

DANIELA TORQUATO MENGARDA BUOSI

Determinação da vida útil de peito de peru *in natura* resfriado armazenado em condições aeróbias

Dissertação submetida ao Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Glaucia M. Falcão Aragão

Co-Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Francieli Dalcanton

FLORIANÓPOLIS
2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Buosi, Daniela Torquato Mendarga

Determinação da vida útil de peito de peru in natura resfriado armazenado em condições aeróbias / Daniela Torquato Mendarga Buosi ; orientadora, Gláucia Maria Falcão de Aragão - Florianópolis, SC, 2016.
101 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos.

Inclui referências

1. Engenharia de Alimentos. 2. Engenharia de Alimentos. 3. carne, peito de peru in natura resfriado. 4. vida útil, microbiologia preditiva. 5. bactérias aeróbias psicotróficas, Pseudomonas . I. Aragão, Gláucia Maria Falcão de . II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. III. Título.

Dedico esta dissertação
a todos que contribuíram
para que ela se tornasse possível

AGRADECIMENTOS

Gratidão é um sentimento nobre e que engrandece a alma, por isso, tão importante constar nesta dissertação um texto de agradecimentos. Este é um trabalho que muitos não acreditaram e ainda não acreditam, e sempre me questionam: “como é que ela consegue?” Mas, quem me conhece, sabe como e sabe que não é e nem foi simples assim.

Agradeço a Deus, pela vida e pela saúde. Saúde, minha e principalmente da minha família, que tornou possível toda esta caminhada. Todas as viagens e todas as horas de estudo em meio rotina de filhos, trabalho e viagens. Toda energia a mim dispensada para as horas de estudo, escrita, revisão, trabalho, experimentos. Agradeço a todas as pessoas que sempre me apoiam e mesmo assim me desafiam, mesmo eu achando que não consigo tudo 100% e me contento com os resultados obtidos na minha vida pessoal, profissional e espiritual.

A minha família, meu marido Ricardo, amigo, orientador, pai e mãe na minha ausência, super companheiro e parceiro em me apoiar a sempre estudar e trabalhar. Agradeço aos meus três filhos, minha filha mais velha e super responsável Maria Carolina, Ana Beatriz e João Augusto, que por muitas vezes não entenderam a minha ausência no dia-a-dia, e ficavam em dúvida se a mãe era aluna ou professora. Aos meus pais, meu pai Mengarda e minha mãe Silvia, que além de tudo, me buscaram e me levaram e todas as minhas aulas, acordando cedo e indo dormir tarde para me fazer companhia nos dias que estava em Florianópolis. A minha irmã, Tata, que tanto me ouve me entende. Ao meu irmão, Camilo, por todo o apoio e horas de distração (necessárias).

À minha orientadora, prof. Gláucia, por me apoiar e me aceitar nesta caminhada, sendo um caminho tão desconhecido e desafiador para mim, tecnicamente e profissionalmente. Por aguentar minhas dúvidas, perguntas e todos os questionamentos, desde os mais simples até os mais complexos. Por dividir o quarto comigo durante o Congresso no Rio de Janeiro (foi super legal). A minha co-orientadora, prof. Francieli Dalcanton, por aceitar este desafio, abrindo as portas da UnoChapeco para este estudo, e toda a paciência em me auxiliar nos experimentos e toda a dissertação e horas de bate-papo.

Um agradecimento especial a Instituição Universidade Comunitária de Região de Chapecó (UNOCHAPECO), na cidade de Chapecó-SC, ao pessoal do laboratório de Microbiologia da UnoChapeco, Mariane, Deisi por todas as horas compartilhadas no laboratório. Ao pessoal do laboratório de Sementes e

laboratório de produtos naturais, por compartilhar o espaço comigo e com minhas amostras, ainda que por muitas vezes atrapalhavam pelo odor

As minhas amigas, Alessandra, Caline, Eliana e Jaqueline, por ouvirem eu explicar tantas vezes sobre o meu estudo de microbiologia preditiva e mesmo sem entender muito, achar legal e me apoiar. À minha amiga Eliana, por todo apoio, horas de bate-papo, manicure e muitas caronas aos meus filhos. Às amigas, Dani, Heloisa, Miriam, que também dividiam o tempo e amizade neste período. À minha amiga Carol, que desde a faculdade é sempre um apoio e uma amizade incondicional, e nos recebeu maravilhosamente neste período. À minha amiga Fernanda, que sempre me encorajou e apoiou neste desafio.

Ao pessoal do SENAI, laboratório de microbiologia, que me ensinou muito da microbiologia, na prática, no laboratório e tiveram toda a paciência e disponibilidade do mundo. Obrigada Daiane e Obrigada Elis, vocês foram bem especiais. Ao pessoal do SENAI IST, nas pessoas a Dra. Ivania, Almeri, Gabi Chiariani, Gabi Nicoletti, Kassy, Katherine, Marcia, Milto, Morgana e Rivel, que em um ano tão atípico da minha vida pessoal e profissional me receberam e me apoiaram, acreditando no meu potencial, bem como abrindo as portas do SENAI Chapecó-SC para meus estudos.

Aos meus colegas da UFSC, Cintia e Wiaslan, sempre tão amigos comigo, com tudo. As colegas do Engebio, Kelen, Pamela, Denise e colegas de disciplinas da Pós, Diego, Emanuele, Giustino, Miquele, Natalia, Natielle, Neila, Paula e Santiago. Ao professor Dr. Daniel por todas as vezes que nos ajudou por e-mail, para as soluções dos modelos matemáticos. Aos professores do programa de Pós-Graduação da UFSC, Bruno, João, Jorge, Marco, Marcelo, e a secretária Jeovana, por toda atenção aos meus e-mails e pedidos via telefone a cada trimestre. Ao pessoal da BRF, Alexandre, Alice, Dinorvan, Giovano, Joise, Juliana, Paulo, Sandra, Sedenir, todos muito importantes, cada de um do seu jeito, numa parcela, mas todos numa contribuição sempre positiva. Por possibilitar este estudo cedendo as amostras, e acreditar que podemos fazer diferente.

Aos meus colegas de trabalho de ontem, hoje e amanhã, que compartilham comigo as ansiedades, piadas, muitas horas sem dormir e muito suor.

“O maior bem do homem é uma mente inquieta”.

(Isaac Asimov)

RESUMO

A carne é um alimento altamente perecível dado à sua composição. Em armazenamento refrigerado, e sob condição aeróbica, a vida útil desse alimento é limitada pelo crescimento e atividades bioquímicas de bactérias aeróbias psicotróficas, dentre elas destaca-se a *Pseudomonas* spp. Almeja-se dispor de ferramentas que ajudem a estimar a qualidade de produtos cárneos refrigerados, principalmente em situações fora da normalidade, durante processamento ou transporte, conhecido como abuso de temperatura. A microbiologia preditiva, por meio de modelos matemáticos, pode estimar o nível de contaminação microbiológica de alimentos em condições de armazenamento similares às condições reais. Desse modo, seu emprego pode ser útil para essas indústrias, facilitando a tomada de decisão e tornando possível a antecipação de problemas. Assim sendo, este trabalho foi realizado com o objetivo de modelar a vida útil de peito de peru *in natura* resfriado armazenado em condições aeróbias, baseado no crescimento de bactérias deteriorantes psicotróficas, presentes na microbiota natural do produto. Para isso, realizou-se o acompanhamento das curvas de crescimento de bactérias aeróbias psicotróficas e *Pseudomonas* spp. às temperaturas de -2, 0, 2, 4, 7 e 10 °C. Estas temperaturas foram escolhidas com base no armazenamento refrigerado deste produto e na intenção de estender ao máximo a vida útil do alimento na condição de resfriado, considerando que a carne tem o ponto de congelamento entre -2,5 e -4 °C. Os dados de crescimento foram coletados em diferentes tempos e condições de temperatura. Foi utilizado o modelo de Gompertz modificado (GOM) para avaliar e comparar as curvas de crescimento das bactérias aeróbias psicotróficas e *Pseudomonas* spp. Através da correlação da avaliação sensorial e dados da literatura, *Pseudomonas* spp. foi escolhida e determinada como SSO (*specific spoilage organism*) e o valor de 6,5 log/UFC (15ln UFC/g) foi considerado como valor de referência de tempo de vida útil. Os modelos primários de Gompertz modificado (GOM) e Baranyi e Roberts (BAR) foram ajustados aos dados experimentais para a obtenção dos parâmetros de crescimento: velocidade específica máxima de crescimento (μ_{\max}) e duração da fase lag (λ). Os dois modelos primários apresentaram bons ajustes aos dados para *Pseudomonas* spp. No entanto, o modelo de BAR apresentou melhor ajuste, quando ajustados aos modelos secundários. Os modelos secundários descrevem a influência da temperatura sobre os parâmetros de crescimento: velocidade específica máxima de crescimento (μ_{\max}) e duração da fase lag (λ), conseqüentemente, o tempo de

vida útil (TVU) do produto, na faixa estudada. Concluiu-se, efetivamente que a redução da temperatura de refrigeração, causou um aumento de fase lag (λ), como consequência da redução da velocidade específica máxima de crescimento (μ_{max}), o que permitiu o aumento do tempo da vida útil do alimento na condição temperatura de $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$ quando comparado as demais temperaturas.

Palavras-chave: peito de peru, carne, resfriado, vida útil, bactérias, bactérias aeróbias psicotróficas, *Pseudomonas*, microbiota natural, Microbiologia preditiva.

ABSTRACT

Meat is a highly perishable food due its composition. In refrigerated , and under aerobic conditions, the shelf life of this type of food is limited by the growth and biochemical activities of aerobic psychotrophic bacteria, among them *Pseudomonas* spp. To minimize losses in the industry, we aim at tools that help to estimate the quality of their refrigerated products, especially in unusual situations during processing or transportation, known as temperature abuse. Predictive microbiology, through mathematical models, can estimate the level of microbiological contamination of food under storage conditions similar to real conditions. Thus way, it can be useful for processing industries, beinf easy the decision making and making possible the anticipation of problems. Therefore, the objective modeling the shelf life of chilled fresh turkey breast stored in aerobic conditions, based on the growth of psychotrophic deteriorating bacteria present in the product's natural microbiota. For this, the growth curves of aerobic psychotrophic bacteria and *Pseudomonas* spp were monitored at temperatures of -2, 0, 2, 4, 7 and 10 ° C. These temperatures were chosen based on the refrigerated storage of this product and in the intention to extend to the maximum the life of the food in the condition of chilled, considering that the meat has the freezing point between -2,5 and -4 ° C. Growth data were collected at different times and temperature conditions. A modified Gompertz model (GOM) was used to evaluate and compare the growth curves of the aerobic psychotrophic bacteria and *Pseudomonas* spp. Through the correlation of the sensorial evaluation and data of the literature to *Pseudomonas* spp. Were chosen and determined as SSO (specific spoilage organism) and the value of 6.5 log / UFC (15ln UFC / g) was considered as the useful life reference value. The primary models of modified Gompertz (GOM) and Baranyi and Roberts (BAR) were adjusted to the experimental data to obtain growth parameters: maximum growth specific velocity (μ) and lag phase duration (λ). The two primary models presented good data adjustments for *Pseudomonas* spp. However, the BAR model presented better adjustment, when the secondary models were adjusted. Secondary models describe the influence of temperature on the growth parameters: maximum specific growth rate (μ) and duration of the lag phase (λ), consequently the shelf life of the product in the studied temperature range. In general, the reduction of the cooling temperature, decrease of μ and increase of λ and, which allowed the increase of the shelf life of the turkey breast meat in the temperature of -2 ° C, and a condition of shorter service life at 10 ° C .

Keywords: turkey breast, meat, chilled meat, shelf life, bacteria, aerobic psychotropic bacteria, *Pseudomonas*, natural flora, predictive microbiology

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Produtos da empresa BRF produzidos à base de peito de peru: (A) Peito de peru temperado congelado, (B) embutido cozido de peito de peru Blanquet, (C) Peito de peru cozido e defumado fatiado, (D) Peito de peru cozido e defumado, (E e F) produtos do mercado europeu, peito de peru fatiado in natura resfriado.	28
Figura 2. Fluxograma as etapas do abate e processamento da carne de peru..	30
Figura 3. Foto da etapa de inspeção de carcaças de peru durante o processamento.....	31
Figura 4.Fotos da inspeção sanitária do SIF (A) e inspeção da qualidade ((PCC1B) (B))......	32
Figura 5. Foto ilustrativa da etapa de separação de parte inferior e parte superior das carcaças de peru.....	33
Figura 6.Fotos das carcaças já separadas nas partes de parte inferior (A) e parte superior (B).....	34
Figura 7. Etapa de resfriamento de parte superior.	35
Figura 8. Foto do parte superior na linha de corte e desossa do peito (equipamento automático Stork).	35
Figura 9. Mesa de Refile de peito de peru	37
Figura 10. Fases do crescimento microbiano.	45
Figura 11. Parâmetros associados com a equação de Gompertz modificada... ..	49
Figura 12. Simulação do modelo de Baranyi e Roberts (1994)	50
Figura 13. Local de coleta e embalagem das amostras de peito de peru resfriado- BRF S/A Unidade Industrial Chapecó(SC)	59
Figura 14. Amostra de peito de peru embalada e identificada para os ensaios	60
Figura 15. Equipamento de refrigeração e alocação das amostras.....	61
Figura 16. Cabine para realização das análises (com câmara de fluxo laminar) (A) e a leitura de pH em uma amostra (B).	64
Figura 17. Placa de contagem de <i>Pseudomonas</i> spp. (A) tira de oxidase positiva (B) colônias fluorescentes.....	67
Figura 18. Amostras de peito de peru resfriado com aspecto padrão característico, no início do armazenamento (tempo zero): (A) Amostra de peito de peru resfriada no tempo zero (cor rósea clara, com brilho e visível a película superficial característica.....	69
Figura 19. Amostras de peito de peru com deterioração avançada: alteração visível de colônias, mela (A), alteração visível de colônias e mela, com a tira	

de Oxidase (+) (B), mela na superfície (C) e parte inferior da peça de peito de peru com mela e sinais de alteração (D).	70
Figura 20. Curvas de Crescimento de BAP (cor verde) e PSE (cor preta) - Dados Observados & Curvas do modelo de Ajuste GOM.....	79
Figura 21. Ajuste do modelo de GOM aos dados experimentais das curvas de crescimento de Pseudomonas spp. às temperaturas de -2, 0, 2, 4, 7 e 10°C.....	82
Figura 22. Ajuste do modelo de BAR aos dados experimentais das curvas de crescimento de Pseudomonas spp. às temperaturas de -2, 0, 2, 4, 7 e 10°C.....	83
Figura 23. Influência da temperatura sobre $\mu_{m\acute{a}x}$ expressa através dos modelos secundários, Arrhenius (BAR) (A) e Potência (BAR) (B), Arrhenius (GOM) (C) e Potência (GOM)(D).	89
Figura 24. Influência da temperatura sobre o parâmetro de crescimento lag (λ) (h) expressa através dos modelos secundários, Arrhenius (BAR) (A) e Potência (BAR) (B), Arrhenius (GOM) (C) e Potência (GOM)(D).	90
Na sequência apresenta-se figura 25 que descreve Influência da temperatura sobre o modelo de predição TVU (h) expressa através dos modelos secundários, Arrhenius (A) e Potência (B).	92
Figura 26. Curvas de Crescimento de BAP (cor verde) e PSE (cor preta) - Dados Observados & Curvas do modelo de Ajuste BAR.....	94

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Modelos secundários.....	53
Tabela 10. Equações dos modelos secundários que descrevem a influência da temperatura sobre os parâmetros de crescimento, μ_{\max} (h^{-1}) e lag (λ) (h), obtidos através dos modelos GOM e BAR.....	88
Tabela 11. Valores observado (sensorial) de TVU e valores preditos (PSE, modelo de BAR – 15 ln UFC/g).....	91
Tabela 3. Condições de tempo e temperatura de incubação para as análises microbiológicas realizadas.....	65
Tabela 4. Resumo dos valores de tempo de vida útil do produto, baseado nas alterações sensoriais, e os valores correspondentes à contagem de bactérias aeróbias psicotróficas e <i>Pseudomonas</i> spp, nos tempos correspondentes ao final da vida útil sensorial, às temperaturas de -2, 0, 2, 4, 7 e 10 °C.....	74
Tabela 5. Valores de pH inicial correlacionando os valores de pH final referente ao tempo final de vida útil sensorial.....	75
Tabela 6. Parâmetros de crescimento de <i>Pseudomonas</i> spp em peito de peru resfriado <i>in natura</i> , obtidos pelo ajuste do modelo de GOM aos dados experimentais às temperaturas -2, 0, 2, 4, 7 e 10°C.....	84
Tabela 7. Parâmetros de crescimento de <i>Pseudomonas</i> spp em peito de peru resfriado <i>in natura</i> , obtidos pelo ajuste do modelo de BAR aos dados experimentais às temperaturas -2, 0, 2, 4, 7 e 10°C.....	84
Tabela 8. Índices estatísticos Parâmetros de crescimento de <i>Pseudomonas</i> spp em peito de peru resfriado <i>in natura</i> , obtidos pelo ajuste do modelo de GOM aos dados experimentais às temperaturas -2, 0, 2, 4, 7 e 10°C.....	85, 86
Tabela 9. Índices estatísticos, obtidos pelo ajuste do modelo de BAR aos dados experimentais às temperaturas -2, 0, 2, 4, 7 e 10°C para <i>Pseudomonas</i> spp em peito de peru resfriado <i>in natura</i>	86

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- A – Aumento logarítmico da população ($y_{\max} - y_0$)
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
aw - Atividade de água
BAP - Bactérias aeróbias psicotróficas
BAR – modelo de Baranyi e Roberts
BOD - Estufa (refrigerador com controle de temperatura)
e – igual a 2,7182
GOM – modelo de Gompertz Modificado
h0 - Parâmetro do Modelo de Baranyi e Roberts
k - Parâmetro a ser descrito pelos modelos secundários
MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
mL– mililitro
N - Concentração microbiana (UFC/g)
N₀ - Concentração microbiana inicial (UFC/g)
N_{máx} - Concentração microbiana máxima (UFC/g)
PCC – Ponto crítico de controle
pH – potencial hidrogênio iônico
PSE – *Pseudomonas* spp.
q - Parâmetro do Modelo de Baranyi e Roberts
q0 - Parâmetro inicial do Modelo de Baranyi e Roberts
SIF_ Serviço de Inspeção Federal
t - Tempo (h)
T - Temperatura (°C)
T_{mín} - Temperatura mínima de observação do crescimento (°C)
UFC - Unidades formadoras de colônia
V - Volume (L)
y_{máx} - Logaritmo natural da população microbiana máxima Ln (UFC/g)
 μ_{\max} - Velocidade específica máxima de crescimento (h^{-1})
 λ – duração da fase lag (h)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
1.1	OBJETIVOS	24
1.1.1	<i>Objetivo geral</i>	24
1.1.2	<i>Objetivos específicos</i>	24
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	26
2.1	PRODUÇÃO DA CARNE DE PERU	26
2.1.1	<i>Fluxograma de Abate e Processamento de Peru</i>	29
2.2	IMPORTÂNCIA DA TEMPERATURA NA CONSERVAÇÃO	37
2.3	ESTUDO DA VIDA ÚTIL (SHELF LIFE)	39
2.4.1	<i>Modelos Primários</i>	47
2.4.2	<i>Modelo de Gompertz e Gompertz Modificado</i>	47
2.4.3	<i>Modelo de Baranyi e Roberts</i>	50
2.4.4	<i>Modelos Secundários</i>	51
2.4.5	<i>Modelos de predição aplicados em carne e em produtos cárneos</i> .	53
2.4.6	<i>Validação dos modelos</i>	55
3.	MATERIAL E MÉTODOS.....	58
3.1	COLETA DA MATÉRIA PRIMA.....	58
3.2	ACONDICIONAMENTO DA MATÉRIA PRIMA RESFRIADA	60
3.3	ANÁLISES – PH, SENSORIAL E MICROBIOLÓGICA.....	61
3.3.1	<i>Avaliação sensorial</i>	62
3.3.2	<i>Análise de pH</i>	62
3.3.3	<i>Análise microbiológica</i>	63
3.4	MODELAGEM MATEMÁTICA.....	67
3.4.1	<i>Modelos Primários</i>	67
3.4.3	<i>Validação dos resultados pela análise estatística dos modelos</i>	68
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	69
4.1	AValiação SENSORIAL.....	69
4.2	PH.....	74
4.3	MODELAGEM DO CRESCIMENTO DE BAP E PSE EM PEITO DE PERU	78
4.4	MODELO DE AJUSTE DE GOM E BAR PARA O CRESCIMENTO DE PSE ...	81
4.5	MODELOS SECUNDÁRIOS	87

5 CONCLUSÃO.....	95
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	97

1 INTRODUÇÃO

A satisfação dos consumidores ao comer carne é uma resposta complexa com base em avaliações objetivas e emocionais. Além do preço do produto, que apesar de simples é fator-chave de compra, características de qualidade e segurança do alimento, são critérios muito importantes, além de sabor e conveniência (HOCQUETE et al., 2012). Nas últimas décadas, os consumidores têm demonstrado crescente interesse tanto pela produção de alimentos de origem animal quanto pela qualidade dos alimentos em geral (MORKBAK; NORDSTROM, 2011).

