meat (Gruiz and Kiss, 1987; Hansen, Chen and Shieh, 1987; Lakritz and Schwartz, 1995; Kanatt, Paul, Souza and Thomas, 1997). In addition, the process of irradiating meats has been associated with the production of TBA reactive substances, not only

malonaldehyde, at both 532 nm and other wavelengths (Tarladgis, Watts and Younathan, 1960; Raharjo and Sofos, 1993; Janicek, Haseltine and Henner, 1985).

Different types of sample and procedures for the determination of malonaldehyde recovery would also result in different values for the recovery and conversion factors used to calculate the TBA number. However, the same conversion factors obtained in previous studies by different workers have been used to calculate TBA numbers. This could certainly lead to erroneous results (Tarladgis, 1960; Raharjo and Sofos, 1993). Thus this study aimed at evaluating the measurement of TBARS by the 2-thiobarbituric acid method in mechanically deboned gamma irradiated chicken meat.

MATERIALS AND METHODS

Experimental design

For the analyses, samples were taken from MDCM produced from the back, without skin, in a commercial chicken slaughterhouse. Each 200g sample unit was removed from a 60 kg batch and heat sealed in a transparent low density polyethylene bag (Andrews and Read, 1984; Lee, Sebranek, Olson and Dickson, 1996). The samples were then frozen in a tunnel to -18 ± 1 °C and maintained in this state until irradiated. The samples irradiated with doses of 4.0 and 5.0 kGy and the non-irradiated samples were thawed under refrigeration ($+2 \pm 1$ °C) for one night and evaluated by the TBA method for the measurement of lipid oxidation, aiming at determining the standard curves, absorption spectra, percent of recovery and K value. In addition, the K value was also determined for samples of MDCM irradiated with the dose of 4.0 kGy and non-irradiated samples stored under refrigeration ($+2 \pm 1$ °C) after 2 days frozen storage, stored refrigerated ($+2 \pm 1$ °C) after 90 days frozen storage and stored frozen (-18 ± 1 °C). The average proximate analysis for the meat samples was 66.6 % moisture (Horwitz, 1980), 19.1 % fat

(Horwitz, 1980), 13.2 % protein (Horwitz, 1980), and 1.0 % ash (Horwitz, 1980). The proximate analyses were performed in triplicate.

Irradiation

The gamma radiation source was a ^{60}Co gammacell with an activity of 10,300 Ci, producing a dosage rate of 7.32 kGy/h. Routine dosimetry was conducted using Far West Technology dosimeters. The samples were placed in the uniform portion of the radiation field and arranged to minimize any differences in the radiation dose. The mean standard deviations of the absorbed doses from the target doses were ± 0.28 and ± 0.35 for the doses of 4.0 kGy and 5.0 kGy, respectively.

TBA method analysis

The TBA distillation method was performed on the MDCM samples using a modified version of the method of Tarladgis, Watts and Younathan (1960). The modification of this procedure was the addition of butylated hydroxytoluene before the blending step to prevent autoxidation (Pikul, Leszczynski and Kummerow, 1983). Malonaldehyde was distilled in triplicate from the MDCM and its absorbance was determined at 532 nm in a 1 cm glass cell. The results were reported as $\mu\text{g mL}^{-1}$ of distilled malonaldehyde. The standard curves was prepared by making appropriate dilutions of the $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ 1,1,3,3-tetraethoxy-propane (TEP) standard solutions to give amounts ranging from 1×10^{-8} to 8×10^{-8} moles of malonaldehyde per 5 mL using a UV/VIS-911A GBC spectrophotometer. Absorption spectra were prepared for samples in the range from 475-565 nm. The percent recovery of TEP was calculated from the standard as follows:

$$P (\%) = (A_3 - A_1) \cdot 100 / A_2$$

where P is the percent recovery, A_3 is the absorbance of the distilled sample containing TEP, A_1 is the absorbance of the sample, and A_2 is the absorbance of TEP. The K value was calculated from the standard curves and known dilutions as follows (Tarladgis et al., 1960):

$$K_{\text{distillation}} = S/A \times 72.063 \times 10^7 / C \times 100 / P$$

where S is the moles of the standard concentration of TEP in 5 mL of distillate, A is the absorbance of the standard, 72.063 is the molecular weight of malonaldehyde, C is the weight of the sample in grams, and P is the percent recovery of TEP.

