



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA E DE ALIMENTOS
CURSO ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Giulia Cavalheiro de Campos

Estudo da cinética de crescimento de Enterobactérias e Bactérias Mesófilas naturalmente presentes em Carne Mecanicamente Separada de Frango em condições de refrigeração

Florianópolis - SC

2024

Giulia Cavalheiro de Campos

Estudo da cinética de crescimento de Enterobactérias e Bactérias Mesófilas naturalmente presentes em Carne Mecanicamente Separada de Frango em condições de refrigeração

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Engenharia de Alimentos do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito total para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Augusto Mattar Carciofi
Coorientador(a): Ma. Ana Guimarães Massia

Florianópolis - SC

2024

Este trabalho dedico aos meus pais,
que tanto se esforçaram para me proporcionar um futuro melhor.
Ao meu pai, que com suas mãos habilidosas e muita dedicação,
passou dias e noites no salão, transformando cabelos e vidas,
e à minha mãe, que com sabedoria e firmeza, administrou cada
detalhe do nosso lar, garantindo que eu pudesse trilhar
meu caminho na direção dos meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Debora e Rinaldo, que me ensinaram desde sempre que o amor é a maior riqueza que temos e que a educação é a nossa maior herança. Obrigada por acreditarem em mim mesmo quando eu duvidei, por sempre estarem ao meu lado em cada etapa da minha vida sempre me incentivando e mostrando que eu posso ser quem eu quiser. Por isso esse trabalho também é uma conquista de vocês.

Às minhas irmãs, Giovana e Gabriela, por serem o gás da minha vida. Sem vocês eu nada seria.

Ao Prof. Dr. Bruno Augusto Mattar Carciofi pela orientação, pela oportunidade e confiança em mim e no meu trabalho desde as aulas de termodinâmica.

À minha coorientadora, Me. Ana Massia, por toda sua paciência, atenção, dezenas de reuniões e mensagens, e principalmente pela amizade que desenvolvemos. Você me ensinou desde o primeiro dia como sua I.C. que o preciosismo e leveza andam juntos.

Às Dra. Denise Adamoli Laroque e Dra. Raquel da Silva Simão, por todo auxílio no laboratório com a cinética e pelos ensinamentos.

Às minhas amigas, Izabella, Karolina e Letícia, pela amizade e noites de sábado rindo e descontraído.

À minha amiga, Betiana, que com seu senso de humor e conversas me trouxe sempre grandes ensinamentos e uma amizade maravilhosa.

Às colegas e amigas de faculdade, Ana, Pamela, Priscila e Thayse por sempre deixarem o ambiente mais leve e descontraído.

Às bolsistas de Iniciação científica, Karen e Laila, pelo auxílio na esterilização de materiais para as análises e pela ajuda na homogeneização e incubação da CMS.

À UFSC e aos professores pela qualidade de ensino.

À Deus, por ser minha âncora.

RESUMO

A carne mecanicamente separada (CMS) de frango é amplamente utilizada na produção de alimentos processados devido ao seu baixo custo e propriedades emulsificantes. Porém, sua composição a torna suscetível à proliferação de microrganismos deteriorantes e patogênicos, como as enterobactérias e bactérias mesófilas, principalmente quando ocorrem falhas no controle de temperatura durante a cadeia do frio. Modelos matemáticos são amplamente utilizados para descrever e prever o crescimento microbiano, ajudando a controlar a qualidade dos produtos e prolongar sua vida útil. Este estudo investigou o efeito de diferentes condições de armazenamento isotérmico (0, 4, 7 e 10 °C) no crescimento de enterobactérias e bactérias mesófilas em CMS de frango. Foram utilizados dois lotes diferentes de amostras, cujos parâmetros físico-químicos (gordura, proteína, minerais e água) corresponderam aos padrões estabelecidos pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ). Os parâmetros primários de crescimento foram obtidos através do ajuste do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais em condições isotérmicas de crescimento. A relação desses parâmetros com a temperatura foi descrita utilizando os modelos matemáticos secundários da Raiz Quadrada e da potência para a velocidade específica máxima de crescimento (μ) e fase lag (λ), respectivamente. O valor de μ para as enterobactérias aumentou 7,6 vezes de 0°C a 10°C no Lote 1, enquanto para as bactérias mesófilas, o aumento foi de 4,4 vezes nas mesmas temperaturas. As variações na fase lag estão diretamente relacionadas ao estado fisiológico inicial h_0 de ambas as bactérias, sendo que em temperaturas mais baixas, a fase lag é maior, porém, diminui à medida que a temperatura aumenta, o que impactou para que o parâmetro h_0 não permanecesse constante nas condições experimentais avaliadas, variando significativamente para cada bactéria analisada. A análise estatística confirmou a boa capacidade preditiva do modelo de Baranyi e Roberts, com valores de R^2 e RMSE próximos de 1. Os resultados obtidos indicam que é necessário um controle rigoroso da temperatura para reduzir o crescimento microbiano em CMS de frango. Temperaturas acima de 7 °C favorecem o desenvolvimento de microrganismos, o que enfatiza a necessidade de medidas adequadas de armazenamento e transporte para garantir a segurança e a qualidade do produto. Este estudo reforça a necessidade do uso de modelos matemáticos para avaliação de risco e desenvolvimento de estratégias para melhorar a vida útil de produtos cárneos prontos para consumo.

Palavras-chave: Carne Mecanicamente Separada; Segurança de alimentos; vida útil; alimentos prontos para o consumo; microbiologia preditiva; modelagem matemática.

ABSTRACT

Mechanically separated chicken meat (MSCM) is widely used in the production of processed foods due to its low cost and emulsifying properties. However, its composition makes it susceptible to the proliferation of spoilage and pathogenic microorganisms, such as enterobacteria and mesophilic bacteria, especially when temperature control failures occur during the cold chain. Mathematical models are widely used to describe and predict microbial growth, helping to control product quality and extend its shelf life. This study investigated the effect of different isothermal storage conditions (0, 4, 7, and 10 °C) on the growth of enterobacteria and mesophilic bacteria in chicken MSM. Two different batches of samples were used, whose physicochemical parameters (fat, protein, minerals, and water) corresponded to the standards established by the Technical Regulation for Identity and Quality (RTIQ). The primary growth parameters were obtained by fitting the Baranyi and Roberts model to the experimental data under isothermal growth conditions. The relationship of these parameters with temperature was described using the secondary mathematical models of the Square Root and Power for the maximum specific growth rate (μ) and lag phase (λ), respectively. The value of μ for enterobacteria increased 7.6 times from 0 °C to 10 °C in Batch 1, while for mesophilic bacteria, the increase was 4.4 times at the same temperatures. The variations in the lag phase are directly related to the initial physiological state h_0 of both bacteria, with the lag phase being longer at lower temperatures but decreasing as the temperature increases. This impacts the h_0 parameter, which does not remain constant under the experimental conditions evaluated, varying significantly for each bacterium analyzed. Statistical analysis confirmed the good predictive capacity of the Baranyi and Roberts model, with R^2 and RMSE values close to 1. The results obtained indicate that strict temperature control is necessary to reduce microbial growth in chicken MSM. Temperatures above 7 °C favor the development of microorganisms, which emphasizes the need for adequate storage and transportation measures to ensure product safety and quality. This study reinforces the need for the use of mathematical models for risk assessment and the development of strategies to improve the shelf life of ready-to-eat meat products.

Keywords: Mechanically Separated Meat, Food Safety; shelf life; ready-to-eat foods; predictive microbiology; mathematical modeling.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Processo de obtenção de CMS de aves	17
Figura 2 - Fases do crescimento microbiano	23
Figura 3- Arranjo original da CMS dentro da embalagem.....	29
Figura 3- Arranjo original da CMS dentro da embalagem.....	29
Figura 4 -(a) Homogeneização, (b) acondicionamento das amostras de CMS.	30
Figura 5 - Amostras de CMS distribuídas em B.O.D	31
Figura 6 - Etapa de amostragem para enumeração de bactérias mesófilas e enterobactérias	32
Figura 7 - Cinéticas de crescimento de Enterobactérias em CMS nas temperaturas de 0 (a), 4 (b), 7 (c) e 10 (d) °C, sendo Lote 1 (verde) e Lote 2 (laranja). Os pontos representam os dados experimentais, as linhas representam o ajuste do modelo Baranyi e Roberts e as barras são o desvio padrão.	35
Figura 8 - Cinéticas de crescimento de bactérias mesófilas em CMS nas temperaturas de 0 (a), 4 (b), 7 (c) e 10 (d) °C, sendo lote 1 (verde) e lote 2 (laranja). os pontos representam os dados experimentais, as linhas representam o ajuste do modelo Baranyi e Roberts e as barras são o desvio padrão.	39
Figura 9 - Ajuste do Modelo da Raiz Quadrada para o parâmetro μ . Os pontos representam os dados experimentais para o Lote 1 enterobactérias (azul), Lote 2 enterobactérias (vermelho), Lote 1 bactérias mesófilas (verde) e Lote 2 bactérias mesófilas (laranja), respectivamente e as linhas os ajustes do modelo.	43
Figura 10 - Modelo secundário da Potência para o parâmetro λ . Os pontos representam os dados experimentais para o Lote 1 enterobactérias (azul), Lote 2 enterobactérias (vermelho), Lote 1 bactérias mesófilas (verde) e Lote 2 bactérias mesófilas (laranja), respectivamente e as linhas os ajustes do modelo.	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Propriedades físico-químicas da CMS.....	16
Tabela 2 - Permissão e limites para utilização de CMS em produtos cárneos	18
Tabela 3 - Características microbiológicas da CMS	20
Tabela 4 - Análise físico-química da CMS de Frango.....	34
Tabela 5 - Parâmetros de crescimento primário de Enterobactérias para o lote 1: concentração inicial e final, tempo de fase lag (λ), estado fisiológico inicial das células (h_0) e velocidade específica máxima de crescimento (μ) obtidos pelo ajuste do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais para as temperaturas de 0, 4, 7 e 10 °C.	36
Tabela 6 - Parâmetros de crescimento primário de Enterobactérias para o lote 2: concentração inicial e final, tempo de fase lag (λ), estado fisiológico inicial das células (h_0) e velocidade específica máxima de crescimento (μ) obtidos pelo ajuste do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais para as temperaturas de 0, 4, 7 e 10 °C.	36
Tabela 7 – Valores dos índices estatísticos para o ajuste do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais para as temperaturas de 0, 4, 7 e 10 °C na análise de Enterobactérias do Lote 1.	36
Tabela 8 - Valores dos índices estatísticos para o ajuste do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais para as temperaturas de 0, 4, 7 E 10 °C na análise de Enterobactérias do Lote 2.	37
Tabela 9 - Parâmetros de crescimento primário de bactérias mesófilas para o lote 1: concentração inicial e final, tempo de fase lag (λ), estado fisiológico inicial das células (h_0) e velocidade específica máxima de crescimento (μ) obtidos pelo ajuste do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais para as temperaturas de 0, 4, 7 e 10 °C.	40
Tabela 10 - Parâmetros de crescimento primário de bactérias mesófilas para o lote 2: concentração inicial e final, tempo de fase lag (λ), estado fisiológico inicial das células (h_0) e velocidade específica máxima de crescimento (μ) obtidos pelo ajuste do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais para as temperaturas de 0, 4, 7 e 10 °C.	40

