

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

**MÉTODOS QUÍMICOS E FÍSICOS PARA PROLONGAMENTO DA
VIDA DE PRATELEIRA DA CARNE DE FRANGO REFRIGERADA**

**Tese apresentada à Faculdade de Engenharia
de Alimentos da Universidade Estadual de
Campinas pela Nutricionista Christianne de
Vasconcelos Affonso Xavier, para obtenção do
grau de Doutor em Tecnologia de Alimentos.**

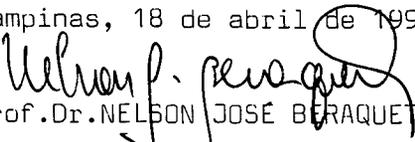
Autor: Christianne de Vasconcelos Affonso Xavier
Orientador: Dr. Nelson José Beraquet

PARECER

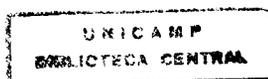
Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por CHRISTIANNE DE VASCONCELOS AFFONSO XAVIER e aprovada pela Comissão Julgadora em 18.04.97.

AMPINAS - 1997

Campinas, 18 de abril de 1997


Prof. Dr. NELSON JOSÉ BERAQUET

Presidente da Banca



UNIDADE	BC
N.º CHAMADA	X19m UNICAMP
V.	Ex.
TOMBO BC/	31483
PROC.	281197
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	29/08/97
N.º CPD	

CM-00100161-0

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

X19m

Xavier, Christianne de Vasconcelos Affonso

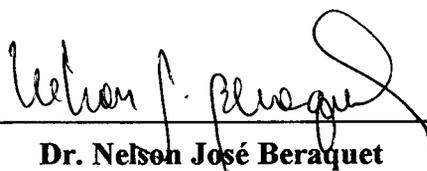
Métodos químicos e físicos para prolongamento da vida de prateleira da carne de frango refrigerada / Christianne de Vasconcelos Affonso Xavier. -- Campinas, SP: [s.n.], 1997.

Orientador: Nelson José Beraquet.

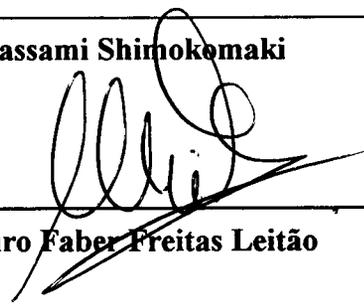
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos.

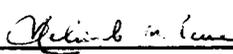
1. Carne de ave. 2. Refrigeração. 3. Vida de prateleira. 3 Armazenamento. 4. Ácidos orgânicos. 5. Atmosfera modificada. I. Beraquet, Nelson José. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

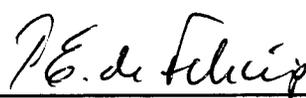
BANCA EXAMINADORA

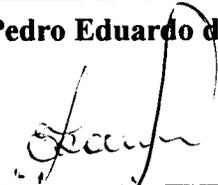

Dr. Nelson José Beraquet

Dr. Massami Shimokemaki


Dr. Mauro Faber Freitas Leitão


Dr. Nelcindo Nascimento Terra


Dr. Pedro Eduardo de Felício


Dr. Edir Nepomuceno da Silva

Dr. Murilo Graner

Campinas, 18 de abril de 1997

Ao Roberto (*in memoriam*),
ao meu filho Rodolfo,
e aos meus pais Lúcia e Sabino.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Nelson José Beraquet, pela orientação e atenção na realização deste trabalho.

Aos professores integrantes da pré-banca, Dr. Massami Shimokomaki, Dr. Mauro Faber Freitas Leitão, Dr. Nelcindo Nascimento Terra, Dr. Pedro Eduardo de Felício, Dr. Edir Nepomuceno da Silva, Dr. Murilo Graner, pelas correções e sugestões apresentadas à versão inicial do texto deste trabalho.

Ao Centro de Tecnologia da Carne (CTC) do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), pela cessão de instalações físicas, laboratórios e funcionários durante a execução deste trabalho.

À Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA), da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), em particular ao Departamento de Tecnologia de Alimentos, pela disponibilização de materiais usados durante o estudo.

À Universidade Estadual Paulista (UNESP), através do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos (DETA), Campus de São José de Rio Preto, na pessoa da Prof. Dra. Iracema de Oliveira Moraes, chefe do referido departamento, pela oportunidade proporcionada.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento do Pessoal de Ensino Superior (CAPES), pela bolsa de estudo concedida, através do Programa Institucional de Capacitação Docente.

Ao Centro de Tecnologia de Embalagem de Alimentos (CETEA), do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), pela realização das análises de volume e composição de espaço-livre das embalagens.

À Seção de Microbiologia do ITAL, pela cessão das instalações e equipamentos para as análises microbiológicas realizadas na fase inicial deste trabalho.

A todos os funcionários e estagiários do Centro de Tecnologia de Carnes (CTC/ITAL) que participaram das análises sensoriais ou auxiliaram na realização deste trabalho.

À Nilda Montes Villanueva, pela contribuição no delineamento estatístico e análise dos resultados.

Aos professores, técnicos e funcionários da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP.

Aos colegas do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos da UNESP.

A meus pais, pelo amor incondicional a mim dedicado.

Ao meu filho, por ter me ensinado pelo menos três coisas: a ficar contente sem ter motivo, a manter-me sempre ocupada, e a lutar, com todas as forças, pelos meus desejos.

A todos que ofereceram a presença amiga durante a difícil caminhada percorrida para realização deste trabalho.

A todos os verdadeiros amigos que pude encontrar.

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS.....	iii
ÍNDICE.....	v
ÍNDICE DE QUADROS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
RESUMO.....	xii
SUMMARY.....	xiii
1. INTRODUÇÃO.....	01
2.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	06
2.1 Efeito dos ácidos orgânicos e do pH na inibição do crescimento de microorganismos em carnes.....	09
2.2. Efeito dos ácidos orgânicos na extensão da vida-de-prateleira de carnes.....	16
2.3. Efeito da atmosfera modificada na conservação da carne de aves.....	25
2.4. Efeito dos tratamentos combinados na vida-de-prateleira da carne de aves.....	34
3. OBJETIVOS.....	38
3.1. Objetivo geral.....	38
3.2. Objetivos específicos.....	38
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	39
4.1. Material.....	39
4.2. Metodologia Experimental.....	39
4.2.1. Tratamentos efetuados.....	39

4.2.2. Análises e medidas.	40
4.2.3. Capacidade tamponante do músculo de diferentes espécies.	42
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
5.1. Capacidade tamponante das proteínas da carne.....	43
5.2. Efeito dos ácidos orgânicos e seus sais.	49
5.2.1. Variação de pH e perda de peso durante a estocagem.	49
5.2.2. Análises microbiológicas.	54
5.2.3. Análise sensorial.....	65
5.3. Efeito combinado dos tratamentos com a embalagem a vácuo.....	71
5.3.1. Variação de pH e perda de peso durante a estocagem.	71
5.3.2. Análises microbiológicas	75
5.3.3. Análise sensorial.....	83
5.4. Estocagem em atmosfera modificada.....	88
5.4.1. Volume e composição do espaço-livre durante a estocagem.	88
5.4.2. Variação de pH e perda de peso durante a estocagem.....	93
5.4.3. Análises microbiológicas	98
5.4.4. Análise sensorial.....	104
6. CONCLUSÕES.....	109
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	111

ÍNDICE DE QUADROS

QUADRO I - Variação do pH de filés de peito de frango submetidos a tratamentos com ácidos orgânicos ou sais e embalados convencionalmente em sacos de polietileno durante a estocagem entre 0 e 2°C.....	52
QUADRO II - Perda de peso em filés de peito de frango submetidos a diferentes tratamentos e acondicionados em embalagem de polietileno durante a estocagem entre 0 e 2°C	53
QUADRO III - Contagem total de psicotróficos em filés de peito de frango submetidos a tratamentos com ácidos orgânicos ou sais e embalados convencionalmente em sacos de polietileno e estocados entre 0 e 2°C.....	57
QUADRO IV - Contagem de <i>Pseudomonas</i> em filés de peito de frango submetidos a tratamentos com ácidos orgânicos ou sais e embalados convencionalmente em sacos de polietileno e estocados entre 0 e 2°C.....	59
QUADRO V - Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i> em filés de peito de frango submetidos a tratamentos com ácidos orgânicos ou sais e embalados convencionalmente em sacos de polietileno estocados entre 0 e 2°C	63
QUADRO VI - Contagem de bactérias lácticas em filés de peito de frango submetidos a tratamentos com ácidos orgânicos ou sais e embalados convencionalmente em sacos de polietileno durante a estocagem entre 0 e 2°C.....	64
QUADRO VII - Aparência geral das amostras de filé de peito de frango submetidos a diferentes tratamentos e embaladas convencionalmente em sacos de polietileno e estocadas entre 0 e 2°C	66

QUADRO VIII - Avaliação da cor das amostras de filé de peito de frango submetidos a diferentes tratamentos e embaladas convencionalmente em sacos de polietileno e estocadas entre 0 e 2°C.....	68
QUADRO IX - Avaliação do odor de amostras de filés de peito de frango submetidos a diferentes tratamentos e acondicionadas em sacos de polietileno durante e estocagem entre 0 e 2°C.....	70
QUADRO X - Variação de pH de filés de peito de frango submetidos a tratamentos com ácidos orgânicos ou sais e embalados a vácuo durante a estocagem entre 0 e 2°C.....	72
QUADRO XI - Perda de peso em filés de peito de frango submetidos a tratamentos com ácidos orgânicos ou sais e embalados a vácuo durante a estocagem entre 0 e 2°C.....	74
QUADRO XII - Contagem total em filés de peito de frango submetidos a tratamentos com ácidos orgânicos ou sais e embalados a vácuo durante a estocagem entre 0 e 2°C.....	77
QUADRO XIII - Contagem de <i>Pseudomonas</i> em filés de peito de frango submetidos a tratamentos com ácidos orgânicos ou sais e embalados a vácuo durante a estocagem entre 0 e 2°C.....	78
QUADRO XIV - Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i> em filés de peito de frango submetidos a tratamentos com ácido acético e embalados em sacos de polietileno ou a vácuo durante a estocagem entre 0 e 2°C.....	81
QUADRO XV - Contagem de bactérias lácticas em filés de peito de frango submetidos a tratamentos com ácidos orgânicos ou sais e embalados a vácuo durante a estocagem entre 0 e 2°C.....	82

QUADRO XVI - Aparência geral de filés de peito de frango submetidos a tratamentos com ácidos orgânicos ou sais e/ou embalados a vácuo durante a estocagem entre 0 e 2°C	85
QUADRO XVII - Avaliação da cor de filés de peito de frango submetidos a tratamentos com ácidos orgânicos ou sais e/ou embalados a vácuo durante a estocagem entre 0 e 2°C	86
QUADRO XVIII - Avaliação do odor de filés de peito de frango submetidos a tratamentos com ácidos orgânicos ou sais e/ou embalados a vácuo durante a estocagem entre 0 e 2°C	87
QUADRO XIX - Volume do espaço-livre em amostras de filé de peito de frango embaladas em atmosfera modificada durante a estocagem entre 0 e 2°C	91
QUADRO XX - Composição gasosa do espaço-livre de amostras de filé de peito de frango embaladas em atmosfera modificada durante a estocagem entre 0 e 2°C	92
QUADRO XXI - Variação do pH das amostras de filé de peito de frango embaladas em atmosfera modificada e estocadas entre 0 e 2°C	96
QUADRO XXII - Perda de peso em filés de peito de frango embalados em atmosfera modificada durante a estocagem entre 0 e 2°C	97
QUADRO XXIII - Contagem total em filés de peito de frango acondicionadas em embalagem de atmosfera modificada e estocadas entre 0 e 2°C	101
QUADRO XXIV - Contagem de <i>Pseudomonas</i> em filés de peito de frango acondicionadas em embalagem de atmosfera modificada e estocadas entre 0 e 2°C	102

QUADRO XXV - Contagem de bactérias lácticas em filés de peito de frango acondicionadas em embalagem de atmosfera modificada e estocadas entre 0 e 2°C.....	103
QUADRO XXVI - Aparência geral de filés de peito de frango embalados em atmosfera modificada e estocadas entre 0 e 2°C.....	106
QUADRO XXVII - Avaliação da cor de amostras de filé de peito de frango embalados em atmosfera modificada e estocadas entre 0 e 2°C	107
QUADRO XXVIII - Avaliação do odor de amostras de filé de peito de frango embalados em atmosfera modificada e estocadas entre 0 e 2°C	108

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 - Capacidade tamponante de alguns cortes cárneos titulados com ácido láctico a 1%.....	45
FIGURA 2 - Capacidade tamponante de alguns cortes cárneos titulados com ácido cítrico a 1%.....	46
FIGURA 3 - Capacidade tamponante de alguns cortes cárneos titulados com ácido acético a 1%.....	47
FIGURA 4 - Capacidade tamponante de diversos cortes cárneos titulados com ácido láctico, ácido cítrico e ácido acético a 1%.	48

RESUMO

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de estabelecer técnicas que aumentem a vida de prateleira da carne de frango refrigerada sem que a qualidade global da mesma seja alterada.

Na primeira etapa do estudo avaliaram-se mudanças nas características microbiológicas, físicas, químicas e sensoriais de peitos de frango desossado e sem pele submetidos a tratamentos de imersão em ácidos orgânicos comestíveis ou seus sais e acondicionados em embalagens convencionais (polietileno) ou a vácuo, em filme de alta barreira a gases, durante a estocagem a temperaturas entre 0 e 2°C. A vida útil das amostras sem tratamento e embaladas convencionalmente foi de aproximadamente 7 dias, quando as amostras foram rejeitadas pelos provadores e as contagens de psicotróficos atingiram valores próximos a 10^7 UFC/cm². O uso de tratamentos como ácido láctico a 1% e sorbato de potássio a 2% nas mesmas condições de embalagem, ou de embalagem a vácuo sem tratamento aumentou esse período para 10 a 14 dias de estocagem. A associação do uso de ácidos orgânicos com a embalagem a vácuo resultou em um aumento significativo da vida-de-prateleira das amostras, atingindo 21 dias à temperatura entre 0 e 2°C.

Na segunda etapa do estudo foram avaliadas mudanças nas características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais de amostras de filé de peito de frango acondicionadas em atmosfera modificada contendo de 25 a 100% de CO₂ balanceado com N₂, bem como mudanças no volume e espaço-livre das embalagens durante a estocagem. O uso de atmosfera modificada proporcionou um aumento do período de estocagem para 21 dias entre 0 e 2°C, período semelhante ao obtido para as amostras submetidas a tratamentos com ácidos orgânicos e acondicionadas a vácuo, porém com características microbiológicas superiores.

SUMMARY

The present study was carried out with the purpose of establishing decontamination and packaging techniques for extending the shelf-life and global quality of chicken meat stored under refrigeration temperature.

Firstly it was evaluated the microbiological, physico-chemical and sensory quality of chicken breast fillet previously decontaminated with edible organic acids or salts and stored conventionally in polyethylene (PE) or under vacuum in barrier bags (PA/EVOH/PE). The storage temperature was controlled to be in the range of 0 and 2°C. The shelf-life of untreated samples packaged in PE was 7 days when the counts of psychrotrophic bacteria reached 10^7 CFU/cm² and the samples were rejected by the panel. The samples treated with lactic acid 1% or potassium sorbate 2% and stored in PE and the non-treated vacuum packaged samples had their shelf-life extended for a period between 10 and 14 days. The use of organic acids for decontamination followed by vacuum packaging resulted in an extended storage period, about 21 days at 0 to 2 °C.

In the second part of the study, microbiological, physico-chemical and sensory changes of chicken breast stored in modified atmosphere packaging containing 25 to 100% CO₂ balanced with N₂ were evaluated. Changes in volume and gaseous composition of head-space were monitored. The shelf-life of chicken breast fillet stored under CO₂ was extended for 21 days at 0°C. The microbial quality of these samples was better than that of decontaminated-vacuum packaged samples.

1. INTRODUÇÃO

A produção de carne de aves no Brasil aumentou significativamente nos últimos anos atingindo 2.335.000 toneladas em 1990, das quais 299.218 foram destinadas ao mercado externo. Em 1994 a produção foi de 3.411.026 ton., com 461.888 ton. destinadas à exportação, e em 1995 foram produzidas 4.050.449 ton., das quais 422.883 ton. foram exportadas, o que coloca o Brasil como segundo maior produtor da atualidade (ASSOCIAÇÃO PAULISTA DE AVICULTURA, 1996).

A carne de frango é normalmente comercializada refrigerada ou congelada, nas formas de: carcaças inteiras evisceradas, cortes especiais como coxa, sobre-coxa, peito, asas e, desossada, na forma de filés de peito ou coxa. O principal fator limitante da vida-de-prateleira da carne congelada é a oxidação de lipídeos e pigmentos, uma vez que à temperatura de congelamento cessam o crescimento microbiano e atividades enzimáticas.

A carne de aves fresca é especialmente suscetível a problemas microbiológicos, uma vez que na própria linha de abate existem alguns pontos críticos de contaminação. Entre eles podem ser citados o tanque de escalda, as depenadeiras, a linha de evisceração e o tanque de resfriamento, nos quais podem ocorrer contaminações cruzadas entre as carcaças. A microbiota natural da carne fresca é constituída de microrganismos mesófilos e psicrotófilos, mas há tendência à predominância dos últimos, devido ao uso de temperaturas de refrigeração. Os tipos de microrganismos mais comumente encontrados na carne são: *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Moraxella*, *Shewanella*, bactérias lácticas e enterobactérias (EGAN, 1984; GILL & NEWTON, 1978; LEE & HAN, 1986). Algumas bactérias patogênicas ao homem, como *Salmonella*, *Campylobacter*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* e *Listeria monocytogenes*, também podem ser encontradas (CUNNINGHAM, 1987; FABER, 1991; ICMSF, 1980). Assim, o controle microbiano é evidentemente importante tanto do ponto de vista econômico quanto do de saúde pública.

A vida útil da carne de aves fresca estocada sob refrigeração a temperaturas entre 0 e 10°C varia de 3 a 7 dias, segundo vários pesquisadores (BAILEY *et al.*, 1979; HOTCHKISS *et al.*, 1985; URBAIN, 1983).

As principais características de deterioração são o aparecimento de odor estranho (pútrido), acompanhado do surgimento de induto viscoso, geralmente causado pelo desenvolvimento de bactérias psicrotrófilas Gram negativas (EGAN, 1984; GILL & NEWTON, 1986), dentre as quais bactérias do gênero *Pseudomonas* constituem a microbiota predominante. Esse grupo de bactérias tem um alto potencial deteriorador devido à sua capacidade de degradar aminoácidos, produzindo como produtos de seu metabolismo a amônia, aminas e H₂S, compostos responsáveis pelo aparecimento de odores pútridos (INGRAM & DAINTY, 1971; ICMSF, 1980).

Atualmente existe um grande interesse em aumentar a vida útil da carne de aves fresca com a finalidade de atingir pontos de comercialização mais distantes, bem como de prolongar o período de exposição nos pontos de venda, diminuindo assim as eventuais perdas.

Tecnologias mais recentes fazem uso da combinação da refrigeração com técnicas de embalagem, como atmosfera modificada ou a vácuo, bem como da aplicação de substâncias químicas comestíveis, como ácidos orgânicos e seus sais, sobre a superfície do produto.

Independente do método de conservação empregado, os objetivos são: interferir no crescimento de microrganismos deterioradores presentes na ave e/ou eliminar a presença de microrganismos patogênicos, de risco à saúde do consumidor, aumentando seu tempo de vida útil.

A aplicação superficial de ácidos orgânicos é um tratamento de descontaminação da carne e tem por objetivo, principalmente, a redução drástica de microrganismos deterioradores e patogênicos potenciais naturalmente presentes na carne (MAREL *et al.*, 1988; KOOS, 1992).

Os ácidos láctico e acético produzidos microbiologicamente são conhecidos por seus efeitos bactericida e bacteriostático há muito tempo, e são encontrados em alguns produtos fermentados como iogurte, chucrute, picles, salame e outros, evitando a deterioração de origem microbiana. O

consenso de que esses ácidos têm baixa toxicidade ao organismo humano incentiva o seu uso como agente da redução da contaminação microbiológica de carcaças (ADAMS & HALL, 1988; KOOS, 1993).

Segundo SMULDERS *et al.* (1986), a ação antimicrobiana desses ácidos é devida à capacidade de suas moléculas, lipofílicas e não-dissociadas, de penetrar na membrana plasmática bacteriana. No citoplasma, onde o pH é mais alto, o ácido se dissocia e rompe a força próton-motriz da membrana, alterando o rendimento energético e o transporte dependente de energia dentro da célula. Portanto, o efeito antimicrobiano de um ácido vai depender dos seus valores de pKa e do pH do meio externo. Entretanto, apesar da comprovada aceitabilidade fisiológica pela OMS (SMULDERS *et al.*, 1986), o emprego desses ácidos não é aceito como tecnologia de descontaminação em vários países, principalmente por mascarar falhas higiênicas. MULDER (1993) discute os efeitos das mudanças nos métodos de produção e conservação da carne de aves sobre a qualidade microbiológica da mesma, e considera que o potencial que essas novas tecnologias têm sobre a saúde pública deve ser rediscutido.

Outra maneira de se aumentar o período de estocagem refrigerada da carne é pela criação de um novo meio ambiente, ou seja, pela modificação da atmosfera em que ela está contida. Para isso são necessárias duas condições importantes: i) criar uma barreira apropriada ao redor do produto que seja efetiva em minimizar trocas entre o ambiente interno e externo; ii) estabelecer, dentro da embalagem, condições desejáveis que estabilizem as propriedades do produto (SEBRANECK, 1986; PARRY, 1993).

Há duas maneiras de se modificar a atmosfera interna: a primeira e mais simples é a aplicação de vácuo; a segunda, a introdução de gases desejados, após a evacuação e antes do fechamento da embalagem.

De acordo com ENFORTS & MOLIN (1984), a respiração da carne continua no estado *post-mortem* e remove o O₂ residual presente na embalagem a vácuo; com isso há liberação de CO₂ a um nível de 20 a 40% no espaço-livre durante a estocagem. O CO₂ produzido dissolve-se

na fase aquosa da carne, formando ácido carbônico e causando uma inibição do crescimento de bactérias Gram negativas. Nessas condições é favorecido o crescimento de bactérias lácticas, que têm baixo potencial deteriorador por produzirem metabólitos como o ácido lático, inofensivos à qualidade da carne, com conseqüente aumento de sua vida útil (EGAN, 1984; EGAN & SHAY, 1988; SHAY & EGAN, 1987).

Segundo THOMAS *et al.* (1984), houve um aumento crescente do uso da embalagem a vácuo para carnes em geral, mas tem-se dado muito pouca atenção ao seu potencial para a carne de frango. Um dos problemas que poderia ocorrer no uso da embalagem a vácuo para carcaças inteiras de frango é a ruptura do material devido à presença de ossos e partes pontiagudas (STAAR, 1984). Talvez esse seja um dos principais motivos pelo qual a embalagem a vácuo não é usada na prática. Contudo, a aplicação desta técnica para cortes desossados como filés de peito e de coxa, seria perfeitamente viável.

Outro problema é o pH geralmente alto da carne de frango (entre 6,0 e 7,0, conforme a localização do músculo). Sabe-se que a carne de pH final maior que 6,0 embalada a vácuo não apresenta a mesma vida útil que a carne de pH normal (menor que 6,0) devido à deterioração decorrente do crescimento de bactérias Gram negativas produtoras de H₂S (EGAN, 1984; GILL & NEWTON, 1986). Nos casos em que a eficiência da embalagem a vácuo é limitada, seria possível utilizar-se a técnica de embalagem em atmosfera modificada.

A modificação da atmosfera pela introdução de gases é uma técnica relativamente nova para conservação da carne. Alguns gases se dissolvem na fase aquosa da carne de acordo com sua solubilidade, proporção e temperatura de estocagem. Além do CO₂ produzido pela respiração do músculo, o material de embalagem também pode permitir alguma troca gasosa com a atmosfera externa. Assim, a composição do espaço-livre é resultado do equilíbrio das trocas gasosas que ocorrem, envolvendo a carne e a embalagem (HOLLAND, 1980; SHAY & EGAN, 1986; TAYLOR, 1985; XAVIER, 1990).

As funções de cada gás são amplamente discutidas na literatura (DANIELS *et al.*, 1985; HOLLAND, 1980; PARRY, 1993; TAYLOR, 1985), e basicamente se utilizam:

- CO₂ para inibição do crescimento bacteriano e seleção da microbiota para bactérias lácticas;
- O₂ para manutenção das características de cor da carne;
- N₂ como gás de enchimento e/ou diluente.

Embora os efeitos desses gases sejam relativamente bem conhecidos, somente nos últimos anos, com o avanço das técnicas de embalagem, essa tecnologia tem sido explorada e se tornado economicamente viável. Nos últimos 10 a 15 anos vem sendo empregada na Europa, Estados Unidos, Austrália e Nova Zelândia para conservação de produtos cárneos, e principalmente nos casos em que a eficiência da embalagem a vácuo é limitada (BERNE, 1994; SEBRANEK, 1986; STAAR, 1984). No Brasil houve um grande desenvolvimento da tecnologia de materiais e equipamentos para esse tipo de embalagem nos últimos 5 anos, o que pode vir a viabilizar economicamente o emprego futuro dessa tecnologia.

O presente trabalho foi realizado para verificar a viabilidade do uso dessas tecnologias na extensão da vida-de-prateleira de filés de peito de frango refrigerados.

2. REVISÃO DA LITERATURA

As alterações microbianas da carne fresca devem-se a fatores intrínsecos do próprio alimento, ou seja, os de caráter físico, químico e bioquímico, e aos extrínsecos, quais sejam, os fatores do meio ambiente, e a outras condições diversas que podem estar presentes. Dentre os fatores intrínsecos importantes encontram-se a atividade de água, o pH, o potencial de oxirredução e a disponibilidade de nutrientes. Dentre os extrínsecos encontram-se a temperatura, a umidade relativa do ar e o oxigênio. A atividade de água, que na carne fresca encontra-se em torno de 0,99, não é um fator limitante, uma vez que esses valores permitem o crescimento da grande maioria dos microrganismos.

O crescimento de microrganismos é possível numa faixa ampla de pH, porém a maior parte dos microrganismos tem seu crescimento ótimo próximo à neutralidade, ou seja, em pH 7,0. De acordo com FORREST *et al.* (1975), e com PRICE & SCHWEIGERT (1976), a carne fresca tem seu pH final entre 5,3 e 6,0, conforme a espécie e o músculo, e as alterações se dão tanto mais rapidamente quanto mais elevado for o pH. Segundo esses autores, o ácido láctico formado durante o processo de transformação do músculo em carne influi decisivamente no pH final, inibindo fortemente o crescimento de microrganismos proteolíticos, pouco resistentes a pHs baixos. Os produtos cárneos acidificados pela adição de ácidos orgânicos comestíveis ou pela fermentação natural têm seu pH abaixado, inibindo o crescimento de vários deterioradores, entre eles as *Pseudomonas*, gênero de microrganismos muito importante na deterioração de carnes, e que cresce bem em pH próximo à neutralidade.

O potencial de oxirredução, dado pela composição química e pela pressão parcial de oxigênio do alimento, também representa um fator de seleção para o crescimento de microrganismos, sendo que na superfície da carne, onde há a presença de oxigênio, predomina o crescimento dos aeróbios, dentre os quais as bactérias do gênero *Pseudomonas* são os principais deterioradores. As enterobactérias, inclusive as salmonelas, podem se reproduzir em baixa tensão de oxigênio, podendo se desenvolver tanto na superfície quanto na profundidade de certos

alimentos, e tanto em embalagem permeável ao oxigênio quanto em embalagem a vácuo. A família *Enterobacteriaceae* compreende um grupo relativamente homogêneo de bactérias, que se caracterizam por serem bastonetes Gram negativos, não esporulados, aeróbios facultativos que possuem requerimentos nutricionais relativamente simples, fermentando açúcares e produzindo uma série de metabólitos, como os ácidos acético, láctico e succínico, bem como etanol, CO₂ e H₂, e, em alguns casos o butanediol (BROCK, 1979). A contagem desse grupo de microrganismos ou de *E. coli* pode ser usada como indicador das condições de higiene durante o processamento de alimentos, mas com o uso de novas técnicas de conservação a validade desses índices é questionável. ZEITOUN *et al.* (1994) avaliaram a validade do uso de contagens de *Enterobacteriaceae* e *E. coli* como indicadores em coxas de frango (i) frescas, não-tratadas, (ii) acondicionadas em atmosfera modificada, (iii) descontaminadas em solução tampão contendo ácido láctico a 10%, e (iv) descontaminadas como em (iii) e acondicionadas em atmosfera modificada. Os resultados mostraram que a contagem de *Enterobacteriaceae* não é válida como indicador para qualquer dos tratamentos utilizados, e que a *E. coli* pode ser usada como índice, uma vez que pode indicar abusos de temperatura pós-processo.

A temperatura é o fator externo que mais afeta o crescimento dos microrganismos. No caso da carne fresca já ocorre uma seleção para o crescimento de psicrófilos, pelo uso de temperaturas de refrigeração. Esse grupo de microrganismo é de muita relevância em carnes, uma vez que nele se encontram os principais deterioradores. De acordo com a literatura (STOKES & REDMOND, 1966; KRAFT & REY, 1979), 93% da microbiota presente em carnes é constituída de psicrófilos e psicrotófilos, com predominância de bastonetes móveis Gram negativos. DELAZARI (1977) e JAY (1992) relatam que foram encontrados aproximadamente vinte e cinco gêneros de microrganismos compondo a microbiota da carne de frango, dentre os quais os principais deterioradores são os Gram negativos *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter* e *Aeromonas* e *Moraxella*, e os Gram positivos *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Brochothrix thermosphacta*, *Micrococcus*, *Streptococcus*. Em um estudo realizado por LAHELLEC *et*

al.(1975), onde foram isolados 5.920 colônias provenientes de carcaças de frango, foram encontradas bactérias do gênero *Pseudomonas* (30,5%), *Acinetobacter* (22,7%), *Flavobacterium* (13,9%), *Corynebacterium* (12,7%), e ainda *Enterobacteriaceae* e leveduras em números menores. Das *Pseudomonas*, 95,2% oxidavam glicose. Geralmente, nos estágios mais avançados da deterioração do frango, a superfície apresenta fluorescência, quando iluminada com luz ultravioleta, devido à presença de um grande número de pseudomonas fluorescentes (JAY, 1992). No processo de deterioração da carne de frango, os odores indesejáveis são percebidos antes do aparecimento do induto viscoso (limosidade), podendo ser detectados geralmente quando as contagens se encontram acima de 10^7 UFC/g. (INGRAM & DAINTY, 1971). Quando se esgota a fonte de carboidratos simples (glicose), as *Pseudomonas*, juntamente com outros Gram negativos como *Moraxella*, *Alcaligenes* e *Aeromonas*, utilizam aminoácidos simples e compostos nitrogenados como fonte de energia. Os produtos de seu metabolismo, portanto, são compostos como amônia, aminas, indol e H_2S , de odor extremamente desagradável e facilmente notado pelo consumidor (JAY & SHELEF, 1978).