The equations for the standard curves were obtained from the linear regression of the absorbance results against the concentration of the standard.

Statistic

Each study were replicate three times. Statistical calculations were performed using the SAS statistical package, SAS Institute. The analyses of variance were carried out using the minimum squares method. The means were compared using the Student t-test.

RESULTS AND DISCUSSION

According to Figure 1, it can be seen that the MDCM samples, irradiated or otherwise, presented similar spectral curves, no singular TBARS being detected in the irradiated samples, presenting a maximum absorption peak at a wavelength different to that observed for the non-irradiated samples, within the range evaluated in this study, that is, 475-565 nm. Maximum absorbance was shown at 531 nm for

the MDCM samples irradiated with doses of 4.0 and 5.0 kGy and the non-irradiated samples. According to Hoyland and Taylor (1991), the distillation method eliminates the greater part of the interfering substances in the TBA test. According to Tarladgis et al. (1960), TBA reacts with other substances apart from malonaldehyde, such as glioxal, in distillates from rancid foods, forming coloured complexes which absorb at 525 and 550 nm. This compound may be present in irradiated meats. In this study, no absorbance peak was detected in the irradiated samples, at the above cited wavelengths.

Figure 1 shows that the samples irradiated with doses of 4.0 kGy presented the greatest absorbance at 531 nm, followed by the sample irradiated with a dose of 5.0 kGy and the non-irradiated samples. Since the objective of this study was to evaluate the applicability of the 2-thiobarbituric acid method in the measurement of lipid oxidation in mechanically deboned gamma irradiated chicken meat, no attempt was made to compare the TBA numbers within the samples submitted to different doses of gamma radiation.

The mean percent recuperations of TEP for the MDCM irradiated with doses of 4.0 and 5.0 kGy and for the non-irradiated samples, were, respectively $88.6 \pm 1.9 \%$, $90 \pm 1.6 \%$ and $88.6 \pm 2.5 \%$, showing there was no significant difference ($p > 0.05$) in the recuperation of TEP between irradiated and non-irradiated samples. Similarly the values for K were: 4.98 ± 0.1 , 4.91 ± 0.14 , 4.98 ± 0.11 for the samples irradiated with 4.0 and 5.0 kGy and for the non-irradiated samples respectively, also showing no significant difference ($p > 0.05$). However it has been reported in the literature, that even with the same recovery, the conversion factor may be different (Pikul, Leszczynski and Kummerow 1989; Salih, Price, Smith, and Dawson, 1989). This difference is likely to be due to differences in the molar absorptivity of malonaldehyde in each procedure or extraction medium, as reported in several studies (Raharjo and Sofos, 1993).

Wang, Zhu and Brewer (1997) showed that in terms of recovery, results obtained from various methods for the determination of 2-thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) were different from each other, as well as from other published data. According to these authors, the recovery rate based on the method of Tarladgis et al. (1960), used for three distillation methods, was slightly lower (59 %) than other published values (66 to 70 %). These same authors argued that these differences in recovery rate could subsequently affect the conversion factors that are used in calculating TBARS in terms of their mg kg^{-1} concentration.

The results for recuperation and the K values obtained in this study are slightly inferior to those obtained by Pollonio (1994) who also used the TBA distillation method under conditions similar to those used in the present study and detected a K value of 5.93 and a percent recuperation of 96 % for MDCM samples. On the other hand, the results obtained in this study do not agree with those obtained by Moerck and Ball (1974), who used the distillation method and a standard of TEP to determine a K value of 8.6 for MDCM. Numerous studies have used a K value of 7.8, as determined by Tarladgis et al (1960) in bovine meat, to determine the TBARS number in studies on lipid oxidation in MDCM and mechanically deboned turkey meat (Uebersax, Dawson and Uebersax, 1977; Uebersax, Dawson and Uebersax, 1978; Johnson, Cunningham and Bowers, 1974). This value for K (7.8) is considerably different to the values found for MDCM in this study and in other studies described in the literature (Moerck et al., 1974 and Pollonio, 1994), confirming that in order to obtain accurate results, it is necessary to run both standard curves to determine the recovery rate and K values for each method, type of food and work condition, rather than using those from the literature (Wang et al., 1997).

