

FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Parecer

Este exemplar corresponde a redação final da tese defendida por Antonio F. J. Cifuentes de la Torre e aprovada pela Comissão Julgadora em 14-12-87, Campinas, 14 de dezembro de 1987.

P. E. de Felício

Presidente da Banca

DESENVOLVIMENTO, AVALIAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA  
E MICROBIOLÓGICA, E TESTES DE ACEITAÇÃO DE  
SALSICHA COM AW REDUZIDA POR GLICEROL E  
CLORETO DE SÓDIO.

Antonio F.J. Cifuentes de la T.

ORIENTADOR:

Prof. Dr. Pedro E. de Felício

17/87

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

1 9 8 7

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL

À meus pais

À minha esposa Nelly

À meus filhos Francisco Javier

- e Claudia Paz

Recordação muito especial ao  
Professor Dr. Otilio Guernelli (in  
memórian) sob cuja direção comecei  
este trabalho.

## AGRADECIMENTOS

À Organização dos Estados Americanos (OEA) pelo auxílio financeiro na fase inicial do curso de pós-graduação.

À Universidade Católica de Valparaíso-Chile, e à Faculdade de Alimentos por ter permitido meu afastamento contribuindo a que este trabalho chegasse a seu término.

Ao Departamento de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA) pela oportunidade que me deu para concluir os estudos de Mestrado, e de maneira muito especial aos professores:

Dr. Pedro E. de Felício pela acolhida, compreensão, dedicada orientação, e pelo modo amigável como sempre me recebeu.

Dr. Emílio Contreras Guzmán pelo apoio e oportunos conselhos durante as etapas iniciais deste trabalho e na revisão do texto, especialmente pela amizade.

Dr. José Sátiro de Oliveira pela boa vontade e atenção dispensada assim como pelas sugestões no trabalho.

Dr. José Assis F. Faria pela valiosa participação e ajuda na revisão do texto.

À amiga e bibliotecária Angelina Franco de Godoy pelo auxílio prestado na revisão das referências bibliográficas.

À amiga e secretária de pós-graduação Telma S.T. Assad Salum pela ajuda e conselhos fornecidos.

À secretária Maria Júlia Milani Rodrigues pela rápida e eficiente realização dos serviços datilográficos.

À Associação Brasileira das Indústrias de Alimentos (ABIA) pelo fornecimento das cópias e capas desta tese.

Finalmente, minha imensa gratidão aos amigos Norma Mancilla de Contreras, Rosa Arriagada e Hugo M. Castro, e a todos que de algum modo contribuíram para a finalização desta etapa de minha vida profissional.

## CONTEUDO

	Página
Agradecimentos.....	i
Índice de Tabelas.....	vi
Índice de Figuras.....	viii
Índice de Anexos.....	x
Sumário.....	xi
Summary.....	xii
I. INTRODUÇÃO.....	1
II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. Atividade de água.....	4
2.1.1. Conceitos básicos.....	4
2.1.1.1. Aspecto histórico.....	4
2.1.1.2. Definição termodinâmica da atividade de água....	4
2.1.1.3. Isotermas de sorção.....	7
2.1.1.4. Aw e desenvolvimento microbiano.....	10
2.1.1.5. Aw e atividade enzimática.....	20
2.1.1.6. Aw e atividade não enzimática.....	20
2.1.1.7. Aw e reações oxidativas.....	22
2.1.1.8. Efeitos da Aw na textura.....	23
2.1.2. Métodos para a determinação da Aw.....	24
2.1.2.1. Métodos experimentais.....	24
2.1.2.2. Métodos teóricos.....	26
2.1.3. Alimentos de umidade intermediária.....	27
2.1.3.1. Definição.....	27
2.1.3.2. Aw nos alimentos de umidade intermediária.....	27
2.1.3.3. Atividade microbiana nos alimentos de umidade intermediária.....	28
2.1.3.4. Desidratação osmótica.....	29
2.1.3.5. Alimentos de umidade intermediária tradicio nais e não tradicionais.....	29

2.1.4.	Tecnologia dos alimentos de umidade interme diária.....	35
2.1.4.1.	Métodos para a obtenção.....	35
2.1.4.2.	Agentes depressores da Aw.....	36
2.1.4.3.	Preservativos.....	46
III.	MATERIAL E MÉTODOS.....	49
3.1.	Materiais.....	49
3.1.1.	Matéria-prima.....	49
3.1.2.	Ingredientes e aditivos.....	50
3.1.3.	Reagentes.....	50
3.1.4.	Equipamentos.....	51
3.2.	Metodologia.....	52
3.2.1.	Determinação da solução de equilíbrio.....	53
3.2.1.1.	Seleção do soluto e aditivo conservante.....	53
3.2.1.2.	Procedimento de redução da Aw.....	53
3.2.1.3.	Formulação da solução de equilíbrio.....	54
3.2.2.	Formulação da salsicha de umidade interme diária.....	55
3.2.2.1.	Fluxograma de processo.....	55
3.2.2.1.1.	Matéria-prima.....	55
3.2.2.1.2.	Trituração e cura.....	55
3.2.2.1.3.	Homogeneização da massa.....	58
3.2.2.1.4.	Embutimento.....	58
3.2.2.1.5.	Pasteurização.....	58
3.2.2.1.6.	Repouso refrigerado.....	59
3.2.2.1.7.	Secagem superficial.....	59
3.2.2.1.8.	Embalagem a vácuo.....	59
3.2.2.1.9.	Estocagem.....	59
3.2.3.	Métodos de análise.....	60
3.2.3.1.	Medição da atividade de água (Aw).....	60
3.2.3.2.	Análise quantitativa de composição.....	61

3.2.3.3. Análise para avaliação de mudanças deteriora tivas na estocagem.....	62
IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	64
4.1. Análise da atividade de água (Aw).....	64
4.1.1. Solução de equilíbrio.....	64
4.1.2. Aw e conteúdo de umidade da matéria-prima e do produto durante e após o processamento.....	73
4.1.2.1. Aw da matéria-prima (carne).....	73
4.1.2.2. Influência do ácido ascórbico, nitrito e açúcar.....	75
4.1.2.3. Influência dos sais e do emulsificante.....	76
4.1.2.4. Influência da adição de 60% do gelo.....	78
4.1.2.5. Influência do amido e do leite em pó.....	78
4.1.2.6. Influência da gordura.....	79
4.1.2.7. Influência da adição do gelo restante.....	80
4.1.2.8. Pasteurização.....	81
4.2. Análise quantitativa da composição.....	82
4.2.1. Salsicha de umidade intermediária.....	82
4.2.2. Salsicha reidratada.....	84
4.2.3. Balanço de materiais.....	86
4.3. Avaliação da qualidade na estocagem.....	92
4.3.1. Aw e umidade.....	92
4.3.2. TBA e peróxidos.....	93
4.3.3. Solubilidade das proteínas.....	97
4.3.4. Contagem microbiológica.....	100
V. CONCLUSÕES E SUGESTÕES.....	108
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	110
ANEXOS.....	125



## ÍNDICE DE TABELAS

TABELA		Página
1	Relação entre atividade de água e inibição de microrganismos de alguns alimentos de consumo habitual.....	8
2	Atividade de água mínima para o crescimento microbiano e para a germinação de esporos.....	13
3	Limite da $A_w$ para o crescimento aeróbico de <u>S. aureus</u> em vários meios a 30°C.....	15
4	Influência da $A_w$ no crescimento de fungos.....	16
5	$A_w$ limite para o desenvolvimento de leveduras..	17
6	$A_w$ mínima para a produção de toxinas pelos microrganismos.....	19
7	Métodos experimentais para a determinação da $A_w$ e faixa de maior precisão do resultado.....	25
8	Principais equações matemáticas para predição da $A_w$ .....	26
9	Valores de $A_w$ em alguns alimentos de umidade intermediária tradicionais.....	31
10	Alimentos de umidade intermediária incluídos nos voos espaciais dos Estados Unidos.....	32
11	Fórmula típica de um produto texturizado de umidade intermediária para alimentação de cães.....	34
12	Teor de água de produtos cárneos de umidade intermediária preparados e comercializados nos Estados Unidos.....	34
13	Comparação dos valores de $A_w$ obtidos por métodos teóricos e experimentais em vários solutos de interesse em alimentos.....	37
14	Capacidade de retenção de água dos polióis.....	39

15	Concentração de açúcares requeridos para reduzir a $A_w$ até 0,85.....	42
16	Capacidade de retenção de água dos açúcares.....	43
17	Tempo de aparição de fungos num alimento de umidade intermediária (Hennican) com pH 5,6 e submetido a ação de inibidores.....	47
18	Composição das soluções de equilíbrio testadas em salsichas.....	56
19	Determinação experimental da variação da $A_w$ em salsichas imergidas nas soluções de equilíbrio.....	65
20	$A_w$ teórica das soluções testadas e $A_w$ experimental das salsichas após a pasteurização e após 24 horas de repouso refrigerado, na mesma solução de pasteurização.....	66
21	Composição química das salsichas após as operações básicas do processamento.....	83
22	Balanco de materiais.....	89
23	Variação da umidade e $A_w$ durante o período de estocagem da salsicha de umidade intermediária.....	93
24	Índice de peróxidos em salsichas de umidade intermediária estocadas a temperatura ambiente.....	97
25	Determinação de nitrogênio em salsicha de umidade intermediária estocada a temperatura ambiente.....	98
26	Resultados médios da avaliação sensorial de três amostras de salsicha.....	106

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		Página
1	Relação entre conteúdo de umidade e atividade de de água dos alimentos.....	6
2	Mapa da estabilidade dos alimentos em função da Aw.....	9
3	Efeito da redução da Aw no crescimento de microrganismos.....	10
4	Efeito da Aw e pH no crescimento de microrganismos.....	12
5	Relação entre concentração de glicerol e atividade de água.....	36
6	Relação entre concentração de cloreto de sódio e atividade de água.....	40
7	Fluxograma da obtenção de salsichas de umidade intermediária.....	57
8	Velocidade de depressão da Aw em salsichas em função das concentrações da solução de equilíbrio.....	68
9	Velocidade de depressão de Aw em salsichas em função das concentrações da solução de equilíbrio.....	69
10	Variação da Aw e da umidade durante a formulação da salsicha, e durante o tratamento com a solução depressora (solução de equilíbrio).....	74
11	Isoterma de sorção de salsicha de umidade intermediária. Adsorção a 15°C em água corrente. Desorção a 3-6°C em solução de 50% glicerol e 10% cloreto de sódio.....	85
12	Porcentagem de soluto (glicerol e cloreto de sódio), incorporado na salsicha durante o período de equilíbrio, e variação de peso e umidade no mesmo processo.....	87
13	Variação de peso e volume da salsicha de umidade intermediária, durante a reidratação.....	91

14	Evolução dos compostos que reagem com TBA durante a estocagem de salsichas de <u>umida</u> de intermediária.....	94
15	Comparação do desenvolvimento microbiano em salsichas comerciais e salsichas de umidade intermediária.....	101

## ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXOS		Página
1	Teste de avaliação sensorial: aceitação.....	125
2	Teste de avaliação sensorial: textura.....	126
3	Valores da determinação da $A_w$ e do conteúdo de umidade durante o processamento de umidade intermediária.....	127
4	Diminuição de peso e umidade e incorporação de solutos durante a desorção da salsicha na solução de equilíbrio.....	128
5	Valores da absorvância a 535 nm observada dos compostos que reagem com TBA durante a estocagem de salsicha de umidade intermediária a $T$ ambiente, e de salsicha comercial a $T$ ambiente e de refrigeração.....	129
6	Contagem bacteriana total (UFC) de salsicha de umidade intermediária e de um tipo de salsicha comercial estocadas a temperatura ambiente e refrigeração.....	130
7	Análise de variância do teste de aceitação....	131
8	Análise de variância do teste de textura.....	132

## RESUMO

A tecnologia de umidade intermediária foi aplicada para desenvolver um embutido (salsicha) estável, e para o estudo das variações da  $A_w$  durante e após o processamento. Soluções osmóticas com concentrações variáveis de glicerol, propileno glicol, cloreto de sódio e água, foram aplicadas para diminuir a  $A_w$  da salsicha até o valor  $\leq 0,84$ . O processo considerou um tratamento térmico da salsicha a  $85^\circ\text{C}$  por 45 min. na solução osmótica, seguido de repouso de 24 horas na mesma solução a  $3-6^\circ\text{C}$ . O produto com as características organolépticas aparentemente melhores foi estocado por 105 dias à temperatura ambiente. Durante a armazenagem foram estudadas as mudanças químicas, físicas e microbiológicas. Após o período de estocagem, a salsicha foi submetida a avaliação sensorial. Verificou-se que é possível obter-se salsicha de umidade intermediária com  $A_w \leq 0,84$  e 35,9% de umidade, por imersão numa solução aquosa que contenha glicerol (50%), cloreto de sódio (10%) e sorbato de potássio (0,5%). Nesta condição o produto foi estável química e microbiologicamente. A  $A_w$  e o conteúdo de umidade do produto embalado a vácuo não apresentou variações durante o período experimental. Pela avaliação sensorial ficou evidenciada a necessidade da reidratação da salsicha em água pura durante 10 horas antes do consumo.

## SUMMARY

Intermediate moisture technology was applied to develop shelf-stable frankfurters, and also to study the  $A_w$  variation during and after processing. Osmotic solutions with different concentrations of glycerol, propylene glycol, sodium chloride were used to obtain  $A_w < 0,84$  in the product. The process considered a heat treatment at  $85^{\circ}\text{C}$  for 45 min. in the osmotic solution followed by 24 hours stand in the same cold solution ( $3-6^{\circ}\text{C}$ ). The product with the most favored organoleptic characteristics was stored for 105 days at room temperature ( $24^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ). Use of 50% glycerol and 10% sodium chloride yielded an intermediate moisture product with  $A_w < 0,84$  and 35,9% moisture. Frankfurters were chemically and microbiologically stable. The  $A_w$  and the moisture of the vacuum packaged product remained stable during the 105 days. The sensory evaluation indicated the need for hydration of frankfurters during 10 hours before eating.

## I. INTRODUÇÃO

Produzir e preservar os alimentos tem sido a tarefa que tem demandado os maiores e mais incessantes esforços da sociedade humana, desde a época mais primitiva.

Sem o descobrimento das muitas técnicas de conservação e prolongação da vida útil dos alimentos, não teria sido possível alcançar o nível de especialização que hoje é observado em todas as atividades do mundo moderno. Sem esta especialização, o homem não teria contribuído no desenvolvimento das artes, da filosofia, da ciência e da tecnologia, e não poderia ter conhecido o mundo físico que o rodeia.

A criação de zonas urbanas está também intimamente unida ao desenvolvimento da sociedade humana. Ela tampouco existiria sem o descobrimento dos processos capazes de deter a deterioração dos recursos alimentícios.

Através deste esforço e conhecimento tem-se chegado a compreender os princípios básicos que permitem controlar ou eliminar os fatores de alteração dos alimentos, e que fundamentalmente tem sua origem na presença de microrganismos, nas reações oxidativas e nas reações enzimáticas.

Não obstante a importância de cada uma destas reações não cabe dúvidas que a preocupação mais importante do tecnólogo de alimentos é a destruição ou o controle da atividade microbiana.

Os métodos de preservação mais antigos estão baseados na redução física ou no controle físico-químico do conteúdo de umidade. Em ambos casos a disponibilidade de água é diminuída até o nível que não permite a atividade microbiana.

Apesar da longa história do consumo destes produtos, somente nos últimos anos começou-se a estudar e compreender os fundamentos científicos destes métodos de preservação ao se conhecer



que não é o conteúdo de umidade o parâmetro básico das reações de alteração do alimento, mas sim o estado ou grau de disponibilidade em que esta umidade se encontra.

Foi SCOTT (1957) que fez a introdução do conceito de atividade de água ( $A_w$ ) nos sistemas biológicos, para quantificar a disponibilidade de água necessária para as atividades fisiológicas microbianas. Anos mais tarde também foi demonstrado que a atividade da água está relacionada com a deterioração química, biológica e enzimática dos alimentos.

A faixa de  $A_w$  flutua entre 0 e 1. Onde 0 representa ausência total da água e 1 água pura.

A maioria das bactérias, leveduras e fungos que influem na deterioração dos alimentos, não se desenvolve com  $A_w$  menor que 0,9, 0,85 e 0,7 respectivamente.

Partindo deste conceito, na década passada foi desenvolvido nos Estados Unidos uma nova tecnologia chamada Alimentos de Umidade Intermediária, a qual combina uma atividade de água reduzida pela incorporação de solutos, com a adição de fungistáticos.

Esses alimentos possuem umidade suficientemente altas para serem consumidos diretamente e atividade de água suficientemente baixa para serem estáveis sem necessidade de refrigeração ou esterilização.

Por essas características favoráveis que apresenta este tipo de conservação, estão sendo realizados atualmente numerosos projetos de pesquisa, destinados a aplicar esta tecnologia no desenvolvimento de produtos de baixo custo e alto valor nutricional, e que possam ser aproveitados com facilidade e segurança nos programas sociais de alimentação coletiva, além de se prestar ao consumo das populações geograficamente isoladas das cidades, onde não se dispõe de infra-estrutura para a conservação frigorífica de alimentos.

O presente trabalho teve por objetivo o desenvolvimento

de um produto de umidade intermediária para consumo humano, aplicando o princípio da diminuição da  $A_w$  mediante um processo osmótico, e com adição simultânea de solutos. Utilizou-se como modelo um embutido de carne de alto consumo e de vida útil limitada, a salsicha.

Em paralelo com o desenvolvimento do produto, fez-se também o estudo das variações da  $A_w$  durante e após o processamento, para conhecer a influência dos diferentes ingredientes e aditivos, bem como as condições da elaboração e estocagem, neste importante parâmetro de conservação.

## II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Atividade de Água

#### 2.1.1. Conceitos Básicos

##### 2.1.1.1. Aspecto histórico

A conservação dos alimentos mediante a redução física do conteúdo de umidade, é um dos métodos mais antigos que se conhece.

A descrição desses procedimentos tem sido encontrada em situações e lugares muito diversos, como a Bíblia, os hieróglifos egípcios, as ruínas incaicas, nos relatos de Marco Polo, etc. (LABUZA, 1980). Segundo estes relatos, a remoção da água dos alimentos por exposição ao sol, ou por adição do sal ou açúcar, foram as técnicas de conservação que receberam maior atenção, por permitirem manter por períodos prolongados os alimentos.

Muitas das técnicas utilizadas pelas sociedades primitivas são ainda empregadas na indústria moderna de alimentos. A secagem de frutas, verduras, grãos, carnes e pescado, assim como a adição de açúcar nas frutas, e de sal nas carnes e pescado, são alguns exemplos dos processos antigos utilizados atualmente (TORRES, 1986).

##### 2.1.1.2. Definição termodinâmica da Atividade de Água ( $A_w$ )

A relação entre a estabilidade e o conteúdo de umidade dos alimentos, tem sido estudada desde o começo deste século, mas somente a partir do trabalho de WALTER (1927), cit. p. VAN DEN BERG e BRUIN (1980), é que começou a se compreender a relação entre a umidade relativa e o crescimento microbiano.

Porém decorreram ainda trinta anos, antes de se entender o princípio básico destes processos de conservação. SCOTT (1957), baseando-se no trabalho de WALTER, realizou a primeira pesquisa em sistemas biológicos, estudando o crescimento de microrganismos em carne bovina resfriada, considerando como parâmetro importante a umidade relativa ambiental.

Através do estudo, demonstrou-se a existência de uma correlação direta entre o crescimento microbiano em um substrato, e a atividade termodinâmica da água.

A  $A_w$  é uma propriedade fundamental das soluções aquosas e define-se como: o quociente entre a pressão de vapor sobre o alimento ( $P_f$ ) e a pressão de vapor sobre a água pura ( $P_o$ ), medidas à mesma temperatura (KAPLOW, 1970; LABUZA *et al*, 1970; BROCKMANN, 1973; KAREL, 1973; BONE, 1969,1973; ROSS,1975; HAAS *et al*,1975; TOMÉ e BIZOT, 1978; HARDMAN, 1978; LABUZA, 1980; LABUZA e CONTRERAS-MEDELLÍN, 1981; DEL VALLE, 1982; ERICKSON, 1982; CHIRIFE, 1986; TORRES, 1986).

$$A_w = \frac{P_f}{P_o} = \text{URE}/100$$

onde:

URE            Umidade Relativa de Equilíbrio

Termodinamicamente, a atividade está dada pela relação de fugacidade e não pelas relações de pressão de vapor; porém esta diferença é muito pequena e pertence ao campo da termodinâmica teórica (LONCIN *et al*, 1968; HARDMAN, 1978).

A redução do conteúdo de umidade, a presença de componentes capazes de interagir quimicamente com a molécula de água, assim como a presença de solutos, diminuem a pressão de vapor sobre o alimento (LABUZA *et al*, 1970; TOMÉ e BIZOT, 1978; TORRES,

1986). Dividindo este valor pela pressão de vapor da água pura, tem-se um parâmetro que é aproximadamente independente da temperatura. Isso significa que em muitos casos a  $a_w$  será praticamente a mesma, se a determinação se fizer a 20 ou 30°C (TORRES, 1986).

A  $a_w$  da água pura tem sido fixada, por convenção, igual à unidade (BONE, 1973; KAREL, 1975). Em concordância com isto, a  $a_w$  de uma solução ou de um alimento é sempre inferior a 1 (CHIRIFE, 1986). Isto tem como razão principal a interação entre a água do alimento e grupos polares como - CO -, - NH -, - OH -, do mesmo alimento (LONCIN *et al.*, 1968).

Segundo mostra-se na FIGURA 1 (a) a maior parte da água nos alimentos possui uma atividade bem elevada. Em conteúdos altos de umidade (acima de 1 g/g de sólidos), a água tem atividade de cerca de 1.0 e comparável à atividade das soluções diluídas.

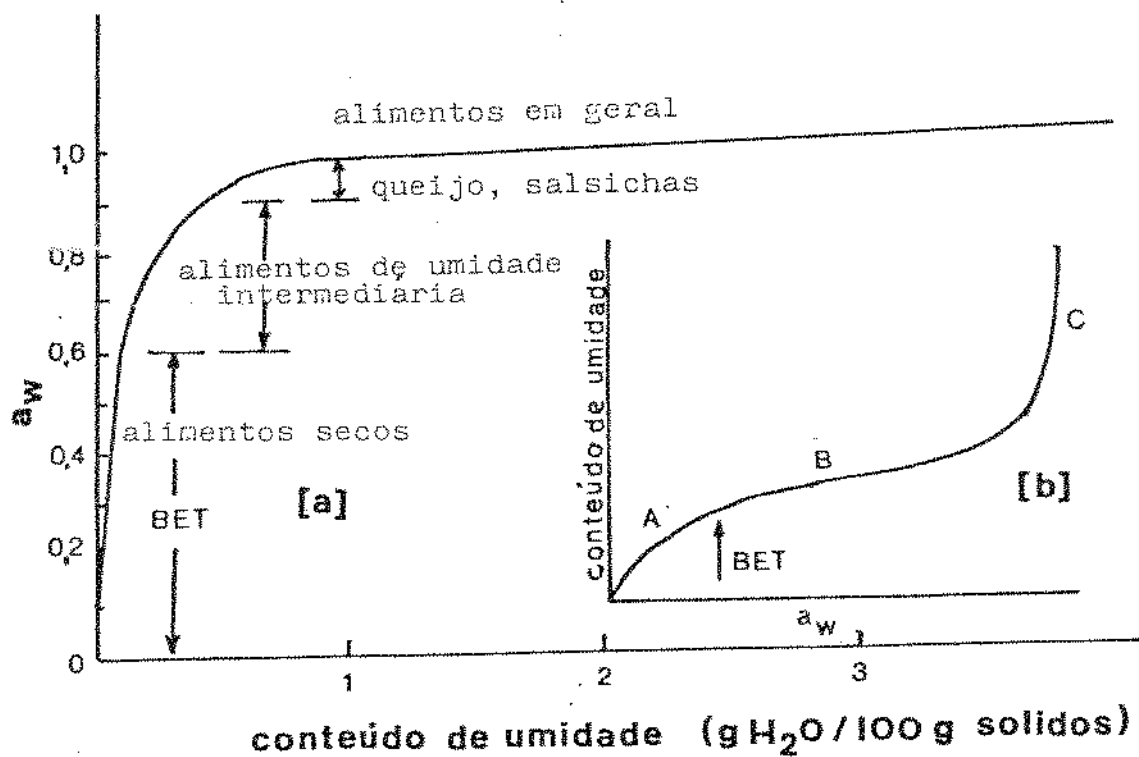


FIGURA 1. Relação entre conteúdo de umidade e atividade de água dos alimentos (DEL VALLE, 1982).

Neste nível alto de  $A_w$  a alteração do alimento pode ser devida a ação microbiana, química e enzimática (LABUZA et al, 1970; LABUZA, 1980).

### 2.1.1.3. Isotermas de sorção

Até alguns anos atrás, associou-se a máxima estabilidade de dos alimentos com o mínimo conteúdo de umidade (ROCKLAND e NISHI, 1980). Hoje, sabe-se que é a  $A_w$ , que está mais intimamente relacionada com a estabilidade dos alimentos do que o conteúdo total de umidade (DEL VALLE, 1982).

Tem-se demonstrado que a  $A_w$  dos diferentes alimentos é independente do conteúdo de umidade total, o que pode ser observado na TABELA 1, onde os alimentos com igual  $A_w$  tem distintos conteúdos de umidade.

A ação da água nos alimentos pode ser representada pelas isotermas de sorção, que é uma representação gráfica da relação entre o conteúdo de umidade de equilíbrio e a  $A_w$  a uma temperatura específica (QUAST, 1968; LABUZA, 1968; ROCKLAND, 1969; IGLÉSIAS e CHIRIFE, 1982). Para alimentos a curva de sorção adquire uma forma sigmóide que começa em 0 (zero) conteúdo de umidade ( $A_w$  0,00) e eleva-se até um conteúdo de água infinito ( $A_w$  1,00) (LABUZA, 1980), FIGURA 1 (b).

Em concordância com o trabalho de ROCKLAND (1969), ACKER (1969), LABUZA et al (1970), LABUZA (1980) e ROCKLAND e NISHI (1980), o diagrama da FIGURA 1 (b) pode ser dividido em três segmentos, representando cada um deles uma etapa da atividade de água, na qual predomina uma das três formas de união da água. A região que compreende uma  $A_w$  de 0,00 a 0,30, corresponde a água que está ligada com grupos iônicos, como  $NH_3$ , associada com proteínas, grupos  $COO^-$ , pectinas e outros. Esta zona está representada pela Lei de Brunauer, Emmett e Teller (BET) segundo tem sido descrito por QUAST (1968), LABUZA (1968), ROCKLAND (1969), DEL VALLE (1982).

TABELA 1. Relação entre a atividade de água e inibição de microrganismos de alguns alimentos de consumo habitual.

Faixa de Aw	Organismos inibidos	Exemplo de alimento
1,00-0,95	<u>Pseudomonas</u> , <u>Escherichia</u> , <u>Clostridium perfringens</u> , esporos de bactérias, al- gumas leveduras.	Muitos produtos da in- dústria de carnes, lei- te, pescado. Alimen- tos com 40% em peso de sacarose ou 7% de sal.
0,95-0,91	<u>Salmonellas</u> , <u>C.Botulinum</u> , <u>Lactobacillus</u> , alguns fungos.	Presunto seco, sucos concentrados, queijos maturados.
0,91-0,87	Quase todas as leveduras, <u>Micrococcus</u>	Salame, queijo matura- do longo tempo, margã- rina.
0,87-0,80	Quase todos os fungos, <u>Staphylococcus aureus</u> , <u>Sacaromyces</u> spp.	Farinhas, arroz, lei- te condensado, chocola- te.
0,80-0,75	Quase todas as bactérias halofílicas	Alimentos com 26% de sal, marmelada, ge- léias de frutas.
0,75-0,65	Fungos xerofílicos	Aveia, açúcar sem re- finar.
0,65-0,60	Leveduras osmofílicas	Frutas secas, balas, mel.
0,50	Nenhum microrganismo	Massas alimentícias.
0,40	Nenhum microrganismo	Ovos desidratados.
0,30	Nenhum microrganismo	Biscoitos.
0,20	Nenhum microrganismo	Leite em pó integral, bolachas.

Referência: BEUCHAT (1981); TORRES (1986).

A região compreendida entre uma  $A_w$  de 0,30 e 0,75, é água unida covalentemente com grupos aminos, grupos hidroxilas de proteínas e polímeros de carboidratos, tais como pectina, amido, hemicelulose e celulose. Esta zona está representada pela Lei de Kelvin (QUAST, 1968).

A região entre uma  $A_w$  de 0,75 e 1,0, corresponde a água que está retida em capilares onde pode formar soluções. Esta região, representada pela Lei de Raoult, compreende também a água livre, retida mecanicamente, e que atua como solvente para vários solutos. A pressão de vapor da água nesta zona, pode ser diminuída pela adição de solutos, tais como: aminoácidos, açúcares, sais e/ou contração capilar na microestrutura (BONE, 1969; LABUZA *et al.*, 1970; KAREL, 1975 (b)(c); TOMÉ e BIZOT, 1978; FUENZALIDA, 1986; TORRES, 1986; CHIRIFE, 1986).

A importância da  $A_w$  para a estabilidade dos produtos alimentícios fica demonstrada graficamente na FIGURA 2.