As atividades enzimáticas dos psicrófilos e psicrófilos aumentam quando as células se desenvolvem a baixas temperaturas, como é o caso da carne fresca, o que foi comprovado por PETERSON & GUNDERSON (1960), citado por JAY (1992), que encontraram um aumento da protease extracelular de *Pseudomonas*, isolada de torta de ave, quando a temperatura caiu de $30^{\circ}C$ para $0^{\circ}C$. NOSKOWA (1978) estudou minuciosamente a microbiologia das carnes tratadas pelo frio. No que se refere às temperaturas mínimas de refrigeração, a autora diz que os microrganismos responsáveis pelas alterações em alimentos refrigerados são psicrófilos facultativos que têm seu ótimo crescimento a temperaturas superiores a $20^{\circ}C$, de modo que as carnes com carga inicial elevada de patógenos não ficam totalmente livres dos mesmos, mesmo que a ação do frio se prolongue e que os patógenos sejam mesófilos. No que se refere às características dos psicrófilos que crescem na carne fresca, a autora relata particularidades dos gêneros *Pseudomonas* e *Achromobacter*, principais responsáveis pelas alterações em carnes

refrigeradas em condições de aerobiose, citando que a carga bacteriana máxima para que sejam percebidos nítidos sinais de deterioração é em torno de 10^7 ou 10^8 UFC/cm². A autora comenta que bactérias dos gêneros *Salmonella*, *Proteus*, *Escherichia* e *Enterobacter*, encontram dificuldades para se desenvolver em carnes refrigeradas e ressalta que a despeito de sua possível presença nesse tipo de carne, seu crescimento é muito lento a baixas temperaturas. De acordo com PARDI *et al.* (1993), os *Clostridia*, responsáveis pela putrefação profunda em carnes frescas também requerem temperaturas superiores às de refrigeração para seu crescimento. BERSANI *et al.* (1984) isolaram enterobactérias psicrotrófilas presentes em amostras de carnes refrigeradas a 2°C e constataram que os gêneros de maior importância foram os seguintes: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Serratia*, *Klebsiella* e *Yersinia*. Os autores enfatizaram a importância dos cuidados de higiene que devem ser tomados dentro da área de processamento e com os equipamentos que entram diretamente em contato com o produto para diminuir a contaminação inicial do mesmo.

2.1. EFEITO DOS ÁCIDOS ORGÂNICOS E DO pH NA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO DE MICRORGANISMOS EM CARNES

O pH é um dos principais fatores que determinam a sobrevivência e o crescimento dos microrganismos durante o processamento, a estocagem e a distribuição de alimentos. A importância da queda de pH durante o metabolismo post-mortem para a conservação da carne é bastante conhecida (FORREST *et al.*, 1975; LAWRIE, 1977). Os microrganismos presentes são afetados tanto pela quantidade (concentração) de íons hidrogênio livres (pH em si) quanto pela concentração de ácidos fracos não-dissociados que, por sua vez, é afetada pelo pH.

Os ânions de alguns ácidos fracos, como por exemplo, dos ácidos acético e láctico, são metabolizados dentro da célula bacteriana, de modo que o H⁺ é liberado, acidificando o interior da célula a níveis inibitórios. Outros ânions não são metabolizados e, portanto, não acidificam o interior da célula (SILILKER, 1980).

Devido à solubilidade, ao sabor e à toxicidade, os ácidos orgânicos de cadeia curta como o acético, benzóico, cítrico, propiônico, sórbico, láctico, são os mais comumente usados em alimentos. Embora a atividade antimicrobiana dos ácidos geralmente aumenta com o aumento do comprimento da cadeia, aqueles de cadeias alifáticas têm pouca aplicação devido à baixa solubilidade em água.

A atividade antimicrobiana dos ácidos orgânicos é atribuída às moléculas não-dissociadas (INGRAM *et al.*, 1956 e MACRIS, 1975, citados por SILLIKER, 1980), que são imediatamente solúveis na membrana celular da célula bacteriana (CRAMER & PRESTEGARD, 1977, citados por SILLIKER, 1980). Apenas os ácidos orgânicos lipofílicos apresentam essa atividade. Uma hipótese é que o mecanismo de inibição esteja ligado à interferência desses ácidos na permeabilidade da membrana celular da bactéria, interferindo tanto no transporte de substrato quanto na fosforilação oxidativa do transporte de elétrons. Os ácidos orgânicos insaturados, como o ácido sórbico, também inibem esse sistema (FREESE *et al.*, 1973, citados por SILLIKER, 1980). Isso leva à acidificação do conteúdo da célula, o que é, provavelmente, a principal causa de inibição e morte bacteriana.

Os valores de pKa, que correspondem aos valores de pH no qual 50% do ácido total está na forma não-dissociada, dos ácidos orgânicos usados como conservadores em alimentos está entre pH 3 e 5. Portanto, à medida que se abaixa o pH do alimento, aumenta-se a proporção de moléculas de ácido na forma não-dissociada e, conseqüentemente, sua eficiência como agente antimicrobiano, o que limita o uso dos mesmos, principalmente para alimentos com pH superior a 5,5, como é o caso da carne. Entretanto, quando usados em altas concentrações, são agentes eficientes contra uma grande variedade de microrganismos (CHICHESTER & TANNER, 1972). Acredita-se que o efeito observado em culturas mistas ou em alimentos estocados, onde um grupo de microrganismos exerce efeito sinérgico ou antagonista sobre outro, seja muitas vezes resultado da formação *in situ* de ácidos orgânicos provenientes do metabolismo dos mesmos.

Na carne fresca temos duas características importantes: pH geralmente entre 5,5 e 6,0, ou seja, longe da faixa ótima para o efeito da não dissociação e, ainda, um alto teor de proteínas, entre 18 e 22%, o que exerce um efeito tamponante sobre o meio. Entretanto, a concentração do ácido aplicado à superfície da carne deve ser adequada para que consiga exercer seu efeito bactericida, uma vez que o ácido, com o passar do tempo, se difunde para as camadas mais internas do músculo.

Para que os ácidos orgânicos possam ser aceitos como agentes antimicrobianos em carnes, algumas questões ainda precisam ser avaliadas, como: a) qual a capacidade tamponante das proteínas da carne?; b) qual a eficiência do ácido em causar uma queda significativa de pH na superfície da carne? A queda de pH chega a níveis que permitam boa eficiência do ácido como agente antimicrobiano?; c) quanto tempo é necessário para que haja um efeito inibitório ou letal sobre a microbiota que está na superfície?

Em geral, os ácidos orgânicos são compatíveis com outros métodos de conservação, sendo que várias combinações têm efeitos sinérgicos: ácido lático com ácido acético (RUBIN, 1978, citado por SILLIKER, 1980), propionato com dióxido de carbono (WINDSOR & THOMAS, 1974, citados por SILLIKER, 1980), propionato com sorbato (PRONAS *et al.*, 1969, citados por SILLIKER, 1980), entre outras. Quando são usadas combinações podem ser usadas concentrações menores de cada para um bom efeito preservativo. Além disso, os ácidos orgânicos têm maior eficiência como inibidores bacterianos em condições de baixa temperatura, e maior efeito bactericida com o aumento da temperatura, bem como maior eficiência em condições anaeróbias do que em aeróbias (FREAME & WARREN, 1976, citados por SILLIKER, 1980).

Algumas limitações para o uso de ácidos orgânicos como inibidores bacterianos em alimentos são as seguintes: i) geralmente são ineficientes quando a população inicial é alta; ii) alguns microrganismos usam ácidos orgânicos como fonte de carbono metabolizável; iii) existe uma variabilidade inerente na resistência de diferentes cepas; iv) há possibilidade de seleção de cepas resistentes com o uso.

O ácido acético e seus sais são bastante eficientes e largamente usados como acidulantes e conservadores em alimentos. Sua ação conservadora é atribuída à queda de pH provocada no meio, e sua atividade antimicrobiana inicia-se em concentrações superiores a 0,5% (PARDI *et al.*, 1994). De acordo com as referências de LÜCK (1981), a atividade antimicrobiana do ácido acético em substrato acidificado a pH 3,0 é de 10 a 100 vezes superior à de qualquer outro ácido. Atribui-se essa diferença às características de dissociação desse ácido (normalmente na forma não dissociada), o que permite sua fácil entrada na célula bacteriana, devido a sua lipossolubilidade. A ação bacteriostática do ácido acético é fraca, requerendo-se concentrações elevadas para que seja eficaz na conservação de alimentos à temperatura ambiente. De acordo com LÜCK (1981), a atividade desse ácido é duplicada entre pH 5,0 e 6,0, enquanto a parte não dissociada nessa faixa é cerca de sete vezes menor. Apenas as *Acetobacter spp*, algumas bactérias lácticas e alguns fungos e leveduras são resistentes ao ácido acético (DAKIN, 1957 citado por SILLIKER, 1980). A presença de 1 a 2% de ácido não-dissociado na carne, peixes e produtos vegetais é geralmente suficiente para inibição bacteriana, desde que boas condições de higiene sejam mantidas, para que não haja crescimento de cepas ácido-tolerantes. A maior parte das bactérias patogênicas é inibida com concentrações entre 0,1 e 0,3%. O uso do ácido acético é permitido como corretivo de pH, nas condições da Resolução n. 25/70 (ABIA, 1978-1987), em diversos alimentos como: em alguns tipos de queijos (1%), peixes em conserva (1%), carnes em conserva (1%), não havendo referência ao seu uso na carne *in natura*.

O ácido láctico é formado no músculo após o abate do animal, produzido como resultado do metabolismo anaeróbio. Esse, composto formado naturalmente, promove a queda do pH da carne e, conseqüentemente, o prolongamento de sua vida útil. À temperatura ambiente, o ácido láctico é um líquido incolor ou ligeiramente amarelado, solúvel em água. Grande parte de sua ação antimicrobiana é devida à queda de pH que ele provoca, agindo como conservador a partir de concentrações superiores a 0,5%. O ácido láctico é muito estável com relação ao calor, resistindo a temperaturas elevadas. Possui suave sabor ácido e não sofre limitações quanto ao seu emprego

como alimento. Não mascara outros componentes odoríferos e, seu uso industrial é favorecido pelo fato de apresentar-se na forma líquida. Informações detalhadas a respeito das propriedades e do uso do ácido láctico como descontaminante de carnes podem ser encontradas na revisão publicada por SMULDERS, 1987.

De acordo com a Resolução n. 9/71, da ex-CNNPA (ABIA, 1978-1987), o ácido láctico pode ser usado em salmouras ou sal destinado à elaboração do charque e outras carnes curadas e defumadas, em dose máxima de 2% sobre o peso do sal empregado.

O ácido cítrico e seus sais de sódio e potássio são considerados como coadjuvantes da tecnologia de fabricação, conforme a Resolução n. 46/76 (ABIA, 1978-1987). Ele é capaz de alterar a ação catalizadora do ferro, podendo ser usado como antioxidante. A legislação argentina permite o uso de ácido cítrico e seus sais como agentes acidulantes, estabilizadores da cor, fluidificantes, sequestradores e antioxidantes sinsinérgicos (PARDI *et al.*, 1994).

Tanto o ácido láctico quanto o ácido cítrico têm atividade antimicrobiana moderada, exceto em condições de baixo pH. Entretanto, uma concentração de 0,001% de ácido cítrico na forma não-dissociada é capaz de inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus* em condições anaeróbias (WARREN, 1976, citado por SILLIKER, 1980).

O ácido sórbico é o único ácido orgânico insaturado cujo uso é permitido em alimentos como conservador. Ele é um excelente fungistático e tem um espectro antibacteriano interessante, sendo pouco eficiente contra bactérias catalase-negativas, como as bactérias lácticas, porém com largo espectro de ação contra os catalase-positivos, e é usado para inibir contaminantes de produtos fermentados, em concentrações de 0,01 a 0,02% de ácido não-dissociado. É um bom agente antimicrobiano em condições de pH não superior a 6.0 (SILLIKER, 1980). É comercializado puro ou na forma de seu sal sódico, potássico ou cálcico, sob forma de pó, granulado, em suspensões ou soluções. Do ponto de vista sanitário, o sorbato de potássio não tem ação mutagênica nem terapêutica, e o ácido sórbico não tem ação cancerígena por via oral. Por seu caráter ácido, ele irrita as mucosas sem ter, porém, efeito sobre a pele, exceto em pessoas

muito sensíveis (PARDI, *et al.*, 1994). Embora haja plena concordância no que se refere à escassa toxicidade para o homem nas doses habitualmente adicionadas aos alimentos, existem divergências entre vários autores com relação à dose letal média (CHEFTEL *et al.*, 1983; VISIER, 1980). Quanto à sua aplicação, a legislação brasileira permite seu emprego em margarinas, à base de 0,05%, e em conservas de carnes à base de 0,10%, conforme previsto no Decreto n. 55.871/65 (BRASIL, 1965). No entanto, a Resolução n. 25/68, da ex-CNNPA (ABIA, 1978-1987), indeferiu o emprego de ácido sórbico e seus sais em carnes industrializadas embutidas (salsichas, mortadelas e salames), permitindo apenas nos revestimentos externos das conservas de carnes. Em outros países a adição desse ácido e de seus sais é permitida em produtos cárneos crus e termoprocessados, a níveis que variam de 0,1% para produtos como saladas de carne, carne picada, croquetes e recheios, até 2,5% para banho de embutidos secos ou 8% para embutidos crus (PARDI *et al.*, 1994).

A eficiência de um ácido orgânico como agente antimicrobiano em qualquer alimento é afetada por condições como: atividade de água, pH, potencial de óxido-redução, disponibilidade de substrato, teor de gordura, entre outros (JARVIS & BURKE, 1977, citados por SILLIKER, 1980). Outro fator de igual importância na seleção de um ácido orgânico é a microbiota que esse ácido deve inibir, por exemplo: número, tipo e resistência dos microrganismos provavelmente presentes, juntamente com sua capacidade de sobreviver sob condições de estocagem e manuseio em que serão utilizados. Portanto, a escolha de um ácido depende não só das características inerentes àquele ácido orgânico (atividade antimicrobiana apropriada, solubilidade, compatibilidade com as características organolépticas do alimento), mas também das condições do microambiente e de estocagem do alimento. Outro fator importante a considerar é a legislação vigente no que diz respeito ao uso bem como aos limites de concentração permitidos em carnes. Os ácidos orgânicos são classificados como conservadores ou como acidulantes pela legislação brasileira no Decreto n. 55.871 de 23/06/1965 (BRASIL, 1965), definidos como substâncias que são adicionadas aos alimentos com vistas a impedir ou retardar a ação microbiana ou enzimática,

protegendo o alimento contra a degradação. O mesmo Decreto, em seu artigo nº 8. , proíbe o uso de aditivo em alimento quando: a) houver evidência ou suspeita de que o mesmo possui toxicidade atual ou potencial, b) interferir sensivelmente e desfavoravelmente no valor nutritivo do alimento, c) servir para encobrir falhas no processamento e nas técnicas de manipulação, d) encobrir alteração ou adulteração na matéria-prima ou no produto já elaborado, e) induzir o consumidor ao erro, engano ou confusão.

Um dos grandes problemas encontrados na prática do uso de ácidos como conservadores é assegurar que os aditivos sejam utilizados de maneira correta. A detecção de aditivos químicos em alimentos é uma tarefa relativamente fácil. O difícil, em muitos casos, é a interpretação de seus efeitos toxicológicos. Os conhecimentos hoje disponíveis com respeito à toxicidade são provenientes de testes conduzidos com animais. Tais testes diferem da situação real para a espécie humana em diversos e importantes aspectos, incluindo níveis de exposição, diferenças de espécie e a homogeneidade genética dos animais de laboratório, em contraste com a diversidade genética da espécie humana. Além disso, sabe-se que, na maioria dos testes realizados com animais, utilizam-se os aditivos químicos na sua forma pura e não após terem sido incorporados aos alimentos e submetidos ao processamento, armazenamento e, muitas vezes, ao preparo. Vários aditivos possuem em sua estrutura química grupos funcionais reativos que são capazes de formar ligações covalentes com proteínas e outros componentes dos alimentos que podem ser ativados pela ação da luz e interagir com o oxigênio, formando produtos oxidados (CHICHESTER & TANER, 1972).

2.2. EFEITO DOS ÁCIDOS ORGÂNICOS NA EXTENSÃO DA VIDA-DE-PRATELEIRA DE CARNES

Vários estudos foram realizados até o momento, que demonstram a eficiência do tratamento com ácidos orgânicos e seus sais na extensão da vida útil da carne de aves (LAMUKA *et al.*, 1992; SMULDERS *et al.*, 1986; XAVIER & BERAQUET, 1994).

MULDER (1995) discute vários métodos de descontaminação de carcaças de frango, dentre eles o uso de ácidos orgânicos e de atmosfera modificada, e considera-os eficientes como agentes antimicrobianos, mas recomenda que o uso dessas técnicas seja feito apenas como método complementar das medidas preventivas contra a contaminação cruzada, as quais devem ser tomadas desde o início da cadeia de produção, pois as mesmas podem mascarar falhas graves de higiene durante o manejo e processamento de aves.

ZEITOUN & DEBEVERE (1990), submeteram coxas de frango a tratamentos com ácido láctico a 10% e conseguiram um aumento na vida-de-prateleira de 6 para 12 dias durante a estocagem a 6°C, com uma queda de 2 unidades de pH. Entretanto, a aplicação desse ácido em concentrações acima de 2% (v/p) não é recomendável, uma vez que podem aparecer odores estranhos e há alteração da cor da carne (MAREL *et al.*, 1989).

SAWAYA *et al.* (1995) conseguiram um aumento de 6 a 7 dias na vida-de-prateleira de carcaças de frango submetidas a tratamento com ácido láctico e estocadas a 4°C, e de 5 a 6 dias com a temperatura de estocagem um pouco superior, de 7°C.

A ação antimicrobiana de ácidos orgânicos sobre o crescimento de bactérias patogênicas também é comprovada por vários estudos. SMULDERS *et al.* (1986) indicam o uso de ácido láctico para descontaminação de carnes por enterobactérias e *Campylobacter*, bem como para extensão da vida útil sob refrigeração. Além disso, recomendam a adoção de boas práticas de higiene, o uso de embalagem a vácuo e temperatura adequada de refrigeração.

MAREL *et al.* (1988) investigaram a eficiência de tratamentos com ácido láctico a 1 e 2% na qualidade microbiológica da carne de frango e verificaram que, inicialmente, as duas concentrações não apresentaram diferenças significativas. Entretanto, após 15 a 18 dias de estocagem a 0° C, verificaram que a solução mais concentrada (2%) foi mais eficiente para inibição do crescimento de *Enterobacteriaceae* e *S. aureus*, devido ao abaixamento do pH da carne.

MULDER *et al.* (1987) estudaram o efeito de ácido láctico, L-cisteína e H₂O₂ em culturas puras de *Salmonella typhimurium* isoladas de aves e observaram que concentrações iguais ou superiores a 1% de ácido láctico inibiram completamente o crescimento dessas bactérias, e que uma concentração de 0,5% de ácido láctico foi suficiente para reduzir as contagens em 4 ciclos logarítmicos após 5 minutos de contato com a solução. A L-cisteína não apresentou efeito inibitório na concentração utilizada (5000 ppm), e a H₂O₂ a 0,5% foi considerada letal apenas após 10 minutos de tempo de contato. Os autores verificaram que os resultados obtidos em carcaças artificialmente contaminadas foram semelhantes, porém o ácido láctico alterou ligeiramente a cor das carcaças, e a H₂O₂ foi considerada prejudicial à aparência inicial das mesmas, o que diminuiu a estocagem a 1°C em 1 dia.

CHEN-AN-HWANG & BEUCHAT (1995) verificaram que a lavagem de carcaças de frango com ácido láctico a 1% e com fosfato trissódico a 1% diminuíram significativamente (p<0,05) as contagens de *Salmonella* e de *Listeria monocytogenes* na pele de carcaças de frango previamente inoculadas com uma mistura de cinco cepas de *Salmonella spp.* ou *Listeria monocytogenes*, quando comparadas com outros tratamentos, como lavagem com: água esterilizada, tripolifosfato de sódio a 10%, fosfato monossódico a 10%, pirofosfato ácido de sódio a 10%, hexametáfosfato de sódio a 10% ou NaOH a 0,05%.

GREER & DILTS, 1994 estudaram o efeito da imersão de lombo suíno em solução de ácido láctico a 3% a 55°C por 15 segundos no crescimento de patógenos (*Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* e *Aeromonas hydrophila*) e de deterioradores (*Pseudomonas fragi* e

Brochothrix thermosphacta) previamente inoculados. Os autores verificaram haver um efeito bactericida imediato com redução de 1 a 2 ciclos logarítmicos conforme a resistência de cada grupo de microrganismos, bem como um período prolongado na redução do crescimento dos mesmos, que se estendeu por 15 dias a 4°C.

PODOLAK *et al.*, 1995 estudaram o efeito da imersão em ácido fumárico de 0,5 a 2,5%, ácido acético a 1% e ácido láctico a 1% a 55°C por 15 ou 30 segundos na redução de *Lysteria monocytogenes*, *E. coli* 0157: H7 e *Salmonella typhimurium* durante a estocagem de carne bovina a 4°C. Os autores observaram maior efeito bactericida com o maior tempo de imersão (30 s.) para todos os tratamentos. Verificaram também que todos os ácidos utilizados apresentaram tanto um efeito bactericida imediato quanto residual durante a estocagem, sendo o melhor efeito residual o encontrado para o ácido fumárico a 1,5%.

THYS *et al.* (1994) verificaram uma redução de 1 ciclo logarítmico nas contagens em coxas de frango previamente inoculadas com *Campylobacter jejuni* após a descontaminação com solução tampão de ácido láctico a 10% (pH 3,0), mas relatam que o tratamento não foi eficiente o bastante para eliminar esse microrganismo das coxas de frango.

IZAT *et al.* (1990) estudaram o efeito da adição de ácido láctico a 1 e a 2% na água de escalda, no "pré-chiller" ou no "chiller" em carcaças de frango previamente inoculadas com *Salmonella typhimurium*. Os autores relatam que os tratamentos que apresentaram melhor nível de redução das contagens desse microrganismo nas carcaças inoculadas foram ácido láctico 1% adicionado no "chiller", ácido láctico a 2% adicionado no "pre-chiller" (imersão por 2 minutos a 37°C), ácido láctico a 1% aplicado após o resfriamento em "chiller", por 60 segundos a 1,1°C, e ácido láctico a 2% aplicado antes do pre-chiller, por 60 segundos a 37°C. Entretanto, observaram que todos os tratamentos citados provocaram uma ligeira descoloração nas carcaças, principalmente nas regiões de maior pigmentação.

OKREND *et al.* (1986) estudaram o efeito do ácido acético em solução de 1,0; 0,2; 0,1; e 0,028% na taxa de letalidade de *Salmonella newport*, *Salmonella typhimurium* e *Campylobacter*

jejuni, aplicado a 52°C, na água de escalda de aves. Verificaram que a adição de 0,1% de ácido acético reduziu drasticamente os valores de D₅₂ (tempo necessário para redução de um ciclo logarítmico na contagem bacteriana a 52°C) para os três tipos de bactéria. Os autores recomendam o uso de ácido acético no tanque de escalda para redução de disseminação de *Salmonella* e *Campylobacter* durante outras etapas do processamento.

LILLARD *et al.* (1987), partindo da hipótese de que o uso de ácido acético no tanque de escalda poderia ter efeitos diferentes sobre a contagem microbiana na água e nas carcaças em si, estudaram o efeito da adição de 0,2 a 0,5% desse ácido nos dois meios (água de escalda e carcaças de frango). Os autores confirmaram a redução dos níveis de bactérias aeróbias totais e enterobactérias na água de escalda, sendo que a presença de *Salmonella* não foi detectada. Contudo, a redução das contagens nas carcaças não foi significativa. Os autores concluíram que o tratamento da água de escalda com ácido acético pode ser efetivo na redução de contaminações cruzadas entre as carcaças, mas não tem efeito significativo na redução da contaminação das carcaças em si.

DICKENS & WHITEMORE (1995) avaliaram a aplicação de ácido acético a 0,6% com ou sem agitação para resfriamento de carcaças de frango, e verificaram que a contagem total de aeróbios foi reduzida em 0,34 log NMP/ml nas amostras com adição do ácido em sistema estático, em 0,62 log NMP/ml nas amostras com adição de ácido acético a 0,6% e com injeção de ar, e em 1,16 NMP/ml nas amostras com adição de ácido acético a 0,6% em chiller com sistema rotativo, quando comparadas com o controle sem adição do ácido. As reduções nas contagens encontradas para *Enterobacteriaceae* foram respectivamente de: 0,50; 0,71; e 1,4 log. A incidência de *Salmonella* nas carcaças inoculadas após uma hora foi de 87% para os controles, 80% para amostras com adição do ácido em sistema estático, 53% para as amostras com adição de ácido acético a 0,6% e com injeção de ar, 6,7% para as amostras com adição de ácido acético a 0,6% em chiller com sistema rotativo. Os mesmos autores em estudo anterior (DICKENS & WHITTEMORE, 1994), avaliaram também o efeito do uso de uma concentração menor (0,3%)

do mesmo ácido na redução de *Salmonella*, sendo porém os melhores resultados obtidos com o uso da concentração maior (0,6%). DICKENS *et al.* (1994) avaliaram a cor e a textura da carne do peito de frango submetido a tratamento com ácido acético a 0.6%, e verificaram que a cor da pele se tornou ligeiramente mais amarelada para as amostras tratadas, porém não foram encontradas diferenças significativas na avaliação da textura.

CONNER & KOTROLA (1995) avaliaram o efeito da redução do pH na taxa de sobrevivência de *Escherichia coli* por meio do uso dos ácidos acético (pH 5.2), cítrico (pH 4.0), láctico (pH 4.7), málico (pH 4.0) e tartárico (pH 4.1) em caldo seletivo e verificaram que na incubação a 25°C houve um aumento de 2 a 4 ciclos logarítmicos para todos os tratamentos, mas a 10 ou a 4°C não houve crescimento exceto na amostra controle. Os autores concluíram que a sobrevivência desse microrganismo é bastante afetada pelo tipo de acidulante utilizado e pela temperatura de incubação.

DRESSEL & LEISTNER (1984) estudaram o efeito da imersão de carcaças de frango em uma solução contendo 2% de ácido acético, 1% de ácido láctico, 0.25% de ácido cítrico e 0.1% de ácido ascórbico no crescimento de *Salmonella*. Os autores observaram uma redução de aproximadamente 10 vezes nas contagens totais das amostras tratadas. Durante a estocagem a 2°C por 10 dias não houve crescimento de *Salmonella*, e a 10°C, embora o crescimento não tenha sido totalmente suprimido, foi mais lento do que nos controles não-tratados. A vida-de-prateleira das amostras tratadas foi aproximadamente o dobro das não-tratadas, mas as primeiras apresentaram um ligeiro odor ácido e a superfície ligeiramente pálida.

YUU-CHU-WU & JENG-YANN-KE (1993) submeteram peitos de frango a tratamentos com sorbato de potássio, ácido ascórbico ou lactato de potássio a 0,5 e 1,0% e acondicionamento em bandejas de poliestireno/polietileno por 6 dias entre 2 e 4°C. Verificaram que as menores contagens foram obtidas para amostras submetidas ao tratamento com lactato. Houve aumento de perda por exsudação para todas as amostras independente do tratamento, bem como melhora das

características de maciez. As amostras tratadas com ácido ascórbico ou com lactato apresentaram queda significativa de pH.

IKEME *et al.* (1982), usaram as seguintes misturas para descontaminação de asas de frango: i) ácido cítrico a 10% + sorbato de potássio a 6% + amido de milho modificado a 34%, em água, pH 3,2; ii) ácido cítrico a 20% + sorbato de potássio a 6% + amido de milho modificado a 24%, em água, pH 3,2; iii) amostras não-tratadas, embaladas em sacos de polietileno (PE). Os autores constataram vida-de-prateleira de 14, 28 e 7 dias respectivamente para as amostras i), ii) e iii), sendo que consideraram o crescimento de *Pseudomonas* o fator determinante da deterioração para qualquer um dos tratamentos. Sensorialmente, as amostras i) foram consideradas melhores que as ii).

RISTIC & OSTHOLD (1984) estudaram o efeito antimicrobiano da imersão de carcaças de frango em várias soluções ácidas (ácidos láctico, acético, cítrico e ascórbico) a 1 ou 2% por 1 minuto ou em solução de sorbato de potássio a 20% por 5 ou 10 segundos, durante a estocagem entre 1 e 10°C por 13 dias. Tanto o tratamento com ácidos quanto o com sorbato foram eficientes no controle microbiano e aumentaram a vida útil do produto, mas os resultados foram melhores com o sorbato de potássio, principalmente devido à melhor aparência das carcaças. Houve um aumento do pH da pele, sem que o pH do músculo apresentasse alterações. Os tratamentos com ácidos causaram queda do pH tanto da pele quanto do músculo, o que provocou maior exsudação.

LEE & HAN (1986) também investigaram o uso de sorbato de potássio a 7.5% no prolongamento da estocagem da carne de aves a 4°C e verificaram um aumento de 1/3 da vida útil das amostras com relação aos controles não tratados.

CUNNINGHAM (1982), recomenda o uso de sorbato de potássio em várias concentrações para descontaminação de frango resfriado para inibição da microbiota deterioradora, aumento da vida útil e controle de *Salmonella*. Em publicação anterior esse autor relata ter encontrado uma redução na contagem total de 2 ciclos logarítmicos em amostras tratadas com sorbato de potássio

a 10%, quando comparadas com amostras não tratadas, após 10 dias de estocagem (CUNNINGHAM, 1981).

ROBACH (1979a) estudou o efeito do sorbato de potássio a 0.2% e verificou uma redução de 3 ciclos logarítmicos no número de células viáveis de *Pseudomonas putrefaciens* inoculadas em caldo seletivo após 6 dias de incubação a 24°C. Em outro estudo, o mesmo autor (ROBACH, 1979a) afirma ter obtido um incremento de 10 para 19 dias na vida útil de carcaças de frango submetidas a tratamento com sorbato de potássio a 5% por 30 segundos, quando comparadas com as amostras submetidas à imersão em água.