O mercado de carnes e derivados no Brasil está se aperfeiçoando a cada dia. Indústrias, açougues, casas de carnes e supermercados procuram melhorar a qualidade de seus produtos para satisfazer o consumidor cada vez mais exigente. A crescente demanda do mercado consumidor por produtos frescos e naturais, menos processados e de alta qualidade, aponta para a necessidade da utilização de tecnologias que proporcionem segurança microbiológica, aumento da vida útil sem que haja alterações na qualidade nutricional e sensorial dos produtos (SILVA, 2013).

O atual momento da culinária *gourmet*, e “faça você mesmo”, de modo caseiro e saudável, traz a oportunidade de carnes *in natura*. Ou seja, carnes apenas resfriadas e em porções (não temperadas, não processadas, ou minimamente processadas). Melhor ainda se for uma carne de alto valor proteico, e baixo teor de gordura para atrelar a saudabilidade ao sabor.

Nesse contexto, destaca-se a carne de peito de peru *in natura* resfriada. Por ser uma carne com baixo teor de gordura e muito apreciada pelos consumidores preocupados com um estilo de vida saudável. Além disso, apresenta uma boa opção de matéria-prima para industrialização, podendo ser elaborados diversos produtos como por exemplo, embutido defumado, linguiça e presunto, com o intuito de agregar valor a este produto.

Segundo Porter et al (2010), o crescimento do consumo mundial de carnes de aves representará aproximadamente 40% até o ano de 2020. Nos últimos anos, a produção de carne de peru aumentou exponencialmente, assim como sua exportação. O Brasil já ocupa o segundo lugar no *ranking* dos países exportadores dessa carne, tanto na forma *in natura* quanto na processada, perdendo apenas para os Estados Unidos (ABPA, 2015).

Com o aumento da população mundial e a necessidade de fornecer alimentos frescos e saudáveis, a conservação de alimentos se torna cada vez mais necessária, a fim de aumentar a vida útil e a manutenção do valor nutricional, da textura e do sabor dos alimentos (KAALE, 2011). A importância da alimentação para a sobrevivência humana tornou a conservação de alimentos uma das mais antigas e importantes tecnologias apropriadas pelos homens (MOREIRA, 2010).

O tempo de vida útil é um atributo importante para os alimentos, sendo que a perda de qualidade sensorial devido a alterações físico-químicas pode ocorrer por fatores como oxidação lipídica e crescimento de micro-organismos deteriorantes. A carne é considerada como deteriorada quando não é mais aceitável para o consumo humano, devido a mudanças sensoriais na cor, odor, sabor, aroma ou textura. Do ponto de vista microbiológico, o tempo de vida útil pode ser definido como o tempo em que a população microbiana atinge uma determinada concentração que leva à deterioração do produto. A vida útil dos alimentos crus ou processados é uma medida de quanto tempo dura o estado de ótima qualidade do produto (ESKIN, 2001).

A deterioração de um alimento, em destaque a carne de aves, pode ser considerada um julgamento subjetivo do consumidor, o que pode ser influenciado por atributos culturais e de aceitação, também sofre a influência da acuracidade sensorial do indivíduo e da intensidade das alterações. No entanto, quando a deterioração avança, o consumidor vai concordar que as alterações de coloração, odores estranhos e desagradáveis, e o desenvolvimento de limosidade superficial serão os critérios objetivos de rejeição da carne (NYCHAS, 2007).

Por outro lado, a indústria da carne precisa rapidamente de métodos analíticos ou ferramentas para quantificar estes indicadores para determinar o tipo de processamento necessário para a matéria-prima e prever o tempo restante de vida útil dos seus produtos. A necessidade de uma avaliação objetiva da deterioração da carne é de grande importância, para a indústria da carne ter ferramentas para a tomada de decisão e implementação de melhorias em qualidade dos processos (KOUTSOUMANIS, TAOUKIS, & NYCHAS, 2003).

Visando aumentar a vida útil de carne *in natura*, vários métodos de conservação podem ser empregados, dentre eles a refrigeração, que é um dos mais frequentemente utilizados (ERCOLINI et al., 2009). A refrigeração conserva os alimentos, pois, a baixas temperaturas, os micro-organismos têm suas velocidades metabólicas reduzidas (LEBERT; BEGOT; LEBERT, 1998), devido ao fato de elas serem controladas por enzimas que são extremamente dependentes da

temperatura para atuação ótima. Portanto, é de extrema importância controlar e manter a temperatura de refrigeração de alimentos cárneos dentro dos limites aceitáveis para garantir a segurança, a integridade e estender a vida útil desses produtos (ZHOU et al., 2009).

A necessidade de garantir a segurança microbiológica e a qualidade dos alimentos tem estimulado a aplicação da microbiologia preditiva. O interesse pelo uso de modelos matemáticos tem aumentado, pois podem descrever parâmetros para definir as características de crescimento de micro-organismos. Os modelos matemáticos facilitam a comparação de condições de armazenamento e podem levar à predição do crescimento de micro-organismos dentro da faixa de condições estudadas. Um modelo matemático para crescimento microbiano é um componente necessário em um eficiente sistema de avaliação da contaminação de alimentos, vida útil e avaliação de riscos na cadeia de distribuição de alimentos (LINDQVIST e WESTÖÖM, 2000; POSHET et al, 2003; OLAFSDOTTIR et al, 2006).

A vida útil de um alimento é definida tecnicamente pela empresa fabricante. Não existe um padrão de contagem estabelecido para os micro-organismos deteriorantes para os cortes de aves *in natura*. Segundo a Resolução RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, que regulamenta o padrão microbiológico para cortes de aves resfriados, considera-se apenas a contagem de micro-organismos patogênicos da classe Coliformes a 45°C. Assim, em geral, não se monitoram os micro-organismos deteriorantes na rotina da indústria, apenas os requisitos legais e obrigatórios. As indústrias processadoras têm a necessidade de realizar a transferência de matéria-prima resfriada entre as unidades, o que torna o período de vida útil muito importante. No geral, trabalha-se a uma temperatura padrão de 4°C, podendo chegar a 7 °C, faixa de temperatura em que a matéria-prima peito de peru apresenta uma vida útil bastante limitada.

Os modelos de microbiologia preditiva têm sido amplamente utilizados e validados para meios sintéticos, e também podem ser utilizados e validados para alimentos armazenados em condições reais. Para isso, entretanto, é necessário considerar no modelo o efeito das mudanças das variáveis externas sobre o crescimento microbiano, como a variação da temperatura com o tempo, por exemplo, (CAYRÉ et al., 2003; ZURERA-COSANO et al., 2006). Em função dessa variação, tem sido reportada pela literatura a utilização de modelos dinâmicos que permitem prever a vida útil dos alimentos sob variação de temperatura

(VAN IMPE et al. 1995; BARANYI et al., 1995; CAYRÉ, 2003; FUJIKAWA et al., 2004; JUNEJA et al., 2007).

Há muitos trabalhos na literatura que utilizaram modelos matemáticos para estimar a vida útil de carne suína, frango e bovina, carnes processadas e embutidos cárneos, em condições isotérmicas e com cultura pura e, em sua maioria, na condição de atmosfera modificada e/ou vácuo (anaerobiose). No entanto, poucos trabalhos na literatura têm estudado a vida útil da matéria-prima peito de peru, considerando a microbiota natural, e na presença de oxigênio (condição aeróbica), durante o armazenamento isotérmico, em diferentes temperaturas de refrigeração.

O presente trabalho pretende contribuir com informações do comportamento do crescimento dos micro-organismos da microbiota natural, deteriorantes específicos (bactérias aeróbias psicotróficas e *Pseudomonas* spp.), em função da temperatura, na condição aeróbica e isotérmica. Através da observação da vida útil sensorial de peito de peru *in natura* resfriado e correlacionar os dados obtidos em modelos matemáticos e predição.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar e modelar a duração de vida útil de peito de peru *in natura* resfriado, com base no crescimento de bactérias deteriorantes psicotróficas, presentes na microbiota natural, em condições aeróbias isotérmicas.

1.1.2 Objetivos específicos

Para atingir o objetivo geral, foram estabelecidos os seguintes objetivos específicos:

- Conhecer as características sensoriais (aspecto, odor e cor), físico-químicas (pH) e microbiológicas do peito de peru *in natura* resfriado, definindo as condições de final da vida útil do alimento;
- Obter as curvas de crescimento das bactérias deteriorantes, aeróbias psicotróficas e *Pseudomonas* spp., em peito de peru embalado sob aerobiose, armazenado em diferentes temperaturas de refrigeração;

- Correlacionar a vida útil sensorial do peito de peru *in natura* resfriado, aos valores observados, dados da literatura e valores obtidos em modelos matemáticos e assim, definir o micro-organismo de deterioração específico (*SSO – specific spoilage organism*) para o produto;
- Modelar as curvas para obtenção dos parâmetros primários de crescimento, à cada temperatura estudada;
- Modelar o efeito da temperatura sobre os parâmetros primários de crescimento e, conseqüentemente, sobre a vida útil do alimento (modelos secundários).
- Determinar os parâmetros para os modelos matemáticos de estimativa de tempo de vida útil através dos modelos primários e modelos secundários.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 PRODUÇÃO DA CARNE DE PERU

Peru é o nome comum dado às aves *Galliformes* do gênero *Maleagris*, com variantes domésticas e selvagens, originárias das Américas. A produção brasileira de peru em 2014 e 2015 foi de 463.000 toneladas e 337.000 toneladas respectivamente. Quanto às exportações totalizaram 157.820 toneladas, com uma queda de 3,5 %, na comparação com o ano de 2014. Já a receita cambial teve um crescimento de 11,2 %, chegando a US\$ 424,4 milhões. O preço médio das exportações de carne de peru foi de US\$ 2.690 a tonelada, o que significa um incremento de 15,2 % sobre 2014. O maior volume de embarques foi de industrializados (79.758 toneladas), enquanto o principal mercado comprador foi a Europa, com 87.240 toneladas. Os números são expressivos na economia mundial (ABPA, 2015).

O manejo de perus (*Maleagris gallopavo*) em relação ao frango de corte apresenta diferenças significativas, uma vez que o comportamento das duas aves é completamente diferente durante o ciclo de produção. Os frangos podem ser criados em apenas um aviário durante toda a vida, enquanto que os perus são alojados em granjas de iniciação do primeiro ao trigésimo dia e depois transferidos para granjas terminadoras (engorda), na qual completam o ciclo até a idade de abate. Para evitar que as aves se machuquem, a transferência dos perus do iniciador para o terminador requer cuidados especiais. O transporte deve ser feito em caminhões apropriados e em horários que causem o menor impacto térmico possível, a fim de evitar o estresse. O ciclo de criação dos perus desde o nascimento até o abate varia conforme a faixa de peso pretendida. Os perus inteiros temperados, consumidos nas festas natalinas no Brasil, cuja faixa de peso varia de três a seis quilos, são geralmente fêmeas e têm idade entre 56 e 70 dias. Já os perus produzidos para corte e industrialização são machos, cuja faixa de peso varia entre 16 a 20 quilos, abatidos com idade entre 120 a 150 dias, ou fêmeas entre 9 e 11 quilos e idade de abate entre 95 a 120 dias (KAIBER, 2005).

A carne de peru, em destaque o peito de peru, é utilizado com matéria-prima em produtos cárneos processados e possui propriedades tecnológicas excelentes, com padrões de qualidade estáveis, que garantam um produto final de boa qualidade e rentabilidade. Com a crescente demanda por produtos processados, assim como a crescente

competição pelo setor, torna-se fundamental a otimização de todas as etapas de fabricação destes produtos processados, onde as perdas do processo de fabricação e também sua estabilidade durante seu *shelf life* (tempo de vida útil) são de grande importância para a continuidade do produto no mercado uma vez que respondem diretamente na formação do custo e aceitação do consumidor (NIELSEN e ABPA,2015).

A carne de peito de peru apresenta uma composição química favorável ao crescimento de micro-organismos. Apresenta alta atividade de água, é um alimento rico em substâncias nitrogenadas e minerais. Além disso, o pH da carne é muito favorável para o desenvolvimento da maioria dos micro-organismos (FRANCO e LANDGRAF, 2005).

A Figura 1 ilustra alguns produtos à base de peito de peru no Brasil e Europa.

Figura 1. Produtos da empresa BRF produzidos à base de peito de peru: (A) Peito de peru temperado congelado, (B) embutido cozido de peito de peru Blanquet, (C) Peito de peru cozido e defumado fatiado, (D) Peito de peru cozido e defumado, (E e F) produtos do mercado europeu, peito de peru fatiado *in natura* resfriado.



Fontes: www.brf-global.com; www.snowwhite.com.mt

Três componentes da carne são considerados substratos primários que influenciarão na qualidade desta matéria-prima, para fins de processamento: umidade, gorduras e proteínas. A porcentagem destes componentes, seu tipo e seu estado físico-químico influenciam importantes parâmetros de qualidade necessários à industrialização e determinarão a qualidade final dos produtos. Estes parâmetros são chamados de propriedades tecnológicas (OLIVO & SHIMOKOMAKI, 2001). Os mesmos autores indicam que as propriedades tecnológicas são

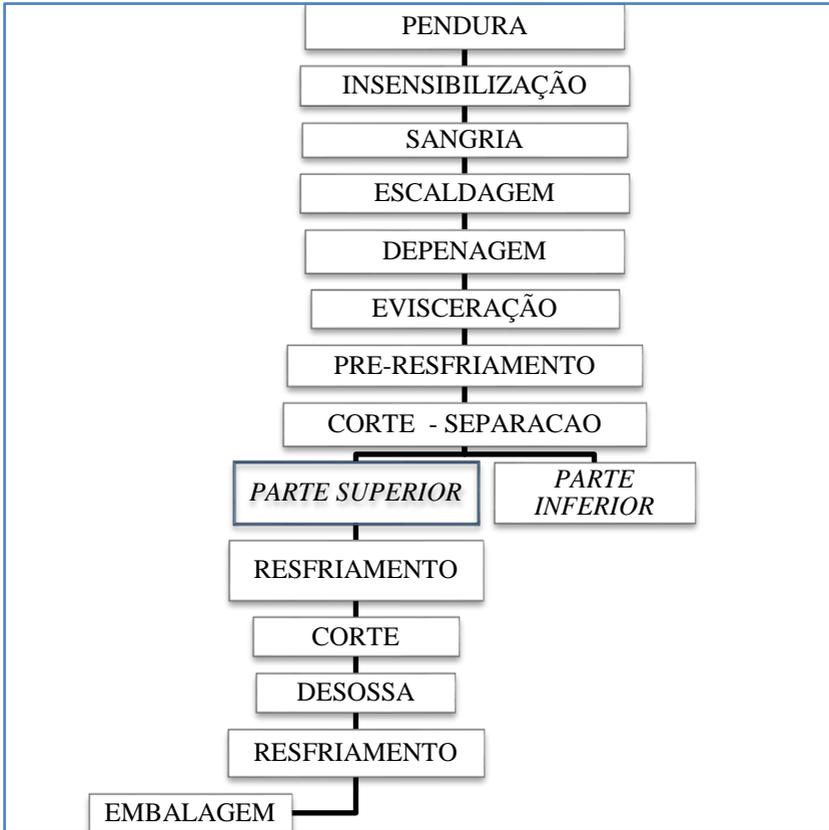
as características físico-químicas que caracterizam os alimentos e influenciam sua utilização. Estas propriedades estão relacionadas com questões sensoriais e não necessariamente nutricionais; têm implicações tecnológicas diretas e influenciam decisivamente nos aspectos econômicos dos produtos. As proteínas podem ser consideradas as principais responsáveis pelas características tecnológicas da matéria-prima carne, sendo requeridas para uma grande variedade de funções, como determinar o rendimento, a qualidade, a estrutura e os atributos sensoriais (SAMS, 2001).

A água na carne representa de 65 a 80% do total da massa muscular e tem importante função celular. Boa parte da água dentro das células está fortemente ligada a diversas proteínas, mas considera-se que, aproximadamente, 24% são retidas por forças capilares e podem exsudar sob pressão. Em geral, todas as propriedades tecnológicas são influenciadas por interações de proteínas com água. A umidade natural da carne é importante para a obtenção do rendimento e da qualidade final do produto, contribuindo para a suculência e palatabilidade da carne como alimento. Se as proteínas não estão desnaturadas, elas continuam a ligar a água durante a conversão do músculo da carne e por extensão, durante as diversas fases do processamento, distribuição e cozimento. Assim, a habilidade de reter água é uma propriedade da carne essencialmente importante, principalmente sob o aspecto econômico e sensorial (KONDO, 2014).

2.1.1 Fluxograma de Abate e Processamento de Peru

A Figura 2 demonstra através do fluxograma as etapas do abate e processamento da carne de peru, em especial a linha de corte e desossa de peito de peru da empresa BRF Unidade Industrial Chapecó - SC. A seguir será descrito brevemente as etapas deste fluxograma.

Figura 2. Fluxograma as etapas do abate e processamento da carne de peru.



Fonte: Buosi, 2016 (adaptado do processo da Industria BRF S/A – Chapecó – SC)

Pendura

Os perus são retirados das gaiolas, pendurados pelos pés nos ganchos da nória (trilhos suspensos) e transportados por todas as etapas do processo.

Insensibilização

Os perus enganchados na nória passam pela insensibilização (eletroanestesia) e seguem para sangria.

Sangria

Os perus são conduzidos ao túnel de sangria, onde são sangradas, com uma incisão na jugular.

Escaldagem

Após percorrer o túnel de sangria em tempo não inferior a 3 minutos, os perus são conduzidos pela mesma nória ao tanque de escaldagem e são escaldados a uma temperatura de 48 a 60 °C.

Depenagem

Os perus passam em uma depenadeira automática e após passam por uma pré-inspeção *-post mortem* do Serviço de Inspeção Federal (SIF). Na Figura 3 visualiza-se a etapa de inspeção das carcaças.

Figura 3. Foto da etapa de inspeção de carcaças de peru durante o processamento.



Fonte: Buosi, 2016

Em seguida, passam por um chuveiro de lavagem sob pressão, seguindo para a etapa de evisceração.

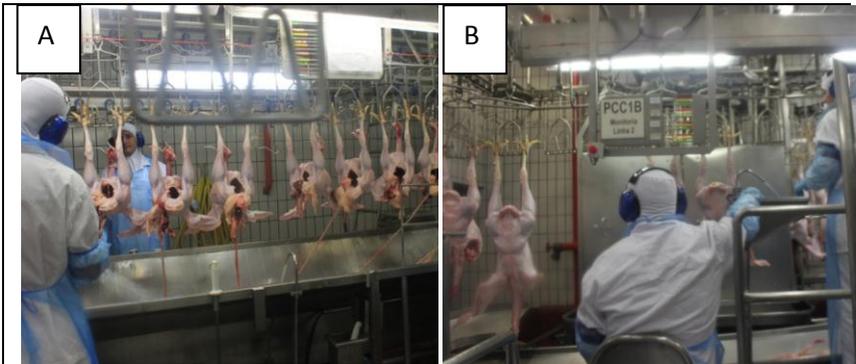
Evisceração

Na etapa de evisceração as carcaças de perus passam pelo arrancador de cabeça, e por chuveiros com água gelada sob pressão. As etapas de extração da cloaca, corte abdominal, eventração e extração das vísceras são realizadas por equipamentos pneumáticos e pessoal

treinado. Esta etapa de remoção das vísceras é muito importante para evitar a contaminação do conteúdo interno das carcaças com a carne.

Após esta etapa, realiza-se a inspeção sanitária pelo SIF e as carcaças e as vísceras que apresentam problemas sanitários e/ou outras lesões são desviadas do fluxo normal, podendo haver a condenação total ou parcial. Na saída da etapa de evisceração, as carcaças são monitoradas no ponto crítico de controle biológico (PCC1B), quanto à contaminação visual de fezes e outros contaminantes, seguindo para o pré-resfriamento. Na Figura 4 pode-se visualizar a etapa de inspeção sanitária e inspeção da qualidade (PCC1B – ponto crítico de controle número 1 biológico).

Figura 4. Fotos da inspeção sanitária do SIF (A) e inspeção da qualidade ((PCC1B) (B).



Fonte: Buosi, 2016

Pré resfriamento

Antes do estágio de pré resfriamento as carcaças passam pelo cortador de pés e são rependuradas. Este pré resfriamento é realizado em túnel de ar gelado de fluxo contínuo (*air chiller*), por 60 a 90 min. As carcaças de peru deixam esta etapa do processo com uma temperatura média de 17 °C, e segue para a etapa de corte e separação das carcaças.

Corte – Separação

A Figura 5 representa a etapa de separação, corte manual das carcaças de peru, em duas partes: *parte inferior e parte superior*.

Figura 5. Foto ilustrativa da etapa de separação de parte inferior e parte superior das carcaças de peru.