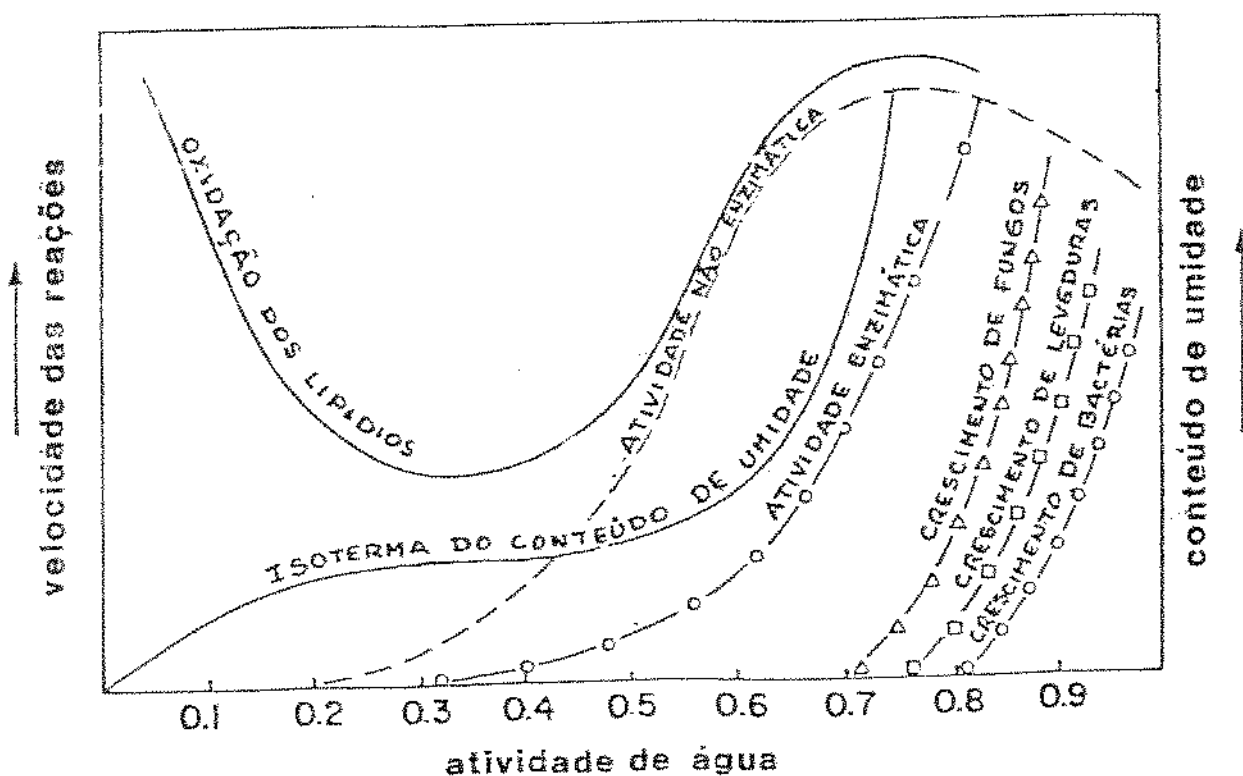


FIGURA 2. Mapa da estabilidade dos alimentos em função da  $A_w$  (LABUZA, 1971).



Considerando que cada sistema alimentício reage de maneira particular frente aos parâmetros alternativos, a informação ilustrada na FIGURA 2, serve somente como referência geral (VAN DEN BERG e BRUIN; 1980). Porém, uma conclusão importante é que na medida que a  $A_w$  diminui, todas as reações deteriorativas vão diminuindo, até que em um certo nível todas as mudanças são completamente inibidas ( $A_w$  0,20), exceto para a oxidação química dos lipídios, que é fortemente incrementada (LABUZA et al, 1972; ROCKLAND e NISHI, 1980).

#### 2.1.1.4. $A_w$ e desenvolvimento microbiano

##### Bactérias, Fungos e Leveduras

Em geral, a redução da  $A_w$  conduz a uma inibição do crescimento microbiano. A FIGURA 3, indica que a  $A_w$  reduzida prolonga o período de latência, diminui a pendente e reduz o nível do período estacionário (TROLLER e CHRISTIAN, 1978; CHIRIFE, 1986).

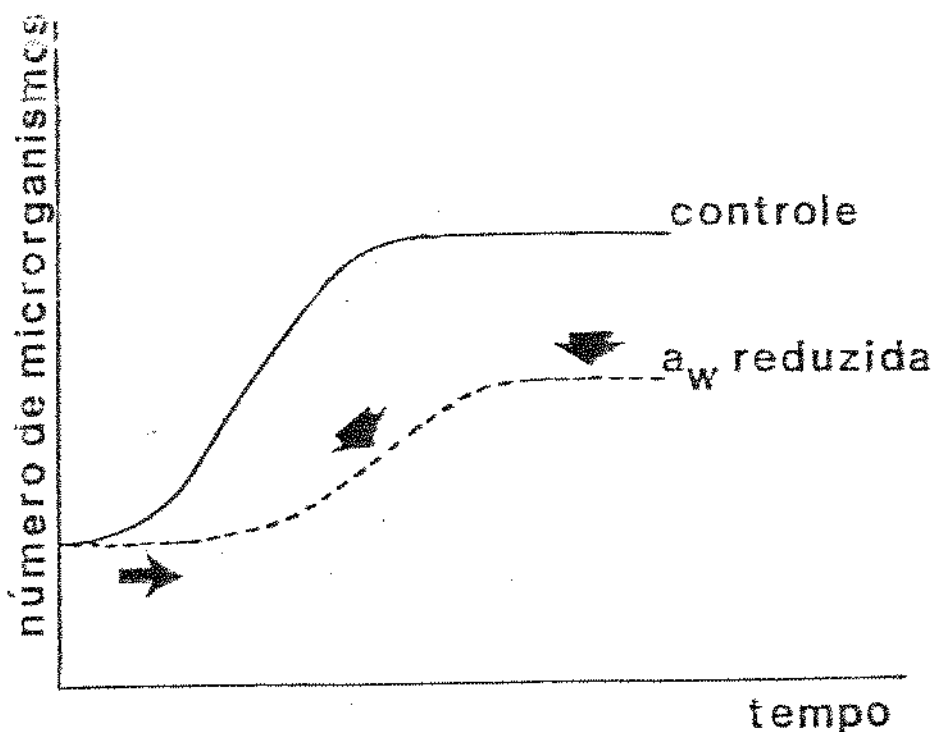


FIGURA 3. Efeito da redução da  $A_w$  no crescimento de microrganismos (TROLLER, 1980).

Todos os microrganismos possuem um nível ótimo de  $A_w$  para seu desenvolvimento. Ao reduzir esta atividade, a velocidade de crescimento diminui, e ainda que nos primeiros momentos não ocorra a morte das células, com o decorrer do tempo o número máximo possível de microrganismos diminuirá (TROLLER, 1980; CHIRIFE, 1986; TORRES, 1986).

O efeito da  $A_w$  na inibição do crescimento microbiano, explica-se pela plasmólise que experimenta a célula, ao se encontrar em um meio com a  $A_w$  menor. Nesta condição, perde água alterando seu metabolismo e daí diminuindo a velocidade de crescimento (CHIRIFE, 1986).

Os microrganismos possuem uma forma de combate contra a desidratação, a qual consiste na acumulação de alguns solutos no interior da célula, solutos estes chamados "compatíveis". Estes solutos provocam uma atividade na água intra-celular que é aproximadamente igual à atividade extracelular e com o qual evitam a desidratação. São responsáveis por esta adequação da célula os solutos, cloreto de potássio, L-prolina e glutamato de potássio em bactérias; D-arabitol e glicerol em leveduras e alguns fungos (TROLLER, 1979, 1980; BEUCHAT, 1981; CHIRIFE, 1986).

O fundamento biológico desta propriedade da célula para escolher solutos, ainda não está claro. CHIRIFE (1986) tenta uma explicação baseada em que todos estes são solutos muito solúveis e com baixo peso molecular. Os solutos podem ser sintetizados pelas células e também podem ser incorporados através de um transporte ativo mediante energia. Este elevado consumo energético é realizado na etapa de latência e com conseqüente redução das células viáveis (MEASURE e GOULD, 1976).

Segundo HAAS et al (1975), a  $A_w$  é somente um dos fatores que influem no metabolismo dos microrganismos. Isto é corroborado por ACOTT e LABUZA (1975), que dizem que os alimentos de  $A_w$  reduzida, exibem um grau de estabilidade contra o desenvolvimento microbiano, o qual está relacionado inversamente com a quantidade

de água livre disponível e presente no sistema. Porém, a resistência ao crescimento microbiano também depende de outros fatores: pH, temperatura, qualidade do ambiente, presença de agentes antimicrobianos e valor nutricional do alimento (SANKARAN e LEELA, 1979).

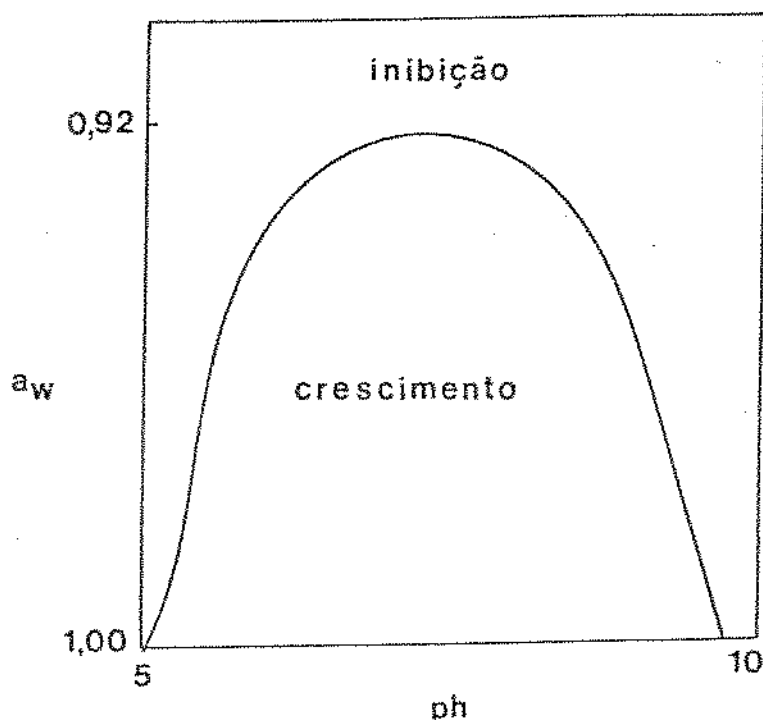


FIGURA 4. Efeito da  $a_w$  e pH no crescimento de microrganismos (MOSSEL, 1975).

A  $a_w$  mínima para a atividade metabólica dos microrganismos, determina-se quando estes fatores se encontram em ótima condição. Em condições ambientais não ótimas, a  $a_w$  mínima será maior (KAREL, 1973; BEUCHAT, 1981).

LEISTNER e RODEL (1976) estudaram o metabolismo microbiano nos alimentos de  $a_w$  reduzida, concluindo que a inibição depende além dessa atividade, do pH, do potencial redox e do valor F. Pode ser importante também as colônias competitivas.

Para a grande maioria dos alimentos de  $a_w$  no nível intermediário (0,75-0,85), o crescimento de fungos constitui o maior problema e é frequentemente o fator mais importante no aumento ou

diminuição da vida útil. Para a inibição do desenvolvimento de fungos emprega-se alguns compostos, como o sorbato de potássio, glicóis, glicerol e butanodiol.

TABELA 2. Aw mínima para o crescimento microbiano e para a germinação de esporos.

---

0,98	Organismos produtores de limo em carnes
0,97	<u>Pseudomonas</u> sp, esporos de <u>B. cereus</u>
0,96	<u>Achromobacter</u> , <u>E. coli</u>
0,95	<u>B. subtilis</u> , esporos de <u>Cl. botulinum</u>
0,94	<u>B. cereus</u> , <u>A. aerogenes</u>
0,93	<u>Cl. Botulinum</u> , <u>Salmonellas</u>
0,92	<u>Sarcina</u>
0,91	Muitos tipos de bactérias
0,90	<u>S. Aureus</u> (anaeróbico)
0,88	Muitos tipos de leveduras
0,86	<u>S. aureus</u> (aeróbico)
0,85	<u>Aspergillus niger</u>
0,83	<u>Alternaria citri</u>
0,80	Muitos tipos de fungos
0,75	Bactérias halofílicas
0,65	Fungos xerofílicos
0,62	Leveduras osmofílicas

---

Referências: BROCKMANN, 1973; HAAS, et al 1975; TOMÉ e BIZOT, 1978; CHEFTEL e CHEFTEL, 1980; TORRES, 1986.

A Aw necessária para a inibição deverá ser aproximadamente 0,01 unidade mais baixa que os valores indicados na TABELA 2 (BROCKMANN, 1973).

A TABELA 2 estabelece que o crescimento de muitos organismos está restrito aos níveis mais altos de Aw, ainda que existam vários tipos que cresçam com valores de Aw 0,65 ou menor.

Porém, os microrganismos de caráter patogênico são em sua totalidade inibidos com uma Aw 0,85 (TROLLER, 1980). Segundo este mesmo autor, a germinação de esporos bacterianos, incluindo Clostridium botulinum detém-se com valores de Aw 0,94.

O Staphylococcus aureus, microrganismo anaeróbico facultativo, possui a maior resistência de todas as bactérias não halofílicas à Aw reduzida, sendo capaz de crescer com Aw 0,86 aerobicamente e 0,91 anaerobicamente (PAWSEY e DAVIES, cit p. FOX e LONCIN, 1982; TORRES, 1986; PLITMAN et al., 1973; SANKARAN e LEELA, 1979).

TROLLER (1980), manifesta que entre as bactérias não halofílicas, as gram (-) são muito sensíveis a Aw baixa, sendo seu limite uma atividade de 0,96-0,94. Pelo contrário, as bactérias gram (+) toleram uma faixa mais ampla de atividade de água, 0,95-0,83.

Num estudo prévio, TROLLER e CHRISTIAN (1978), demonstraram que as bactérias halofílicas são muito tolerantes a altas concentrações de sais, e daí crescem a baixos níveis de Aw, e são incapazes de fazê-lo nos níveis mais altos. Porém, o nível baixo de Aw tem que ser obtido com sais inorgânicos, principalmente cloreto de sódio. Estes microrganismos dividem-se em dois grupos: os moderados e os extremamente halofílicos. Os moderados são aqueles que requerem para o crescimento uma Aw 0,99-0,85, mas considerado como um ótimo valor o 0,96. Os extremamente halofílicos crescem na faixa de Aw 0,88-0,75, mas o ótimo desenvolvimento ocorre no valor de Aw 0,83.

A TABELA 3 mostra um exemplo do trabalho experimental

de SCOTT (1957) e a relação entre o crescimento de Staphylococcus aureus e a  $A_w$ , não obstante a grande diferença entre o conteúdo de umidade dos diferentes meios nutritivos empregados.

TABELA 3. Limite da  $A_w$  para o crescimento aeróbico de S. aureus em vários meios a 30°C.

Meio nutritivo	Solutos agregados para controle da $A_w$	$A_w$ mínima	$\frac{\text{g H}_2\text{O}}{\text{g sólido}}$
Caldo nutriente	Mistura de sais	0,86	315
id	Sacarose	0,88	60
id	Sais + Sacarose	0,86	75
Leite em pó	Nenhum	0,86	16
Carne desidratada	Nenhum	0,88	23
Sopa desidratada	Nenhum	0,86	63

Referência: SCOTT, (1957); TORRES, (1986).

Na TABELA 4 pode-se ver que a mínima  $A_w$  na qual os fungos são capazes de crescer está próxima de 0,61. Os fungos, com desenvolvimento em níveis mais baixos de  $A_w$  são os denominados xerofílicos (BEUCHAT, 1981).

TABELA 4. Influência da Aw no crescimento de fungos.

Espécie	Aw limite (germinação ou crescimento)	Aw ótimo	T. incubação °C
<u>Alternaria</u> s.p.	0,942-0,838	-	5-30
Grupo Aspergillus			
<u>A. nidulans</u>	0,78	0,97	37
<u>A. niger</u>	0,843	-	
<u>A. flavus</u>	0,78	0,98	25
<u>A. asmetelodami</u>	<0,70	0,94	33
<u>A. glaucus</u>	0,70 - 0,85	0,93 - 1,00	25
<u>A. repens</u>	0,71	0,93	20-40
<u>Botrytis cinerea</u>	0,93	-	25
<u>Mucor plumbeus</u>	0,93	-	25
<u>Penicillium</u> s.p.p.	0,80 - 0,90	0,99	25
<u>Rhizopus</u> s.p.p.	0,94	0,93 - 1,00	25
<u>Xeromyces</u>	0,605	0,90 - 0,97	25

Referência: TOMÉ e BIZOT (1978).

Em leveduras, o limite mínimo de Aw é aproximadamente 0,88 e corresponde às espécies de caráter osmofílico (TABELA 5).

TABELA 5. Aw limite para o desenvolvimento de leveduras.

Espécie	Aw limite
<u>Torula utilis</u>	0,94
<u>Saccharomyces cerevisiae</u>	0,895-0,946
<u>S. fragilis</u>	0,963
<u>S. micro-elipsoides</u>	0,988
<u>S. rouxii</u>	0,880
<u>Candida pseudotropicalis</u>	0,981
<u>Hansenula sucreolens</u>	0,970

Referência: TOMÉ e BIZOT (1978).

O fato de que fungos e leveduras podem crescer em valores mais baixos de Aw que as bactérias (LABUZA et al., 1972; LABUZA e CONTRERAS-MEDELLÍN, 1981), e que nos níveis altos de atividade a microflora predominante são as bactérias, tem dado origem ao conceito errado de que "fungos não podem crescer nos níveis próximos a 1,0". Isto tem explicação no fato de que as bactérias são muito competitivas nos valores altos de Aw, e portanto, são predominantes na microflora nos níveis de atividade de 0,85-1,00 (BEUCHAT, 1981).

#### Produção de toxinas

CHRISTIAN e SCOTT (1953), cit. p. TOMÉ e BIZOT (1978), indicam que o limite no desenvolvimento e na produção de toxinas de Salmonella, microrganismo encontrado geralmente em produtos de



origem animal, situa-se entre Aw 0,92 e 0,95. Bactérias patogênicas como o Staphylococcus aureus podem crescer numa Aw tão baixa quanto 0,86 (TABELA 1). Não obstante a produção de enterotoxina (se conhece cinco tipos: A, B, C, D, E), ocorre em níveis mais altos. A enterotoxina B, parece ser mais sensível à redução da Aw que a enterotoxina A. Esta última interrompe seu crescimento com Aw 0,89-0,87 enquanto que a B o faz com Aw 0,97-0,90 (TROLLER, 1980). TABELA 6.

BEUCHAT (1981), informa que o Clostridium botulinum forma toxinas até Aw 0,94, mas o crescimento pode ocorrer até Aw 0,93.

Segundo os valores expostos, pode-se concluir que a produção de toxinas ocorre a níveis praticamente similares àqueles necessários para o crescimento.

Os fungos, sem exceção, tem um valor mínimo de Aw para o crescimento que é comparativamente mais baixo do que o requerido para a produção de micotoxinas. O mínimo observado para uma micotoxina tem sido Aw 0,80, valor que é mais alto que o correspondente mínimo para o crescimento de muitas espécies (SCOTT, 1957; BEUCHAT, 1981).

TABELA 6. Atividade de água mínima para a produção de toxinas pelos microrganismos.

Espécie	Aw
<u>Cl. botulinum</u>	
Tipo C	0,98
E	0,97
A	0,95
B	0,94
<u>S. aureus</u>	
Enterotoxinas	
C	0,94
B	0,90
A	0,87
<u>Micotoxinas</u>	
Penitren A	0,94
Citrinima	0,90
Patulina	0,90
PR-Toxina	0,90
Á. Cyclopiazonico	0,87
Roquefortine	0,87
Citreoviridina	0,86
Ochratoxina	0,85
Aflatoxina	0,83

Referência: LEISTNER et al (1980).

#### 2.1.1.5. Aw e atividade enzimática

As enzimas podem ser definidas como compostos protéicos que catalizam as reações orgânicas de forma altamente específica (TROLLER e CHRISTIAN, 1978; TROLLER, 1980).

Podem-se encontrar naturalmente ou ser adicionadas as sim como seus efeitos podem ser desejados ou não para a qualidade e a estabilidade dos alimentos (SCHWIMMER, 1980).

O mecanismo da ação catalizadora das enzimas, caracteriza-se por dois processos: (1) Ligamento da enzima ao substrato, geralmente como um complexo não covalente, ou como um intermediário acyl-enzima; (2) A quebra deste complexo num produto da reação e na mesma enzima (TROLLER, 1980).

A água está relacionada com os dois passos, servindo como um meio para realização das reações enzimáticas e principalmente como veículo para a mobilidade do substrato (KAREL, 1975). Quando o substrato é um líquido não aquoso que pode mobilizar a enzima a água atua somente como reagente e as modificações enzimáticas podem-se efetuar à baixa Aw (ACKER, 1969). Em reações hidrolíticas, a água participa ativamente (TROLLER e CHRISTIAN, 1978).

Na FIGURA 2 pode-se observar que geralmente a atividade enzimática não é desenvolvida abaixo da faixa de adsorção monomolecular de BET ( $A_w < 0,30$ ). A falta de água livre previne a difução do substrato para a enzima. Não obstante, a atividade enzimática pode persistir, excepcionalmente, como tem sido informado por SCHWIMMER (1980), no caso da enzima esterase ( $A_w 0,01$ ).

#### 2.1.1.6. Aw e atividade não enzimática

A mais característica desta atividade é a reação de Maillard ou escurecimento não enzimático e compreende uma série de reações complexas entre açúcares redutores e grupos aminos de

aminoácidos ou proteínas, em condições adequadas de temperatura, pH e  $A_w$  (SCHWIMMER, 1980; TOMÉ e BIZOT, 1978; BOBBIO E BOBBIO, 1984).

Segundo KAREL (1973), o escurecimento não enzimático resulta da propriedade da água de atuar como solvente e como produto da reação. Em baixa  $A_w$  o fator limitante é uma inadequada mobilidade. Pelo contrário, em diluições elevadas com  $A_w$  superior a 0,9, a diminuição da velocidade de escurecimento é devida à diluição dos reagentes.

Existe, além disso, uma redução no valor biológico do alimento, considerando que a lisina, um dos aminoácidos essenciais, une-se ao pigmento produzido na reação de escurecimento (WARMBIER et al, 1976). Por outra parte, WILLIAMS (1976) indica que nutricionalmente a maior perda é na qualidade das proteínas, seguido da destruição da vitamina C.

A reação de escurecimento geralmente tende a ser zero quando a  $A_w$  chega ao valor da monocamada de BET. O máximo é atingido na faixa da umidade intermediária como foi observado na FIGURA 2. Neste nível os grupos polares das proteínas estão saturadas com água adsorvida (TOMÉ e BIZOT, 1978). As moléculas de proteínas aumentam grandemente em mobilidade, e a possibilidade de ordenamento intra e inter molecular é assim melhorada, permitindo o aumento observado na reação de escurecimento (DUCKWORTH, 1980). Com incremento na  $A_w$ , além de 0,70, a reação novamente diminui por efeito da ação de massa, quando diluições simples reduzem a quantidade de substrato disponível para a reação (TOMÉ e BIZOT, 1978; LABUZA, 1981).

Variações físicas e químicas nos produtos alimentícios individuais e diferenças nas formas em que os alimentos são processados, fazem com que as predições exatas de  $A_w$ -escurecimento, sejam muito difíceis. Geralmente, tem-se que as velocidades máximas de reação de escurecimento em produtos vegetais e frutas ocorre na faixa de  $A_w$  0,75-0,65; em produtos lácteos desidratados,

a faixa está próxima a  $A_w$  0,70, e em se tratando de produtos cárneos a faixa de  $A_w$  está entre 0,60-0,30 (TROLLER e CHRISTIAN, 1978).

#### 2.1.1.7. $A_w$ e reações oxidativas

A oxidação de lipídios ou rancidez oxidativa, é um tipo de autooxidação que ocorre quando componentes olefínicos são oxidados pelo oxigênio do ar. O resultado deste processo oxidativo em alimentos é a formação de odores, a destruição de pigmentos e de vitaminas.

LABUZA e DUGAN (1971), indicam que a reação pode alcançar até as proteínas, diminuindo a digestibilidade das mesmas.

TROLLER e CHRISTIAN (1978) e DE LA VEGA (1982), fundamentam o fenômeno e explicam que a oxidação compreende uma série de reações complexas, que levam dentro de si, a reação de hidroperóxidos, geralmente durante o período de indução. Isto é seguido por uma fase, na qual a geração de radicais livres é autocatalítica. Uma terceira fase chamada "terminação" pode ocorrer, e na qual vários hidroperóxidos e radicais livres reagem para formar um produto mais estável. A transformação destes produtos permite a obtenção de aldeídos, cetonas e ácidos graxos de cadeias curtas, os quais são finalmente responsáveis pela produção de sabores e odores rançosos.

Substâncias produtoras de radicais livres, íons metálicos e a luz, podem catalisar a oxidação de lipídios (LABUZA, 1975).

O efeito da umidade no desenvolvimento da rancidez oxidativa em alimentos, difere marcadamente com as outras reações sucedidas no alimento. Na FIGURA 2 pode-se observar a formação de duas zonas de ativação situadas por baixo e por cima da adsorção monomolecular de BET (LONCIN et al, 1968).

LABUZA et al (1972) demonstraram que a água tem um

efeito protetor nos alimentos desidratados, indicando como exemplo que um alimento com  $A_w$  0,00 oxida-se mais rapidamente que outro com  $A_w$  maior. Isto ratifica a determinação de LONCIN et al (1968), em leite em pó, onde apresentou-se um incremento muito rápido nos valores de peróxidos, quando a  $A_w$  foi 0,00. Com aumento na  $A_w$  até um nível 0,5 LABUZA obteve uma apreciável estabilidade da reação. Efeito similar alcançou LONCIN com aumento até  $A_w$  0,18.

Esta proteção é atribuída a uma hidratação dos metais catalisadores, e por consequência, uma menor possibilidade de reação. Além disto, LABUZA (1980) sugere a possibilidade de formação de pontes de hidrogênio entre peróxidos.

É assim que até a um certo nível, a velocidade de reação decresce na medida que a  $A_w$  cresce. Numa  $A_w$  superior a 0,8 os catalisadores tornam-se mais móveis, e ainda que sejam menos ativos, sua concentração efetiva é maior, e assim a velocidade de reação aumenta. Novos catalisadores poderão também ser dissolvidos para intensificar a reação. Soma-se a esta reação o inchamento da matriz polimérica do alimento, causando a abertura de novos capilares, e consequentemente, maiores espaços para a catálise (LABUZA e DUGAN, 1971; HEIDELBAUGH e KAREL, 1975).

#### 2.1.1.8. Efeitos da $A_w$ na textura

A umidade é a base da textura dos alimentos, e está relacionada com o tipo de alimento. Em produtos de carnes, a variação de textura pode ser produzida por fatores como: a relação proteínas-temperatura do cozimento - conteúdo de umidade (TROLLER e CHRISTIAN, 1978).

Em todos os alimentos, um incremento da  $A_w$  de 0,68-0,70 até 0,99, resulta numa melhoria nos atributos de textura. Estes valores são diretamente relacionados com o crescimento bacteriano em níveis altos de  $A_w$  (0,98 ou mais).

## 2.1.2. Métodos para a determinação da Aw

A pesquisa realizada por FUENZALIDA (1986), revelou a existência de um grande número de métodos para a determinação da Aw num produto alimentício. Todos diferem entre si pela exatidão, precisão, faixa de medição, tempo de resposta, facilidade de uso e custo.

A principal dificuldade para aplicar qualquer um, é que não existe padronização no processo de determinação, e portanto, a fidelidade do resultado vai depender do tipo de equipamento, e fundamentalmente, da interpretação do usuário.

Em forma global, conhecem-se dois grupos de métodos de determinação: métodos experimentais e métodos teóricos (TROLLER, 1983).

### 2.1.2.1. Métodos experimentais

Os métodos experimentais são os mais empregados, porém os resultados que apresentam não são absolutamente exatos. Com o objetivo de verificar a exatidão do resultado, geralmente os valores obtidos comparam-se com valores calculados através dos métodos teóricos (TORRES, 1986; CHIRIFE, 1986).

A TABELA 7 apresenta uma listagem dos métodos experimentais e a faixa de Aw na qual existe a maior precisão do resultado.

TABELA 7. Métodos experimentais para a determinação da  $A_w$  e faixa de maior precisão do resultado.

Método	Faixa de $A_w$
Equilíbrio bitermal	0 - 1
Interpolação estática	
Interpolação dinâmica	
Método isopiéstico dinâmico	
Higrômetro de bulbo úmido e seco	
Manômetro	
Saturação de sais (papel)	0,2 - 0,9
Higrômetro elétrico	0 - 0,98
Depressão do ponto de congelação	0,98- 1
Saturação de sais (cristal)	0,9 - 1
Método do ponto de orvalho	0,75- 1
Método colorimétrico	0,45- 0,9
Aparelho Brady	0,33- 0,97
Higrômetro de filamento	0,3 - 1
Diferença de pressão osmótica	0,67- 0,96

Referência: FUENZALIDA (1986).



## 2.1.2.2. Métodos teóricos

Os métodos teóricos empregam equações matemáticas simples, as quais permitem conhecer com boa aproximação qual é a condição da água no alimento (CHIRIFE, 1986).

Para predizer a  $A_w$ , o procedimento consiste em saber quais são os principais constituintes e a proporção relativa em relação à água do alimento. Deve-se considerar que um alimento é uma mistura aquosa mais ou menos homogênea ou heterogênea de vários componentes (biopolímeros, açúcares, sais orgânicos e inorgânicos, etc).

CHIRIFE (1986) indica que nos alimentos semi-úmidos a presença de solutos é a principal responsável pela depressão da  $A_w$ .

Conhecendo-se as características do alimento, pode-se escolher a equação mais adequada. A TABELA 8 apresenta o resumo das equações e sua aplicação.

TABELA 8. Principais equações matemáticas para predição da  $A_w$ .

Equações	Aplicação
ROSS	Alimentos de multicomponentes.
RAOULT	Não electrólitos e soluções com alta $A_w$ .
PITZER	Electrólitos
NORRISH	Não electrólitos
FERRO-FONTAN <u>et al</u> (1980) cit. p. CHIRIFE (1986)	Mescla de multicomponentes de electrólitos fortes.
FERRO-FONTAN <u>et al</u> (1980) cit. p. CHIRIFE (1986)	Mescla de multicomponentes de não electrólitos

Referência: FUENZALIDA (1986); CHIRIFE (1986).