ROBACH (1979b) obtiveram um aumento de 10 para 19 dias na vida-de-prateleira de carcaças inteiras de frango submetidas a tratamento com sorbato de potássio a 5% por 30 segundos e estocadas a 3°C, enquanto SAWAYA *et al.* (1993), conseguiram uma extensão de 6-7 para 13-14 dias para carcaças estocadas a 7°C submetidas a tratamento semelhante. TO & ROBACH (1980), usando a mesma concentração de sorbato de potássio e estocagem a 3°C verificaram um aumento de 7 para 15 dias no período de estocagem, além da inibição do crescimento de patógenos como *Salmonella* e *Staphylococcus aureus*.

ROBACH & IVEY (1978) estudaram o efeito da imersão de filés de peito de frango em solução de sorbato de potássio a 2,5; 5,0 e 10% por um minuto sobre o crescimento de *Salmonella* e verificaram que a solução a 10% foi mais eficiente na redução da contagem de células viáveis, porém a solução a 5% reduziu significativamente a velocidade de crescimento das mesmas quando comparada com as amostras não tratadas.

CUNNINGHAM (1979), obteve uma vida-de-prateleira de 20 dias para partes de frango tratadas com sorbato de potássio a 5, 10 e 15% por 30 ou 60 segundos, sendo que não foram detectadas diferenças sensoriais entre concentrações de 5 e 10%, bem como entre elas e os controles imersos em água destilada. As amostras tratadas com sorbato a 15% tiveram menores notas na análise sensorial, embora estatisticamente não tenha havido diferenças significativas entre

esse tratamento e os demais. A vida-de-prateleira das amostras foi limitada pela detecção de odores estranhos e contagem total superior a 10^7 UFC/g.

D'AUBERT *et al.* (1980) utilizaram os seguintes tratamentos para descontaminação de frangos posteriormente acondicionados a 4°C: i) aspersão com sorbato de potássio a 10%, ii) imersão em solução de sorbato a 10% por 1 minuto, e observaram redução significativa na contagem total, principalmente de psicrotrófilos, e redução de 50 a 60% na contagem de *Salmonella*. Uma observação importante no trabalho apresentado por esses autores é a de que após a lavagem dos frangos em água corrente não foram detectados resíduos de sorbato na superfície dos mesmos.

MEAD & ADAMS (1980), conseguiram um aumento de vida útil de vísceras de aves (moela, coração e fígado) estocadas a 1°C, de 11-14 para 22-28 dias com tratamento de imersão em solução de 100 mg/l de sorbato de potássio, pH 8,0, por 1 minuto. A microbiota predominante encontrada era constituída por *Pseudomonas e Acinetobacter*.

BORPUZARI & BORPUZARI, 1996 estudaram o efeito da imersão de filés de peito de frango em soluções 0,5, 0,75 e 1% de ácido sórbico durante a estocagem sujeita a flutuações simuladas de temperatura variando entre -2 e 5°C. Os autores verificaram queda acentuada no pH superficial das amostras durante as 6 primeiras horas após a imersão, bem como redução das contagens bacterianas. As contagens para as amostras não tratadas após 6 horas do momento da imersão foram semelhantes às das amostras tratadas com ácido sórbico a 0,5% após 7 dias de estocagem. A redução inicial nas contagens foi da ordem de 1 a 2 ciclos logarítmicos, sendo que houve um aumento do efeito bactericida com o aumento da concentração utilizada.

MORRISON & FLEET (1985), avaliaram o efeito de vários tratamentos na descontaminação de frangos inoculados com *Salmonella*: água ; cloro a 50 e a 200 ppm; NaCl; ácido láctico ; sorbato de potássio e fosfato a 0,25%, todos aplicados a 18 ou a 60°C. Os autores observaram que a imersão em água a 60°C por 10 minutos resultou numa redução de 100 vezes nas contagens de *Salmonella*. Entretanto, a imersão em cloro a 200 ppm ou em sorbato de

potássio a 2,5% aumentou a redução para 1000 vezes, com total eliminação de *Salmonella* na maior parte das carcaças, sendo que outros tratamentos de imersão foram menos efetivos.

OLSON (1981), usou soluções de ácido láctico e sorbato de potássio a 5% como tratamento coadjuvante para redução da carga de *S. typhimurium* previamente inoculada em asas de frango submetidas a 5 ciclos de congelamento e descongelamento rápido. Verificou que a associação do método aos tratamentos químicos aumentou de 95 para 98% o nível de redução dos microrganismos com o uso de ácido láctico e de 95 para 96% com o uso de sorbato.

SOFOS (1986), comprovou o efeito antimicrobiano do sorbato de potássio também sobre o crescimento de *Clostridium sporogenes* previamente inoculado em produtos de frango e de peru.

Para qualquer tratamento de descontaminação que venha a ser utilizado, alguns pontos críticos devem ser observados: i) quantidade e natureza da contaminação inicial, não devendo o tratamento ser utilizado para mascarar falhas básicas de higiene dentro da planta, ii) concentração da solução de ácido, que pode promover mudanças nas propriedades sensoriais do produto.

MAREL *et al.* (1989) limitam a concentração de ácido láctico a 2%, acima da qual pode ocorrer o aparecimento de odor estranho. Além disso, um fator importante a ser controlado é a concentração da solução de imersão, uma vez que o ácido pode perder seu potencial gradualmente devido à ligação com proteínas e peptídeos, liberados durante o processo de imersão das aves no tanque contendo a solução. Problemas desse tipo não ocorrem quando a aplicação é feita por aspersão, como no processo patenteado por NICOLAI (1987) ou com sistema de aplicação de material sólido capaz de liberar ácido acético na presença de umidade, patenteado por MOYE (1990), mas podem ocasionar maior corrosão dos equipamentos. Outro sistema sugerido por KOVINKO *et al.* (1985) é o recobrimento da carne de frango fresca com um meio contendo amido, monoglicérides e ácido sórbico e aplicado por imersão ou por aspersão, o qual, segundo os autores, melhora as características de conservação e diminui a perda de peso do produto.

2.3. EFEITO DA ATMOSFERA MODIFICADA NA CONSERVAÇÃO DA CARNE DE AVES

A modificação do microambiente em que a carne está contida, seja pela utilização de embalagem a vácuo ou pelo uso de atmosfera modificada, provoca alterações no metabolismo *post-mortem* da carne, principalmente na atividade enzimática das células, bem como mudanças na microbiota e no crescimento bacteriano durante a estocagem. A exclusão de oxigênio inibe o crescimento de microrganismos aeróbios, de alto potencial deteriorador, e a oxidação de gorduras e pigmentos, aumentando assim a vida-de-prateleira da carne de frango refrigerada. Contudo, algumas condições devem ser observadas a fim de viabilizar o emprego dessa técnica para carne de aves.

Durante o metabolismo *post-mortem* da carne ocorre o consumo de oxigênio residual presente, acompanhado pela formação de CO₂, que dissolve-se na fase aquosa, causando a inibição do principal grupo de deterioradores, bactérias do gênero *Pseudomonas* (AYRES *et al.*, 1950; ARAFA & CHEN, 1975; GALLO *et al.*, 1988; MCMEEKIN, 1982). Ocorre assim o favorecimento de crescimento das bactérias lácticas, de baixo potencial deteriorador, pois produzem metabólitos menos prejudiciais à qualidade da carne (BAILEY *et al.*, 1979; BEYER & SINELL, 1981; MCMEEKIN *et al.*, 1984).

O efeito da embalagem a vácuo no prolongamento da vida útil da carne bovina é bastante conhecido, chegando a viabilizar estocagem de até 12 semanas a 0°C. Para carnes provenientes de outras espécies, como suínos e aves, o aumento de vida útil é menor, uma vez que as próprias características metabólicas dessas espécies, entre elas o pH final, resultante do metabolismo *post-mortem*, determinam um menor período de estocagem. Os resultados de várias pesquisas a respeito da utilização da embalagem a vácuo para conservação de carne de aves comprovam o aumento de 4 a 5 dias no período de estocagem, pela inibição do crescimento bacteriano, principalmente de psicrófilos Gram negativos, tendo ação tanto a ausência de oxigênio quanto o aumento de CO₂ residual (ARAFA & CHEN, 1975; PATTERSON *et al.*, 1984). COLLIN &

LAHELLEC (1980) verificaram que, com o uso de embalagem a vácuo, houve queda significativa da contagem de psicrotrófilos, mas seu efeito sobre o crescimento de coliformes foi menor. Observaram também que durante a estocagem houve uma substituição da microbiota predominante de *Pseudomonas* por *Enterobacteriaceae*, e que a permeabilidade do material de embalagem é um fator muito importante para a eficiência da embalagem a vácuo. SAWAYA *et al.* (1993b), estudaram o efeito da embalagem a vácuo em carcaças de frango evisceradas estocadas a 4, 7 ou 9°C e observaram aumentos do tempo de estocagem de 7 a 8, 6 e 4 dias, respectivamente, quando comparadas com o controle. À temperatura mais baixa houve maior crescimento de *Enterobacteriaceae*, dentre os quais os coliformes contribuíram com aproximadamente 80% e *Salmonella* com 15%, embora os *Lactobacilli* constituíssem o grupo predominante. Nas amostras controle houve predominância de *Pseudomonas*.

A eficiência da embalagem a vácuo é maior para carnes de pH normal, uma vez que em condições de pH superior a 6,0 (o que é comum para algumas partes como a coxa) pode haver crescimento de alguns psicrotrófilos indesejáveis. Vale ainda ressaltar que, na embalagem a vácuo, o acúmulo de CO₂ (gerado pelo metabolismo *post-mortem*) no espaço-livre, em concentração suficiente para que haja um efeito inibitório, pode demorar algum tempo, não tendo efeito imediato na inibição do crescimento bacteriano na superfície. Nesse caso talvez seja possível fazer uma associação de tratamento com ácido orgânico, que promoveria uma queda de pH da superfície da carne, com a embalagem a vácuo, que proporcionaria condições de anaerobiose.

A presença de oxigênio residual dentro da embalagem, seja pela baixa eficiência do equipamento usado para evacuação ou pela taxa de permeabilidade do filme utilizado ao oxigênio, pode promover uma condição de baixa tensão de oxigênio, que, na carne de frango, pode ocasionar desenvolvimento de cor acinzentada, causada pela oxidação do pigmento da carne, a metamioglobina. Para o mercado institucional esse problema é resolvido com a exposição da carne ao oxigênio do ar, após a abertura da embalagem, o que permite a oxigenação do pigmento, que retorna à forma de oximioglobina, que tem característica de cor desejável pelo consumidor.

Outra limitação da embalagem a vácuo é a maior perda de peso por exsudação, resultante da força mecânica exercida pelo vácuo, o que acarreta conseqüências indesejáveis no aspecto econômico, microbiológico, uma vez que o líquido exsudado é ótimo meio para crescimento bacteriano, e sensorial, pela perda de suculência e alteração da aparência.

O uso de embalagem a vácuo para aves também é limitado pela presença de partes pontiagudas no produto, que podem promover rompimento da embalagem, comprometendo a eficiência do sistema. Entretanto, a aplicação dessa técnica para cortes desossados é viável.

Nos casos em que a eficiência da embalagem a vácuo é limitada, o acondicionamento pode ser feito em atmosfera modificada, que consiste na exposição do produto a misturas gasosas específicas e pré-determinadas. Essa técnica permite um aumento de vida útil ao redor de 18 a 21 dias, superior à proporcionada pela embalagem a vácuo, estando diretamente relacionado com a composição da mistura gasosa utilizada.

A aplicação dessa tecnologia, não elimina a necessidade de boas práticas sanitárias e do controle de temperatura de estocagem, distribuição e venda. Tem, como a descontaminação com ácidos, um efeito sinérgico quando associada a outros tratamentos.

O controle de algumas condições é muito importante para a eficiência da atmosfera modificada: a) para cada produto há uma mistura gasosa mais adequada, que deve ser determinada em função da qualidade e vida útil desejadas; b) a natureza e a carga contaminante inicial estão diretamente relacionadas com o aumento de vida útil do produto; c) há necessidade de controle rígido das condições de temperatura durante toda a estocagem e comercialização; d) boas propriedades de barreira a gases do material; e) boa eficiência do equipamento de acondicionamento.

As características de permeabilidade do material utilizado para embalagem a vácuo e atmosfera modificada são de extrema importância para a manutenção da composição da mistura gasosa no espaço-livre, evitando trocas gasosas com a atmosfera externa. De acordo com alguns

autores (DAINTY *et al.*, 1979; EUSTACE, 1981), materiais com permeabilidade entre 90 e 100 cc O₂ / m² atm 24h seriam capazes de satisfazer às propriedades de barreira requeridas por essas técnicas de embalagem. RIZVI (1981), afirma que a inibição de microrganismos pelo acúmulo de CO₂ no espaço-livre da embalagem a vácuo só é eficiente se usados materiais com permeabilidade inferior a 40 cc O₂ / m² atm 24h., mas VANDERSANT *et al.*(1982) consideram os filmes com permeabilidade inferior a 10 cc O₂ / m² atm 24h. mais eficientes. EGAN & SHAY (1982) recomendam o uso de filmes de permeabilidade inferior a 25 cc O₂ / m² atm 24h para prevenção da formação de odores pútridos na carne bovina embalada a vácuo, e TAYLOR & SHAW (1977) apresentam a mesma recomendação para prevenção de defeitos da cor ("greening") da carne de pH alto. XAVIER (1989) estudou o efeito de três materiais com taxas de permeabilidade ao oxigênio entre 0 e 100 cc O₂ / m² atm 24h, e recomenda o uso de materiais com taxas inferiores a 12 cc O₂ / m² atm 24h para manutenção adequada da composição do espaço-livre da carne suína embalada em atmosfera modificada.

Os gases geralmente usados para conservação de carnes são o N₂, O₂ e CO₂. Os dois primeiros não inibem diretamente o crescimento microbiano: o N₂ tem efeito pela substituição do O₂, e o O₂ é usado para manter a cor desejável de carnes frescas (CLARK & LENTZ, 1973).

O CO₂ é um gás que se dissolve rapidamente em água (1,71 ml CO₂/ml H₂O a 760 mm Hg e 0°C) e na fase aquosa dos alimentos, formando ácido carbônico, e causando uma queda de pH proporcional à quantidade de ácido formado e à capacidade tamponante do alimento (SILLIKER, 1980). Seu efeito sobre o crescimento microbiano está diretamente relacionado com o tipo de microrganismo, a concentração do gás, a temperatura de incubação (ou de estocagem), a idade das células quando o gás é aplicado, e a atividade de água do meio. Existe uma variabilidade considerável na sensibilidade dos vários gêneros, espécies e cepas ao CO₂. Por exemplo, algumas culturas de *Bacillus*, *Enterobacter*, *Flavobacterium* e *Micrococcus* são destruídas quando expostas a 100% de CO₂ por 4 dias a temperatura ambiente (COINE, 1952 citado por SILIKER, 1980), enquanto *Proteus*, *Clostridium perfringens* (PAREKH & SOLBERG, 1970 citados por

SILLIKER, 1980) e *Lactobacillus* (OGILVY & AYRES, 1953 citados por SILLIKER, 1980) praticamente não são afetados pela exposição a esse gás. De maneira geral podemos dizer que existe uma ação inibitória do CO₂ sobre o crescimento bacteriano, que aumenta quase que linearmente com o aumento da concentração, dentro de uma faixa de 5 a 50% de CO₂, acima da qual o efeito bacteriostático é muito pouco alterado (SILLIKER, 1980; XAVIER, 1990).

O mecanismo pelo qual o CO₂ inibe o crescimento bacteriano não é totalmente compreendido. KING & NAGEL (1967) citados por SILLIKER (1980), realizaram experimentos com *Pseudomonas aeruginosa* e comprovaram que a redução de pH causada pela formação de ácido carbônico chega ao redor de 1 unidade de pH (em valores iniciais próximos à neutralidade), em meio não tamponado. Contudo, experimentos realizados usando meio tamponado ou alimentos naturalmente tamponados como a carne, mostraram que a queda de pH externo à célula não explica completamente o efeito adverso do CO₂. Uma explicação plausível seria a interferência desse gás em alguns sistemas enzimáticos envolvidos no metabolismo terminal da célula bacteriana. Altas concentrações de CO₂ (acima de 20%) inibem o metabolismo do succinato de *Pseudomonas aeruginosa*, *Rhizopus nigricans* e plantas superiores (KING & NAGEL, 1967; FOSTER & DAVIS, 1949; RANSON *et al.*, 1957; citados por SILLIKER, 1980). Outra explicação possível é que o CO₂ desidrata a membrana celular, impedindo a passagem de nutrientes hidrossolúveis para dentro da célula, ou que interfere na descarboxilação (SILLIKER, 1980).

O uso de CO₂ em concentrações acima de 5% inibe o crescimento de um largo espectro de bactérias, bolores e leveduras deterioradoras, o que o torna apropriado para extensão da vida útil da carne de aves, suína e bovina refrigeradas, bem como de seus produtos. O grau de inibição é variável principalmente porque seu efeito é distintamente seletivo, mas dentro dos grandes grupos algumas generalizações podem ser feitas: os bolores são muito sensíveis, as leveduras comparativamente resistentes, e as bactérias altamente variáveis. Dentre as bactérias, as Gram negativas são mais sensíveis do que as Gram positivas, e as mais afetadas são as *Pseudomonas* e

Achromobacter, de maior potencial deteriorador. As bactérias lácticas estão entre as formas mais resistentes, o que de certa maneira é bom, pois o tempo necessário para que seus metabólitos alterem as características da carne é longo, e também tendem a predominar na embalagem a vácuo. Os *Micrococci* e os *Bacilli* causam rápida deterioração, mas são fortemente inibidos pelo CO₂.

O efeito do CO₂ sobre microrganismos patogênicos é difícil de ser estudado, uma vez que alguns desses microrganismos não conseguem crescer, ou cresce muito lentamente em condições de estocagem sob refrigeração (entre 0 e 10°C). Por exemplo, a temperatura mínima para crescimento de *Salmonella* é ao redor de 5,3°C, de *S. aureus*, 6,7°C, e de *Clostridium perfringens*, 12°C. A presença de uma microbiota competitiva natural, de rápido crescimento, como os psicotróficos, também inibe o crescimento de patógenos, mesmo quando ocorrem situações de abuso de temperatura. Entretanto, existe uma certa evidência de que os patógenos em geral conseguem sobreviver em condições de combinação de baixa temperatura e alta concentração de CO₂. Assim, *Salmonella*, *C. perfringens* e *Brucella abortus* não são afetados pela alta concentração de CO₂, enquanto o *S. aureus* é inibido, e ainda a *Yersinia enterocolitica* consegue crescer em carnes cruas e cozidas a temperaturas entre 0 e 1°C (SILLIKER, 1980). Comentários detalhados a respeito do efeito da atmosfera modificada sobre o crescimento de patógenos podem ser encontrados na revisão apresentada por FABER (1991).

Vários estudos foram realizados visando conhecer as propriedades de várias composições gasosas no prolongamento da vida útil da carne fresca, entretanto faltam dados a respeito das condições que poderiam ser utilizadas a nível nacional, bem como das que pudessem viabilizar economicamente o emprego da tecnologia por meio da combinação de vários parâmetros, como o emprego de ácidos associado à embalagem a vácuo e/ou atmosfera modificada. Dados a respeito da mudança que a aplicação desses métodos de conservação ocasionam na microbiota natural da carne também são escassos, bem como informações a respeito da segurança que essas tecnologias proporcionam à saúde pública.

O efeito do CO₂ na extensão da fase lag e no tempo de geração do crescimento bacteriano é conhecido há algum tempo e já foi extensivamente estudado (CLARK & LENTZ, 1972; SANDER & SOO, 1978; XAVIER, 1990).

No caso da carne de frango, o emprego de atmosfera modificada também tem demonstrado reduzir significativamente o crescimento de alguns patogênicos como *Salmonella* e *S. aureus* (ANDERSON *et.al.*, 1985). Contudo, SANDER & SOO (1978), verificaram que o crescimento de patógenos (*Salmonella*, *S. aureus*, *Clostridium perfringens*) foi muito mais inibido pela temperatura de estocagem (1,1°C) do que pela atmosfera em si, uma vez que não houve crescimento dessas bactérias, tanto na presença quanto na ausência de CO₂.

THYS *et al.* (1994) estudaram amostras de coxa de frango inoculadas com *Campylobacter jejuni* e submetidas a diversos tratamentos: ar, N₂, 40% CO₂/60% N₂, 80% CO₂/20% N₂, ou 5% O₂/10% CO₂/85% N₂, e estocadas por 10 dias a 6°C, e observaram que, embora tenha havido um efeito inibitório do CO₂ sobre o crescimento bacteriano, com conseqüente aumento da vida útil das amostras, o efeito letal sobre os patogênicos inoculados foi insignificante. Esses resultados estão em desacordo com os apresentados por PHEBUS *et al.* (1991), que estudaram a taxa de sobrevivência de *Campylobacter jejuni* inoculados (10⁶ UFC/g) em carne de peru acondicionada nas seguintes condições: 100% CO₂, 80% CO₂/20% N₂, 60% CO₂/40% N₂, 40% CO₂/60% N₂, 100% N₂, 100% ar, e 5% CO₂/10% CO₂/85% N₂, estocada a 4°C por 18 dias e a 21°C por 48 horas. Os autores relatam que nas amostras estocadas a 4°C não foi possível detectar a presença desses microrganismos ao final do período de estocagem de 18 dias. Esses autores verificaram que o aumento da concentração de CO₂ resultou em maior velocidade de inativação desses microrganismos em qualquer das temperaturas de estocagem, bem como em menor velocidade de crescimento de microrganismos aeróbios e de psicrotófilos.

BAILEY *et al.* (1979) determinaram a vida-de-prateleira de carcaças de frango embaladas em materiais de baixa permeabilidade a gases, sob atmosferas contendo 20 e 65% de CO₂, estocadas a 2°C. Os autores verificaram que as amostras estocadas aerobicamente em gelo ("ice-

pack") foram rejeitadas aos 14 dias de estocagem, devido a odores pútridos, provenientes do crescimento de *Pseudomonas*, enquanto que as embaladas sob atmosfera modificada apresentaram odores ácidos após 18 dias de estocagem, devido ao crescimento de *Lactobacillus*.

SAWAYA *et al.* (1995) avaliaram o efeito do uso de atmosfera modificada contendo 70% CO₂/30% N₂ e 30% CO₂/70% N₂ na vida-de-prateleira de carcaças de frango estocadas a 2, 4, 7 e 9°C. Os períodos de estocagem para as amostras submetidas ao tratamento contendo 70% CO₂/30% N₂ foram de 25, 21, 12 e 8 dias às temperaturas de 2, 4, 7 e 9°C, respectivamente, e para as acondicionadas em 30% CO₂/70% N₂, de 20, 15, 8 e 8 dias às mesmas temperaturas. Os autores ainda constataram que o efeito inibitório do CO₂ sobre o crescimento de *Enterobacteriaceae* foi muito pequeno às temperaturas mais altas, mas bastante eficiente tanto a 2 quanto a 4°C, principalmente nas amostras contendo 70% CO₂.

KAKOURI & NYCHAS (1994) estudaram o efeito do CO₂ (100%), N₂ (100%), CO₂/O₂ (80:20) ou da embalagem a vácuo na estocagem de filés de peito e de coxa de frango sem pele a 3 e a 10°C e observaram que os grupos predominantes de bactérias nas amostras embaladas a vácuo, em CO₂ e em N₂ foram as bactérias lácticas e *Brochothrix thermosphacta*, e que as bactérias do gênero *Pseudomonas* cresceram somente nas amostras cuja atmosfera continha O₂. Verificaram também que a concentração de lactato diminuiu tanto na coxa quanto no peito submetidos ao tratamento contendo 20:80 CO₂/O₂, e a de acetato aumentou em todas as amostras independente das condições de estocagem.

BOHNSACK *et al.* (1988) estudaram as características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais de meias-carcaças de frango embaladas convencionalmente em filmes esticáveis ou em atmosfera modificada (CO₂), estocadas a 4°C por 26 dias. Os autores verificaram que houve uma grande variação do pH nas amostras submetidas a qualquer dos tratamentos durante todo o período de estocagem, mas que o crescimento de *Pseudomonas*, de bactérias psicrotolerantes e de *Enterobacteriaceae* foi bem mais lento nas amostras acondicionadas em CO₂, em alguns casos atingindo valores menores do que os da contagem feita ao início do período de estocagem.

THOMAS *et al.* (1984), estudaram o efeito do uso de atmosferas contendo 0; 20; 40; 60; 80 ou 100% de CO₂ (balanceadas com ar) no crescimento bacteriano em amostras de frango moído estocadas a 2°C. Altas concentrações de CO₂ reduziram as contagens bacterianas em 2 a 3 ciclos logarítmicos, e mudaram a microbiota predominante de bactérias Gram negativas para Gram positivas. Diminuindo-se a concentração de CO₂ houve um aumento proporcional da predominância de bactérias Gram negativas. Os autores concluíram que o estabelecimento da porcentagem de CO₂ a ser utilizada deve ser em função da vida-de-prateleira desejada, uma vez que, durante os primeiros dias de estocagem, não há diferenças muito significativas no nível de inibição, mas conforme aumenta o tempo, as concentrações mais altas são mais eficientes para obtenção de baixas contagens.

HOTCHKISS *et al.* (1985), verificaram que, além das mudanças descritas anteriormente, houve também um efeito residual do CO₂ sobre o crescimento bacteriano em amostras de frango embaladas sob 80% de CO₂ e posteriormente submetidas à estocagem aeróbia em balcões refrigerados por três dias. A vida-de-prateleira dessas amostras foi de 28 a 35 dias. Após esse período houve diminuição da maciez, suculência e aceitação geral das mesmas.

ANDERSON *et al.* (1985) estudaram o efeito do CO₂ e do N₂ sobre o crescimento de bactérias aeróbias e anaeróbias em carne de frango estocada entre 4 e 5°C e constataram que o CO₂ tem efeito inibitório sobre o crescimento desses dois grupos, enquanto o N₂ só inibe o crescimento de aeróbios.

MEAD *et al.* (1986) avaliaram o uso de CO₂ em várias concentrações para conservação da carne de pato refrigerada a 1°C, e verificaram que a vida útil das amostras pode ser aumentada de 12 dias, em condições aeróbias (filme esticável) para 30 dias com o uso de atmosfera contendo 80% CO₂ em N₂ ou para 22 dias com o uso de 20% CO₂ em N₂.

BAKER *et al.* (1986), estudaram o efeito da temperatura de estocagem (2; 7; 13°C) no crescimento de bactérias patogênicas e deterioradoras na carne de frango submetida a estocagem aeróbia e sob atmosfera modificada contendo 80% de CO₂, balanceada com ar. Os autores

observaram um retardamento substancial do crescimento bacteriano em todas as amostras submetidas à atmosfera contendo 80% CO₂, qualquer que fosse a temperatura de estocagem, quando comparadas com as amostras estocadas aerobicamente. Verificaram contudo, que a temperatura de estocagem apresentou um efeito geral mais marcante sobre o crescimento microbiano. Os mesmos autores, em estudo paralelo, inocularam bactérias patogênicas em carne de frango moída e em caldo sintético e submeteram essas amostras às mesmas condições de estocagem descritas acima. Verificaram que o crescimento de *Pseudomonas fragi*, *Salmonella typhimurium* e *S. aureus* foi inibido quando as amostras foram submetidas à atmosfera contendo 80% de CO₂, em qualquer temperatura de estocagem (2; 7 ou 13°C), mas que o efeito inibitório foi maior à temperatura mais baixa. As contagens de *Clostridium sporogenes* demonstraram que essa atmosfera não apresentou efeito inibitório sobre o crescimento desses microrganismos; entretanto, as contagens não ultrapassaram o nível de inoculação inicial.

2.4. EFEITO DOS TRATAMENTOS COMBINADOS NA VIDA-DE-PRATELEIRA DA CARNE DE AVES

O efeito sinérgico da combinação de tratamentos sobre o crescimento bacteriano é discutido por alguns autores (SAWAYA *et al.*, 1993; SINGH *et al.*, 1988; ZEITOUN & DEBEVERE, 1992a). Contudo, não há muitos dados na literatura a respeito do efeito sinérgico entre tratamentos com ácidos orgânicos e técnicas de embalagem. Sabe-se que durante a estocagem da carne embalada a vácuo, ocorre a formação de gás carbônico e dissolução do mesmo na fase aquosa da carne com formação de ácido carbônico, um dos fatores responsáveis pela maior vida útil de carnes conservadas a vácuo, devido principalmente à inibição do crescimento das bactérias Gram negativas (EGAN & SHAY, 1988; GILL, 1986).

REGESTEIN (1982), buscando a evidência de uma ação sinérgico entre tratamento químico e métodos de embalagem, estudou o efeito do sorbato de potássio em várias concentrações, associado à embalagem a vácuo e à atmosfera modificada, na conservação de "haddock" estocado

a 0°C. Observou que somente o tratamento com sorbato não foi eficiente para aumentar significativamente a vida-de-prateleira, mas que a associação com embalagem a vácuo ou com atmosfera modificada contendo 60% CO₂+ 20% O₂+ 20% N₂ aumentou o tempo de estocagem por um período de 11 a 18 dias. A vida útil de salmão previamente tratado com sorbato de potássio a 1% e acondicionado em atmosfera com 60% CO₂+ 20% O₂+ 20% N₂ foi de 30 dias, e a presença de O₂ juntamente com o sorbato foram fatores importantes na inibição de *Clostridium botulinum* nas amostras (FEY & REGESTEIN, 1982).

ELLIOT *et al.* (1985) estudaram o efeito da combinação do sorbato de potássio a 2,5% com embalagem a vácuo ou atmosfera modificada (CO₂) na microbiota deterioradora naturalmente presente na coxa de frango estocada a 10°C por 10 dias e observaram que o maior efeito inibitório foi observado para as amostras tratadas e acondicionadas em atmosfera contendo CO₂, para as quais foram constatadas menores contagens de *Pseudomonas*, e uma vida útil de 3 dias a mais do que para as demais.

PATTERSON *et al.* (1984) observaram uma grande efetividade do uso de ácido láctico (30g/l) e de sorbato de potássio (50g/l) associados à atmosfera modificada (1 CO₂: 9 N₂ e 2 CO₂: 8 N₂) no prolongamento da vida-de-prateleira de peito, coxa e perna de frango, principalmente pelo controle da multiplicação de *Alteromonas putrefaciens*. As amostras estocadas a 1°C apresentaram maior vida útil do que as estocadas a 5°C, e as amostras de peito maior do que as de coxa e perna. Esse resultado é esperado, uma vez que estas últimas geralmente apresentam pH final maior do que as primeiras, o que favorece o crescimento bacteriano. Esses dados estão em acordo com os resultados apresentados por XAVIER (1990), em estudo sobre o efeito da atmosfera modificada em carne suína de pH normal ou maior que 6,0.