Tabela 11 - Valores dos índices estatísticos para o ajuste do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais para as temperaturas de 0, 4, 7 e 10 °C na análise de bactérias mesófilas para o Lote 1.	40
Tabela 12 - Valores dos índices estatísticos para o ajuste do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais para as temperaturas de 0, 4, 7 e 10 °C na análise de bactérias mesófilas para o Lote 2.	41
Tabela 13 - Modelo secundário da Raiz Quadrada para o parâmetro μ para cada condição dos lotes 1 e 2 de enterobactérias e bactérias mesófilas.	44
Tabela 14 - Modelo secundário da potência para o parâmetro λ para cada condição dos Lotes 1 e 2 de enterobactérias e bactérias mesófilas.	45

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	13
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1 CARNE MECANICAMENTE SEPARADA	14
3.1.1 Obtenção e separação da CMS	15
3.1.2 Utilização da CMS	18
3.2 MICRO-ORGANISMOS DETERIORANTES E PATOGÊNICOS	19
3.2.1 Aeróbios Mesófilos	20
3.2.2 Enterobactérias	21
3.3 CADEIA DO FRIO	21
3.4 MICROBIOLOGIA PREDITIVA.....	22
3.4.1 Modelos Primários	24
3.4.2 Modelos Secundários	26
3.4.3 Validação	27
4 MATERIAIS E MÉTODOS	29
4.1 AMOSTRAS	29
4.5 AMOSTRAGEM.....	31
4.5.1 Frequência de amostragem	31
4.5.2 Enumeração dos microrganismos	31
4.6 MODELAGEM PRIMÁRIA.....	32
4.7 MODELAGEM SECUNDÁRIA.....	33
4.8 VALIDAÇÃO DO MODELO POR ANÁLISE ESTATÍSTICA	33
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5.1 CARACTERIZAÇÃO DA CMS.....	34
5.2 CINÉTICAS DE CRESCIMENTO DE ENTEROBACTERIAS E BACTÉRIAS MESÓFILAS EM CMS.....	35
5.2.1 Cinética de crescimento de Enterobactérias em CMS em temperaturas de 0 à 10 °C.	35

5.2.2	Cinética de crescimento de Mesófilos em CMS em temperaturas de 0 a 10 °C	39
5.3	INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NOS PARÂMETROS DE CRESCIMENTO	..43
6	CONCLUSÃO	47
	REFERÊNCIAS	

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é líder na exportação mundial de carne de frango desde 2004 e detém, hoje, 35% desse mercado. Cerca de 67,8% da carne de frango produzida no Brasil destina-se ao consumo interno, enquanto aproximadamente 32% são direcionados à exportação, conforme dados de 2022. No mercado doméstico, uma parcela relevante dessa produção é empregada na fabricação de produtos industrializados, como mortadela, salsicha e presunto. A elevada demanda interna por alimentos processados reforça a importância desse segmento para o aproveitamento da produção nacional (BRASIL, 2022).

A Carne Mecanicamente Separada (CMS) é utilizada desde 1950 e, ao longo do tempo, desempenha papel fundamental na produção de variados produtos cárneos processados, já que atua como emulsificante natural, modificando a textura e sabor com um ótimo custo-benefício (TRINDADE et al., 2004). Embora possua propriedades sensoriais atrativas para ser usada em diversos produtos cárneos embutidos e seja uma opção mais rentável para a indústria quando comparada com outros ingredientes, sua composição nutricional e heterogeneidade interferem na sua estabilidade durante a vida útil (MONÇÃO et al., 2020). Dessa forma, faz-se necessária a preocupação em oferecer alimentos com qualidade e seguros à população.

A proliferação de microrganismos deteriorantes e patogênicos é uma das principais causas que reduzem o tempo de vida útil de produtos alimentícios, e esta pode ser causada por alterações no pH, temperatura e atividade de água (VAN IMPE et al., 1992). Sendo assim, qualquer falha no controle da temperatura ao longo da cadeia do frio e das Boas Práticas de Fabricação (BPF) é capaz de acelerar o crescimento de microrganismos indesejáveis, e acarretar em perdas monetárias para as indústrias (MERCIER et al., 2017).

Para haver um maior controle na segurança dos alimentos, as análises microbiológicas tradicionais continuam sendo usadas, porém estas apresentam certa demora para obter um resultado preciso no decorrer da vida de prateleira dos produtos. Nesse contexto, apresenta-se a relevância para os modelos matemáticos que tem a capacidade de descrever o crescimento de microrganismos e assim possibilitar a previsão de crescimento e risco, auxiliando de forma ágil e segura na garantia da segurança do alimento (RANJBARAN et al., 2021).

2 OBJETIVO

O presente trabalho teve como objetivo obter a cinética de crescimento de bactérias mesófilas e enterobactérias naturalmente presentes em CMS de Frango em condições de refrigeração (0, 4, 7 e 10 °C) e utilizar modelagem matemática para descrever o binômio tempo *versus* temperatura para definição da vida útil da CMS de Frango.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o crescimento de bactérias mesófilas e enterobactérias naturalmente presentes em CMS de frango nas condições isotérmicas de 0, 4, 7 e 10 °C.
- Ajustar e avaliar o desempenho do modelo matemático de Baranyi e Roberts para o crescimento de Enterobactérias e Bactérias mesófilas em CMS de frango nas condições isotérmicas analisadas para obtenção de parâmetros primários de crescimento;
- Obter modelos matemáticos secundários que descrevem a dependência dos parâmetros primários de crescimento com a temperatura.
- Comparar e realizar análise crítica dos resultados obtidos com as recomendações da Instrução Normativa nº 4, de 31 de Março de 2000 – SDA/MAPA para controle de temperatura nas etapas de manuseio, transporte e estocagem da CMS de Frango.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 CARNE MECANICAMENTE SEPARADA

Nos Estados Unidos, a Carne Mecanicamente Separada (CMS) de aves surgiu a partir de 1950 em detrimento da preferência dos consumidores por filés de frango ao invés do frango inteiro. A partir da demanda por diversos tipos de cortes de frangos, foi despertada a necessidade de descobrir maneiras de aproveitar as partes resultantes da desossa, sendo que estas partes contêm cerca de 24% de porção comestível (Trindade et al., 2004). Assim, a CMS de aves começou a ser usada como ingrediente na fabricação de diversos produtos embutidos como mortadelas, salsichas, salames, etc.

Conforme descrito pelo Ministério da Agricultura Agropecuária e Abastecimento (MAPA), classifica-se como Carne Mecanicamente Separada (CMS), a carne retirada a partir de ossos, carcaças ou partes de carcaças, com exceção dos ossos da cabeça, submetidos à separação mecânica em equipamentos especiais - Máquinas de Separação Mecânica (MSM), e imediatamente congelada, por processos rápidos ou ultrarrápidos, quando não for utilizada no momento seguinte (MAPA, 2000). Já nos Estados Unidos, O USDA (United States Department of Agriculture) (2006) define de maneira mais abrangente como “a massa de produto, ou o produto pastoso produzido por meio de compressão, sob alta pressão, de ossos contendo tecido muscular comestível, através de peneira ou equipamento similar”.

Ao final do processo de obtenção, o CMS possui textura pastosa, gordurosa e pigmentada o que propicia a sua utilização em formulações de produtos emulsionados. No modo em que ela é obtida apresenta aspecto pastoso, teores relativamente altos de gordura e pigmentada, sendo muito usada em formulações de produtos emulsionados (MONÇÃO et al., 2020).

Sabendo disso, há um grande erro de concepção por parte da população de que CMS é uma matéria-prima de baixa qualidade, em razão de ser oriunda do aproveitamento de ossos, dorsos e pescoços derivados da desossa de diversas carcaças. Porém, as partes com menor quantidade de carne aderida (ossos da coxa, pontas de asa, e cartilagem do peito) são processadas separadamente, já que resultariam em CMS de qualidade inferior. Dessa forma, essas partes são processadas conjuntamente com o dorso, misturadas em proporções alteráveis dependendo do nível de qualidade de CMS que se deseja. Ou seja, a CMS é um

processado de primeira linha, uma vez que não são utilizados vísceras, entranhas e sangue (MÓRI, et al, 2006).

Devido a manipulação e potenciais contaminações a partir da matéria-prima intermediária utilizada na produção da CMS, o MAPA, adotou as seguintes diretrizes sobre as condições de estocagem deste alimento:

- a) Se a CMS não for utilizada diretamente como ingrediente de um produto cárneo logo após o processo de separação mecânica, a mesma deverá ser refrigerada a uma temperatura não superior a 4 °C pelo período de até 24 horas.
- b) Se a CMS for armazenada em temperatura de no máximo 0 °C poderá ser utilizada em até 72 horas após sua obtenção.
- c) A CMS que for congelada, deverá ser em blocos com espessura máxima de 15 cm e conservada em temperatura não superior a -18 °C no prazo máximo de 90 dias.
- d) Em todos os casos, deverão ser rigorosamente observados os padrões microbiológicos e proíbe-se o congelamento da CMS resfriada, se vencido o seu prazo de conservação conforme descritos nas letras a e b.

3.1.1 Obtenção e separação da CMS

Froning (1976) estudou o funcionamento de separadores mecânicos e concluiu que estes possibilitam o aproveitamento da carne remanescente de maneira econômica, racional e rentável. Desta forma, estes equipamentos vêm sendo utilizados para utilização de matéria-prima em produtos cárneos embutidos como salsichas, salames e carnes reestruturadas (Archile et al., 2000).

O processo de separação mecânica é feito de maneira que os ossos, as carcaças e partes de carcaças não se acumulem na sala de separação, sendo que esta deve ser exclusiva para tal finalidade, com uma temperatura que não ultrapasse 10 °C. Após isso, a CMS segue imediatamente para refrigeração ou congelamento (BRASIL, 2000).