### 2.1.3. Alimentos de Umidade Intermediária

#### 2.1.3.1. Definição

KAPLOW (1970), definiu os alimentos de umidade intermediária da seguinte forma: "alimentos que podem ser consumidos diretamente, não precisando rehidratação, e que são estáveis sem necessidade de refrigeração ou processamento térmico extremo".

Os produtos de umidade intermediária são caracterizados por uma atividade de água suficientemente baixa para inibir o desenvolvimento das bactérias e diminuir o desenvolvimento potencial dos outros microrganismos (BROCKMANN, 1970; KAREL, 1973; DEL VALLE, 1982; TORRES, 1986; RUBIO et al, 1986).

#### 2.1.3.2. Aw nos alimentos de umidade intermediária

Têm-se opiniões divergentes com relação a qual é a faixa de Aw nos alimentos de umidade intermediária.

Segundo os diferentes autores, a Aw é: 0,85-0,60 (LABUSA et al, 1972; PLITMAN et al, 1973; TILBURY, 1976; JAY, 1978) . 0,90-0,60 (COLLINS et al, 1972, cit. p. ERICKSON, 1982; LEITSNER e RODEL, 1976; PELAEZ e KAREL, 1980). 0,92-0,60 (VIGO et al, 1980, SCORZA et al, 1981). 0,90-0,65 (BONE, 1973; SLOAN et al, 1976). 0,90-0,70 (KAREL, 1973; DYMSZA e SILVERMAN, 1979; RASEKH et al, 1976).

CORRY (1976) indica que a faixa de Aw mais razoável é 0,90-0,70, em consideração a que os alimentos com Aw abaixo de 0,70 são estáveis por longo tempo, com relação à deterioração microbiológica, e podem ser considerados desidratados. No outro extremo, uma Aw 0,90 ou menor, inibe o desenvolvimento e a produção de toxinas da maioria das bactérias.

SCOTT (1957), CHRISTIAN (1963), PLITMAN et al (1973),

baseados na observação do crescimento de Staphylococcus aureus em condições aeróbicas com  $A_w$  0,86, consideram que o limite máximo teria que ser fixado num valor abaixo desta mesma  $A_w$ .

#### 2.1.3.3. Atividade microbiana nos alimentos de umidade intermediária.

A necessidade de controlar o crescimento de Staphylococcus aureus, é um fator de muita importância na estabilidade dos alimentos de umidade intermediária. O S. aureus é o patógeno com maior resistência à redução de  $A_w$  e o mais frequente nos alimentos (TORRES, 1986).

LEITSNER e RODEL (1976), dividem os alimentos em 3 categorias: alimentos de alta umidade ( $A_w$  1,0-0,9); alimentos de umidade intermediária ( $A_w$  0,9-0,6); alimentos com baixa umidade ( $A_w$  0,6-0,0).

Estes autores estabelecem também, que na alteração dos alimentos de umidade intermediária somente certos tipos de organismos são relevantes, e nos alimentos de baixa umidade o desenvolvimento microbiano é impossível.

Como se vê nas TABELAS 4 e 5, fungos e leveduras crescem em níveis consideravelmente baixos de  $A_w$ , por isso se faz necessário adicionar antimicóticos para controlar o crescimento (BROCKMAN, 1973).

A base dos alimentos de umidade intermediária é a menor disponibilidade de água para a deterioração pelos microrganismos. O ligamento, a imobilização e outros tipos de restrições da água deve-se a fatores diversos tais como: a natureza e concentração dos componentes dissolvidos; o número e capacidade de enlaçamento dos resíduos polares; a configuração de áreas hidrofílicas e hidrofóbicas, além de mecanismos que alteram as estruturas (BROCKMAN, 1970; LABUZA et al, 1970; KAREL, 1973, HEIDELBAUGH e KAREL, 1975; KAREL, 1975b).

#### 2.1.3.4. Desidratação osmótica

A introdução de solutos num alimento e a simultânea saída de água, se conhece termodinamicamente como processo de desidratação osmótica, onde se produz um fluxo de água desde uma solução diluída no interior de uma membrana, para uma solução mais concentrada que é a que está circundando a mesma, até atingir o equilíbrio (CHIRIFE, 1986).

A existência de uma  $A_w$  menor no meio circundante, é a que provoca a saída da água desde o interior da membrana. Simultaneamente, o soluto difunde desde a solução até o alimento. Teoricamente o soluto não pode difundir através da membrana pela característica de semi-permeabilidade, mas na realidade difunde-se ainda que a velocidade seja relativamente baixa (MEASURE e GOULD, 1976; CHIRIFE, 1986).

Os alimentos de umidade intermediária podem ser considerados como produtos concentrados do ponto de vista de peso, tamanho e conteúdo calórico (TOMÉ e BIZOT, 1978). Pela natureza plástica podem ser comprimidos e embalados eficientemente, sem que a segurança dependa da embalagem (BROCKMANN, 1973).

#### 2.1.3.5. Alimentos de umidade intermediária tradicionais e não tradicionais

Nos primeiros anos da década de 1960, comercializou-se pela primeira vez alimentos de umidade intermediária para animais nos Estados Unidos (TORRES, 1986). Alimentos para consumo humano com as características indicadas, tem-se produzidos desde muitos anos atrás em muitas partes do mundo, e são conhecidos como alimentos de umidade intermediária tradicionais, para fazer a diferenciação com os alimentos de umidade intermediária modernos ou não tradicionais (PAWSEY e DAVIES, 1976; JAY, 1978; RUBIO et al, 1986; TORRES, 1986; FIERRO et al, 1986).

Dentre os alimentos de umidade intermediária tradicionais pode-se incluir produtos desidratados, sem adição de solutos (ameixas, pêssegos, figos, passas, etc.); produtos com adição de açúcar (frutas glazeadas, caramelos brandos, mel de abelhas, doce de leite, etc.); produtos salgados e secos (carne seca, pescado, salame, etc.); produtos de panificação e preparações na base de frutas (BROCKMANN, 1970; QUAST e TEIXEIRA, 1975; KAREL, 1976; VIGO et al, 1980; TORRES, 1986). Na TABELA 9 mostra-se uma relação de alimentos de umidade intermediária, pesquisados por VIGO et al (1980), e FIERRO et al (1986).

Os bons resultados com os produtos de umidade intermediária para animais domésticos, atraiu os pesquisadores para desenvolver uma nova tecnologia, que permitisse o processamento deste tipo de produtos para consumo humano (KAPLOW, 1970); mas os primeiros resultados foram pouco atraentes devido a problemas de textura e sabor, baseados na alta quantidade de aditivos necessários (ERICKSON, 1982).

Os produtos de umidade intermediária para animais domésticos comercializados em muitos países, se baseiam na combinação de subprodutos de carne com soja texturizada e açúcar (glucose e fructose), atingindo uma Aw de aproximadamente 0,83, e um conteúdo de umidade de 25%. Propileno glicol e sorbato de potássio são empregados como antimicóticos (KAREL, 1973). A TABELA 11 apresenta uma formulação típica de um produto para consumo animal.

O desenvolvimento dos produtos de umidade intermediária experimentou um grande impulso através do programa espacial da NASA e da Armada dos Estados Unidos, pelas vantagens que estes produtos apresentam e que permitem sua classificação na categoria de alimentos estratégicos (BROCKMAN, 1970; SANKARAN e LEELA, 1979, HEIDELBAUGH e KAREL, 1975).

TABELA 9. Valores de Aw em alguns alimentos de umidade intermediária tradicionais.

Produtos	Aw	
Geleia de ameixa	0,82	(a)
Geleia de morango	0,85	(b)
Geleia de pêssego	0,84	(a)
Marmelada	0,78	(b)
Doce de leite	0,84	(a)
Doce de leite	0,80	(b)
Mel de abelhas	0,69	(a)
Mel de abelhas	0,64	(b)
Leite condensado	0,84	(a)
Pêssegos desidratados	0,69	(a) (b)
Ameixa desidratada	0,70	(b)
Passas	0,63	(b)
Caldo concentrado de carne	0,50	(b)
Queijo maturado	0,92	(b)
Queijo ralado	0,66	(a)
Salsichas	0,94	(b)
Salame	0,84-0,89	(b)
Salame seco	0,81	(a)
Salame semi-seco	0,93	(a)
Presunto gordo	0,92-0,95	(b)
Presunto (seco)	0,83	(a)

Referência: (a) VIGO et al (1980).

(b) FIERRO et al (1986).

A TABELA 10 apresenta uma listagem dos produtos de umidade intermediária desenvolvidos para os programas espaciais dos Estados Unidos pelos Laboratórios da Armada e companhias privadas.

TABELA 10. Alimentos de umidade intermediária incluídos nos voos espaciais dos Estados Unidos.

Alimento	Voo espacial (Apolo)
Bacon em cubos	7 - 16
Polpa de dátil moldada	7 - 16
Polpa de abacaxi moldada	7 - 16
Castanha	11 - 16
Peras	11 - 16
Pêssegos	17
Damascos	17
Bloquinhos de cereja	17
Bloquinhos de cereais	17

Referência: TORRES (1986).

A comercialização dos alimentos de umidade intermediária para o consumo humano nos supermercados dos Estados Unidos, atingiu durante 1985 a venda de 300 milhões de dólares, ocupando um lugar importante os novos produtos elaborados à base de frutas e cereais (TORRES, 1986).

Conjuntamente estão sendo comercializados produtos cárneos com conteúdo de umidade e Aw suficientemente baixos para segurar a qualidade por longo tempo (TABELA 12).

A aplicação de princípios tecnológicos que incluem a diminuição da  $A_w$  pela adição de solutos e a diminuição do desenvolvimento de microrganismos pela adição de antimicrobianos, propiciaram o grande interesse pelos produtos para consumo humano (KAREL, 1973).

FLINK (1977) opina que o maior obstáculo apresentado no desenvolvimento de novos produtos de umidade intermediária, tem sido o controle eficiente de alguns dos parâmetros de alteração, os quais, de acordo com o "mapa de atividade" desenhado por LABUZA (1971), na  $A_w$  0,60-0,90 progridem sua velocidade de ação.

Na procura de solucionar estes problemas, HEIDELBAUGH e KAREL (1975), sugeriram além do uso de solutos, a aplicação de um processo térmico moderado, com o qual controla-se a ação enzimática e destrói-se parcialmente a carga microbiana. O agregado de antioxidantes e outros aditivos permitem controlar as alterações do tipo físico-químico.

Porém, a reação de Maillard persiste, tendo sua velocidade máxima nesta zona de atividade de água (CHIRIFE et al, 1979).

A utilização de solutos que além de servir para a depressão da  $A_w$ , possuam propriedades antimicrobianas e fundamentalmente antimicóticas, constitui uma prática de alta efetividade na formulação e qualidade dos produtos de umidade intermediária (KAPLOW, 1970; KAREL, 1975a, 1976; ERICKSON, 1982). Em algumas experiências o glicerol e sorbitol têm demonstrado efetividade, não somente na diminuição da  $A_w$ , mas também no controle parcial da reação de escurecimento não enzimático (TROLLER e CHRISTIAN, 1978; CHIRIFE et al, 1979).



TABELA 11. Fórmula típica de um produto texturizado de umidade in-  
termediária para alimentação de cães.

Ingredientes	Porcentagem
Carne e/ou subprodutos	30-70
Caseinato de sodio	7,5-25
Açúcar	15-30
Propileno glicol	2-10
Amido	0,5-10
Fortificantes nutricionais	1-5
Aroma e corantes	à vontade

Referência: US Patent 3,380, 832, cit. p. TORRES (1986).

TABELA 12. Teor de água e Aw de produtos cárneos de umidade inter-  
mediária preparados e comercializados nos Estados Uni-  
dos.

Produto	Conteúdo de água (%)	Aw
Carne bovina semi-cozida	22,2	0,79
Carne assada	16,2	0,66
Carne de porco semi-cozida	22,4	0,74
Frango assado	19,7	0,70
Bifes de carne bovina	17,3	0,65
Carne enlatada	23,6	0,80
Salsicha	24,2	0,78
Presunto magro	19,9	0,72

Referência: TORRES (1986).

## 2.1.4. Tecnologia dos alimentos de umidade intermediária

### 2.1.4.1. Métodos para a obtenção

Para a obtenção de produtos de umidade intermediária, a  $A_w$  dos alimentos pode ser ajustada através de qualquer um dos processos seguintes:

1) Secagem: evaporação da água do alimento até atingir o nível desejado de  $A_w$ . Este processo é aplicado geralmente nos alimentos de alto teor de carboidratos, como as frutas.

2) Incorporação de aditivos: aplicável nos produtos com alto ou baixo teor de material solúvel. KAREL (1976), HEIDELBAUGH e KAREL (1975), indicam que o procedimento para a incorporação de aditivos depressores da  $A_w$  pode ser feita mediante: a) "infusão úmida", na qual o alimento é imergido e/ou cozido numa solução de alta pressão osmótica (baixo valor de  $A_w$ ), para obter um produto final com nível de  $A_w$  requerido (desorção). O diferente valor de  $A_w$  no alimento e na solução provoca a migração da água do alimento para a solução e a simultânea difusão do soluto no alimento; b) "infusão seca", na qual o alimento primeiramente é desidratado (geralmente liofilizado) e seguidamente imergido numa solução que contém os agentes osmóticos até atingir o equilíbrio (adsorção); c) "mescla de componentes", processo no qual todos os componentes do alimento de umidade intermediária são pesados, misturados, cozidos e/ou extrudados para se obter um produto com a  $A_w$  desejável.

3) Combinação de secagem e aditivos: mediante evaporação parcial da água presente e simultânea incorporação de solutos. Aplicável nos alimentos com baixo teor em componentes solúveis e com alto conteúdo de água.

FLINK (1977), analisou os requisitos energéticos de cada um dos processos anteriores e verificou que a "infusão seca" é o método que precisa da maior quantidade de energia e que o método da mistura dos componentes é pelo contrário o de menor consumo. Segundo este mesmo autor, para qualquer um dos métodos empregados, os requisitos energéticos são menores que aqueles necessários para os processos tradicionais de conservação.

#### 2.1.4.2. Agentes depressores da $A_w$

A utilização de aditivos depressores da  $A_w$ , constitui o princípio básico dos alimentos de umidade intermediária (KAREL, 1975a).

A ação destes agentes, baseia-se em que o soluto origina uma maior formação de ligações com a água (fundamentalmente pontes de hidrogênio), tornando-a menos disponível química e biologicamente (SLOAN e LABUZA, 1975; TOMÉ e BIZOT, 1978; CHEN e KARMA, 1980; DUCKWORTH, 1980; GUILBERT et al, 1981; ERICKSON, 1982).

A interação de solutos como NaCl com a água, resulta em aumento da concentração efetiva da água pelo rompimento de sua estrutura e, portanto, o coeficiente de  $A_w$  é maior que 1. Outras moléculas, por exemplo a sacarose, provocam uma diminuição da concentração efetiva da água pelo aumento da estrutura em relação a atual e, portanto, o coeficiente é menor que 1 (BONE, 1973; KAREL, 1975c; MOSSEL, 1975; CORRY, 1975; CHIRIFE, 1986).

CHIRIFE (1986) indica que todos os solutos de interesse em alimentos, possuem desvios negativos com relação à Lei de Raoult:  $A_w \text{ Raoult} > A_w \text{ real}$ .

Na TABELA 13 encontra-se uma série de valores determinados teórica e experimentalmente em solutos com potencial de uso em alimentos.

TABELA 13. Comparação dos valores de  $A_w$  obtidos por métodos teóricos e experimentais em vários solutos de interesse em alimentos.

Soluto	Lei de Raoult	Experimental
Sacarose	0,960	0,951
Glucose	0,938	0,929
Glicerol	0,909	0,898
Maltose	0,952	0,942
Sorbitol	0,931	0,923
Propileno glicol	0,908	0,900
Cloreto de sódio	0,902	0,892
Cloreto de potássio	0,855	0,846
Acetato de potássio	0,936	0,926

Referência: CHIRIFE (1986).

Os agentes depressores da  $A_w$  tem que reunir uma série de qualidades para que sejam utilizados nos alimentos (TOMÉ e BIZOT, 1978; FAVETTO et al, 1981; TORRES, 1986).

- Alta solubilidade em água
- Aprovados pelas agências de controle
- Efetivos em concentrações razoáveis
- Compatíveis com o tipo de alimento
- Não aromático na concentração de uso
- Não corante
- Não volátil

Três classes de compostos químicos são usados habitualmente na produção destes alimentos:

- Alcoois polihídricos: propileno glicol, glicerol, polietileno glicol 400 (PEG-400), sorbitol e 1,3 butileno glicol.
- Açúcares: glucose, sacarose, e frutose.
- Sais minerais: cloreto de sódio e cloreto de potássio.

Um grande número de outros compostos têm sido estudados quanto a sua propriedade de diminuir a Aw. Especialmente importante é o trabalho feito por CHEN e KARMAS (1980), segundo o qual foram pesquisados: monosacarídeos e derivados, disacarídeos, alcoois polihídricos, amins e aminoácidos, ácidos orgânicos, sais inorgânicos e isolados protéicos de soja.

Em concordância com o trabalho, glicina, ácido láctico e cloreto de sódio foram os compostos que permitiram atingir o nível mais baixo de Aw. O uso destes compostos, especialmente em combinação com glicerol, fazem surgir uma interessante perspectiva na tecnologia dos produtos de umidade intermediária.

GUILBERT et al (1981), citando vários autores, indica que em sistemas modelos, ficou demonstrado o sinergismo entre o cloreto de sódio e o lactato de sódio; entre a sacarose e o manitol; entre a sacarose e o ácido sórbico; entre a glucose e a prolina e entre o glicerol e a celulose. Efeito antagônico tem sido observado entre o propileno glicol e o colágeno; entre macromoléculas protéicas e glicídios e entre o cloreto de sódio e a uréia.

## Alcoois polihídricos

Possuem excelentes propriedades de retenção de água devido à riqueza de grupos hidroxila como grupo funcional (TOMÉ e BIZOT, 1978). Além disto, possuem um baixo peso molecular e são líquidos nas temperaturas normais, o que dá plasticidade adicional ao alimento (FURIA, 1972).

Segundo CHIRIFE (1986), estes aditivos tem a mais alta efetividade na depressão da  $A_w$  de todos os solutos pesquisados (TABELA 14).

TABELA 14. Capacidade de retenção de água dos polióis.  
(g  $H_2O$ /100 g sólidos).

Composto	Peso Molecular	$A_w$ 0,60	$A_w$ 0,70	$A_w$ 0,80	$A_w$ 0,90
1,3-butileno glicol	91,1	20,0	32,0	56,0	120,0
Propileno glicol	76,1	30,0	46,0	52,0	148,0
Glicerol	92,1	38,0	57,0	96,0	160,0
Polietileno glicol	200	26,0	38,0	60,0	120,0

Referência: SLOAN e LABUZA (1975).

A solubilidade dos alcoois polihídricos está diretamente relacionada com o peso molecular, a estrutura cristalina e o ponto de fusão. Os polióis de baixo peso molecular, são infinitamente solúveis, mas com o aumento no peso molecular aumenta a tendência à cristalização, e portanto, a solubilidade diminui. A higroscopicidade também cai com o maior peso molecular (SLOAN e LABUZA, 1975; SINSKEY, 1976). Por consequência, quanto menor o peso molecular do poliol, maior a depressão da  $A_w$ .

Outros autores como KAPLOW (1970), WARMBIER et al (1976), KAREL (1976), CHEN e KARMAS (1980) e ERICKSON (1982), afirmam que os polióis diminuem a velocidade do escurecimento não enzimático, além de ter uma ação fungistática, principalmente no caso de propileno glicol e 1,3 butileno glicol.

Com base na habilidade de reter água e na baixa toxicidade, o propileno glicol, glicerol, 1,3 butileno glicol e o sorbitol são os polióis mais adequados para a utilização nos alimentos (SLOAN e LABUZA, 1975).

O glicerol é um dos polialcoois com menor peso molecular (92,1). Possui sabor doce, não é volátil e é bem tolerado fisiologicamente. Metabolicamente fornece 3-4 calorias/grama, e além disso, apresenta-se como eficaz inibidor da reação de Maillard na faixa da Aw dos alimentos de umidade intermediária (TOMÉ e BIZOT, 1978; CHEN e KARMAS, 1980).

O propileno glicol com o peso molecular mais baixo (76), é pouco volátil e não é tóxico. Possui mais alta efetividade para a diminuição da Aw que o glicerol, mas o marcado sabor amargo limita a sua utilização (WEIL et al, 1971). Uma outra importante qualidade do propileno glicol é o poder antimicrobiano que possui (KAPLOW, 1970; PINTAURO, 1974).

BONE (1969), TROLLER e CHRISTIAN (1978), ERICKSON (1982), indicam que a limitante principal na utilização dos alcoois polihídricos é o sabor amargo-doce, e que no caso de propileno glicol é particularmente destacado.

CHIRIFE (1986), indica que em consideração ao sabor doce de glicerol, a única alternativa "comestível" é o emprego de uma mistura de glicerol e cloreto de sódio.

A FIGURA 5 apresenta a relação entre a concentração do glicerol e Aw.

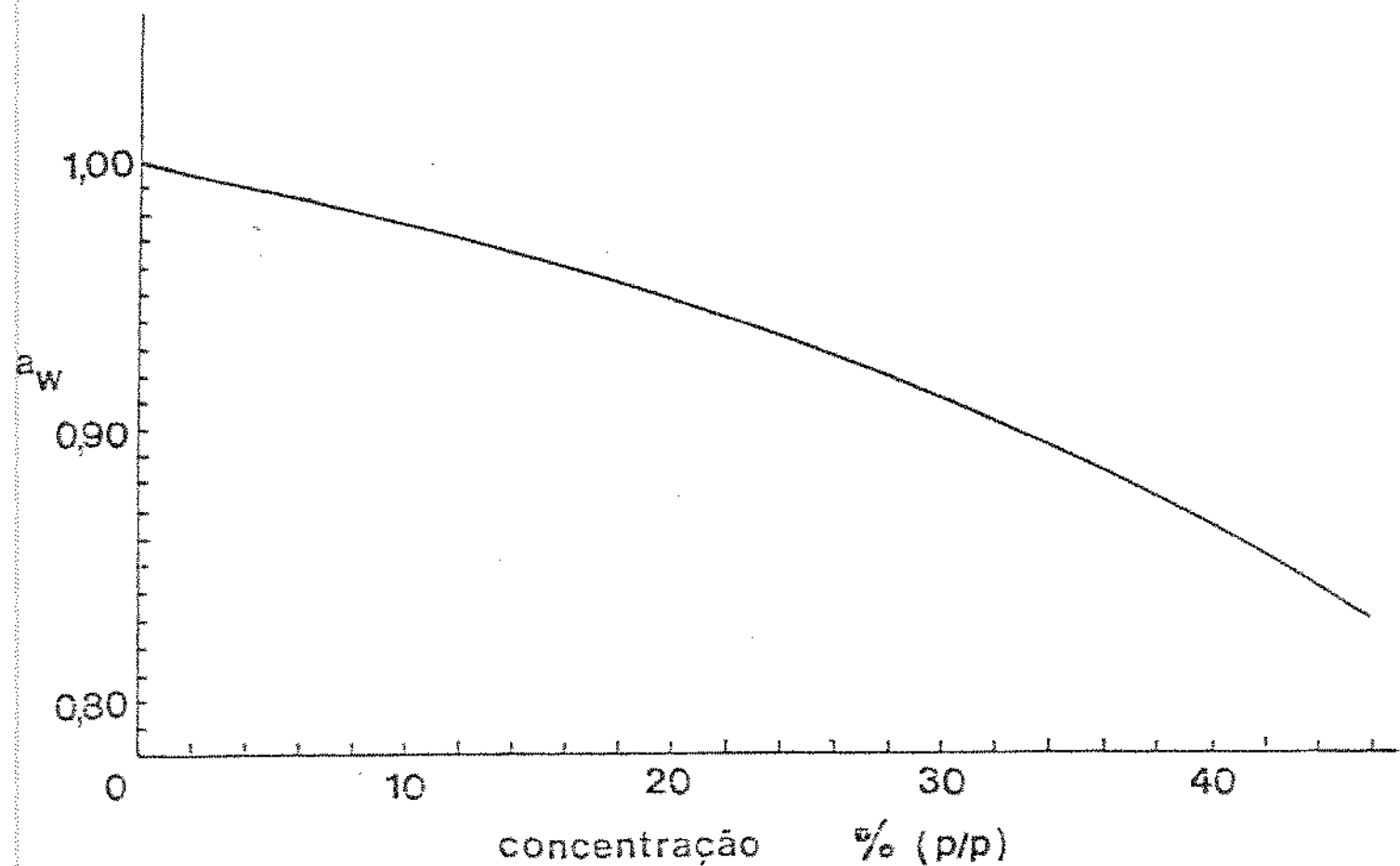


FIGURA 5. Relação entre concentração de glicerol e atividade de água (CHIRIFE, 1986).

FAVETTO et al (1981a) informam que o glicerol e cloreto de sódio têm sido utilizados em uma variedade de carnes de bovinos, suínos, aves e pescados. RUBIO et al (1986), formularam alimentos de umidade intermediária com misturas de carnes de frango e cereais, e com a adição de diversas percentagens de glicerol e cloreto de sódio.



## Açúcares

Os açúcares têm sido utilizados com êxito na conservação de alimentos desde a era primitiva.

A eficácia na diminuição da  $A_w$  é inferior à dos sais e alcoóis polihídricos, como pode ser visto nas TABELAS 15 e 16.

O estudo de CHIRIFE (1986) corrobora os trabalhos realizados por NORRISH (1966), CHEN e KARMAS (1980), ERICKSON (1982), GUILBERT *et al* (1981), os quais tem demonstrado a qualidade depressiva da  $A_w$  em função da concentração de diversos açúcares. Segundo isto, a característica depressiva em ordem crescente é: lactose, sacarose, glucose, frutose e "açúcares alcoóis" (mânitol, xilitol e sorbitol).

TABELA 15. Concentração de açúcares requeridos para reduzir a  $A_w$  até 0,85 (25°C)

Soluto	Concentração g/100g $H_2O$
Sorbitol	146,4
Glucose	176,2
Sacarose	332,8

Referência: CHIRIFE (1986).

TABELA 16. Capacidade de retenção de água dos açúcares.

Açúcar	Estado anidro				Estado amorfo			
	Aw	Aw	Aw	Aw	Aw	Aw	Aw	Aw
	0,60	0,70	0,80	0,90	0,60	0,70	0,80	0,90
Sacarose	3,0	5,0	10,0	-	14,0	20,0	35,0	65,0
Glucose	1,0	3,5	7,5	12,5	1,0	3,5	8,0	22,0
Frutose	14,0	22,0	34,0	47,0	18,0	30,0	44,0	80,0
Lactose	0,01	0,01	0,05	0,1	4,5	4,7	4,7	-

Referência: SLOAN e LABUZA (1975).

Segundo os dados da TABELA 16 a frutose é o açúcar com a maior retenção de água. Neste sentido, CHEN e KARMAS, 1980 informam que este é o açúcar mais eficaz para a depressão da  $A_w$ , mas somente para alimentos de umidade intermediária com características doces.

Com relação à lactose, esta apresenta um efeito depressor de  $A_w$  somente moderado ( $A_w$  0,99), além de ter uma solubilidade de muito baixa com nível de saturação de 17 a 20% em solução, mas com a vantagem de ter um sabor doce bem menor que a sacarose (SLOAN e LABUZA, 1975; CHIRIFE, 1986).

#### Sais minerais

O baixo peso molecular constitui uma vantagem na diminuição da  $A_w$  para uma mesma molaridade, e com a condição de que se aplique a Lei de Raoult (BONE, 1969).

Entre os sais, somente o cloreto de sódio e em menor grau o cloreto de potássio possuem um sabor aceitável. Entretanto os altos níveis requeridos para a diminuição da Aw até o valor de umidade intermediária, prejudicam a aceitação do alimento (TROLLER e CHRISTIAN, 1978).

Considerando os aspectos organolépticos e a efetividade de na diminuição da Aw, o cloreto de sódio é o electrólito que tem demonstrado ser o mais aceitável. Além disto, o baixo peso molecular que possui, permite a ligação ou estruturação de maior quantidade de água (SLOAN e LABUZA, 1975). Segundo CHEN e KARMAS (1980), a efetividade na redução da Aw está baseada na formação de uma estrutura forte dos íons sódio com a água.

As implicações fisiológicas que tem as doses altas de cloreto de sódio no organismo humano, fazem com que não seja conveniente a redução da Aw somente com este composto (BROCKMANN, 1973).

A FIGURA 6 obtida por CHIRIFE (1986), baseada num estudo anterior (CHIRIFE et al, 1983), demonstra a efetividade do cloreto de sódio na diminuição da Aw. Observa-se que mediante este composto, a depressão da Aw até o nível dos alimentos de umidade intermediária (Aw 0,90) somente é possível com concentrações acima de 10%, o que representa uma notável influência no sabor dos produtos. Também comprovou-se que a máxima depressão da Aw que pode ser atingida com o cloreto de sódio, fica num valor perto de 0,75. KITIC et al (1986) estudaram Aw de soluções saturadas de sais, e confirmaram que a solução de cloreto de sódio atinge uma Aw 0,751 ( $\pm$  0,001), a 25°C.