SINGH *et al.* (1988) acompanharam a estocagem de carne (clara e escura) de codorna submetida a tratamento com ácido láctico a 2% e embalada convencionalmente em polietileno (PE) ou a vácuo, no mesmo material, e estocada a 4°C. As amostras tratadas com ácido láctico apresentaram menor capacidade de retenção de água (CRA) do que as não-tratadas, porém, a vida

útil das mesmas aumentou de 8 para 10 dias. O tratamento com ácido láctico destruiu completamente os coliformes e aumentou a fase lag do crescimento microbiano, sem ocasionar alterações na maciez, cor, sabor ou aparência do produto. Os autores concluem que não houve efeito sinérgico do tratamento ácido com a embalagem a vácuo. Contudo, essa afirmativa é contestável, uma vez que o material usado para embalagem a vácuo (PE) é inadequado por não apresentar características de barreira adequadas (XAVIER, 1990).

ZEITOUN & DEBEVERE (1991) estudaram o efeito de tratamentos com ácido láctico (tampão lactato pH 3,0) em várias concentrações e/ou atmosfera modificada (90% CO₂ +10% O₂) em coxas de frango estocadas a 6°C. Observaram uma diminuição significativa nas contagens iniciais de *Listeria* por alguns dias, seguido de um aumento com o tempo de estocagem. A vida-de-prateleira das amostras tratadas com ácido láctico a 2%, 5% e 10% foi de 8, 9 e 10 dias, respectivamente. As amostras acondicionadas em atmosfera modificada (90% CO₂ + 10% O₂) puderam ser estocadas por 13 dias, e as submetidas ao tratamento combinado (ácido láctico 10% em atmosfera modificada com 90% CO₂ + 10% O₂), por 17 dias. O aumento da vida útil das amostras submetidas a esse tipo de tratamento é compatível com o esperado, contudo, nenhum comentário foi feito a respeito da qualidade sensorial dessa carne. A literatura recomenda que concentrações de no máximo 2% de ácido láctico sejam usadas a fim de evitar problemas de descoloração na superfície da carne (MAREL *et al.*, 1989; XAVIER & BERAQUET, 1993).

Em estudos posteriores (ZEITOUN & DEBEVERE, 1992; ZEITOUN, 1992) foi comprovado que a combinação do tratamento com ácido láctico e acondicionamento em atmosfera modificada permite maior aumento da vida-de-prateleira (de 2 a 4 dias) do que o uso isolado de qualquer uma dessas condições em separado.

SAWAYA *et al.* (1993a) estudaram o efeito de tratamento com sorbato de potássio, da embalagem a vácuo ou da associação desses tratamentos em carcaças de frango evisceradas estocadas a 4 ou a 7°C. Observaram que a embalagem a vácuo inibiu significativamente o crescimento de *Pseudomonas*. As contagens de *Enterobacteriaceae*, embora fossem semelhantes

para qualquer dos tratamentos, foram significativamente menores do que no controle. Observou-se um efeito sinérgico entre o tratamento com sorbato de potássio e a embalagem a vácuo, com conseqüente aumento de mais 5 dias (7°C) e 11 dias (4°C) no tempo de estocagem, com relação às amostras submetidas a qualquer dos tratamentos em separado.

McMEEKIN *et al.* (1984) estudaram o efeito da embalagem a vácuo em filés submetidos previamente à imersão em solução de sorbato de potássio a 5% e verificaram que houve um grande aumento da vida-de-prateleira das amostras, sendo: 35 dias para as amostras estocadas a 2°C, 14 dias para as estocadas a 5°C e 7 dias a 12°C. Os autores observaram um efeito sinérgico com a combinação desses dois métodos, mas afirmam que o efeito antimicrobiano do sorbato é dependente da temperatura, uma vez que à temperatura mais alta não foi observado nenhum ganho no período de estocagem, embora tenha havido uma redução significativa nas contagens de enterobactérias.

GRAY *et al.* (1984) avaliaram a eficiência da imersão em sorbato de potássio a 1, 2.5 ou 5% com pH ajustado para 6.0, associado à embalagem a vácuo ou à atmosfera modificada (20, 60 ou 100% CO₂) na letalidade de *Salmonella enteritidis* e *Staphylococcus aureus* previamente inoculados em coxas de frango. Os autores verificaram que a *S. enteritidis* apresentou maior sensibilidade ao sorbato de potássio do que o *S. aureus*, e este último apresentou maior sensibilidade a altas concentrações de CO₂, e que o aumento da concentração da solução de sorbato juntamente com o aumento da concentração de CO₂ melhora a eficiência desse método combinado para inibição do crescimento desses patógenos em carne de frango.

3. OBJETIVOS

O presente trabalho teve por objetivos:

3.1. Objetivo geral:

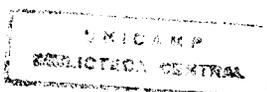
Estabelecer técnicas que aumentem a vida útil da carne de frango refrigerada sem a perda da sua qualidade global.

3.2. Objetivos específicos:

a. Avaliar mudanças nas características microbiológicas, físicas, químicas e sensoriais da carne de frango refrigerada submetida aos seguintes tratamentos:

- imersão em soluções de ácidos orgânicos e seus sais;
- embalagem a vácuo ou em atmosfera modificada.

b. Avaliar o efeito de combinações desses tratamentos na conservação da carne de frango.



4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Material

Filés de peito de frango sem pele (*Musculus pectorales*) foram adquiridos em abatedouro da região, 2 a 4 horas *post mortem*, e transportados refrigerados para a Planta Piloto do Centro de Tecnologia da Carne do Instituto de Tecnologia de Alimentos - CTC/ITAL, em caixas de isopor contendo gelo picado.

4.2. Metodologia Experimental

4.2.1. Tratamentos efetuados

a. Aplicação de ácidos orgânicos e seus sais

As amostras previamente aleatorizadas foram submetidas à imersão nas seguintes soluções de ácidos orgânicos ou sal por um minuto:

- ácido acético a 1,0%
- ácido acético a 0,5%
- ácido láctico a 1,0%
- sorbato de potássio a 1,0%
- sorbato de potássio a 2,0%
- sem tratamento (controle).

Após os tratamentos os filés foram deixados a gotejar por aproximadamente um minuto e embalados convencionalmente em sacos de polietileno (PE), ou a vácuo em sacos de material de baixa permeabilidade a gases (PA/EVOH/PE), com permeabilidade ao oxigênio de 7 cc O₂ / m² atm 24h. A estocagem das amostras foi feita em prateleiras de câmaras de refrigeração mantidas a temperatura entre 0 e 2°C e protegidas da luz.

b. Atmosfera modificada

Os filés de frango previamente aleatorizados foram acondicionados em material de baixa permeabilidade a gases (PA/EVOH/PE), com permeabilidade ao oxigênio de $7 \text{ cc O}_2 / \text{m}^2 \text{ atm}$ 24h., sob as seguintes condições:

- a) 100% CO_2
- b) 75% CO_2 + 25% N_2
- c) 50% CO_2 + 50% N_2
- d) 25% CO_2 + 75% N_2
- e) a vácuo (controle).

O equipamento utilizado para evacuação, injeção e fechamento das embalagens foi do tipo câmara (SUPERVAC - Digimat). Todas as amostras foram estocadas em prateleiras de câmaras de refrigeração com temperatura entre 0 e 2°C e protegidas da luz.

4.2.2. Análises e medidas

a) pH na superfície dos filés

O pH das amostras foi medido potenciométricamente em pHmetro INGOLD -WTW-pH91, em triplicata, com sistema de indicação digital LCD, precisão de $\pm 0,01$ pH, sensor de compensação de temperatura Tec 530 e eletrodo de vidro apropriado para determinações de pH em superfícies..

b) Análises microbiológicas

A técnica adotada foi a recomendada pela INTERNATIONAL STANDARDIZATION ORGANIZATION (ISO, 1988), cujos procedimentos são resumidamente descritos a seguir.

Tomou-se uma amostra composta de 10 cm^2 ($5 \times 2 \text{ cm}^2$) da superfície de filés de peito de frango (em duplicata) e macerou-se em solução salina peptonada (0,85% NaCl ; 0,1% peptona)

durante 1 minuto em "stomacher" (Laboratory blender - STOMACHER 400 - SEWARD). Em seguida foram preparadas diluições adequadas para cada amostra, as quais foram semeadas por superfície em meios de cultura apropriados para as seguintes contagens :

b.1.) contagem total de psicrótrófilos - em PCA (Plate Count Agar) da OXOID; incubação a 20°C por 72 horas;

b.2.) contagem de bactérias lácticas - em MRSsA (Man Rogosa and Shape Agar), da OXOID, com adição de sorbato de potássio e pH ajustado para 5,7; incubação a 20°C por 72 h (BAIRD *et al.*, 1987);

b.3.) contagem de *Pseudomonas* - em PAB (Pseudomonas Agar Base) com adição do suplemento CFC (cefaloridina, fucsina, citramida), incubação a 20°C por 72 h (BAIRD *et al.*, 1987);

b.4.) contagem de *Enterobacteriaceae* - em VRBG (Violet Red Bile Glucose Agar), da OXOID, incubação a 35°C por 24 h (BAIRD *et al.*, 1987).

c) Análise sensorial

Uma equipe de 10 provadores treinados avaliou as amostras por meio de escalas não-estruturadas de 10 cm, utilizando o sistema de análise sensorial computadorizada do Centro de Tecnologia da Carne do Instituto de Tecnologia de Alimentos - CTC/ITAL, desenvolvido pela COMPUSENSE INC. Ltda., versão 4.2. (CSA, 1992). Os seguintes atributos foram avaliados: odor, cor e aparência geral. As amostras foram apresentadas aos provadores em pratos brancos cobertos com filme esticável, em cabines individuais.

d) Perda de peso por exsudação

A perda de peso por exsudação foi calculada pela diferença entre o peso inicial e final das amostras em cada época de análise, usando-se uma balança eletrônica Mettler semi-analítica digital com precisão de 0,1g para as pesagens.

e) Volume e composição do espaço-livre

A variação de volume do espaço-livre das amostras durante a estocagem foi medida pela média do volume inicial e a média do volume final das embalagens, segundo recomendação de PADULA *et al.*, 1989.

A composição gasosa do espaço-livre das embalagens foi determinada durante a estocagem por meio de cromatografia gasosa, segundo as técnicas recomendadas por PADULA *et al.*, 1989.

f) Análise estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata. As variáveis estudadas foram submetidas à análise de variância (ANOVA) e as médias individuais comparadas através do teste de Tukey ao nível de 95% de significância através do programa STATGRAPHICS, 1989.

4.2.3. Capacidade tamponante do músculo de diferentes espécies

Foram feitas curvas de titulação para os seguintes cortes cárneos: contra-filé bovino (músculo *Longissimus dorsi*), lombo suíno (músculo *Longissimus dorsi*), coxa de frango (*fibularis longus*, *gastrocnemius*, *fibularis brevis*, *tibialis cranialis*, *extensor digitorus longus*) e peito de frango (*Musculus pectorales*). Para tanto tomaram-se 300 gramas de músculo livre de gordura, cartilagens e tecido conjuntivo e homogeneizaram-se em triturador. Desse material foram retiradas 10 gramas, as quais foram homogeneizadas (em triplicata) com 20 ml de água destilada em homogeneizador SORVALL OMNI MIXER 17220 (IVAN. SORVALL Inc. Newton - USA) por 1 minuto. Em seguida o homogeneizado foi filtrado e titulado com os seguintes ácidos orgânicos: ácido acético a 1,0%, ácido láctico a 1,0% e ácido cítrico a 1,0%.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. CAPACIDADE TAMPONANTE DAS PROTEÍNAS DA CARNE

As propriedades da carne estão diretamente relacionadas à estrutura proteica do músculo e às reações bioquímicas que nele ocorrem. Na carne consumida como alimento temos como proteínas principais as miofibrilares e as sarcoplasmáticas, as quais representam até 95% da matéria orgânica presente (CHEFTEL *et al.*, 1983). As sarcoplasmáticas representam aproximadamente 30 a 35% da proteína total do músculo esquelético, e contêm pelo menos de 100 a 200 proteínas diferentes, dentre as quais a mioglobina e as enzimas do metabolismo celular. As miofibrilares representam em torno de 52 a 56% da proteína total do músculo, e as presentes em maior proporção são a miosina (55 a 58%) e a actina (15 a 22%), entre outras. As propriedades de cada uma dessas importantes proteínas é descrita na literatura (CHEFTEL *et al.*, 1983, SGARBIERI, 1996), e não serão discutidas neste trabalho. Entretanto, é com base na evidente complexidade existente no sistema que procuramos ter uma idéia a respeito do comportamento da carne proveniente de músculos e espécies diferentes, submetida a tratamentos com diferentes ácidos orgânicos, uma vez que na literatura não foram encontradas informações a esse respeito, o que evidentemente poderia influenciar na ação dos ácidos utilizados como agentes antimicrobianos.

Com relação à capacidade dos diferentes ácidos orgânicos em diminuir o pH da carne, notou-se que as curvas de titulação dos ácidos láctico e cítrico foram muito semelhantes para os quatro cortes cárneos das três diferentes espécies, atingindo um pH final próximo a pH 3,0 (FIGURAS 1 e 2), independentemente do pH inicial característico de cada corte. As amostras tituladas com o ácido acético apresentaram uma diferença de 0,5 a 1,0 unidade de pH, a qual aumenta com o aumento do volume de ácido adicionado, ou seja, ao final da titulação o pH encontrado foi aproximadamente igual a 4,0 (FIGURA 3). Para os cortes de contra-filé bovino, coxa e peito de frango esta diferença começa a aparecer após a adição de 4,0 a 5,0 ml desse ácido,

ou quando o pH atinge valores próximos a pH 4,0, abaixo do qual a curva de titulação começa a se diferenciar dos outros ácidos (FIGURA 4 a, b e c). Para o corte de lombo suíno, a curva de titulação se mostra diferenciada das demais desde o início da titulação, tornando-se a diferença mais evidente quando a adição de ácido se torna superior a 1,0 ml (FIGURA 4 d). Esses resultados demonstram que há uma característica diferenciada do ácido acético com relação aos demais, e comprova, também neste sistema proteico, de forte efeito tamponante, a prevalência de suas características de dissociação, conforme indica SILLIKER, 1980. Pelos resultados obtidos não foram evidenciadas diferenças marcantes na capacidade tamponante dos músculos e espécies estudadas. Em consequência, os resultados obtidos com os tratamentos utilizados nesse estudo podem ser transpostos para outras espécies.

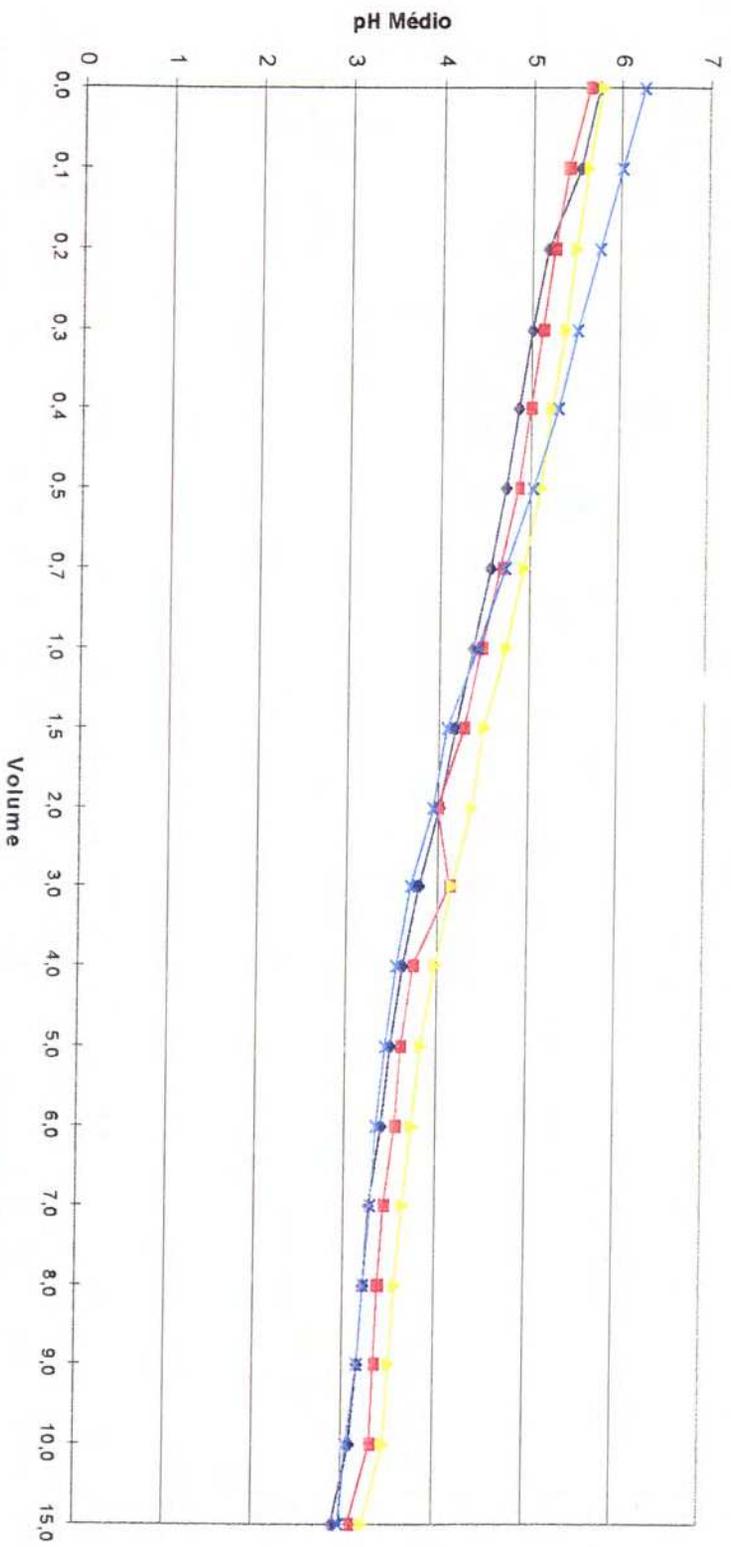


FIGURA 1 - Capacidade tamponante das proteínas de alguns cortes cárneos titulados com ácido láctico a 1%.

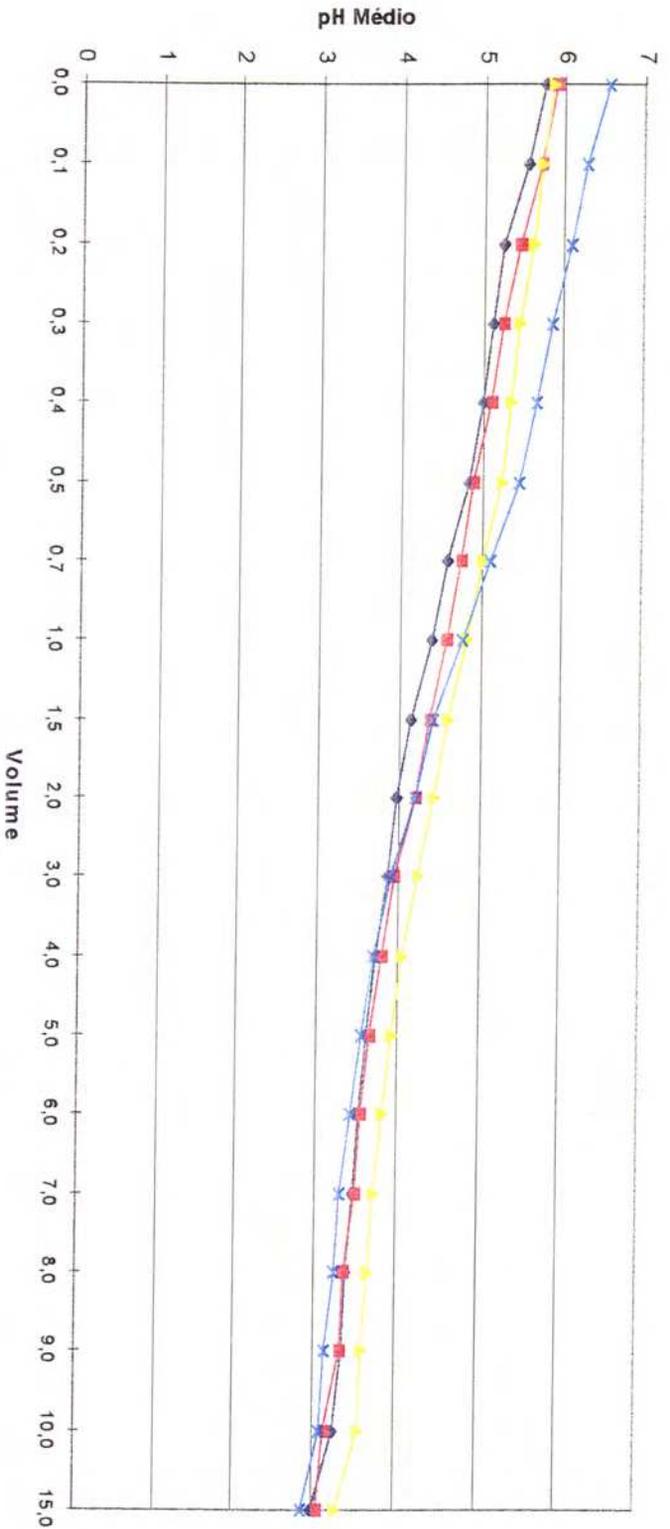
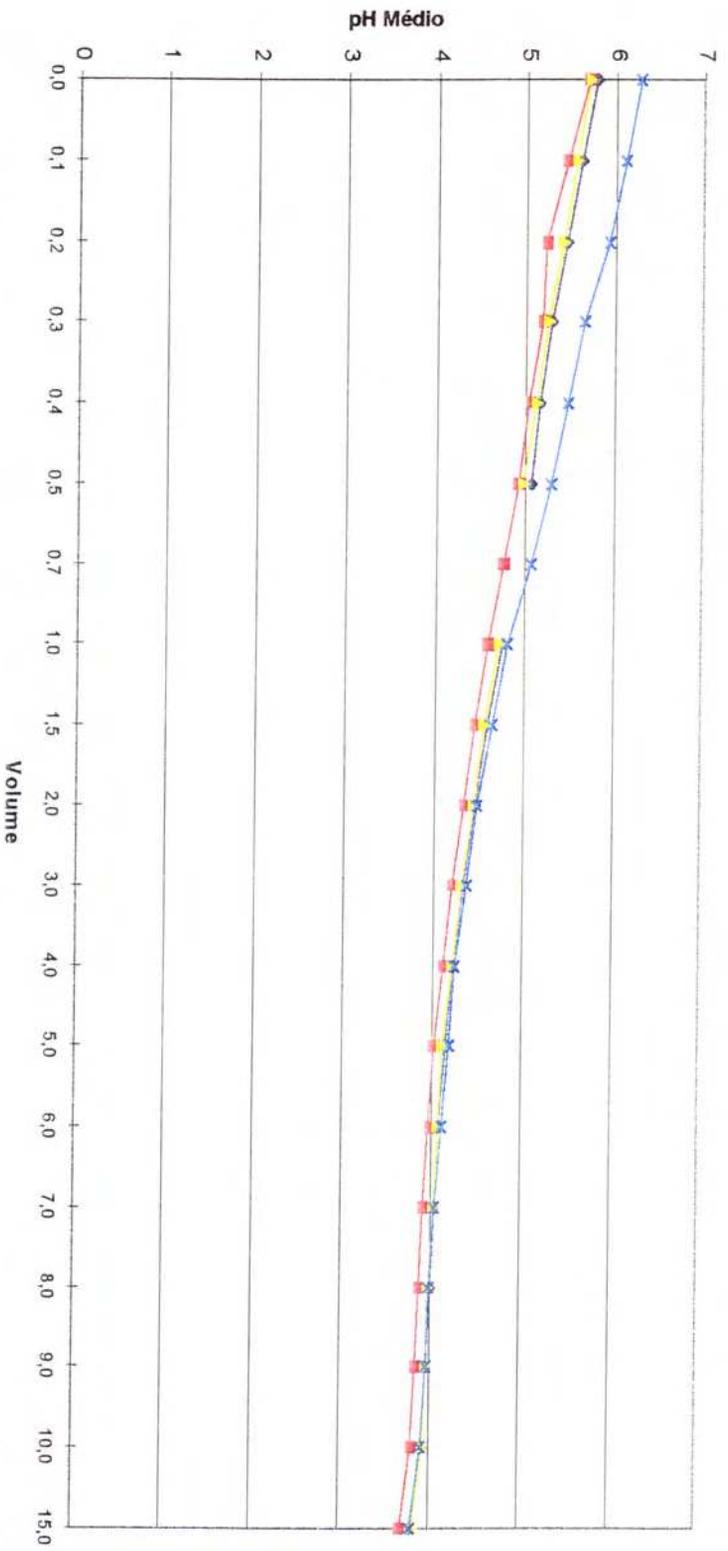


FIGURA 2 - Capacidade tamponante das proteínas de alguns cortes cárneos titulados com ácido cítrico a 1%.

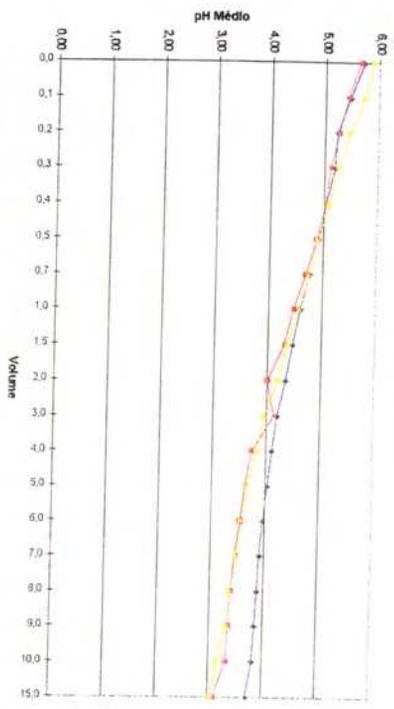




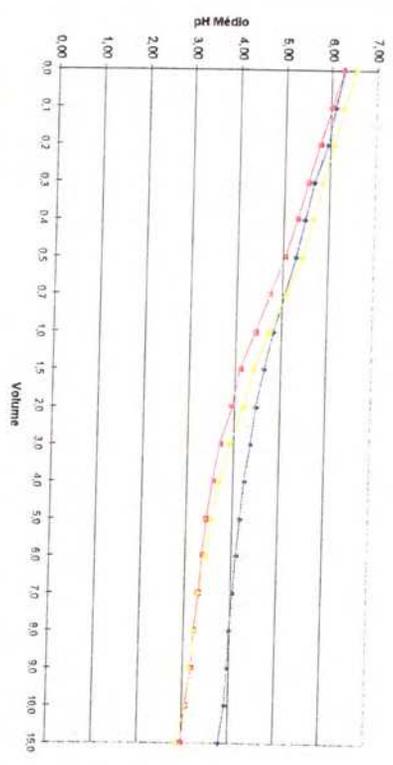
● Lombo suíno ■ Contra-filé bovino ▲ Peito de Frango × Coxa de Frango

FIGURA 3 - Capacidade tampomante das proteínas de alguns cortes cárneos titulados com ácido acético a 1%.

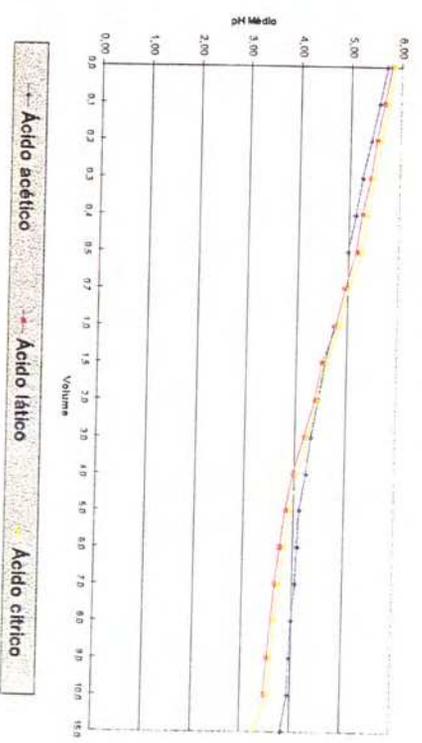
CONTRA-FILE BOVINO



COXA DE FRANGO



PETTO DE FRANGO



LOMBO SUINO

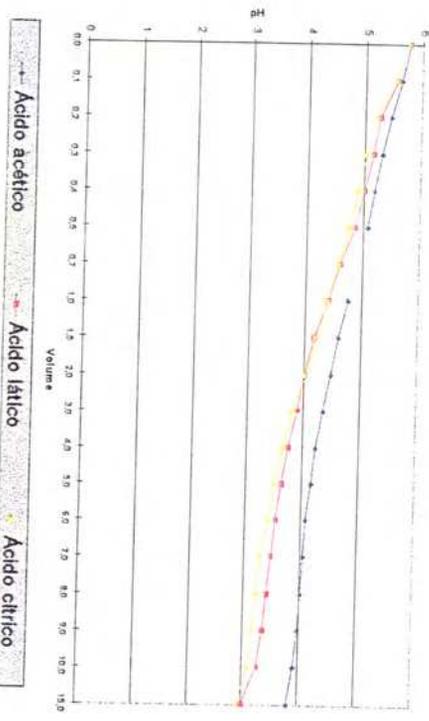


FIGURA 4 - Capacidade tamponante das proteínas de diversos cortes carnes titulados com ácido láctico, ácido cítrico e ácido acético a 1%.

5.2. EFEITO DOS ÁCIDOS ORGÂNICOS E SEUS SAIS

5.2.1. Variação de pH e perda de peso durante a estocagem

Sabe-se que a queda de pH que ocorre durante o metabolismo *post-mortem* é um dos fatores importantes que contribui para a conservação da carne. A aplicação de ácidos orgânicos na superfície da carne diminui o pH superficial da mesma, onde o número de células bacterianas é maior, e tem como objetivo diminuir a contagem de bactérias deterioradoras por meio de seu efeito bactericida. A variação do pH na superfície das amostras de filé de peito de frango durante a estocagem entre 0 e 2°C é apresentada no QUADRO I.

Com base nos resultados obtidos podemos afirmar que, para as amostras tratadas com ácido láctico e com ácido acético, inicialmente houve uma diminuição do pH na superfície da carne, ocasionada pelo contato da solução ácida com a superfície da mesma. Após 2 ou 3 dias de estocagem, ocorreu uma estabilização do pH devido, provavelmente, à difusão e dissociação dos ácidos, até que outros eventos, como o crescimento microbiano e conseqüente liberação de metabólitos e as reações de autodegradação, ocasionaram um aumento de pH do músculo.