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ), a CMS deve apresentar cor e odor característicos e textura pastosa, sendo as características físico-químicas exigidas descritas na Tabela 1:

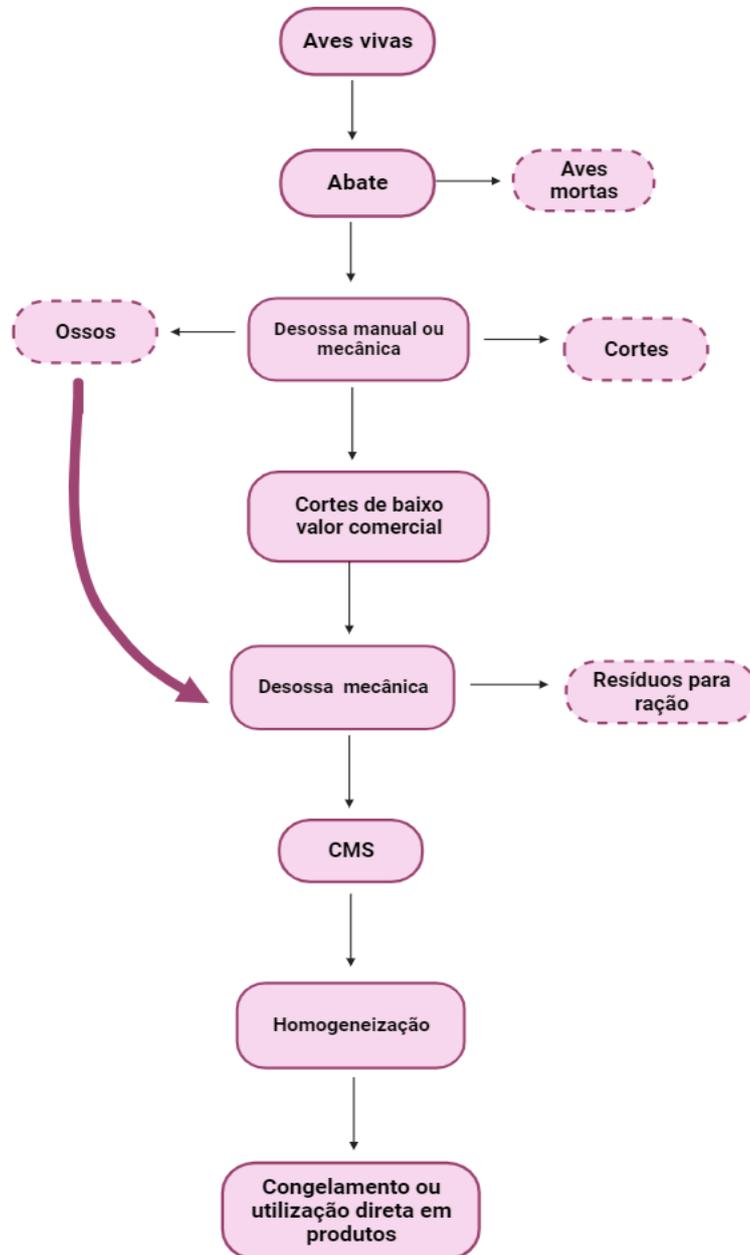
Tabela 1 - Propriedades físico-químicas da CMS

Propriedades físico-químicas	Parâmetros
Proteína (min.)	12%
Gordura (máx.)	30%
Teor de cálcio (máx.)	1,5% (base seca)
Diâmetro dos ossos (máx.)	0,5mm
Largura dos ossos (máx.)	0,85mm
Índice de peróxido (máx.)	1 mEq KOH/Kg gordura

Fonte: MAPA (2000)

O processo de obtenção da CMS de aves se inicia a partir do o abate das aves vivas, seguido pela desossa para separar os diferentes tipos de cortes, e então, a desossa mecânica é realizada para que a CMS seja obtida, sendo homogeneizada e congelada posteriormente. Essas etapas estão representadas na Figura 1:

Figura 1- Processo de obtenção de CMS de aves



Fonte: Galvão A, Pereira T, 2010

Os equipamentos usados no processo de obtenção da CMS de aves possuem dois estágios: no primeiro estágio, a carne é submetida a uma baixa pressão com o objetivo de remover a carne da superfície dos ossos e evitando a incorporação da medula óssea. Já no segundo estágio, a carne passa por uma compressão em uma rosca sem fim contra uma peneira, obtendo a CMS (BERAQUET, 2000).

Segundo Nunes (2003), um dos processos mais usados consiste em cortar a matéria prima inicial, separar tendões e ossos da carne utilizando uma rosca sem fim no interior do equipamento para forçar a passagem de cilindros perfurados ou em placas justapostas com um espaço entre si que funcionam como uma peneira.

A CMS, pela forma que é obtida, é altamente fragmentada com uma composição específica que aliada a um pH elevado, a torna suscetível a elevados níveis de contaminação. Além disso, a sua vida útil é limitada principalmente pelo crescimento de microrganismos e pela oxidação dos lipídios existentes (Garcia-Matamoros et al., 1985; Krautil e Tulloch, 1987).

3.1.2 Utilização da CMS

Segundo a biblioteca de RTIQ dos Produtos de Origem Animal, há permissão e limites de uso de CMS em produtos cárneos industrializados (Tabela 2).

Tabela 2 - Permissão e limites para utilização de CMS em produtos cárneos

Produto	Limites de uso
Produtos crus	
Linguças Calabresa, Portuguesa, Blumenau, Colonial	Não se permite a utilização
Salsichas Viena, Frankfurt	
Quibe	
Presunto cozido	
Linguças cozidas	Até 20%
Mortadela Tipo Bologna	
Almôndega cozida	Até 30%
Hambúrguer cozido	
Fiambre	
Mortadela de Carne de Ave	Até 40%
Salsicha	
Salsichas Viena, Frankfurt, de Carne de Ave	
Mortadela	Até 60%

Fonte: MAPA (2000)

Os embutidos são produtos cárneos que incluem carne de diferentes espécies de animais domésticos e sal em sua composição. Opcionalmente, podem conter gelo, gorduras de origem animal ou vegetal, aditivos intencionais, agentes e ligantes, o que possibilita a criação de uma ampla variedade de produtos destinados ao consumo (Fontana et al., 2002). Dentre os embutidos mais amplamente comercializados no Brasil e no mundo, destacam-se os produtos emulsionados, como a mortadela e a salsicha.

A salsicha, popularmente conhecida como hot dog, é um produto cárneo processado que pode ser elaborado a partir de carnes de diferentes espécies de animais de abate, incluindo até 60% de carnes mecanicamente separadas (CMS) em sua composição. Também é permitida a utilização de miúdos comestíveis, como estômago, coração, língua, rins, cérebro e fígado, provenientes de diversas espécies, além de ingredientes como tendões, pele e gorduras, conforme estabelecido pela legislação brasileira vigente (Brasil, 2000).

3.2 MICRO-ORGANISMOS DETERIORANTES E PATOGÊNICOS

Fatores como alta atividade de água, grande área superficial, elevado teor de nutrientes, pH propício para o desenvolvimento da maioria dos microrganismos e calor gerado durante o processo de desossa mecânica tornam a carne um ambiente favorável ao crescimento microbiano, já que esta não possui constituintes antimicrobianos (FRANCO & LANDGRAF, 2008).

As condições de estocagem determinam os tipos de microrganismos que podem se desenvolver em produtos cárneos, uma vez que as baixas temperaturas aumentam sua vida de prateleira. Porém, algumas bactérias psicrófilas, que incluem bactérias Gram-negativas, sensíveis e não esporuladas ao calor, ainda sobrevivem em baixas temperaturas (HOLLEY & GILL, 2005).

A qualidade microbiológica da CMS está relacionada principalmente com o grau de contaminação da matéria-prima e das condições higiênicas do processo (KOLOZYN-KRAJEWSKA et al., 1983; ROSSI JÚNIOR et al., 1990). Atualmente, a legislação brasileira determina um padrão microbiológico para esse produto, tendo como referência as bactérias do gênero *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* e *Clostridium perfringens*.

Conforme Brasil (2000), a partir da alta heterogeneidade de produção, foi essencial estabelecer um padrão microbiológico específico para a matéria-prima cárnea, como é possível observar na Tabela 3:

Tabela 3 - Características microbiológicas da CMS

Microrganismos	Critério de Aceitação	Método de Análises
<i>Salmonella</i>	n=5, c=2, 25g	APHA-1992, ou FDA 7th Ed., 1992. ISO
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)	n=5, c=2, m=5x10 ² , M=5x10 ³	APHA- 1992, ou FDA 7th Ed., 1992.
<i>Clostridium perfringens</i> (UFC/g)	n=5, c=2, m=1x10 ² , M=1x10 ³	FDA 7th Ed., 1992.

Fonte: Brasil (2000)

De acordo com a Comissão Internacional de Especificações Microbiológicas para alimentos (ICMSF), na avaliação da qualidade microbiológica de alimentos são empregados frequentemente microrganismos indicadores e deteriorantes como os aeróbios mesófilos e as enterobactérias, ambos foram escolhidos para serem mapeados no presente trabalho. Quando encontrados em alimentos, esses microrganismos fornecem informações significativas a respeito de sua contaminação inicial, vida útil e higienização durante o processamento além de indicar possíveis patógenos.

Abgrall e Misner (1998) destacam que a faixa de temperatura para que ocorra o crescimento microbiano varia de 5 a 65 °C, descrita como zona de perigo. Dessa forma, é fundamental manter os alimentos fora dessa zona de perigo, já que é onde eles podem se replicar rapidamente.

3.2.1 Aeróbios Mesófilos

A fim de indicar o número total de microrganismos, o método por contagem de mesófilos totais é extremamente utilizado (RYSER; SCHUMAN, 2015). Uma vez que este grupo possui grande relevância por servirem como indicadores genéricos

para microrganismos que crescem aerobiamente ou facultativamente em temperaturas de incubação que variam entre 15 e 45 °C (CARVALHO, 2001).

Geralmente, contagens altas estão ligadas ao controle microbiológico inadequado durante transporte e armazenamento e higienização de baixa qualidade. Os principais indicadores se destacam *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis* (SCHAFFNER; SMITH-SIMPSON, 2014).