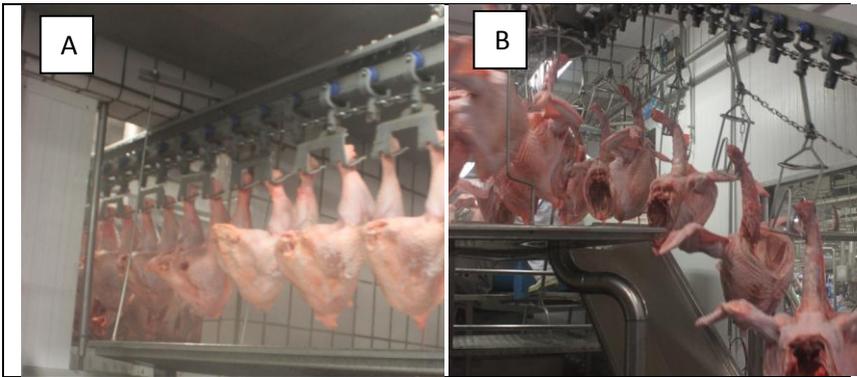
Fonte: Buosi, 2016

As duas partes da carcaça de peru: *parte inferior*, que corresponde à parte de pernas, parte inferior e traseira da carcaça, e *parte superior*, que corresponde à parte superior e peitoral da carcaça.

A parte do *parte inferior* segue pendurada na mesma nória e vai para a etapa de resfriamento em câmara/túnel específico. Já a parte do *parte superior*, é rependurada em nória pelo pescoço e segue até o corte do pescoço. O peito de peru (objeto deste estudo) está contido na parte do *parte superior* da carcaça que se retira o peito de peru.

A Figura 6 apresenta as duas partes separadas das carcaças de peru (a) e *parte inferior* (b)).

Figura 6. Fotos das carcaças já separadas nas partes de *parte inferior* (A) e *parte superior* (B)



Fonte: Buosi, 2016

Resfriamento

Após corte do pescoço, as peças de *parte superior* são penduradas em gancheiras (10 unidades de *parte superior* por gancheira) e seguem, então, para o resfriamento, em câmara fria, sob temperatura de 0 a 2 °C, por um tempo aproximado de 4 a 5 h. A Figura 7 apresenta as peças de *parte superior* penduradas nas gancheiras e alocadas na câmara de resfriamento.

Na saída da câmara de resfriamento é realizado o controle do segundo ponto crítico de controle biológico (PCC2B), onde é verificada a temperatura no interior do peito, que deve estar em 4 °C. As partes do *parte superior* com a temperatura adequada são retiradas manualmente das gancheiras, e penduradas na nória da linha de cortes automático (linha Poultry Stork).

Figura 7. Etapa de resfriamento de *parte superior*.



Fonte: Buosi, 2016

Corte

As partes de *parte superior* são rependuradas, unidade por unidade de forma manual na linha de cortes automático (linha Poultry Stork). A Figura 8 representa a parte do *parte superior* na linha.

Figura 8. Foto do *parte superior* na linha de corte e desossa do peito (equipamento automático Stork).



Fonte: Buosi, 2016

Desossa

Na mesma linha de processamento, realiza-se os cortes principais e a desossa do *parte superior*. Realiza-se os cortes

anatômicos separando o peito e as asas, em seguida, a remoção da pele do peito por meio de equipamento específico. Em seguida, realiza-se a desossa que é caracterizada pela remoção do peito do osso (em duas metades). As asas de peru não são desossadas nesta linha. São apenas removidas e destinadas para outro setor. Também se realiza nesta etapa de desossa a remoção do bife da sobre asa (medalhão) de peru), restando pendurado na nórea apenas o osso dorsal que será destinado ao outro processamento posteriormente.

Resfriamento

As unidades de peito de peru, sem pele e em metades, são destinadas ao resfriamento específico, *chiller* de Peito. Trata-se de um resfriamento complementar em *chiller* com água gelada, por cerca de 6 min, retomando assim a condição da temperatura de 4 °C. Nesta etapa, tem-se o controle de absorção de água, sendo considerado o máximo aceitável de 2,5%.

Este *chiller* tem uma vazão de água de 0,4 L/kg de peito, com alimentação em contra fluxo. A cada intervalo, o equipamento é esvaziado, e lavado com água quente. Como ponto de controle é realizado *swab* de superfície do equipamento após a higienização pré-operacional.

Após resfriamento dos peitos em *chiller* com água, os peitos são destinados por meio de esteiras ao refile manual, para a remoção de tendões e defeitos como hematomas, sanguinolência e outros. Nesta etapa, os cortes são padronizados conforme os produtos finais destinados.

Na sala de cortes, a temperatura dos cortes, em especial do peito de peru, não deve ultrapassar 7 °C. Sendo admitido, até 10 °C para os cortes que seguirão para o congelamento imediato. Na Figura 9 pode-se visualizar a operação de refile manual de peito de peru.

Figura 9. Mesa de Refile de peito de peru



Fonte: Buosi, 2016

Embalagem

As unidades de meio peito de peru refiladas e padronizadas são, então, destinadas à embalagem. Em geral, são acondicionados em sacos plásticos, e destinados como matéria-prima resfriada para a área de industrialização ou congelado a -18°C , para produto final de exportação.

2.2 Importância da temperatura na conservação

O principal parâmetro de determinação de vida útil para alimentos resfriados e congelados é a temperatura (GOGOU et al., 2015). A temperatura é um fator que pode variar muito dentro da cadeia de produção e distribuição de produtos alimentares (NYCHAS et al., 2008; LONGHI et al., 2013). O uso de modelos matemáticos que levam em conta estas variações podem ser muito úteis para prever a vida útil de alimentos em condições reais (VAN IMPE et al., 1992; BARANYI, 1995; GOSPAVIC et al., 2008).

A utilização do frio, como as temperaturas de refrigeração e de congelamento, é considerada o método mais eficaz para retardar ou inibir o crescimento de micro-organismos em produtos cárneos, e pode ajudar a manter a segurança e prolongar a vida útil desses produtos. Em linhas gerais, considera-se ideal a temperatura de refrigeração de 4°C e de congelamento de -18°C (AL-JASSER, 2012).

O uso de frio conserva os alimentos porque, a baixas temperaturas, os micro-organismos têm suas taxas metabólicas reduzidas ou inibidas. Os micro-organismos podem multiplicar-se em uma faixa bastante ampla de temperatura, havendo registro de multiplicação a um mínimo de -35 °C e um máximo de 90 °C. Portanto, é essencial o controle da temperatura ao longo de toda cadeia de frio, caso contrário pode ocorrer o desenvolvimento microbiano rápido, diminuindo a vida útil do produto e podendo colocar em risco a saúde do consumidor (MASSAGUER, 2005). O princípio da utilização de baixas temperaturas reduz a atividade microbiana, bem como as reações químicas e enzimáticas que causam alterações. A velocidade de tais alterações é diretamente proporcional à temperatura da carne (esta relação não é totalmente linear e varia nas diferentes reações). Na refrigeração de carnes, empregam-se temperaturas de -1 a 5 °C (ROÇA, 2000).

Pode-se considerar uma classificação geral de micro-organismos em três categorias: psicotróficos que apresentam temperatura ótima entre -2 e 7 °C, os mesófilos, que apresentam temperatura ótima entre 10 e 40 °C e os termófilos, que apresentam temperatura ótima entre 43 e 66 °C (Jensen, 1945). Entretanto, a distinção não é absoluta. Alguns bacilos Gram-negativos, que são tidos geralmente como mesófilos, crescem a -1,5 °C (EDDY e KICTHELL, 1959).

Dentre os micro-organismos aeróbios psicotróficos que podem se desenvolver em carnes refrigeradas, comprometendo sua qualidade e vida útil, destaca-se *Pseudomonas* spp. que são micro-organismos gram-negativos, aeróbios, proteolíticos e lipolíticos vastamente relacionados com a deterioração de carnes frescas (DAINTY, 1992, COATES et al., 1995; WIDDERS et al., 1995). Em geral, para a temperatura de refrigeração e sob a condição de aerobiose, a microbiota natural de corte de carne de aves (entre eles o peito de peru) é dominada pelo gênero *Pseudomonas* spp. e, na condição de anaerobiose ou microaerofilia, a microbiota natural consiste em bactérias ácido láctica (VON HOLY, et al 1991; LAMBERT et al., 1991).

As indústrias processadoras de produtos refrigerados e as empresas que trabalham com o transporte de cargas frigorificadas (operadores logísticos, transportadores e armadores) são fortemente impactadas por perdas e os consequentes prejuízos causados por falhas na cadeia de frio, ou seja, pela falta de manutenção da temperatura de refrigeração dentro dos limites aceitáveis. Esses limites, de acordo com a Portaria CVS-6/99 (MAPA, 2001) são toleráveis até 7 °C, sendo 4 °C a temperatura ideal para refrigeração.

2.3 Estudo da vida útil (*shelf life*)

A dificuldade de se definir o *shelf life* pode ser vista na própria definição do *Institute of Food Technologist* (IFT, 1974) que define o prazo de validade como o “período entre a fabricação e compra no varejo de um produto alimentício, durante qual o produto é de qualidade satisfatória”. O uso das palavras “qualidade satisfatória” é muito vago para servir de ajuda prática, especialmente nas situações em que a segurança microbiana não é um problema.

Os consumidores estão cada vez mais exigentes quanto à elevada qualidade dos alimentos, e têm a expectativa de que tal qualidade será também mantida em nível elevado durante o período entre a compra e o consumo. Essas expectativas são uma consequência não apenas da exigência de que o alimento deve permanecer seguro, mas também da necessidade de minimizar as alterações indesejadas em suas qualidades sensoriais (KILCAST; SUBRAMANIAM, 2000).

Em geral, as alterações microbiológicas são de primordial importância para os produtos de curta vida útil, e as alterações químicas e sensoriais para os produtos de média e longa vida útil; mas, os três tipos de alterações podem ser importantes para os produtos de curta e média vida útil. O tempo de vida útil é um atributo importante de todos os alimentos. Pode ser definido como o tempo que se passa desde a produção, embalagem até o ponto em que o alimento se torna inaceitável para o consumo (FORSYTHE, 2002; SINGH e SINGH, 2005).

Para o consumidor, o final da vida útil de um produto se configura quando o alimento não possui segurança e/ou aparência, aroma e sabor aceitáveis. A vida útil, do ponto de vista microbiológico, depende do número de micro-organismos, inicialmente presentes e de seu subsequente crescimento. A vida útil de alimentos embalados é influenciada pelas propriedades dos alimentos (incluindo a atividade de água, o pH, enzimas e micro-organismos e os requerimentos de oxigênio, luz, dióxido de carbono e umidade ou sensibilidade a esses elementos) e pelas propriedades de barreira da embalagem (FELLOWS, 2006; LATOU et al., 2014).

A carne é um produto alimentar perecível que, senão armazenado, processado, embalado e distribuído corretamente, torna-se altamente suscetível à deterioração microbiana (MCDONALD; SUN, 1999). A deterioração da carne é fortemente determinada pelo crescimento de bactérias em sua superfície, porque o tecido interno do

músculo é considerado estéril até o momento do corte (HOLLEY et al., 2004; GILL e GILL, 2005).

A durabilidade e a qualidade da carne de peru são influenciadas por vários fatores internos e externos. A temperatura é um desses fatores e a refrigeração é um método de conservação, com objetivo de reduzir o desenvolvimento microbiano, mantendo a qualidade original do alimento. A aplicação de baixas temperaturas em carnes, como conservação por congelamento, tem como objetivo manter a qualidade organoléptica e nutritiva, além de reduzir ou cessar a velocidade da deterioração causada por micro-organismos, reações enzimáticas e químicas. As técnicas de resfriamento e congelamento têm como vantagem aumentar o tempo da vida útil dos alimentos (HOOPS e ROBERTS, 1999; VIEIRA, 2007; PINTO e NEVES, 2010).

A contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos, psicotróficos, *Enterobacteriaceae*, coliformes, *Micrococcaceae*, enterococci, *Brochothrix thermosphacta*, *Pseudomonas* spp., bactérias ácido lácticas, e mofos e leveduras é usada em indústrias de carnes em geral e carne de aves, em particular, como indicadores gerais de processando higiênico, qualidade de armazenamento e potencial vida útil da carne, tanto em atmosfera de oxigênio como em embalagem realizada a vácuo (CAPITA et al, 2001, 2002; ÁLVAREZ-ASTORGA et al., 2002; ALONSO-CALLEJA et al., 2004).

Para os consumidores, a deterioração é qualquer modificação no alimento que o torne rejeitado no ponto de vista sensorial (GRAM, et al, 2002). Contudo, a percepção dessas mudanças pelos consumidores é um julgamento subjetivo, que pode ser influenciada por aspectos econômicos, sociais, conhecimento, acuidade sensorial do indivíduo e intensidade de deterioração (NYCHAS; MARSHAL; SOFOS, 2007)

Segundo a ANVISA (2001), entende-se por produto alterado ou deteriorado aquele que apresenta alterações e ou deteriorações físicas, químicas e ou organolépticas, em decorrência da ação de micro-organismos e ou por reações químicas e ou físicas. As alterações nos produtos cárneos podem ser evidentes em alguns casos (danos físicos, crescimento visível de fungos, mudanças na cor ou odores estranhos), no entanto, são mais difíceis de detectar a simples vista, quando as alterações são devido às reações físico-químicas e ou microbiológicas, que desencadeiam mudanças na textura, perda de sabor, formação de metabólicos, entre outros (VELD, 1996; RODRÍGUEZ-PÉREZ,2004; DALCANTON, 2010).

A deterioração é uma medida de qualidade do alimento e não de segurança alimentar. Segundo a RDC 12 - Resolução RDC nº 12, de 02

de janeiro de 2001 Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos (ANVISA, 2001) define apenas o grupo de micro-organismo Coliformes a 45 °C como indicador para carnes resfriadas. Ou seja, hoje no Brasil este é o único micro-organismo analisado para liberação de produtos para o mercado consumidor. O limite definido para Coliformes a 45°C, na RDC 12, é 10^4 UFC/g, sendo a tolerância para a amostra representativa, os valores de $n = 5$ e $c = 3$, considerando, $m = 5 \times 10^3$ UFC/g e $M = 10^4$ UFC/g.

Os alimentos degradados são aqueles que têm sabor e odor desagradáveis. Essa degradação é resultado do crescimento indesejável de micro-organismos produtores de compostos voláteis durante seu metabolismo, os quais o olfato e o paladar humano podem detectar. Tais micro-organismos não causam toxinfecções. A deterioração da carne e dos produtos cárneos é fortemente determinada pelo crescimento de bactérias na superfície da carne, pois o tecido interno do músculo é considerado estéril até o momento do corte. Os tipos de micro-organismos deterioradores que se desenvolvem em carnes resfriadas são determinados pelas condições de estocagem. As baixas temperaturas prolongam o tempo de estocagem das carnes, porém as mais baixas temperaturas possíveis sem causar o congelamento (-1,5 °C) ainda são mais altas que a temperatura mínima para o crescimento de algumas bactérias psicotróficas (HOLLEY & GILL, 2005).

A microbiota da deterioração de carne é muito complexa, depende de fatores como a velocidade de resfriamento e a temperatura. Alguns critérios objetivos para uma boa aceitação incluem itens como: a aparência, capacidade de retenção de água, parâmetros sensoriais, como cor, sabor e textura (ZHAO et al., 1994). O aparecimento de limo e odores inviabilizam o consumo para o ser humano (DJENANE et al., 2005; KOUTSOUMANIS et al., 2006; ERCOLINI et al., 2006, IRKIN et al., 2011). Em geral, para a temperatura de refrigeração e sob a condição de aerobiose, a microbiota natural de corte de carne de aves (entre eles o peito de peru) é dominada pelo gênero *Pseudomonas* spp., e na condição de anaerobiose a microbiota natural consiste em bactérias ácido láctica (VON HOLY, et al 1991; LAMBERT et al.,1991).

A deterioração acontece principalmente na superfície porque as partes internas dos tecidos são normalmente estéreis ou contém um número relativamente baixo de micro-organismos, os quais, em geral, não crescem em baixas temperaturas. A microbiota deteriorante se restringe às superfícies e à pele, pois as mesmas foram contaminadas pela água, pelo processamento e pelo manuseio das aves. As superfícies

de aves frescas armazenadas em ambiente com alta umidade são suscetíveis ao crescimento de bactérias aeróbias como as *Pseudomonas*. O crescimento inicial concentra primeiramente nas superfícies das aves, os tecidos que se encontram logo abaixo da pele se mantém praticamente livres de bactérias por algum tempo. Contudo, gradualmente as bactérias começam a penetrar nos tecidos mais profundos. Nos estágios mais avançados da deterioração da carne de aves superfície apresenta fluorescência quando submetidas à luz ultravioleta devido à presença de um grande número de *Pseudomonas fluorescens* (JAY, 2005).

Em geral, os números de micro-organismos psicotróficos encontrados em cortes de aves resfriados imediatamente após o processamento, são na ordem de 10^4 UFC/g na média, e não menos de 10^2 UFC/g. Quando a contaminação microbiológica alcança os níveis de 10^7 a 10^8 UFC/g, já são percebidos odores indesejáveis e desagradáveis e o desenvolvimento de limosidade superficial. Neste ponto, tem-se o final da vida útil do alimento pois sua qualidade sensorial e microbiológica está inaceitável (HAYES, 1985; LAMBERT et al, 1991 ESKIN, 2001)

Silva (1995) considerou para carne bovina contagens totais de mesófilos de 10^4 UFC/g aceitáveis, entre 10^5 e 10^6 UFC/g, questionáveis e acima deste nível, já deteriorada. Para Gill, Meginnis e Bryant (1998), quando a contaminação atinge 10^7 UFC/g já é evidente a formação de limo. Ayres (1998), apresentou evidências de que os odores podem ser detectados quando a contagem superficial bacteriana está entre 7 e 7,5 log UFC/g, seguidos de uma camada viscosa normalmente detectável entre 7,5 e 8,0 log UFC/g. Roça (2004), considerou que quando a contagem de aeróbios mesófilos está na faixa de 10^6 UFC/g, geralmente ocorre a descoloração da superfície da carne. Jay (2005), descreveu que quando as aves são deterioradas, os odores desagradáveis normalmente aparecem quando as contagens estão entre 7,2 e 8,0 log UFC/g e surgem antes que a ave adquira uma consistência viscosa. A viscosidade geralmente aparece logo depois dos odores desagradáveis, quando a contagem atinge 8,0 log UFC/g. A ocorrência da limosidade superficial está relacionada com a temperatura de armazenamento e com a quantidade de água disponível no produto. Em alimentos com alta atividade de água, como a carne de aves, mantidos em temperatura de refrigeração, a bactéria *Pseudomonas* é a responsável por este tipo de alteração (HOLLEY & GILL, 2005).

As aves inteiras tendem a ter uma contagem microbiana mais baixa que a ave em pedaços (cortes). Muitos dos micro-organismos

desses produtos se encontram na superfície e, por tanto, as contagens da superfície em cm^2 são, normalmente mais exatas que as contagens de superfície e órgãos internos. Em temperaturas de refrigeração, a microbiota deteriorante predominante em carne de aves, na condição de aerobiose (presença de oxigênio), será constituída por psicotróficos tais como *Pseudomonas* spp. (dos tipos fluorescente e não fluorescente) (JAY, 2005).

A temperatura de refrigeração de 5°C ou menor, a microbiota deteriorante será, predominantemente, de *Pseudomonas* spp. Essas bactérias são aeróbias e, portanto, crescem na superfície dos alimentos até uma profundidade de 3 a 4 mm nos tecidos subjacentes. A degradação é resultado da degradação das proteínas, o que produz compostos voláteis desagradáveis tais como indol, dimetil dissulfeto e amônia. As oxidações químicas de lipídios insaturados resultam em sabor rançoso e odor desagradável (FORSYTHE, 2010).

Para a carne fresca de aves e suína, estocada em condições aeróbias, *Pseudomonas* spp. foi identificada como o principal micro-organismo deteriorante (GILL & NEWTON, 1977; POONI & MEAD, 1984; COATES et al., 1995; KREYENSCHMIDT, 2003; RAAB et al., 2008). *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas putida* e *Pseudomonas lundensis* são as principais espécies detectadas durante a deterioração aeróbica da carne.

Apesar da importância dos micro-organismos na deterioração dos alimentos, a definição e avaliação de deterioração depende de avaliação sensorial. Tal como referido acima, os micro-organismos específicos são a causa da deterioração, no entanto, nem o nível de contagem total de, por exemplo, 10^7 UFC / cm^2 (MANO et al, 1995), nem o nível dos micro-organismos específicos se pode prever directamente a qualidade sensorial de um produto. Em contraste, o nível os micro-organismos específico pode ser utilizado para prever a vida útil remanescente de um produto. Assim, *Pseudomonas* spp. e alguns outros micro-organismos aeróbios psicotróficos gram-negativas dominará alimentos proteicos armazenados aerobicamente a temperaturas fria, para carnes, aves, leite e peixe (BRUCKNER, 2010).

Pseudomonas são bactérias cuja principal característica é a extrema versatilidade metabólica e nutricional, que permite a utilização de uma enorme variedade de compostos orgânicos como fonte de carbono e energia. Em função dessa versatilidade, ocupam nichos ecológicos muito diversos, sendo amplamente distribuídas na natureza, na água e nos alimentos. O metabolismo das *Pseudomonas* é

estritamente respiratório, usando oxigênio comoceptor final de elétrons e exigindo condições aeróbias. Este gênero apresenta catalase positivas, oxidase positiva ou negativa. Várias espécies formam pigmentos fluorescentes (fenazinas verdes, azuis ou laranja ou pioverdinias verde amareladas), não fluorescentes (verdes, laranja, amarelos ou azuis) ou ambos (SILVA, et al, 2010). As bactérias *Pseudomonas* são bastonetes Gram-negativos, aeróbios, móveis, não fermentadores de carboidratos, produtoras de pigmentos hidrossolúveis e quase sempre encontradas na microbiota normal intestinal e cutânea humana. Não formam esporos (TAVARES, 2002).