The linear equations of the standard curves for the distillation of malonaldehyde from the MDCM samples, irradiated or otherwise, are shown in Figure 2. Comparing these equations with each other, it can be seen that the relative mean deviation encountered was 0.5 %. For the calculation in question, a value of x

= 1.3 was determined, this being the greatest value in μg malonaldehyde per mL^{-1} of distillate encountered during the evaluation of these samples. Thus it can be considered that there was no significant difference in the recuperation curves of the standard when comparing the irradiated with the non-irradiated samples.

Studies have shown increases in the TBARS number up to a certain point during the storage period, followed by a decrease in these values (Gokalp et al., 1983 and Babji et al., 1998). Igene & Pearson (1979) stated that, during the evaluation of lipid oxidation in stored foods, decreases in TBA values are probably due to interactions between malonaldehyde and proteins. Shahidi (1997) stated that this type of interaction also appears to occur during the storage of cooked meat, leading to a reduction of the TBARS values. Thus, in this study, K values were determined throughout the refrigerated ($+2\pm 1^\circ\text{C}$) and frozen ($-18\pm 1^\circ\text{C}$) storage of the MDCM samples, aimed at evaluating if the alterations produced in the meat during storage could interfere with the recuperation of the standard, and consequently effect the conversion factor K of this raw material.

Since the previously determined K values did not present significant differences ($p > 0,05$), a single point on the standard curve was chosen (addition of standard to obtain 2×10^{-8} moles of malonaldehyde) to follow the behaviour of the K value during the storage of MDCM in samples irradiated with 4.0 kGy and in non-irradiated samples. Figure 3 shows the values for K for samples of MDCM during refrigerated and frozen storage. The statistical analysis showed there was no significant difference ($p > 0.05$) between the values of K obtained during the period of storage under the 3 storage conditions evaluated. The non-irradiated MDCM samples and those irradiated with a dose of 4,0 kGy presented the same pattern of the behaviour under the storage conditions analysed. In addition, there was also no significant difference ($p > 0.05$) between the values of K and the percent recuperation obtained for samples of MDCM stored under refrigeration ($+2 \pm 1^\circ\text{C}$) after 2 days frozen, stored refrigerated ($+2\pm 1^\circ\text{C}$) after 90 days frozen and stored

frozen (-18 ± 1 °C). The mean values for K in MDCM samples irradiated with a dose of 4.0 kGy and in non-irradiated samples, stored under refrigeration ($+2 \pm 1$ °C) after 2 days frozen, stored refrigerated ($+2 \pm 1$ °C) after 90 days frozen and stored frozen (-18 ± 1 °C), were respectively 5.19 ± 0.48 and 5.47 ± 0.40 , 5.13 ± 0.86 and 5.54 ± 0.51 , 5.29 ± 0.69 and 5.45 ± 0.47 .

According to the results, the values for K remained constant for the three storage conditions evaluated in this study, showing that alterations produced in the constituents of the MDCM during refrigerated and frozen storage, did not interfere with the recuperation of the standard. Thus the values for K determined at the beginning of the storage period for the MDCM samples irradiated with doses of 4.0 kGy and for the non-irradiated samples, can be used for the conversion of sample absorbance in to TBARS number throughout the period of refrigerated or frozen storage under the conditions of the present study.

CONCLUSIONS

A comparison of the results obtained for the MDCM samples irradiated with doses of 4.0 and 5.0 kGy and the non-irradiated samples, as evaluated by the TBA distillation method, showed that the results for the percent recuperation of TEP, K values and spectral curves, as well as the standard absorption curve, were all similar, no particular interference being detected as a result of the process of irradiation of the MDCM on the TBA test. The values for K determined at the beginning of the storage period in the non-irradiated MDCM samples and in those irradiated with doses of 4.0 kGy, can be used for the conversion of sample absorbance into the TBARS number throughout the period of refrigerated and frozen storage of this raw material.