3.2.2 Enterobactérias

As principais características dos componentes da família *Enterobacteriaceae* se encontram na forma de bacilos gram-negativos, aeróbios e anaeróbios facultativos, medindo de 0,3 – 1,8 µm. A maioria dessas espécies apresentam crescimento ótimo na temperatura de 37 °C, mas algumas se desenvolvem bem entre 25 e 30 °C, onde são mais ativas metabolicamente (HOLT et al, 1994).

Há a catalisação de D-glicose e outros carboidratos por meio das enterobactérias, resultando na formação de ácido e, em muitas espécies, produção de gás. Diversas espécies dessa família causam doenças diarreicas, incluindo disenteria bacilar e febre tifoide e várias infecções extra intestinais, como meningite e infecções do trato respiratório e urinário. Porém, destaca-se que numerosas espécies não causam doenças diarreicas, sendo chamadas de patógenos oportunistas. Assim, as enterobactérias, especialmente *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Providencia* e *Serratia*, são responsáveis por aproximadamente 50% das infecções nosocomiais (HOLT et al, 1994).

Sua presença é normalmente usada como indicativo de falhas durante ou após o processamento a partir de contaminações pelo contato da carcaça do animal em superfícies não adequadamente limpas ou com outros conteúdos infectados (KICH; SOUZA, 2015).

3.3 CADEIA DO FRIO

A utilização de temperaturas baixas é um excelente meio de conservação de alimentos, uma vez que ela abrange os processos de armazenamento, conservação, distribuição, transporte e manipulação de produtos, a partir do controle de temperaturas baixas essenciais para a garantia da cadeia do frio (PEREIRA, 2010).

Baixas temperaturas inibem total ou parcialmente fatores responsáveis pela deterioração dos alimentos, como as atividades químicas e enzimáticas, sem prejudicar a qualidade original do mesmo, prolongando sua vida útil e reduzindo perdas. Assim, a temperatura é considerada um fator crítico na garantia da qualidade do alimento durante sua produção e manuseio (ANDRADE, et al. 2004).

Além disso alimentos congelados são perecíveis, ou seja, estão suscetíveis a deterioração, demandando maior cuidado com o controle de temperatura principalmente no manuseio, embalagem e transporte. Sendo assim, qualquer falha no controle da temperatura e das BPF é capaz de acelerar o crescimento de microrganismos, e acarretar em perdas monetárias e desperdício de alimentos para as indústrias (MERCIER et al., 2017).

Em temperaturas baixas, há uma redução na taxa de crescimento microbiano durante a fase exponencial, sendo que diversos microrganismos não sobrevivem a temperaturas menores de 7 °C. Porém, alguns deles possuem essa capacidade, incluindo alguns patogênicos. Um exemplo é o *Clostridium botulinum* tipo E, o qual pode crescer em temperaturas perto de 3,3 °C, além da *Listeria monocytogenes* que pode se desenvolver até mesmo a -10 °C (MASSIA, et al. 2024) e outros que podem sobreviver até 0 °C, como a *Yersinia enterocolitica* (DA COSTA, 2010).

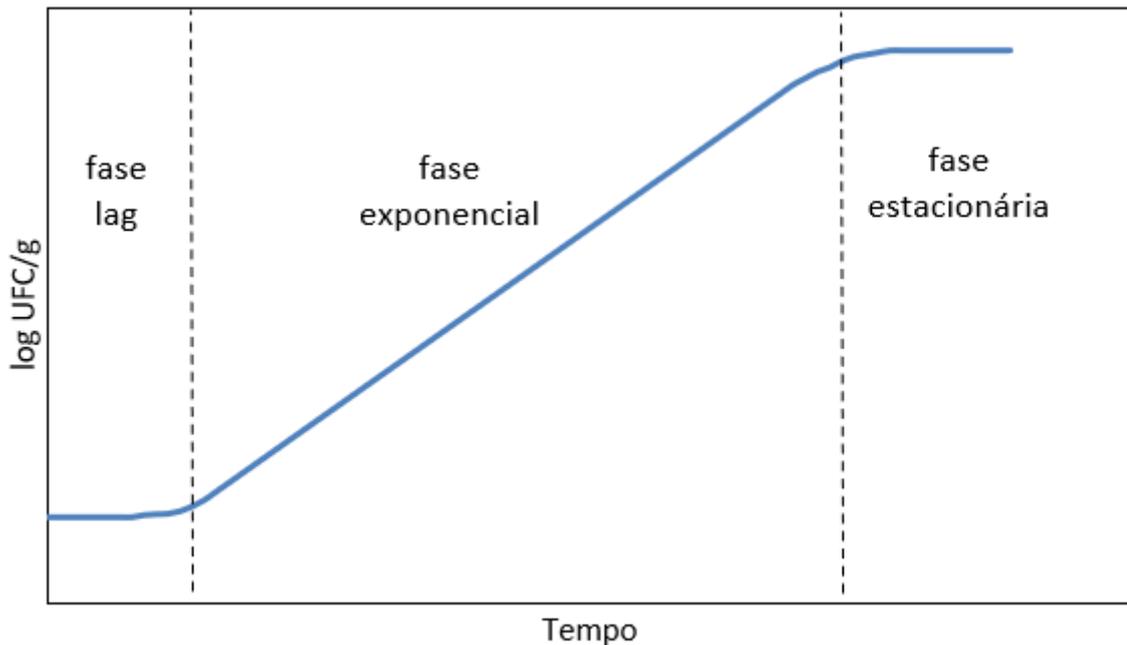
3.4 MICROBIOLOGIA PREDITIVA

O Ministério de Agricultura do Reino Unido lançou, em 1992, uma ferramenta chamada *Food Micromodel*, um banco de dados de microbiologia que se baseava em modelos matemáticos a fim de estudar o crescimento de patógenos em função de diversos fatores ambientais. Diante desse acontecimento, foi iniciada uma nova abordagem relacionada à segurança e qualidade dos alimentos que recebeu o nome de Microbiologia Preditiva (ROSS; MCMEEKIN, 1994).

Dessa forma, a microbiologia preditiva pode ser descrita como o campo em que se estuda o crescimento e a sobrevivência de microrganismos levando em conta o contexto físico, químico e ambiental a fim de assegurar um alimento com qualidade e seguro para o consumo (HUANG, 2014).

Em uma curva clássica de crescimento microbiano, há 4 diferentes fases: lag ou latência, exponencial, estacionária e de declínio, como apresentado na Figura 2.

Figura 2 - Fases do crescimento microbiano



Fonte: Adaptado de Nakashima (2000)

A fase *lag* representa a adaptação do microrganismo ao meio. Já a fase exponencial pode ser caracterizada como o crescimento de ordem exponencial, nesta fase os microrganismos já estão adaptados ao meio e direcionam seu metabolismo para a reprodução. Na fase estacionária, há certa escassez no número de nutrientes, o que é representado por uma igualdade entre a taxa de reprodução e a taxa de morte. (ROBAZZA, 2010; SCHLEI, 2018).

Com os avanços tecnológicos, foram desenvolvidas inúmeras ferramentas focadas no estudo de microbiologia preditiva. De acordo com McMeekin et al. (2002), a utilização de modelos matemáticos para predições baseia-se em obter um modelo primário, usado para determinar parâmetros primários de crescimento microbiano, como o tempo necessário para alcançar a fase estacionária (fase de latência), a velocidade específica máxima de crescimento, entre outros. Diante disso, usa-se a modelagem secundária para relacionar as respostas dos parâmetros do modelo primário com as variações ambientais a partir de fatores físico-químicos, como a temperatura, atividade de água e pH. Após a obtenção de tais fatores, utiliza-se o tratamento de dados a partir de equações matemáticas que podem prever a

adaptação do micro-organismo ao meio a partir de curvas de crescimento (ANASTÁCIO, 2009).

Sendo assim, é possível compreender o crescimento microbiano nos alimentos a partir das curvas de crescimento que são geradas, possibilitando maior otimização na vida de prateleira desses alimentos por meio de alterações nas condições de estocagem (ARROYO-LÓPEZ et al., 2012).

3.4.1 Modelos Primários

A partir de condições ambientais contínuas, os modelos primários explicam através de equações algébricas ou diferenciais como a concentração de microrganismos varia ao longo do tempo (SILVA, 2015).

Há parâmetros gerados, a partir de ajustes desses modelos, que caracterizam as curvas de crescimento microbiano: O período de duração da fase lag (λ), que representa o tempo de adaptação dos microrganismos até adquirirem requisitos essenciais para que cresçam de maneira exponencial na próxima fase (SWINNEN et al., 2004). A velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{m\acute{a}x}$) (tingida na fase exponencial. População máxima atingida no ambiente ($N_{m\acute{a}x}$) ou aumento logarítmico da população ($N_{m\acute{a}x} - N_0$) uma vez que N_0 representa a concentração inicial de células (ZWIETERING et al., 1990).

diversos modelos matemáticos desenvolvidos com base em um elemento fundamental, o qual permite descrever a evolução do crescimento da população a partir de uma equação diferencial de primeira ordem (Equação 1) (BERNAERTS et al., 2004).

$$\frac{dN(t)}{dt} = \mu(t, N, cond)N(t) \quad (1)$$

Sendo que $N(t)$ representa a contagem da população em um dado instante t , e μ é a velocidade específica de crescimento da população, a qual é dependente das condições ambientais ($cond$) que a população está sujeita, além de outros fatores intrínsecos relacionados à própria população (LONGHI, 2012).

A curva de crescimento microbiano adquire forma sigmoideal, sob condições ambientais invariáveis, caracterizada por três diferentes fases: latência (lag), exponencial e estacionária (Figura 3). A fim de uma representação mais precisa dessas fases, é possível introduzir três fatores na Equação 1, originando a Equação 2 (VAN IMPE et al., 2005).

$$\frac{dN(t)}{dt} = \mu_{lag} \mu_{exp} \mu_{est} N(t) \quad (2)$$

Uma vez que o fator μ_{lag} é incorporado a fim de descrever o comportamento da fase lag (função de ajuste), o fator μ_{exp} representa a velocidade específica máxima de crescimento, $\mu_{m\acute{a}x}$, e o fator μ_{est} introduz o decréscimo gradual na velocidade específica máxima de crescimento, transformando-se na fase estacionária (função de inibição) (BERNAERTS et al., 2004).

Dessa forma, a fim de descrever o crescimento de microrganismos, o modelo de Baranyi e Roberts é amplamente usado na área de microbiologia preditiva, uma vez que propõem o uso do estado fisiológico das células em um novo ambiente (BARANYI; ROBERTS, 1994).