A ocorrência de *Pseudomonas* em alimentos é bastante comum, associadas à deterioração de carnes, leites, ovos e vegetais. Em carnes de aves cruas, mantidas a temperatura de - 2 °C a 5 °C, as *Pseudomonas* são as principais deteriorantes, porque têm o menor tempo de geração nessas baixas temperaturas. Dentre as principais espécies presentes destaca-se *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* e *Pseudomonas fragi* (ICMSF,2000).

2.4 Microbiologia Preditiva

A microbiologia preditiva pode ser definida como uma área de pesquisa que utiliza modelos matemáticos para descrever a dinâmica (crescimento e sobrevivência) populacional de microrganismos submetidos a complexas mudanças físicas, químicas e biológicas durante o processamento, transporte, distribuição e armazenamento de alimentos (HUANG, 2014). Além disso, a microbiologia preditiva é considerada uma área multidisciplinar, já que compreende áreas da matemática, engenharia, química e biologia para fornecer prognósticos comportamentais em determinados alimentos sob condições definidas (SCHAFFNER; LABUZA, 1997; McDONALD; SUN, 1999).

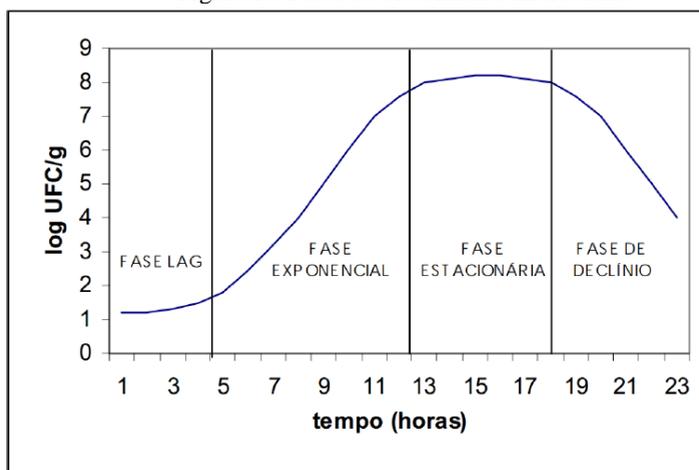
Com intuito de amenizar os crescentes surtos alimentares e atender as demandas da sociedade por alimentos seguros e saudáveis, em tempo útil, surgiu a microbiologia preditiva, ciência em que se considera que é possível prever, através de modelos matemáticos e estudos quantitativos de micro-organismos, o efeito que as condições do ambiente provocam no crescimento microbiano em alimentos (NAKASHIMA et al., 2000).

O contínuo progresso da ciência e da tecnologia na preservação dos alimentos envolve o desenvolvimento de novas ferramentas na área de microbiologia de alimentos. Neste contexto, a necessidade de garantir a segurança microbiológica e a qualidade dos alimentos tem estimulado

a aplicação das ferramentas da microbiologia preditiva (DALCANTON, 2010; NAKASHIMA et al., 2000). A aplicação desta ferramenta tem havido um crescente interesse, pois se concentra no desenvolvimento de modelos matemáticos para descrever o crescimento de micro-organismos patogênicos e deteriorantes em alimentos (ANTWI et al., 2008).

A Figura 10 apresenta uma curva clássica do crescimento microbiano que pode ser dividida em quatro fases: lag, fase exponencial, fase estacionária e fase de declínio (SWINNEN et al., 2004).

Figura 10. Fases do crescimento microbiano.



Fonte: NAKASHIMA et al, 2000.

Na fase LAG acontece o ajuste da fisiologia e bioquímica das células para que possam ser capazes de explorar o ambiente onde se encontram, sendo uma etapa de baixo crescimento, sendo que maximizar o tempo que os micro-organismos passam nessa fase é um dos principais objetivos do controle de crescimento microbiano. Na fase exponencial, os micro-organismos já estão adaptados com o ambiente levando a um crescimento de ordem exponencial, consumindo os nutrientes dos alimentos. A elevada velocidade de desenvolvimento de micro-organismos libera metabólitos tóxicos no meio de crescimento, que provocam morte e lise celular, provocando fim da fase exponencial e o começo da fase estacionária, onde acúmulo de substâncias tóxicas e a escassez de nutrientes torna a velocidade de crescimento

aproximadamente igual a de mortalidade. Em determinado ponto, os nutrientes do produto se tornam escassos e os resíduos metabólicos aumenta a mortalidade, levando os micro-organismos à fase de declínio (NAKASHIMA et al., 2000). O início da utilização de modelos matemáticos em microbiologia de alimentos aconteceu por volta de 1920, revolucionando a indústria de enlatados com o desenvolvimento de métodos para calcular o tempo de destruição térmica de microrganismos (GOLDBLITH et al., 1961). Contudo, apenas a partir de 1983, o potencial da microbiologia preditiva começou a atrair interesse em termos de pesquisa e financiamento, principalmente nos Estados Unidos, Reino Unido, Austrália e Europa. O interesse na utilização dos modelos ocorreu por duas razões: o aumento de casos importantes de intoxicação alimentar durante os anos 80, levando ao aumento da conscientização pública da necessidade da oferta de alimentos seguros e a constatação de muitos microbiologistas de que os métodos tradicionais na determinação de qualidade e segurança microbiológica eram limitados pelo tempo de obtenção de resultados, além de ter pequeno valor preditivo (ROSS, McMEEKIN, 1994).

Whiting e Buchanan (1993) propuseram uma classificação dos modelos matemáticos utilizados na microbiologia preditiva, onde os modelos são divididos em primários, secundários e terciários. De acordo com Whiting (1995), os modelos primários e secundários podem ser lineares ou não lineares; segregados, quando a população é definida por células heterogêneas, ou não segregados, quando a população é definida por uma população média de células; estruturado, quando é formado por vários componentes, ou não estruturado, quando é formado por um único componente. Um modelo matemático é um componente de avaliação da contaminação de alimentos, estimativa de tempo de vida útil e avaliação de riscos na cadeia de distribuição de alimentos (OLAFSDOTTIR et al, 2006).

Assim sendo, um modelo preditivo pode ser de *nível primário*, quando mede a resposta de um micro-organismo no tempo para um ambiente de condições estáticas, a exemplo de uma câmara com temperatura fixa, de *nível secundário*, quando descreve a resposta dos parâmetros do modelo primário para as variações das condições ambientais, como em uma câmara simulando uma variação de temperatura em diversos pontos de um deslocamento (SWINNEN et al., 2004).

- ✓ Modelos Primários: descrevem as mudanças da população microbiana com o tempo

- ✓ Modelos Secundários: descrevem como os parâmetros dos modelos primários variam com as condições ambientais como temperatura, pH e Aw (Whiting e Buchanan, 1993)

2.4.1 Modelos Primários

McMeekin e Ross (2002) consideram que os modelos primários correspondem a modelos matemáticos que descrevem a mudança do número de micro-organismos em função do tempo. Para López et al. (2004), os modelos primários são descritos por equação ou função utilizada para descrever a resposta microbiana ao longo do tempo, parametrizando valores.

Estes modelos podem estimar a quantidade de unidades formadoras de colônias por grama (UFC/g), formação de toxinas, níveis de substrato e produtos metabólicos, que são medidas diretas de resposta (WHITING, 1995; SWINNEN et al., 2004). Uma equação ou função matemática descreve a mudança da resposta com o tempo, fornecendo um grupo de valores dos parâmetros.

De modo geral, os autores BATY e DELIGNETTE-MULLER (2004), consideram os principais parâmetros cinéticos de crescimento, como:

- (λ) duração da fase lag;
- (μ_{max}) velocidade específica máxima de crescimento;
- Densidade populacional máxima de crescimento final (maior contagem microbiana, na fase estacionária)

Os principais modelos primários de crescimento são: modelo de Gompertz e Gompertz modificado, modelo Logístico, modelo Logístico modificado, modelo de Baranyi e Roberts, e modelo linear de três fases, também conhecido como modelo de Buchanan (SWINNEN et al., 2004).

2.4.2 Modelo de Gompertz e Gompertz Modificado

O modelo de Gompertz foi introduzido na microbiologia de alimentos por Gibson et al., (1987), onde estes autores compararam a equação logística e a de Gompertz na parametrização de uma curva de crescimento de *Clostridium botulinum* (ROSS e McMEEKIN, 1994, GIANNUZZI et al., 1998, LABUZA e FU, 1993).

O modelo de Gompertz é uma função exponencial dupla, que descreve uma curva sigmoide assimétrica e está apresentado na Equação 2 (GIBSON et al., 1987).

$$\text{Log } N = \text{Log } N_0 + C \exp\{-\exp[-B(t - M)]\}$$

Equação 1

onde Log N é o logaritmo natural da densidade microbiana no tempo t, N_0 é o valor da assíntota inferior (equivalente ao log da densidade microbiana inicial), C é o aumento da densidade microbiana (equivalente ao log da contagem máxima microbiana durante a fase estacionária menos o log da contagem inicial), B é a velocidade de crescimento relativa no tempo M (h^{-1}) e M é tempo requerido para alcançar a velocidade máxima de crescimento (h).

A base deste modelo é que, devido à limitação de espaço e/ou nutrientes, bem como à produção de metabólitos tóxicos, a velocidade de crescimento aumentaria até um máximo e depois então diminuiria. Desta maneira, a velocidade máxima de crescimento exponencial é determinada no ponto de inflexão na curva (McKELLAR e LU, 2004).

A partir destes parâmetros, a velocidade de crescimento máxima (μ_{\max}) (h^{-1}) (Equação 2) e a duração da fase lag (λ) (h) (Equação 3), podem ser calculadas ($e=2,7182$).

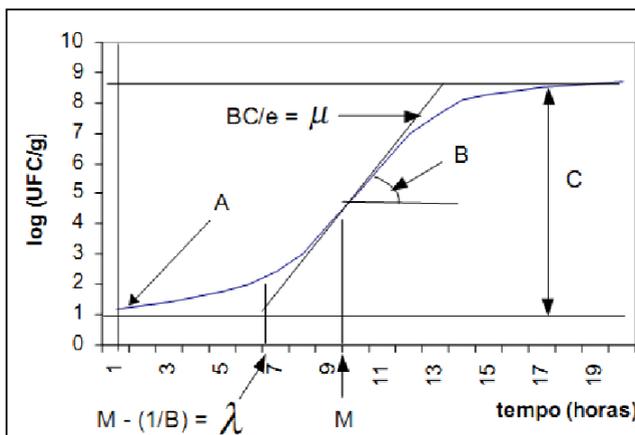
$$\mu_{\max} = BC/e$$

Equação 2

$$\lambda = M - (1/B)$$

Equação 3

Figura 11. Parâmetros associados com a equação de Gompertz modificada



Fonte: ANJOS, 2013

O modelo de Gompertz foi reparametrizado por Zwietering et al (1991) (Equação 4), com o objetivo de obter a representação direta dos parâmetros de interesse biológicos λ e μ_{\max} , resultando no modelo de Gompertz modificado.

$$\text{Log}(N) = \text{Log}(N_0) + C \exp\{-\exp[(\mu_{\max} \cdot e/C) \cdot (\lambda - t) + 1]\}$$

Equação 4

Este modelo é bastante utilizado para descrever o comportamento microbiano em diferentes meios de cultivo e alimentos (JUNEJA e MARKS, 1999; NAKASHIMA et al., 2000; CAYRÉ et al., 2003; SLONGO et al., 2009).

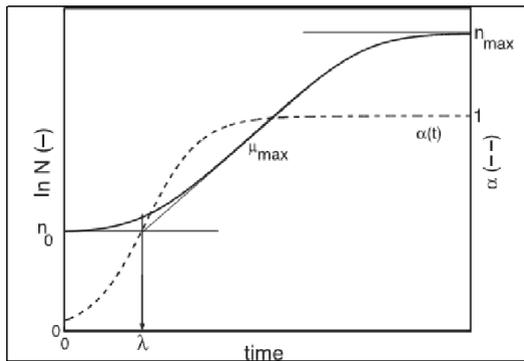
Segundo López et al. (2004), o modelo de Gompertz modificado tem sido utilizado extensivamente, pois se acredita que suas equações descrevem suficientemente os dados de crescimento microbiano, além de serem de fácil utilização. Entretanto, em muitos estudos concluiu-se que o modelo de Gompertz modificado demonstra desvios sistemáticos no ajuste de dados de crescimento microbiano.

2.4.3 Modelo de Baranyi e Roberts

Para solucionar os problemas encontrados no modelo de Gompertz modificado e fornecer base mais mecanística e biológica, Baranyi e Roberts (1994), propuseram um modelo que incluiu fase de crescimento exponencial linear (x) e fase lag determinada por uma função de ajuste $\alpha(x)$ (BARANYI e ROBERTS, 1994).

O modelo de Baranyi e Roberts supõe que, após certo período de ajuste da população, a velocidade de crescimento se torna constante e uma assíntota superior pode ser acomodada, descrevendo uma fase linear de crescimento, ou seja, a fase exponencial do crescimento pode ser representada como uma reta (BARANYI e ROBERTS, 1994). Uma representação deste modelo se encontra na Figura 12.

Figura 12. Simulação do modelo de Baranyi e Roberts (1994)



Fonte: ANJOS, 2013

O modelo de Baranyi e Roberts apresentado nas Equações 5 e 6 é comumente aceito como um modelo de crescimento determinístico.

$$\frac{dN}{dt} = \left[\frac{Q(t)}{1 + Q(t)} \right] * \mu_{max} * [1 - N(t)/N_{max}] * N(t)$$

Equação 5

$$\frac{dQ}{dt} = \mu_{max} * Q(t)$$

Equação 6

Onde, N é a densidade celular (UFC/mL); μ_{\max} é a velocidade de crescimento específico máxima (1/h); N_{\max} é a densidade celular máxima (UFC/mL) e Q é a medida do estado fisiológico das células.

A parte $[Q(t) / 1 + Q(t)]$ representa o ajuste da função $\alpha(t)$ como um fator extra para descrever a fase lag conforme descrito na Equação 7. Esta função permite a transição da fase lag para a fase de crescimento exponencial, por descrever a diminuição gradual do efeito do ambiente embutido em $Q(0)$, que representa o estágio fisiológico inicial das células no momento da inoculação (SWINNEN et al., 2004).

Portanto,

$$\alpha(t) = Q(t) / (1 + Q(t))$$

Equação 7

Outra transformação,

$$h(t) = \ln [1 + (1/Q(t))] = -\ln \alpha(t)$$

Equação 8

É mais usual, do ponto de vista computacional, podendo ser considerada uma transformação estatística estável de $Q(t)$ e $\alpha(t)$.

O modelo de Baranyi e Roberts é amplamente utilizado por algumas razões, fácil de usar por ter *softwares* disponíveis em que as equações já estão inseridas, é aplicável em condições ambientais dinâmicas, tem uma boa capacidade de ajuste, a maior parte dos parâmetros do modelo são biologicamente interpretáveis (VAN IMPE et al., 2005 e LEBERT e LEBERT, 2006).

2.4.4 Modelos Secundários

Os modelos secundários são equações que descrevem como variam os parâmetros de crescimento dos modelos primários com a mudança de um ou mais fatores extrínsecos e intrínsecos, como temperatura, pH, atividade de água, entre outros (WHITING, 1995). O conhecimento dos parâmetros ambientais que mais influenciam o crescimento microbiano é essencial para o desenvolvimento, bem como para o uso prático dos modelos preditivos (McKELLAR e LU, 2004).

De acordo com McMeekin e Ross (2002), a modelagem secundária tem por objetivo considerar o efeito individual de cada fator,

mas em diferentes situações, sendo necessário considerar a maneira pelos quais diferentes fatores interagem restringindo o crescimento microbiano. Para Nakashima et al. (2000), o nível secundário da modelagem envolve equações que descrevem como as respostas dos modelos primários (duração da fase de adaptação, velocidade de crescimento e densidade máxima da população), mudam com alterações de fatores ambientais.

O ajuste secundário pode ser modelado por qualquer equação que apresente o melhor ajuste para os dados experimentais, sem levar em conta o mecanismo, uma vez que a utilidade do modelo secundário é a descrição da variação dos parâmetros de interesse em função de fatores ambientais através de funções. Entretanto, ao utilizar modelos gerais, deve-se levar em consideração o comportamento da curva de crescimento. Sendo assim, diversas equações podem ser usadas, como por exemplo, linear e exponencial (NAKASHIMA, 2000).

Quando um grupo específico de alimentos está sendo modelado, particularmente quando a temperatura for o fator primário de interesse, como é frequentemente o caso, estas equações podem ser baseadas nas equações de Arrhenius e o modelo de raiz quadrada (SKINNER e LERKIN, 1994). A equação de Arrhenius assume que a velocidade de crescimento é controlada pela velocidade limite de uma única reação enzimática. (SKINNER e LERKIN, 1994).

As equações de regressão polinomial não assumem nenhuma relação mecânica entre a variável dependente e a independente. Neste caso, a equação representa o melhor ajuste a um conjunto de dados em particular. Quanto mais complexa a equação, com interações e termos quadráticos e cúbicos, mais flexível a superfície multidimensional e melhor o ajuste da equação aos dados de origem (WHITING e BUCHANAN, 1997; McMEEKIN e ROSS, 2002; CAIRÉ et al., 2003; MATARAGAS et al., 2006).

Tabela 1. Modelos secundários

Modelos Secundários	Equação
Linear	$k = b + rT$
Raiz Quadrada	$k^{1/2} = b(T - T_{\min})$
Tipo Arrhenius	$\ln k = a\left(\frac{1}{T}\right) + b$
Potência	$k = b.T^n$
Exponencial	$k = a.\exp(b.T)$

Fonte: DALCANTON, 2010

onde k é o parâmetro de interesse do modelo primário, T é a temperatura (°C), T_{\min} é a temperatura mínima para o crescimento ou coeficiente do modelo e a , b , r e n são coeficientes dos modelos.

2.4.5 Modelos de predição aplicados em carne e em produtos cárneos

O grupo de pesquisa em Microbiologia Preditiva do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da UFSC vem trabalhando com a modelagem matemática do crescimento de bactérias ácido lácticas sob condições isotérmicas e não isotérmicas, em meio de cultura (MRS) e em produtos cárneos. Ferreira (2004), avaliou a vida útil de presunto fatiado submetido a três temperaturas de estocagem. Slongo (2008), ajustou os dados de crescimento de bactérias ácido lácticas em presunto fatiado submetido à alta pressão hidrostática, aos modelos primários de Gompertz modificado e logístico. Dalcanton (2010) modelou o crescimento de bactérias ácido lácticas em condições isotérmicas e não isotérmicas. Mezaroba (2014) realizou a avaliação da vida útil de filés de frango resfriados, embalados à vácuo e em atmosfera modificada, sob armazenamento isotérmico e não isotérmico. Camargo (2015) modelou o crescimento de BAL (*Lactobacillus plantarum*, *Weissella viridescens* e *Lactobacillus sakei*) em cultura pura e mista, sob condições isotérmicas e não-isotérmicas de cultivo, em MRS. Martins (2015) utilizou um modelo não isotérmico para prever o crescimento de *W. viridescens* em meio de cultivo e Silva (2015) estudou o crescimento de cultura pura de *W. viridescens* sob condições

não isotérmicas em presunto comercial fatiado embalado a vácuo. O autor avaliou a capacidade preditiva do modelo matemático de descrever esse crescimento utilizando parâmetros obtidos em meio de cultivo sob condições isotérmicas.

Mataragas et al. (2006), estudando a deterioração em produtos cárneos curados e cozidos, constataram que o modelo de Gompertz descreveu melhor os dados experimentais do que o modelo logístico modificado e o modelo de Baranyi e Roberts. E para modelar os parâmetros cinéticos de crescimento, usaram os modelos da raiz quadrada e de Arrhenius, sendo este último de melhor desempenho.

No mesmo ano, Koutsoumanis et al. (2006) também utilizaram os modelos matemáticos para prever a deterioração por *Pseudomonas* spp., *Brochothrix thermosphacta*, *Enterobacteriaceae* e pelas bactérias ácido lácticas em carne moída bovina e suína, sob variação da temperatura e do pH. Para isso utilizaram o modelo de Baranyi e Roberts para a estimativa dos parâmetros de crescimento e um modelo modificado de Arrhenius para modelar o efeito do pH e das temperaturas de armazenamento sobre os parâmetros cinéticos.

Gospavic et al. (2008) desenvolveram um estudo para prever o crescimento de *Pseudomonas* spp. em carne de ave, utilizando os modelos primários de Gompertz modificado e de Baranyi e Roberts e o modelo secundário da raiz quadrada, para avaliar o efeito da temperatura sobre a velocidade específica máxima de crescimento nos modelos primários usados.