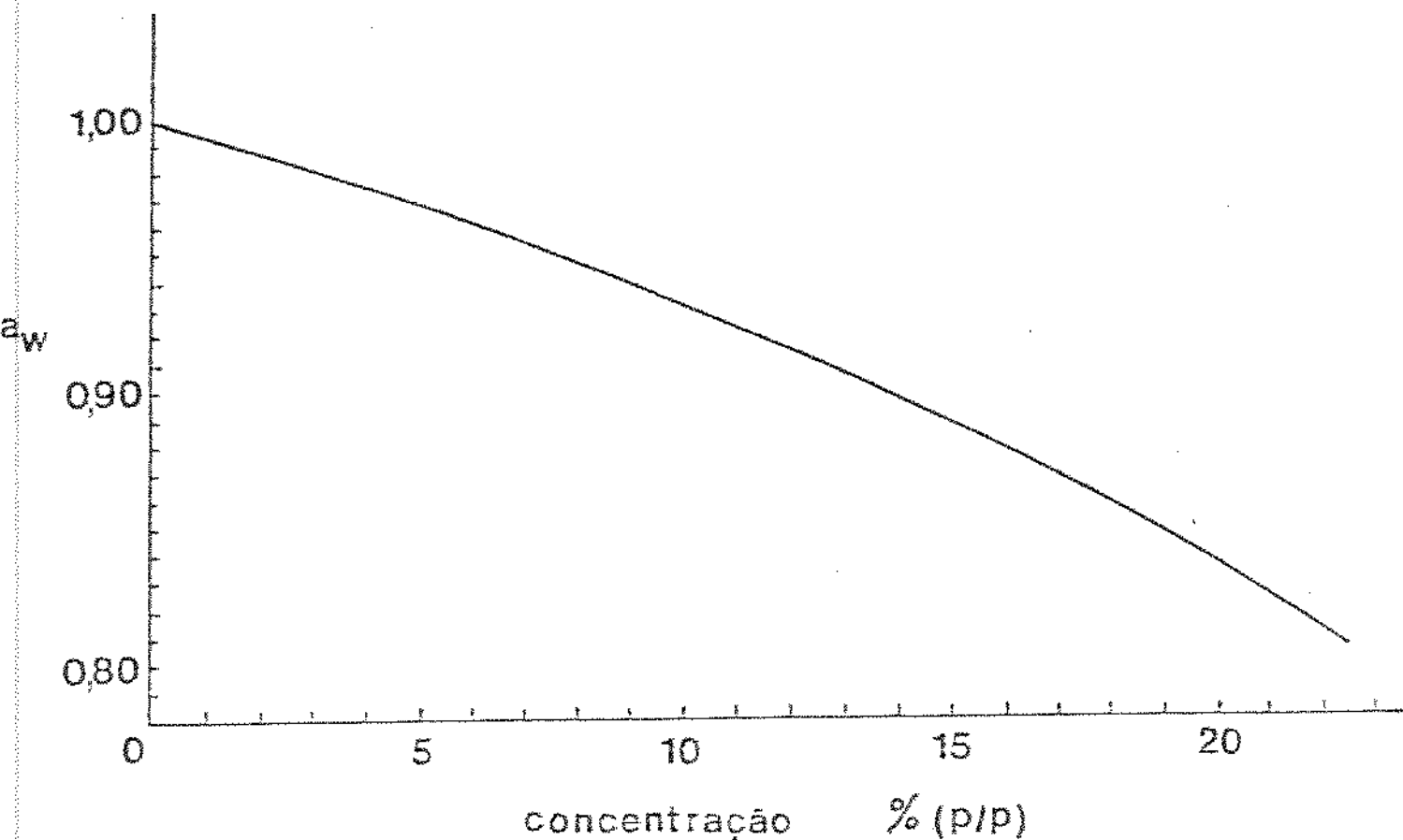


FIGURA 6. Relação entre concentração de cloreto de sódio e atividade de água (CHIRIFE, 1986).

LACROIX e CASTAIGNE (1984) fizeram uma revisão dos trabalhos relacionados com a utilização do cloreto de sódio em emulsões cárneas. Segundo o estudo, a adição deste sal à carne fresca provoca um aumento na hidratação das proteínas musculares, tendo sido observado um máximo quando o conteúdo de cloreto de sódio é 5% em relação ao peso da carne. Esta água é retida ainda após o tratamento térmico. Concentrações maiores de sal originam uma diminuição da capacidade de retenção da água.

O fenômeno de aumento da capacidade de retenção da água é explicado pela união dos íons cloreto ( $Cl^-$ ) às proteínas estruturais da carne. Quando os íons cloreto ligam-se às proteínas com pH superior ao ponto isoelétrico, a carga líquida negati

va aumenta, e as forças de repulsão entre as moléculas aumentam , contribuindo para acrescentar a quantidade de água retida na rede protéica (HAMMS, 1973, cit. p. LACROIX e CASTAIGNE, 1984).

No outro sentido, o cloreto de sódio favorece a solubilização das proteínas solúveis em soluções salinas, importantes na formação da emulsão cárnea. A adição de sal até 0,2 M favorece a adsorção das proteínas na interface dos glóbulos de gordura (TORNBERG, 1980, cit. p. LACROIX e CASTAIGNE, 1984).

#### 2.1.4.3. Preservativos

Na TABELA 17 apresenta-se um alimento de umidade intermediária, preservado com diferentes inibidores (antissépticos) do crescimento microbiano, segundo experiência realizada por KAREL (1976). Sobressai nesta lista a alta efetividade do propionato de cálcio e do sorbato de potássio.

Segundo TORRES (1986), a forma de ação dos antissépticos baseia-se na interferência do mecanismo de transporte através da membrana celular. Isto acarreta distúrbio, particularmente no transporte de nutrientes.

A interrupção em qualquer caso, precisa de uma concentração mínima de moléculas para cada microrganismo.

Nos alimentos, os antissépticos mais utilizados tem sido (PINTAURO, 1974; HAAS et al, 1975; TORRES, 1986):

- Ácidos orgânicos: benzóico, capróico e caprílico.
- Propionatos de cálcio e sorbato de potássio.
- Ácidos lipofílicos e esterés.
- Polióis: propileno glicol, glicerol, sorbitol, manitol, xilitol e polietileno glicol.

TABELA 17. Tempo de aparição de fungos num alimento de umidade intermediária (Hennican) com pH 5,6 e submetido à ação de inibidores.

Inibidor	% (p/p)	Dia de aparição
Metil paraben	0,2	19 <sup>º</sup>
Benzoato de sódio	0,05	19 <sup>º</sup>
	0,10	27 <sup>º</sup>
Propionato de cálcio	0,20	nenhum (+)
Sorbato de potássio	0,10	nenhum (+)
Propileno glicol	7,0	nenhum (+)
1,3 Butileno glicol	5,0	nenhum (+)
Glicerol	1,5	32 <sup>º</sup>
	6,0	39 <sup>º</sup>
Polietileno glicol 600	3,0	32 <sup>º</sup>
	10,0	33 <sup>º</sup>
Sorbitol	4,3	32 <sup>º</sup>
	14,3	51 <sup>º</sup>
Control	0,0	19 <sup>º</sup>

(+) Sem crescimento de fungos até o 51<sup>º</sup> dia.

Referência: KAREL (1976), cit.p. ERICKSON (1982) e TORRES (1986).

A acidificação do meio contribui para uma maior eficácia de ação dos preservativos (LEITSNER et al, 1980; TORRES,1986). Neste mesmo sentido, LABUZA et al (1972) tinham determinado que com pH 5,2, fungos e inclusive Staphylococcus aureus são inibidos pelos antissépticos.

Este mesmo autor determinou que uma mistura de propileno glicol (4 a 6%) e sorbato de potássio ou propionato de cálcio (0,1 a 0,3%) são de alta eficácia na inibição da atividade dos microrganismos em meios com pH 5,6.

### III. MATERIAL E MÉTODOS

Com o objetivo de desenvolver um produto alimentício para consumo humano empregando a tecnologia de umidade intermediária, e estudar as variações da  $A_w$  durante o processamento, utilizou-se como modelo um produto de alto consumo da indústria de carnes, a salsicha.

As salsichas após formuladas e elaboradas segundo um procedimento semelhante ao da indústria de carnes, foram submetidas a um processo de desorção mediante imersão em soluções preparadas com solutos de baixo peso molecular, de modo a retirar osmoticamente parte da água e, simultaneamente, incorporar solutos para ligar a água restante, até atingir uma  $A_w < 0.84$ .

Este nível foi estabelecido considerando a necessidade de controlar a presença de Staphylococcus aureus, que é o patógeno com a maior resistência à depressão da  $A_w$ .

Todas as experiências destinadas ao ajuste dos parâmetros do processo, assim como a metodologia de análise, foi realizada na Planta de Carnes e Laboratórios de Análises de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). O desenvolvimento do projeto de pesquisa concluiu-se posteriormente na Planta Piloto e Laboratórios de Análises de Alimentos, da Escuela de Alimentos de la Universidad Católica de Valparaíso (UCV).

#### 3.1. Materiais

##### 3.1.1. Matéria-Prima

A matéria-prima utilizada no desenvolvimento da pesquisa foi a carne bovina, magra, adquirida no varejo da cidade de



Valparaíso no dia anterior à formulação do produto.

Salsichas comerciais foram adquiridas diretamente na indústria processadora para o estudo comparativo das variações de qualidade durante a estocagem.

### 3.1.2. Ingredientes e aditivos

Todos os ingredientes e aditivos foram de caráter comercial, fornecidos por uma indústria de carnes da região.

- Gordura hidrogenada
- Amido de milho
- Cloreto de sódio
- Leite em pó desengordurado
- Açúcar (sacarose) refinado
- Tripolifosfato de sódio
- Nitrito de sódio
- Ácido ascórbico
- Sorbato de potássio
- Mistura de condimentos para salsichas
- Antioxidante BHT
- Cloreto de sódio comercial
- Glicerol P.A.
- Propileno glicol P.A.
- Sorbato de potássio, grau técnico.

### 3.1.3. Reagentes

- Ácido sulfúrico P.A.

- Cloreto de bário P.A.
- Reagentes diversos para análises químicas e microbiológicas, todos de grau analítico.

#### 3.1.4. Equipamentos

- Determinador higrométrico Lufft Aw-Wert Messer. Modelo 5803. Calibrado no valor Aw 0,90 com soluções saturadas de cloreto de bário.
- Aparelho determinador de Aw configurado com dessecadores herméticos, segundo método isopiéstico estático de Landrock e Proctor, e com emprego de ácido sulfúrico em solução a 24,5% segundo recomendação de RESNIK et al., (1986).
- Equipamento de Planta Piloto para o processamento de salsichas:
  - . Máquina picadora de carnes marca HOBART-MARSOL, modelo CH 4812, e disco extrusor com furos de 5 mm de diâmetro.
  - . Cutter-homogenizador marca HOBART-MARSOL, modelo M-714, capacidade de 5 kgs. de massa, e 20 r.p.m.
  - . Embutideira manual.
- Máquina fechadora a vácuo marca SHAUSE modelo HCAC s12, 220 volts, capacidade de vácuo 25 polegadas, tempo de operação: 20 segundos.
- Tanque com vapor indireto marca DIXIE-CANNER, modelo 8507-U e capacidade de 60 litros.
- Sacos plásticos de CRY-O-VAC, de baixa permeabilidade aos gases e vapor de água.
- Câmara de refrigeração (3-7°C).

- Balanças analíticas SAUTER modelo 414/10 e semi-analítica METTLER modelo P-1000.
- Material de vidro e equipamento geral de Laboratório de Análises de Alimentos.

### 3.2. Metodologia

A pesquisa foi executada em duas etapas, a primeira das quais, considerou a determinação da solução depressora da  $A_w$  e o procedimento de aplicação.

Para isto, prepararam-se 10 soluções contendo porcentagens variáveis dos solutos: glicerol, propileno glicol e cloreto de sódio, com o objetivo de atingir uma  $A_w$  teórica suficientemente baixa para assegurar um diferencial osmótico acentuado com o produto, para obter a  $A_w$  desejada no menor tempo possível, mas considerando-se as características de sabor, cor e textura da salsicha.

Através das experiências preliminares, determinou-se que existe uma maior rapidez no processo osmótico quando a temperatura é mais alta. Em concordância, e na base da recomendação de KAPLOW (1970), o procedimento compreendeu a pasteurização da salsicha na mesma solução de equilíbrio, seguida de um repouso à temperatura de refrigeração nesta mesma solução. Comparativamente, um lote de salsichas foi pasteurizado em água ( $85^{\circ}\text{C}$ ), e posteriormente imerso na solução de equilíbrio.

O produto que atingiu a  $A_w < 0,84$  no menor tempo, e com adequadas características qualitativas, foi selecionado para a realização da segunda etapa do trabalho, que compreendeu a elaboração da salsicha de umidade intermediária e a estocagem à temperatura ambiente ( $24^{\circ} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ) durante 105 dias. Neste período, o produto foi submetido a controles químicos, físicos e microbiológicos para se avaliar a variação da qualidade.

A salsicha pasteurizada em água (45 min. 85°C), mesmo não atingindo o nível de  $A_w < 0,84$ , foi estocada e analisada microbiologicamente no mesmo período.

No final da estocagem, o produto foi avaliado sensorialmente medindo-se a aceitabilidade. O padrão de referência nas diferentes determinações de qualidade foi a salsicha comercial.

Paralelamente com o desenvolvimento tecnológico do produto de umidade intermediária, efetuou-se a determinação da variação da  $A_w$  nas diferentes etapas da formulação da salsicha, durante a imersão na solução depressora e durante o período de estocagem.

### 3.2.1. Determinação da solução de equilíbrio

#### 3.2.1.1. Seleção do soluto e do aditivo conservante

A seleção foi feita com base nas características de peso molecular, solubilidade, ponto de ebulição, sabor e antecedentes de uso.

Segundo os requisitos básicos da solução, os solutos teoricamente mais apropriados foram: Glicerol ( $C_3H_8O_3$ ), Propileno glicol ( $C_3H_8O_2$ ) e Cloreto de sódio (NaCl), os quais foram adicionados na solução em conformidade com as porcentagens apresentadas na TABELA 18.

Para o controle de fungos na salsicha de umidade intermediária foi utilizado o Sorbato de potássio, com base no pH da salsicha variando ao redor de 6,0-6,2. 0,3% de Sorbato de potássio em relação ao peso da matéria-prima foi incorporado diretamente na mescla dos ingredientes, e 0,5% foi adicionado na solução de equilíbrio.

#### 3.2.1.2. Procedimento de redução da $A_w$ .

Empregou-se o método de infusão aquosa, aplicando-se um

tratamento térmico de 40 minutos a 85°C.

O produto permaneceu na solução de equilíbrio por 24 horas à temperatura de refrigeração (3-7°C) durante as quais fizeram-se leituras periódicas da Aw. A relação produto-solução foi fixada em 1:3 (p/v) em conformidade com as recomendações de LABUZA et al (1970), KAREL (1973), FAVETTO et al (1981a).

### 3.2.1.3. Formulação da solução de equilíbrio

A solução de equilíbrio foi formulada de modo a obter-se uma Aw < 0,84 no produto.

Para o cálculo teórico da formulação empregaram-se duas equações de amplo uso na tecnologia de alimentos de umidade intermediária (ROSS, 1975; SLOAN e LABUZA, 1976; LABUZA et al, 1976; CHEN e KARMAS, 1980; GUILBERT et al, 1981; CHIRIFE et al, 1986; CHIRIFE, 1986; FLAÑO et al, 1986).

- Equação de RAOULT (para soluções ideais)

- Equação de ROSS (para soluções de multicomponentes)

A equação de RAOULT tem a expressão seguinte:

$$Aw = \gamma n_w / (n_w + n_s) = p/p^0$$

onde:  $\gamma$  = coeficiente de atividade de água. Se assume o valor 1 nas soluções ideais.

$n_w$  = número de moléculas de água na solução

$n_s$  = número de moléculas de soluto na solução

A equação de ROSS tem a expressão seguinte:

$$Aw_f = Aw_i \times Aw_1 \times Aw_2 \times Aw_3 \dots \dots \dots \text{etc.}$$

onde:

$Aw_f$  = atividade de água final do produto

$Aw_i$  = atividade de água inicial do alimento

$Aw_1, Aw_2$  ..... atividade de água de cada um dos componentes considerados individualmente no total da água do sistema.

Segundo os cálculos considerados, as soluções testadas foram as indicadas na TABELA 18.

### 3.2.2. Formulação da salsicha de umidade intermediária.

#### 3.2.2.1. Fluxograma de processo.

O Fluxograma indicado na FIGURA 7 apresenta as diferentes etapas conducentes à obtenção da salsicha de umidade intermediária.

##### 3.2.2.1.1. Matéria-Prima

A matéria-prima básica foi a carne bovina de primeira qualidade, sem gordura, adquirida no varejo, 24 horas após a matança e mantida sob refrigeração ( $3-6^{\circ}\text{C}$ ) até o momento do processo.

##### 3.2.2.1.2. Trituração e cura.

Aditivo básico de cura é o nitrito de sódio ( $\text{NaNO}_2$ ), o qual foi adicionado na quantidade de 0,01% com relação ao peso da matéria-prima, misturado com a sacarose (1%) e o ácido ascórbico (0,05%).

TABELA 18. Composição das soluções de equilíbrio testadas em salsi-  
chas. (gramas/100 gramas de solução).

Solução de equilíbrio	Água	Glicerol	Propileno glicol	Cloreto de Sódio	Sorbato de Potássio
1	54,5	35,0	-	10,0	0,5
2	49,5	40,0	-	10,0	0,5
3	44,5	45,0	-	10,0	0,5
4	39,5	50,0	-	10,0	0,5
5	34,5	55,0	-	10,0	0,5
6	54,5	30,0	-	15,0	0,5
7	49,5	35,0	-	15,0	0,5
8	44,5	40,0	-	15,0	0,5
9	44,5	-	40,0	15,0	0,5
10	44,5	20,0	20,0	15,0	0,5
11 (*)	39,5	50,0	-	10,0	0,5

(\*) Solução utilizada na salsicha pasteurizada com água.

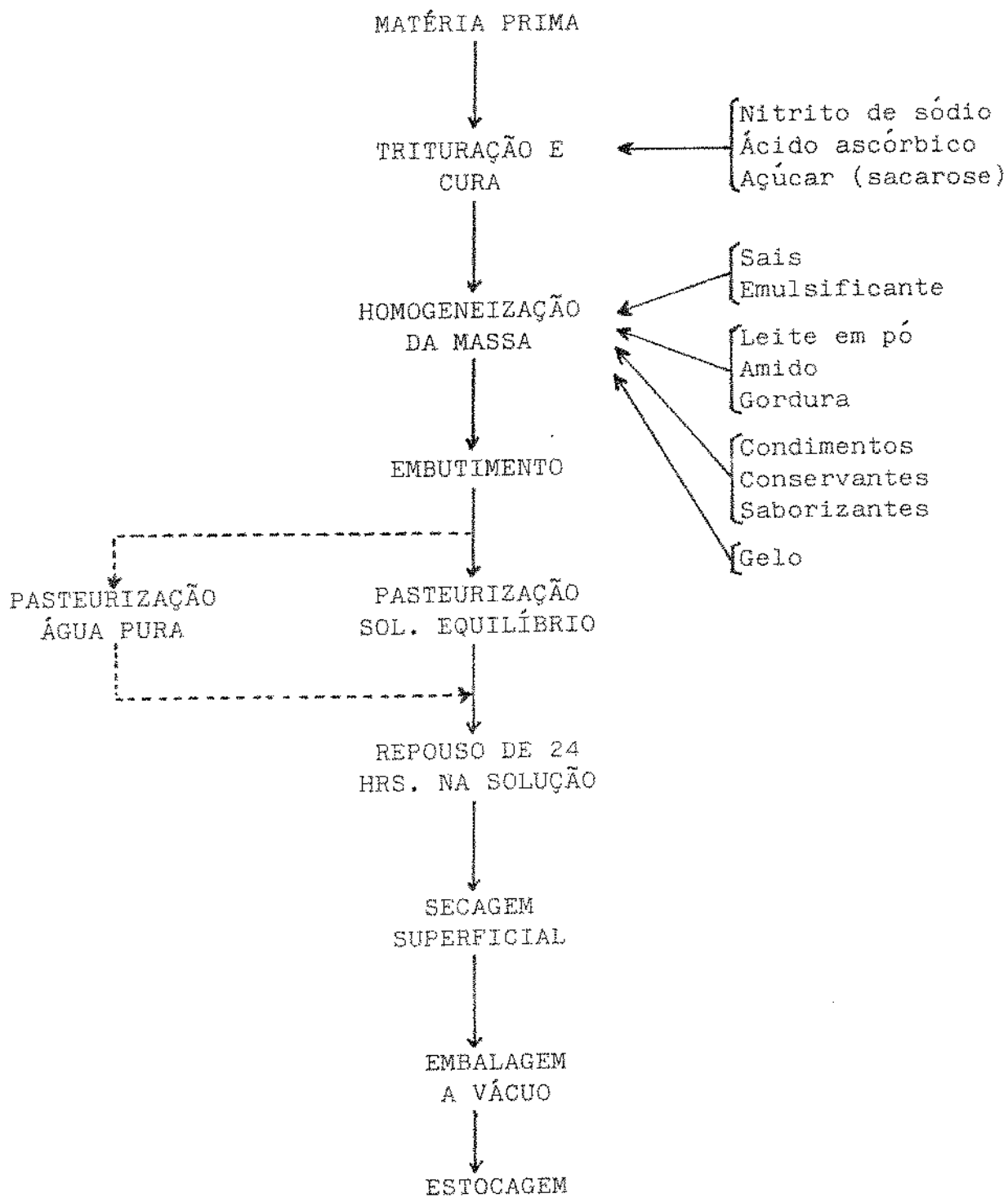


FIGURA 7. Fluxograma da obtenção de salsichas de umidade intermediária.



A carne triturada e misturada com os aditivos curantes foi mantida toda a noite sob refrigeração (3-6°C).

#### 3.2.2.1.3. Homogeneização da massa

A carne curada foi colocada no cutter-homogeneizador e misturada com os demais ingredientes da formulação até formar a emulsão. Os ingredientes foram adicionados sequencialmente como segue: primeiramente os sais (cloreto de sódio 5% e tripolifosfato de sódio 0,25%) e o emulsificante lecitina de soja (0,25%). Em seguida foi adicionado o leite em pó (3%), o amido de milho (7,5%) e a gordura (20%). Finalmente se incorporaram os condimentos (2,3%) e o sorbato de potássio (0,3%). Uma quantidade de água equivalente a 23% do peso da matéria-prima foi agregada na forma de gelo durante o processo.

#### 3.2.2.1.4. Embutimento

A mistura emulsionada foi embutida em tripas de acetato de celulose empregando uma embutideira manual. O formato das salsichas foi 120-150 mm de comprimento, 17-20 mm de diâmetro e peso unitário entre 33-38 gramas.

#### 3.2.2.1.5. Pasteurização

As salsichas foram pasteurizadas durante 45 minutos à 85°C em tanque com aquecimento a base de vapor indireto, e imersas em uma das 10 soluções formuladas com glicerol, propileno glicol, cloreto de sódio e sorbato de potássio em conformidade com a TABELA 18. O tempo e temperatura de pasteurização empregados nesta experiência são maiores do que os praticados na indústria de carnes. Isto se deve a que a viscosidade da solução é mais alta e com maior densidade do que a água, o que afeta a penetração do calor no produto.

Um lote de salsichas foi pasteurizado somente com água, durante o mesmo tempo e temperatura das anteriores com a finalidade de comparar seu comportamento microbiológico.

#### 3.2.2.1.6. Repouso refrigerado

Finalizando o tratamento térmico, a solução foi resfriada rapidamente com utilização de água fria circulando através de uma serpentina de metal. A salsicha ficou imersa nesta solução fria mantida numa câmara de refrigeração à temperatura de 3-6°C, durante 24 horas, com agitação ocasional.

#### 3.2.2.1.7. Secagem superficial

Após as 24 horas, as salsichas foram removidas da solução e secas superficialmente com papel filtro.

#### 3.2.2.1.8. Embalagem a vácuo

Conforme a recomendação de TANDLER E RODEL (1982), a salsicha foi embalada a vácuo em sacos de CRY-O-VAC, em número de 6 unidades e com peso total aproximado de 200 a 230 gramas por embalagem.

#### 3.2.2.1.9. Estocagem

As salsichas de unidade intermediária, empacotadas e fechadas a vácuo foram colocadas em caixas de papelão e estocadas em local escuro, com temperatura ambiente de 24°C ( $\pm 5^\circ\text{C}$ ) e umidade relativa de 75-85% durante 105 dias.

Salsichas comerciais obtidas diretamente da indústria processadora por ocasião do experimento foram estocadas à tempera

tura de refrigeração (3-6°C) e temperatura ambiente 24°C ( $\pm$  5°C) para observar seu comportamento microbiológico.

Periodicamente foram tiradas amostras para a avaliação química, física e microbiológica. No final do período de estocagem, o produto foi avaliado sensorialmente conforme ficha apresentada nos ANEXOS 1 e 2.

### 3.2.3. Métodos de análise

#### 3.2.3.1. Medição da Atividade de Água (Aw)

A determinação da Aw foi realizada experimentalmente e teoricamente durante cada uma das etapas que compreendeu a elaboração das salsichas de umidade intermediária.

A medição experimental na etapa de formulação e de imersão na solução, foi feita com emprego do higrômetro fabricado para a indústria de carnes da Alemanha pela firma Lufft, e denominado "Aw-Wert-Messer".

O aparelho foi calibrado com solução padronizada de cloreto de bário ( $BaCl_2$ ) segundo o procedimento recomendado por CHIRIFE e FERRO-FONTAN (1980). As determinações fizeram-se em duplicata, e o resultado representa a média de duas medições. As medições foram realizadas depois de um tempo de equilíbrio não menor que 5 horas, com aproximadamente 15 gramas de amostra de salsicha, e com temperatura de 20°C ( $\pm$  1°C). Semanalmente o aparelho foi colocado em dessecador contendo desidratante sílica-gel, para a descontaminação do sensor.

Paralelamente efetuou-se a determinação teórica, comparando-a com o resultado experimental e comprovando assim a validade das determinações.

A medição durante a etapa de estocagem foi feita com o método de LANDROCK e PROCTOR descrito por LEITSNER e RODEL (1975)

e HARDMAN (1978), que emprega dessecadores com soluções de ácido sulfúrico de 24,5% de concentração, para a formação de uma atmosfera de 84% de Umidade Relativa ( $A_w$  0,84), segundo a recomendação de RESNIK et al (1986). A medição foi realizada em 5 gramas ( $\pm$  0,05) de amostra de salsicha, com medições cada 48 horas até atingir a  $A_w$  de 0,84. Todas as determinações foram feitas à temperatura de 25°C ( $\pm$  1°C).

### 3.2.3.2. Análise quantitativa de composição

Esta determinação foi feita em salsichas comerciais, salsichas formuladas antes da pasteurização, salsichas de umidade intermediária e salsichas de umidade intermediária reidratadas.

#### . Umidade

Em estufa a 105°C até peso constante, segundo método 24003, AOAC (1975).

#### . Cinzas

Por calcinação em mufla a 525°C, segundo método 3102, AOAC (1975).

#### . Lipídios totais

Extração a frio com emprego de metanol e clorofórmio, segundo método Bligh & Dyers modificado (1959).

#### . Proteínas

Método micro-Kjeldahl ( $N \times 6,25$ ), segundo procedimento 7048 AOAC, (1975).

#### . Carboidratos

Por diferença entre 100 e a soma dos outros componentes.

#### . Cloretos

Por titulação com nitrato de prata 0,1N, segundo método 18031-18032, AOAC (1975).

. Glicerol

Determinação extrapolada do Balanço de Materiais.

. Solutos totais

Determinação feita por balanço com base nas análises de cloreto e sólidos totais.

3.2.3.3. Análises para avaliação de mudanças deteriorativas na es tocagem.

Determinação feita em salsichas comerciais e salsichas de umidade intermediária, estocadas à temperatura de refrigeração e ambiente as primeiras, e temperatura ambiente as segundas.

. Aw e Umidade segundo procedimentos descritos em 2.3.1. e 2.3.2.

. Índice de Peróxidos

Por titulação com tiosulfato de sódio 0,01N, segundo métodos 28023 e 28024, AOAC, (1975).

. Índice de TBA

Por reação de aldeído malônico com o ácido tiobarbitúrico e observação de absorvância a 535 nm, segundo método de extração direta de W. Vyncke (1970).

. Solubilidade

Segundo método descrito por OBANU et al (1976) com solução salina de cloreto de potássio 0,1 Molar.

. Determinação microbiológica

Contagem total

Contagem total de microrganismos em Placas Petri, com

agar nutriente (Plate Count Agar), e incubação a 37°C durante 24 a 48 horas, segundo Compendium of Methods for the Microbial Examination of Foods (SPECK, 1976).

#### S. aureus

Determinação e identificação de Staphylococcus aureus pelo método de número mais provável (NMP) em tubos contendo caldo de soja tripticase e cloreto de sódio, segundo Compendium of Methods for the Microbial Examination of Foods (SPECK, 1976).

#### Fungos e Leveduras

Contagem de fungos e leveduras em Placas com PDA (Potato Dextrose Agar) e incubação a 20-25°C durante 5 dias, segundo Compendium of Methods for the Microbial Examination of Foods (SPECK, 1976).

#### . Peso e Volume na reidratação.

Por imersão da salsicha de umidade intermediária em água fria na relação 1:5 (p/v), com agitação constante até máxima adsorção.

A variação de peso e volume foi determinada mediante amostras extraídas de hora em hora, até atingir a estabilidade.

#### . Avaliação Sensorial

Mediante teste de Escala Hedônica descritivo, (LARMOND, 1974), em salsicha de umidade intermediária e salsicha reidratada, e tendo como padrão a salsicha comercial. Escala de 7 pontos e com 9 provadores treinados. O resultado da avaliação foi submetido a análise de Variância e Teste de Tukey.

## IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Análise da Atividade de Água (Aw)

#### 4.1.1. Solução de equilíbrio

Na TABELA 19 são apresentados os resultados alcançados na Aw das salsichas após 24 horas de imersão na solução de equilíbrio.

O tipo de soluto, glicerol, propileno-glicol e cloreto de sódio foram selecionados em conformidade com estudos realizados por BROCKMANN (1970), KAPLOW (1970), OBANU et al (1975a,b), ACOTT e LABUZA (1975), FLINK (1977), DYMZA e SILVERMANN (1979), FOX e LONCIN (1982), LACROIX e CASTAIGNE (1984), CHIRIFE (1986).

A aplicação das equações teóricas de Raoult e Ross, permitiu determinar com boa aproximação a qualidade osmótica da solução. O glicerol foi testado em quantidades que flutuaram entre 20 e 55%; o propileno glicol e o cloreto de sódio foram provados em dois valores específicos: 20 e 40% o primeiro, 10 e 15% o segundo (TABELA 18).