3.4.1.1 Modelo Matemático de Baranyi e Roberts

Com o objetivo de descrever o mecanismo biológico compreendido na evolução do estado fisiológico das células em um novo ambiente, a Equação 3 representa a função de ajuste [F(t)] do modelo de Baranyi e Roberts (1994).

$$F(t) = t + \frac{1}{\mu} \ln \left(\frac{\exp(-\mu_{m\acute{a}x} t) + q_0}{1 + q_0} \right) \quad (3)$$

Sendo que q_0 descreve o estado fisiológico inicial da célula e μ é a velocidade específica máxima de crescimento.

Porém, quando a função de inibição não apresenta mecanismo biológico envolvido, ela pode ser descrita pela Equação 4:

$$\mu_{est} = 1 - \left(\frac{N(t)}{N_{m\acute{a}x}} \right)^m \quad (4)$$

Em que N representa a população microbiana em um determinado instante t, $N_{m\acute{a}x}$ é a população máxima atingida, μ_{est} representa o decréscimo da velocidade específica máxima de crescimento na fase estacionária e m é um parâmetro de curvatura.

Ao considerar as duas equações citadas acima e as condições ambientais invariáveis, a Equação 5 apresenta o modelo proposto por Baranyi e Roberts (1994).

$$\ln(N) = \ln(N_0) + \mu F(t) - \frac{1}{m} \ln \left(1 + \frac{\exp(m\mu_{m\acute{a}x} F(t)) - 1}{\exp \left(m \left(\ln \left(\frac{N_{m\acute{a}x}}{N_0} \right) \right) \right)} \right) \quad (5)$$

Sendo que N_0 representa a população inicial e $\mu_{m\acute{a}x}$ é a velocidade específica máxima de crescimento.

Em grande parte dos casos, o parâmetro m raramente resulta em melhorias substanciais na qualidade dos ajustes (LONGHI, 2012). Dessa forma, é viável considera-lo como sendo igual a um (BARANYI; ROBERTS, 1994).

Portanto, a Equação 6 é a equação resultante do modelo considerando as condições ambientais constantes:

$$\ln(N) = \ln(N_0) + \mu F(t) - \ln\left(1 + \frac{\exp(\mu_{m\acute{a}x} F(t)) - 1}{\exp(\ln(N_{m\acute{a}x}) - \ln(N_0))}\right) \quad (6)$$

A fim de tornar o ajuste da equação aos dados experimentais mais estável, é recomendado por parte dos autores, a transformação do parâmetro q_0 no parâmetro h_0 , representado na Equação 7.

$$h_0 = \ln\left(1 + \frac{1}{q_0}\right) \quad (7)$$

O parâmetro h_0 se relaciona com a fase lag (λ) na Equação 8:

$$\lambda = \frac{h_0}{\mu} \quad (8)$$

Dessa forma, ao levar em conta a Equação 7, a função de ajuste $F(t)$ é representada conforme a Equação 9:

$$F(t) = t + \frac{1}{\mu} \ln(\exp(\mu_{m\acute{a}x} \cdot t) + \exp(-h_0) - \exp(-\mu_{m\acute{a}x} \cdot t - h_0)) \quad (9)$$

Em resumo, ao considerar o estado fisiológico inicial das células a partir desse modelo, é possível prever a adaptação do microrganismo ao meio pela duração da fase de latência. Além disso, após a adaptação ao novo ambiente, as células crescerão de forma exponencial com o objetivo de atingir a concentração máxima de células, na fase estacionária, alcançada a partir de restrições no meio de cultivo (BARANYI e ROBERTS, 1994).

3.4.2 Modelos Secundários

De acordo com Ranjbaran et al. (2021), os modelos secundários caracterizam a variação de um parâmetro primário, como a velocidade específica máxima de crescimento, em relação a uma determinada condição ambiental, principalmente a temperatura.

Dessa forma, o Modelo da Raiz Quadrada de Ratkowsky (1982), representado na Equação 10, é um dos principais modelos secundários usados, uma vez que

possibilita modelar a velocidade máxima de crescimento microbiano em função da temperatura.

$$\sqrt{p} = b(T - T_{min}) \quad (10)$$

Sendo que p é o parâmetro primário de interesse, como a velocidade específica máxima de crescimento; b é uma constante de inclinação determinado através de regressão e T_{min} é a temperatura mínima de crescimento microbiano determinada empiricamente.

Outro modelo secundário amplamente utilizado em microbiologia preditiva é o modelo de Arrhenius, representado pela seguinte equação:

$$p = \alpha \exp\left(-\frac{b}{T}\right) \quad (11)$$

Em que p é a variável que será estimada, como por exemplo a fase lag (λ), sendo α e b parâmetros empíricos e T é a temperatura.

Portanto, qualquer equação que descreva bem a relação entre os parâmetros do modelo primário e a temperatura pode ser utilizada como modelo secundário. Exemplos disso são as equações logarítmica (Equação 12), exponencial (Equação 13) e potencial (Equação 14) (LONGHI, 2012).

$$p = a + b \cdot \log(T) \quad (12)$$

$$p = a + b \cdot \exp(T) \quad (13)$$

$$p = a \cdot (T^b) \quad (14)$$

Portanto, o objetivo principal é encontrar uma equação, mesmo que empírica, que seja capaz de expressar o quão impactante o fator ambiental atua sobre os parâmetros de crescimento microbiano (CORRADINI, 2006).

3.4.3 Validação

Cullen e Frey (1999) identificaram uma série de erros significativos associados à validação de modelos matemáticos aplicados à microbiologia preditiva. Esses erros incluem: (1) homogeneidade, uma característica amplamente presente em alimentos, mas frequentemente ignorada nos modelos atuais; (2) integralidade, negligenciada em modelos simplificados que deixam de considerar fatores complexos, como a ecologia microbiana; (3) função de erro do modelo, uma consequência do fato de que modelos matemáticos representam apenas aproximações da realidade; (4) erro de medição, decorrente de limitações relacionadas à coleta de dados e à amostragem; e

(5) procedimento numérico, relacionado a imprecisões durante os ajustes dos modelos.

Paralelamente, a avaliação da capacidade preditiva dos modelos matemáticos é realizada por meio de índices estatísticos amplamente utilizados, como o fator bias (indicador de tendência), o fator de exatidão, o RMSE (raiz do erro quadrático médio) e o coeficiente de determinação (R^2), descritos matematicamente nas Equações 15 a 18.

$$fator\ bias = 10^{\left(\frac{\log\left(\frac{valor\ predito}{valor\ observado}\right)}{n}\right)} \quad (15)$$

$$fator\ exatidão = 10^{\left(\frac{|\log\left(\frac{valor\ predito}{valor\ observado}\right)|}{n}\right)} \quad (16)$$

$$RMSE = \sqrt{\frac{\Sigma(valor\ predito - valor\ observado)^2}{n}} \quad (17)$$

$$R^2 = \frac{\Sigma(valor\ predito - valor\ observado\ médio)^2}{\Sigma(valor\ observado - valor\ observado\ médio)^2} \quad (18)$$

Os índices estatísticos desempenham um papel fundamental na análise da precisão de modelos matemáticos, pois permitem comparar os valores preditos com os experimentais. O fator bias avalia a confiabilidade das predições: quando igual a 1, indica uma correspondência perfeita; valores superiores a 1 refletem margens seguras (*fail-safe*), enquanto valores inferiores a 1 apontam cenários potencialmente arriscados (*fail-dangerous*). Já o fator de exatidão, que sempre apresenta valores iguais ou superiores a 1, torna-se menos preciso conforme aumenta.

O RMSE (raiz do erro quadrático médio) mede a diferença média entre os valores preditos e observados, sendo mais confiável quanto menor for seu valor, expresso na mesma unidade dos dados experimentais. Por sua vez, o coeficiente de determinação (R^2) indica o grau de correlação entre os dados experimentais e as predições. Valores próximos de 1 sugerem que o modelo tem alta capacidade de representar os dados com fidelidade. A combinação desses índices possibilita uma avaliação sólida e abrangente da qualidade dos modelos preditivos.

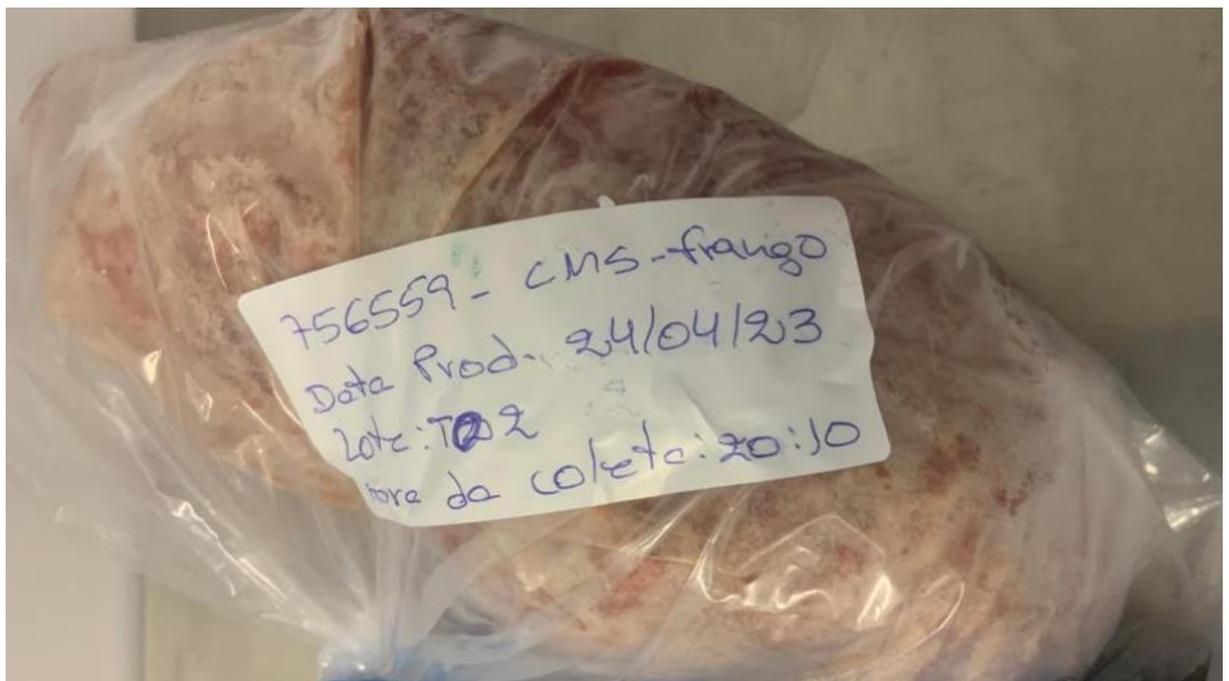
4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 AMOSTRAS

As embalagens com CMS de frango foram encaminhadas na forma congelada diretamente da fábrica da Brasil Foods S.A. As amostras foram divididas em dois lotes obtidos em dias diferentes e enviadas no dia de fabricação para o Laboratório de Engenharia Biológica (LIEB) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) em Florianópolis-SC em caixas térmicas e armazenadas a -18°C até o início das análises.