Kreyenschmidt et al. (2009) testaram e analisaram diferentes modelos primários e secundários para encontrar a melhor maneira de calcular a vida útil de presunto cozido e fatiado. Para a modelagem primária, compararam o modelo de Gompertz e o modelo logístico modificado, não encontrando diferenças substanciais entre eles. Para a modelagem do efeito da temperatura sobre a velocidade de crescimento, utilizaram o modelo de Arrhenius e o modelo da raiz quadrada, tendo o primeiro apresentado melhores resultados. Esses mesmos autores ainda observaram que a combinação que apresentou melhores resultados preditivos foi a do modelo logístico modificado juntamente com a equação de Arrhenius.

Mais recentemente, Bruckner et al. (2013) desenvolveram um modelo de predição para *Pseudomonas* spp. em carne fresca de porco e de aves, utilizando o modelo primário de Gompertz e o modelo secundário de Arrhenius, obtendo boas predições de ambos os modelos.

2.4.6 Validação dos modelos

Segundo Rodriguez-Perez (2004), a avaliação dos modelos preditivos pode ser realizada com os mesmos dados utilizados para estabelecer o modelo. Este tipo de validação é chamada de validação interna, e tem como objetivo determinar se o modelo pode descrever bem os dados experimentais. Já a validação externa, utiliza novos dados experimentais, os quais não foram usados para gerar o modelo, porém obtidos dentro dos limites do modelo estabelecido. Esta validação também pode ser realizada utilizando dados da literatura, que pode ser tanto uma validação matemática ou diretamente em um produto alimentício. Para que os modelos possam ser aplicados, é fundamental que estes sejam validados.

A aplicação de uma técnica estatística adequada permite uma avaliação da capacidade de predição do modelo que está sendo validado (NAKASHIMA et al., 2000). Na microbiologia preditiva, alguns Índices matemáticos podem ser usados para avaliar a confiabilidade ou qualidade do ajuste (*goodness of fit*) dos modelos preditivos de crescimento, bem como para comparar o ajuste de uma série de modelos aos dados utilizados para a sua elaboração (McCLURE et al., 1994). Os índices matemáticos normalmente utilizados na literatura são o coeficiente de correlação (R^2), o erro médio quadrático (MSE) ou raiz do erro médio quadrático (RMSE), o fator bias e o fator de exatidão. O objetivo inicial destes índices foi estimar a qualidade do ajuste dos modelos, quando se comparavam com observações que não tinham sido utilizadas para gerar o modelo predito.

O coeficiente de determinação (R^2) fornece uma medida da proporção da variação explicada pela equação de regressão em relação à variação total das respostas. O fator bias é uma estimativa para avaliar a diferença média entre os valores observados e preditos. Fator bias igual a 1 significa que o valor observado é exatamente igual ao predito. No entanto, quando bias maior 1, o valor predito é maior que o observado e indica que o modelo falha de forma segura (*fail-safe*), enquanto fator bias menor 1, significa que o predito é menor que o observado e que o modelo falha de forma perigosa (*fail-dangerous*) (LONGHI et al., 2013).

O primeiro indicador sobre a confiabilidade de um modelo é o R^2 . Este índice mede a fração de variação sobre a média que é explicada pelo modelo. Quanto maior o valor ($0 < R^2 < 1$), melhor é a predição obtida pelo modelo.

O índice RMSE ou MSE é uma medida da variabilidade residual. O valor mais baixo deste índice significa a melhor capacidade de o modelo descrever os dados (SUTHERLAND et al., 1994). Segundo McKellar e Lu (2004), provavelmente a mais simples e informativa medida de bom ajuste para modelos de regressão, linear e não linear, é o RMSE. A discrepância média entre os dados observados e os valores preditos, pode ser causada por vários motivos, incluindo a variabilidade natural ou erros sistemáticos. Ross (1996) propôs dois índices simples para avaliar o desempenho dos modelos, o fator bias e o fator exatidão. Estes índices são amplamente utilizados na literatura, pois proporcionam um fácil resumo da confiabilidade dos modelos e ainda servem no processo de validação dos modelos preditivos. Também são usados para comparar o ajuste de modelos primários (CHOWDHURY et al., 2007; ZHOU et al., 2008; SAUCEDO-REYES et al., 2009; ZIMMERMANN et al., 2010).

O fator bias proporciona uma medida do desvio estrutural do modelo. Com este índice é avaliado se os valores preditos estão acima ou abaixo da linha de equivalência e também em que medida se aproxima a concordância perfeita. O valor de bias > 1 indica que o modelo é seguro para o caso da velocidade de crescimento, cujo valor observado é inferior ao estimado pelo modelo preditivo. Neste sentido, o modelo proporciona uma margem de segurança. Ao contrário, um valor de bias < 1 para a fase lag significa que a predição estimada é segura, pois a fase lag observada é maior que a predita pelo modelo (ROSS, 1996).

O fator exatidão calcula a média da distância entre cada ponto e a linha de equivalência, como uma medida de quão próximas, da média, as predições estão das observações. Quanto maior o valor do fator de exatidão, menos exata é a estimativa. Por exemplo, um valor de 1,7 indica que as predições diferem em 70% das observações.

Quando ambos índices (bias e exatidão) tem o valor de 1, significa que existe concordância perfeita entre os valores observados e os preditos pelo modelo. Estes índices foram estabelecidos para avaliar um modelo com apenas um parâmetro, porém quando o modelo apresenta mais parâmetros (pH, aw, NaCl, entre outros) o fator de exatidão poderá ser aumentado em 10 a 15% (0,10 - 0,15) para cada variável no modelo (ROSS et al., 2000).

Os valores dos parâmetros cinéticos observados podem ser representados graficamente em relação as predições correspondentes do modelo matemático avaliado.

A partir desta representação, pode-se visualizar rapidamente quais as predições que poderiam resultar inseguras na prática e ainda estimar a confiabilidade do modelo (DEVLEIGHERE et al., 2000; CARRASCO et al., 2006).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta da matéria prima

3.2

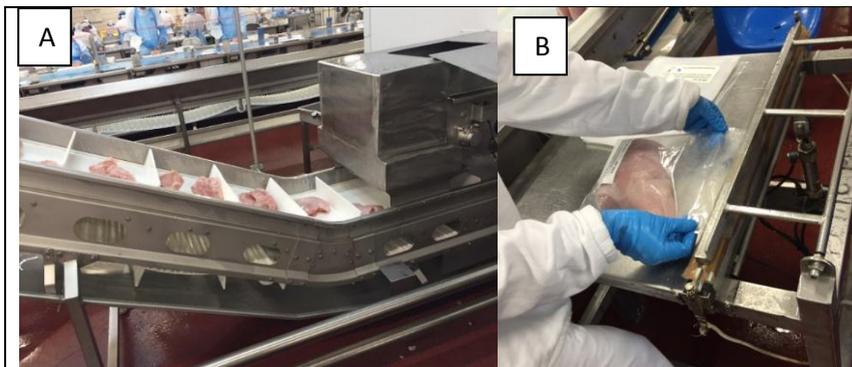
A matéria prima escolhida como objeto deste estudo foi peito de peru de uma linha de abate e processamento de uma empresa de âmbito internacional localizada no oeste do Estado de Santa Catarina (BRF S/A - Unidade Industrial Chapecó-SC), seguindo as etapas de processamento padrão descritas no item 2.1

Para a padronização das peças entre todos os experimentos adotou-se a coleta de matéria-prima de peru fêmea com média de peso das peças entre 1,3 a 2,6 kg. Após a seleção de amostras de um mesmo lote, na linha de produção, realizou-se a embalagem e identificação das amostras (em cada pacote numerado) e em planilha específica registrou-se os dados de data de produção, hora, lote/rastreabilidade e massa (kg) de cada peito.

Na etapa de embalagem do processo produtivo, o peito de peru foi coletado, sendo retirado da linha de produção e colocado em embalagens plásticas permeáveis e identificados. As embalagens plásticas, contendo uma unidade de peito de peru, foram seladas, sem extração do ar e acondicionadas em caixa térmica e enviadas ao laboratório, imediatamente colocadas na BOD em diferentes T.

A Figura 13 apresenta algumas fotos da linha de produção de peito de peru resfriado, para visualização do processo industrial e as coletas das amostras, (A) corresponde a uma unidade de peito de peru resfriado e (B) representa a etapa de selagem do pacote de amostra.

Figura 13. Local de coleta e embalagem das amostras de peito de peru resfriado- BRF S/A Unidade Industrial Chapecó(SC)



Fonte: Buosi, 2016

Os pacotes foram numerados de forma sequencial, a partir de 1, e o número total de amostras dependia do número de peças necessárias a cada experimento em função da temperatura de armazenamento, conforme pode-se visualizar na Figura 14, um exemplo de amostra. O número de amostras era estimado para que se tivessem amostras ao longo de toda a curva de crescimento (fase de adaptação, fase exponencial e fase estacionária).

Figura 14. Amostra de peito de peru embalada e identificada para os ensaios



Fonte: Buosi, 2016

3.3 Acondicionamento da matéria prima resfriada

Os produtos foram armazenados em refrigeradores com temperaturas controladas (Figura 3.2) a -2, 0, 2, 4, 7 e 10 °C. Estas temperaturas foram selecionadas considerando as condições de refrigeração, valores praticados em geral na indústria (4, 7 e 10 °C), valores referenciados na legislação (4 e 7 °C), valores de abuso de temperatura (10 °C) e valores estimados como um potencial ganho de vida útil (2, 0 e -2 °C). O equipamento foi ligado e programado na temperatura de cada experimento, 24 h antes do início dos testes. Para registro das temperaturas, utilizou-se o *data logger* (marca texto, modelo 174H) calibrado e programado para fazer leituras a cada 5 min, ao longo de todo o experimento. A cada 24 h, foi realizada a leitura dos registros das temperaturas armazenadas na memória do *data logger*.

Figura 15. Equipamento de refrigeração e alocação das amostras.



Fonte: Buosi, 2016

Para os experimentos de 4 e 7 °C, foi utilizado a estufa de temperatura controlada do Laboratório de Produtos Naturais (BOD, marca Dist – Modelo DI-500RP), para o experimento de 10 °C foi utilizado o equipamento do Laboratório de Microbiologia de alimentos (BOD, marca Dist - Modelo DI-500R) e para as temperaturas -2 °C, 0 °C e 2 °C foi utilizado o equipamento (BOD, marca J.PROLAB – modelo JP10000) do Laboratório de Sementes, todos disponibilizados pela Universidade Comunitária de Região de Chapecó (UNOCHAPECO), na cidade de Chapecó-SC.

3.3 Análises – pH, sensorial e microbiológica

Desde o tempo zero até o final da vida útil do produto, foram realizadas as avaliações dos atributos sensoriais (odor, cor e aspecto), análise de pH e análises microbiológicas. Todo o procedimento para realização das análises foi realizado em condições adequadas (assépticas), em capelo de fluxo laminar, desde a abertura da embalagem. Foram realizadas, inicialmente as análises sensoriais e de pH, seguidas das análises microbiológicas.

3.3.1 Avaliação sensorial

Na realização da avaliação sensorial, avaliou-se de forma individual, o odor e o aspecto visual das amostras de peito de peru, imediatamente ao abrir o pacote, e estes dados foram anotados de forma descritiva em planilha específica (vide Anexo 1). As alterações de odor e aspecto percebidas na avaliação sensorial foram importantes para determinar para a vida útil.

Como referência de metodologia desta avaliação sensorial foi utilizada a base da rotina executada no laboratório de análise sensorial da BRF Unidade Chapeco – SC, cujo é realizada a análise de matéria-prima diariamente, confrontando o padrão característico da matéria-prima versus a amostras em análise. Os atributos de aparência (visual), textura, e odor foram observados e anotados para publicação e análise de dados.

A avaliação sensorial foi realizada de forma individual, pela autora do trabalho que é uma profissional treinada, com especialização em carnes e certificada. A certificação é a verificação periódica da manutenção da capacidade de análise e é realizada pela gerência da análise sensorial da empresa BRF. Foi realizada na capela de fluxo laminar no momento da abertura do pacote da amostra armazenada, imediatamente antes da medida de pH e da realização das análises microbiológicas. Como os pacotes estavam selados, o momento de abertura das embalagens era bastante importante à percepção do odor.

Experimentos similares já haviam sido realizados de forma empírica pela autora e pesquisadora deste trabalho na empresa BRF, em condições reais de processamento, e serviram como base deste estudo.

3.3.2 Análise de pH

Para a medição de pH, foi utilizado o pHmetro (marca Quimis com sonda para sólidos, que foi inserida na parte interna da matéria prima. Quando necessário, realizou-se um pequeno corte ou perfuração na carne, com auxílio de uma tesoura esterilizada para facilitar a inserção da sonda de pH na peça.

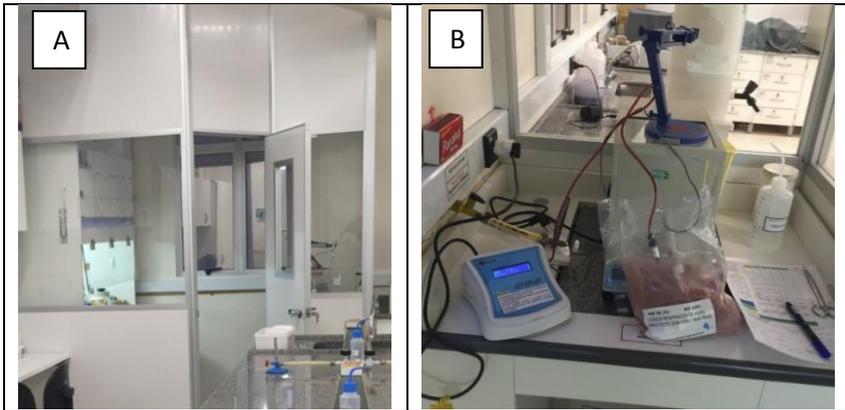
Os resultados de pH foram registrados em planilha específica, conforme os dados da peça e data.

3.3.3 Análise microbiológica

O procedimento adotado para a realização da análise microbiológica de cada amostra foi a técnica de lavagem superficial (técnica de rinsagem da superfície) conforme recomendações do Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água (SILVA, et al, 2010), uma vez que a contaminação acontece na superfície, e que o músculo interno está inicialmente estéril. Os micro-organismos analisados foram: bactérias aeróbias psicotróficas (BAP) e *Pseudomonas* spp. (PSE) para o monitoramento da deterioração, e coliformes a 45 °C para o atendimento do requisito legal (RDC12), início e fim. A análise de coliformes a 45 °C foi realizada pela empresa BRF para validação do requisito de legislação (Brasil).

Primeiramente adicionou-se em cada pacote de peito de peru aproximadamente 225 mL de água peptonada (0,1%). Este volume foi variado, dependendo do tamanho da amostra (massa (g)) de forma a obter uma relação água/massa de carne ajustada, bem como ter o líquido numa quantia adequada para uma boa rinsagem das peças. O volume utilizado de rinsagem foi anotado junto aos dados de massa (g) de cada amostra e utilizados para o cálculo de contagem final das colônias. Com a amostra e o líquido de rinsagem dentro do saco plástico, foi realizada uma massagem na amostra, seguida de agitação manual, por 40 seg., a fim de obter uma amostra representativa. Neste momento foi retirada uma alíquota de 1 ml e considerada como a diluição inicial (10⁰) e em seguida foram realizadas as diluições seriadas, com 1 ml da amostra + 9 ml de água peptonada (0,1%). As diluições foram selecionadas para plaqueamento, de acordo com um planejamento realizado considerando a previsão do crescimento microbiano, a cada temperatura.

Figura 16. Cabine para realização das análises (com câmara de fluxo laminar) (A) e a leitura de pH em uma amostra (B).



Fonte: Buosi, 2016

Foram utilizadas placas de Petri estéreis e descartáveis (9x15mm marca Prolab). As placas, contendo o meio específico de cada bactéria a ser estudada, foram preparadas de acordo com as orientações do fabricante e seguindo as regras e cuidados na preparação de meio de cultura. Para bactérias aeróbias psicotróficas utilizou-se o meio de cultura Agar Padrão para Contagem (PCA, *plate count agar*, marca MERCK) e para *Pseudomonas* spp. utilizou-se o Agar Cetrimida (marca Acumedia).

O plaqueamento das amostras, para as análises de bactérias aeróbias psicotróficas e *Pseudomonas* spp., foi realizado por superfície (*spread plate*), sendo que a amostra e/ou suas diluições foram inoculadas diretamente no meio sólido. , ou seja, foi inoculado 0,1 mL das respectivas diluições, levando à necessidade de se multiplicar o número de colônias obtido nas placas por 10, para que pudesse ser expresso em UFC/g. O volume inoculado foi espalhado nas placas com auxílio de alças de Drigalski esterilizadas. As análises microbiológicas seguiram as orientações do Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água (SILVA, et al, 2010).

Para cada ensaio, para cada temperatura, foram escolhidos os intervalos (12, 24 ou 48h), considerando as referências consultadas e ensaios realizados previamente. Da mesma forma, o número de amostras e consequente número de ensaios foi realizado com objetivo de buscar o

maior número de pontos na curva de crescimento dos micro-organismos e deterioração do alimento.

As placas uma vez inoculadas, eram identificadas e agrupadas, e levadas às estufas de incubação, de modo invertido nas condições de tempo e temperatura apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3. Condições de tempo e temperatura de incubação para as análises microbiológicas realizadas

Micro-organismo	Tempo	Temperatura
Aeróbios	7 a 10 dias	7 °C ± 1°C
Psicotróficos		
<i>Pseudomonas</i> spp.	48 +- 4 h	25°C ± 1°C

Fonte: SILVA, et al, 2010

Após o período determinado de incubação de cada micro-organismo, as placas foram submetidas à contagem, em contador de colônias (marca Quimis). O método de contagem utilizado seguiu as orientações da *American Public Health Association* (APHA), descritas na 4ª edição do *Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods* (Swanson *et al.*, 2001) e segue a referência das normas ISO6887-1 (1998) e ISO7218(2007).

A massa individual de cada peça e o volume de líquido utilizado na lavagem superficial das peças foram utilizados para o cálculo e a correta determinação da concentração microbiana (X), expressa em número de unidades formadoras de colônias por grama (UFC/g), conforme Equação 10.

$$X \left(\frac{\text{UFC}}{\text{g}} \right) = \frac{\text{UFC}/\text{ml} * \text{volume de líquido da rinsagem (ml)}}{\text{massa da amostra (g)}}$$

Equação 10

O cálculo dos resultados da contagem em placas considera placas com número de colônias entre 10 e 300, de duas diluições sucessivas, no cálculo dos resultados. A quantidade de amostra inoculada nas placas nas duas diluições também é considerada nos cálculos. Um exemplo do

cálculo para obtenção do resultado da contagem, segundo a ISO7218:2007, é apresentado na Tabela 3.2.

Quadro 3.2 Exemplo de um cálculo UFC/g

	Diluição 10 ⁻¹	Diluição 10 ⁻²	Diluição 10 ⁻³
Total de colônias	150	7	2
Quantidade de amostra inoculada	0,1*10 ⁻¹	0,1*10 ⁻²	0,1*10 ⁻³
Somas das Colônias	150+7+2 = 159		
Soma das quantidades inoculadas	0,1*10 ⁻¹ + 0,1*10 ⁻² + 0,1*10 ⁻³ = 0,0111		
UFC/	159/0,0111 = 1,4*10 ⁴		

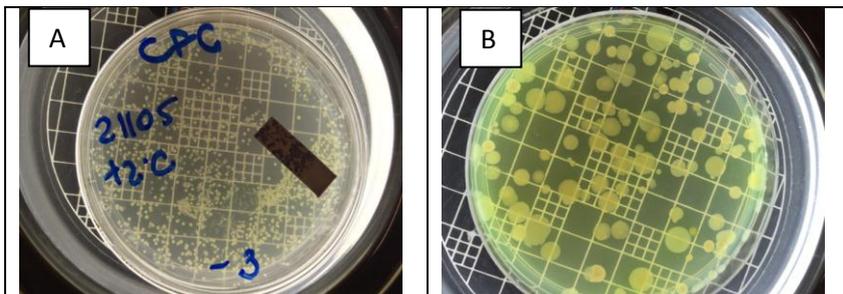
Referência: Normas ISO6887-1 (1998) e ISO7218(2007).

Fonte: SILVA, et al, 2010

Para *Pseudomonas* spp., conforme a ISO13720:1995, foi realizada a confirmação de 5 colônias selecionadas aleatoriamente, utilizando-se o teste de tiras de oxidase (+) (marca Laborclin). A confirmação positiva para *Pseudomonas* spp. ocorre com o aparecimento da cor azul na tira de oxidase. Através da avaliação das 5 colônias, calculou-se a porcentagem de colônias consideradas positivas para *Pseudomonas* spp. e a contagem final foi multiplicada pela porcentagem de colônias positivas obtidas (Figura 17). Por exemplo, se de 5 colônias testadas, o teste de oxidase desse positivo para 4, o resultado final da contagem seria multiplicado por 4/5.

Outra característica observada nas análises microbiológicas foi a predominância da coloração fluorescente (Figura 17 (B)), que nos permite identificar as cepas de *Pseudomonas*.

Figura 17. Placa de contagem de *Pseudomonas* spp. (A) tira de oxidase positiva (B) colônias fluorescentes.