A análise dos resultados da Aw obtida nas soluções por um ou outro método de cálculo teórico, permite comprovar que os valores obtidos pela equação de Ross, nas 10 soluções testadas, são maiores que os obtidos pela equação de Raoult (TABELA 20).

Esta situação havia sido detectada por SLOAN e LABUZA (1976), VAN DEN BERG et al (1980), e CHIRIFE et al (1980), determinando que a equação de Ross é mais útil para a predição da Aw de misturas de multicomponentes de solutos, já que esta equação considera-se a interação entre solutos, e a contribuição dos não-solutos (usualmente polímeros) na redução da Aw. Esta forma de cálculo da Aw faz com que os valores atingidos sejam sistematicamente superestimados.

TABELA 19. Determinação experimental da variação da  $A_w^{(*)}$  em salsichas imergidas nas soluções de equilíbrio.

Solução de equilíbrio	Horas de Imersão										
	0	4	5,30	7	8,30	15	18,30	20	24		
1	0,931	0,915	0,910	0,911	0,889	-	-	-	0,860		
2	0,922	0,822	0,880	0,879	0,877	-	-	-	0,851		
3	0,920	0,880	0,879	0,878	0,867	-	-	-	0,838		
4	0,917	0,872	0,868	0,862	0,856	-	0,835	-	0,830		
5	0,883	0,866	0,860	0,852	0,848	-	0,825	-	0,820		
6	0,923	-	0,873	-	-	0,861	0,852	0,847	0,845		
7	0,897	-	0,863	-	-	0,848	0,825	0,820	0,820		
8	0,875	-	0,838	-	-	0,817	0,812	0,810	0,808		
9	0,880	-	0,875	-	-	0,865	-	-	0,862		
10	0,915	-	0,898	-	-	0,892	-	-	0,890		
11	0,950	0,943	0,936	-	-	0,888	-	0,866	0,851		

(\*) Média de duas determinações a 20°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ).



TABELA 20. Aw teórica das soluções testadas, e Aw experimental das salsichas: após a pasteurização (85°C-45') e após 24 horas de repouso refrigerado, na mesma solução de pasteurização.

Solução de equilíbrio	Aw da solução		Aw experimental das salsichas (c)	
	Teórica(a)	Teórica(b)	Após pasteurização na solução de equilíbrio	Após 24 horas na solução de equilíbrio
1	0,807	0,838	0,931	0,860
2	0,781	0,811	0,922	0,851
3	0,750	0,779	0,920	0,838
4	0,713	0,742	0,917	0,830
5	0,672	0,698	0,883	0,820
6	0,786	0,831	0,923	0,845
7	0,757	0,801	0,897	0,820
8	0,736	0,769	0,875	0,808
9	0,707	0,745	0,880	0,862
10	0,718	0,751	0,915	0,890
11	0,713	0,742	0,950	0,851

(a) Segundo a Lei de Raoult's.

(b) Segundo a equação de Ross.

(c) Média de duas determinações a 20°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ).

Raoult aplica-se essencialmente nas soluções diluídas onde o afastamento da idealidade é mínima, e na qual a interação entre os diferentes solutos pode-se assumir desprezível.

Comparando os valores da  $A_w$  da TABELA 20, e aqueles obtidos por CHIRIFE et al (1986), indicados nas FIGURAS 5 e 6 do presente trabalho, e os valores obtidos por WEBSTER et al (1982) na determinação teórica e experimental da  $A_w$  nos produtos alimentícios, pôde-se estabelecer definitivamente que a aplicação da equação de ROSS apresenta resultados mais confiáveis e mais próximos do real.

Baseado no objetivo do trabalho, todas as soluções, atingiram  $A_w$  suficientemente baixas para garantir um bom diferencial osmótico com o produto.

As soluções que apresentaram os valores mais baixos da  $A_w$  tinham conteúdos de solutos  $\approx 50\%$ , mas a velocidade com que o produto atingiu o nível requerido da  $A_w < 0,84$  foi dependente do tipo e proporção dos solutos na mescla (figuras 8 e 9). Efetivamente, todas as soluções formuladas com glicerol e com a mais alta porcentagem de cloreto de sódio (15%) fizeram com que o produto atingisse os valores mais baixos da  $A_w$ , ultrapassando o limite de  $A_w 0,84$  em 16-18 horas, o que está de acordo com as determinações feitas por BROCKMANN (1973) em ensaios com produtos carnes e vegetais. Pesquisas de SLOAN et al (1976), apontam períodos similares em produtos alimentícios enlatados com a solução de equilíbrio.

As FIGURAS 8 e 9, permitem observar e comparar a velocidade com que as diferentes soluções provocam a depressão da  $A_w$  nas salsichas. Com exceção das amostras 9 e 10, todas as demais apresentam um comportamento quase similar entre si, com diminuição rápida da  $A_w$  nas 4 e 6 horas iniciais, e a partir daí a diminuição procede com velocidade praticamente constante até atingir o nível final.

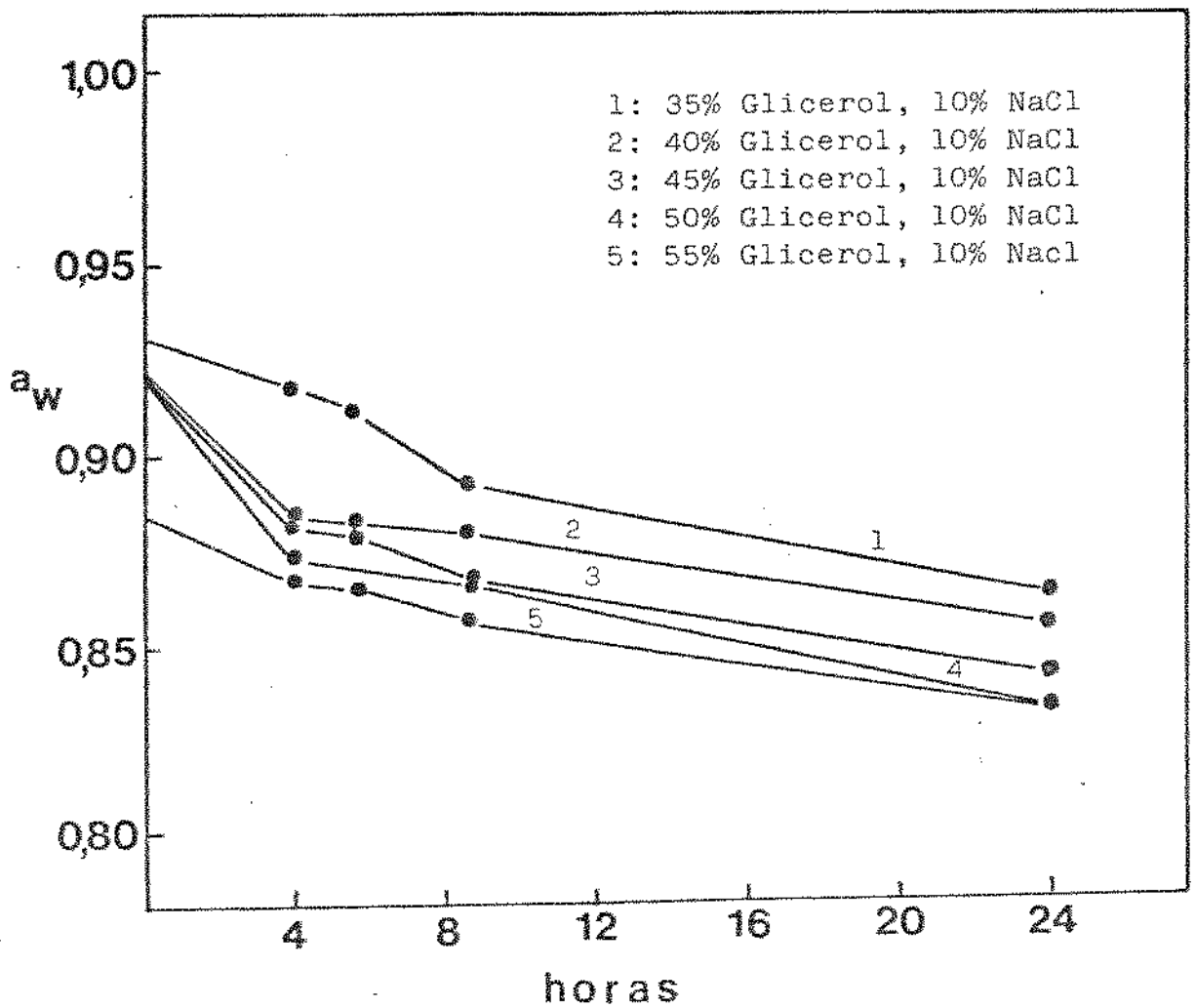


FIGURA 8. Velocidade de depressão da  $a_w$  em salsichas, em função das concentrações da solução de equilíbrio. Na vertical, o valor de  $a_w$  atingido na pasteurização. Na horizontal as horas de imersão.

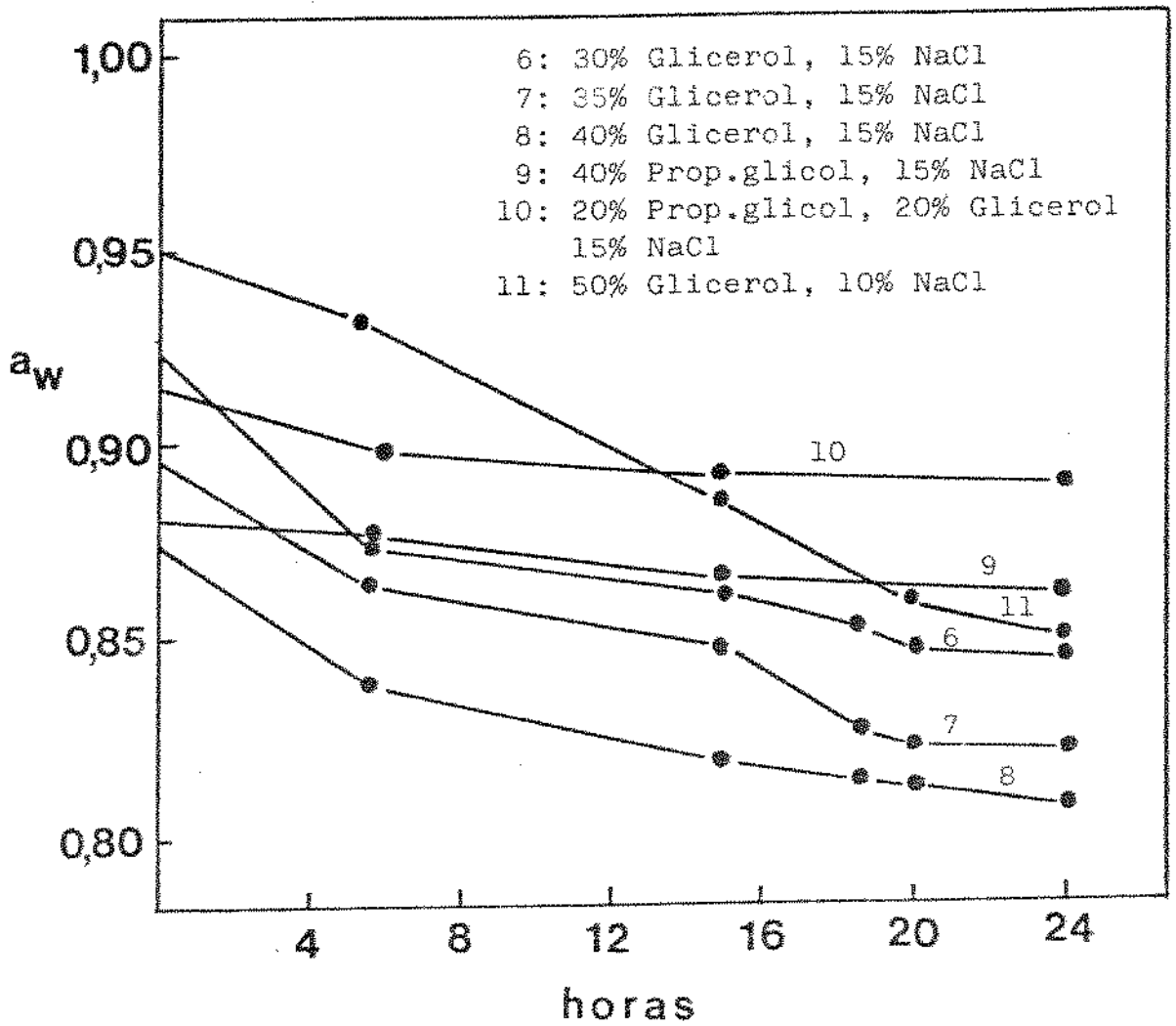


FIGURA 9. Velocidade de depressão da  $a_w$  em salsichas, em função das concentrações da solução de equilíbrio. Na vertical, o valor de  $a_w$  atingido na pasteurização. Na horizontal as horas de imersão.

A experiência confirma que, quanto mais alta é a pressão osmótica da solução de equilíbrio, menor é o valor da  $A_w$  atingido no produto. Se bem que não existe uma relação proporcional entre a  $A_w$  da solução e a  $A_w$  do produto final, o princípio termodinâmico prevalece.

Em conformidade com o cálculo teórico, as soluções formuladas com 15% de cloreto de sódio necessitaram de menor quantidade de glicerol para atingir o mesmo objetivo. Por exemplo: com a adição de 35% de glicerol (solução 7) alcança-se na salsicha uma depressão da  $A_w$  similar àquela com 55 % de glicerol e 10% de cloreto de sódio (solução 5). Isto representa uma quantidade menor de solutos na solução de equilíbrio equivalente a 15%.

Das soluções testadas, as formuladas com propileno-glicol misturado com cloreto de sódio e/ou glicerol (soluções 9 e 10), e as formuladas com 35-45% de glicerol (soluções 1 e 2), não permitiram obter o produto de umidade intermediária, posto que a  $A_w$  ficou acima do limite 0,84, mesmo após 24 horas de permanência na solução. As soluções 9 e 10 contendo propileno glicol, mesmo com  $A_w$  teóricas baixas (0,745 e 0,751), não causaram uma depressão suficiente, ficando a salsicha com  $A_w$  0,862 no caso da solução 9, e  $A_w$  0,890 na solução 10. No caso das soluções 1 e 2 a  $A_w$  não teve o valor inicial suficientemente baixo, para garantir a forte pressão osmótica necessária para atingir o nível desejado no produto. De fato, o resultado após a permanência na solução foi  $A_w$  0,860 para o produto na solução 1, e  $A_w$  0,851 para o produto da solução 2 (TABELAS 19 e 20).

A pequena ação depressora do propileno glicol não é uma situação que tenha uma explicação clara, visto que não existem estudos da cinética e da difusividade deste tipo de misturas. Este fenômeno poderia ter uma explicação na determinação feita por Bone (1973), segundo o qual, dois ou mais solutos quando usados juntos fazem com que a interação com a água seja menor que quando são usados isoladamente. Porém esta não é a situação da

mistura propileno-glicol com glicerol, porque na experiência com utilização somente de propileno-glicol (solução 9), o comportamento foi similar, com baixa ação depressiva na Aw. Portanto, a explicação deveria ser procurada através da asseveração de GUILBERT et al (1981), segundo os quais pode ocorrer um antagonismo entre o propileno-glicol e o colágeno. Entretanto o trabalho citado não fornece detalhes sobre tal antagonismo.

A maior efetividade do cloreto de sódio como depressor da Aw (FIGURA 9) coincide com KAPLOW (1970), DYMSZA e SILVERMANN (1979), e GUILBERT et al (1981), os quais em pesquisas separadas, utilizaram soluções com 40-50% de glicerol e 7-15% de cloreto de sódio para a preparação de produtos vegetais, cárneos e pescados com Aw reduzida. Após algumas horas os produtos atingiram uma Aw entre 0,81 e 0,86.

BROCKMANN (1970), por outro lado, indica que para a obtenção de carne bovina com Aw 0,86 é necessária a imersão durante 15 horas em uma solução contendo 87,9% de glicerol e 10% de cloreto de sódio. Isto não está em concordância com a presente experiência, na qual o processo de diminuição da Aw mediante uma solução de água, glicerol (50%) e cloreto de sódio (10%) permitiu obter em tempo similar uma Aw menor do que aquela alcançada pelo mencionado pesquisador.

Outro aspecto que merece ser destacado é que, em todas as soluções nas quais a concentração de soluto é similar (soluções 1 e 6, 2 e 7, 3 e 8) observa-se uma ação depressora da Aw mais acentuada naquelas que tem 15% de cloreto de sódio e menor porcentagem de glicerol. Por outro lado, comparando as soluções com Aw similar ou próximas, comprova-se que a rapidez e o nível de Aw final conseguido no produto, apresenta diferenças bem marcadas. Esta característica teria sua base no fator difusividade, segundo foi demonstrado por FAVETTO et al (1981a), que obtiveram com o cloreto de sódio uma velocidade de difusão que foi o dobro

do glicerol, em experiências realizadas com sistemas modelo a base de carnes. Esta maior velocidade de difusão é atribuível a que o glicerol precisa, em concordância com as leis de difusividade, de mais energia de ativação que o cloreto de sódio, pelo fato do tamanho molecular ser maior.

Esta característica do cloreto de sódio foi destacada anos atrás por DEL VALLE e NICKERSON (1967), com pesquisas realizadas em músculos de pescado. ALVAREZ (1978) obteve uma penetração de cloreto de sódio de cerca de 90% do total; nas primeiras horas de colocação de salsichas em concentrações de 20%, 25% e em solução saturada de sal.

DUCKWORTH (1980) tem demonstrado o contrário à determinação de FAVETTO et al (1981b). Submetendo produtos alimentícios separadamente à ação depressiva do glicerol e do cloreto de sódio cristalino, observou que a ação depressiva do glicerol é maior que a do cloreto de sódio devido a que este último precisa ser dissolvido pela água (do produto) para exercer o efeito, aspecto que no caso do glicerol não é necessário. DUCKWORTH não faz referências ao emprego de cloreto de sódio em solução aquosa, razão pelo qual sua afirmação não pôde ser confirmada neste trabalho.

A salsicha pasteurizada em água e colocada posteriormente numa solução osmótica contendo 50% de glicerol e 10% de cloreto de sódio (solução 11), atingiu nas 24 horas apenas uma  $A_w$  0,851. Considerando que o limite da  $A_w$  estava fixado num valor mais baixo o produto deveria ter sido rejeitado, mas para contar com mais um ponto de base na discussão do resultado microbiológico, foi estocada e armazenada por tempo similar àquele da salsicha com  $A_w < 0,84$ .

Considerando somente o valor de  $A_w$ , os produtos mais aceitáveis foram aqueles preparados nas soluções 5,7 e 8 que atingiram  $A_w$  0,82. Entretanto a textura dos mesmos ficou muito dura e a estrutura muito compacta, pelo qual foram rejeitados.

Pelo fato das salsichas submetidas a ação do propileno glicol não alcançarem o nível da Aw suficiente (soluções 9 e 10), e igualmente alguns produtos com glicerol (soluções 1,2 e 6), e outros produtos apresentarem características sensoriais desfavoráveis (soluções 5, 7 e 8), a etapa seguinte da pesquisa foi realizada com o produto obtido com a solução 4, que apresentou além das aparentemente aceitáveis características organolépticas, a esperança de ter o nível da Aw abaixo do valor favorável para o desenvolvimento do Staphylococcus aureus.

4.1.2. Aw e conteúdo de umidade da matéria prima, e do produto durante, e após o processamento

A FIGURA 10 e no ANEXO 3 se apresenta o resultado da determinação experimental da Aw e do conteúdo de umidade, realizada nas diferentes etapas da formulação, depois do tratamento térmico e depois de 24 horas na solução de equilíbrio. A variação destes parâmetros segundo a ordem de mistura dos componentes da salsicha, é analisada a seguir.

4.1.2.1. Aw da matéria-prima (carne)

A Aw destes alimentos frescos é determinada somente pela natureza e a concentração dos compostos químicos presentes na forma natural, tais como açúcares, ácidos orgânicos, sais inorgânicos e outras substâncias solúveis. Os constituintes insolúveis geralmente constituem a maior parte do total de sólidos secos num sistema alimentício; no caso da carne são proteínas e compostos relacionados. São principalmente polímeros de alto peso molecular, pelo qual sua concentração expressada como fração molar é baixa. Segundo CHIRIFE (1986), a água liga-se a cada monômero com o qual estes compostos contribuem na depressão da Aw, mas como a sua presença nos alimentos frescos é relativamente pequena,



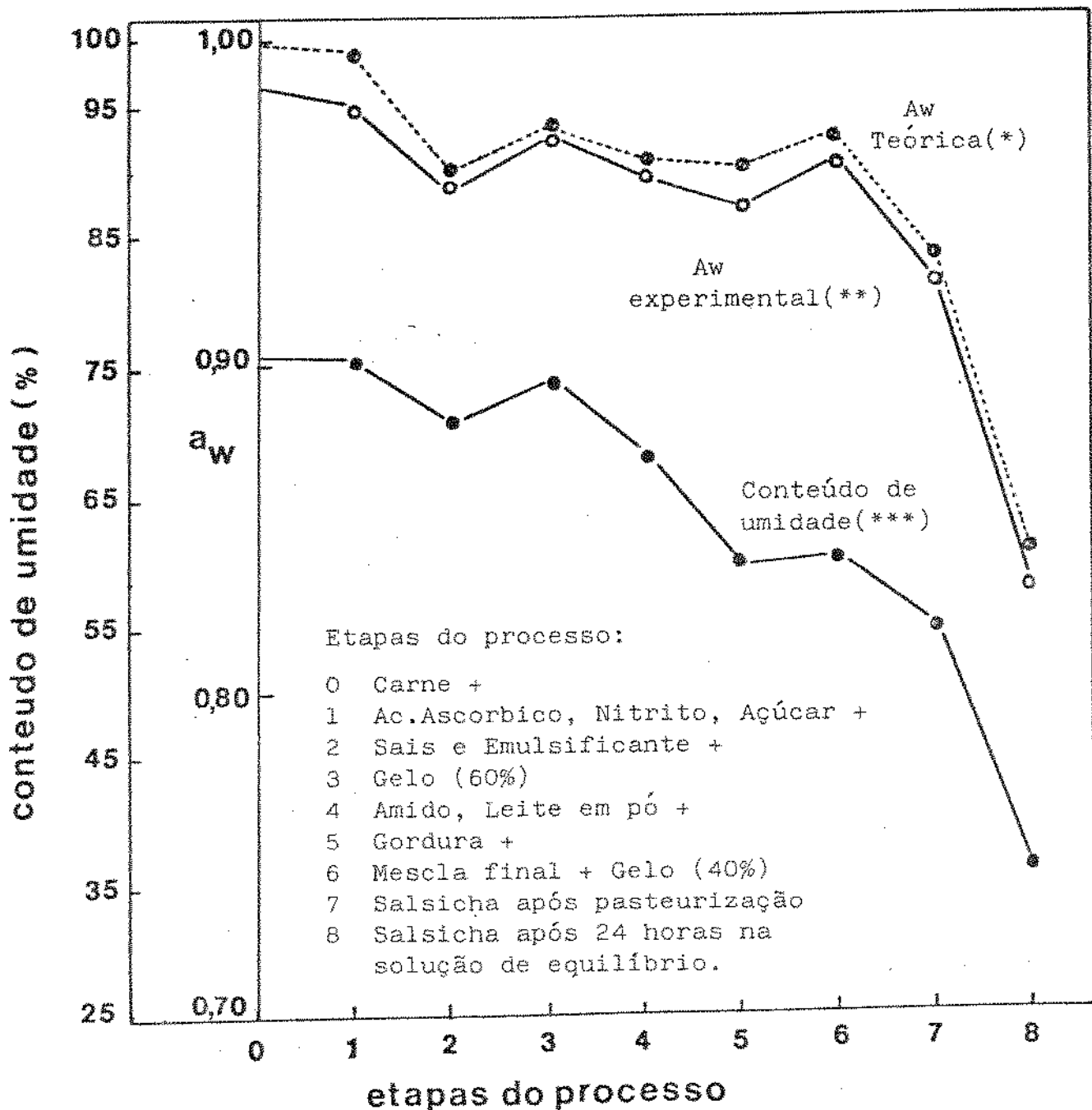


FIGURA 10. Variação da Aw e da umidade durante a formulação da salsicha, e durante o tratamento com a solução depressora (solução de equilíbrio).

(\*) Média de duas determinações a  $20^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ).

(\*\*) Segundo a equação de Ross.

(\*\*\*) Média de duas determinações a  $105^{\circ}\text{C}$ .

a  $A_w$  que apresentam é próxima, mas, menor que 1 (um).

Na FIGURA 10 observa-se que a carne fresca magra apresenta um conteúdo de umidade de 76% e uma  $A_w$  0,985 (em média de três determinações), valor que concorda com LEITSNER e RODEL (1975), LEITSNER et al (1980), CHIRIFE e FERRO-FONTAN (1982). Este resultado da  $A_w$  é, contudo, inferior em 0,007 unidades ao valor teórico calculado mediante a equação de RAOULT, o que se pode considerar aceitável, posto que normalmente em quase todos os alimentos a diferença que se apresenta entre a  $A_w$  calculada e a  $A_w$  experimental se produz pelo fato de que o método teórico estima que cada soluto atua em forma independente, não considerando a interação entre soluto e não solutos e destes com a água, segundo tem estabelecido VIGO et al (1980) e DUCKWORTH (1980).

A carne não escapa deste critério, e há uma pequena depressão de 0,015 unidade ( $1 - 0,985$ ) observada experimentalmente e que corresponderia principalmente a água absorvida em sítios polares dos não solutos (neste caso, proteína), formando a monocamada de BET, e também a água que está formando solução diluída com outros componentes do alimento (sais e carboidratos), e que responde à Lei de Raoult.

Segundo o estudo realizado por KAREL (1975), em carne liofilizada, a quantidade de água que fica absorvida na monocamada é 0,04 g/g de sólidos, valor que permitiria diminuir a  $A_w$  da carne fresca em aproximadamente 0,012 unidades, cifra esta que se aproxima do resultado desta experiência.

#### 4.1.2.2. Influência do ácido ascórbico, nitrito e açúcar

A influência que possui estes compostos na  $A_w$  é praticamente nula, posto que a adição na carne moída é apenas de 1,06%, sendo a sacarose o composto majoritário com 0,03 moles numa solução que contém 4,22 moles de água. A sacarose neste nível

de adição, como foi demonstrado por HULTON e CAMPBELL (1981), cit p. LACROIX e CASTAIGNE (1984), não interfere na absorção da água pelas proteínas, particularmente no caso da Promina-D, não participa dos processos de emulsificação e não possui efeito significativo no índice de solubilidade das proteínas, apenas com influência no pH e na plasticidade da textura.

A adição do ácido ascórbico e nitrito, independente da contribuição indireta nos valores de pH, e da participação nas reações da cura da carne, não influencia a atividade da água.

Não obstante isto, pelo fato de ter natureza solúvel sob o ponto de vista físico-químico é possível alguma modificação na estrutura da água, provocando a depressão de sua atividade. Matematicamente não fica demonstrado, mas experimentalmente revela-se uma pequena diferença de 0,003 unidade na Aw, que pode-se atribuir a estes compostos.

#### 4.1.2.3. Influência dos sais e do emulsificante

Dos três compostos que integram este grupo de aditivos: cloreto de sódio, tripolifosfato e emulsificante, somente este último pela pequena quantidade em que é adicionado e pelas suas características químicas, não tem uma ação direta na depressão da Aw, já que a função principal é formar uma ponte entre a interfase lipídica e a água, contribuindo para a formação da emulsão. A força de enlace é relativamente débil, apenas superior às forças de Van der Waals, e como indicam HAUSER (1975) e LACROIX e CASTAIGNE (1984), é facilmente alterada pelos fatores ambientais.

Os fosfatos adicionados na massa da salsicha na quantidade de 0,25% contribuem indiretamente na diminuição da Aw. A função específica é auxiliar na dissociação das proteínas musculares. Estas proteínas, posteriormente na coagulação serão as encar

regadas de reter a própria água da carne, e até um certo nível, também a água incorporada na formulação. O volume retido é proporcional à quantidade de proteína dissociada segundo foi estabelecido por HEINZ (1985).

Isto pode explicar em parte a menor depressão observada experimentalmente na  $A_w$  (0,955), comparada com o valor teórico (0,960), posto que não se considerou no cálculo matemático a influência dos componentes menores.

Se bem que o cloreto de sódio é agregado no processamento das salsichas com a finalidade de aumentar a hidratação das proteínas musculares, solubilizar aquelas solúveis em soluções salinas e dar sabor, a influência que tem na  $A_w$  é evidente (FAVETTO et al, 1981b). Na FIGURA 10 pode-se apreciar a forte depressão que apresenta a  $A_w$ , fato que na base das considerações feitas sobre os fosfatos e emulsificantes, deve ser atribuído quase exclusivamente a ação do cloreto de sódio. Efetivamente, partindo de uma  $A_w$  experimental 0.982 na etapa anterior da formulação, atinge-se uma  $A_w$  0,955 nesta etapa. De acordo com o cálculo teórico, a depressão atingida com a quantidade de cloreto de sódio adicionado é 0,033 unidades, valor que é bastante aproximado da determinação experimental, que apresenta uma diminuição de 0,027 unidades na  $A_w$ , resultado que coincide com determinações indicadas por CHIRIFE (1986).

O cálculo teórico considera que todo o cloreto de sódio passou a formar solução aquosa (solução ideal), consideração que não é certa na sua integridade, pois na dissociação que se produz, formam-se íons, alguns dos quais vão se unir com as proteínas e outros componentes do alimento, de modo que como indica FAVETTO et al (1981a), nem todo soluto adicionado é utilizado na depressão da  $A_w$ .

Isto fica demonstrado com a análise dos valores da  $A_w$  nas etapas 1 e 2 (FIGURA 10) segundo o dado experimental, a  $A_w$  inicial na carne fresca é 0,985, ficando com  $A_w$  0,982

após a mistura inicial, e com  $A_w$  0,955 após a adição do cloreto de sódio. Isto significa 0,027 unidades de depressão na  $A_w$ , a qual tem que ser atribuída quase que exclusivamente ao cloreto de sódio. Segundo o cálculo teórico, a diminuição da  $A_w$  teria que ser 0,037 unidades. A diferença de 0,01 unidade indica que efetivamente nem todo o cloreto participou na depressão da  $A_w$ .