A Figura 3 mostra como a CMS encontrava-se arranjada originalmente dentro da embalagem.

Figura 3- Arranjo original da CMS dentro da embalagem.



Fonte: Autora (2024)

4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

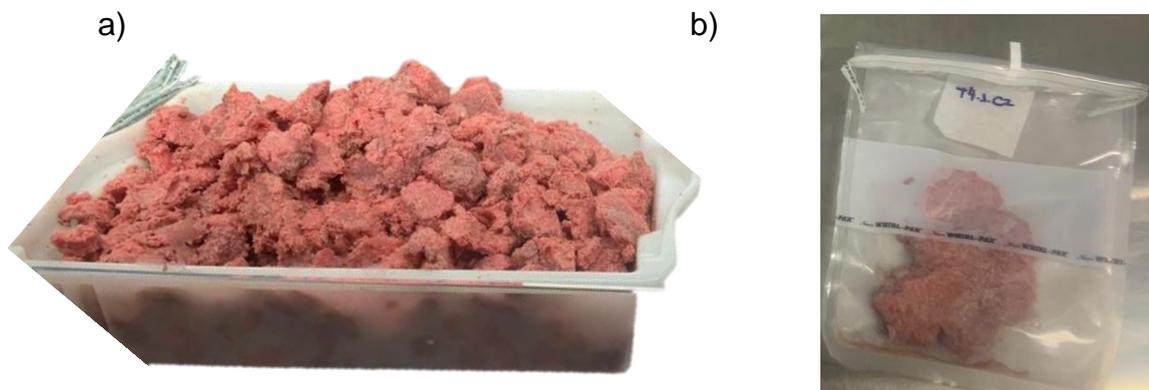
Foram realizadas medidas de gordura (lipídios), proteína, resíduo mineral fixo, umidades e voláteis. As análises foram feitas em 3 porções de CMS (50 gramas cada) no Laboratório de Análises – LABCAL. Foram usados diferentes métodos para a obtenção de cada uma das medidas: lipídios (ISO, 1443:1973); proteína (ISO, 1871:2009); resíduo mineral fixo (ISO, 936:1998); umidade e voláteis (ISO, 1442:1997).

4.3 PRAPARO DAS AMOSTRAS

As embalagens de CMS, do mesmo lote, foram descongeladas em geladeira (4 °C) por aproximadamente 24 h. Após o descongelamento, as embalagens foram limpas externamente com álcool 70% e abertas dentro da cabine de segurança microbiológica, em condições assépticas.

As amostras foram misturadas entre si manualmente para homogeneização em uma bacia de polipropileno, como apresentado na Figura 4 (a). Após, foram divididas em porções de 50 g e colocadas individualmente em sacos de amostragem Nasco com filtro (Figura 4 (b)). Algumas amostras de CMS foram separadas e armazenadas em condições de congelamento para caracterização subsequente. Todos os utensílios não autoclaváveis utilizados foram limpos com álcool 70% e expostos à luz UV durante 15 minutos antes do uso.

Figura 4 -(a) Homogeinieneização, (b) acondicionamento das amostras de CMS.



Fonte: elaborado pela autora (2024)

4.4 CONDIÇÕES DE INCUBAÇÃO DAS AMOSTRAS

As cinéticas de crescimento de enterobactérias e bactérias mesófilas em CMS em condições isotérmicas, foram avaliadas em 4 temperaturas: 0, 4, 7 e 10 °C. Para o início das cinéticas de crescimento, as amostras de CMS já homogeneizadas e porcionadas foram colocadas em incubadoras tipo B.O.D estabilizadas com as temperaturas desejadas e monitoradas com o auxílio de *Datalogger* (Testo 174H). As amostras foram distribuídas de forma aleatória nas prateleiras das incubadoras com o objetivo de assegurar uma distribuição uniforme da temperatura interna, conforme ilustrado na Figura 5.

Figura 5 - Amostras de CMS distribuídas em B.O.D



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

4.5 AMOSTRAGEM

4.5.1 Frequência de amostragem

A partir do estudo de crescimento dos microrganismos pela plataforma *ComBase* (2021), pôde-se definir os intervalos de amostragem para para as cinéticas de crescimento microbiano em cada temperatura analisada. Com o objetivo de descrever com precisão o comportamento microbiano e para o ajuste do modelo utilizado, deu-se prioridade à concentração de pontos próximos ao término da fase lag e ao início da fase estacionária na seleção dos tempos de amostragem. A amostragem foi realizada em duplicata de amostra (duas amostras retiradas no mesmo momento) e duplicata biológica das curvas de crescimento (realizadas em dias diferentes).

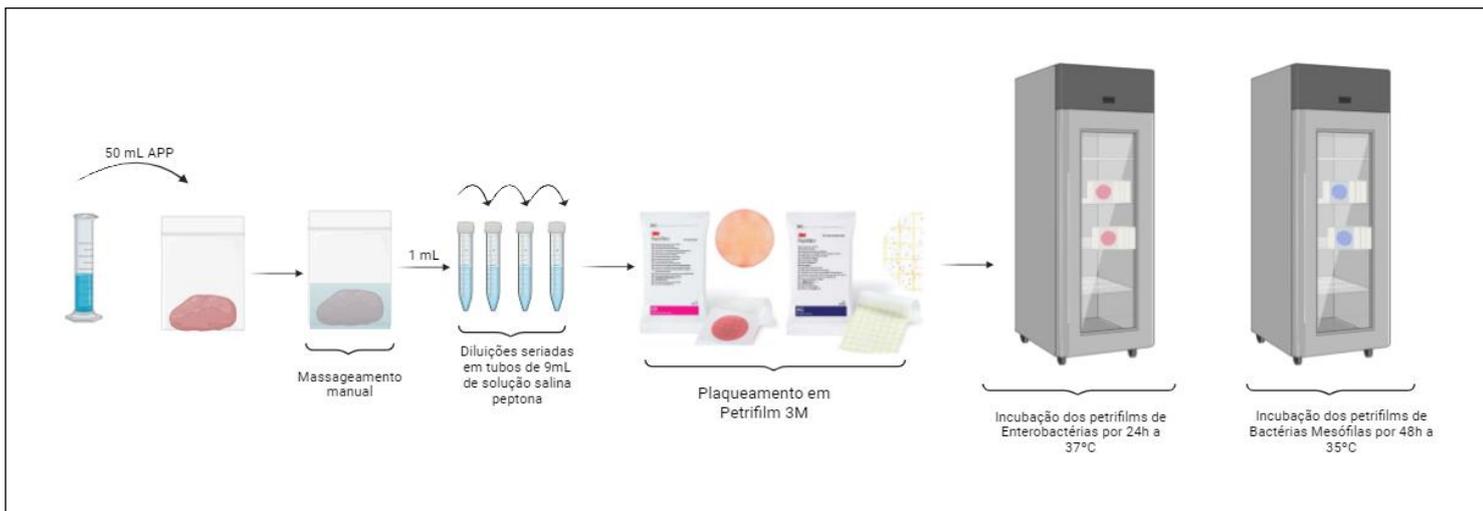
4.5.2 Enumeração dos microrganismos

A análise foi baseada no método de enumeração de Enterobactérias e Bactérias mesófilas pela técnica de contagem em superfície ISO 11290-2 (Figura 7). No mesmo saco de amostragem que foram armazenadas, as amostras eram diluídas com 50 mL de água peptonada a 0,1% e, posteriormente, homogeneizadas

manualmente por cerca de 10 segundos, resultando na primeira diluição. Em seguida, foram realizadas diluições seriadas transferindo-se 1 mL da diluição anterior para tubos que continham 9 mL de solução salina peptona.

Na sequência, foi feita a inoculação (1 mL) em petrifilm 3Me específicos para contagem de enterobactérias e bactérias mesófilas aeróbicas. Com a face voltada para baixo, o espalhador era colocado na parte superior do filme e pressionado, para distribuir o inoculado sob a área circular antes do gel se formar. Os petrifilms eram incubados com a face superior voltada para cima. Para os petrifilms de enterobactérias, a incubação era feita por 24 h em B.O.D a 37 °C, enquanto os petrifilms de bactérias mesófilas, a incubação era feita por 48 h em B.O.D a 35 °C, para que então fossem contadas as UFC.

Figura 6 - Etapa de amostragem para enumeração de bactérias mesófilas e enterobactérias



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Com o objetivo de determinar a concentração microbiana (N) a contagem de UFC foi multiplicada pelo inverso das diluições realizadas e, em seguida, dividida pela média de peso das CMS (Log UFC/g). Cada resultado foi expresso em termo de Log (N/N_0).

4.6 MODELAGEM PRIMÁRIA

A fim de ajustar os dados dos experimentos ao modelo de Baranyi e Roberts, demonstrados nas Equações 5 e 9, foi utilizado um pacote de *software* que auxiliou a

compreender a modelagem de crescimento da cinética microbiana sob diferentes condições com ótimo ajuste e predição, chamado de *biogrowth* (GARRE et al., 2021).

Considerando que os dados experimentais foram feitos sob condições isotérmicas, o ajuste do modelo foi realizado por meio da função *fit_isothermal_growth*, que exige a inserção de dados experimentais e de parâmetros conhecidos, a escolha de um modelo e uma estimativa inicial dos parâmetros a serem ajustados por regressão. Assumido como pré-estabelecido N_0 ser igual a zero de forma fixa, enquanto os parâmetros λ , $\mu_{m\acute{a}x}$ e $N_{m\acute{a}x}$ foram ajustados, o modelo de Baranyi e Roberts foi selecionado. Após ajuste, o *software* gera um conjunto de dados com as concentrações ao longo do tempo e os parâmetros de crescimento primário.

4.7 MODELAGEM SECUNDÁRIA

Foram aplicados modelos secundários como o da Raiz Quadrada (Equação 10), Arrhenius (Equação 11), Logarítmica (Equação 12), Exponencial (Equação 13) e Potência (Equação 14), com o objetivo de descrever a influência da temperatura sobre os parâmetros obtidos no ajuste primário.