Fonte: Buosi, 2016

3.4 Modelagem Matemática

3.4.1 Modelos Primários

O modelo primário de Gompertz Modificado (GOM) foi utilizado para avaliar e comparar as curvas de crescimento das bactérias aeróbias psicotróficas e *Pseudomonas* spp. Através da correlação da avaliação sensorial e dados da literatura determinar como SSO (*specific spoilage organism*) e valor de referência de tempo de vida útil (log UFC/g).

Na sequência, para descrever e comparar a influência das seis diferentes temperaturas para o crescimento das *Pseudomonas* spp. foram estudados os modelos primários de Gompertz Modificado (GOM) e Baranyi & Roberts (BAR).

As equações de GOM (Gompertz Modificado (ZWIETERING et al.,1990)) e BAR (Baranyi & Roberts (BARANYI e ROBERTS, 1994)) estão descritas no capítulo 2.

Foram considerados os parâmetros de crescimento: duração da fase lag (λ) e velocidade específica máxima de crescimento (μ). Os ajustes dos modelos foram realizados com auxílio do *software* MATLAB® R2010a versão 7.10 (MathWorksR, Natick, USA), através da ferramenta *Cftool*.

3.4.2 Modelos Secundários

Após a obtenção dos parâmetros primários de crescimento (λ e μ), cinco equações correspondentes aos modelos secundários (Tabela 1, capítulo 2) foram comparadas para seleção do modelo que melhor descreva a influência da variação da temperatura sobre estes parâmetros e também para validar o modelo primário (BAR e GOM). Para a aplicação da equação do modelo secundário de Arrhenius e exponencial, as temperaturas foram convertidas em K, visto as Temperaturas utilizadas nos experimentos (-2 e 0 °C)

3.4.3 Validação dos resultados pela análise estatística dos modelos

Para a validação dos modelos foram calculados os parâmetros estatísticos coeficiente de correlação (R^2), erro quadrado médio (RMSE), fator bias e fator exatidão (SAMAPUNDO et al., 2005), conforme as equações descritas na Tabela 2.

Tabela 2 - Índices estatísticos utilizados para comparação e validação dos modelos.

Descrição	Equação
Coeficiente de correlação (R^2)	$R^2 = \frac{\sum_i (\hat{y}_{ij} - \bar{y})^2}{\sum_i (y_{ij} - \bar{y})^2} = \frac{SQRL}{SQTc}$
Raiz do erro médio quadrático	$RMSE = \frac{RSS}{n-p} = \frac{\sum (\text{valor observado} - \text{valor predito})^2}{n-p}$
Fator bias	$\text{Bias} = 10^{\left(\frac{\sum \log(\text{valor predito} - \text{valor observado})}{n} \right)}$
Fator de exatidão	$\text{Exatidão} = 10^{\left(\frac{\sum \log(\text{valor predito} - \text{valor observado}) }{n} \right)}$

Onde n é o número de dados experimentais, p é o número de parâmetros do modelo.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir serão discutidos os resultados obtidos nas seis diferentes temperaturas isotérmicas (-2, 0, 2, 4, 7 e 10 °C).

4.1 Avaliação Sensorial

Durante a realização dos experimentos, foi observada, através de uma avaliação sensorial, a evolução do odor, aspecto e cor característicos de carne resfriada a cada tempo previsto para análise microbiológica. Observou-se atentamente o aparecimento de odores de maturação, odores estranhos e indesejáveis (sinais de alteração e putrefação) e desenvolvimento de limosidade superficial.

A Figura 18 apresenta amostras de peito de peru ((A) e (B) no tempo zero, onde é possível observar as características de brilho, cor rósea e um tom mais avermelhado, ambas consideradas como padrão aceitável e característico.

Figura 18. Amostras de peito de peru resfriado com aspecto padrão característico, no início do armazenamento (tempo zero): (A) Amostra de peito de peru resfriada no tempo zero (cor rósea clara, com brilho e visível a película superficial característica



Fonte: Buosi, 2016

Na sequência, apresenta-se a Figura 19 com uma amostra de peito de peru já alterada, com deterioração avançada, visualmente com as características de limosidade e mela na superfície (A) e (B), em destaque a tira de oxidase, com a coloração azul, validando a Oxidase positiva, indicando colônias de *Pseudomonas* spp.

Figura 19. Amostras de peito de peru com deterioração avançada: alteração visível de colônias, mela (A), alteração visível de colônias e mela, com a tira de Oxidase (+) (B), mela na superfície (C) e parte inferior da peça de peito de peru com mela e sinais de alteração (D).



Fonte: Buosi, 2016

O momento da abertura das embalagens do peito de peru era bastante importante à percepção do odor, pois a alteração do odor das amostras foi considerada como definição do final de vida útil do peito de peru, pois corresponderia ao momento em que o consumidor iria rejeitar o produto por este aspecto. Os tempos em que as alterações de odor foram observadas foram, posteriormente, correlacionados aos respectivos valores das contagens microbianas das bactérias aeróbias psicotróficas (BAP) e *Pseudomonas* spp. (PSE).

Os quadros 4.2 e 4.3 apresentam um resumo das observações de alterações sensoriais registradas para as temperaturas de 4, 7 e 10 °C e para as temperaturas -2, 0, 2 °C, respectivamente. As considerações de aspecto característico referem-se à aparência em geral, coloração, aparecimento e presença de mela, e também à textura (percebida ao perfurar com o pHmetro no momento de medida de pH, mais ou menos flácida). Com a evolução das horas, em alguns casos, observou-se a

carne menos resistente à perfuração, o que foi descrito como alteração na textura da carne, indicando o estágio de maturação e, características de proteólise. Também se observou primeiramente o aparecimento de mela, antecedente ao aparecimento e presença de coloração de colônias amarelas (Figura 4.2).

Para cada ensaio, para cada temperatura, foram escolhidos os intervalos (12, 24 ou 48H), considerando as referências consultadas e ensaios realizados previamente. Da mesma forma, o número de amostras e consequente número de ensaios foi realizado com objetivo de buscar o maior número de pontos na curva de crescimento dos micro-organismos e deterioração do alimento.

QUADRO 4.2 Registros de alterações sensoriais observadas às temperaturas 10, 7 e 4 °C.

	Temperatura (°C)		Temperatura (°C)		Temperatura (°C)
t (h)	10	t (h)	7	t (h)	4
0	odor e aspecto característico	0	odor e aspecto característico	0	odor e aspecto característico
24	odor e aspecto característico	24	odor e aspecto característico	24	odor e aspecto característico
43	odor e aspecto característico	48	odor e aspecto característico	48	odor e aspecto característico
55	odor acidificado e aspecto característico	72	odor acidificado e aspecto característico	72	odor e aspecto característico
67	odor pútrido e aspecto característico final da vida útil	96	odor maturado e aspecto característico	96	odor maturado e aspecto característico,
79	odor pútrido e aspecto alterado (mais flácido) e	120	odor pútrido e aspecto característico final da vida	120	odor maturado e aspecto característico

	com mela		útil		
91	odor pútrido e aspecto alterado e com mela	144	odor pútrido e e aspecto alterado na textura	144	odor pútrido e aspecto alterado final da vida útil
96	odor pútrido e aspecto alterado e com mela	168	odor pútrido e aspecto alterado e com mela	168	odor pútrido e aspecto alterado na textura
103	odor pútrido e aspecto alterado (mais flácido) e com mela	192	odor pútrido e aspecto alterado (mais flácido) e com mela	192	odor pútrido e aspecto alterado (mais flácido) e com mela
115	odor pútrido e aspecto alterado (mais flácido) e com mela	216	odor pútrido e aspecto alterado (mais flácido) e com mela	216	odor pútrido e aspecto alterado (mais flácido) e com mela

Quadro 4.3 Registros de alterações sensoriais observadas às temperaturas 2, 0 e -2 °C:

	Temperatura (°C)	Temperatura (°C)	Temperatura(°C)
t (h)	2	0	-2
0	odor e aspecto característico	odor e aspecto característico	odor e aspecto característico
80	odor maturado e aspecto característico	odor e aspecto característico	odor e aspecto característico
151	odor acidificado e aspecto característico	odor e aspecto característico	odor e aspecto característico
274	odor pútrido e aspecto alterado na textura – final da vida útil	odor maturado e aspecto característico	odor e aspecto característico

334	odor pútrido e aspecto alterado na textura (mais flácido)	odor pútrido e aspecto alterado na textura (mais flácido) final da vida útil	odor maturado e aspecto característico
357	odor pútrido e aspecto alterado (mais flácido) e com mela	odor pútrido e aspecto alterado na textura (mais flácido)	odor maturado e aspecto característico
379	odor pútrido e aspecto alterado (mais flácido) e com mela	odor pútrido e aspecto alterado (mais flácido) e com mela	odor maturado e aspecto característico
411	odor pútrido e aspecto alterado (mais flácido) e mela	odor pútrido e aspecto alterado (mais flácido) e mela	odor maturado e aspecto característico
435	odor pútrido e aspecto alterado (mais flácido) e com mela	odor pútrido e aspecto alterado (mais flácido) e com mela	odor acidificado e aspecto alterado na textura (mais flácido)
459		odor pútrido e aspecto alterado (mais flácido) e com mela	odor acidificado e aspecto alterado na textura (mais flácido)
507			odor pútrido e aspecto alterado na textura final da vida útil
558			odor pútrido e aspecto alterado na textura

A Tabela 4 apresenta um resumo dos valores de tempo de vida útil do produto, baseado nas alterações sensoriais, e os correspondentes valores de contagem de BAP e PSE, às temperaturas de -2, 0, 2, 4, 7 e 10 °C, correspondentes aos tempos em que foram observadas as alterações sensoriais.

Tabela 4. Resumo dos valores de tempo de vida útil do produto, baseado nas alterações sensoriais, e os valores correspondentes à contagem de bactérias aeróbias psicotróficas e *Pseudomonas* spp, nos tempos correspondentes ao final da vida útil sensorial, às temperaturas de -2, 0, 2, 4, 7 e 10 °C.

Temperatura (°C)	Vida útil observada Sensorial (h)	Bactérias Aeróbias Psicotróficas (log UFC/g)	Observados <i>Pseudomonas</i> spp. (log UFC/g)
10	67	7,7	6,3
7	120	6,9	6,5
4	144	5,6	5,7
2	274	7,6	6,9
0	334	6,0	6,3
-2	507	8,7	7,5

Observando os valores, pode-se afirmar que as temperaturas inferiores, 2, 0 -2 °C aumentam notoriamente o tempo de vida útil.

Sob a condição de temperatura de -2 °C, o tempo de vida útil foi de 507 horas, valor que é 7,5 vezes maior que o obtido à temperatura de 10°C (67h). O tempo de vida útil obtida sob a condição da temperatura de -2 °C permite a indústria um maior tempo de processamento na condição de matéria-prima resfriada.

4.2 pH

A medida de pH foi realizada no momento seguinte à avaliação sensorial, e os valores obtidos a cada medida para cada temperatura, foram anotados em uma planilha específica. O pH é um fator intrínseco ao alimento e, para a carne, este valor pode variar em função de diversos fatores (PARDI, 1996). Para carne de aves, em especial o peito de peru, os valores de pH devem variar entre 5,4 e 5,7 para as condições normais de processamento (BRESSAN,1998). Quando a carne apresenta valor médio de pH acima de 5,72, é considerada como condição normal e quando a carne apresenta valores de pH menores que 5,67, é considerada como carne ácida (*Pale Soft and Exsudative*) (ARISTIDES et al., 2012).

Para os experimentos referentes às temperaturas de 2, 0 e -2 °C, foi utilizada uma única amostra no tempo zero para a avaliação no tempo zero, já que, as amostras partiram do mesmo lote.

A Tabela 5 apresenta os valores iniciais, finais e os valores referentes ao momento em que a amostra apresenta alteração sensorial indicando o final da vida útil do produto para cada temperatura de armazenamento.

Tabela 5. Valores de pH inicial correlacionando os valores de pH final referente ao tempo final de vida útil sensorial

Temperatura (°C)	pH inicial	pH final	Tempo de Vida útil Sensorial (h)
10	5,76	5,91	67
7	5,72	5,66	120
4	5,90	5,92	168
2	5,45	6,00	274
0	5,45	6,13	334
-2	5,45	6,00	507

Os valores de pH inicial estão próximos à faixa de 5,5 a 5,7 que são apresentados na literatura como normal para a carne fresca (CARDENAS; GIANNUZZI; ZARITZKY, 2008), exceto a medida de pH referente ao lote do experimento de 4°C. O valor de pH é altamente dependente da quantidade de glicogênio presente no tecido no momento do abate, uma vez que, após o abate, ele se transformará em ácido lático (CARDENAS; GIANNUZZI; ZARITZKY, 2008).

Observando-se a Tabela 4.1, percebe-se que, com exceção da temperatura de 7° C, houve aumento de pH, entre o início e o final da vida útil, em todas as temperaturas estudadas. Os autores MANO; ORDONEZ, GARCIA de FERNANDO (2002) afirmam que, quando o alimento é mantido em aerobiose, é normal que o pH aumente, coincidindo com contagens totais superiores a 7 Log UFC/g e sua alteração. Estas mudanças se devem, possivelmente, à formação de substâncias básicas derivadas do crescimento, principalmente, de *Pseudomonas* spp.

4.4 Análises Microbiológicas

Conforme descrito no capítulo 3 Material e Métodos, foi realizado numa fase inicial da pesquisa, uma análise microbiológica para determinação da qualidade dos cortes e caracterização da microbiota natural do peito de peru in natura resfriado. Estas análises foram realizadas no laboratório do SENAI Chapecó-SC (*) e no laboratório da BRF S/A Unidade Chapecó – SC (**). Os resultados destas análises serviram para a confirmação dos micro-organismos alvo da deterioração na condição de resfriado e aeróbia.

Quadro 4.4 – Resultados Análises Microbiológicas – Caracterização Microbiota natural do peito de peru resfriado in natura

Ensaio Preliminar	Início	Fim	Micro-organismo
Temperatura 7 °C	10 ² UFC/g	10 ² UFC/g	Coliformes a 45 °C (**)
	10 ³ UFC/g	10 ³ UFC/g	Coliformes Totais (**)
	10 ³ UFC/g	10 ⁵ UFC/g	Contagem total de Mesófilos (**)
	Ausência em 25g	Ausência em 25g	<i>Salmonella</i> spp. (**)
	10 ³ UFC/g	10 ⁵ UFC/g	Bactérias ácido lácticas (*)
	10 ³ UFC/g	10 ⁷ UFC/g	<i>Pseudomonas</i> spp.(*)
	10 ³ UFC/g	10 ⁸ UFC/g	Bactérias aeróbias Psicotróficas (*)

Estes resultados estão de acordo com as pesquisas que direcionam os micro-organismos *Pseudomonas* spp.(PSE) e Bactérias aeróbias psicotróficas (BAP). Com base nestes resultados, decidiu-se monitorar durante a vida útil do alimento as BAP e PSE.

Para atendimento da legislação vigente no Brasil (RDC 12) e Europa (ausência de *Salmonella* spp.), as amostras destinadas aos ensaios de monitoramento e determinação de vida útil, forma também

submetidas às análises microbiológicas na empresa (BRF S/A Unidade Chapecó – SC). Os resultados das análises microbiológicas complementares estão apresentados no Quadro 4.5 – Resultados análises microbiológicas.

Quadro 4.5 – Resultados análises microbiológicas.

Ensaio (Temperatura)	Início	Fim	Micro-organismo
10 °C	10 ³ UFC/g	10 ³ UFC/g	Coliformes a 45 °C
	Ausência em 25g	Ausência em 25g	<i>Salmonella spp.</i>
7 °C	10 ³ UFC/g	10 ³ UFC/g	Coliformes a 45 °C
	Ausência em 25g	Ausência em 25g	<i>Salmonella spp.</i>
4 °C	10 ² UFC/g	10 ² UFC/g	Coliformes a 45 °C
	Ausência em 25g	Ausência em 25g	<i>Salmonella spp.</i>
2 °C	10 ³ UFC/g	10 ³ UFC/g	Coliformes a 45 °C
	Ausência em 25g	Ausência em 25g	<i>Salmonella spp.</i>
0°C	10 ² UFC/g	10 ² UFC/g	Coliformes a 45 °C
	Ausência em 25g	Ausência em 25g	<i>Salmonella spp.</i>
-2°C	10 ³ UFC/g	10 ³ UFC/g	Coliformes a 45 °C
	Ausência em 25g	Ausência em 25g	<i>Salmonella spp.</i>

Os resultados de análises microbiológicas de BAP e PSE, serão apresentados no item 4.3 na forma de gráficos, cujo serão de importância para as curvas de crescimento e determinação da condição de deterioração e tempo de vida útil.

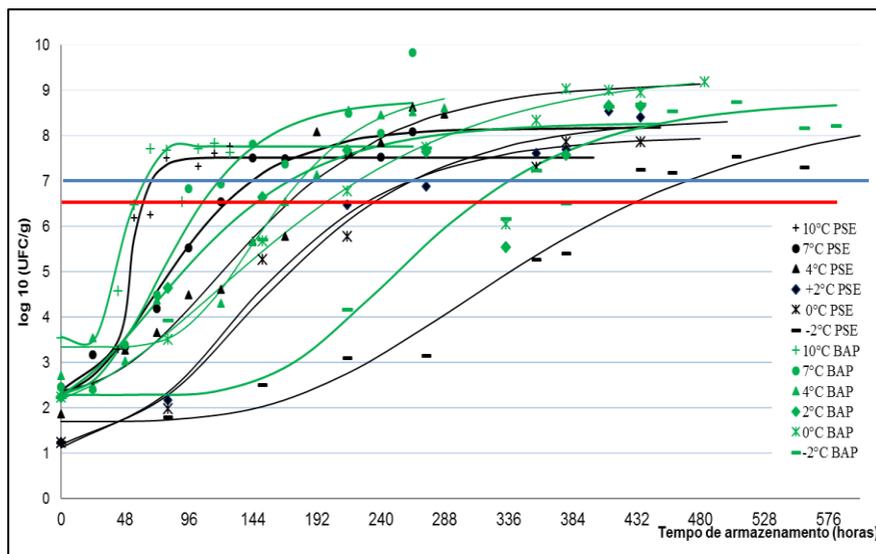
4.3 Modelagem do crescimento de BAP e PSE em peito de peru

Foi realizado o acompanhamento do crescimento de bactérias aeróbias psicotróficas (BAP) e *Pseudomonas* spp. (PSE) ao longo do tempo de armazenamento do peito de peru *in natura* resfriado, embalado em aerobiose. Estas bactérias foram selecionadas por serem responsáveis pela deterioração nas condições de aerobiose e sob as temperaturas de refrigeração, conforme descrito no capítulo 3.

Para obtenção das curvas de crescimento e correlação de tempo de vida útil (TVU) sensorial em peito de peru *in natura* resfriado às temperaturas de armazenamento estudadas, foi realizado o ajuste do modelo de GOM aos dados experimentais das Bactérias Aeróbias Psicotróficas (BAP) e *Pseudomonas* spp. (PSE). Este modelo de ajuste (GOM) foi utilizado para escolha do micro-organismo (SSO - *Specific spoilage organism*) que melhor descreve a correlação do TVU sensorial e TVU microbiológico (Tabela 4) em peito de peru *in natura* resfriado. Nesta etapa não se fez uma escolha do melhor modelo primário, pois o objetivo era apenas comparar o crescimento dos dois grupos de bactérias (BAP X PSE).

A Figura 20 apresenta os valores observados de BAP e PSE para o peito de peru *in natura* resfriado nas diferentes condições de temperatura e as curvas do modelo de ajuste pelo Modelo de GOM.

Figura 20. Curvas de Crescimento de BAP (cor verde) e PSE (cor preta) - Dados Observados & Curvas do modelo de Ajuste GOM



A Figura 20 ilustra os valores observados nos experimentos e as curvas do modelo de GOM ajustado aos dados experimentais de bactérias aeróbias psicotróficas (BAP – cor verde) e *Pseudomonas* spp. (PSE - cor preta) ao longo do tempo de armazenamento nas diferentes temperaturas. Os dados experimentais de cor preta representam os valores observados para as BAP, e as curvas em cor preta representam o ajuste do modelo de GOM a esses dados. Da mesma forma, os dados experimentais de cor verde representam os valores obtidos para PSE, e as curvas de cor verde representam o ajuste do modelo de GOM para PSE. A linha de cor vermelha apresenta a referência $6,5 \log$ para indicar o tempo de vida útil, cujo será discutida em seguida.

Observando os valores apresentados na Tabela 4 e na Figura 20 (A), as contagens de BAP foram no geral maiores que as contagens observadas para as PSE (B). Cabe ressaltar que as contagens iniciais de bactérias aeróbias psicotróficas variaram entre 2 e 3,5 logs UFC/g, enquanto para as *Pseudomonas* spp. os valores observados variaram entre 1,5 e 2,5 logs UFC/g. Esses resultados podem ser explicados uma vez que as PSE estão contidas no grupo das BAP. Isto é observado, em

geral, em todas as contagens durante toda a vida útil do peito de peru, bem como nas curvas dos modelos de ajuste de GOM.