O conteúdo de umidade expressado como porcentagem apresenta um comportamento que responde com o balanço de materiais, diminuindo à medida que o teor de sólidos secos aumenta na mescla.

#### 4.1.2.4. Influência da adição de 60% do gelo

Este 60% agregado provoca na massa um aumento no conteúdo de umidade de 7,9%, porcentagem que reflete um aumento na  $A_w$  até o valor 0,970. Isto significa um incremento de 0,015 unidades na  $A_w$  com relação ao valor determinado com a adição de sais e emulsificantes. Isto representa 0,5% de água por 0,001 unidades de  $A_w$  de aumento. Esta água incorpora momentaneamente como água livre, mas depois parte dela fica ligada com os componentes básicos do amido e do leite em pó adicionados mais adiante.

#### 4.1.2.5. Influência do amido e do leite em pó

Nesta etapa, com a adição de 7,5% de sólidos secos, a  $A_w$  volta a descer até um valor 0,960, o qual representa uma depressão pequena, porém perceptível.

Esta característica dos polímeros foi pesquisada por KAREL (1975c) indicando que estes compostos, incluindo alguns polissacarídeos e proteínas, não obstante o alto peso molecular que possuem, são efetivos por unidade de peso para deprimir a  $A_w$ . Porém, também aumentam a viscosidade e possuem uma solubi

tidade limitada, pelo qual, a quantidade que pode ser adicionada numa solução também é limitada.

Considerando que os amidos são praticamente insolúveis em água fria e podem absorver somente até 30% de seu peso nesta condição, a diminuição da  $A_w$  pelo agregado destes compostos na massa fria ( $T^\circ < 15^\circ\text{C}$ ) não teria sido importante, pelo que então a depressão experimentada pela  $A_w$  fica creditada à ação do leite em pó através das proteínas e carboidratos, ainda que a lactose, o outro componente majoritário, pela baixa solubilidade que tem (17-20% a  $25^\circ\text{C}$ ) não atua na depressão da  $A_w$ . Em relação a isto, CHIRIFE (1986) tem determinado que a mínima  $A_w$  atingida em soluções saturadas de lactose é 0,99.

#### 4.1.2.6. Influência da gordura

Com o agregado da gordura realizada depois do amido e do leite em pó, a  $A_w$  experimenta uma significativa diminuição atingindo um valor 0,949, o que representa uma diminuição de 0,011 unidade em relação à etapa anterior.

Este comportamento da gordura era aguardado, em face da afirmação de VAN DER BERG e BRUIN (1980), segundo os quais ainda que gorduras e azeites não deprimam a  $A_w$  significativamente, por que sua solubilidade na água é muito baixa, a presença do emulsificante permite formar uma ponte, tornando possível a união entre estes dois compostos.

Neste sentido LEITSNER e RODEL (1975), demonstraram que 30% de gordura provoca na carne o mesmo efeito na diminuição da  $A_w$  que 3% de cloreto de sódio. Isto fica em contraposição com a afirmação de BONE (1973), segundo a qual, a  $A_w$  numa mistura do tipo emulsão gordura-água é mais alta que a  $A_w$  de cada um dos componentes medidos separadamente. Isto está relacionado com o tamanho dos glóbulos formados, os quais por sua vez estão defini

dos pela equação de KELVIN.

Aceitando como certa a asseveração de LÉITSNER e RODEL indicada anteriormente, e projetando os valores para esta experiência, comprova-se que os resultados alcançados na  $A_w$  com a adição de 20% de gordura são corretos, pois esta porcentagem poderia reduzir a  $A_w$  em 0,010 unidade, e o resultado da determinação experimental demonstra uma diminuição de 0,011 unidade.

Isto é ratificado com a indicação de DE LA VEGA (1982), que informa que 1% de adição de gordura produz uma diminuição na  $A_w$  de 0,0005 unidade. Isto representaria uma depressão similar ao valor determinado nesta pesquisa.

#### 4.1.2.7. Influência da adição do gelo restante

A adição dos 40% do gelo restante influencia a  $A_w$  com maior incidência do que na formação da emulsão. Este é o motivo da variação da  $A_w$  do valor 0,949 na etapa anterior até 0,968 atingido depois de agregado o gelo.

Na base do valor experimental da  $A_w$  da etapa anterior (0,949), e aplicando RAULT para o cálculo da nova  $A_w$  atingida com a adição do gelo, pode-se comprovar que o maior aumento na  $A_w$ , corresponde em 65% à água adicionada na forma de gelo.

Isto permite estabelecer então que, de toda a água agregada na formulação somente 66% passou a formar parte da emulsão e os 44% restantes ficaram unidos com outros componentes ou simplesmente ficaram retidos nos tecidos, situação que explica a alta  $A_w$  observada no final do processamento.

#### 4.1.2.8. Pasteurização

Durante o tratamento térmico a 85°C produz-se a formação do gel e a coagulação das proteínas, que causam a estabilidade de física e permitem que uma grande parte da água fique retida nas cadeias de amilose e amilopectina, ou presa nos espaços entre os grãos de amido e a rede proteica coagulada.

Porém, uma quantidade de água libera-se desta trama e escapa para o meio circundante, que normalmente é água aquecida ou vapor, mas esta perda do conteúdo interno de água não é suficiente para assegurar a estabilidade prolongada do produto. De fato, a  $A_w$  num processo que emprega água como meio de pasteurização deixa as salsichas com uma  $A_w$  0,950 ( $\pm$  0,01), representando isto uma diminuição da  $A_w$  de apenas 0,018 unidade em relação a  $A_w$  0,968 da salsicha recém elaborada.

A pasteurização em soluções contendo 50% de glicerol e 10% de cloreto de sódio origina um meio circundante de alta pressão osmótica, e portanto força a água a sair do produto para estabelecer o equilíbrio (FAVETTO et al 1981b). Isto permite que a  $A_w$  das salsichas diminua alguns centésimos a mais do que com o simples emprego de água, ficando com uma  $A_w$  0,917 ( $\pm$  0,005) o qual junto ao ingresso do glicerol e cloreto de sódio no interior do produto, atinge-se o grau de estabilidade elevado das salsichas.



## 4.2. Análise Quantitativa da Composição

### 4.2.1. Salsicha de umidade intermediária

Na TABELA 21 são apresentados comparativamente, os resultados de análise da composição química das salsichas de umidade intermediária, das salsichas após a rehidratação em água, e como referência, a composição de uma salsicha comercial comum.

Segundo os resultados, pode-se indicar que a salsicha da presente experiência é um produto concentrado, que ajusta-se perfeitamente ao conceito de alimento de umidade intermediária, com um conteúdo de umidade de 35,9% e  $A_w$  diminuída até um valor 0,83 apenas suficiente para controlar o desenvolvimento microbiano.

Pode-se observar que existe uma pequena diferença na composição da salsicha comercial e da salsicha de umidade intermediária reidratada. Esta diferença radica principalmente em que o produto comercial normalmente utiliza como matéria prima, carne semi-gorda, adicionada de um extensor vegetal que geralmente é proteína texturizada de soja. Isto faz que o produto, apesar de empregar carne com baixa proteína alcance o nível aceitável de 12,1% de proteína, e conteúdo de gordura relativamente alto, 22,4%. Na presente experiência pelo fato da utilização de carne magra e amido de milho, os valores são diferentes, especialmente no referente a gordura e carboidratos.

Não obstante o anterior, o aporte nutricional teórico de um ou outro produto pode-se considerar aceitável, posto que ao menor conteúdo de lipídios da salsicha de umidade intermediária, agrega-se um conteúdo mais alto de carboidratos (determinados por diferença) com o qual, no balanço calórico global, considerando que uma pessoa poderia consumir este produto diretamente, o produto de umidade intermediária supera em mais de 25% ao produto comercial tradicional.

TABELA 21. Composição química da salsicha após as operações básicas do processamento (a)  
(gramas/100 gramas de produto).

	Salsicha Comercial(b)	Salsicha pre pasteurização	Salsicha após pasteurização(c)	Salsicha de umidade in termediária(c)	Salsicha após reidratação
Água	60,0	60,1	55,0	35,9	55,6
Proteínas	12,1	13,0	12,7	15,1	13,6
Gordura	22,4	14,6	14,3	17,1	15,3
Cloreto de Sódio	-	3,1	4,1	7,4	1,3
Glicerol	-	-	5,3	14,2	5,9
Outros(d)	5,5	9,2	8,6	10,1	8,2

(a) Valores médios de ao menos duas determinações.

(b) Análise incluída para a comparação com o produto reidratado.

(c) Salsicha processada na solução de glicerol (50%), cloreto de sódio (10%), água (39,5%).

(d) Por diferença em 100.

#### 4.2.2. Salsicha reidratada

A salsicha de umidade intermediária submetida a reidratação (adsorção) com água, apresenta características composicionais nos componentes básicos, muito similares à salsicha recém formulada antes da pasteurização. Através do balanço apresentado na TABELA 21 pode-se observar diferenças negativas de 6,0% e 5,3% no conteúdo de proteínas e gordura respectivamente. Isto deve-se ao arrastamento de compostos solúveis e insolúveis pelo processo de desorção, e posteriormente na reidratação (adsorção) pelo provável arraste do glicerol saindo dos tecidos.

Durante a imersão-cocção o processo é complexo, já que na temperatura aplicada (85°C) a água é removida da carne não só pela diferença da  $A_w$ , mas também pela desnaturação protéica produzida na cocção.

Considerando como 100% o conteúdo de umidade da salsicha recém formulada, após a pasteurização na solução de equilíbrio, a salsicha perde 10,5% de água. Esta porcentagem posteriormente no repouso na solução de equilíbrio eleva-se a 51%. Depois da reidratação o produto atinge 55,6% de umidade, valor que representa um conteúdo menor de água de 17,5% em relação àquele da salsicha recém formulada. Esta diferença porém, não chega a ser fator decisivo para a aceitação ou rejeição organoléptica do produto, fato que será visto mais adiante, na avaliação sensorial.

Na busca de uma explicação para esta menor incorporação de água que apresenta a salsicha durante a reidratação, (FIGURA 11), acha-se que o fenômeno tem sido observado em quase todos os produtos alimentícios e é denominado "histerese". IGLESIAS e CHIRIFE (1982) realizaram o processo de adsorção e desorção em uma grande variedade de produtos determinando em cada um deles, a presença da histerese. TOMÉ e BIZOT (1978) descreveram cerca de 40 trabalhos vinculados ao mesmo assunto, cada um deles tentando explicar o fenômeno do ponto de vista termodinâmico, químico e biológico.

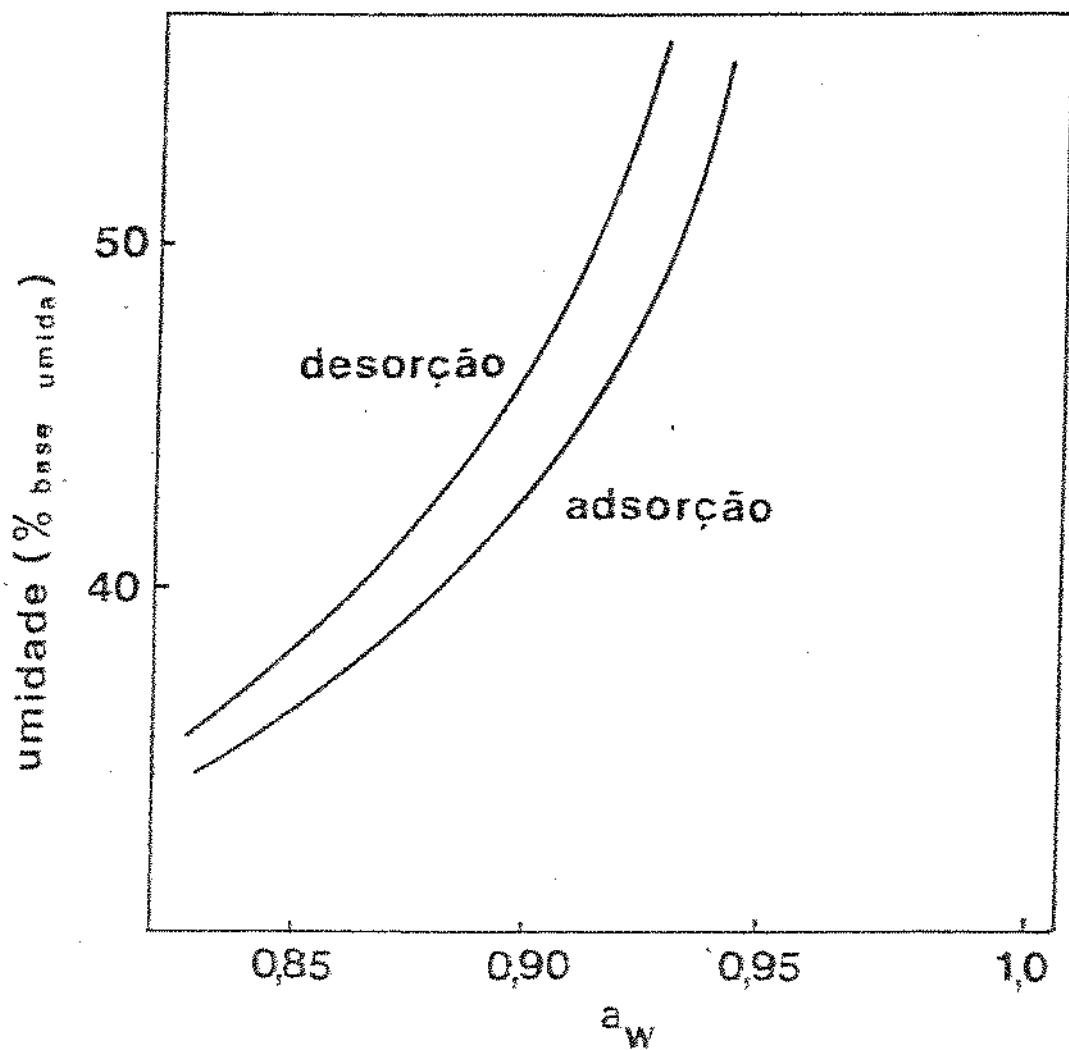


FIGURA 11. Isoterma de sorção de salsicha de umidade intermediária. Adsorção a 15°C em água corrente. Desorção a 3-6°C em solução de 50% glicerol e 10% cloreto de sódio.

Para alguns autores, ROCKLAND e NISHI (1980) entre eles, o problema não tem explicação clara, e precisa ser estudado ainda mais. A teoria de RAO descrita por LABUZA (1968), é até agora a mais aceita e segundo esta, o fenômeno de histerese tem sua explicação no diferente comportamento dos tecidos capilares. Mas esta teoria não é aplicável no caso da salsicha deste estudo, pelo tratamento que experimentaram os tecidos na mescla e formação da emulsão. Seja qual for a explicação, o fato real é que para um determinado conteúdo de umidade a  $A_w$  da salsicha apresenta um valor mais baixo durante a desorção. Isto coincide com LEITSNER e RODEL (1975) que indicam que os alimentos preparados por desorção tem um conteúdo aquoso mais elevado numa  $A_w$  determinada, que aqueles preparados por adsorção. Na base da presente pesquisa, a salsicha de umidade intermediária com  $A_w$  0,83, apresenta um conteúdo de umidade de 35,9% quando a medição é feita na isoterma de desorção, e 34,5% quando a medição é feita na isoterma de adsorção.

#### 4.2.3. Balanço de materiais

Através do balanço de materiais da TABELA 22 comprovase que a salsicha de umidade intermediária recebe durante o tratamento de equilíbrio, uma quantidade de 0,17 moles de glicerol e 0,21 moles de cloreto de sódio por 100 gramas de produto. Por sua vez, o produto perde 1,3 moles de água, coincidindo com ensaios feitos por FAVETTO et al (1981a) com carne bovina tratada com glicerol e água.

O aspecto mais relevante apresentado pelo balanço de materiais, é que somente uma porcentagem pequena dos solutos formulados na solução de equilíbrio logrará a incorporação na emulsão da salsicha. Efetivamente, da solução inicial com 50 gramas de glicerol por 100 gramas de solução, somente 14,2 gramas penetram na salsicha, representando o 28,5% do total do glicerol (Anexo 4). No

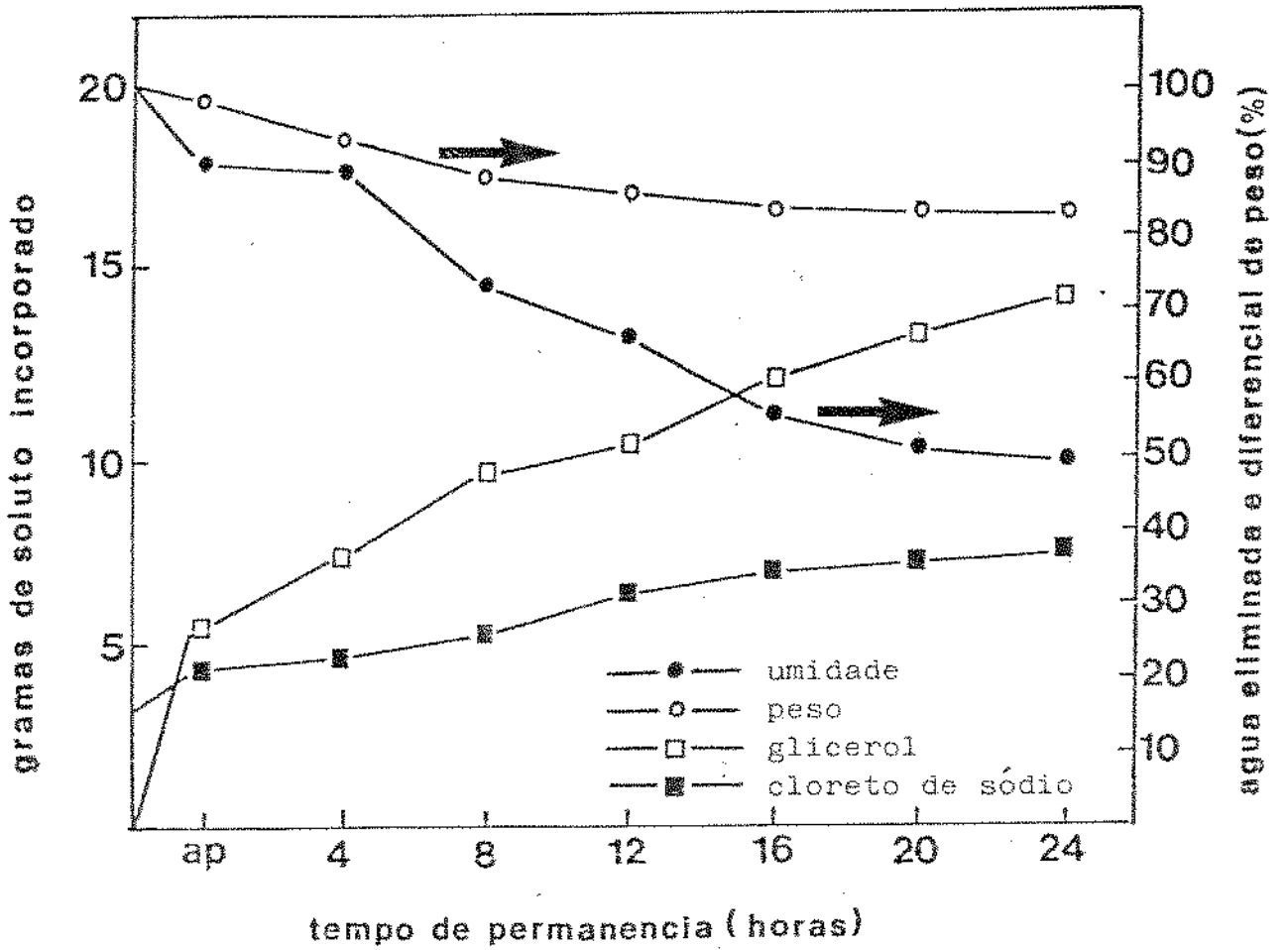


FIGURA 12. Porcentagem de soluto (glicerol e cloreto de sódio) incorporado na salsicha durante o período de equilíbrio, e variação de peso e umidade no mesmo processo. AP = após o processo de pasteurização.

caso do cloreto de sódio, a situação é mais equilibrada, posto que, dos 10 gramas da solução de equilíbrio, 4,1 gramas são incorporados nos tecidos, somando-se aos 3,1 gramas adicionados diretamente na formulação (FIGURA 12).

Isto permite comprovar que o produto não atingiu o equilíbrio com a solução, ficando todavia uma porcentagem importante dos solutos para ser incorporada. No caso do glicerol a situação é bem destacada posto que na solução externa ainda permaneceu uma quantidade equivalente a 71,5% do total da formulação. No cloreto de sódio isto é diferente, considerando que a água da salsicha atingiu uma concentração de sal próxima da concentração da solução externa, e portanto a possibilidade de ingresso maior do cloreto de sódio ficou minimizada.

Na base da informação obtida a partir do balanço de materiais, demonstra-se que a velocidade da difusão do cloreto de sódio nos tecidos é um pouco menor que a do glicerol, posto que, para cada 1 grama de cloreto de sódio incorporado, entram 2 gramas de glicerol.

Isto confirma a asseveração de DUCKWORTH (1980), referente à vantagem do glicerol sobre o cloreto de sódio nos processos de equilíbrio, como já foi indicado anteriormente.

TOMÉ e BIZOT (1978), explicam esta situação através da lei de difusão em meios aquosos, segundo a qual, a difusão de compostos iônicos é muito complexa, e ainda mais, a formação de pontes de união entre íons e diferentes compostos dos tecidos, retardam consideravelmente a velocidade de difusão.

ALVAREZ (1978) determinou que salsichas imersas em salmouras de 20% de concentração, apresentaram conteúdos de sal de 7,8 gramas por 100 gramas de produto, após 16 horas, o que demonstra que a baixa velocidade de difusão do cloreto de sódio se apresenta ainda nas concentrações altas deste composto.

TABELA 22. Balanço de materiais.

Base: 100 gramas de produto inicial.

	Salsicha sem pasteurização	Salsicha após pasteurização na solução de equilíbrio	Salsicha de unidade in termediária da	Salsicha reidratada	Perdas ou ganhos
Água	100	89,5	49,0	82,5	- 17,5
Proteínas	100	96,1	96,1	94,0	- 6,0
Gordura	100	97,2	97,2	94,7	- 5,3
Cloreto de sódio	100	130,0	196,6	36,6	- 63,4
Glicerol	-	44,5	100,0	45,2	+ 45,2
Outros	100	94,6	94,6	82,9	- 17,1



CHIRIFE (1986) explica que, primeiramente se produz a migração da água do alimento para a solução externa. O soluto por sua vez, difunde nos tecidos, mas com velocidade comprovadamente menor que a da água, com o qual pode-se esperar uma diminuição de peso que não chega a ser compensada pelo ingresso do soluto. Isto comprovou-se no resultado final do balanço de materiais deste trabalho, no qual a salsicha perde, em valor absoluto, 24 gramas de água por 10 gramas de produto, incorporando apenas 21,9 gramas de solutos (FIGURA 12).

Segundo CHIRIFE (1986), nos primeiros momentos a saída da água é maior que a difusão do soluto, e conseqüentemente, produz-se a perda de peso no alimento. Nesta experiência, isto ocorreu durante as primeiras 4 horas de imersão da salsicha na solução de equilíbrio. A partir daí se apresenta um equilíbrio entre a quantidade de água que libera o produto e o soluto que vai-se incorporando. Nas últimas 4 horas, a salsicha atinge uma estabilidade mais definida e volta de novo ao fenômeno inicial com o desbalanço em favor da água liberada.

A FIGURA 12 apresenta o comportamento da salsicha durante o processo de equilíbrio osmótico, observando-se que existe grande concordância com as asseverações de CHIRIFE (1986). Não obstante isto, este mesmo autor afirma que a representação gráfica de fenômeno anterior não resulta suficientemente explicativa, e portanto deveria utilizar-se um sistema analítico que permitisse identificar e quantificar claramente os componentes incorporados no produto.

Teorias baseadas na desnaturação protéica não se aplicam a este caso, posto que o produto por um lado não atingiu uma concentração salina muito alta, e por outro, o tratamento térmico forte deveria ter estabilizado todo o sistema protéico.

Durante o processo de desorção o produto perde 17,5% do peso original (FIGURA 11). Durante a adsorção com a saída dos

solutos e a incorporação de água, o peso varia novamente aumentando em 25% em relação ao peso adquirido na desorção (FIGURA 13). Isto fez com que o peso da salsicha reidratada seja 3,2% maior do que o peso da salsicha antes da pasteurização. Isto significa que, ainda não se incorporou toda a água original, os solutos remanescentes provocam um pequeno porém significativo aumento de peso na salsicha reidratada.

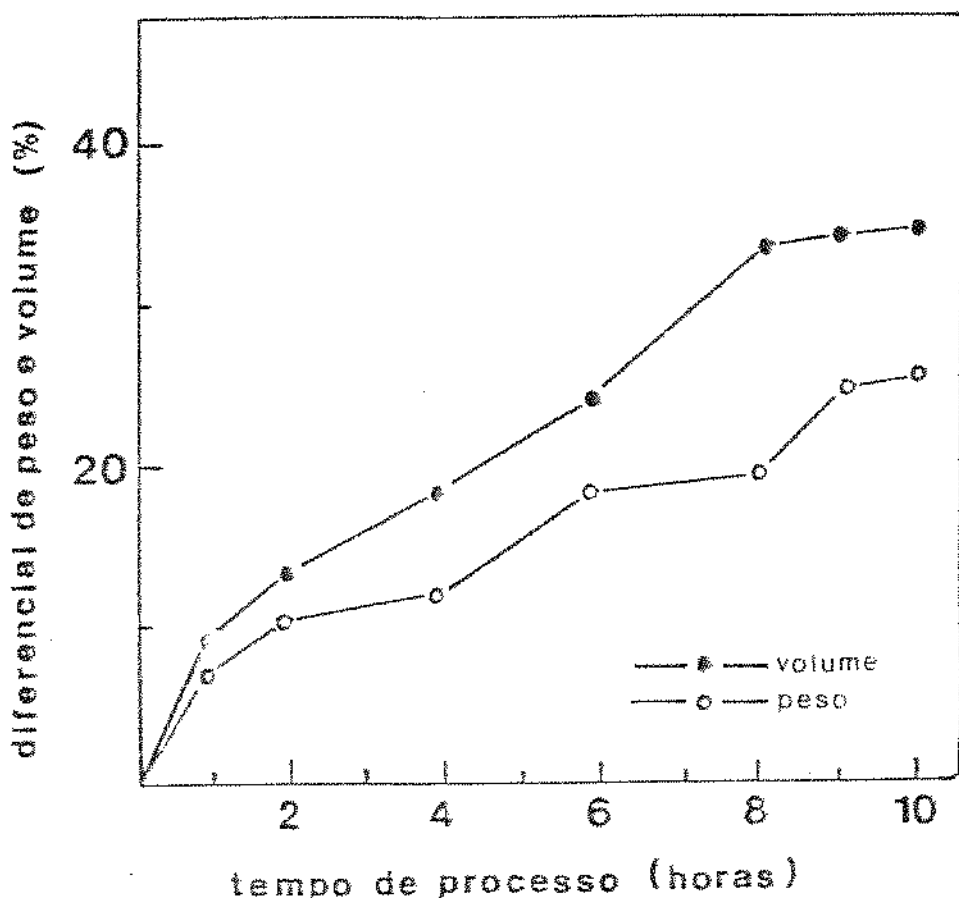


FIGURA 13. Variação de peso e volume da salsicha de umidade intermediária, durante a reidratação.

O volume também experimentou mudanças, mas no caso da reidratação, o volume atingido é menor que o volume original. Segundo a FIGURA 12, o volume adquirido na reidratação é 35% maior do que o volume do produto de umidade intermediária. Considerando que este diminuiu seu volume original em 33%, no balanço

final a salsicha reidratada possui um volume 9,6% menor.

Isto corrobora a participação dos solutos nestas variações, posto que com conteúdo maior de água, o produto adquire um volume menor mas com peso maior.

#### 4.3. Avaliação da Qualidade na Estocagem

##### 4.3.1. Aw e Umidade

Os resultados das análises de umidade e Aw efetuadas na salsicha de umidade intermediária estocada a temperatura ambiente são apresentados na TABELA 23.

Verifica-se que o conteúdo de umidade variou ligeiramente de 35,9% a 34,8%, durante os 105 dias de estocagem, o que representa uma diminuição de 3,06%. Esta pequena perda de água em todo caso não chegou a afetar as características organolépticas das salsichas. Esta variação da umidade tinha sido observada por OBANU (1976a) em carne conservada como produto de umidade intermediária e estocada a 38°C, determinando uma diminuição de 16% num período de 72 dias.

Independentemente da variabilidade do conteúdo de umidade, a Aw manteve-se constante em todo o período, permanecendo no nível inicial de Aw 0,83. O método de LANDROCK e PROCTOR com utilização de solução de ácido sulfúrico a 24,5%, demonstrou ser efetivo na realização dos controles da Aw da salsicha.

Um aspecto muito relacionado com a estabilidade geral da salsicha é o da embalagem. Segundo os resultados observados, foi adequada. A embalagem primária da salsicha consistiu em tripa de acetato de celulose, material que apresenta uma permeabilidade relativamente alta (TORRES, 1986). A embalagem de manuseio consistiu em filme de CRY-O-VAC, (PVDC/EVA), que é um laminado com baixa permeabilidade aos gases.

Considerando que a umidade relativa ambiental, permaneceu com valor levemente inferior àquele do produto, deve-se ter apresentado uma tendência forte do vapor de água do produto para escapar do sistema. Aparentemente isto foi conseguido, o que pode explicar a pequena variação observada na umidade.

TABELA 23. Variação da umidade e  $A_w$  durante o período de estocagem da salsicha de umidade intermediária.