REFERENCES

- Andrews, W. H. and Read, R. B. (1984). 6 th. Food sampling plans and initial sample handling. In: *Bacteriological Analytical Manual*, Arlington, AOAC.
- Babji, A. S., Chin, S. Y., Chempaka, M. Y. S. and Alina, A. R. (1998). Quality of mechanically deboned chicken meat frankfurter incorporated with chicken skin. *International Journal Food Sciences Nutrition*, **49**, 319-326.
- Boisseau, P. (1994). Irradiation and the food industry in France. *Food Technology*, **48**(5), 138-140.
- Calhoun, C.M., Gaebler, D. M. and Mandigo, R. W. (1999). Storage stability of ground pork containing meat from na advanced meat recovery system. *Journal Food Science*, **64**(1), 69-75.
- Dawson, L. E. and Gartner, R. (1983). Lipid oxidation in mechanically deboned poultry. *Food Technology*, **37**(7), 112-116.
- Fernández, J., Pérez-Álvarez, J. A. and Fernández-López, J. A. (1997). Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chemistry*, **59**(3), 345-353.
- Gokalp, H. T., Ockerman, H. W., Plimpton, P. F. and Harper, W. J. (1983). Fatty acids of neutral and phospholipids, rancidity scores and TBA values as influenced by packaging and storage. *Journal Food Science*, **48**, 829-834.
- Grozdanov, A., Dimitrova, Atanasova, T., Dilova, N., Kaloyanov, I., Monov, G. (1994). Irradiation treatment of mechanically deboned meat to achieve decontamination and storage life extension. In: *Proceedings of the Final Research Co-ordination in the Middle East and Europe*. France: IAEA. p. 17-32.
- Gruiz, k. and Kiss, I. (1987). Effect of ionizing radiation on the lipids in frozen poultry. *Acta Alimentaria*, **16**(2), 111-127.
- Hansen, T. J., Chen, G-C. and Shieh, J. J. (1987). Volatiles in skin of low dose irradiated fresh chicken. *Journal Food Science*, **52**(5), 1180-1182.
- Horwitz, W. ed. (1980). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Washington: AOAC.

- Hoyland, D. V. and Taylor, A. J. (1991). A review of the methodology of the 2-thiobarbituric acid test. *Food Chemistry*, **40**, 271-291.
- Igene, J. O. and Pearson, A. M. (1979). Role of phospholipids and triglycerides in warmed-over flavor development in meat model systems. *Journal Food Science*, **44**, 1285-1290.
- Janicek, M. F., Haseltine, W. A. and Henner, W. D. (1985). Malondialdehyde precursors in gamma-irradiated DNA, deoxynucleotides and deoxynucleosides. *Nucleic Acids Research*, **13**(24), 9011-9029.
- Johnson, P. G., Cunningham, F. E. and Bowers, J. A. (1974). Quality of mechanically deboned turkey meat: effect of storage time and temperature. *Poultry Science*, **53**, 732-736.
- Kanatt, S. R., Paul, P., Souza, S. F. and Thomas, P. (1997). Effect of gamma irradiation on lipid peroxidation in chicken lamb and buffalo meat during chilled storage. *Journal Food Safety*, **17**(4), 283-294.
- Lakritz, I. and Schwartz, D. P. (1995). Formation of oxo- and hydroxyfatty acids in irradiated chickens. *Meat Science*, **40**(2), 279-285.
- Lawlor, J. B., Sheehy, P. J. A., Kerry, J. P., Buckley, D. J. and Morrissey, P. A. (2000). Measuring oxidative stability of beef muscles obtained from animals supplemented with vitamin E using conventional and derivative spectrophotometry. *Journal Food Science*, **65**(6), 1138-1141.
- Lee, M., Sebranek, J. G., Olson, D. G. and Dickson, J. S. (1996). Irradiation and packaging of fresh meat and poultry. *Journal Food Protection*, **59**(1), 62-72.
- Moerck, K. E. and Ball, H. r. Jr. (1974). Lipid autoxidation in mechanically deboned chicken meat. *Journal Food Science*, **39**(5), 876-879.
- Pikul, J., Leszczynski, D. E. and Kummerow, F. A. (1983). Elimination of sample autoxidation by butylated hydroxytoluene additions before thiobarbituric acid assay for malonaldehyde in fat from chicken meat, *Journal Agricultural Food Chemistry*, **31**, 1338-1342.
- Pikul, J., Leszczynski, D. E. and Kummerow, F. A. (1989). Evaluation of three modified TBA methods for measuring lipid oxidation in chicken meat. *Journal Agricultural Food Chemistry*, **37**, 1309-1313.