4.8 VALIDAÇÃO DO MODELO POR ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para avaliar a eficácia das predições efetuadas pelo modelo, foram empregados alguns índices estatísticos, como o fator bias, fator de exatidão, o erro quadrático médio (RMSE) e o coeficiente de determinação (R^2). Esses índices estão detalhados nas Equações 15, 16, 17 e 18, respectivamente.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA CMS

Os resultados da média de ensaios para as análises físico-químicas de gordura (lipídios), proteína, resíduo mineral fixo, umidade e voláteis da CMS de Frango estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Análise físico-química da CMS de Frango

Análise	Valor
Gordura (lipídios)	14,43 g/100g
Proteína	14,81 g/100g
Resíduo mineral fixo	1,11 g/100g
Umidade e voláteis	69,99 g/100g

Fonte: elaborado pela autora (2024).

Os padrões oficiais para a qualidade físico-química da CMS de aves, bovinos e suínos estão estabelecidos no Regulamento Técnico para Determinação da Identidade e Qualidade da Carne Mecanicamente Separada (CMS), que foi incorporado à Instrução Normativa nº 4 (BRASIL, 2000). Este decreto estabelece critérios de qualidade, tais como máximo de 30% de lipídios totais e um mínimo de 12% de proteínas, o que está de acordo com o número de proteínas (14,43 g/100g) e lipídios (14,81 g/100g) obtidos no presente trabalho.

Os valores de umidade voláteis e umidade para esta matéria prima estão de acordo com os valores apresentados por De Oliveira et al (2014), que foram de 67,8 e 1,5 g/100g, respectivamente. A legislação vigente citada não define padrões para os níveis de cinzas e umidade na CMS. Portanto, os resultados deste estudo são, como o citado anteriormente, relevantes como referência para a definição desses parâmetros.

Quando fora dos limites estabelecidos pelo RTIQ, os níveis de lipídios e proteínas afetam diretamente a qualidade de produtos processados com altos níveis de CMS, afetando a textura, a capacidade de ligação e a estabilidade da massa cárnea. O uso de CMS em grandes quantidades em produtos processados, como salsichas e mortadelas, exige atenção quanto à capacidade emulsificante do produto, que é influenciada pela quantidade de proteínas e lipídios. De acordo com ABDULLAH et al. 2005, quanto maior a quantidade de proteínas e menor quantidade gordura, essa

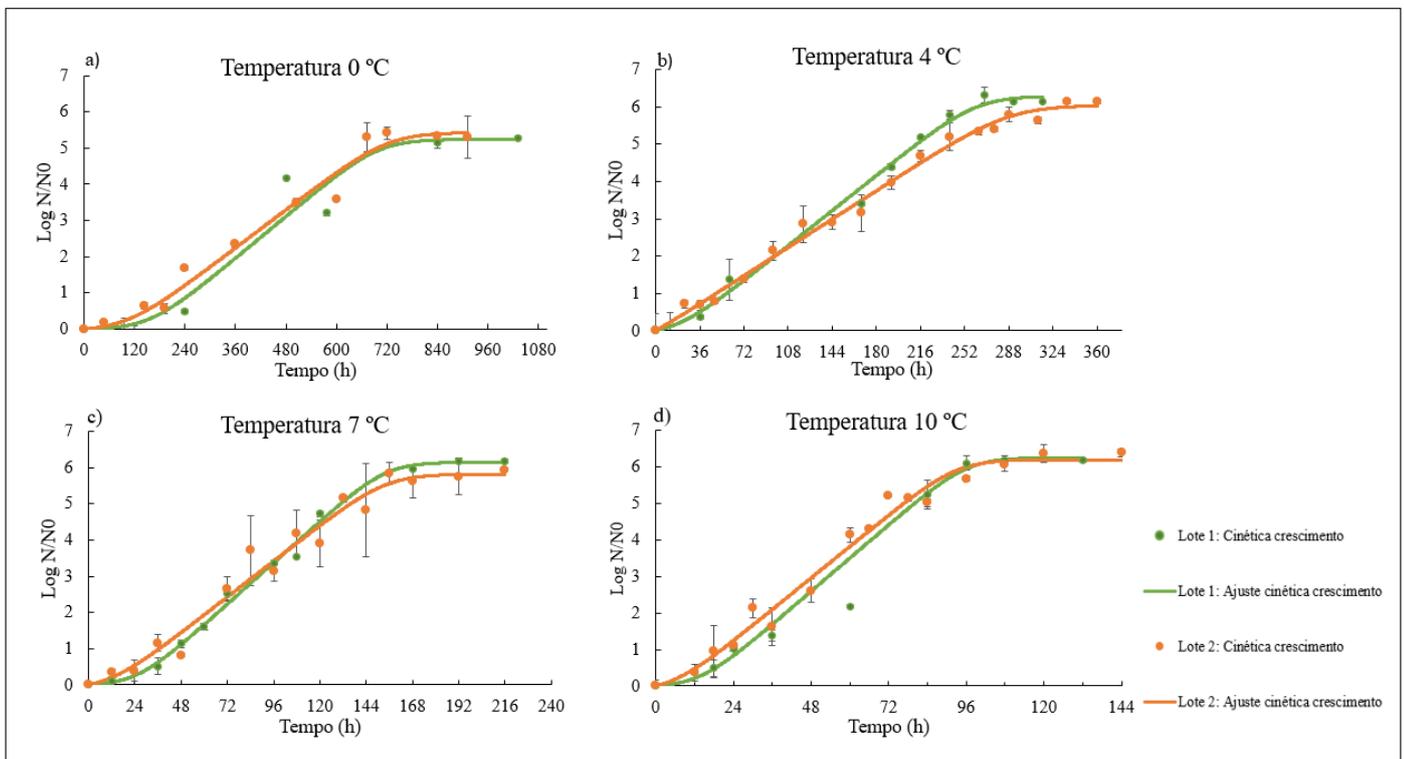
capacidade é aumentada e melhora, conseqüentemente, a retenção de água, exatamente o que foi encontrado no presente trabalho.

5.2 CINÉTICAS DE CRESCIMENTO DE ENTEROBACTERIAS E BACTÉRIAS MESÓFILAS EM CMS

5.2.1 Cinética de crescimento de Enterobactérias em CMS em temperaturas de 0 à 10 °C.

Os resultados das cinéticas de crescimento de Enterobactérias em CMS estão apresentados na Figura 7, permitindo a análise da influência da temperatura no crescimento da bactéria. As Tabelas 5 e 6 apresentam os parâmetros primários de crescimento obtidos através do ajuste do modelo de Baranyi & Roberts para os Lotes 1 e 2, respectivamente. Na Tabela 7 e 8 estão apresentados os índices estatísticos para cada lote.

Figura 7 - Cinéticas de crescimento de Enterobactérias em CMS nas temperaturas de 0 (a), 4 (b), 7 (c) e 10 (d) °C, sendo Lote 1 (verde) e Lote 2 (laranja). Os pontos representam os dados experimentais, as linhas representam o ajuste do modelo Baranyi e Roberts e as barras são o desvio padrão.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 5 - Parâmetros de crescimento primário de Enterobactérias para o lote 1: concentração inicial e final, tempo de fase lag (λ), estado fisiológico inicial das células (h_0) e velocidade específica máxima de crescimento (μ) obtidos pelo ajuste do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais para as temperaturas de 0, 4, 7 e 10 °C.

Lote 1				
Temperatura	0 °C	4 °C	7 °C	10 °C
Concentração Inicial (log UFC/g)	1,6	1,6	1,6	1,6
Fase lag (h)	158	20,8	25,2	13,9
Velocidade específica máxima de crescimento (h⁻¹)	0,01	0,026	0,047	0,076
Estado fisiológico inicial das células	1,58	0,54	1,18	1,06
Concentração final (log UFC/g)	6,7	7,9	7,8	7,9

Fonte: elaborado pela autora (2024).

Tabela 6 - Parâmetros de crescimento primário de Enterobactérias para o lote 2: concentração inicial e final, tempo de fase lag (λ), estado fisiológico inicial das células (h_0) e velocidade específica máxima de crescimento (μ) obtidos pelo ajuste do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais para as temperaturas de 0, 4, 7 e 10 °C.

Lote 2				
Temperatura	0 °C	4 °C	7 °C	10 °C
Concentração Inicial (log UFC/g)	1,3	1,5	1,5	1,7
Fase lag (h)	105	2,0	13,1	7,0
Velocidade específica máxima de crescimento (h⁻¹)	0,01	0,021	0,041	0,072
Estado fisiológico inicial das células	0,95	0,04	0,54	0,29
Concentração final (log UFC/g)	6,7	7,6	7,3	7,9

Fonte: elaborado pela autora (2024).

Tabela 7 – Valores dos índices estatísticos para o ajuste do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais para as temperaturas de 0, 4, 7 e 10 °C na análise de Enterobactérias do Lote 1.

T (°C)	Bias	Exatidão	RMSE	R²
0	1,03	1,18	0,41	0,99
4	0,99	1,03	0,21	0,99
7	1,01	1,05	0,16	0,99
10	1,00	1,06	0,43	0,99

Fonte: elaborado pela autora (2024).

Tabela 8 - Valores dos índices estatísticos para o ajuste do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais para as temperaturas de 0, 4, 7 E 10 °C na análise de Enterobactérias do Lote 2.

T (°C)	Bias	Exatidão	RMSE	R ²
0	1,05	1,11	0,31	0,99
4	1,00	1,04	0,19	0,99
7	0,99	1,08	0,34	0,99
10	0,99	1,06	0,29	0,99

Fonte: elaborado pela autora (2024).

Observa-se na Figura 7 que, nas temperaturas examinadas, estão presentes todas as fases características do crescimento microbiano: fase lag, exponencial e estacionária. É possível atribuir esse comportamento tanto às características intrínsecas das enterobactérias quanto às propriedades da CMS que podem ter favorecido seu crescimento. Além disso, a clara distinção entre as fases é resultado do planejamento criterioso na distribuição dos intervalos de amostragem e da eficácia do modelo de Baranyi e Roberts em ajustar os dados experimentais, comprovado pelos valores de R² na Tabela 6 que se aproximam de 1, na maioria dos resultados, enquanto os valores de RMSE próximos a zero.