Dia	Umidade (%)	$A_w$
0	35,9	0,83
8	36,0	0,83
24	35,9	0,83
36	36,0	0,83
48	34,0	0,83
60	35,0	0,83
80	34,7	0,83
105	34,8	0,83
	$\bar{X} = 35,2$	$\bar{X} = 0,83$

#### 4.3.2. TBA e Peróxidos

O resultado das alterações oxidativas, determinados através do índice de TBA, e expressados como absorvância no comprimento de onda de 535 nm pode ser observado na FIGURA 14 e no Anexo 5, onde se apresenta comparativamente o comportamento da salsicha de umidade intermediária e da salsicha comercial.

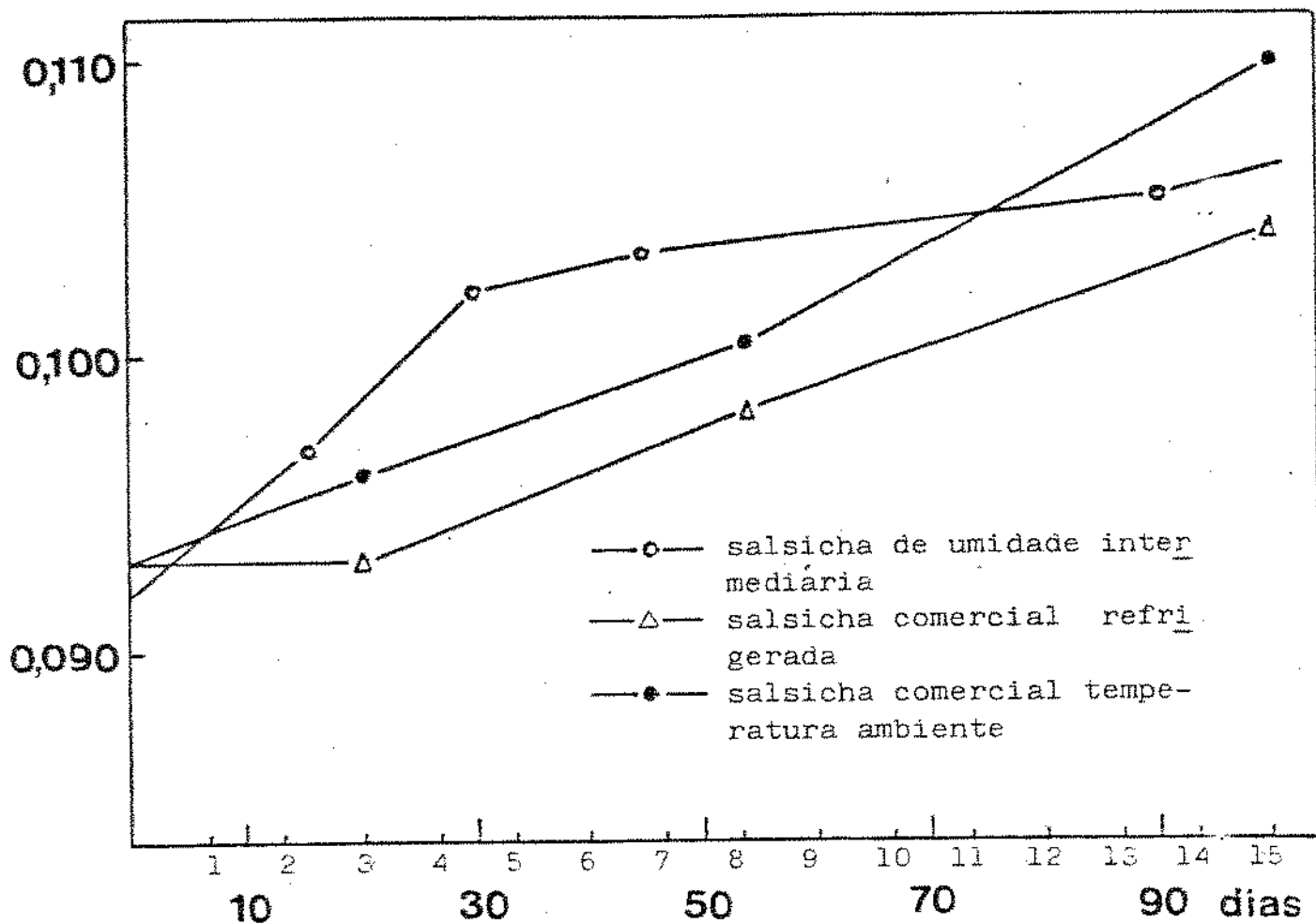


FIGURA 14. Evolução dos compostos que reagem com TBA durante a estocagem de salsichas de umidade intermediária (0 - 105 dias) e comerciais (0-15 dias).

Os resultados apresentados na FIGURA 14 demonstram que as mudanças no material lipídico não tiveram a velocidade e a magnitude indicadas no mapa da estabilidade dos alimentos proposto por LABUZA (1971), e que na faixa da  $A_w$  0,80 e 0,90 atingem seu máximo.

Comparativamente, os valores do índice de TBA de salsichas de umidade intermediária aumentam levemente durante a estocagem, alcançando no dia 105 valores de absorvância muito similares àqueles da salsicha comercial com 15 dias de estocagem.

OBANU et al (1976a) determinaram que o valor de TBA diminue nos primeiros dias para logo ficar estável ou aumentar. Nas etapas avançadas ocorre uma diminuição (WEBSTER et al, 1982). Segundo LABUZA et al (1972b) e LABUZA (1975), nesta reação estariam envolvidos grupos carbonilos que ao formar complexos com as proteínas não ficariam disponíveis para reações com o TBA e portanto, seu valor diminuiria.

Neste trabalho não se verificou a diminuição inicial indicada por OBANU, e somente a salsicha comercial refrigerada apresentou uma aparente etapa de indução, nos primeiros dias.

Na salsicha comercial à temperatura ambiente, devido à rapidez com que se produziram as alterações, não logrou-se apreciar a existência do período de indução. As alterações são tão rápidas, que a salsicha mantida à temperatura ambiente apresenta no 3º dia, o valor da absorvância da mesma salsicha sob refrigeração no 15º dia.

A salsicha de umidade intermediária apresenta um comportamento consideravelmente mais lento, mas muito semelhante na forma, com a salsicha comercial. Não é observado o tal período de indução e o desenvolvimento geral é lento, porém contínuo. Contudo, o desenvolvimento da rancidez atinge um certo nível ao final do período de estocagem o qual pode-se comparar com os valores alcançados pelas salsichas comerciais no 15º dia.

Nenhuma das amostras foi considerada alterada por este motivo. Na análise sensorial, os provadores não detectaram sabor ou odor ranço.

A utilização de vácuo na embalagem da salsicha de umidade intermediária assim como a presença de antioxidantes, influiram para retardar o desenvolvimento das alterações oxidativas, sendo isto coincidente com a afirmação de ERICKSON (1982), que indicou que para controlar a oxidação dos lipídios, nos alimentos de umidade intermediária é necessário entre outros, uma embalagem

adequada, o uso de antioxidantes, e o emprego de vácuo.

Ainda que a maioria dos pesquisadores da tecnologia de umidade intermediária afirmem que um dos problemas é este da oxidação dos lipídios (LONCIN et al, 1968; TOLEDO, 1973; LABUZA et al, 1970, 1972b; QUAIST e TEIXEIRA, 1975, após o resultado desta pesquisa pode-se estabelecer que com a adição do antioxidante, e com a utilização de gordura altamente saturada, a reação nos alimentos formulados pode ser consideravelmente demorada.

Segundo a revisão bibliográfica feita por DEL VALLE (1982), a ação oxidante atinge um máximo no nível de Aw 0,75 e na medida que o conteúdo aquoso aumenta, aumenta também a ação protetora da molécula de água, ao formar ligações de hidrogênio com os hidroperóxidos, impedindo sua decomposição, além de provocar a hidratação dos metais catalizadores da oxidação. Isto pode ter acontecido na salsicha de umidade intermediária preparada nesta experiência, posto que a estabilidade foi relativamente alta.

A determinação de peróxidos através da titulação com tiosulfato de sódio 0,01N, apresentou valores apreciáveis somente a partir do 75º dia (TABELA 24), e ainda que não atingiu nível de importância durante todo o período de estudo, o fato de ultrapassar o dia 60, com resultado negativo no desenvolvimento de peroxidação, constitui uma importante perspectiva no futuro destes alimentos.

Segundo WEBSTER et al (1982), este resultado se apresenta normalmente em carnes de umidade intermediária, posto que a quantidade de ácidos graxos insaturados é muito pequena.

A determinação de peróxidos feita em salsicha comercial, não apresentou valores apreciáveis, não obstante a rápida alteração da qualidade demonstrada.

TABELA 24. Índice de peróxidos em salsicha de umidade intermediária estocada à temperatura ambiente.

Dia	ml Tiossulfato de Na 0,01N por grama de amostra	mg de peróxidos
0	-	0
30	-	0
75	1,6	15,25
105	2,4	29,6

(-) Valor desprezível.

O valor mais alto alcançado no dia 105, coincide com os resultados de WEBSTER et al (1982) em carne tratada por desorção com glicerol, no 56º dia.

RUBIO et al (1986) formularam um alimento de umidade intermediária do tipo gel, com materias primas avícolas e de cereais de segunda qualidade, além de ingredientes e aditivos semelhantes aos deste trabalho, e obtiveram um produto com estabilidade microbiológica e química superior a 40 dias, o que está de acordo com alguns dos resultados obtidos na salsicha de umidade intermediária.

#### 4.3.3. Solubilidade das proteínas

Na TABELA 25 são apresentados os resultados da determinação de nitrogênio total pelo método de Kjeldahl, e de nitrogênio solúvel em solução salina de 0,1 Molar de cloreto de potássio.



TABELA 25. Determinação de nitrogênio em salsichas de umidade in-  
termediária estocada à temperatura ambiente ( $24^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ).

Dia	N Total (*) g/100g amostra	N Solúvel (*) g/100g de N	Aw (*)
0	2,49	0,30	0,83
30	2,51	0,25	0,83
60	2,48	0,34	0,83
90	2,43	0,41	0,83
105	2,48	0,50	0,83

(\*) Valores médios de duas determinações.

Ainda que os valores da determinação sejam relativamen-  
te baixos, o comportamento geral coincide com estudos de OBANU et  
al (1975,a,b), ALVAREZ 1978), que obtiveram um aumento na solubi-  
lidade durante a estocagem de carne de umidade intermediária e  
salsichas salgadas, respectivamente.

O conteúdo de nitrogênio total se mantém aproximadamen-  
te estável num valor médio de 2,48, com desvios produzidos pos-  
sivelmente por erros na medição.

Seguindo o procedimento sugerido por OBANU et al (1975a)  
o nitrogênio solubilizado foi tratado com ácido tricloroacético  
(TCA) a 20%, para precipitar as proteínas. Com exceção da última  
determinação, feita no dia 105, durante todo o período de estoca-  
gem, não se apresentou precipitação, indicando com isto que todo  
o nitrogênio solubilizado correspondeu a nitrogênio não protéico.  
As proteínas sarcoplasmáticas foram totalmente desnaturadas duran-  
te o tratamento térmico a  $85^{\circ}\text{C}$ .

Pode-se atribuir ao rompimento gradual do colágeno, e a conseguinte formação de hidroxiprolina o aumento observado no nitrogênio solúvel. OBANU et al (1975a) determinaram aumentos de até 50% no nitrogênio solúvel em 12 semanas de estocagem de carne de umidade intermediária.

Na salsicha de umidade intermediária, o aumento em nitrogênio não proteico (NNP) foi de 75% nos 105 dias de estocagem.

Não obstante este aumento na quantidade de nitrogênio solúvel, OBANU et al (1975b), afirmaram que, em paralelo com a proteólise do colágeno, ocorre entrecruzamento das proteínas, dando como resultado maior estabilidade e conseqüentemente menor solubilidade das proteínas.

Este fenômeno foi observado por ALVAREZ (1978), que sugeriu que a modificação protéica teria sua base em re-arranjos de tipo físico, e em reações de natureza química.

Apesar disso, na salsicha de umidade intermediária ocorreu um aumento na contagem de microrganismos que pode ter dado origem a alguma atividade enzimática, que contribuiu no rompimento da estrutura protéica. Isto explicaria o aumento observado na quantidade de nitrogênio não protéico, comparado com o resultado de OBANU (1975 a,b) e ALVAREZ (1978).

Considerando que o Glicerol é um composto com reconhecida propriedade de entrecruzar proteínas, e que a quantidade presente na salsicha de umidade intermediária foi 0,142 g. por grama de produto, é muito provável que reações deste tipo tenham sucedido. Agrega-se a isto, o possível complexo que forma o malonaldeído com o colágeno, formando também entrecruzamento.

Experiências prévias neste trabalho, demonstraram que quando salsichas frescas são imersas em quantidades altas de glicerol, independente do conteúdo de umidade final, a textura altera-se consideravelmente, adquirindo a salsicha uma rigidez muito acentuada, que não é modificada posteriormente pela reidratação.

Assim é possível atribuir as modificações do colágeno à atividade proteolítica de enzimas de origem bacteriana, assim como as modificações na natureza química, produzidas por reações próprias dos tecidos e dos compostos ali presentes.

Esta é a razão pela qual os poucos trabalhos existentes tem dedicado grande parte do esforço na determinação da natureza e intensidade da perda de solubilidade provocada pelo entrecruzamento protéico.

#### 4.3.4. Contagem Microbiológica

A FIGURA 15 e no Anexo 6 se apresenta a análise do desenvolvimento microbiano durante a estocagem da salsicha de umidade intermediária obtida por pasteurização na solução de equilíbrio, e de salsicha pasteurizada com água. Apresenta-se ademais a análise de salsicha comercial empacotada com e sem vacuo e com e sem refrigeração.

Na salsicha de umidade intermediária pode-se observar que nos primeiros 10 dias o número total de microrganismos permanece praticamente estacionário. Após este período que poderia ser chamado de latência, se inicia uma fase de desenvolvimento acelerado, que se prolonga até os 30-35 dias, e que corresponde ao período microbiológico de desenvolvimento logarítmico. A partir daí, o crescimento se faz mais lento até atingir o número máximo de microrganismos por grama de amostra de  $25 \times 10^4$ , no 75º dia, para logo começar a etapa de diminuição que apresenta uma contagem de  $38 \times 10^3$  microrganismos por grama de amostra, no último dia de observação.

Esta forma de desenvolvimento microbiano coincide com as determinações de LEITSNER e RODEL (1976), TROLLER (1979, 1980), TORRES (1986) e FLAÑO *et al* (1986), segundo as quais, a diminuição da atividade metabólica dos microrganismos leva ao prolonga

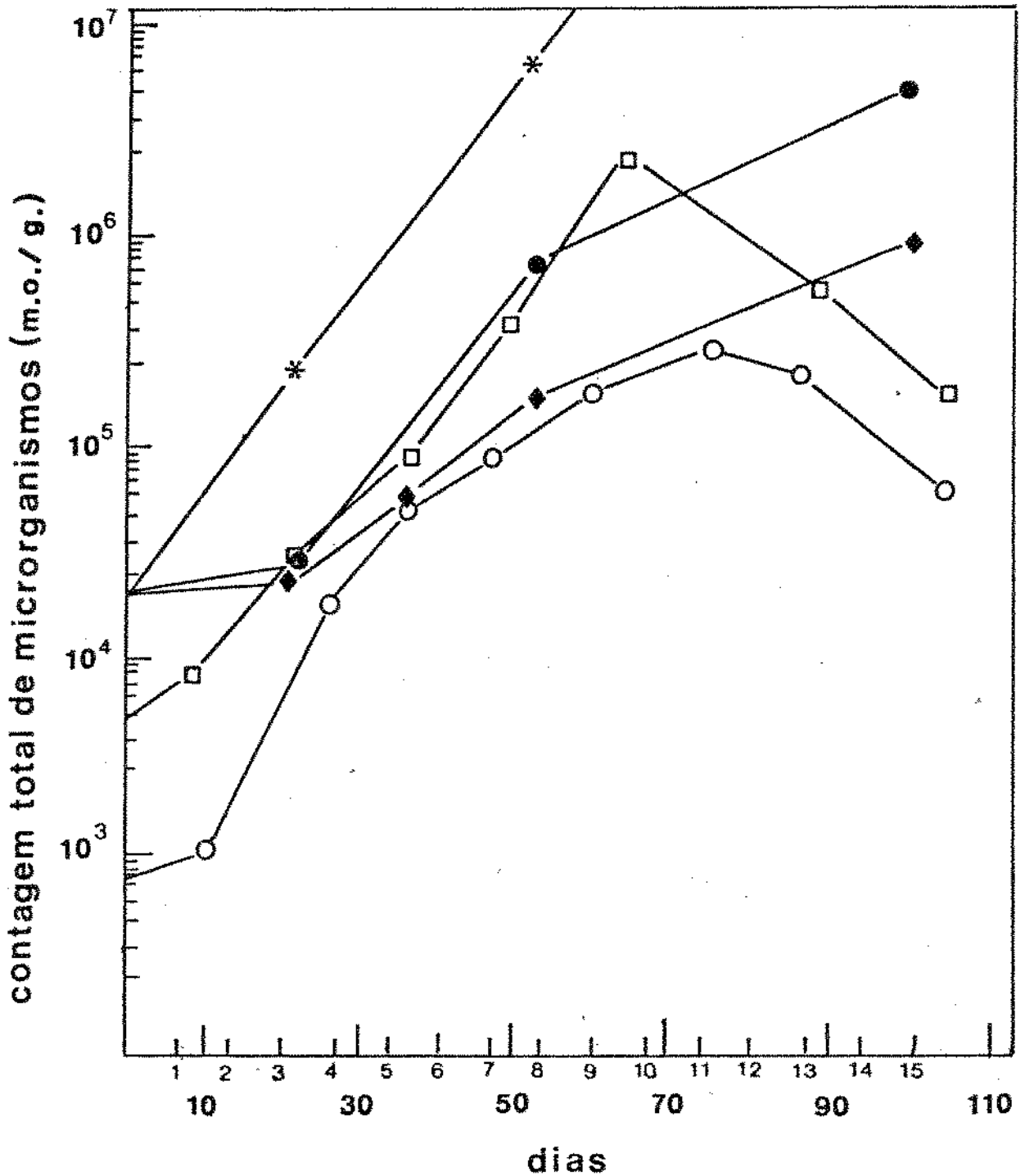


FIGURA 15. Comparação do desenvolvimento microbiano em salsichas comerciais (escala 0-15 dias) e salsichas de umidade intermediária (escala 0-110 dias).

- \* — salsicha comercial sem vácuo, T ambiente
- ● — salsicha comercial com vácuo, T ambiente
- ◆ — salsicha comercial com vácuo, T refrigeração
- □ — salsicha pasteurizada em água, com vácuo, T ambiente
- ○ — salsicha de umidade intermediária, com vácuo, T ambiente.

mento da fase de latência e a redução das fases logarítmicas e máxima estacionária.

Alguns anos atrás, estabeleceu-se que o efeito da  $A_w$  no crescimento microbiano era independente do tipo de soluto, e que somente a depressão da  $A_w$  era suficiente para reduzir o crescimento dos microrganismos. Esta indicação feita por SCOTT (1957), foi ratificada anos mais tarde por CHRISTIAN (1963), e analisada amplamente por MEASURES e GOULD (1976), chegando à conclusão que a asseveração de SCOTT é válida, mas que a ação dos solutos também é importante, e soma-se a ação da  $A_w$ .

A literatura não tem resposta ao comportamento em sistemas complexos como é o alimento, e somente encontra-se referências ao estudo nos sistemas modelos, os quais nem sempre refletem a situação real, e muitas vezes o resultado desvia-se do esperado.

Nesta experiência, as salsichas submetidas ao tratamento térmico similar de tempo e temperatura (45 minutos,  $85^{\circ}\text{C}$ ), mas com meios diferentes (água e solução de equilíbrio), apresentaram ao término deste processo, a contagem bacteriana bastante diferente de  $32 \times 10^2$  colônias ou UFC por grama de amostra, no caso do tratamento com água pura, e de  $6 \times 10^2$  no tratamento com solução de equilíbrio. Isto demonstraria que o fator de influência é o soluto.

Considerando que o tempo e temperatura do tratamento térmico foi igual nas salsichas pasteurizadas na água e na solução de equilíbrio, e portanto o efeito bactericida da temperatura deveria ter sido o mesmo, ao observar a variação da  $A_w$  entre um e outro produto e a diferença na contagem bacteriana, pode-se estabelecer que a maior parte da contaminação estava localizada superficialmente.

O efeito osmótico provocado pelos solutos durante a pasteurização, pelo curto tempo de ação, e baseado nas leis de difusão (FAVETTO et al., 1981b), atingiu possivelmente com

intensidade maior a parte mais superficial das salsichas, origi-  
nandosse lugar uma ação forte e depressiva da Aw. Isto pode ser  
considerado favorável do ponto de vista do manuseio e conservação,  
posto que com Aw baixa na superfície, forma-se na salsicha uma  
barreira natural, que impede o desenvolvimento de microrganismos  
ainda que exista contaminação exógena.

A procura de uma explicação fundamentada e razoável a  
respeito da ação específica dos solutos nos microrganismos, con-  
duz à teoria de MEASURE e GOULD (1976), a qual pode ser aplicada  
com propriedade no presente trabalho, posto que permite explicar,  
ainda que parcialmente, a cinética do processo de imersão das sal-  
sichas na solução de equilíbrio. Segundo o informe, os solutos  
cloreto de sódio e glicerol apresentam um comportamento diferente  
diante da célula microbiana. Por mecanismo não suficientemente ex-  
plicado, a célula é impermeável em se tratando de sais e açúca-  
res, e permeável em se tratando de polióis e uréia.

A presença de sais (como o cloreto de sódio) rodeando  
a célula, provocam nesta, através do transporte ativo (contra a  
Lei de FICK), acúmulo de alguns compostos que alteram o metabolis-  
mo celular, principalmente  $K^+$  e aminoácidos. Além disto, existe  
a desidratação originada no diferencial osmótico entre o meio ex-  
terno e o interno da célula.

Não obstante que a ação dos sais ter sido suficiente-  
mente explicada pelos trabalhos de SINSKEY (1976), LEITSNER e  
RODEL (1976), TROLLER (1980), CHIRIFE et al (1979), e BEAUCHAT  
(1981), a ação do glicerol não tem sido estudada com detalhes, e  
se desconhece até agora qual é o mecanismo certo do bloqueio da  
atividade metabólica dos microrganismos. O trabalho de ACOTT e  
LABUZA (1975) é o único que faz referência a este aspecto, e se-  
gundo esse, é possível estabelecer que a presença do glicerol in-  
tracelular contribuiria para evitar o desequilíbrio osmótico pro-  
vocado pela presença de solutos extracelulares, com o qual o mi-  
croorganismo gera uma forma de defesa contra a condição adversa do

meio. Isto explicaria ademais, a maior efetividade do cloreto de sódio em respeito ao glicerol como inibidor do metabolismo dos microrganismos.

O comportamento decrescente do desenvolvimento microbiano observado nas salsichas de umidade intermediária, coincide com HOLLIS et al (1969) cit. p. LABUZA et al (1972a), ALVAREZ (1978) e FOX e LONCIN (1982). Além disto, a detecção negativa do patógeno com maior resistência à depressão da Aw, o S. aureus, durante todo o tempo da experiência, coincide com resultados de OBANU et al (1976a), permitindo estabelecer ademais que as condições do processo da salsicha de umidade intermediária foram o suficientes para segurar a inocuidade do produto.

Neste sentido, BOYLAN et al (1976) indicam que adição de sorbato de potássio permite diminuir a contagem bacteriana continuamente, especialmente no caso de Staphylococcus aureus. PLITMAN et al (1973) por outra parte, estabeleceram que a presença de glicerol faz com que o desenvolvimento deste patógeno fique detido na Aw 0,865.

Além do anterior, a embalagem a vácuo também constitui fator de importância na estabilidade do produto, posto que, segundo HOSSEL (1975) e FOX e LONCIN (1982), nos produtos de umidade intermediária, a ausência de ar e um tratamento térmico moderado contribuem destacadamente para a conservação da qualidade na estocagem.

O tratamento térmico aplicado durante o processamento da salsicha de umidade intermediária, foi também suficiente para a destruição das leveduras, as quais não foram detectadas durante o período de estudo do produto.

A determinação de fungos na salsicha de umidade intermediária indicou que somente no 80º dia foi possível observar as primeiras formações de 5 colônias por grama de amostra. No 90º dia o número tinha aumentado para 27 colônias atingindo no 105º

dia a quantidade de  $4 \times 10^2$  colônias. Este desenvolvimento lento dos fungos atribue-se à ação do sorbato de potássio adicionado diretamente na preparação das salsichas e na solução de equilíbrio (0,5%). Porém esta ação é limitada no tempo confirmando as determinações de PLITMAN (1973), TILBURY (1976) e TANDLER e RODEL, 1982, e coincidindo com a redução da contagem bacteriana.

Isto indicaria a existência de uma competição pela reduzida quantidade de água livre existente no produto, por parte das bactérias e fungos, segundo tem sido comprovado por FLAÑO et al (1986). Na medida que o número de bactérias vai diminuindo pelas condições adversas do meio, os fungos encontram uma maior disponibilidade de água, aumentando em número e na resistência à ação do antimicótico.

As amostras de salsichas comerciais, estocadas à temperatura ambiente, tiveram um desenvolvimento microbiano muito acelerado, superando a barreira dos  $65 \times 10^4$  colônias (ou UFC) por grama somente em 8 dias.

O mesmo produto estocado sob refrigeração aumentou a sua durabilidade a 15 dias. Este comportamento é o reflexo fiel do que acontece nos lugares de venda de produto quando a temperatura de estocagem não é adequada. Começando de uma contagem de  $18 \times 10^3$  microrganismos por grama de amostra, no 8º dia o produto supera o limite microbiológico legal de 1000.000 m.o/g de amostra determinado no Regulamento Sanitário de Alimentos do Chile.

#### 4.4. Avaliação Sensorial

##### 4.4.1. Testes de aceitação e textura

A aceitação e a textura da salsicha de umidade intermediária foi avaliada através de testes sensoriais integrados por 9 provadores treinados. Os resultados obtidos encontram-se na TABELA 26. No Anexo 7-8 se apresenta a análise estatística dos



resultados.

A avaliação foi realizada em três amostras diferentes, duas das quais foram a salsicha de umidade intermediária com e sem reidratação. A terceira amostra consistiu de salsicha comercial, a qual foi utilizada como padrão de referência. No Anexo 1-2 encontra-se a ficha empregada na avaliação das amostras.

TABELA 26. Resultados médios da avaliação sensorial de três amostras de salsicha.

Produto	Aceitação <sup>(a)</sup>	Textura <sup>(b)</sup>
Salsicha comercial	6,2 <sup>(c)</sup>	6,2 <sup>(c)</sup>
Salsicha de umidade intermediária	2,5 <sup>(d)</sup>	2,0 <sup>(d)</sup>
Salsicha após a reidratação	5,6 <sup>(e)</sup>	5,3 <sup>(e)</sup>

(a)(b): Escala de 1 a 7, onde 1 = inaceitável; 4 = limite de aceitabilidade, e 7 = muito aceitável.

(c)(d)(e): Médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes, diferem entre si ( $P < 0,01$ ).

Segundo a opinião dos provadores, a salsicha de umidade intermediária foi rejeitada pelo sabor doce que apresentou, o que foi considerada como "não característico" neste tipo de produto. Some-se a isso a rejeição na característica de textura, considerada rígida demais.

Feita a reidratação da salsicha, o processo de adsorção permitiu atingir no produto um conteúdo de umidade de 55,6%, valor que fica perto dos 60% da salsicha comercial. Além disto, o processo arrastou aproximadamente 60% do glicerol e 80% do cloreto de sódio incorporado durante a elaboração da salsicha, ficando essa sem o marcado sabor doce mas, por outro lado um tanto insípida pela redução no teor de sal.

Nessa condição, prevaleceu o sabor do glicerol sobre o cloreto de sódio, mas o efeito restante parece não ter influido muito na opinião dos provadores, pois a salsicha reidratada foi atribuído o escore médio de 5,6 e, à salsicha comercial, 6,2.

A textura do produto reidratado adquiriu também um nível próximo daquele da salsicha comercial, demonstrando com isto que os tecidos da salsicha apresentam uma condição muito favorável para processos de desorção e adsorção.

Assim como no teste de aceitação, o baixo escore médio (2,0) que os provadores atribuíram à textura da salsicha de umidade intermediária, foi melhorado após a reidratação, atingindo um escore médio de 5,3.

O aspecto desfavorável que apresenta o processo de reidratação é que provoca o arraste de componentes solúveis, alguns deles responsáveis pela cor típica das salsichas, ficando o produto um pouco mais claro que o produto comercial.

## V. CONCLUSÕES E SUGESTÕES

Pelos resultados alcançados neste trabalho, pode-se concluir que:

- 1) A utilização de uma solução aquosa com 50% de Glicerol e 10% de Cloreto de sódio, permite atingir na salsicha a  $A_w$  0,83 e 35,9% de umidade no período de 24 horas.
- 2) O Propileno glicol, não obstante seu baixo peso molecular, não consegue diminuir a  $A_w$  até o valor 0,84, demonstrando que não é efetivo para este tipo de processo, nas condições e nível de uso do presente trabalho.
- 3) O tratamento térmico da salsicha ( $85^{\circ}\text{C}$  - 45 min.) efetuado na própria solução osmótica, contribui a aumentar a velocidade do processo de difusão, e a diminuir efetivamente a contagem microbianas inicial.
- 4) Antes do consumo é necessário realizar a reidratação da salsicha com emprego de água pura fria, na relação 1:5 (p/v) e com agitação constante. Após 10 horas, o produto atinge um conteúdo de umidade de 55% que é próximo ao conteúdo de umidade da salsicha comercial (60%).
- 5) A salsicha de umidade intermediária obtida segundo o procedimento seguido neste trabalho, é estável através de todo o período da experiência. As determinações químicas, físicas e microbiológicas assim demonstraram.