A queda de pH ocasionada pelos diferentes ácidos imediatamente após a imersão (0 dia de estocagem) pode ser considerada decisiva para a eficiência dos tratamentos com soluções de ácidos orgânicos (OSTHOLD *et al.*, 1984), e está relacionada com a sua capacidade de dissociação (SILLIKER, 1980). Assim, a queda de pH provocada pelo ácido acético (menos dissociado) foi menor do que a ocasionada pelo ácido láctico na mesma concentração (1%). O sorbato de potássio não causou mudanças significativas no valor de pH das amostras nas concentrações utilizadas. A análise estatística por meio do teste de Tukey demonstrou haver diferenças significativas entre as amostras tratadas com os ácidos acético ou láctico e as não-tratadas ou tratadas com sorbato de potássio somente logo após o tratamento. Durante a estocagem não houve diferenças estatisticamente significativas entre os vários tratamentos, exceto

no dia 0, ou seja, imediatamente após a imersão. Resultados semelhantes foram encontrados por SILVA (1995), que utilizou misturas de ácidos orgânicos na sanitização de carne bovina.

Sabe-se que apesar da redução dos valores de pH ter um efeito antimicrobiano desejável, pode também levar à maior perda de peso por exsudação, pelo fato de haver menor capacidade de retenção de água das proteínas em faixas de pH muito baixas, próximo ao ponto isoelétrico das mesmas. Isso implicaria tanto em perdas econômicas para a indústria quanto em piores características de suculência e maciez da carne.

A QUADRO II apresenta os resultados da perda de peso durante a estocagem das amostras de filé de peito de frango submetidas a tratamentos com ácidos orgânicos.

No QUADRO II podemos observar que houve uma grande variação entre os resultados obtidos, a qual pode ser atribuída à heterogeneidade de lotes e diferentes condições dos animais durante as etapas do abate, bem como às condições de manuseio dos mesmos nas etapas de processamento, como retirada do filé. Contudo, pode-se observar um efeito diferenciado dos tratamentos quando levamos em consideração os valores médios, como comprovado pelo teste de Tukey: as amostras não tratadas (convencional) e as tratadas com sorbato de potássio a 1% apresentaram menor exsudação, abaixo de 1%, e foram consideradas estatisticamente diferentes das demais. Os tratamentos com sorbato de potássio a 2% e com ácido láctico a 1% ocasionaram perdas de peso médio em torno de 1,8%, e estatisticamente não apresentaram diferenças entre si. As maiores perdas, em torno de 2,5%, foram observadas nas amostras tratadas com ácido acético a 0,5 e a 1%. Esses resultados estão de acordo com a literatura (FORREST *et al.*, 1975, LAWRIE, 1977), que indica que a queda de pH do músculo diminui a sua capacidade de retenção de água. De acordo com SGARBIERI (1996), é incomum que a degradação de proteínas ocorra pela ação dos ácidos quando o pH está acima de 4,0, mas pode haver perda de solubilidade daquelas cujos pontos isoelétricos se encontrem nas faixas de pH ligeiramente ácido, como é o caso das proteínas da carne. YUU-CHU-WU & JENG-YANN-KE (1993) também verificaram um aumento de perda de peso por exsudação em amostras de peito de frango tratadas com ácido

ascórbico, lactato de potássio e sorbato de potássio entre 0,5 e 1%, juntamente com a queda de pH, mas salientam que as características de maciez da carne foram melhoradas com esses tratamentos. Do ponto de vista econômico seria necessário avaliar se o aumento de vida útil compensa essa diferença em perda de peso, devendo-se ainda levar em consideração possíveis problemas com a aparência do produto e exsudado dentro da embalagem.

QUADRO I - Variação do pH de filés de peito de frango* submetidos a tratamentos com ácidos orgânicos e sais e/ou embalados convencionalmente em sacos de polietileno durante a estocagem entre 0 e 2°C.

TRATAMENTO	TEMPO (dias)										Tukey** (95%)	
	0	2	3	4	5	7	10	12	14	16		19
convencional	5.77	5.77	5.91	5.66	5.80	5.83	5.76	5.85	5.72	6.06	5.99	b
ác. acético 1%	5.04	5.57	5.66	5.79	5.70	5.68	5.74	5.60	5.67	5.65	5.71	a
ác. acético 0.5%	5.02	5.67	5.65	-	5.67	5.68	-	5.66	-	5.93	6.01	a
ác. láctico 1%	4.74	5.64	5.65	5.90	5.71	5.68	5.76	5.71	5.70	5.64	5.87	a
sorbato 1%	5.80	-	-	5.80	-	5.63	5.92	5.82	5.71	-	-	a,b
sorbato 2%	5.90	5.93	5.86	-	5.76	5.86	-	5.88	-	5.86	5.78	b
Tukey** (95%)	a	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b

* Os valores apresentados são a média de 3 medidas realizadas em amostras em triplicata em dois ensaios.

** Diferentes letras indicam diferenças significativas ($p < 0.05$) entre as médias.

QUADRO II - Perda de peso (%) em filés de peito de frango* submetidos a diferentes tratamentos e acondicionadas em embalagem de polietileno durante a estocagem entre 0 e 2°C.

TRATAMENTO	TEMPO (dias)										Tukey** (95%)	
	0	2	3	4	5	7	10	12	14	16		19
convencional	0	0.01	1.80	0.21	1.38	1.04	0.65	0.64	0.51	1.30	0.28	a
ác. acético 1%	0	1.90	3.80	2.17	3.05	3.16	2.65	3.80	2.75	6.40	2.60	c
ác. acético 0.5%	0	0.43	2.30	-	3.55	2.00	-	3.40	-	6.10	2.20	c
ác. láctico 1%	0	1.70	1.80	0.46	2.20	1.75	2.60	2.60	1.30	5.70	1.70	b
sorbato 1%	0	-	-	0.08	-	0.48	1.40	1.20	0.11	-	-	a
sorbato 2%	0	1.00	1.60	-	1.45	1.40	-	0.32	-	5.00	2.40	b
Tukey**(95%)	a	a,b	b	a,b	a,b							

* Os resultados apresentados são a média dos valores obtidos para a pesagem de três amostras por tratamento em dois ensaios.

** Diferentes letras indicam diferenças significativas ($p < 0.05$) entre as médias.

5.2.2. Análises microbiológicas

O QUADRO III apresenta a contagem total de psicrotrófilos (incubação a 20°C) em filés de peito de frango submetidos a diversos tratamentos durante o período de estocagem entre 0 e 2°C. Desses resultados podemos observar que as amostras tratadas com ácido acético e com ácido láctico apresentaram contagens ligeiramente inferiores às demais logo após sua aplicação, porém sem significância. Um efeito inibitório desses ácidos, bem como do sorbato de potássio a 2%, sobre o crescimento bacteriano pode ser notado a partir do 4º ou 5º dia de estocagem, quando comparadas as contagens entre os diferentes tratamentos, observando-se reduções entre 1 e 2 ciclos logarítmicos. O teste de Tukey demonstrou haver diferenças estatísticas significativas ao nível de 5% entre as amostras tratadas com ácido acético e as tratadas com sorbato de potássio a 1%, ácido láctico a 1% e as não tratadas. As menores contagens foram observadas nas amostras tratadas com ácido acético, seguidas pelos tratamentos com sorbato de potássio a 2%, ácido láctico a 1%, sorbato a 1% e não tratadas, em ordem crescente. Usando-se como base de limite máximo aceitável para o número de microrganismos psicrotrófilos presentes em carnes, valores próximos a 7 log UFC/cm², dentro dos quais observam-se aparecimento de odores característicos da deterioração, pode-se dizer que a vida útil para as amostras não tratadas (convencional) foi de 7 dias, para as tratadas com ácido láctico a 1% ou com sorbato de potássio, entre 9 e 10 dias e, para as submetidas ao tratamentos com ácido acético a 0,5% e a 1%, de 12 a 14 dias. Isso significa um incremento de 5 a 7 dias no tempo de estocagem quando comparado com as amostras que receberam tratamento convencional.

MAREL *et al.* (1988) conseguiram estocagem da carne de frango tratada com ácido láctico a 1 e a 2% por 15 e 18 dias a 0°C, respectivamente. Isso significa aproximadamente o dobro do tempo encontrado no presente estudo para o mesmo ácido, e aproximadamente o mesmo tempo para os tratamentos com ácido acético. ZEITOUN & DEBEVERE (1990),

conseguiram um aumento de 6 para 12 dias na vida-de-prateleira de coxas de frango submetidas a tratamento com ácido láctico a 10% e estocadas a 6°C. Esses resultados estão mais próximos dos apresentados neste trabalho, entretanto, devemos levar em consideração as diferenças de concentração do ácido utilizadas neste e naquele estudo, bem como o tipo de corte, uma vez que existem diferenças no período de conservação de carnes de pH final diferentes, como é o caso da coxa e do peito de frango (XAVIER & WIJNGAARDS, 1995). SAWAYA *et al.* (1995) também apresentaram valores próximos a esses para carcaças de frango tratadas com ácido láctico na mesma concentração, porém com a utilização de temperaturas de estocagem mais altas, quais sejam: um adicional de 6 a 7 dias no tempo de estocagem à temperatura de 4°C e de 5 a 6 dias à temperatura de 7°C. DRESSEL & LEISTNER (1984), que estudaram o efeito da imersão de carcaças de frango em solução contendo 2% de ácido acético, 1% de ácido láctico, 0,25% de ácido cítrico e 0.1% de ácido ascórbico e também obtiveram uma vida útil correspondente ao dobro da obtida para as amostras não tratadas. Observaram, entretanto, odor ligeiramente ácido e superfície esbranquiçada nas amostras tratadas com a solução ácida. MULDER *et al.* (1987) utilizaram ácido láctico a 1% na descontaminação de carcaças de frango e observaram uma ligeira alteração na cor das amostras. IZAT *et al.* (1990) também verificaram uma ligeira descoloração de carcaças tratadas com ácido a 1 e a 2% , principalmente nas regiões de maior pigmentação. Essas diferenças se devem principalmente à concentração de ácido usada, à etapa de processamento na qual foi aplicado o tratamento, bem como ao tempo de contato utilizado.

DICKENS & WHITEMORE (1995), utilizando o ácido acético em concentração próxima à utilizada no presente estudo (0,6%), verificaram uma redução de aproximadamente 1 ciclo logarítmico na contagem total de aeróbios após o tratamento,

resultado semelhante ao apresentado no QUADRO III para as contagens no dia 0, ou seja, imediatamente após a imersão.

O efeito antimicrobiano do sorbato de potássio encontrado no presente estudo, qual seja, menor que 1 ciclo logaritmico após o tratamento, e 2 ciclos logarítmicos aos 7 dias de estocagem, com um aumento de 2 a 3 dias na vida-de-prateleira, foi menor do que o relatado por outros autores. CUNNINGHAM (1981 e 1982) recomenda o uso de sorbato de potássio a várias concentrações que variam de 2,5 a 10% para inibição da microbiota deterioradora da carne de frango, e relata uma redução de pelo menos 2 ciclos logarítmicos na contagem total após 10 dias de estocagem, quando comparadas com amostras não tratadas. ROBACH (1979a) afirma ter obtido uma redução de 3 ciclos logarítmicos nas contagens de *Pseudomonas putrefaciens* inoculadas em caldo seletivo e após 6 dias de incubação a 24°C, e um incremento de 10 para 19 dias na vida útil de carcaças de frango tratadas com sorbato de potássio a 5% por 30 segundos. O mesmo período de estocagem foi apontado por ROBACH (1979b), que utilizou tratamento semelhante e temperatura de estocagem em torno de 3°C, e por CUNNINGHAM (1979), com o uso de sorbato de potássio entre 5 e 15% por 30 ou 60 segundos. Contudo, TO & ROBACH (1980) e SAWAYA *et al.* (1993a) verificaram incrementos em torno de 6 a 7 dias no tempo de estocagem de carcaças de frango tratadas com sorbato de potássio na mesma concentração, porém estocadas a 3 e a 7°C, respectivamente.

Em condições aeróbias e temperaturas de refrigeração a carne de frango é especialmente susceptível ao crescimento de bactérias aeróbias Gram negativas, dentre as quais as *Pseudomonas* são as mais significativas. Esses microrganismos crescem muito bem na superfície da carne, onde formam pequenas colônias que posteriormente coalescem, causando o induto viscoso característico da deterioração da carne de frango.

QUADRO III - Contagem total de psicrotróficos (log UFC/cm²) em filés de frango* submetidos a tratamentos com ácidos orgânicos ou sais e embalados convencionalmente em sacos de polietileno e estocados entre 0 e 2°C.

TRATAMENTO	TEMPO (dias)										Tukey** (95%)	
	0	2	3	4	5	7	10	12	14	16		19
convencional	4.40	4.20	4.30	6.55	4.90	6.43	8.45	8.00	8.40	8.70	8.50	c
ác. acético 1%	3.70	4.20	4.10	4.85	4.05	5.20	6.25	5.93	7.40	7.50	7.70	a,b
ác. acético 0.5%	3.65	4.30	4.20	-	4.10	4.50	-	5.50	-	8.80	8.40	a
ác. láctico 1%	3.45	4.30	4.20	5.50	4.65	5.30	7.50	7.40	8.40	8.60	7.40	b
sorbato 1%	-	-	-	5.30	-	6.40	7.80	8.70	8.60	-	-	c
sorbato 2%	4.00	4.40	4.30	-	4.55	4.40	-	7.75	-	8.80	7.80	a,b
Tukey *(95%)	a	a	a	b	a	b	c,d	c	d,e	e	d,e	

* Os valores apresentados são a média de medidas realizadas em amostras em triplicata em dois ensaios.

** Diferentes letras indicam diferenças significativas (p<0.05) entre as médias.

O QUADRO IV apresenta os resultados das contagens de *Pseudomonas* nas amostras de filé de peito de frango embaladas convencionalmente. Como nos resultados apresentados anteriormente, também foi observada melhor eficiência dos tratamentos com ácido acético na inibição do crescimento de *Pseudomonas*, tendo as amostras atingido contagens próximas a $7 \log \text{ UFC/cm}^2$ ao redor do 14º ao 16º dia de estocagem refrigerada, podendo-se notar que as contagens foram muito próximas para as amostras submetidas a soluções tanto a 0,5% quanto a 1% de ácido acético. As amostras tratadas com solução de ácido láctico a 1% tiveram suas contagens atingindo valores superiores $7 \log \text{ UFC/cm}^2$ entre o 7º e o 10º dia de estocagem, assim como as amostras não tratadas (convencional), e as tratadas com solução de sorbato a 1%, no 7º dia. O aumento da concentração de 1% para 2% de sorbato de potássio aumentou um pouco a fase lag, sendo que as contagens atingiram $7 \log \text{ UFC/cm}^2$ no 12º dia.

Dentre as enterobacteriaceas encontram-se algumas importantes devido a sua patogenicidade ao homem e aos animais, como *Salmonella*, *Shigella*, e alguns sorotipos de *Escherichia coli* e *Providencia*, bem como encontram-se os indicadores de contaminação fecal. Embora o presente trabalho não tivesse como objetivo avaliar o efeito dos tratamentos com ácidos orgânicos sobre a letalidade de patógenos dessa família, considerou-se importante essa informação complementar devido principalmente à ocorrência de *Salmonella* em carne de aves. A contagem de *Enterobacteriaceae* não é usada como base para determinação de vida de prateleira, sendo porém um importante indicador de contaminação fecal, adequado para avaliar a eficiência da sanitização em plantas de processamento e estimar a qualidade higiênica da manipulação de produtos de origem animal (TATCHER & CLARK, 1975).

QUADRO IV - Contagem de *Pseudomonas* (log UFC/cm²) em filés de peito de frango* submetidos a tratamentos com ácidos orgânicos ou sais e embalados convencionalmente em sacos de polietileno e estocados entre 0 e 2°C.

TRATAMENTO	TEMPO (dias)																			Tukey** (95%)
	0	2	3	4	5	7	10	12	14	16	19									
convencional	3.73	4.20	3.60	6.25	4.10	6.70	8.20	7.50	8.20	8.20	8.30	c								
ác. acético 1%	2.95	3.20	3.00	3.90	3.45	4.30	4.75	5.10	7.00	6.20	6.20	a								
ác. acético 0.5%	3.15	3.70	3.00	-	3.25	3.70	-	5.05	-	7.20	7.20	a								
ác. láctico 1%	3.25	3.60	3.00	4.80	3.85	5.45	7.60	7.47	7.40	7.40	7.40	b,c								
sorbato 1%	-	-	-	5.00	-	7.20	8.30	8.60	8.70	-	-	d								
sorbato 2%	2.75	4.20	3.30	-	4.45	4.40	-	7.25	-	7.70	7.70	a,b								
Tukey** (95%)	a	a,b	a	b,c	a,b	c	c,d	c	d	c,d	d	d								

* Os valores apresentados são a média de medidas realizadas em amostras em triplicata em dois ensaios.

** Diferentes letras indicam diferenças significativas (p<0.05) entre as médias.

O QUADRO V apresenta os resultados de contagem de *Enterobacteriaceae*, realizado apenas para alguns tratamentos, nos primeiros ensaios. Dele podemos observar o grande efeito inibitório do ácido acético no crescimento de enterobactérias na carne de frango, permanecendo as contagens das amostras submetidas a esse tratamento em torno de 3 a 4 ciclos logarítmicos abaixo das demais durante todo o período de estocagem. O teste de Tukey apontou diferença estatística significativa ao nível de 5% entre as amostras tratadas com ácido acético a 1% e as demais, não havendo porém diferenças entre os demais tratamentos e as amostras não tratadas (convencional).

Uma avaliação bastante crítica a respeito das vantagens e desvantagens do uso deste ácido como agente antimicrobiano deve ser realizada se considerarmos que nesta família encontram-se os microrganismos indicadores de contaminação fecal, os quais são utilizados para avaliação das condições de higiene e manipulação dentro das unidades de processamento de alimentos, e portanto teríamos, com o uso desse tratamento, resultados que poderiam mascarar as condições de higiene do local. Entretanto, sabe-se que as linhas de abate e processamento de frango automáticas atualmente existentes são caracterizadas por pontos críticos como o tanque de escalde, as depenadeiras, a linha de evisceração e o próprio "chiller", onde é muito difícil evitar a contaminação, inclusive por enterobactérias, embora haja obrigatoriamente a necessidade de que um controle rígido seja realizado. Nesse caso consideramos que, uma vez cumpridos todos os requisitos básicos de higiene e manipulação necessários à indústria de alimentos, este tratamento pode ser um ótimo agente antimicrobiano, e portanto contribuir para as características desejáveis de conservação da carne de frango refrigerada. ZEITOUN *et al.* (1994) recomendam que a *E. coli* seja usada como índice, após terem realizado vários testes que demonstraram que a contagem de *Enterobacteriaceae* não é válida como indicador quando tratamentos de descontaminação são utilizados. MULDER (1995) também recomenda que novas técnicas de conservação

sejam criteriosamente avaliadas antes de sua aplicação, e que seu uso seja feito como método complementar das medidas de higiene essenciais à qualidade do produto, uma vez que podem mascarar falhas graves de higiene durante o manejo e processamento do frango.

OKREND *et al.* (1986) e LILLARD *et al.* (1987), observaram uma grande redução nas contagens de salmonelas e *Campylobacter* quando adicionaram ácido acético no tanque de escalde de frango a 52°C em concentrações variando entre 1% e 0,028%. MORRISON & FLEET (1985), observaram uma redução de 1000 vezes nas contagens de *Salmonella* em carne de frango tratada com sorbato de potássio a 2,5%, e D'AUBERT *et al.* (1980) conseguiram reduzir em 60% as contagens em carcaças de frango tratadas com sorbato de potássio a 10%. Essa concentração está acima das utilizadas no presente estudo, e por esse motivo esses últimos resultados não são diretamente comparáveis. MAREL *et al.* (1988) relatam a eficiência da aplicação da ácido láctico a 1% e a 2% na redução das contagens de *Enterobacteriaceae* e *S. aureus* em carne de frango refrigerada por 15 a 18 dias. MULDER *et al.* (1987) afirmam que o uso de ácido láctico em concentrações iguais ou superiores a 1% é suficiente para inibir completamente o crescimento de *Salmonella typhimurium* isolada de aves, e que uma concentração de 0,5% é suficiente para reduzir as contagens em 4 ciclos logarítmicos após 5 minutos de contato, porém o estudo foi realizado utilizando cultura pura. IZAT *et al.* (1990) também puderam observar um efeito antimicrobiano sobre as salmonelas com o uso ácido láctico a 1 e a 2%. Os resultados obtidos no presente estudo praticamente não apontam nenhuma diferença entre as contagens obtidas para as amostras tratadas com ácido láctico a 1% e as não tratadas (convencional).

DICKENS & WHITEMORE (1995) utilizaram o ácido acético a 0,6% e verificaram reduções nas contagens de *Enterobacteriaceae* em torno de 0,7 a 1,4 log, e verificaram que a incidência de *Salmonella* pode ser reduzida a níveis bastante baixos (6,7%), quando sistemas adequados são utilizados, neste caso, com a aplicação do ácido acético a 0,6% em

sistema de "chiller" rotativo. No presente estudo o uso de tratamento com ácido acético a 1% proporcionou uma inibição do crescimento das enterobactérias por todo o período de estocagem.

Uma análise global dos resultados apresentados mostra que as amostras não tratadas e embaladas convencionalmente apresentaram as maiores contagens, inclusive de bactérias lácticas (QUADRO VI), cujo potencial de deterioração é baixo, não resultando em efeitos sensoriais (odor e sabor) desagradáveis até que as contagens atinjam valores próximos de $8 \log \text{ UFC/cm}^2$ (XAVIER, 1990). Contudo, altas contagens de *Pseudomonas* e *Enterobacteriaceae* (acima de $6 \log \text{ UFC/cm}^2$) são causas determinantes de rejeição em carnes devido à sua capacidade de metabolizar proteínas produzindo como sub-produtos a amônia, aminas, H_2S e outros compostos de odor característico de putrefação (EGAN, 1984; INGRAM & DAINTY, 1971). Alguns autores indicam o ácido lático e o sorbato de potássio como bons agentes antimicrobianos, principalmente sobre o crescimento de microrganismos deterioradores (RISTIC & OSTHOLD, 1984; SMULDERS *et al.*, 1986; MAREL *et al.*, 1988). Esse efeito não pode ser observado no presente trabalho, conforme os resultados apresentados nos QUADROS III e IV. Contudo, a concentração desses compostos, principalmente do sorbato de potássio, para o qual obteve-se resultados bastante diferentes em função da concentração utilizada, parece ser um fator determinante na sua eficácia como agente antimicrobiano, conforme pode ser observado nesses quadros.

QUADRO V - Contagem de *Enterobacteriaceae* (log UFC/cm²) em filés de peito de frango* submetidos a tratamentos com ácidos orgânicos ou sais e embalados convencionalmente em sacos de polietileno e estocados entre 0 e 2°C.

TRATAMENTO	TEMPO (dias)							Tukey** (95%)
	0	4	7	10	12	14		
convencional	2.89	5.73	<u>7.26</u>	7.72	7.90	8.08	b	
ác. acético 1%	-	3.33	3.66	3.39	3.74	4.49	a	
ác. láctico 1%	-	5.22	6.67	<u>7.31</u>	8.11	8.15	b	
sorbato 1%	-	4.82	6.44	<u>6.92</u>	7.73	8.05	b	
Tukey** (95%)	a	a,b	a,b	b	b	b	b	

* Os valores apresentados são a média de medidas realizadas em amostras em triplicata.

** Diferentes letras indicam diferenças significativas ($p < 0.05$) entre as médias.

QUADRO VI - Contagem de bactérias lácticas (log UFC/cm²) em filés de peito de frango* submetidos a tratamentos com ácidos orgânicos ou sais e embalados convencionalmente durante a estocagem entre 0 e 2°C.

TRATAMENTO	TEMPO (dias)										Tukey** (95%)
	0	2	3	4	5	7	10	12	14	19	
convencional	2.75	3.70	3.60	5.15	4.10	6.30	7.45	7.95	7.40	8.50	b
ác. acético 1%	1.90	2.90	2.00	3.40	3.10	4.40	5.35	5.17	5.60	7.70	a,b
ác. acético 0.5%	2.55	3.70	2.50	-	3.20	2.60	-	5.00	-	8.40	a
ác. láctico 1%	2.25	3.33	3.70	4.10	3.20	4.10	5.60	6.20	7.80	7.40	a,b
sorbato 1%	-	-	-	3.80	-	4.90	5.60	7.00	7.50	-	b
sorbato 2%	2.45	3.10	3.50	-	2.60	2.50	-	2.50	-	7.80	a
Tukey** (95%)	a	a,b	a	a,b,c	a,b	b,c,d	d,e	c,d,e	e	e	

* Os valores apresentados são a média de medidas realizadas em amostras em triplicata em dois ensaios.

** Diferentes letras indicam diferenças significativas (p<0.05) entre as médias.

5.2.3. Análise Sensorial

A análise sensorial da carne fresca é um parâmetro muito importante a ser considerado, uma vez que o consumidor adquire a carne refrigerada com base em aspectos sensoriais como aparência, cor e odor.

Os resultados apresentados a seguir são a média das análises efetuadas com um painel de 8 provadores treinados durante 4 ensaios.

a) Aparência geral e cor

Observando o QUADRO VII podemos verificar que de maneira geral não houve diferença nos resultados da avaliação da aparência geral das amostras submetidas a tratamentos com diferentes ácidos orgânicos ou sal, tendo havido uma variação provavelmente devido à heterogeneidade dos lotes, sem ter sido notado efeito específico dos tratamentos. Isso significa que a essas concentrações não há um efeito prejudicial desses ácidos na aparência do produto. As médias obtidas para aparência geral das amostras atingiram valores menores com o aumento do tempo de estocagem, e a partir do 10º dia apresentam diferença estatística significativa com as obtidas no início da estocagem. Esse resultado é esperado, pois sabe-se que a qualidade desses atributos diminui com o tempo de estocagem, devido a reações de natureza bioquímica e microbiológica que ocorrem no músculo, ocasionando o envelhecimento e conseqüente decomposição do mesmo (CHEFTEL *et al.*, 1989). Ao final do período de estocagem (a partir do 14º dia) esses valores se encontram próximos ao limite estabelecido como aceitável (5,0).

QUADRO VII - Aparência geral das amostras de filé de peito de frango* submetidas a diferentes tratamentos, embaladas convencionalmente em sacos de polietileno e estocadas entre 0 e 2 o C.

TRATAMENTO	TEMPO (dias)										Tukey** (95%)	
	0	2	3	4	5	7	10	12	14	16		19
Convencional	8,30	8,50	8,00	7,10	7,15	7,20	6,85	5,16	5,32	4,70	4,50	a
Ác. acético 1%	7,90	7,10	6,70	5,76	7,50	6,40	5,18	6,11	3,76	6,40	6,10	a
Ác. acético 0,5%	8,00	6,90	7,70	-	7,45	8,40	-	6,65	-	4,20	6,50	a
Ác. láctico 1%	7,80	7,80	7,00	5,90	7,25	6,72	5,51	5,00	3,88	4,50	5,10	a
Sorbato 1%	-	-	-	5,39	-	6,85	6,39	5,61	6,10	-	-	a
Sorbato 2%	8,25	7,50	7,90	-	7,25	8,00	-	5,95	-	5,40	6,30	a
Tukey** (95%)	a	a	a	a,b	a	a	b	b	b	b	b	

Significado da escala: 0 - não característico 5 - limite de aceitação 10 - característico

*Os resultados apresentados são a média das análises obtidas em dois ensaios.

** Diferentes letras indicam diferenças significativas ($p < 0.05$) entre as médias.

Os resultados da avaliação da cor são apresentados no QUADRO VIII, onde podemos observar que embora apareçam variações aleatórias nos valores médios para qualquer tratamento durante todo o período de estocagem, o que parece ocorrer mais devido à heterogeneidade das amostras no lote do que devido aos tratamentos em si, o teste de Tukey aponta diferenças estatísticas ao nível de 5% de significância entre as amostras tratadas com ácido acético a 1% e ácido láctico a 1% e as não tratadas. As submetidas ao tratamento com menor concentração de ácido acético (0,5%) e as tratadas com sorbato a 2% não apresentaram diferenças com relação às demais amostras. Portanto, o aumento da concentração de ácido acético de 0,5% para 1% foi suficiente para provocar alterações de cor no filé de peito de frango.

Alterações de cor da carne de frango tratada com os ácidos acético e láctico, caracterizadas como palidez, são descritas por SMULDERS *et al.* (1986) e atribuídas à desnaturação de proteínas devido à queda de pH. DRESSEL & LEISTNER (1984) usaram tratamentos com ácido acético a 2%, ácido láctico a 1%, ácido cítrico a 0,25% e ácido ascórbico a 0,1%, e observaram que todas as amostras tratadas com soluções ácidas apresentaram sua superfície esbranquiçada. O mesmo efeito foi observado por outros autores (IZAT *et al.*, 1990; MULDER *et al.*, 1987), que usaram tratamentos de imersão em ácido láctico a 1 ou a 2%. DICKENS *et al.* (1994), utilizando o ácido acético a 0,6% como agente antimicrobiano na água de resfriamento, verificaram que a cor da pele das carcaças tratadas teve uma ligeira alteração para amarelada. Um efeito de descoloração não pode ser claramente observado no presente estudo para as amostras tratadas com ácido acético a 0,5%, bem como para as tratadas com sorbato a 2%, provavelmente devido à baixa concentração utilizada e ao pouco tempo de contato com as soluções de imersão.

QUADRO VIII - Avaliação da cor das amostras de filé de frango submetidas a diferentes tratamentos, embaladas convencionalmente em sacos de polietileno e estocadas entre 0 e 2°C.

TRATAMENTO	TEMPO (dias)										Tukey** (95%)
	0	2	3	5	7	12	16	19			
Convencional	6,40	4,70	5,00	4,60	5,50	4,65	3,10	3,00			a
Ác. acético 1%	6,90	6,20	7,50	5,75	6,00	5,65	3,70	6,40			b
Ác. acético 0,5%	6,10	5,50	5,60	6,10	5,30	6,15	2,40	5,00			a,b
Ác. láctico 1%	6,05	5,10	6,80	5,15	6,10	6,00	7,20	7,10			b
Sorbato 2%	5,75	4,60	5,30	5,20	4,70	4,70	6,40	4,00			a,b
Tukey** (95%)	a	a	a	a	a	a	a	a			a

Significado da escala: 0 - esbranquiçada 5 - desejável 10 - escurecida

*Os resultados apresentados são a média das análises obtidas em dois ensaios.

** Diferentes letras indicam diferenças significativas ($p < 0.05$) entre as médias.

b) Odor

Os resultados obtidos para a avaliação do odor são apresentados no QUADRO IX.