A literatura considera, de forma geral, o valor de 7 log UFC/g como a concentração microbiana que define a vida útil de produtos cárneos (TAOUKIS, KOUTSOUMANIS e NYCHAS (1999), DAINTY & MACKEY (1992), BRUCKNER et al, (2013). Para as contagens de BAP, considerando-se as alterações sensoriais observadas, o valor de 7 log UFC foi considerado adequado. Porém, observou-se que, nas contagens de 7 log UFC/g de *Pseudomonas spp*, já havia alterações de odor pútrido e aspecto alterado. Assim, o valor mais adequado a indicar para o tempo de vida útil (TVU) em peito de peru *in natura* resfriado é de 6,5log UFC/g de PSE.

Uma vantagem para se considerar a contagem de PSE como referência para o monitoramento e tomada de decisão com relação ao TVU de um produto resfriado, é que o tempo de resposta dessa análise microbiológica é de 48 h. Para as bactérias aeróbias psicotróficas, o tempo de análise é de 7 a 10 dias, sendo de maior dificuldade para aplicação na indústria.

Muitas pesquisas combinam a análise sensorial à microbiologia preditiva para estimar a vida útil de um determinado alimento. Por exemplo, Taoukis, Koutsoumanis e Nychas (1999) estimaram, por parâmetros sensoriais, que a vida útil de carne de aves contaminada por *Pseudomonas spp*. chegava ao final quando o crescimento populacional alcançava 7log UFC/g por meio das curvas de predição obtidas com modelos primários e calcularam, nas condições ambientais testadas, o tempo para o crescimento alcançar este índice de 7 log UFC/g, sendo este tempo considerado o final da vida útil da carne.

Dainty & Mackey (1992) e Nychas et al. (2008) reportaram que a deterioração baseada no crescimento de *Pseudomonas spp*. libera odores desagradáveis e produção de limo na superfície quando a contagem alcança valores entre 7 e 8 log UFC/g. Também para Gill, Meginnis e Bryant (1998), quando a contaminação atinge 7 log UFC/g já é evidente a formação de limo. Essa mesma condição foi observada durante os experimentos, nas diferentes temperaturas testadas. Apenas para a temperatura de -2 °C não foi observada a produção de limo na superfície, mesmo após o final da vida útil (valores superiores a 7 e 8 log UFC/g). A ocorrência da limosidade superficial está relacionada com a temperatura de armazenamento e com a quantidade de água disponível no produto. Em alimentos com alta atividade de água, como a carne de aves, mantidos em temperatura de refrigeração, a bactéria

Pseudomonas spp é a responsável por este tipo de alteração (HOLLEY & GILL, 2005).

Bruckner et al, (2013) obtiveram tempo de vida útil, baseado em alterações sensoriais, superiores ao encontrados para o crescimento microbiano. Os autores consideraram a contagem de 7,5 log UFC/g *Pseudomonas spp*. como o final da vida útil para carne de aves (peito de frango) e carne suína (lombo suíno).

Silva (1995) considerou para carnes contagens de até 4 log UFC/g aceitáveis, entre 5 e 6 log UFC/g, questionáveis e acima deste nível, já deteriorada. Segundo Roça (2004), quando a contagem de aeróbios mesófilos está na faixa de 6 log UFC/g, geralmente ocorre a descoloração da superfície da carne bovina. Anjos (2013) considerou a concentração de 5 log UFC/g, como o valor em que se inicia o processo de deterioração em carne bovina resfriada.

Para facilitar a apresentação e compreensão dos dados experimentais, o modelo de GOM foi ajustado aos dados das curvas de crescimento das bactérias aeróbias psicotróficas e *Pseudomonas spp*. (Figura 20). Com base nos resultados obtidos, a contagem de *Pseudomonas spp*. no valor de 6,5 log UFC/g (15 ln UFC/g) será considerada como uma referência para o tempo de vida útil (TVU) do peito de peru *in natura* resfriado em aerobiose. Dada a importância do grupo de *Pseudomonas*, como explicado anteriormente, a modelagem do crescimento em condições isotérmicas foi realizada apenas para este grupo de bactérias e será apresentada no próximo item.

4.4 Modelo de Ajuste de GOM e BAR para o crescimento de PSE

Foi realizada a comparação dos ajustes dos modelos de GOM e BAR aos dados experimentais para a seleção do modelo que melhor descreve o crescimento das PSE ao longo do tempo.

O modelo de GOM foi ajustado aos dados experimentais de PSE nas diferentes temperaturas estudadas e estes ajustes podem ser observados na Figura 21 e os valores obtidos para os parâmetros de crescimento na Tabela 6.

O modelo de BAR foi ajustado aos dados experimentais de PSE nas diferentes temperaturas estudadas, e estes ajustes podem ser observados na Figura 22 e os valores obtidos para os parâmetros de crescimento na Tabela 6. Para aplicação do modelo de BAR primeiramente foi realizada os ajustes para obtenção e definição do h_0 . Na sequência, fixou-se o h_0 em 4,95 conforme valores obtidos no

modelo de ajuste e os parâmetros do modelo de ajuste foram recalculados.

Na Figura 21 e 22 a linha de cor vermelha identifica a contagem de $6,5\log$ ou $15 \ln$ (UFC/g), considerado como TVU conforme detalhado anteriormente.

Figura 21. Ajuste do modelo de GOM aos dados experimentais das curvas de crescimento de *Pseudomonas* spp. às temperaturas de -2, 0, 2, 4, 7 e 10°C .

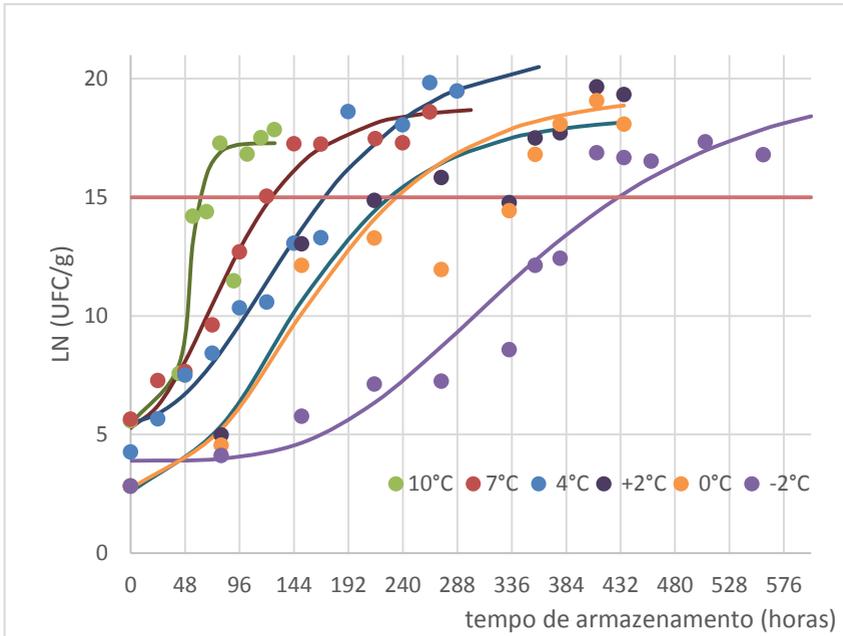
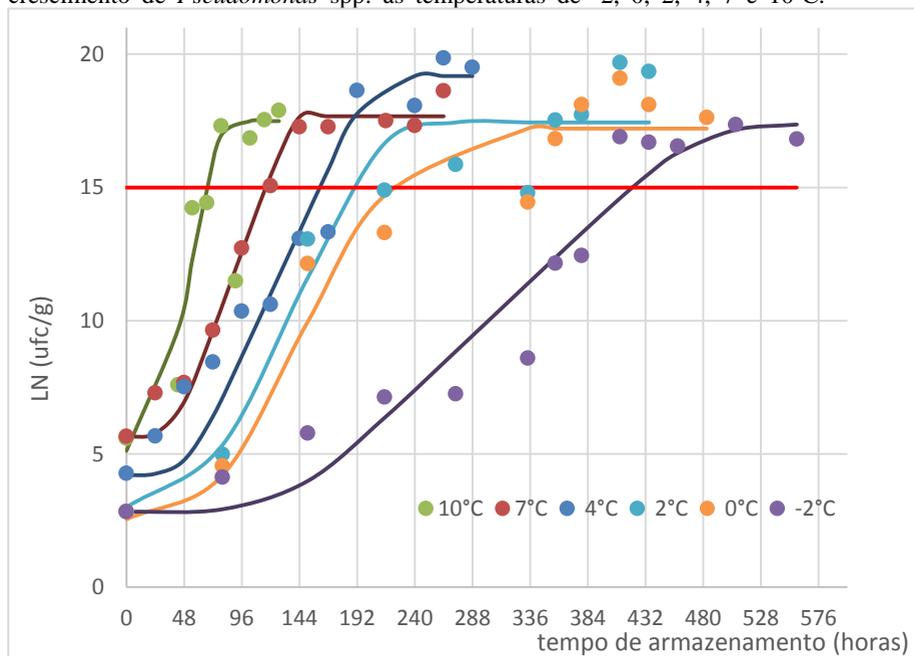


Figura 22. Ajuste do modelo de BAR aos dados experimentais das curvas de crescimento de *Pseudomonas* spp. às temperaturas de -2, 0, 2, 4, 7 e 10°C.



As Tabelas 5 e 6 apresentam os valores dos parâmetros de crescimento de *Pseudomonas* spp. em peito de peru *in natura* resfriado, obtidos pelo ajuste do modelo de GOM e BAR, respectivamente, aos dados experimentais. Seguida pelas Tabelas 7 e 8 que apresentam os índices estatísticos dos parâmetros de crescimento de *Pseudomonas* spp. em peito de peru *in natura* resfriado, obtidos pelo ajuste do modelo de GOM e BAR aos dados experimentais, respectivamente.

Tabela 6. Parâmetros de crescimento de *Pseudomonas* spp., em peito de peru *in natura* resfriado, y_m (população máxima atingida, $\ln N$), A (densidade populacional ($y_m - y_0$)), y_0 (população inicial – $\ln N_0$), velocidade específica máxima de crescimento (μ_{\max}) e duração da fase lag (λ), obtidos pelo ajuste do modelo de GOM aos dados experimentais às temperaturas -2, 0, 2, 4, 7 e 10°C

T (°C)	y_m ($\ln N$) (UFC/g)	A ($y_m - y_0$) (UFC/g)	y_0 ($\ln N_0$) (UFC/g)	μ_{\max} (h ⁻¹)	lag (λ) (h)
10	17,4	11,9	5,5	0,464	37,6
7	18,9	13,9	5,0	0,102	39,9
4	23,5	18,2	5,3	0,067	57,1
2	19,4	16,8	2,6	0,072	50,0
0	18,5	16,0	2,5	0,078	38,8
-2	20,1	16,2	3,9	0,044	212,2

Tabela 7. Parâmetros de crescimento de *Pseudomonas* spp. em peito de peru *in natura* resfriado, y_m (população máxima atingida, $\ln N$), A (densidade populacional ($y_m - y_0$)), y_0 (população inicial, $\ln N$), velocidade específica máxima de crescimento (μ_{\max}) e duração da fase lag (λ), obtidos pelo ajuste do modelo de BAR aos dados experimentais às temperaturas -2, 0, 2, 4, 7 e 10°C

T (°C)	y_m ($\ln N$) (UFC/g)	A ($y_m - y_0$) (UFC/g)	y_0 ($\ln N_0$) (UFC/g)	μ_{\max} (h ⁻¹)	lag (λ) (h)
10	17,5	12,3	5,1	0,221	22,4
7	17,7	12,6	5,6	0,124	39,9
4	19,2	15,0	4,2	0,098	50,5
2	17,3	14,3	3,0	0,090	55,1
0	17,2	14,7	2,5	0,080	61,87
-2	17,4	14,4	3,0	0,040	123,75

Observa-se nas Figuras 21 e 22, que os valores de y_0 que representam a contagem inicial ($\ln N$, UFC/g) que em geral foram

abaixo de 5 ln UFC/g (em torno de 2 a 4 log UFC/g), bem como os ajustes dos modelos primários obtiveram estes valores preditos. Estes valores são considerados normais para uma microbiota natural inicial, bem como estes valores são compatíveis com as referências de Taoukis, Koutsoumanis e Nychas (1999).

Também nas Figuras 21 e 22 observa-se que para as temperaturas de 10, 7 e 4 °C houve um rápido crescimento microbiológico, o que demonstra a influência da temperatura sobre a velocidade de desenvolvimento microbiano. Nestas temperaturas, também se observa uma fase lag de curta duração, atingindo final da vida útil em tempos inferiores às demais temperaturas. No geral, a elevação da temperatura de refrigeração, causa a elevação de μ_{\max} e diminuição de λ , o que leva à redução do tempo de vida útil do alimento.

Os valores obtidos para o parâmetro da fase lag (λ) observados nas Tabelas 6 e 7, são comparáveis com alguns valores da literatura. Por exemplo, Anjos (2013) obteve valores de 19 a 20 h para lag (h) em ensaio de *Pseudomonas* em caldo de carne inoculado, para BAR, sendo estes valores inferiores aos obtidos para os ensaios de peito de peru in natura com base na microbiota natural.

Da mesma forma, observando os valores dos parâmetros de crescimento: velocidade específica máxima de crescimento (μ_{\max}), percebe-se uma coerência dos valores obtidos nos modelos, porém uma melhor qualidade para os dados obtidos no modelo de BAR.

Uma observação nos valores experimentais e preditos para o crescimento de *Pseudomonas* spp. em peito de peru resfriado é o comportamento em que quanto maior a fase lag (λ), menor a velocidade máxima de crescimento (μ_{\max}). Os autores Gospavic et al. (2008) e o de Koutsoumanis et al. (2002), observaram este mesmo comportamento para os experimentos realizados para carne de aves.

A Tabela 8 apresenta os índices estatísticos dos ajustes de *Pseudomonas* spp. em peito de peru in natura resfriado, obtidos pelo ajuste do modelo de GOM aos dados experimentais às temperaturas -2, 0, 2, 4, 7 e 10°C e a Tabela 9 índices estatísticos dos ajustes crescimento de *Pseudomonas* spp. em peito de peru in natura resfriado, obtidos pelo ajuste do modelo de BAR aos dados experimentais às temperaturas -2, 0, 2, 4, 7 e 10°C.

Tabela 8. Índices estatísticos Parâmetros de crescimento de *Pseudomonas* spp. em peito de peru *in natura* resfriado, obtidos pelo ajuste do modelo de GOM aos dados experimentais às temperaturas -2, 0, 2, 4, 7 e 10°C.

T (°C)	R ²	RMSE	Bias	Exatidão
10	0,972	0,458	1,001	1,045
7	0,978	0,350	0,992	1,034
4	0,976	0,414	1,006	1,079
2	0,989	0,390	0,996	1,078
0	0,978	0,539	1,054	1,117
-2	0,968	0,484	1,019	1,132

Tabela 9. Índices estatísticos, obtidos pelo ajuste do modelo de BAR aos dados experimentais às temperaturas -2, 0, 2, 4, 7 e 10°C para *Pseudomonas* spp. em peito de peru *in natura* resfriado.

T (°C)	R ²	RMSE	Bias	Exatidão
10	0,942	1,359	1,005	1,076
7	0,982	0,680	0,973	1,046
4	0,927	1,573	0,919	1,140
2	0,921	1,842	1,013	1,090
0	0,960	1,690	0,961	1,121
-2	0,934	1,526	0,973	1,113

Observando os índices estatísticos, que indicam a qualidade dos modelos de ajuste (Tabela 8 e 9), GOM e BAR podem ser considerados satisfatórios para descrever as curvas de crescimento de PSE para as temperaturas estudadas. Observa-se valores dos índices estatísticos melhores para o modelo de GOM quando comparados aos valores dos

índices estatísticos obtidos para o modelo de BAR. Os valores encontrados de R^2 0,92 a 0,98, o que pode considerar bons ajustes para um modelo com base em microbiota natural. O modelo de ajuste de GOM apresentou bons ajustes aos dados, para os índices estatísticos, com R^2 em torno de 0,97 a 0,98, enquanto o modelo de ajuste de BAR apresentou valores um pouco menores, em torno de 0,92 a 0,96. Já, os valores de R^2 encontrados para o modelo de BAR foram diferentes para as diferentes condições de temperatura, sendo em torno de 0,96 para as temperaturas de 7 e 0 °C, em torno de 0,92 e 0,94 para as temperaturas de 4, 2 e -2 °C, 0,94. Gospavic et al. (2008) estudaram o crescimento de *Pseudomonas* spp. em carne de frango em diferentes temperaturas, encontrando valores de R^2 em torno de 0,98 para o modelo de Baranyi e Roberts. Os valores de Bias e Exatidão próximos a 1, também foram considerados bons, para o caso de experimentos de microbiota natural em peito de peru *in natura* resfriado.

No geral, modelando o crescimento de *Pseudomonas* spp. em peito de peru *in natura* sob condições de temperatura resfriada e em aerobiose, encontramos bons ajustes dos modelos de BAR e GOM aos dados de crescimento com valores similares.

No entanto, apesar dos valores dos índices estatísticos indicarem um melhor de ajuste ao modelo de GOM quando se avalia os valores obtidos para a velocidade máxima de crescimento (μ_{\max}) e fase lag (λ), observa-se uma melhor qualidade e correlação biológica nos valores obtidos pelo modelo de BAR.

Para dar continuidade à análise da cinética de crescimento, os modelos de BAR e GOM serão analisados com base nos modelos secundários, para uma tomada de decisão de qual modelo melhor descreve o comportamento do crescimento de PSE em peito de peru *in natura* resfriado.

4.5 Modelos Secundários

Com os valores obtidos pelo modelos de ajuste de BAR e GOM para PSE, para os parâmetros primários de crescimento μ_{\max} e lag, os modelos secundários foram calculados com a ferramenta da Microsoft Excell. Foram todos calculados para as 5 equações descritas no capítulo 2, porém através de análise dos dados, foram escolhidos os 2 melhores modelos para cada parâmetro estudado, para cada modelo primário (GOM e BAR) estudado.

Apresenta-se na sequência a Tabela 10, contemplando valores de μ_{\max} e lag, em função da temperatura e suas respectivas equações obtidas nos modelos secundários, com os valores de R^2 , calculados para cada modelo primário estudado (GOM e BAR)

Tabela 10. Equações dos modelos secundários que descrevem a influência da temperatura sobre os parâmetros de crescimento, μ_{\max} (h^{-1}) e lag (λ) (h), obtidos através dos modelos GOM e BAR

Parâmetro	Equação	R^2	Modelo Primário
μ_{\max} (h^{-1})	$\ln \mu_{\max} = -9051,3 (1/T) + 30,4$	0,9225	BAR
	$\mu_{\max} = 0,0636e^{0,1118T}$	0,9223	
	$\ln \mu_{\max} = -12081(1/T) + 41,358$	0,7343	GOM
	$\mu_{\max} = 0,055e^{0,1584T}$	0,7424	
lag (λ) (h)	$\lambda = 84,08e^{-0,126T}$	0,9765	BAR
	$\ln \lambda = 9666,7(1/T) - 30,978$	0,9758	
	$\lambda = 68,723e^{-0,116T}$	0,5232	GOM
	$\ln \lambda = 8973,7(1/T) - 28,637$	0,5334	

Os valores de cada modelo secundário estão também apresentados nas Figura 23 e 24, para uma melhor visualização da qualidade do ajuste de cada Modelo Primário e Secundário.

Figura 23. Influência da temperatura sobre $\mu_{\text{máx}}$ expressa através dos modelos secundários, Arrhenius (BAR) (A) e Potência (BAR) (B), Arrhenius (GOM) (C) e Potência (GOM) (D).