Em razão de que a tecnologia de produtos de umidade intermediária apresenta interessantes perspectivas no futuro imediato, sugere-se estudar os aspectos nutricionais e toxicológicos

relacionados com a ingestão destes produtos, assim como considerar também, a possibilidade de aplicar outros fenômenos "stress" para o controle do desenvolvimento microbiano. considere  
de

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACKER, L. Water activity and enzyme activity. Food Technol. 23  
(10): 27-40, 1969.
- ACOTT, K. & LABUZA, T. Inhibition of Aspergillus niger in an in  
termediate moisture food system. J. Food Sci. 40(1): 137-139,  
1975.
- ALVAREZ, J. Salsichas de umidade intermediária para climas tropi  
cais. Tese de Mestrado. Faculdade de Engenharia de Alimentos,  
Universidade Estadual de Campinas, 1978.
- A.O.A.C. Official Methods of Analysis of the Association of Offi  
cial Agricultural Chemist. 12<sup>th</sup> ed. 1975.
- BEUCHAT, L. Microbial stability as affected by water activity.  
Cereal Food World 26(7): 345-349, 1981.
- BLIGH, E. & DYERS, W. A rapid method of total lipid extraction  
and purification. Can. J. Biochem. Physiol. 37(8): 911-917 ,  
1959.
- BOBBIO, P. & BOBBIO F. Química do processamento de alimentos. Cam  
pinas, Fundação Cargill, 1984. p. 7-28, 106-107.
- BONE, D. Water activity - its chemistry and applications. Food  
Prod. Devel. 3(5): 81-94, 1969.
- BONE, D. Water activity in intermediate moisture foods. Food  
Technol. 27(4): 71-76, 1973.

- BONE, D.; SHANNON, E.; ROSS, K. The lowering of water activity by order of mixing in concentrated solutions. In: DUCKWORTH R. ed. Water Relations of Foods. London. Academic Press, 1975. p. 613-626.
- BOYLAN, S.; ACOTT, K.; LABUZA, T. Staphylococcus aureus challenge study in an intermediate moisture food. J. Food Sci. 41(5): 918-921, 1976.
- BROCKMANN, M. Development of intermediate moisture foods for military use. Food Technol. 24(8): 60-64, 1970.
- BROCKMANN, M. Intermediate moisture foods. In: VAN ARSDEL, W. ed, Food Dehydration. Wesport, AVI, 1973. v.2, p. 489-505.
- CORRY, J. Heat resistance of bacteria. III. The effect of added solutes on heat resistance at various water activities. In: DUCKWORTH, R. ed. Water Relations of Foods. London. Academic Press, 1975. p. 329-333.
- CHEFTEL, J.C. & CHEFTEL, H. Introduction a la biochimie et a la tecnologia des aliments. Paris, Technique et Documentation 1980. v.1 p. 3-30.
- CHEN, A. & KARMAS, J. Solute activity effect on water activity. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie 14: 101-104, 1980.
- CHIRIFE, J. Preservación de Alimentos por Control de la Actividad de agua. Curso de perfeccionamiento en Ciencia y Tecnologia de Alimentos. Universidad de Santiago de Chile, 1986. p. 1-179. (mimeogr.).

CHIRIFE, J.; SCORZA, O.; VIGO, M.; CATTANEO, P. Preliminary studies on the storage stability on intermediate moisture beef formulatd with various water binding agents. J. Food Technol. 14(4): 421-428, 1979.

CHIRIFE, J.; FERRO-FONTAN, C.; BENMERGUI, E. The prediction of water activity in aqueous solution in connection with intermediate moisture foods. IV. Aw prediction in aqueous non-electrolyte solutions. J. Food Technol. 15(1): 59-60, 1980.

CHIRIFE, J. & FERRO-FONTAN, C. Water activity of fresh food. J. Food Sci. 47(4): 661-663, 1982.

CHIRIFE, J.; FAVETTO, G.; FERRO-FONTAN, C.; RESNIK, S. The water activity of standard saturated salt solutions in the range of intermediate moisture foods. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie 16: 36-38, 1983.

CHIRIFE, J.; RESNIK, S.; FERRO-FONTAN, C. Application of Ross equation for prediction of water activity in intermediate moisture food systems containing a non-solute solid. In: CHIRIFE, J. Preservación de Alimentos por Control de la Actividad de Água. Universidad de Santiago de Chile. 1986. p. 49-55. (mimeogr.)

CHRISTIAN, J. Water activity and the growth of microorganism. In: REITCH, J. & RHODES, D. eds. Recent Advances in Food Science. London. Butterworth's, 1963. v.3, p. 248.

DEL VALLE, F. & NICKERSON, J. A quick-salting process for fish. 1. Evolution of the process. Food Technol 22(8): 104-106, 1968.

- DEL VALLE, F. Efecto de la actividad del agua sobre la conser  
vación de la calidad de los alimentos: Anais do IV Seminário  
 Latino-Americano de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campi  
nas. Coordenadoria de Assistência Técnica Integral - CATI.  
 1982 p. 333-351.
- DE LA VEGA, J.A. Preservación química de alimentos. Informativo  
 sobre carne y productos carnicos. Valdivia, C.T.C., Universi  
dad Austral de Chile, nº 11: 79-103, 1982.
- DUCKWORTH, R. Solute mobility in relation to water content and  
 water activity. In: ROCKLAND, L. & STEWART, G. eds. Properties  
 of Water Related to Food Quality and Stability. New York. Aca  
demic Press, 1980. p. 295-316.
- DYMSZA, H. & SILVERMAN, G. Improving the acceptability of inter  
mediate moisture fish. Food Technol. 33(10): 52-53, 1979.
- ERICKSON, L. Recent developementes in intermediate moisture  
foods. J. Food Protec. 45: 484-491, 1982.
- FAVETTO, G. & CHIRIFE, J. Simplified method for the prediction  
of water activity in binary aqueous solutions. In; CHIRIFE, J.  
 Preservación de Alimentos por Control de la Actividad de  
Água. Universidade de Santiago de Chile, 1986. p. 56-61
- FAVETTO, G.; CHIRIFE, J.; BARTHOLOMAI, G. A study of water acti  
vity lowering in meat during immersion-cooking in sodium chlo  
ride-glycerol solutions. I. Equilibrium considerations and  
 diffusional analysis of solute uptake. J. Food Technol. 16  
 (6): 609-619, 1981a.



- FAVETTO, G.; CHIRIFE, J.; BARTHOLOMAI, G. A study of water activity lowering in meat during immersion-cooking in sodium chloride-glycerol solutions. II. Kinetics of  $A_w$  lowering and effect of some process variables. J. Food Technol. 16(6): 621-628, 1981b.
- FENNEMA, O. Principles of Food Science. Part I. Food chemistry. New York, Marcel Dekker. 1976. p. 237-260.
- FIERRO, J.; CIFUENTES, A.; CABELLO, J. Diagnóstico y perecibilidad de productos de humedad intermedia tradicionales. Revista Alimentos. Santiago, Sociedad Chilena de Tecnología de Alimentos. (no prelo)
- FLANO, D.; CIFUENTES, A.; JIMENEZ, S. Comportamiento de la actividad de agua de un alimento de tipo proteico al aplicarsele humectantes. Tesis de graduación. Escuela de Ingeniería de Alimentos, Universidad Católica de Valparaíso, 1986. 155 p.
- FLINK, J. Intermediate moisture food products in the american marketplace. J. Food Proc. Preserv. 1: 324-329, 1977.
- FOX, M. & LONCIN, M. Investigations into the microbiological stability of water-rich foods processed by a combination of methods. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie 15: 321-325, 1982.
- FUENZALIDA, M.E. Método para determinar la actividad de agua en alimentos. Tesis de graduación. Escuela de Ingeniería de Alimentos, Universidad Católica de Valparaíso, 1986. 136 p.
- FURIA, T. ed. Hand book of food additives. Cleveland. CRC Press. 2.ed. 1972. p. 447-459.

GERSCHENSON, L.; FAVETTO, G.; CHIRIFE, J. Influence of organic volatiles during water activity measurement with a fiber-dimensional hygrometer. In: CHIRIFE, J. Preservación de Alimentos por Control de la Actividad de Agua. Universidad de Santiago de Chile, 1986. p. 77-79. (mimeogr.)

GUILBERT, S.; CLEMENT, O.; CHEFTEL, J. Efficacité comparée d'agents de dessiccation de l'eau en solution et dans des aliments à humidité intermédiaire. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 14: p. 245-251, 1981.

HAAS, G.; BENNETT, D.; HERMAN, E.; COLLETTE, D. Microbial stability of intermediate moisture foods. *Food Prod. Develop.* 9(4): p. 86-94, 1975.

HARDMAN, T. The significant role played by water present in foodstuffs. In: KING, R.D. ed. *Developments in food analysis techniques 1*. London, Applied Science Publishers, 1978. p. 75-124.

HAUSER, H. Water/phospholipid interactions. In: DUCKWORTH, R. ed. *Water Relations of Foods*. New York, Academic Press, 1975. p. 619-641.

HEIDELBAUGH, N. & KAREL, M. Intermediate moisture food technology. In: GOLDBLITH, S.; REY, L.; ROTHMAYR, W. eds. *Freeze Drying and Advanced Food Technology*. New York, Academic Press, 1975. p. 619-641.

HEINZ, G. Higiene y tecnología de la producción cárnica. II. *Fleischwirtsch. español* 2: 35-42, 1985.

IGLESIAS, H. & CHIRIFE, J. Handbook of Food Isotherms. New York, Academic Press, 1982. p. 482.

JAY, J. Microbiologia Moderna de los Alimentos. Zaragoza, Ed. Acribia, 1978. p. 613.

KAPLOW, M. Commercial development of intermediate moisture food. Food Technol. 24(8): 53-57, 1970.

KAREL, M. Recent research and development in the field of low-moisture and intermediate moisture foods. Critical Reviews in Food Technology 3(3): 329-366, 1973.

\_\_\_\_\_. Intermediate moisture food technology. In: GOLDBLITH S.; REY, L.; ROTHMAYR, W. eds. Freeze Drying and Advanced Food Technology. New York, Academic Press, 1975a. p. 619-641.

\_\_\_\_\_. Stability of low and intermediate moisture foods. In: GOLDBLITH, S.; REY, L.; ROTHMAYR, W. eds. Freeze Drying and Advanced Food Technology. New York, Academic Press, 1975b. p. 643-674.

\_\_\_\_\_. Physico-chemical modifications - V. Depression of water activity by solutes. In: DUCKWORTH, R. Water Relations of Foods. New York, Academic Press, 1975c. p. 650-656.

\_\_\_\_\_. Technology and applications of new intermediate moisture foods. In: DAVIES, R.; BIRCH, G.; PARKER, K. eds. Intermediate Moisture Foods. London, Applied Science Publ. 1976. p. 4-31.

KITIC, D.; PEREIRA, D.; FAVETTO, G.; RESNIK, S.; CHIRIFE, J. Theoretical prediction of the water activity of standard saturated salt solutions at temperatures. J. Food Sci. 51(4): 1037-1041, 1986.

- LABUZA, T. Sorption phenomena in foods. Food Technol. 22(3): 15-24, 1968.
- LABUZA, T.; TANNENBAUM, S.; KAREL, M. Water content and stability of low moisture and intermediate moisture foods. Food Technol. 24(5): 543-550, 1970.
- LABUZA, T. Properties of water and the keeping quality of foods. Proceeding of the 3<sup>rd</sup> Intl. Congress of Food Science and Technology, SOS/70. Washington D.C., 1970. p.
- LABUZA, T. & DUGAN L. Kinetics of lipid oxidation in foods. Critical Reviews in Food Technology 2(3): 355-405, 1971.
- LABUZA, T.; CASSIL, S.; SINSKEY, A. Stability of intermediate moisture foods-2. Microbiology. J. Food Sci. 37(1): 160-162, 1972a.
- LABUZA, T.; Mc. NALLY, L.; GALLAGHER, D. ; HAWKES, J.; HURTADO, F. Stability on intermediate moisture foods. I. Lipid oxidation. J. Food Sci. 37(1): 154-159, 1972b.
- LABUZA, T. Oxidative changes in foods at low and intermediate moisture levels. In: DUCKWORTH, R. ed. Water Relations of Foods. New York, Academic Press, 1975. p. 455-456.
- LABUZA, T.; ACOTT, K.; TATINI, S.; LEE, R. Water activity determination: a collaborative study of diferent methods. J. Food Sci. 41(6): 911-912, 1976.
- LABUZA, T. The effect of water activity on reaction kinectics of food deterioration. Food Technol. 34(4): 36-41, 59, 1980.

- LABUZA, T. & CONTRERAS-MEDELLIN, R. Prediction of moisture protection requirements for foods. *Cereal Foods World* 26(7): 335-337, 1981.
- LACROIX, C. & CASTAIGNE, F. Meat emulsification effects of some ingredients: vegetable protein, salt, sugar and glycerol. *J. International Sci. Technol. Aliments* 4(4): 507-516, 1984.
- LARMOND, E. Methods for sensory evaluation of food. Ottawa, Canada Department of Agriculture, 1974. p. 3-56. (Publ. 4).
- LEITSNER, L. & RODEL, W. The significance of water activity for microorganism in meats. In: DUCKWORTH, R. ed. *Water Relations of Foods*. New York, Academic Press, 1975. p. 309-323.
- LEITSNER, L. & RODEL, W. The stability of intermediate moisture foods with respect to microorganism. In: DAVIES, R.; BIRCH, G.; PARKER, K. eds. *Intermediate Moisture Foods*. London, Applied Science Publishers. 1976. p. 120-137.
- LEITSNER, L.; RODEL, W.; KRISPIEN, K. Microbiology of meat and meat products in high-and intermediate - moisture ranges. In: ROCKAND, L. & STEWART, G. eds. *Properties of Water Related to Food Quality and Stability*. New York, Academic Press, 1980. p. 855-910.
- LONCIN, M.; BIMBENET, J.; LENGES, J. Influence of the activity of water on the spoilage of foodstuffs. *J. Food Technol* 3(2): 131-142, 1968.

MEASURE, J. & GOULD, G. Interactions of microorganism with the environment of intermediate moisture foods. In: DAVIES, R.; BIRCH, K.; PARKER, K. eds. Intermediate Moisture Foods. London, Applied Science Publishers, 1976. p. 281-295.

MOSSEL, D. Microorganism in foods - II. Integrated effects of the water/solids relation on the fate of microorganism in foods. In: DUCKWORTH, R. Water Relations of Foods. New York, Academic Press, 1975, p. 349-351.

NORRISH, R. An equation for the activity coefficients and equilibrium relative humidities of water in confectionery syrups. J. Food Technol. 1(1): 25-39, 1966.

OBANU, Z.; LEDWARD, D.; LAWRIE, R. The protein on intermediate moisture meat stored at tropical temperature I. Changes in solubility and electrophoretic pattern. J. Food Technol. 10(6): 657-668, 1975(a).

OBANU, Z.; LEDWARD, D.; LAWRIE, R. The protein of intermediate moisture meat stored at tropical temperature II. Effect of protein changes on some aspects of meat quality. J. Food Technol. 10(6): 667-674, 1975(b).

OBANU, Z.; LEDWARD, D.; LAWRIE, R. The protein of intermediate moisture meat store at tropical temperature III. Differences between muscles. J. Food Technol. 11(2): 187-196, 1976.

PAWSEY, R. & DAVIES, R. Safety with respect to Staphylococcus aureus. In: DAVIES, R.; BIRCH, R.; PARKER, K. eds. Intermediate Moisture Foods. London. Applied Science Publishers, 1976. p. 182-201.

PELAEZ, J. & KAREL, M. Development and stability of intermediate moisture tortillas. J. Food Proc. and Pres. 4(1): 51-65, 1980.

PINTAURO, N. Food additives to extend shelf life. Park Ridge, Noyes Data Corporation. Food Technology Review, nº 17, 1974. 402 p.

PLITMAN, M.; PARK, Y.; GOMEZ, R.; SINSKEY, A. Viability of Staphylococcus aureus in intermediate moisture meats. J. Food Sci. 38(6): 1004-1008, 1973.

QUAST, D. Fisico-química da água em alimentos desidratados. Bol. Centro Tropical de Pesquisas e Tecnologia de Alimentos, nº 13: 1-25, 1968.

QUAST, D. & TEIXEIRA R. Atividade de água em alguns alimentos de teor intermediário de umidade. Col ITAL 6(1): 203-232, 1975.

RASEKH, J.; HALE, M.; GOLDMINTZ, D.; SIDWELL, V. Using fish in intermediate moisture, low bacteria pet foods. Food Prod. Develop. 10(8): 66-69, 1976.

RESNIK, S.; CHIRIFE, J.; FERRO-FONTAN, C. Sulfuric acid solutions as reference sources of water activity at various temperatures. In CHIRIFE, J. Preservación de Alimentos por Control de la Actividad de Água. Universidade de Santiago de Chile, 1986. p. 74-76. (mimeogr.)

- ROCKLAND, L. Water activity and storage stability. Food Technol. 23(10): 11-21, 1969.
- ROCKLAND, L. & NISHI, S. Influence of water activity on food product quality and stability. Food Technol. 34(4): 42-50, 1980.
- ROSS, K. Estimation of water activity in intermediate moisture foods. Food Technol. 29(3): 26-34, 1975.
- RUBIO, Ch.; CIFUENTES, A.; GARRIDO, F. Aplicación de una metodología científica para la formulación de un producto de humedad intermedia. Revista Alimentos. Sociedad Chilena de Tecnología de Alimentos. (no prelo)
- SANKARAN, R. & LEELA, R. Survival of microorganism in intermediate moisture foods. J. Food Sci. & Technol. 16(3): 100-102, 1979.
- SCORZA, O.; CHIRIFE, J.; CATTANEO, P.; VIGO, M.; BERTONI, M.; SARRAILH, P. Factores que condicionan el crecimiento microbiano en alimentos de humedad intermedia. La Alimentación Latinoamericana 127: 62-67, 1981.
- SCHWIMMER, S. Influence of water activity on enzyme reactivity and stability. Food Technol. 34(5): 64-74, 1980.
- SCOTT, N. Water relations of food spoilage microorganism. Adv. in Food Res. 7: 83-127, 1957.
- SINSKEY, A. New developments in intermediate moisture foods: humectants. In: DAVIES, R.; BIRCH, G.; PARKER, K. eds. Intermediate Moisture Foods. London, Applied Science Publishers, 1976. p. 260-280.



- SLOAN, A. & LABUZA, T. Investigating alternative humectants for use in foods. *Food. Prod. Develop.* 9(7): 75-88, 1975.
- SLOAN, A. LABUZA, T. Prediction of water activity lowering ability of food humectants at high Aw. *J. Food Sci.* 41(3): 532-535, 1976.
- SLOAN, A.; WALETZKO, P.; LABUZA, T. Effect of order-of-mixing on Aw. lowering ability of food humectants. *J. Food Sci.* 41(3): 536-540, 1976.
- SPECK, M. ed. Compendium of methods for the microbial examina of foods. Washington D.C., APHA, 1976. 702 p.
- TILBURY, R. The microbial stability of intermediate moisture foods with respect to yeast. In: DAVIES, R.; BIRCH, G.; PAR KER, K. eds. *Intermediate Moisture Foods*. London, Applied Science Publishers, 1976. p. 138-145.
- TANDLER, K. & RODEL, W. Elaboración y conservabilidad de embuti dos de pequeno calibre de conservación prolongada II. Conser vabilidad. *Fleischwirtschaft* 62: 457-460, 1982.
- TOLEDO, R. Determination of water activity in foods; proceeding of the Meat Industry Research Conference. University of Chica go, 1973. p. 85-106.
- TOME, D. & BIZOT, H. *Les aliments à humidité intermediaire*. Pa ris, CDIUPA, 1978. 235 p. (série synthèses bibliographiques, n° 16).
- TORRES, J.A. Conceptos modernos de preservación de alimentos: efecto de la actividad de água y de los materiales de empaque

en la estabilidad microbiológica de los alimentos; publicación del Curso Extraordinario. Universidad Católica de Valparaíso, 1986. 127 p.

TROLLER, J. & CHRISTLAN, J. Water activity and food. New York, Academic Press, 1978. p. 5-12, 43-54, 65-101, 187-189.

TROLLER, J. Food spoilage by microorganism tolerating low-Aw environments. Food Technol. 33(1): 72-75, 1979.

TROLLER, J. Influence of water activity on microorganism in foods. Food Technol. 34(5): 76-80, 1980.

TROLLER, J. Methods for measure water activity. J. Food Prot. 46(2): 129-134, 1983.

VAN DEN BERG, C. & BRUIN, S. Water activity and its estimation in food systems: theoretical aspects. In: ROCKLAND, L. & STEWART, G. eds. Properties of Water Related to Food Quality and Stability. New York. Academic Press, 1980. p. 1-14, 19-43.

VIGO, M.; CHIRIFE, J.; SCORZA, O.; CATTANEO, P.; BERTONI, M.; SARRAILH, P. Estudios sobre alimentos tradicionales de humedad intermedia elaborados en la Argentina; determinación de la actividad acuosa, pH, humedad y sólidos solubles. Rev. Agroquim. Technol. Aliments. 21(1): 91-99, 1980.

VYNCKE, W. Direct determination of the TBA value in TCA extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. Fette-Seifen Anstrichmittel 72(12): 1080-1087, 1970.

WARMBIER, H.; SCHNICKELS, R.; LABUZA, T. Effect of glicerol on nonenzymatic browning in a solid intermediate moisture model food system. J. Food Sci. 41(3): 528-531, 1976.

WEBSTER, C.; WOOD, R.; LEDWARD, D. Prediction of water activity, Aw, in cook-soak equilibrated intermediate moisture meats. Meat Sci. 3(1): 43-51, 1979.

WEBSTER, C.; NUNEZ, F.; LEDWARD, D. The role of lipids and glicerol in determining the shelf-life of glicerol desorbed intermediate moisture meat products. Meat Sci. 6(3): 191-198, 1982.

WEIL, C.; WOODSIDE, M.; SMYTH, H.; CARPENTER, C. Results of feeding propylene glycol in the diet to dog for two years. Food and Cosmetics Toxicology 9(4): 479-490, 1971.

WILLIAMS, J. Chemical and nonenzymatic changes in intermediate moisture foods. In: DAVIES, R.; BIRCH, G.; PARKER, K. eds. Intermediate Moisture Foods. London, Applied Science Publishers, 1976. p. 100-119.

WIRTH, F. Embutido escalado; fijación de água, fijación de grasa, formación de la estructura. Fleischwirtsch. español 2: 4-10, 1985.

ANEXO 1

TESTE DE AVALIAÇÃO SENSORIAL: ACEITAÇÃO

---

Nome:

Data:

Hora:

Produto:

---

Prove os produtos apresentados e indique sua qualificação segundo a escala indicada, e dê a razão de sua escolha:

<u>Amostra A</u>	<u>Amostra B</u>	<u>Amostra C</u>
- Gostei muito	- Gostei muito	- Gostei muito
- Gostei moderadamente	- Gostei moderadamente	- Gostei moderadamente
- Gostei levemente	- Gostei levemente	- Gostei levemente
- Não gostei nem desgostei	- Não gostei nem desgostei	* - Não gostei nem desgostei
- Desgostei levemente	- Desgostei levemente	- Desgostei levemente
- Desgostei moderadamente	- Desgostei moderadamente	- Desgostei moderadamente
- Desgostei muito	- Desgostei muito	- Desgostei muito

---

Comentário

Comentário

Comentário

ANEXO 2

TESTE DE AVALIAÇÃO SENSORIAL: TEXTURA

---

Nome:

Data:

Hora:

Produto:

---

Prove os produtos apresentados e indique sua qualificação segundo a escala indicada, e dê a razão de sua escolha, baseado nas características indicadas na parte inferior da presente ficha.

<u>Amostra A</u>	<u>Amostra B</u>	<u>Amostra C</u>
- Gostei muito	- Gostei muito	- Gostei muito
- Gostei moderadamente	- Gostei moderadamente	- Gostei moderadamente
- Gostei levemente	- Gostei levemente	- Gostei levemente
- Não gostei nem desgostei	- Não gostei nem desgostei	- Não gostei nem desgostei
- Desgostei levemente	- Desgostei levemente	- Desgostei levemente
- Desgostei moderadamente	- Desgostei moderadamente	- Desgostei moderadamente
- Desgostei muito	- Desgostei muito	- Desgostei muito

---

Comentário

Comentário

Comentário

Características:

Maciez = muito macia, moderadamente macia, levemente macia.

Dureza = levemente dura, moderadamente dura, muito dura, extremamente dura.

ANEXO 3

Valores da determinação da  $A_w$  e do conteúdo de umidade durante o processamento de salsichas de umidade intermediária.

Etapa do processo	$A_w$ experimental(*)	$A_w$ teórica(**)	Conteúdo de umidade (%) (***)
0	0,985	0,997	76
1	0,982	0,996	75
2	0,955	0,960	71
3	0,970	0,975	74
4	0,955	0,962	68
5	0,942	0,960	59
6	0,960	0,969	60
7	0,917	0,930	55
8	0,830	0,942	36

(\*) Valores médios de duas determinações a  $20^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ).

(\*\*) Segundo a equação de Ross.

(\*\*\*) Valores médios de duas determinações a  $105^{\circ}\text{C}$ .

ANEXO 4

Diminuição de peso e umidade e incorporação de solutos durante a desorção da salsicha na solução de equilíbrio.

Hora	Variação de peso(*)	Umidade(*)	Glicerol <u>in</u> corporado(**)	Cloreto de sódio incorporado
0	100	100	0	3,1
ap(1)	98	89,5	5,3	4,1
4	91	87	7,2	4,5
8	87	73	9,4	5,1
12	85	66	10,1	6,2
16	83	55	11,9	6,9
20	83	52	13,0	7,2
24	82,5	49	14,2	7,4

(\*) Valores (%) médios de duas determinações.

(\*\*) Determinação feita com base no balanço de materiais.

(1) Após pasteurização.

ANEXO 5

Valores da absorvância a 535 nm observada na evolução dos compostos que reagem com TBA durante a estocagem de salsicha de umidade intermediária a T ambiente, e de salsicha comercial a T ambiente e de refrigeração(\*).

Dia	Salsicha de umidade intermediária(**)		Salsicha comercial(*)	
	T ambiente		T refrigeração	T ambiente
0	9,2		9,2	9,2
3	-		9,2	9,6
8	-		9,7	9,9
15	9,7		10,3	10,9
30	10,2		-	-
45	10,3		-	-
85	10,5		-	-
90	10,5		-	-
105	10,6		-	-

(\*) média de duas ou mais determinações.

(\*\*) valores x 10<sup>-2</sup>



ANEXO 6

Contagem bacteriana total (UFC) de salsicha de unidade intermediária e de um tipo de salsicha comercial estocadas a temperatura ambiente e refrigeração (m.o./g a 37°C).

Salsicha de unidade intermediária pasteurizada em água e empacotada a vácuo		Salsicha de unidade intermediária pasteurizada em solução de equilíbrio e em pacotada a vácuo		Salsicha Comercial							
Dia	T	m.a./g	Dia	T	m.a./g	Dia	T	m.a./g	Dia	T	m.a./g
0	23	32x10 <sup>2</sup>	0	25	6x10 <sup>2</sup>	0	11	18x10 <sup>3</sup>	0	25	18x10 <sup>3</sup>
8	24	72x10 <sup>2</sup>	10	23	10x10 <sup>2</sup>	3	7	20x10 <sup>3</sup>	3	18	24x10 <sup>3</sup>
24	25	21x10 <sup>3</sup>	25	24	17x10 <sup>3</sup>	8	6	15x10 <sup>4</sup>	8	20	65x10 <sup>4</sup>
36	25	88x10 <sup>3</sup>	35	24	40x10 <sup>3</sup>	15	6	90x10 <sup>4</sup>	15	21	60x10 <sup>5</sup>
48	23	43x10 <sup>4</sup>	45	19	74x10 <sup>3</sup>						
60	24	2x10 <sup>6</sup>	60	20	15x10 <sup>4</sup>						
80	23	1x10 <sup>6</sup>	75	17	25x10 <sup>4</sup>						
105	25	15x10 <sup>4</sup>	85	24	17x10 <sup>4</sup>						
			105	25	38x10 <sup>3</sup>						

ANEXO 7

Análise de variância do teste de aceitação

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Amostra	2	71,9	36	199,8 (s. 1%)
Provador	8	5,9	0,7	4,1 (n.s. )
Resíduo	16	2,9	0,2	
Total	26	80,7		

Teste de Tukey

Produtos	Médias
(A)	6,23
(B)	2,48
(C)	5,57

$$1\% = q \sqrt{\frac{QMR}{n}} = 0,45$$

$$6,23 - 2,48 = 3,75$$

$$6,23 - 5,57 = 0,66$$

$$2,48 - 5,57 = - 0,09$$

Conclusão:

- 1) A amostra de salsicha comercial (A) difere ( $P < 0,01$ ) da amostra de salsicha de umidade intermediária.
- 2) A amostra comercial (A) difere ( $P < 0,01$ ) da amostra de salsicha reidratada (C).
- 3) A amostra de salsicha de umidade intermediária (B) difere ( $P < 0,01$ ) das outras duas amostras (A e C).

ANEXO 8

Análise de variância do teste de textura

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Amostra	2	88,8	44,4	87,0 (s. 1%)
Provador	8	1,15	0,14	0,27 (n.s. )
Resíduo	16	8,21	0,51	
Total	26	98,16		

Teste de Tukey

Produtos	Médias
(A)	6,22
(B)	2
(C)	5,31

$$1\% = q \sqrt{\frac{QMR}{n}} = 0,75$$

$$\begin{aligned} 6,22 - 2 &= 4,22 \\ 6,22 - 5,31 &= 0,91 \\ 2 - 5,31 &= - 3,31 \end{aligned}$$

Conclusão:

- 1) A amostra de salsicha comercial (A) difere ( $P < 0,01$ ) da amostra de salsicha de umidade intermediária (B).
- 2) A amostra comercial (A) difere ( $P < 0,01$ ) da amostra de salsicha reidratada.
- 3) A amostra de salsicha de umidade intermediária (B) difere ( $P < 0,01$ ) das outras duas amostras (A e C).