A literatura indica que alguns tratamentos com ácidos podem alterar o odor e o sabor característico de carne de frango (SMULDERS *et al.*, 1986). Observando o QUADRO IX, se considerarmos o valor cinco como o de características ótimas, e valores de cinco mais ou menos um como inaceitáveis, podemos notar que a concentração de ácidos ou sais utilizados no presente estudo estiveram abaixo do limite necessário para causar alterações de odor detectáveis pelos provadores, uma vez que não houve diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos no início do período de estocagem, exceto para as amostras tratadas com ácido acético a 1%, cujo odor foi considerado mais ácido do que o das demais durante os primeiros dias de estocagem.

A diminuição nos valores das médias durante o período de estocagem está dentro da expectativa normal, uma vez que, com o aumento do tempo de estocagem, ocorrem o crescimento de microrganismos deterioradores presentes na superfície da carne, bem como reações bioquímicas de auto-degradação, que conferem odor e sabor desagradáveis ao produto (JAY, 1992). A alteração do odor para "pútrido" está relacionado com as contagens bacterianas, conforme esperado. Embora os tratamentos tenham apresentado médias para avaliação do odor bastante próximas, as quais encontram-se próximas aos limites determinados como inaceitáveis entre 12 e 16 dias de estocagem, o coeficiente de correlação determinado entre esses valores e os obtidos para as contagens de psicotrófilos e de *Pseudomonas* foram de -0,7595 e -0,7145, respectivamente. Possivelmente o intervalo de 4 dias para realização da avaliação tenha sido muito grande, nessa fase final de estocagem, e diferenças mais significativas pudessem ser notadas se tivéssemos os resultados referentes ao 14º dia de estocagem.

QUADRO IX - Avaliação do odor de amostras de filé de peito de frango submetidas a diferentes tratamentos eacondicionadas em sacos de polietileno durante a estocagem entre 0 e 2° C.

TRATAMENTO	TEMPO (dias)										Tukey** (95%)
	0	2	3	5	7	12	16	19	2,80		
Convencional	5,10	4,90	4,60	5,65	5,10	4,20	2,70	2,80	2,80	a,b	
Ác. acético 1%	6,65	5,90	6,50	5,60	5,50	5,25	3,50	3,90	3,90	b	
Ác. acético 0,5%	5,75	5,40	4,80	5,10	5,00	5,60	2,60	3,60	3,60	a,b	
Ác. láctico 1%	5,30	4,60	5,10	4,95	4,80	4,85	2,10	3,20	3,20	a	
Sorbato 2%	5,50	4,40	5,00	4,50	4,90	4,65	4,00	2,80	2,80	a,b	
Tukey** (95%)	a	a	a	a	a	a	b	b	b		
Significado da escala: 0 - pútrido 5 - desejável 10 - ácido											

*Os resultados apresentados são a média das análises obtidas em dois ensaios.

** Diferentes letras indicam diferenças significativas ($p < 0.05$) entre as médias.

5.3. EFEITO COMBINADO DOS TRATAMENTOS COM A EMBALAGEM A VÁCUO

O principal problema do uso da embalagem a vácuo é que apenas a carne de pH normal, entre pH 5,4 e 5,8, pode ser conservada por períodos longos, provavelmente devido à demora no acúmulo de CO₂ proveniente do metabolismo do tecido e/ou microbiano, a níveis inibitórios para o crescimento microbiano (HOLLAND, 1980, STARR, 1984). Portanto, o uso dessa técnica na conservação de carnes de pH superior a 6,0 é considerado ineficiente no prolongamento da vida de prateleira da mesma. Contudo, é possível que a associação do uso de ácidos orgânicos com a embalagem a vácuo tenham um efeito combinado, uma vez que os primeiros têm a capacidade de diminuir o pH superficial durante as primeiras horas de estocagem, o que proporciona condições desfavoráveis para o rápido crescimento das bactérias deterioradoras logo no início da estocagem.

5.3.1. Variação de pH e perda de peso durante a estocagem

A faixa de pH normal para peito de frango após o abate é em torno de 5,70 a 5,90, conforme dados apresentados no presente estudo (FIGURAS 1, 2, 3 e 4 e QUADROS I e X). Pelos resultados apresentados no QUADRO X podemos notar que as variações de pH ocasionadas nas amostras submetidas a diferentes tratamentos e embaladas a vácuo foram bastante semelhantes às das amostras embaladas em filme permeável (polietileno), apresentadas no QUADRO I. Portanto, o efeito principal no abaixamento do pH da superfície da carne é somente devido ao tratamento com ácidos orgânicos, que se difunde para o interior da porção cárnea decorridos algumas horas de estocagem.

QUADRO X - Variação do pH de filés de peito de frango * submetidos a tratamentos com ácidos orgânicos ou sais e embalados a vácuo durante a estocagem entre 0 e 2°C.

TRATAMENTO	TEMPO (dias)											Tukey** (95%)
	0	4	5	7	9	10	14	16	21			
S/ tratamento	5.81	5.78	5.74	5.76	5.81	5.84	5.74	5.72	5.75	5.75	5.75	b,c
ác. acético 1%	5.03	5.56	5.59	5.73	5.69	5.66	5.65	5.58	5.79	5.79	5.79	a
ác. acético 0.5%	5.02	5.70	5.74	5.72	5.64	5.71	5.72	5.63	5.69	5.69	5.69	a
ác. láctico 1%	4.74	5.62	5.73	5.66	5.75	5.76	5.65	5.63	5.67	5.67	5.67	a,b
sorbato 2%	5.90	5.85	5.74	5.81	5.89	5.77	5.75	5.79	5.82	5.82	5.82	c
Tukey** (95%)	a	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b	

* Os valores apresentados são a média das medidas realizadas em triplicata em dois ensaios.

** Diferentes letras indicam diferenças significativas ($p < 0.05$) entre as médias.

Os efeitos da queda de pH sobre a capacidade de retenção de água da carne são bastantes conhecidos (LAWRIE, 1977, FORREST *et al.*, 1975, PRICE & SCHWEIGHT, 1976). A embalagem a vácuo também tende a aumentar a exsudação da carne, uma vez que a mesma é submetida à ação mecânica causada pelo vácuo (HOLLAND, 1980, XAVIER, 1990). Os resultados apresentados no QUADRO XI comprovam estas duas afirmativas. Comparando-se as médias de exsudação obtidas para cada tratamento com e sem o uso de embalagem a vácuo (QUADROS XI e II, respectivamente), pode-se observar que as perdas de peso foram de 1,2 a 1,8 vezes maiores para as amostras embaladas a vácuo submetidas a tratamentos com os mesmos ácidos, o que significa uma perda de pelo menos o dobro de líquido exsudado durante a estocagem. Outro fato interessante é o de que a maior diferença encontrada com relação ao uso da embalagem a vácuo foi para as amostras não tratadas, que representa 2,3 vezes o valor encontrado para as amostras embaladas sem vácuo. Além disso, o mesmo efeito observado para os tratamentos com os diferentes ácidos pode ser observado, ou seja, as amostras não tratadas apresentaram menor exsudação do que as tratadas com os ácido acético a 0,5%, ácido lático a 1% e sorbato de potássio a 2%. Além disso, o aumento da concentração de 0,5% para 1% de ácido acético também provocou maior exsudação, como é demonstrado no QUADRO XI.

QUADRO XI - Perda de peso (%) em filés de peito de frango* submetidos a tratamentos com ácidos orgânicos ou sais e embalados a vácuo durante a estocagem entre 0 e 2°C.

TRATAMENTO	TEMPO (dias)											Tukey** (95%)
	0	4	5	7	9	10	14	16	21			
S/ tratamento	0	1.18	1.10	2.73	1.40	2.60	2.65	1.60	1.40			a
ác. acético 1%	0	4.25	3.70	5.55	2.60	6.10	4.73	3.60	2.70			b
ác. acético 0.5%	0	5.10	2.70	3.10	1.20	5.00	3.90	2.60	1.80			a,b
ác. láctico 1%	0	4.35	2.80	5.00	3.40	3.80	5.45	3.40	3.60			a,b
sorbato 2%	0	3.20	1.40	3.80	1.30	3.60	3.65	1.90	2.30			a,b
Tukey** (95%)	a	c,d	b,c	c,d	b	c,d	c,d	d	b,c			

* Os valores apresentados são a média das medidas realizadas em triplicata em dois ensaios.

** Diferentes letras indicam diferenças significativas ($p < 0.05$) entre as médias.

5.3.2. Análises microbiológicas

Dentre os fatores determinantes do crescimento microbiano, já comentados anteriormente, encontra-se a disponibilidade de oxigênio. Na superfície da carne fresca refrigerada, normalmente crescem bactérias aeróbias dos gêneros *Achromobacter* e *Pseudomonas*. Com o uso da embalagem a vácuo e a conseqüente diminuição da pressão de oxigênio, o crescimento de bactérias do gênero *Pseudomonas* é suprimido e instalam-se outros grupos de bactérias microaerófilas e/ou anaeróbias, dentre as quais os principais são *Lactobacilli*, *B. thermosphacta*, *Shewanella putrefaciens* e *Enterobacteriaceae* (JAY, 1992).

O QUADRO XII apresenta a contagem total de psicrotófilos em filés de peito de frango submetidos a tratamentos com ácidos orgânicos e acondicionados em embalagem a vácuo durante a estocagem entre 0 e 2°C.

Ao compararmos esses resultados com os obtidos nas contagens do mesmo grupo de bactérias das amostras embaladas em sacos de polietileno em condições de aerobiose, podemos observar reduções de aproximadamente 1 ciclo logarítmico ao longo do período de estocagem. Tomando-se por base um limite de 7 log UFC/cm², podemos dizer que a vida útil das amostras embaladas a vácuo foi em torno de 10 a 14 dias, e a das demais amostras, submetidas a qualquer um dos tratamentos com ácidos, de aproximadamente 21 dias. Isto significa um aumento de 3 a 5 dias no tempo de estocagem das amostras não tratadas, de aproximadamente 7 dias das tratadas com ácido acético a 1% e a 0,5%, e de aproximadamente 10 dias para as tratadas com ácido láctico a 1% e com sorbato de potássio a 2%. Esses resultados são comparáveis aos encontrados por SAWAYA *et al.* (1993a), que conseguiram um aumento de 5 dias na estocagem a 7°C e de 11 dias a 4°C na estocagem de

carcaças de frango tratadas com sorbato de potássio (50g/l) e embaladas a vácuo, quando comparadas com as submetidas a qualquer dos tratamentos em separado.

Um efeito semelhante pode ser observado para as contagens de *Pseudomonas* (QUADRO XIII), grupo sobre o qual a embalagem a vácuo tem maior efeito inibitório, uma vez que as mesmas necessitam de oxigênio para seu metabolismo. Nesse caso as contagens se mantiveram bastante baixas durante todo o período de estocagem, podendo ainda ser observado que as contagens encontradas para as amostras não tratadas foram superiores às das amostras tratadas com ácidos orgânicos, o que indica um mecanismo de sinergismo pela combinação desses dois métodos de conservação.

SAWAYA *et al.* (1993b) também encontraram o mesmo efeito em um estudo comparativo entre os efeitos do sorbato de potássio, da embalagem a vácuo e da combinação dos dois em carcaças de frango, concluindo que a embalagem a vácuo reduziu significativamente o crescimento de *Pseudomonas*, tendo menor efeito sobre o crescimento de enterobactérias. O mesmo efeito foi encontrado anteriormente por McMEEKIN *et al.* (1984), que observaram um aumento significativo na vida útil de filés de frango tratados com sorbato de potássio a 5% e embalados a vácuo, em torno de 35 dias a 2°C, com redução nas contagens de enterobactérias. Esses autores concluíram que o efeito sinérgico entre os tratamentos foi o grande responsável pelo aumento da vida útil das amostras, juntamente com a temperatura de estocagem, uma vez que o efeito antimicrobiano do sorbato é dependente da temperatura de estocagem.

QUADRO XII - Contagem total de psicotróficos (log UFC/cm²) em filés de peito de frango* submetidos a tratamentos com ácidos orgânicos ou sais e embalados a vácuo durante a estocagem entre 0 e 2°C.

TRATAMENTO	TEMPO (dias)										Tukey** (95%)
	0	4	5	7	9	10	14	16	21		
S/ tratamento	4.40	5.70	4.20	6.07	4.60	6.50	7.30	6.90	7.70		b
ác. acético 1%	3.70	4.85	3.30	5.00	3.20	5.45	5.80	6.20	6.80		a,b
ác. acético 0.5%	3.65	4.50	-	4.60	3.70	4.30	4.00	6.20	6.50		a
ác. láctico 1%	3.45	4.20	-	4.00	3.70	3.90	4.20	6.30	7.00		a
sorbato 2%	4.00	4.80	3.90	4.20	4.00	3.90	-	6.60	5.40		a
Tukey** (95%)	a,b	a,b,c	a	a,b,c	a,b	a,b,c	a,c,d	d	d		

* Os resultados apresentados representam a média das contagens realizadas em triplicata em dois ensaios diferentes.

** Diferentes letras indicam diferenças significativas ($p < 0.05$) entre as médias.

QUADRO XIII - Contagem de *Pseudomonas* (log UFC/cm²) em filés de peito de frango* submetidos a tratamentos com ácidos orgânicos e sais e embalados a vácuo durante a estocagem entre 0 e 2°C.

TRATAMENTO	TEMPO (dias)										Tukey** (95%)
	0	4	5	7	9	10	14	16	21		
S/ tratamento	3.73	4.40	3.80	4.43	5.00	5.27	6.63	5.50	6.00		b
ác. acético 1%	2.95	3.25	3.00	3.40	2.50	3.65	3.50	4.50	5.00		a
ác. acético 0.5%	3.15	3.00	3.30	3.30	3.50	3.30	3.30	5.70	5.00		a
ác. láctico 1%	3.25	3.75	3.50	2.50	2.50	3.00	3.50	6.10	5.00		a
sorbato 2%	2.75	3.50	3.40	3.30	2.50	2.50	3.90	6.60	4.50		a
Tukey** (95%)	a	a,b,c	a,b	a,b,c	a	a,b,c	b,c,d	b,c,d	b,c,d	b,c,d	b,c,d

* Os resultados apresentados representam a média das contagens realizadas em triplicata dois ensaios diferentes.

** Diferentes letras indicam diferenças significativas ($p < 0.05$) entre as médias

O QUADRO XIV apresenta os resultados das contagens de *Enterobacteriaceae* nos filés de peito de frango submetidos ao tratamento com ácido acético a 1% e/ou embalagem a vácuo. Embora tenha havido um efeito da embalagem a vácuo inibindo o crescimento das enterobactérias, quando comparado com as contagens nas amostras sem tratamento e embaladas em sacos de polietileno (PE), o grande efeito inibitório foi conseguido pelo tratamento com o ácido acético. A essa família pertencem vários grupos de bactérias responsáveis por toxinfecções alimentares, como *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli*, e os coliformes, *Citrobacter*, *Klebsiella* e *Enterobacter*. De acordo com PARDI *et al.* (1993), a velocidade de crescimento dessas bactérias é diminuída pelo uso de baixas temperaturas, uma vez que são mesófilos, embora consigam crescer lentamente a temperaturas de refrigeração. Por serem anaeróbios facultativos, são pouco afetadas pelas variações do potencial de oxirredução do substrato, e são destruídas em pH próximo a 4,0. (LEITÃO *et al.*, 1988). Pelos motivos citados são altamente indesejáveis em alimentos, além de produzirem metabólitos como H₂S e indol, entre outros, que causam odores desagradáveis. Os resultados obtidos no presente estudo estão em acordo com os apresentados por vários autores, que também encontraram um bom efeito inibitório do ácido acético sobre o crescimento de enterobactérias em carne de aves (DRESSEL & LEISTNER, 1984, OKREND *et al.*, 1986, LILLARD *et al.*, 1987). De acordo com os resultados apresentados no QUADRO XIV, podemos observar que as menores contagens foram obtidas para as amostras submetidas ao tratamento com ácido e embaladas a vácuo, sendo que todos os tratamentos apresentaram diferença estatística significativa entre si, ao nível de 5% de significância.

As contagens de bactérias lácticas são apresentadas no QUADRO XV. Esse grupo de bactérias normalmente se torna predominante em carnes embaladas a vácuo, por serem muito competitivos com os outros microrganismos presentes. Os produtos de seu

metabolismo, principalmente o ácido láctico, têm baixo potencial deteriorador e por isso não são considerados indesejáveis na maioria dos casos. Desse quadro também podemos observar que, para as amostras submetidas aos tratamentos combinados, as contagens foram menores do que para as somente embaladas a vácuo.

QUADRO XIV - Contagem de *Enterobacteriaceae* (log UFC/cm²) em filés de peito de frango* submetidos a tratamentos com ácido acético e embalados em sacos de polietileno ou a vácuo durante a estocagem entre 0 e 2°C.

TRATAMENTO	TEMPO (dias)							Tukey** (95%)
	0	4	7	10	12	14		
S/ tratamento (PE)	2.89	5.73	<u>7.26</u>	7.72	7.90	8.08	d	
ác. acético 1% (PE)	2.15	3.33	3.66	3.39	3.74	4.79	b	
S/ tratamento (a vácuo)	2.89	5.27	5.80	6.45	<u>6.81</u>	7.54	c	
ác. acético 1% (a vácuo)	2.15	2.80	3.00	3.46	3.00	5.10	a	
Tukey** (95%)	a	b	c	d	e	f		

* Os resultados apresentados representam a média das contagens realizadas em triplicata em dois ensaios diferentes.

** Diferentes letras indicam diferenças significativas ($p < 0.05$) entre as médias

QUADRO XV - Contagem de bactérias láticas (log UFC/cm²) em filés de peito de frango* submetidos a tratamentos com ácidos orgânicos ou sais e embalados a vácuo durante a estocagem entre 0 e 2°C.

TRATAMENTO	TEMPO (dias)											Tukey** (95%)
	0	4	5	7	9	10	14	16	21			
S/ tratamento	2.75	4.93	3.40	4.90	4.50	5.30	<u>7.45</u>	6.00	6.70			b
ác. acético 1%	1.90	4.30	2.30	4.00	2.50	4.65	4.75	4.60	5.80			a,b
ác. acético 0.5%	2.55	3.70	3.20	3.40	3.50	3.50	3.50	5.30	6.10			a
ác. láctico 1%	2.25	3.00	3.10	2.90	4.60	3.50	3.50	5.80	5.00			a
sorbato 2%	2.45	4.60	2.50	3.00	2.50	2.50	2.50	4.50	5.00			a
Tukey** (95%)	a	a,b,c	a	a	a	a	c	a,b	b,c			

* Os resultados apresentados representam a média das contagens realizadas em triplicata dois ensaios diferentes.

** Diferentes letras indicam diferenças significativas ($p < 0.05$) entre as médias

5.3.3. Análise sensorial

As escalas utilizadas para avaliação da aparência geral, cor e odor das amostras embaladas a vácuo foram semelhantes às usadas para avaliação das amostras embaladas em sacos de polietileno.

a) Aparência geral e cor

Os resultados da avaliação da aparência geral e cor das amostras submetidas a tratamentos com ácidos orgânicos e embaladas a vácuo são apresentados nos QUADROS XVI e XVII. Com relação à aparência geral, a média mais baixa foi obtida para a amostra tratada com ácido acético 1%, embora não tenha sido encontrada diferença estatística significativa ao nível de 5% com relação às demais. Os valores ficaram acima do limite estabelecido como inaceitável (5,0) durante todo o período de estocagem, o que mostra que essas amostras não foram rejeitadas devido à aparência. As amostras sem tratamento e embaladas a vácuo foram consideradas de aparência inaceitável entre o 16^o e o 21^o dia e as demais não foram avaliadas como inaceitáveis durante todo o período de estocagem, embora as tratadas com sorbato de potássio a 2% apresentem valores próximos a 5,0 a partir do 14^o dia. Ao compararmos esses resultados com os obtidos para a avaliação da cor (QUADRO XVII), podemos notar que as mesmas amostras foram consideradas de cor esbranquiçada (valores inferiores a 4,0) após o 16^o dia de estocagem. Com relação às amostras embaladas em sacos de polietileno (condições de aerobiose) e submetidas aos mesmos tratamentos (QUADROS VII e VIII), podemos afirmar que a embalagem a vácuo teve um efeito positivo na preservação das características da cor e da aparência geral das mesmas. As amostras tratadas com ácido acético ou ácido láctico a 1% e embaladas convencionalmente apresentaram-se no seu limite de aceitabilidade para o atributo aparência geral entre 12 e 14

dias de estocagem (QUADRO VII), enquanto as submetidas aos mesmos tratamentos e acondicionadas a vácuo não atingiram médias inferiores a 5,0 até 21 dias.

b) Odor

O odor é um atributo sensorial que geralmente pode ser correlacionado com o crescimento bacteriano, embora o processo natural de envelhecimento da carne gere produtos responsáveis por características de odor desagradáveis como aminas, entre outros. Se tomarmos como referencial a contagem total de psicotrófilos (QUADRO XII), podemos notar uma relação entre os valores próximos à rejeição do odor pelos provadores (menor que 4,0) e as contagens entre 10^6 e 10^7 UFC/cm², o que ocorre entre 10° e 14° dia para a amostra sem tratamento e embalada a vácuo, e entre o 16° e o 21° dia para as demais. Os coeficientes de correlação encontrados entre os resultados da avaliação do odor e as contagens de psicotrófilos, *Pseudomonas* e bactérias lácticas foram respectivamente : - 0,7373, -0,5969 e -0,7535.

Se compararmos esses resultados com os obtidos para as amostras submetidas aos mesmos tratamentos e embaladas em sacos de polietileno (QUADROS III e IX), podemos dizer que o uso da embalagem a vácuo representa um ganho de 2 a 5 dias no período de estocagem das mesmas. As amostras não tratadas e acondicionadas em sacos de polietileno apresentaram, na avaliação do odor (QUADRO IX), médias próximas ao limite aceitável (4,0) entre o 7 e 10 dias de estocagem, com contagens de psicotrófilos acima de 10^8 UFC/cm² (QUADRO III), enquanto as embaladas a vácuo obtiveram média 4,0 para avaliação do odor apenas no 14° dia de estocagem (QUADRO XVII) com contagem próxima a 10^7 UFC/cm² (QUADRO XII). As amostras submetidas a tratamentos com ácidos e acondicionadas em sacos de polietileno, apresentaram vida útil de 10 a 12 dias, a qual pode ser estendida para 16 a 21 dias com o uso da embalagem a vácuo.

QUADRO XVI - Aparência geral de filés de peito de frango* submetidos a tratamentos com ácidos orgânicos ou sais e embalados a vácuo durante a estocagem entre 0 e 2°C.

TRATAMENTO	TEMPO (dias)										Tukey** (95%)
	0	4	5	7	9	10	14	16	21		
S/ tratamento	8.30	7.50	7.60	7.60	7.50	7.90	5.60	5.80	4.60	a	
ác. acético 1%	7.90	8.07	7.40	7.15	7.30	6.66	5.24	6.50	5.80	a	
ác. acético 0.5%	8.00	6.50	7.60	8.00	7.60	7.70	6.45	6.90	5.70	a	
ác. láctico 1%	7.80	7.50	7.20	7.40	7.00	8.10	6.75	6.90	5.50	a	
sorbato 2%	8.25	7.40	7.70	8.60	7.00	8.20	5.35	5.90	5.20	a	
Tukey** (95%)	c	b,c	b,c	b,c	b,c	b,c	a	a,b	a		

Significado da escala: 0 - não característico 5 - limite de aceitação 10 - característico

*Os resultados apresentados são a média das análises obtidas em dois ensaios.

** Diferentes letras indicam diferenças significativas ($p < 0.05$) entre as médias.

QUADRO XVII - Avaliação da cor de filés de peito de frango* submetidos a tratamentos com ácidos orgânicos ou sais e embalados a vácuo durante a estocagem entre 0 e 2°C.

TRATAMENTO	TEMPO (dias)											Tukey** (95%)
	0	4	5	7	9	10	14	16	21			
S/ tratamento	6.40	5.00	5.90	6.00	5.30	4.30	4.90	4.90	4.90	3.00	a	
ác. acético 1%	6.90	5.30	6.30	5.60	4.70	5.70	4.85	5.90	3.70	a		
ác. acético 0.5%	6.10	6.50	6.10	5.60	5.20	5.80	5.40	6.00	5.40	a		
ác. láctico 1%	6.05	5.70	6.10	5.90	3.90	5.80	6.35	5.10	6.00	a		
sorbato 2%	5.75	5.10	5.00	5.40	4.80	5.50	4.30	4.50	3.40	a		
Tukey** (95%)	c	a,b,c	b,c	a,b,c	a,b	a,b,c	a,b	a,b,c	a	a		

Significado da escala: 0 - esbranquiçada 5 - desejável 10 - escurecida

*Os resultados apresentados são a média das análises obtidas em dois ensaios.

** Diferentes letras indicam diferenças significativas ($p < 0.05$) entre as médias

QUADRO XVIII - Avaliação do odor de filés de peito de frango* submetidos a tratamentos com ácidos orgânicos ou sais e embalados a vácuo durante a estocagem entre 0 e 2°C.

TRATAMENTO	TEMPO (dias)										Tukey** (95%)
	0	4	5	7	9	10	14	16	21		
S/ tratamento	5.10	4.70	5.20	6.00	5.30	4.50	4.00	3.30	2.10	a	
ác. acético 1%	6.65	5.30	5.70	5.60	4.70	5.20	4.60	4.80	3.50	a	
ác. acético 0.5%	5.75	4.60	4.90	5.60	5.20	5.20	4.55	3.30	3.60	a	
ác. láctico 1%	5.30	5.50	4.90	5.90	3.90	4.60	4.30	4.80	3.60	a	
sorbato 2%	5.50	5.10	4.60	5.40	4.80	4.50	4.00	3.70	3.30	a	
Tukey** (95%)	d	b,c,d	c,d	d	b,c,d	b,c,d	b,c	a,b	a		

Significado da escala: 0 - pútrido 5 - desejável 10 - ácido

*Os resultados apresentados são a média das análises obtidas em dois ensaios.

** Diferentes letras indicam diferenças significativas ($p < 0.05$) entre as médias.

5.4. ESTOCAGEM EM ATMOSFERA MODIFICADA

5.4.1. Volume e composição do espaço-livre durante a estocagem

As medidas de volume e composição do espaço-livre de produtos embalados em atmosfera modificada nos permitem identificar possíveis trocas gasosas entre o ambiente interno (mistura gasosa injetada e produto) e o ambiente externo (ar), através da embalagem. A medida do volume do espaço-livre é importante uma vez que a solubilidade dos vários gases na fase aquosa da carne é diferente, bem como é dependente de outros fatores, como por exemplo, temperatura, composição da carne, permeabilidade do material de embalagem (XAVIER, 1990). Utilizando-se várias concentrações de CO₂, porções de carne de peso, área e composição semelhantes, e um volume constante das misturas gasosas injetadas em embalagem com boas características de barreira, esperava-se obter um decréscimo do volume do espaço-livre com o aumento do período de estocagem proporcional à concentração de CO₂ inicialmente injetada, uma vez que a solubilidade deste gás é maior do que a dos outros, à temperatura constante, e aumenta com a diminuição da temperatura. Os resultados obtidos para a medida do volume de espaço-livre (QUADRO XIX) foram muito variáveis durante a estocagem., não sendo possível uma avaliação adequada desses dados. Essa variação foi devida provavelmente à baixa eficiência do sistema de embalagem no controle do volume de gás injetado, bem como da metodologia disponível para determinação do volume durante a estocagem. As medidas foram feitas em embalagens (amostras) diferentes, uma vez que o método usado foi destrutivo. XAVIER (1990) usou teste não destrutivo para o acompanhamento do volume de espaço-livre de carne suína embalada em atmosfera modificada e obteve resultados mais coerentes ao longo do período de estocagem, apesar de também ter obtido uma certa variação, característica desse tipo de medida. Naquele trabalho foi também possível obter um controle mais homogêneo do volume inicial injetado devido ao tipo de equipamento utilizado, sendo que a introdução da

mistura gasosa era feita por meio de bicos injetores, diferente do sistema usado no presente estudo, de câmara fechada, o qual oferece menor controle sobre o volume injetado durante a operação de injeção e termossoldagem.

Os resultados da composição gasosa do espaço-livre durante a estocagem são apresentados no QUADRO XX.

No presente estudo a permeabilidade do material usado para embalagem dos filés de peito foi de $7 \text{ cc O}_2 / \text{m}^2 \text{ atm } 24\text{h}$, estando portanto dentro das recomendações fornecidas pela literatura (VANDERSANT *et al.*, 1982, XAVIER, 1989 e 1990).

Pelos resultados apresentados no QUADRO XX pode-se verificar que foi possível manter uma baixa concentração de O_2 durante todo o período de estocagem, que é determinada principalmente pelas propriedades de barreira do material de embalagem utilizado, e assegura a proteção contra a entrada de oxigênio do ar. A exclusão total do oxigênio não é possível quando se utiliza esse tipo de sistema, onde valores abaixo de 0.5% são considerados normais como oxigênio residual, o qual pode ser consumido pelo metabolismo da própria carne e/ou pelas bactérias presentes (HOLLAND, 1980, SHAY & EGAN, 1986, TAYLOR, 1985).

Ao observarmos os resultados para as medidas de CO_2 podemos notar uma ligeira queda na concentração desse gás no espaço-livre das embalagens no decorrer do período de estocagem. Esse fato é resultado da dissolução do CO_2 na fase aquosa da carne, e conseqüentemente causa um aumento aparente na concentração de N_2 no espaço-livre, uma vez que este último é um gás diluente, de menor solubilidade que o CO_2 . Esses resultados estão de acordo com os relatados por outros autores (TAYLOR, 1973 e 1985, XAVIER, 1990 e 1995b).

Os valores apresentados para composição da amostra "100% CO₂" aos 12 dias de estocagem e para "25% CO₂ + 75% N₂" aos 25 dias, encontram-se bastante distantes do esperado e indicam ter havido algum problema com o manuseio das embalagens (ruptura) durante a estocagem ou das amostras (contaminação) no momento da análise.

QUADRO XIX - Volume (ml) de espaço-livre em amostras de filé de peito de frango* embaladas em atmosfera modificada durante a estocagem entre 0 e 2°C.

TRATAMENTO	TEMPO (dias)							Tukey* * (95%)
	0	5	8	12	15	20	25	
25% CO ₂ + 75% N ₂	240	155	105	240	167.5	100	65	b
50% CO ₂ + 50% N ₂	100	65	145	70	112.5	22.5	110	a
75% CO ₂ + 25% N ₂	115	78	90	65	185	70	90	a
100% CO ₂	105	105	120	17.5	60	45	43	a
Tukey** (95%)	b	a,b,	a,b	a,b	b	a	a,b	a,b

*Os valores apresentados são a média de análises realizadas em triplicata.