- Pikul, J. and Kummerow, F. A. (1991). Thiobarbituric acid reactive substance formation as affected by distribution of polyenoic fatty acids in individual phospholipids. *Journal Agricultural Food Chemistry*, **39**, 451-457.
- Pollonio, M. A. R. (1994). *Estudo das propriedades funcionais das proteínas miofibrilares e oxidação lipídica de carne de frango mecanicamente desossada*, Campinas, UNICAMP. 141p. (Doctor Tesis).
- Raharjo, S. and Sofos, J. N. (1993). Methodology for measuring malonaldehyde as a product of lipid peroxidation in muscle tissues: a review. *Meat Science*, **35**, 145-169.
- Salih, A.M., Smith, D. M., Price, J.F., Dawson, L.E. (1987). *Poultry Science*, **68**, 754.
- Shahidi, F. ed. (1997). *Flavor of meat and meat products*, London: BAP.
- Shahidi, F. and Hong, C. (1991). Evaluation of malonaldehyde as a marker of oxidative rancidity in meat products, *Journal Food Biochemistry*, **15**, 97-105.
- Tarladgis, B. G. Watts, B. M. and Younathan, M. T. A. (1960). A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *Journal American Oil Chemists Society*, **37**, 44-48.
- Uebersax, K. L., Dawson, L. E. and Uebersax, M. A. (1977). Influence of "CO₂ snow" chilling on TBA values in mechanically deboned chicken meat. *Poultry Science*, **56**(2), 707-709.
- Uebersax, K. L., Dawson, L. E. and Uebersax, M. A. (1978). Storage stability(TBA) and color of MDCM and MDTM processed with CO₂ cooling. *Poultry Science*, **57**(3), 670-675.
- Wang, C., Zhu, I. and Brewer, M. S. (1997). Comparison of 2-thiobarbituric acid reactive substances determination methods in various types of frozen, fresh meat. *Journal Food Lipids*, **4**, 87-96.

FIGURE CAPTION

Figure 1. Absorbance scans of the red pigment produced by the reaction of thiobarbituric acid (TBA) with the TBA-reactive substances in distilled MDCM.

Figure 2. Standard curves for the distillation of malonaldehyde and the linear equation for the MDCM samples irradiated with doses of 4.0 and 5.0 kGy and non-irradiated samples.

Figure 3. K values for the MDCM samples (a) MDCM stored under refrigeration ($+2 \pm 1$ °C) after 2 days frozen storage (b) MDCM stored refrigerated ($+2 \pm 1$ °C) after 90 days frozen storage (c) MDCM stored frozen (-18 ± 1 °C). 0.0 kGy (), 4.0 kGy (•).