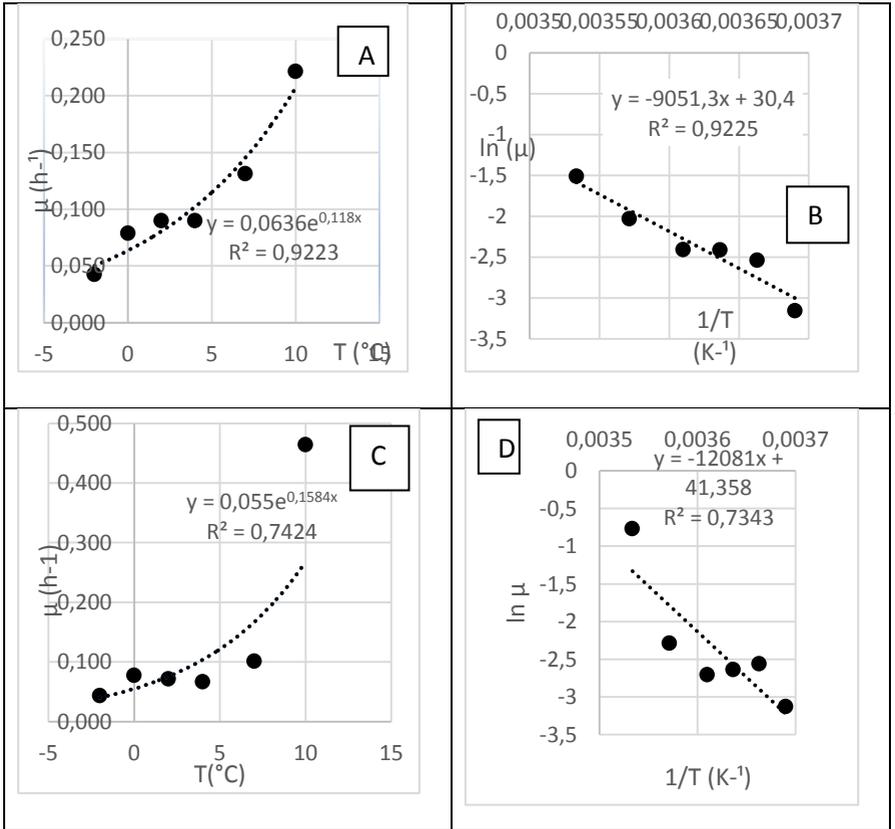
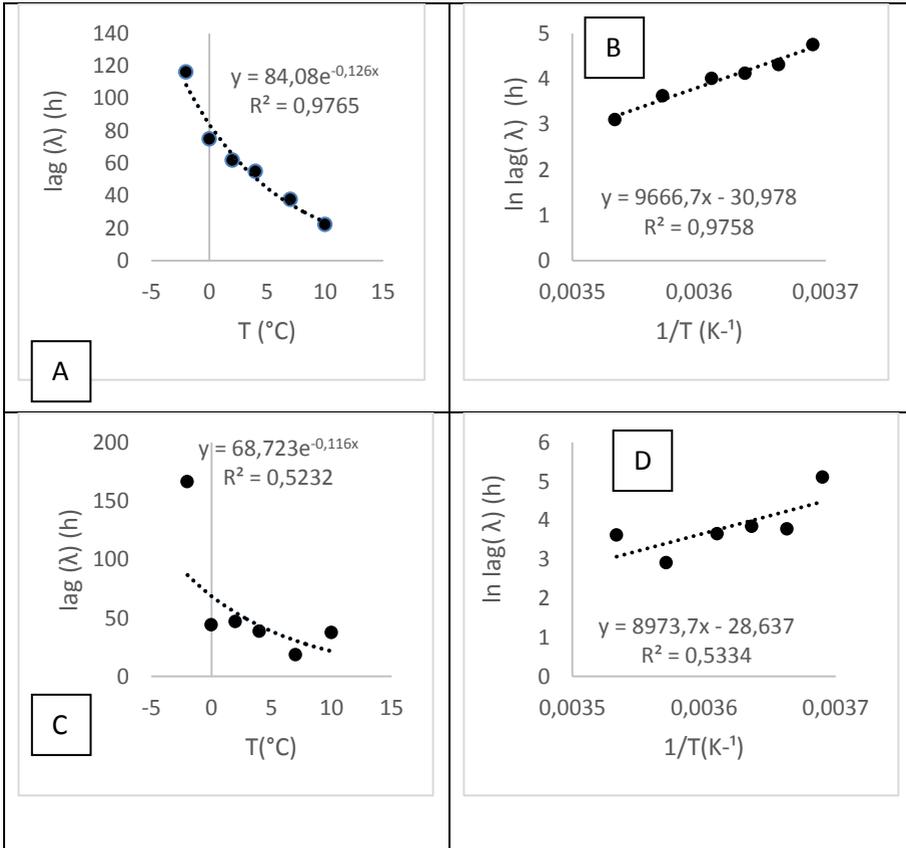


Figura 24. Influência da temperatura sobre o parâmetro de crescimento λ (h) expressa através dos modelos secundários, Arrhenius (BAR) (A) e Potência (BAR) (B), Arrhenius (GOM) (C) e Potência (GOM) (D).



Os modelos secundários para $\mu_{\max}(h^{-1})$ e λ (h), permitem visualizar qual modelo de ajuste (primário) melhor descreve a comportamento de PSE em peito de peru resfriado in natura nas condições aeróbias e isotérmicas, nas temperaturas testadas.

Analisando os valores de R^2 dos modelos secundários, o modelo de BAR pode ser considerado mais adequado para a predição dos valores de tempo de vida útil. A capacidade preditiva do modelo de BAR foi melhor quando a abordagem geral dos modelos secundários foi adotada.

Desta forma, apresenta-se na Tabela 11 os valores observados de TVU e valores preditos, considerando apenas modelo de BAR para a predição.

Tabela 11. Valores observado (sensorial) de TVU e valores preditos (PSE, modelo de BAR – 15 ln UFC/g).

Temperatura (°C)	TVU Observada Sensorial (h)	TVU Predita PSE, modelo de BAR(h) (15ln UFC/g)
10	67	67,5
7	120	116,5
4	144	161,0
2	274	189,5
0	334	219,5
-2	507	421,0

Os valores observados e preditos neste trabalho, podem ser comparados com os valores de Bruckner (2010), cujo realizou a pesquisa em peito de frango e lombo suíno, ambos nas condições de resfriado e microbiota natural.

BRUCKNER (2010) publicou os seguintes dados para as temperaturas de 2, 4, 7 e 10 °C, para peito de frango resfriado, o TVU observado sensorial e TVU predito microbiológico (modelo GOM). Em geral, os valores de TVU microbiológicos foram maiores que o valor de R+TVU observado na análise sensorial. O que difere deste trabalho, porém ressalta-se que as análises sensorial e microbiológica do trabalho Bruckner foram realizadas de outra metodologia.

Temperatura (°C)	TVU Sensorial (h)	TVU predito (GOM) (h) (7,5log UFC/g)
10	42,1	41,5
7	56,1	63,9
4	116,4	98,6
2	151,5	126,4

Fonte: BRUCKNER, 2010

Os valores são uma referência, e pode-se dizer que temos alguma correlação e linearidade nos dados. Porém não podemos comparar diretamente, pois peito de frango e peito de peru são microbiota similares, mas não idênticas, os trabalhos não partiram do mesmo ponto zero (yo), bem como os ensaios foram conduzidos com metodologias diferentes.

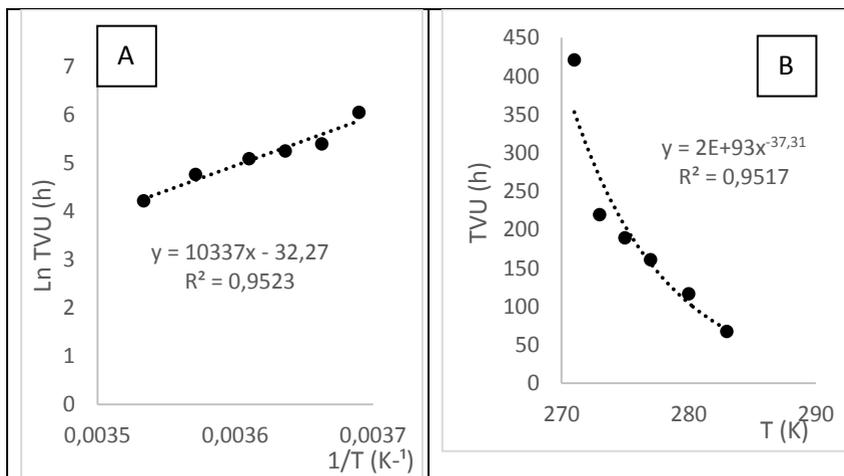
Da mesma forma, encontramos valores para peito de frango na condição resfriada, no trabalho publicado de Taoukis, Koutsomanis, Nychas (1999), cujo os valores nos fornecem uma boa base de referência para comparação com os valores obtidos no presente estudo.

Temperatura (°C)	TVU predito (BAR) (h) (7log UFC/g)
10	44 - 40
7	60 - 55
3	103 - 108
0	174 - 174

Fonte: TAOUSKIS, et al., 1999

Na sequência apresenta-se figura 25 que descreve Influência da temperatura sobre o modelo de predição TVU (h) expressa através dos modelos secundários, Arrhenius (A) e Potência (B).

Figura 25. Influência da temperatura sobre o modelo de predição TVU (h) expressa através dos modelos secundários, Arrhenius (A) e Potência (B).



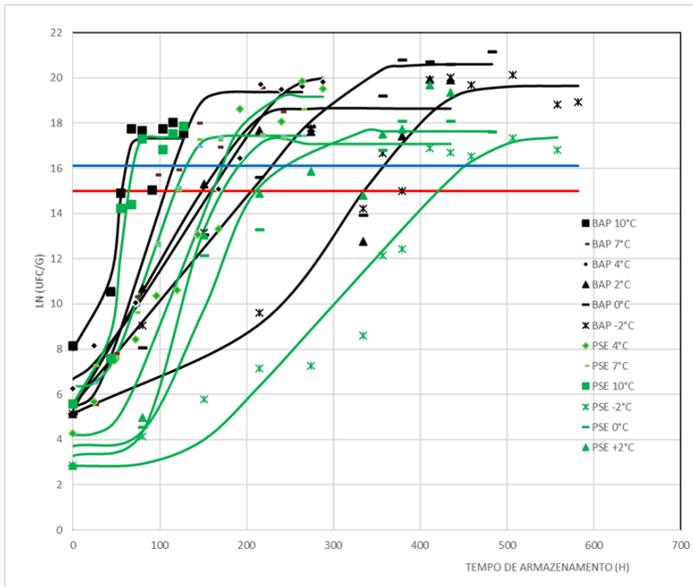
Observa-se na Tabela 11 que os valores preditos em geral, foram menores que os valores observados, sendo possível afirmar que o modelo de predição de TVU é mais conservador que os valores observados através da correlação da avaliação sensorial, demonstrando ainda assim um limite de segurança e cautela ao usar o modelo.

Ajustando-se o modelo secundário de Arrhenius e Potência aos dados experimentais, pode-se também visualizar através da curva obtida e dos valores de R^2 que o modelo de predição para TVU é de boa qualidade e reprodutibilidade das condições reais. Considerando, o valor do R^2 de 0,95 e a facilidade de aplicação da equação de Arrhenius indica-se este como o modelo secundário escolhido para a descrição de TVU (h).

Também para uma confirmação da escolha do modelo de BAR, uma nova análise gráfica foi realizada para uma nova visualização dos valores de BAP e PSE (Figura 20, modelo de GOM), e assim, revalidar a proposta deste trabalho em realizara escolha de PSE como SSO e o valor de 6,5 log UFC/g (15 ln UFC/g).

A Figura 26 apresenta os valores observados de BAP e PSE para o peito de peru *in natura* resfriado nas diferentes condições de temperatura e as curvas do modelo de ajuste pelo Modelo de BAR.

Figura 26. Curvas de Crescimento de BAP (cor verde) e PSE (cor preta) - Dados Observados & Curvas do modelo de Ajuste BAR.



Da mesma forma que no item 4.3 onde o modelo de GOM foi utilizado para estudar e comparar o comportamento das BAP X PSE, a cada ciclo de temperatura, nesta figura observamos a aplicação do modelo de BAR. Os valores observados e preditos pelo modelo indicam o comportamento das BAP sempre com valores superiores aos observados e preditos para PSE. Bem como esta figura, confirma-se a escolha do modelo de BAR para descrever o crescimento de PSE e BAP em peito de peru *in natura* resfriado. Também se valida a escolha da PSE como SSO e do valor de $15 \ln(6,5 \log)$ como valor de referência para tempo de vida útil, nesta condições estudadas e faixa de temperatura de -2°C a $+10^{\circ}\text{C}$.

5 CONCLUSÃO

As características sensoriais (aspecto, odor e cor) e físico-química (pH) do peito de peru *in natura* resfriado foram observadas e registradas e comparadas aos dados da literatura, servindo de base para definição de vida útil do alimento.

As curvas de crescimento de cada um dos micro-organismos foram estudadas, observadas e avaliadas em função da temperatura e os dados foram obtidos pelo ajuste do modelo de Gompertz modificado e Baranyi&Roberts.

O tempo de vida útil (TVU) sensorial do peito de peru resfriado *in natura* foi observado e correlacionado com os valores observados das contagens microbiológicas e os dados da literatura, sendo definida a bactéria *Pseudomonas* spp. como micro-organismo de deterioração específico (SSO – *specific spoilage organism*) para o este alimento. O valor 6,5 logs (15 Ln) de *Pseudomonas* spp. foi definido como o valor determinante do final da vida útil do peito de peru *in natura* resfriado.

Os dois modelos primários apresentaram bons ajustes aos dados para *Pseudomonas* spp. No entanto, o modelo de BAR apresentou melhor ajuste, quando ajustados aos modelos secundários, sendo escolhido para este trabalho como uma referência para futuras aplicações. Para os modelos secundários, os modelos de Arrhenius e Potencia obtiveram os melhores ajustes para a aplicação estudada. Considerando, o valor do R² de 0,95 e a facilidade de aplicação da equação de Arrhenius indica-se este como o modelo secundário escolhido para a descrição de TVU (h), bem como para a estimativa dos parâmetros de velocidade específica máxima de crescimento (μ_{\max}) e duração da fase lag (λ).

Os resultados permitem afirmar que a redução da temperatura de refrigeração, implica diretamente no aumento da fase lag λ (h), visto a redução da velocidade máxima $\mu_{\max}(\text{h}^{-1})$, o que permitiu visualizar o aumento da vida útil do alimento na temperatura de -2 °C (cerca de 421h = 17,5 dias), e uma condição de menor tempo de vida útil a 10 °C (67 h = 2,8 dias).

Esta informação do tempo de vida útil do alimento na condição de apenas *in natura* e resfriado, é importante para a indústria na tomada decisão da utilização da matéria-prima quanto ao tipo de processamento e produto final.

Para a BRF S/A, em específico até então a duração de vida útil utilizada para a matéria-prima peito de peru *in natura* resfriada estava

definida como 5 dias na faixa 0 a 4 °C, o que podemos afirmar que para 0 e para 4°C na condição isotérmica este valor de TVU é diferente, podendo ser maior se mantido na condição efetivamente isotérmica.

Como continuidade e para próximos trabalhos sugere-se aplicação deste tema para condições não-isotérmicas.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCANTARA, Marcela, et al., Principais Micro-organismos envolvidos na deterioração das características sensoriais de derivados cárneos.

ANJOS, Leticia Dias dos. Modelos de crescimento de psicotróficos em diferentes temperaturas e pH. Lavras – MG: UFLA, 2013. 126p.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução - RDC no 12, de 2 de janeiro de 2001. Disponível em: <www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm>. Acesso em 18 de julho de 2016.

ARROYO-LOPEZ, F.N.; BAUTISTA-GALLEGO, J.; GARCIA-GIMENO, R.M.; GARRIDO-FERNANDEZ, A. Predictive Microbiology: a valuable tool in food Safety. In: Practical Food Safety: Contemporary Issues and Future Directions.

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

BARANYI, J.; ROBERTS, T.A.. (2004). ComBase: a common database on microbial responses to food environments. *Journal of Food Protection*, 67(9):1967–1971.

BARANYI, J.; ROBERTS, T.A.. (1966). The spoilage microbiota of eviscerated chickens stored at different temperatures. *Journal of Food Technology*, 1(2):113–119.

BORCH et al., 1996. Bacterial deterioration of meat and meat products. In: *International Journal of Food Microbiology*, v.33 (1996), 103-120 p

BRUL, S., VAN GERWEN, S., ZWIETERING, M.H., Modeling microorganisms in food, WP.

BRUCKNER, Stefanie, et al. A predictive shelf life model as a tool for the improvement of quality management in pork and poultry chains - Food Control, Volume 29, Issue 2, February 2013, Pages 451–460, Predictive Modelling of Food Quality and Safety.

CAMARGO, Ana Paula Rosa da Silva. Modelagem do crescimento de bactérias ácido lácticas em cultura pura e mista sob condições isotérmicas e não isotérmicas de cultivo. Dissertação (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2015. 194 f.

COSTA, Andyara Lena dos Santos. A Microbiologia dos Alimentos e a Importância dos Micro-organismos Úteis, Deteriorantes e Patogênicos. Microbiologia e Higiene alimentar. Universidade Anhembi Morumbi. 2011.

DALCANTON, F. Modelagem matemática do crescimento de bactérias ácido lácticas em condições isotérmicas e não isotérmicas. Tese de mestrado. Florianópolis. Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. 2010.

DANTY, R.H., MACKEY, B.M.. The relationship between the phenotypic properties of bacteria from chill-stored meat and spoilage processes. Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement 1992. 73. 103s-114s.

ESKIN, R.. Food Shelf Life Stability – Chemical, Biochemical Changes. CRC 2001, P.43, 59, 73,92

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M.. Microbiologia dos Alimentos. São Paulo: Editora Atheneu. 183 p., 2005.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. Micro-organismos Patogênicos de Importância em Alimentos. In: Microbiologia dos Alimentos. São Paulo: Atheneu,1996, cap.4, p. 33 –82, 182p.

FORSYTHE, S. J. The Microbiology of Safe Food. WILEYBLACKWELL 2nd edition. 2010. p.80-85, 106-109

FU, B. e LABUZA, T. P. Shelf-life prediction: theory and application. FoodControl, 4, 125-133, 1993.

GILL, C.O., MCGINNIS, J. C., BRYANT, J. Microbial contamination of meat during the skinning of beef carcass hindquarters at three slaughtering plants. *International Journal of Food Microbiology*, 1998.

GIOMBELLI, Audecir, HAMMERSCHMITT, Dandara, CERUTTI, Marisete, et al. High Pressure spray with water shows similar efficiency to trimming in controlling microorganisms on poultry carcasses. *Poultry Science*, 2015.

GOSPAVIC, Radovan, KREYENSCHMIDT, Judith, BRUCKNER, Stefanie, POPOV, Viktor, HAQUE, Nasimul. Mathematical modeling for predicting the growth of *Pseudomonas* spp. in poultry under variable temperature conditions. *International Journal of Food Microbiology* 127 (2008) p.290-297.

GRAM, Lone, et al. Food Spoilage – interactions between food spoilage bacteria. ELSEVIER. *International Journal of Food Microbiology* 78 (2002) 79-97.

KONDO, Henry Uso de carne ácida de peito de peru em embutido: impacto da formulação nas características tecnológicas do produto. Londrina: [s.n.], 2014.

LAWRIE R.A. *Ciência da Carne* 6ed Artmed editora. 2005. p.171-183.

LONGHI, D.A. (2012). Avaliação da capacidade preditiva de diferentes modelos matemáticos para o crescimento microbiano em condições não isotérmicas. Dissertação (mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

LONGHI, D.A.; DALCANTON, F.; ARAGÃO, G.M.F.; BRUNO AUGUSTO MATTAR CARCIOFI, B.A.M.; LAURINDO, J.B. Assessing the prediction ability of different mathematical models for the growth of *Lactobacillus plantarum* under non-isothermal conditions. *Journal of Theoretical Biology*, v.335, p.88-96, 2013.

MARTINS, Wiaslan F.. PREDIÇÃO DO CRESCIMENTO DE *Weissella viridescens* SOB CONDIÇÕES NÃO ISOTÉRMICAS.

Dissertação (mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2015.

McDONALD, K.; SUN, D.-W. Predictive food microbiology for the meat industry: a review. *International Journal of food microbiology*, n.52, p.1-27, 1999.

MENEZES, Natielle M. C.. Efeito da adição de óleo essencial de orégano sobre a vida útil de presunto fatiado embalado a vácuo: modelagem em condições isotérmicas e não isotérmicas. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016.

NAKASHIMA, S.M.K.; ANDRE, D.S.; FRANCO, B.D.G.M. Revisão: Aspectos Básicos da Microbiologia Preditiva. *Brazilian Journal of Food Technology*, Campinas, Sao Paulo, v. 3, p. 41-51, 2000.

NEUMEYER, K., ROSS, T. Ross, McMEEKIN, T. . Development of *Pseudomonas* Predictor. *THE AUSTRALIAN JOURNAL OF DAIRY TECHNOLOGY*. VOL 52 – OCTOBER 1997.

NEUMEYER, K., ROSS T., McMEEKIN, T.A. 1997. Development of a predictive model to describe the effects of temperature and water activity on the growth of spoilage pseudomonads. *International Journal of Food Microbiology* 38, 45–54.

NYCHAS, G.J.E.; SKANDAMIS, P.N.; TASSOU, C.C.; KOUTSOUNAMIS, K.P. 2008. Meat spoilage during distribution. *Meat Science* 78, 77-89.

PEXARA, E.S., METAXOPOULOS, J., DROSINOS, E.H. 2002. Evaluation of shelf life of cured, cooked, sliced turkey fillets and cooked pork sausages - piroski - stored under vacuum and modified atmospheres at +4 and +10 °C. *Meat Science* 62, 33-43.

RAMOS, E. M. . Avaliação da Qualidade de Carnes – Fundamentos e Metodologias. UFV, 2012,p.41, 69-82

SARMENTO, C.M.P. Modelagem do Crescimento Microbiano e Avaliação Sensorial no estudo da Vida de Prateleira de mortadela e linguiça defumada em armazenamento isotérmico e não isotérmico.

Dissertação (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2006. 145 f.

SILVA, Neusely da., JUNQUEIRA, Valéria C.A., et all. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água. 4ª edição, 2010, editora Livraria Varela.

SILVA, A. R.. Extensão da vida de prateleira de carne bovina pela utilização de sanitizantes físicos e químicos. 119f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas 1995.

SLONGO, Adriana Paula. Uso da alta pressão hidrostática em presunto fatiado: avaliação físico-química e sensorial e modelagem do crescimento microbiano. Dissertação (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2008. 163 f.

TAOUKIS, P.S., KOUTSOUMANIS, K., NYCHAS, G. J. E.. Use of time-temperature integrators and predictive modelling for shelf life control of chilled fish under dynamic storage conditions. *International Journal of food microbiology*, n.53, p.21-31, 1999.