** Diferentes letras indicam diferenças significativas ($p < 0.05$) entre as médias

QUADRO XX - Composição gasosa do espaço-livre de amostras de filé de peito de frango* embaladas em atmosfera modificada e estocadas entre 0 e 2°C.

TRATAMENTO	GASES	TEMPO (dias)								Tukey* * (95%)
		0	5	8	12	15	20	25		
25% CO ₂ + 75% N ₂	CO ₂	24.48	20.89	20.84	22.68	19.88	18.65	22.83	a	
	N ₂	75.76	78.94	78.97	77.09	79.63	81.25	52.17	a	
	O ₂	0.17	0.18	0.21	0.24	0.49	0.11	25.01	b	
50% CO ₂ + 50% N ₂	CO ₂	45.88	27.17	42.86	26.97	38.69	22.75	44.34	b	
	N ₂	53.87	72.40	56.95	72.28	61.15	77.10	55.52	b	
	O ₂	0.25	0.44	0.20	0.76	0.17	0.16	0.14	a	
75% CO ₂ + 25% N ₂	CO ₂	71.74	50.52	59.95	54.44	59.20	53.14	56.19	c	
	N ₂	28.22	48.76	39.53	45.25	40.62	46.74	43.65	c	
	O ₂	0.64	0.73	0.52	0.32	0.19	0.12	0.175	a	
100% CO ₂	CO ₂	98.81	97.87	97.57	80.93	93.83	93.99	95.29	d	
	N ₂	0.94	2.04	2.22	18.76	5.95	5.86	4.60	d	
	O ₂	0.26	0.09	0.22	0.31	0.23	0.15	0.16	a	

*Os valores apresentados são a média de análises realizadas em triplicata.

** Diferentes letras indicam diferenças significativas ($p < 0.05$) entre as médias

5.4.2. Variação de pH e perda de peso por exsudação

Com a dissolução do CO₂ na fase aquosa da carne espera-se também uma queda no pH da mesma, devido à formação de ácido carbônico no meio (DANIELS *et al.*, 1985, FINNE, 1982, GILL, 1988). A variação de pH das amostras durante a estocagem é apresentada no QUADRO XXI, no qual podemos observar que não houve diferenças significativas de pH determinadas pelo tratamento, ou seja, pela concentração de CO₂ utilizada. Os valores encontrados estão dentro da faixa de normalidade para peito de frango durante todo o período de estocagem, e apenas os valores referentes ao 25º dia de estocagem para os tratamentos "25% CO₂ + 75% N₂" e "50% CO₂ + 50% N₂" podem ser considerados altos para este tipo de carne, encontrando-se próximos aos valores característicos de pH de coxa de frango, ligeiramente superior ao de peito (FIGURAS 1, 2, 3 e 4). Esse fato se deve provavelmente às altas contagens de microrganismos no final do período de estocagem.

Os resultados apresentados no presente estudo estão de acordo com os observados por HUFFMAN (1974), em estudo relativo ao efeito do CO₂ no abaixamento de pH da carne bovina, no qual o autor relata que a queda de pH proporcionada às amostras (0,1 unidade) foi praticamente insignificante. XAVIER & WINJAARDS (1995) apresentaram resultados semelhantes para carne suína de pH normal, entretanto, quando estudaram a carne suína de pH >6,0, notaram uma queda entre 0,2 e 0,6 unidades de pH nas amostras, a qual foi proporcional à concentração de CO₂ inicialmente injetada nas embalagens. Os autores afirmam que a dissolução de CO₂ na carne de pH alto é mais pronunciada, trazendo como consequência o abaixamento de pH devido à formação de ácido carbônico. No presente estudo não foram realizadas comparações do efeito desse gás sobre músculos de pH caracteristicamente diferentes, mas esses resultados são compatíveis com os encontrados para as curvas de titulação de diferentes cortes cárneos com vários ácidos orgânicos,

apresentados nas FIGURAS 1, 2, 3 e 4. Nessas figuras podemos observar que o pH das amostras de coxa de frango era maior que o das demais amostras no início da titulação, mas após a adição de aproximadamente 0,5 ml de ácido apresentava valores equivalentes ao das demais amostras de pH inicial mais baixo, o que significa uma maior queda nas amostras de pH inicial mais alto, após a adição de um determinado volume de ácido.

Alguns autores sugerem que o uso de atmosfera modificada evita a perda de peso por exsudação quando comparada com a embalagem a vácuo, uma vez que desse modo a carne não é submetida à ação da força mecânica causada pelo vácuo (O'KEEFE & HOOD, 1981; STAAR, 1984; TAYLOR, 1985), mas outros (LEE *et al.*, 1985) afirmam não haver diferenças significativas entre a exsudação da carne embalada a vácuo ou em atmosfera modificada. No presente estudo foram encontradas diferenças significativas de perda de peso de filés submetidos a tratamentos com ácidos orgânicos e os não tratados (QUADRO II), bem como entre os embalados a vácuo e em sacos de polietileno (QUADRO XI). Os resultados obtidos no presente estudo demonstram que há um aumento da perda de peso com o aumento da concentração de CO₂ usada, como pode ser observado no QUADRO XXII. As amostras que apresentaram menor perda de peso foram as submetidas à atmosfera contendo 25% CO₂ + 75% N₂, em torno de 1,8% ao final do período de estocagem. As submetidas aos tratamentos "50% CO₂ + 50% N₂" e "75% CO₂ + 25% N₂" tiveram perda de peso intermediária (em torno de 2%), e as submetidas a "100% CO₂" e à embalagem a vácuo apresentaram perdas superiores a 2,5% no final do período de estocagem. A análise estatística dos dados apontou diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos contendo 25% e 50% de CO₂ e os demais, ao nível de 5% de significância, como apresentado no QUADRO XXII. Esses resultados estão parcialmente de acordo com os apresentados por XAVIER (1990), que verificou que, embora os valores obtidos para exsudação da carne suína de pH normal acondicionada em altas concentrações de CO₂

(65% ou 100% CO₂) ou a vácuo fossem ligeiramente superiores às acondicionadas em atmosferas contendo menor concentração desse gás (35% CO₂ ou 100% N₂), não foram encontradas diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos. Contudo, quando compararam o efeito desse gás em carne de pH final superior a pH 6,0, observaram que o aumento da exsudação é maior quando se utiliza atmosferas contendo maior concentração de CO₂, nesse caso, acima de 65% CO₂.

QUADRO XXI - Variação de pH nas amostras de filé de peito de frango* embaladas em atmosfera modificada e estocadas entre 0 e 2°C.

TRATAMENTO	TEMPO (dias)							Tukey** (95%)
	0	5	8	12	15	20	25	
25% CO ₂ + 75% N ₂	5.79	5.70	5.33	5.57	5.67	5.66	6.08	a
50% CO ₂ + 50% N ₂	5.79	5.61	5.47	5.62	5.80	5.62	6.01	a
75% CO ₂ + 25% N ₂	5.79	5.74	5.65	5.59	5.89	5.66	5.85	a
100% CO ₂	5.79	5.74	5.48	5.49	5.77	5.71	5.57	a
vácuo	5.79	5.73	5.78	5.76	5.73	5.72	5.65	a
Tukey** (95%)	c,d	c,d	a	a,b	b,c	b,c	d	

*Os valores apresentados são a média de análises realizadas em triplicata.

** Diferentes letras indicam diferenças significativas ($p < 0.05$) entre as médias

QUADRO.XXII - Perda de peso (%) em filés de peito de frango* embalados em atmosfera modificada durante a estocagem entre 0 e 2°C.

TRATAMENTO	TEMPO (dias)							Tukey** (95%)
	0	5	8	12	15	20	25	
25% CO ₂ + 75% N ₂	0.0	0.82	1.41	0.89	0.60	2.42	1.82	a
50% CO ₂ + 50% N ₂	0.0	1.52	1.50	1.64	1.78	1.85	2.15	a
75% CO ₂ + 25% N ₂	0.0	1.06	1.01	1.47	1.49	-	2.09	b
100% CO ₂	0.0	1.43	1.86	3.49	3.51	3.73	2.66	b
vácuo	0.0	1.13	1.40	2.89	2.60	2.46	2.49	b
Tukey** (95%)	a	b	b,c	b,c	b,c	d	c	

*Os valores apresentados são a média de análises realizadas em triplicata.

** Diferentes letras indicam diferenças significativas ($p < 0.05$) entre as médias

5.4.3. Análises microbiológicas

Os resultados da contagem total de psicrotófilos nas amostras de filé de peito de frango durante a estocagem são apresentados no QUADRO XXIII. Os tratamentos que apresentaram menor eficiência na inibição do crescimento desse grupo de bactérias foram a embalagem a vácuo e com atmosfera contendo 25% CO₂ + 75% N₂. A contagem de psicrotófilos nessas amostras atingiu valores acima de 7 log UFC/cm² a partir do 15º dia de estocagem. Comparando esses resultados com os obtidos anteriormente para a contagem de psicrotófilos nos filés de peito submetidos a tratamentos com ácidos orgânicos e acondicionadas em sacos de polietileno (QUADRO III) ou a vácuo (QUADRO XII), e assumindo como limite de estocagem contagens em torno de 7 log UFC/cm², podemos dizer que a vida útil das amostras embaladas a vácuo (em torno de 14 dias) foi o dobro da das amostras sem tratamento embaladas em sacos de polietileno (7 dias). As contagens obtidas para os demais tratamentos foram bastante semelhantes, atingindo valores próximos a 7 log UFC/cm² somente no 25º dia de estocagem, o que acrescenta até 10 dias no período pelo qual esse tipo de carne pode ser estocado, quando comparado com a embalagem a vácuo. Esse tempo é um pouco maior do que o indicado por BAILEY *et al.* (1979), que determinaram 18 dias como limite de vida útil para carcaças de frango submetidas a atmosferas contendo 20 e 65% CO₂ e estocadas a 2°C, e menor do que o determinado por HOTCHKISS *et al.* (1985), que observaram um efeito residual do CO₂ na carne de frango embalada sob 80% CO₂, o que permitiu sua estocagem à temperatura de 2°C por um período de 28 a 35 dias. SAWAYA *et al.* (1995) determinaram a vida útil de carcaças de frango acondicionadas em atmosferas contendo 70% CO₂ ou 30% CO₂ (em nitrogênio) e estocadas a 2,4, 7 e 9°C e encontraram para o primeiro tratamento 25, 21, 12 e 8 dias de estocagem, e, para o segundo, 20, 15, 8 e 8 dias, respectivamente. BOHNSACK *et al.* (1988) determinaram que é de 26 dias o tempo de vida útil de meias carcaças de frango

aconditionadas sob 100%CO₂ à temperatura de 4°C. Esses resultados são comparáveis aos obtidos no presente estudo, como pode ser visto nos quadros a seguir.

A análise estatística revelou que as amostras submetidas aos tratamentos contendo 100% CO₂ ou 75% CO₂ + 25% N₂ apresentaram a menor média de contagens durante toda a estocagem, apresentando diferença estatística significativa ao nível de 5% em relação aos demais tratamentos. Resultados intermediários foram obtidos para as amostras submetidas a 50% CO₂ + 50% N₂. As maiores médias para as contagens de psicotrófilos foram encontradas nas amostras acondicionadas em 25% CO₂ + 75% N₂ e nas embaladas a vácuo. Esses dois grupos de tratamentos não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre si, mas sim com relação às demais.

Os resultados das contagens de *Pseudomonas* são apresentados no QUADRO XXIV, no qual podemos observar o grande efeito inibitório do CO₂, principalmente nas amostras submetidas a concentrações de CO₂ superiores a 50%, as quais foram consideradas estatisticamente diferentes das demais. As contagens nas amostras embaladas a vácuo e em "25% CO₂ + 75% N₂" foram superiores às das demais amostras, embora não tenham atingido valores considerados como limites durante todo o período de estocagem. Esses resultados estão de acordo com os apresentados por BAILEY *et al.* (1979), que observou mudança na microbiota de carcaças de frango submetidas a atmosferas contendo CO₂, constituída por *Lactobacillus* ao final do período de estocagem de 18 dias.

BAKER *et al.* (1986) estudaram o efeito da atmosfera contendo 80% CO₂ no crescimento de *Pseudomonas fragi*, *Salmonella typhimurium* e *S. aureus* e verificaram inibição do crescimento das mesmas em diferentes condições de temperatura (2, 7 e 13°C). ANDERSON *et al.* (1985) também verificaram a inibição do crescimento dos mesmos microrganismos, mas SANDER & SOO (1978) consideraram que a baixa temperatura de estocagem era responsável por essa inibição. O efeito da composição gasosa no crescimento

de enterobactérias ou de patógenos não foi abordado no presente estudo, mas é sabido que o CO₂ é bastante eficiente na inibição do crescimento de enterobactérias, sendo que existe uma variabilidade considerável na sensibilidade dos vários gêneros, espécies e cepas ao CO₂ (SILLIKER, 1980; XAVIER, 1990; FARBER, 1991).

Os resultados das contagens de bactérias lácticas nos filés de peito de frango submetidos a diferentes composições gasosas são apresentadas no QUADRO XXV, no qual podemos observar valores baixos para todas as amostras submetidas a tratamentos contendo CO₂, e valores ligeiramente mais altos para as embaladas a vácuo (em torno de 1 ciclo logaritmico) a partir do 12º dia de estocagem.

ANDERSON *et al.* (1985) constataram que o CO₂ tem efeito sobre o crescimento tanto das bactérias aeróbias quanto das anaeróbias, enquanto que o N₂ inibe somente o crescimento das primeiras. BAILEY *et al.* (1979) verificaram que a microbiota predominante em carcaças de frango embaladas em atmosfera contendo 65% de CO₂ era constituída de bactérias lácticas, enquanto nas embaladas aerobicamente era representada por *Pseudomonas*. KAKOURI & NYCHAS (1994) constataram que os grupos de microrganismos predominantes em filés de peito e coxa de frango acondicionadas em 100% CO₂ foram as bactérias lácticas e *Brochothrix thermosphacta*, e nas amostras contendo O₂, mesmo que em combinação com alta concentração de CO₂ (80%), os predominantes foram as *Pseudomonas*. BOHNSACK *et al.* (1988) também verificaram uma desaceleração no crescimento de *Pseudomonas*, bactérias psicrotolerantes e de *Enterobacteriaceae* em carcaças de frango embaladas em atmosfera contendo CO₂.

QUADRO XXIII. Contagem total de psicrotróficos (log UFC/cm²) em filés de peito de frango* acondicionados em embalagem de atmosfera modificada e estocados entre 0 e 2°C.

TRATAMENTO	TEMPO (dias)								Tukey** (95%)
	0	5	8	12	15	20	25		
25% CO ₂ + 75% N ₂	4.30	4.18	4.51	6.04	7.34	7.40	8.00	c	
50% CO ₂ + 50% N ₂	4.30	3.70	3.72	5.52	6.20	6.45	7.18	b	
75% CO ₂ + 25% N ₂	4.30	4.43	3.30	5.49	4.52	6.23	7.18	a	
100% CO ₂	4.30	4.67	3.93	4.65	5.68	5.89	7.08	a	
vácuo	4.30	4.14	5.34	6.39	7.10	7.23	6.81	c	
Tukey** (95%)	a	a	a	b	c	d	e		

*Os valores apresentados são a média de análises realizadas em triplicata.

** Diferentes letras indicam diferenças significativas ($p < 0.05$) entre as médias

QUADRO XXIV - Contagem de *Pseudomonas* (log UFC/cm²) em filés de peito de frango* acondicionados em embalagem de atmosfera modificada e estocados entre 0 e 2°C.

TRATAMENTO	TEMPO (dias)								Tukey** (95%)
	0	5	8	12	15	20	25		
25% CO ₂ + 75% N ₂	3.48	3.43	3.57	3.40	3.91	5.83	6.08	c	
50% CO ₂ + 50% N ₂	3.48	3.00	3.48	3.41	3.64	4.46	5.48	b	
75% CO ₂ + 25% N ₂	3.48	3.45	3.26	3.11	3.14	3.83	4.18	a	
100% CO ₂	3.48	3.62	3.23	3.40	2.78	3.92	3.70	a	
vácuo	3.48	3.63	4.72	5.00	6.07	5.54	5.43	d	
Tukey** (95%)	a	a	a	a,b	a,b	b	c		

*Os valores apresentados são a média de análises realizadas em triplicata.

** Diferentes letras indicam diferenças significativas (p<0.05) entre as médias

QUADRO XXV - Contagem de bactérias lácticas (log UFC/cm²) em filés de peito de frango* acondicionados em embalagem de atmosfera modificada e estocados entre 0 e 2°C.

TRATAMENTO	TEMPO (dias)							Tukey** (95%)
	0	5	8	12	15	20	25	
25% CO ₂ + 75% N ₂	2.00	5.70	5.33	4.52	4.88	5.43	6.78	c
50% CO ₂ + 50% N ₂	2.00	5.61	5.47	4.74	4.67	5.38	5.46	b
75% CO ₂ + 25% N ₂	2.00	5.74	5.65	2.30	3.79	4.58	6.20	a
100% CO ₂	2.00	5.74	5.48	4.91	4.85	5.63	6.34	c
vácuo	2.00	5.72	5.43	5.60	6.73	6.41	6.62	d
Tukey** (95%)	a	a	b	c	d	e	f	

*Os valores apresentados são a média de análises realizadas em triplicata.

** Diferentes letras indicam diferenças significativas (p<0.05) entre as médias

5.4.4. Análise sensorial

Os resultados da análise sensorial são apresentados nas QUADROS de XXVI a XXVIII. A aparência geral das amostras de filé de peito de frango (QUADRO XXVI) submetida a qualquer um dos tratamentos estudados foi considerada aceitável pelo painel de provadores (média maior que 5,0) durante todo o período de estocagem. Entretanto, as amostras submetidas aos tratamentos "25% CO₂ + 75% N₂" e "50% CO₂ + 50% N₂" apresentaram médias inferiores com relação às submetidas aos tratamentos "75% CO₂ + 25% N₂" e "100% CO₂" no final do período de estocagem (25° dia), embora as diferenças entre elas não tenham sido estatisticamente significativas. Os filés embalados a vácuo obtiveram médias estatisticamente ($p < 0,05$) inferiores às demais a partir do 15° dia de estocagem, com valores próximos ao limite de aceitação.

Com relação à avaliação da cor (QUADRO XXVII), não foram encontrados valores que possam ser consideradas como inaceitáveis até o final do período de estocagem, exceto o valor da média obtida para o tratamento contendo "25%CO₂+ 75% N₂" no 25° dia de estocagem. Desses resultados podemos inferir que a embalagem a vácuo e em atmosfera modificada tem um efeito preservador da cor desse tipo de carne. Esses resultados são diferentes dos encontrados por XAVIER (1990) para carne suína, em estudo no qual foi comprovado que o aumento da concentração de CO₂ para valores acima de 65% tem efeito prejudicial para a cor desse tipo de carne. Contudo, os resultados não são comparáveis pelo fato da diferença existente entre os músculos do peito de frango e do lombo suíno.

Os resultados da avaliação do odor das amostras de filé de peito de frango submetidos a diferentes atmosferas modificadas são apresentados no QUADRO XXVIII, no qual podemos observar que para as amostras embaladas a vácuo foram atribuídos valores abaixo do limite de aceitação a partir do 15° dia de estocagem. Esses resultados estão de acordo com o limite estabelecido como aceitável para as contagens de psicotrófilos, ou seja, em

torno de 14 a 15 dias (QUADROS XII e XXIII). As amostras submetidas a qualquer dos tratamentos contendo CO₂ tiveram o odor rejeitado entre 20 e 25 dias de estocagem, considerando-se como limite de aceitabilidade o valor 4,0. Os resultados obtidos para as amostras contendo acima de 50% CO₂ estão relacionados com as contagens de psicrotrófilos obtidas na mesma época (QUADRO XXIII), mas nas submetidas ao tratamento contendo a menor concentração de CO₂ (25%) o crescimento microbiano foi mais rápido e as contagens encontravam-se próximas ao limite considerado como aceitável ao redor do 15º dia de estocagem.

Esses resultados são similares aos apresentados por BAILEY *et al.* (1979), que obteve uma vida útil de 18 dias para carcaças de frango embaladas em atmosferas contendo 20 e 65% de CO₂ e balanceadas com ar. O aumento de alguns dias de estocagem pode ser esperado com a total exclusão de O₂, de acordo com XAVIER & WIJNGAARDS (1995). HOTCHKISS *et al.* (1985) determinaram a vida de prateleira de amostras de frango embaladas em atmosfera contendo 80% de CO₂ entre 28 e 35 dias de estocagem e observaram queda na suculência, maciez e aceitação geral das mesmas após esse período. Esse período é maior do que o determinado no presente estudo, o qual podemos considerar de 15 dias para as amostras acondicionadas em 25% CO₂, e entre 20 e 25 dias para as submetidas a concentrações maiores desse gás, levando-se em consideração os resultados das contagens de psicrotrófilos e os resultados da avaliação do odor.

QUADRO XXVI - Avaliação da aparência geral de filés de peito de frango embalados em atmosfera modificada e estocados entre 0 e 2°C.

TRATAMENTO	TEMPO (dias)							Tukey** (95%)
	0	5	8	12	15	20	25	
25% CO ₂ + 75% N ₂	8.67	8.44	7.79	8.44	7.69	7.18	5.33	a
50% CO ₂ + 50% N ₂	8.67	8.38	8.10	7.10	6.03	7.21	5.78	a
75% CO ₂ + 25% N ₂	8.67	8.56	7.74	7.33	6.97	6.90	6.44	a
100% CO ₂	8.67	8.54	7.69	7.38	6.64	6.90	6.52	a
vácuo	8.67	8.02	7.55	7.11	5.80	5.59	5.21	b
Tukey** (95%)	d	d	c	c	b	b	a	

Significado da escala: 0 - não característica 5 - limite de aceitação 10 - característica

** Diferentes letras indicam diferenças significativas (p<0.05) entre as médias

QUADRO XXVII - Avaliação da cor de amostras de filé de peito de frango embalados em atmosfera modificada e estocados entre 0 e 2°C.

TRATAMENTO	TEMPO (dias)								Tukey** (95%)
	0	5	8	12	15	20	25		
25% CO ₂ + 75% N ₂	5.74	5.03	4.72	5.23	5.38	4.77	3.56	a	
50% CO ₂ + 50% N ₂	5.74	5.46	5.41	5.00	6.62	5.10	4.56	d	
75% CO ₂ + 25% N ₂	5.74	4.79	4.51	5.08	4.56	6.05	5.73	b	
100% CO ₂	5.74	5.31	5.72	5.23	6.05	4.44	4.44	c	
vácuo	5.74	5.54	5.65	4.95	4.90	4.13	4.84	a,b	
Tukey** (95%)	d	b	b	c	c	b	a		

Significado da escala: 0 - esbranquiçada 5 - desejável 10 - escurecida

** Diferentes letras indicam diferenças significativas ($p < 0.05$) entre as médias

QUADRO XXVIII - Avaliação do odor de amostras de filé de frango embalados em atmosfera modificada e estocados entre 0 e 2°C.

TRATAMENTO	TEMPO (dias)										Tukey** (95%)
	0	5	8	12	15	20	25				
25% CO ₂ + 75% N ₂	5.21	4.79	4.95	5.51	5.00	4.28	2.82	c			
50% CO ₂ + 50% N ₂	5.21	4.72	5.05	5.49	4.95	3.95	3.68	d			
75% CO ₂ + 25% N ₂	5.21	4.79	4.90	5.59	5.00	4.28	4.62	e			
100% CO ₂	5.21	4.51	4.85	4.69	5.36	3.56	3.68	b			
vácuo	5.21	5.08	5.65	4.92	3.65	2.96	3.02	a			
Tukey** (95%)	f	c	d	g	e	b	a				
Significado da escala: 0- pútrido 5 - desejável 10 - ácido											

** Diferentes letras indicam diferenças significativas ($p < 0.05$) entre as médias.

6. CONCLUSÕES

6.1. A vida de prateleira de filé de peito de frango sem tratamento e embalado em sacos de polietileno foi de aproximadamente 7 dias, quando as contagens de psicrófilos atingiram valores próximos de $7 \log \text{ UFC/cm}^2$ e o odor das amostras foi rejeitado pelos provadores.

6.2. A aplicação de ácidos orgânicos como o ácido acético e ácido lático a 1%, bem como o sorbato de potássio a 2% aumentou a vida de prateleira do filé de peito de frango embalado em sacos de polietileno para 10 a 14 dias, sendo o efeito do ácido acético mais eficiente na redução das contagens bacterianas, principalmente de enterobactérias. O uso de embalagem a vácuo proporcionou um aumento do período de estocagem dos filés de frango não tratados para 14 a 15 dias. Portanto, as amostras submetidas a esses dois tipos de tratamento tiveram sua vida útil aumentada para o dobro do tempo das que não sofreram nenhum tipo de tratamento ou modificação de embalagem.

6.3. A associação de tratamentos com ácidos orgânicos e a embalagem a vácuo resultou em um aumento significativo da vida útil dos filés de peito de frango, atingindo 21 dias, ou seja, três vezes maior do que para as amostras não tratadas e embaladas em sacos de polietileno e 7 dias a mais do que as submetidas somente à embalagem a vácuo ou ao tratamento com ácidos. Isso significa um ganho de 7 dias de estocagem com o uso de métodos combinados.

6.4. O uso de atmosfera modificada proporcionou um aumento do período de estocagem semelhante ao obtido para as amostras submetidas à combinação de tratamentos, porém com melhor qualidade microbiológica.

6.5. A perda de peso causada pela aplicação de ácido acético e ácido lático foi bastante significativa, sendo em média superior a 2,5% para as embaladas em sacos de

polietileno e superior a 3,5% para as embaladas a vácuo, devendo essa fato ser levado em consideração pela indústria em termos de perdas econômicas. As amostras submetidas a estocagem em embalagem a vácuo ou atmosfera modificada contendo menos que 75% CO₂ tiveram uma perda de peso em torno de 2,0 a 2,5% no final do período de estocagem.

6.6. A cor, o odor e a aparência geral dos filés de peito de frango foram pouco influenciados pelos tratamentos aplicados, sendo que a época de rejeição das amostras esteve relacionada com o aparecimento de odores pútridos e diminuição dos atributos de aparência devido ao envelhecimento das amostras.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADAMS, M.R.; HALL, C.I. Growth inhibition of food-borne pathogens by lactic and acetic acids and their mixtures. **International Journal of Food Science and Technology**, London, v.23, n.3, p.287-292, 1988.
2. ANDERSON, R.L.; FUNG, D.Y.C.; CUNNINGHAM, F.E.; PROCTOR, V.A. Influence of modified atmosphere packaging on microbiology of broiler drumsticks. **Poultry Science**, Champaign, v.64, n.2, p.420-422, 1985.
3. ARAFA, A.S. & CHEN, T.C. Effect of vacuum packaging on microorganisms on cut-up chickens and in chicken products. **Journal of Food Science**, Chicago, v.40, n.1, p.50-52, 1975.
4. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DA ALIMENTAÇÃO (ABIA). **Compêndio da Legislação de Alimentos: Consolidação das normas e padrões de alimentos**, Atos do Ministério da Saúde. São Paulo: ABIA, 1989.
5. ASSOCIAÇÃO PAULISTA DE AVICULTURA (APA). Tabela da avicultura, **Aves e Ovos**, São Paulo, nº 8, p.15 -16, 1996.
6. AYRES, J.C.; OGILVY, W.S.; STEWART, G.F. Post-mortem changes in stored meats. I- Microorganisms associated with development of slime on eviscerated cut up poultry. **Food Technology**, Chicago, n.4, p.199-205, 1950.
7. BAILEY, R.C.; REAGAN, J.O.; CARPENTER, J.A.; SCHULER, G.A.; THOMSOM, J.E. Types of bacteria and shelf-life of evacuated, carbon dioxide-injected and ice-packed broilers, **Journal of Food Protection**, Ames, v.42, n.3, p.218-221, 1979.
8. BAILEY, J.S.; REAGAN, J.O.; CARPENTER, J.A.; SCHULER, G.A. Microbiological condition of broilers as influenced by vacuum and carbon-dioxide in bulk shipping packs. **Journal of Food Science**, Chicago, n.44, p.134-137, 1979.
9. BAIRD, R.M.; CORRY, J.E.L.; CURTIS, G.D.N. Pharmacopoeia of Culture Media for Food Microbiology. **Proceedings. 4th International Symposium on Quality Assurance and Quality Control of Microbiological Culture Media. International**

10. BAKER, R.C.; HOTCHKISS, J.H.; QURESHI, R.A. Elevated carbon dioxide atmosphere for packaging poultry. I- Effects on ground chicken. **Poultry Science**, Champaign, v.64, n.2, p.328-382, 1985.
11. BAKER, R.C.; QURESHI, R.A.; HOTCHKISS, J.H. Effect of an elevated level of carbon dioxide containing atmosphere on the growth of spoilage and pathogenic bacteria at 2, 7, and 13° C. **Poultry Science**, Champaign, v.65, n.4, p.729-737, 1986.
12. BERNE, S. Map-ing the future with cap-ability. **Prepared Foods**, v.163, n.3. p.101-102, 104-105, 1994.
13. BERSANI, C.; CATTANEO, P.; BALZARETTI, C.; CANTONI, C. Psychrotrophic bacteria occurring in refrigerated meat products. **Industrie Alimentari**, v.23, n.213, p.112-118, 1984.
14. BEYER, K.& SINELL, H.J. Psychrotrophic microorganisms in vacuum-packaged chilled beef trimmings. In: ROBERTS, T.; HOBBS, G.; CHRISTIAN, J.; SKOVGARD, N. **Psychrophilic microorganisms in spoilage and pathogenicity**, London, Academic Press, 1981, p.191-198.
15. BOHNSACK, U.; KNIPPEL, G.; HOEPKE, H.U. The influence of a CO₂ atmosphere on the shelf-life of fresh poultry. **Fleischwirtschaft**, v.68, n.12, p.1553-1557, 1988.
16. BORPUZARI, R.N. & BORPUZARI, T. Effect of sorbic acid on shelf-life of refrigerated poultry cuts under fluctuating temperature. International Congress of Meat Science and Technology, 42. **Proceedings**, Lillehammer, Mat forst Norwegian Food Research Institute, 1996, p. 193-194.
17. BRASIL. Decreto nº 55.871, de março de 1965. Modifica o Decreto nº 50.040/61 referente às Normas Reguladoras de Emprego de Aditivos em Alimentos, alterado pelo Decreto nº 691/62. **Diário Oficial** (da República Federativa do Brasil), Rio de Janeiro, 09 de abril de 1965, retificado pelo de 20 de abril de 1965.
18. BROCK, T.D. **Biology of microorganisms**. London, Prentice Hall International, 3rd. ed., 1979, p. 670-675.