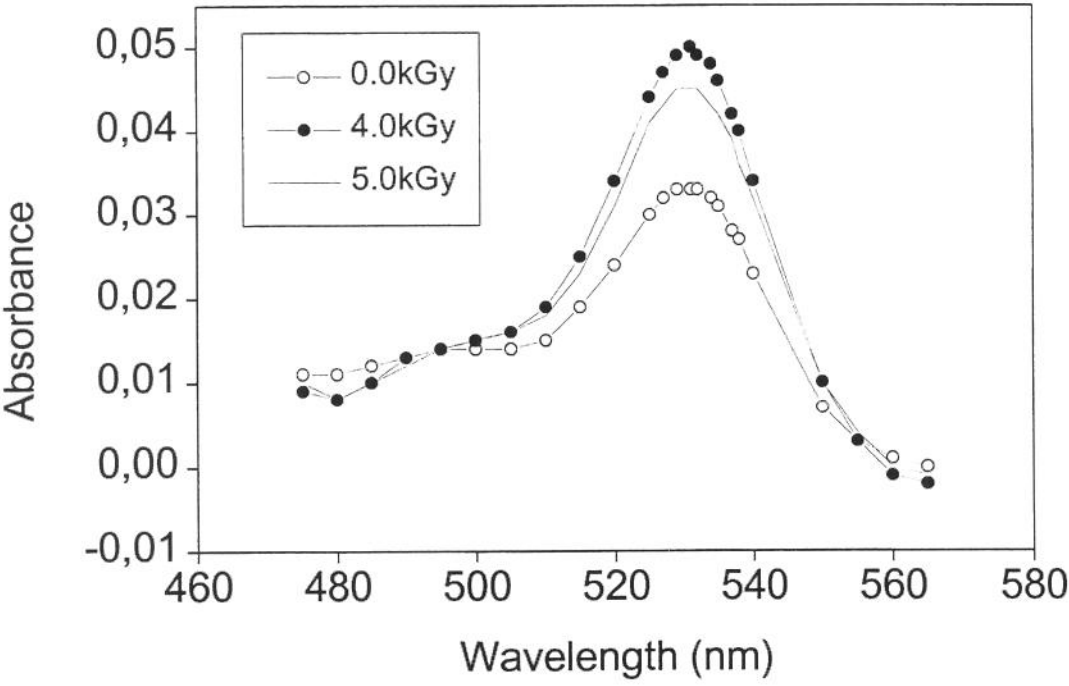


Figure 1.

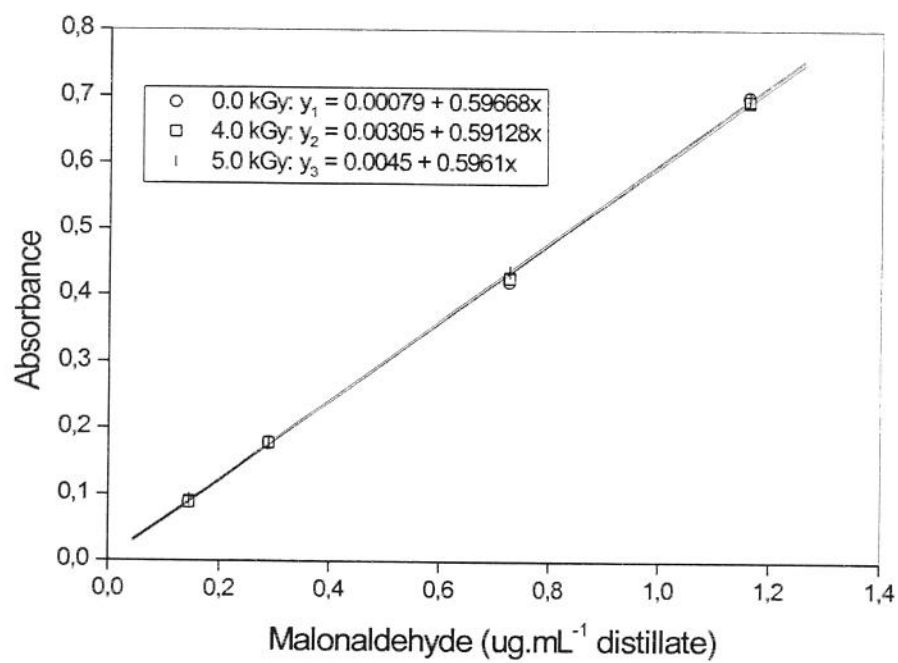


Figure 2.