19. CHEFTEL, J.C.; CHEFTEL, H.; BESANÇON, P. **Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos.** Zaragoza, Ed. Acribia, v.2, 1983, 404p.
20. CHEFTEL, J.C.; CUQ, J.L.; LORIENT, D. **Proteínas alimentarias: bioquímica, propiedades funcionales, valor nutricional y modificaciones químicas.** Zaragoza, Espanha, Ed. Acribia, p.37-41, 59-60, 141-163 , 1989.
21. CHEN-AN-HWANG & BEAUCHAT, L.R. Efficacy of selected chemicals for killing pathogenic and spoilage microorganisms on chicken skin. **Journal of Food Protection**, Ames, v.58, n.1, p.19-23, 1995.
22. CHICHESTER, D.F. & TANNER, F.W. Antimicrobial food additives, **In: Handbook of Food additives.** CRC Press, Cleaveland, 1972, 192p.
23. CLARK, D.S. & LENTZ, C.P. Use of carbon dioxide for extending the shelf-life of pre-packaged beef. **Canadian Institute of Food Science and Technology Journal**, Ottawa, v.5, n.4, p.175-178, 1972.
24. CLARK, D.S. & LENTZ, C.P. Use of carbon dioxide and oxygen for extending the shelf-life of pre-packaged fresh beef. **Canadian Institute of Food Science and Technology Journal**, Ottawa, v.6, n.3, p.194-196, 1973.
25. **COMPUTERIZED Sensory Analysis (CSA) : version 4.2. , User's Guide**, Ontario, Compusense Inc., 1992, 225p.
26. COLLINS, P. & LAHELEC, C. Effects of vacuum packaging without prior refrigeration on the shelf-life of poultry carcasses. **Revue Technique Vétérinaire des Abattoirs et d'hygiène Alimentaire - RTVA**, v.19, n.161, p.11-19, 1980.
27. CONNER, D.E. & KOTROLA, J.S. Growth and survival of *Escherichia coli* 0157:H7 under acidic conditions. **Applied and Environmental Microbiology**, v.61, n.1, p.382-385, 1995.
28. CUNNINGHAM, F.E. Shelf-life and quality characteristics of poultry parts dipped in potassium sorbate. **Journal of Food Science**, Chicago, v.44, n.3, p.863-864, 1979.
29. CUNNINGHAM, F.E. Microbiology of poultry parts dipped in potassium sorbate. **Poultry Science**, Champaign, v.60, n.5, p.969-971, 1981.

30. CUNNINGHAM, F.E. The effectiveness of potassium sorbate as a microbial inhibitor on fresh, refrigerated poultry. **Feedstuffs**, v.54, n.4, p.20, 31, 33-34, 1982.
31. CUNNINGHAM, F.E. Types of microorganisms associated with poultry carcasses. In: CUNNINGHAM, F.E. & COX, N.A. **The microbiology of poultry meat products**. Orlando, Academic Press, 1987, p.29-38.
32. DAINTY, R.H.; SHAW, B.G.; HARDING, C.D.; MICHANIE, S. The spoilage of vacuum packed beef by cold tolerant bacteria. In: RUSSEL, A.D., FULLER, R. **Cold tolerant microbes in spoilage and environment**. London, Academic Press, , 1979, pp. 83-100 (SAB Technical Series v.13).
33. DAINTY, R.H.; SHAW, B.G.; ROBERT, T.A. Microbial and chemical changes in chill-stored red meats. In: ROBERTS, T.A., SKINNER, F.A. **Food microbiology: advances and prospects. Proceedings**. Society for Applied Bacteriology Symposium Series n° 11, London, Academic Press, 1983, p.151-178.
34. DANIELS, J.A.; KRISHNAMURTHI, R.; RIZVI, S.S.H. A review of carbon dioxide on microbial growth and food quality. **Journal of Food Protection**, Ames, v.48, n.6, p.532-537, 1985.
35. DAY, B.P.F. Guidelines for the good manufacturing and handling of modified atmosphere packed food products. Campden Food & Drink Research Association, n.34, 1992, 79 p. (Technical manual).
36. D'AUBERT, S.; POLITI, P.G.; SIMONETTI, P. Potassium sorbate and shelf-life of poultry. **Industrie-Alimentari**, v.19, n.10, p.759-762, 1980.
37. DELAZARI, I. Microbiologia de Carnes. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.52, p.25-60, 1977.
38. DICKENS, J.A. & WHITEMORE, A.D. The effect of acetic acid and air injection on appearance, moisture pick-up, microbiological quality, and *Salmonella* incidence on processed poultry. **Poultry Science**, Champaign, v.73, n.4, p.582-586, 1994.
39. DICKENS, J.A.; LYON, B.G.; WHITEMORE, A.D.; LYON, C.E. The effect of an acid dip on carcass appearance, microbiological quality, and cooked breast meat texture and flavor. **Poultry Science**, Champaign, v.73, n.4, p.576-581, 1994.

40. DICKENS, J.A. & WHITEMORE, A.D. The effect of extended chilling times with acetic acid on the temperature and microbiological quality of processed poultry carcasses. **Poultry Science**, Champaign, v.74, n.6, p.1044-1048, 1995.
41. DRESSEL, J. & LEISTNER, L. Hemmung von Salmonellen bei Schachttierkoerpern von Haechnchen nach Genusssauerebehandlung. **Mitteilungsblatt der Bundedanstalt für Fleischforschung**, Kulmbach, n.185, p.6040-6046, 1984.
42. EGAN, A.F. Microbiology and storage life of chilled fresh meats. In: European Meeting of Meat Research Workers, 30, 1984. **Proceedings**. Bristol, 1984, p.211-214.
43. EGAN, A.F. & SHAY, B.J. Significance of lactobacilli and film permeability in the spoilage of vaccum packaged beef. **Journal of Food Science**, Chicago, n.47, p.1119-1122, 1126, 1982.
44. EGAN, A.F. & SHAY, B.J. Long term storage of chilled fresh meats. In: International Congress of Meat Science and Technology in Australia, 34, 1988. **Proceedings**. Brisbane, 1988, p.477-481.
45. ELLIOT, P.H.; TOMLINS, R.I.; GRAY, R.J.H. Control of microbial spoilage of fresh poultry using a combination of potassium sorbate/carbon dioxide packaging system. **Journal of Food Science**, Chicago, v.50, n.5, p.1360-1363, 1985.
46. ENFORTS, S.O. & MOLIN, G.L. Carbon dioxide evolution of refrigerated meats. **Meat Science**, Barking, n.10, p.197-206, 1984.
47. EUSTACE, I.J. Some factors affecting oxygen transmission rates of plastic films for vaccum packaging of meat. **Journal of Food Technology**, London, v.16, n.1, p.73-80, 1981.
48. FABER, J.M. Microbiological aspects of modified atmosphere packaging technology - a review. **Journal of Food Protection**, Ames, v.54, n.1, p.58-70, 1991.
49. FEY, M.S. & REGESTEIN, J.M. Extending shelf-life of fresh wet red hake and salmon using CO₂ - O₂ modified atmosphere and potassium sorbate. **Journal of Food Science**, Chicago, v.47, n.4, p.1048-1054, 1982.

50. FINNE, G. Modified and controlled atmosphere storage of muscle foods. **Food Technology**, Chicago, v.36, n.2, p.128-133, 1982.
51. FORREST, J. C.; ABERLE, E.D.; HENDRICK, H.B.; JUDGE, M.D.; MERKEL, R.A. Properties of fresh meat, **In: FORREST, J. C.; ABERLE, E.D.; HENDRICK, H.B.; JUDGE, M.D.; MERKEL, R.A. Principles of meat science.** San Francisco: W.H. Freeman and Company, p.174-189, 1975.
52. GALLO, L.; SCHMIDT, R.E.; SCHMIDT-LORENZ, W. Microbial spoilage of refrigerated fresh broilers. I- Bacterial flora and growth during storage. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, 21: 216-223, 1988.
53. GERMAN FEDERAL REPUBLIC PATENT APPLICATION, J.W. Nicolai. **Process for reduction of microbial contamination of carcasses.** DE 3613408 A1. German Federal Republic, 1987.
54. GILL, C.O. The solubility of carbon dioxide in meat. **Meat Science**, Barking, n.22, p.65-71, 1986.
55. GILL, C.O. **The microbiology of meat packaged under carbon dioxide.** Não publicado, 1988, 8p.
56. GILL, C.O. Controlled atmosphere packaging of chilled meat. **Food Control**, v.1, n.2, p.74-78, 1990.
57. GILL C.O. & NEWTON, K.G. The ecology of bacterial spoilage of fresh meat at chill temperatures. **Meat Science**, Barking, v.2, n.3, p.207-217, 1978.
58. GRAY, R.J.H.; ELLIOTT, P.H.; TOMLINS, R.I. Control of two major pathogens on fresh poultry using a combination potassium sorbate/carbon dioxide packaging treatment. **Journal of Food Science**, Chicago, v.49, n.1, p.142-145, 179, 1984.
59. GREER, G. & DILTS, B.D. Lactic acid inhibits bacterial growth on pork lean and fat. International Congress of Meat Science and Technology, 40. **Proceedings**, The Hague, 1994, SII A 17, p.1-3.
60. HOLLAND, G.C. Modified atmospheres packaging for fresh meat distribution. **In: Meat Industry Research Conference, Proceedings.** Canada, 1980, p. 21-39.

61. HOTCHKISS, J.H.; BAKER, R.C.; QURESHI, R.A. Elevated carbon dioxide atmospheres for packaging poultry. II . Effects of chicken quarters and bulk packages. **Poultry Science**, Champaign, v.64, n.2, p.333-340, 1985.
62. HUFFMAN, D.L. Effect of gas atmospheres on microbial quality of pork. **Journal of Food Science**, Chicago, n.39, p.723-725, 1974.
63. INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMFS). **Microorganisms in foods. I- their significance and methods of enumeration. 2. ed.** Toronto, University of Toronto Press, v. 1, 434p.
64. IKEME, A.I.; SWAMINATHAN, B.; COUSIN, M.A.; STADELMAN, W.J. Extending the shelf-life of chicken broiler meat. **Poultry Science**, Champaign, v.61, n.11, p.2200-2207, 1982.
65. INGRAM, M. & DAINTY, R.H. Changes caused by microbes in spoilage meats, **Journal of Applied Microbiology**, London, v.34, n.1, p.21-39, 1971.
66. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO Methods). **Meat and Meat Products: Enumeration of microorganisms. Reference number 2293, 2. ed.,** 1988.
67. IZAT, A.L.; COLBERG, M.; THOMAS, R.A.; ADAMS, M.H.; DRIGGERS, C.D. Effects of lactic acid in processing waters on the incidence of salmonellae on broilers. **Journal of Food Quality**, v.13, n.4, p.295-306, 1990.
68. JAY, J.M. **Modern Food Microbiology.** 4th ed., New York, AVI , 1992, p.199-233.
69. JAY, J.M. & SHELEF, L.A. Microbial modifications in raw and processed meats and poultry at low temperatures. **Food Technology**, Chicago, v.32, n.5, p.186-187, 1978.
70. KAKOURI, A. & NYCHAS, G.J.E. Storage of poultry meat under modified atmospheres or vacuum packs: possible role of microbial metabolites as indicator of spoilage. **Journal of Applied Bacteriology**, London, v.76, n.2, p.163-172, 1994.
71. KOOS, I. J.T. Lactic acid and lactates. Preservation of food products with natural ingredients. **Food Marketing and Technology**, v.6, n.1, p.5-6, 8, 10-11, 1992.

72. KOOS, I. J.T. A natural way to improve quality and safety of meat and poultry products: sodium lactate. **Fleischerei**, v.44, n.1, p.10-13 1993.
73. KOVINKO, D.A.; ARTAMONOVA, N.A.; LOBACHEV, B.A.; ARANOMOV, A.F.; BOURKOVSKAYA, L.F.; NIKONOV, G.K. Film covering for poultry meat. 7th European Symposium on Meat Quality, **Proceedings**. 1985, p. 248.
74. KRAFT, A.A. & REY, C.R. Psychrotrophic bacteria in foods: an update. **Food Technology**, v.33, n.1, p.66-71, 1979.
75. LAHELLEC, C.; MEURIER, C.; BENNEJEAN, G. A study of 5,920 strains of psychrotrophic bacteria isolated from chickens. **Journal of Applied Bacteriology**, London, n.38, p.89-97, 1975.
76. LAMUKA, P.O.; SUNKI CHAWAN, C.B.; RAO, D.R.; SHACKELFORD, L.A. Bacteriological quality of freshly processed broiler chicken as affected by carcass pretreatment and gamma irradiation. **Journal of Food Science**, v.57, n.2, p.330-332, 1992.
77. LAWRIE, R.E. **Meat Science**, 4. ed., Oxford, Pergamon Press, 1985, 267p.
78. LEE, S.H. & HAN, S.K. Effect of potassium sorbate on shelf-life and psychrotrophic flora of fresh poultry. **Korean Journal of Animal Science**, v.28, n.11, p.742-746, 1986.
79. LEE, B.H.; SIMARD, R.E.; LALEYE, L.C.; HOLLEY, R.A. Effect of temperature and storage duration on the microflora, physico-chemical and sensory changes of vacuum or nitrogen-packed pork. **Meat Science**, Barking, n.13, p.99-112, 1985.
80. LEITÃO, M.F.F.; HAGLER, L.C.S.M.; HAGLER, A.N.; MENEZES, T.J.B. **Tratado de microbiologia em alimentos**. São paulo, Ed. Manole Ltda., v.1., p.30-52, 1988.
81. LILLARD, H.S.; BLANKENSHIP, L.C.; DICKENS, J.A., CRAVEN, S.E.; SHACKELFORD, A.D. Effect of acetic acid on the microbiological quality of scald picked and unpicked broiler carcasses. **Journal of Food Protection**, Ames, v.50, n.2, p.112-114, 1987.
82. LÜCK, E. **Conservación química de los alimentos**. Zaragoza, Ed. Acríbia, 1981, 119 p.

83. MAREL, G.M.; LOGTESTEIN, J.G.; MOSSEL, D.A.A. Bacteriological quality of broiler carcasses as affected by in-plant lactic acid decontamination. **International Journal of Food Microbiology**, v.6, n.1, p.31-42, 1988.
84. MAREL, G.M.; VRIES, A.W.; LOGTESTEIN, J.G.; MOSSEL, D.A.A. Effect of lactic acid treatment during processing on the sensory quality and lactic acid content of fresh broiler chickens. **International Journal of Food Science and Technology**, London, v.24, n.1, p.11-16, 1989.
85. MCMEEKIN, J. Microbial spoilage of meats. In: DAVIS, R., **Developments in food microbiology**. , London, Applied Science, 1982, p.1-40.
86. MCMEEKIN, T.A.; PENNINGTON, P.I.; THOMAS, C.J. Effect of potassium sorbate on the microbiology of vacuum packed poultry. **Journal of Food Safety**, v.6, n.4, p.261-270, 1984.
87. MEAD, G.C. & ADAMS, B.W. A note on the shelf-life of commercially-processed chicken giblets. **British Poultry Science**, v.21, n.5, p.411-415, 1980.
88. MEAD, G.C.; GRIFFITHS, N.M.; GREY, T.C.; ADAMS, B.W. The keeping quality of chilled duck portions in modified atmosphere packs. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v.19, n.2, p.117-121, 1986.
89. MORRISON, G.J. & FLEET, G.H. Reduction of *Salmonella* on chicken carcasses by immersion treatments. **Journal of Food Protection**, Ames, v.48, n.11, p.939-943, 1985.
90. MOYE, C.J. Meat preservation. **PCT International Patent Application WO 90/03118 A1**, Meheco, Donacster East, Australia, 1990.
91. MULDER, R.W.A.W. Microbiology of poultry meat. **Poultry International**, v.32, n.13, p.26, 28, 30, 1993.
92. MULDER, R.W.A.W. Decontamination of broiler carcasses. **Misset World Poultry**, v.11, n.3, p.39-40, 43, 1995.
93. MULDER, R.W.A.W.; HULST, M.C.; BOLDER, M. *Salmonella* decontamination of broiler carcasses with lactic acid, L-cysteine and hydrogen peroxide. **Poultry Science**, Champaign, v.66, n.9, p.1555-1557, 1987.

94. NICOLAI, J.W. Process for reduction of microbial contamination of carcasses. **German Federal Republic Patent Application**, DE 3613408 AI, German Federal Republic, 1987.
95. NOSKOWA, G.L. **Microbiologia de las carnes conservadas po el frio**. Zaragoza, Ed. Acribia, 1978, 168p.
96. O'KEEFE, M. & HOOD, D.E. Anoxic storage of fresh beef 2: Colour stability and weight loss. **Meat Science**, Barking, n.5, p.267-269, 1981.
97. OKREND, A.J.; JOHNSON, R.W.; MORAN, A.B. Effect of acetic acid on death rates at 52°**Erro! Indicador não definido.** C of *Salmonella newport*, *salmonella typhimurium* and *Campylobacter jejuni* in poultry scald water. **Journal of Food Protection**, Ames, v.49, n.7, p.500-503, 1986.
98. OLSON, V.M. Evaluation of freeze-thaw methods for the reduction of *Salmonella typhimurium* on raw processed poultry, **Dissertation Abstracts International B**, v.41, n.8, p.2956, 1981.
99. OSTHOLD, W.; SHIN, H.K.; DRESSEL, J.; LEISTNER, L Improving the storage life of carcasses by treating their surfaces with an acid spray. **Fleischwirtschaft**, Frankfurt, v.64, n.7, p.828-830, 1984.
100. PADULA, M.; SARANTOPOULOS, C.I.G.L.; ARDITO, E.F.G.; GARCIA, E.E.C.; OLIVEIRA, L.M.; ALVES, R.M.V. **Embalagens plásticas - controle de qualidade**. ITAL/Coordenadoria de Pesquisa Agropecuária, Campinas, 1989, p.140-142.
101. PARDI, M.C.; SANTOS, I.F.; SOUZA, E.R.; PARDI, H.S. **Ciência, higiene e tecnologia da carne: ciência e higiene da carne**. Goiânia, CEGRAF - UFG, 1993, v.1, p. 265-347.
102. PARDI, M.C.; SANTOS, I.F.; SOUZA, E.R.; PARDI, H.S. **Ciência, higiene e tecnologia da carne: tecnologia da carne e de subprodutos**. Goiânia, CEGRAF - UFG, 1994, v. 2., p. 638-675.
103. PARRY, R.T. **Principles and applications of modified atmosphere packaging of food**. Glasgow, Blackie Academic & Professional, 1993, p. 63-100, 269-298.

104. PATTERSON, J.T.; GILLESPIE, C.W.; HOUGH, B. Aspects of the microbiology of vacuum and gas-packaged chicken, including pre-treatments with lactic acid and potassium sorbate. **British Poultry Science**, London, v.25, n.4, p.457-465, 1984.
105. PHEBUS, R.K.; DRAUGHON, F.A.; MOUNT, J.R. Survival of *Campylobacter jejuni* in modified atmosphere packaged turkey roll. **Journal of Food Protection**, Ames, v.54, n.3, p.194-199, 1991.
106. PODOLAK, R.K.; ZAYAS, J.F.; KASTNER, C.L.; FUNG, D.Y.C. Reduction of *Lysteria monocytogenes*, *Escherichia coli* 0157: H7 and *Salmonella typhimurium* during storage on beef sanitized with fumaric, acetic and lactic acids. International Congress of Meat Science and Technology, 41. **Proceedings**, San Antonio, American Meat Science Association, 1995, p.299-300.
107. PRICE, J.F. & SCHWEIGHT, B.S. **Ciencia de la carne e de los productos cárnicos**. Zaragoza, Ed. Acribia, 1976, 660p..
108. REGESTEIN, J.M. The shelf-life extension of haddock in carbon dioxide-oxygen atmospheres with and without potassium sorbate. **Journal of Food Quality**, v.5, n.4, p.285-300, 1982.
109. RISTIC, M. & OSTHOLD, N. Einfluss der Sauereloesung auf die Lagerfaehigkeit von Broilern. **Mitteilungsblaat der Bundesanstalt für Fleischforschung**, Kulmbach, n.86, p.6193-6198, 1984.
110. RIZVI, S.S.H. Requirements for foods packaged in polymeric films. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Massachusetts, n.14, p.111-115, 1981.
111. ROBACH, M.C. Extension of shelf-life of fresh, whole broilers, using a potassium sorbate dip. **Journal of Food Protection**, Ames, v.42, n.11, p.855-857, 1979a.
112. ROBACH, M.C. Influence of potassium sorbate on growth of *Pseudomonas putrefaciens*. **Journal of Food Protection**, Ames, v.42, n.4, p.312-313, 1979b.
113. ROBACH, M.C. & IVEY, F.J. Antimicrobial efficacy of a potassium sorbate dip on freshly processed chicken. **Journal of Food Protection**, Ames, v.41, n.4, p.284-288, 1978.

114. SANDER, E.H. & SOO, H.M. Increasing shelf-life by carbon dioxide treatment and low temperature storage of bulk pack fresh chickens packaged in nylon/Surllyn film. **Journal of Food Science**, Chicago, v.43, n.5, p.1519-1523, 1527, 1978.
115. SAWAYA, W.N.; ABU-RUVAIDA, A.S.; BARRON, Z.H.; KHALAFAWI, M.S.; MURAD, M. Shelf-life of eviscerated broiler carcasses as affected by vacuum packaging and potassium sorbate. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v.26, n.6, p.517-523, 1993.
116. SAWAYA, W.N.; ABU-RUVAIDA, A.S.; HUSSAIN, A.J.; KHALAFAWI, M.S.; DASHTI, B.H. Shelf-life of vacuum-packaged eviscerated broiler carcasses under simulated market conditions. **Journal of Food Safety**, v.13, n.4, p.305-321, 1993.
117. SAWAYA, W.N.; ELNAWAWY, A.S.; AL-ZENKI, S.; AL-OTAIBI, J.; AL-OMIRAH, H.; AL-AMIRI, H. Storage stability of chickens as affected by MAP and lactic acid treatment. **Journal of Food Science**, Chicago, v.60, n.3, p.611-614, 1995.
118. SAWAYA, W.N.; ELNAWAWY, A.S.; ABU-RUWAIDA, A.S.; KHALAFAWI, S.; DASHTI, B. Influence of modified atmosphere packaging on the shelf-life of chicken carcasses under refrigerated storage conditons. **Journal of Food Safety**, v.15, n.1, p.35-51, 1995.
119. SEBRANECK, J.G. "Meat is dynamic"- factors in controlled atmosphere packs. **The National Provisioner**, Chicago, v.10, n.5, p.10-16, 1986.
120. SGARBIERI, W.C. **Proteínas em alimentos proteicos: propriedades, degradações, modificações**. São Paulo, Livraria Varela, 1996, p. 9-137, 394-409.
121. SHAY, B.J.& EGAN, A.F. Studies of possible techniques for extending the storage life of chilled pork. **Food Technology in Australia**, N. Sidney, v.38, n.4, p.144-146, 1986.
122. SHAY, B.J. & EGAN, A.F. The packaging of chilled red meats. **Food Technology in Australia**, N. Sidney, v.39, n.6, p.283-285, 1987.
123. SILLIKER, J.H. **Microbial ecology of foods**. New York, Academic Press, 1980 v.1, 1980, p.92-111, 126-136.

124. SILVA, J.A. **Extensão da vida-de-prateleira da carne bovina pela utilização de sanitizantes físicos e químicos.** Campinas, 1995, 119 p. Tese (Doutor em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas.
125. SINGH, R.P.; ANAND, S.K.; PANDA, B. Effect of lactic acid and vacuum packaging on shelf-life of quail carcasses under refrigerated storage. **Indian Journal of Poultry Science**, v.23, n.4, p.326-329, 1988.
126. SMULDERS, F.J.M. Prospectives for microbial decontamination of meat and poultry by organic acids with special reference to lactic acid. In: SMULDERS, F.J.M. Elimination of pathogenic organisms from meat and poultry, Amsterdam, Elsevier Appl. Publ., 1987, p.319-344.
127. SMULDERS, F.J.M.; BARENDSEN, P.; LOGTESTIJN, J.C.; MOSSEL, D.A.A.; MAREL, G.M. Lactic acid: considerations in favour of its acceptance as a meat decontaminant. **Journal of Food Technology**, London, v.21, n.4, p.419-436, 1986.
128. SOFOS, J.N. Antimicrobial activity and functionality of reduced sodium chloride and potassium sorbate in uncured poultry products. **Journal of Food Science**, Chicago, v.51, n.1, p.16-19, 23, 1986.
129. STAAR, L.D. State-of-art in controlled atmosphere packaging of foods. **The National Provisioner**, Chicago, v.15, n.12, p.9-11, 23, 24, 1984.
130. STATGRAPHICS. **Statistical graphics system** : v.4.0, Ontario, Statistical Graphics Corporation, 1989.
131. STOKES, J.L. & REDMOND, M.L. Quantitative ecology of psychrotrophic organisms. **Applied Microbiology**, v.14, p.74, 1966.
132. TATCHER, F.S. & CLARK, D.S. **Microorganisms in foods: 1- Their significance and methods of enumeration.** Toronto, University of Toronto Press, 1975, p. 23-31.
133. TAYLOR, A.A. Gases in fresh meat packaging. **Institute of Meat Bulletin**, Bristol, n.79, p.26-32, 1973.
134. TAYLOR, A.A. Packaging fresh meat. In: LAWRIE, R. **Developments in Meat Science**, London, Elsevier Applied Publishers, 1985, v.3, p.89-113.

135. TAYLOR, A.A. & SHAW, B.G. The effect of meat pH and package permeability on putrefaction and greening in vacuum packed beef. **Journal of Food Technology**, London, v.12, p.551-519, 1977.
136. THYS, L.; ROUS, A.; DEBEVERE, J. The influence of lactic acid and modified atmosphere packaging. **Voedingmiddelen-technologie**, v.27, n.10, p.19-21, 1994.
137. THOMAS, Y.O.; KRAFT, A.A.; RUST, R.E.; HOTCHKISS, D.K. Effect of carbon dioxide flushing and packaging methods on the microbiology of packaged chicken. **Journal of Food Science**, Chicago, v.49, n.5, p.1367-1371, 1984.
138. TO, E.C. & ROBACH, M.C. Potassium sorbate dip as a method of extending shelf-life and inhibiting the growth of *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* on fresh, whole broilers. **Poultry Science**, Champaign, v.59, n.4, p.726-730, 1980.
139. URBAIN, W.M. Radurization and radication: meat and poultry. In: JOSEPHSON, E.S., PETERSON, M.S. **Preservation of food by ionizing radiation**. Boca Raton, CRC Press, 1983.
140. VANDERSANT, C.; HANNA, M.O.; EHLERS, J.C.; SAVELL, J.W.; SMITH, G.C.; GRIFFIN, D.B.; TERREL, R.N.; LIND, K.D.; GALLOWAY, D.E. Centralized packaging of beef loin steaks with different oxygen barrier films: microbiological characteristics. **Journal of Food Science**, Chicago, v.47, p.1070-1073, 1982.
141. VISIER, A.A. **Indústria de la carne: salazones y chacineria**. Barcelona, Ed. Aedos, 1980.
142. XAVIER, C.V.A. De houdbaarheid van gasverpakt varkensvlees, **Vleesdistributie en Vleestechnologie**, Nederland, v.24, n.4, p.28-29, 32-35, 1989.
143. XAVIER, C.V.A. **Estudo da vida-de-prateleira da carne suína embalada sob atmosfera modificada**, São Paulo, 1990. (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.
144. XAVIER, C.V.A. & BERAQUET, N.J. Vida-de-prateleira da carne de frango refrigerada - Alternativas tecnológicas I : Atmosfera modificada, Campinas, **Boletim da SBCTA**, Campinas, v.27, n.1, p.41-47, 1993.

145. XAVIER, C.V.A. & BERAQUET, N.J. Vida-de-prateleira da carne mecanicamente separada de frango estocada sob refrigeração, **Coletânea do ITAL**, Campinas, v.24, n.1, p.91-104, 1994a.
146. XAVIER, C.V.A. & BERAQUET, N.J. Vida-de-prateleira da carne de frango refrigerada - Alternativas tecnológicas II : Métodos de descontaminação , **Coletânea do ITAL** , Campinas, v.24, n.2, p.121-128, 1994b.
147. XAVIER, C.V.A. & WIJNGAARDS, G. Vida-de-prateleira da carne suína acondicionada em atmosfera modificada. **Anais... Conf. ciência e tecnol. produção e industrialização de suínos**, p.150, Campinas, 1995a.
148. XAVIER, C.V.A. & WIJNGAARDS, G. Embalagem em atmosfera modificada para carne suína de pH final > 6,0. **Anais... Conf. ciência e tecnol. produção e industrialização de suínos**, p.151, Campinas, 1995b.
149. YUU-CHU-WU & JENG-YANN-KE Effects of potassium sorbate, ascorbic acid and lactic acid dipping on the keeping quality of chicken breast muscle. **Journal of Chinese Society of Animal Science**, v.22, n.1, p.109-118, 1993.
150. ZEITOUN, A.A.M. Use of lactic acid buffers and modified atmosphere packaging to improve shelf-life and safety of poultry. **Voedingsmiddelentechnologie**, v.25, n.13, p.50, 1992.
151. ZEITOUN, A.A.M. & DEBEVERE, J.M. Decontamination with lactic acid/sodium lactate buffer in combination with modified atmosphere packaging effects on the shelf-life of fresh poultry. **International Journal of Food Microbiology**, v.16, n.2, p.89-98, 1992.
152. ZEITOUN, A.A.M. & DEBEVERE, J.M. Inhibition, survival and growth of *Listeria monocytogenes* on poultry as influenced by buffered lactic acid treatment and modified atmosphere packaging. **International Journal of Food Microbiology**, v.14, n.2, p.161-169, 1991.
153. ZEITOUN, A.A.M. & DEBEVERE, J.M. The effect of treatment with buffered lactic acid to microbial decontamination and on shelf-life of poultry. **International Journal of Food Microbiology**, v.11, n.3/4, p.305-311, 1990.
154. ZEITOUN, A.A.M. & DEBEVERE, J.M. Verpackung von Gefluegelfleisch Einfluss einer modifizierten Atmosphaere auf die Haltbarkeit frschen Gefluegelfleisches. **Fleischwirtschaft**, v.72, n.12, p.1686-1688, 1992.

155. ZEITOUN, A.A.M.; DEBEVERE, J.M.; MOSSEL, D.A.A. Significance of *Enterobacteriaceae* as index organisms for hygiene on fresh untreated poultry, poultry treated with lactic acid and poultry stored in a modified atmosphere. **Food Microbiology**, v.11, n.2, p.169-176, 1994.