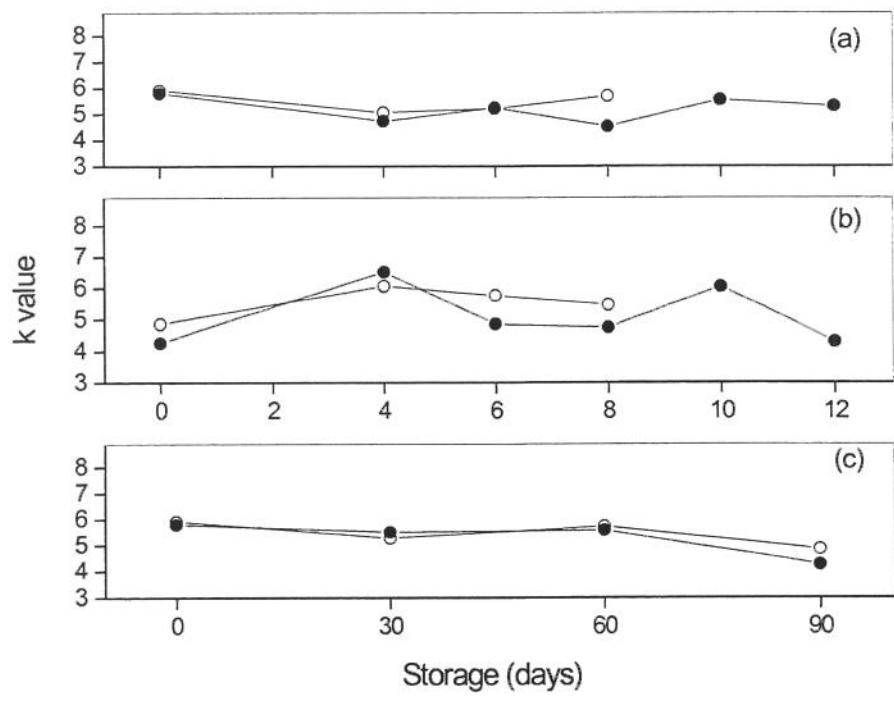


Figure 3.

CONCLUSÕES GERAIS

As conclusões deste estudo, são para amostras de Carne Mecanicamente Separada de Frango (CMSF) que foram congeladas e irradiadas com doses de 3,0 e 4,0 kGy, tomando-se como parâmetros de avaliação os resultados das análises microbiológicas, químicas, cor e testes sensoriais. Parte das amostras (**d-1** e **d-90**) de CMSF foi mantida refrigerada e a outra parte, armazenada congelada. Tais amostras foram tomadas periodicamente para as análises.

1. A irradiação da CMSF, aumentou a vida útil dessa matéria-prima armazenada sob refrigeração, em relação às amostras não irradiadas;
2. As amostras **d-1** de CMSF, irradiadas com doses de 0,0, 3,0 e 4,0 kGy apresentaram-se aceitáveis sob refrigeração, respectivamente, durante 4, 10 e 6 dias. As amostras **d-90** de CMSFm, irradiadas com doses de 0,0, 3,0 e 4,0 kGy apresentaram-se aceitáveis sob refrigeração, respectivamente, durante menos do que 4 dias, 6 e 6 dias;
3. Uma vez que a dose de 3,0 kGy, produziu aumento na vida útil da CMSF refrigerada maior ou igual ao observado para as amostras irradiadas com 4,0 kGy, esta dose foi considerada a mais adequada para irradiar essa matéria-prima;
4. A CMSF irradiada, foi classificada como inteiramente aceitável até 90 dias de armazenamento congelado, enquanto que, foram detectadas amostras de CMSF não irradiadas inaceitáveis em relação à ocorrência de *S. aureus* e coliformes fecais, até 30 dias de armazenamento congelado;

5. A irradiação mostrou-se eficaz na redução da contaminação da CMSF por *Staphylococcus aureus* e também, possibilitou reduzir as quantidades de enterotoxina estafilocócica presentes nessa matéria-prima;
6. O processo de irradiação produziu compostos voláteis característicos, percebidos como odor de irradiado. Estes foram dissipados da CMSF ao longo do armazenamento refrigerado e congelado;
7. A CMSF irradiada apresentou odor de oxidado mais pronunciado do que as amostras não irradiadas, concordando com os resultados de TBARS;
8. A avaliação objetiva e sensorial de cor, mostrou que a CMSF irradiada apresentou cor mais atrativa do que as amostras não irradiadas, ou seja, cor mais próxima ao padrão esperado para a CMSF fresca, até 12 dias sob refrigeração;
9. Para a CMSF não irradiada a principal variável que limitou sua vida útil foi a contaminação bacteriana, enquanto que, para as amostras de CMSF irradiadas, o principal fator limitante foi a oxidação lipídica;
10. Nenhuma interferência foi detectada sobre o teste de TBA, como resultado do processo de irradiação da CMSF, nas condições experimentais do presente estudo.

Sugestões para estudos futuros:

- Realizar experimentos para verificar o efeito de diferentes taxas de dose de radiação ionizante sobre a qualidade da CMSF, armazenada sob refrigeração e congelamento;
- Avaliar o efeito da radiação gama sobre as toxinas bacterianas de interesse alimentar;

- Verificar o efeito do uso de antioxidantes em ração de frango de corte, sobre a qualidade da CMSF processada com radiação ionizante;
- Estudar as propriedades funcionais da CMSF, processada com radiação ionizante, ao longo do armazenamento refrigerado e congelado.