Analisando a Figura 7, é possível observar a partir da inclinação das curvas de crescimento de enterobactérias nas temperaturas de 0, 4, 7 e 10 °C diferenças importantes na taxa de crescimento microbiano em CMS, refletindo a capacidade adaptativa desses microrganismos às diferentes condições térmicas. Nota-se isso averiguando os parâmetros de crescimento primário dos dois Lotes nas Tabelas 4 e 5 quando se relaciona os valores de μ , em h⁻¹, com a temperatura. No Lote 1, em 0 °C a velocidade específica era de 0,01 h⁻¹, enquanto em 10 °C foi obtido um valor de 0,076 h⁻¹, 7,6 vezes maior.

Na temperatura de 0 °C, a fase lag durou 158 horas e 105 horas para os lotes 1 (Tabela 5) e 2 (Tabela 6), respectivamente. Já na temperatura de 10 °C, as enterobactérias não exibiram a fase lag bem definida com um tempo de adaptação menor entre as temperaturas analisadas, em ambos os lotes, com uma duração de 13,9 (Lote 1) e 7 (Lote 2) horas. Isso se dá em razão da temperatura (10 °C) estar mais próxima da temperatura ótima de crescimento para as enterobactérias, permitindo uma adaptação mais rápida. Quanto mais perto de 37 °C, que é a temperatura ótima de crescimento das enterobactérias, maior a chance do modelo descrever bem e a curva ser bem representada para o respectivo modelo.

Percebe-se uma variação nos valores da velocidade específica máxima de crescimento (μ) e do tempo de fase lag (λ), com tendência de aumento ou diminuição dependendo das condições analisadas. Em temperaturas de incubação próximas à ideal para o crescimento de Enterobactérias (37 °C), o microrganismo apresenta maior rapidez no crescimento e um período de adaptação reduzido, como constatado neste estudo. Em contrapartida, à medida que a temperatura diminui, o crescimento se torna mais lento e o tempo de adaptação se prolonga.

De acordo com a Equação 8 apresentada, o parâmetro h_0 pode ser determinado a partir dos valores da velocidade específica máxima de crescimento (μ) e do tempo de fase lag (λ). Esse parâmetro pode ser considerado constante quando as condições do meio de crescimento e inoculação são mantidas iguais. Isso significa que, em condições isotérmicas de crescimento (mesma temperatura e ambiente), h_0 deve permanecer o mesmo, independentemente de variações de temperatura no experimento. Observando as Tabelas 5 e 6, no Lote 1 a 4 °C, registrou-se um valor de h_0 de 0,54, enquanto no Lote 2, sob a mesma temperatura, o valor observado foi de 0,04. Padrões semelhantes foram identificados nas demais temperaturas testadas, evidenciando que o parâmetro h_0 não permaneceu constante nas condições experimentais avaliadas. Esse comportamento indica que as temperaturas escolhidas podem não ter sido adequadas para proporcionar um ambiente propício ao desenvolvimento uniforme das enterobactérias, comprometendo a estabilidade esperada do parâmetro h_0 .

O aumento na temperatura de 7 para 10 °C, embora pequeno (apenas 3 °C), resultou em um importante acréscimo na velocidade específica máxima de crescimento das enterobactérias em CMS de frango. Esse comportamento evidencia a alta sensibilidade do crescimento bacteriano às variações térmicas, especialmente em ambientes que favorecem o metabolismo das células. No Lote 1, o acréscimo foi de 65,22%, enquanto no Lote 2 alcançou 75,61%, o que destaca a importância do controle rigoroso da temperatura para mitigar o risco de proliferação microbiana em produtos cárneos. Esses dados reforçam a importância de práticas adequadas de processamento e armazenamento para minimizar o risco de contaminação microbiológica em produtos cárneos.

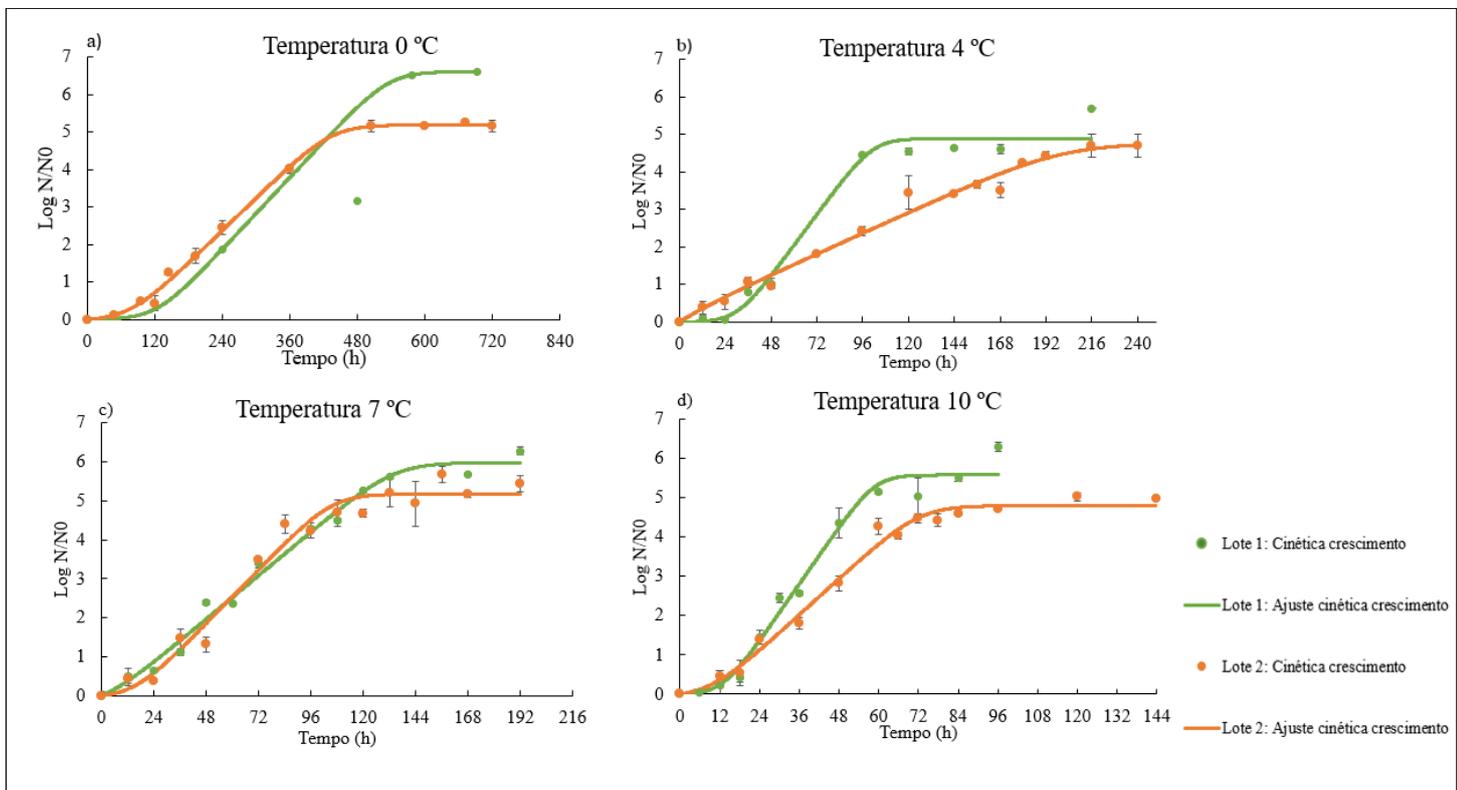
A carga inicial de enterobactérias em CMS observada nos lotes analisados, que foi em torno de 1,5 log UFC/g foi semelhante à relatada por Nunes (2003), que encontrou 2,0 log UFC/g de *Escherichia coli*, que pertence à família de

Enterobactérias. Além disso, os valores foram bem inferiores aos 4,3 log UFC/g registrados por Kumar et al. (1986). Esses resultados podem indicar que a carne analisada apresentava uma condição microbiológica inicial mais controlada, o que reflete boas práticas de processamento e armazenamento.

5.2.2 Cinética de crescimento de Mesófilos em CMS em temperaturas de 0 a 10 °C

Os resultados das cinéticas de crescimento de Bactérias Mesófilas em CMS estão apresentados na Figura 8, permitindo a análise da influência da temperatura no crescimento da bactéria. As Tabelas 9 e 10 apresentam os parâmetros primários de crescimento obtidos através do ajuste do modelo de Baranyi & Roberts para os Lotes 1 e 2, respectivamente. Na Tabela 11 e 12 estão apresentados os índices estatísticos para cada lote.

Figura 8 - Cinéticas de crescimento de bactérias mesófilas em CMS nas temperaturas de 0 (a), 4 (b), 7 (c) e 10 (d) °C, sendo lote 1 (verde) e lote 2 (laranja). os pontos representam os dados experimentais, as linhas representam o ajuste do modelo Baranyi e Roberts e as barras são o desvio padrão.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 9 - Parâmetros de crescimento primário de bactérias mesófilas para o lote 1: concentração inicial e final, tempo de fase lag (λ), estado fisiológico inicial das células (h_0) e velocidade específica máxima de crescimento (μ) obtidos pelo ajuste do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais para as temperaturas de 0, 4, 7 e 10 °C.

Lote 1				
Temperatura	0 °C	4 °C	7 °C	10 °C
Concentração Inicial (log UFC/g)	2,7	2,7	3,1	2,9
Fase lag (h)	123	30,4	5,9	12,9
Velocidade específica máxima de crescimento (h⁻¹)	0,016	0,069	0,047	0,121
Estado fisiológico inicial das células	1,97	2,09	0,28	1,56
Concentração final (log UFC/g)	9,3	7,6	9,1	8,5

Fonte: elaborado pela autora (2024).

Tabela 10 - Parâmetros de crescimento primário de bactérias mesófilas para o lote 2: concentração inicial e final, tempo de fase lag (λ), estado fisiológico inicial das células (h_0) e velocidade específica máxima de crescimento (μ) obtidos pelo ajuste do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais para as temperaturas de 0, 4, 7 e 10 °C.

Lote 2				
Temperatura (°C)	0	4	7	10
Concentração Inicial (log UFC/g)	3,8	4,0	3,7	4,0
Fase lag (h)	76,4	0,0	15,7	9,8
Velocidade específica máxima de crescimento (h⁻¹)	0,014	0,023	0,057	0,076
Estado fisiológico inicial das células	1,07	0	0,89	0,75
Concentração final (log UFC/g)	9,0	8,7	8,9	8,8

Fonte: elaborado pela autora (2024).

Tabela 11 - Valores dos índices estatísticos para o ajuste do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais para as temperaturas de 0, 4, 7 e 10 °C na análise de bactérias mesófilas para o Lote 1.

T (°C)	Bias	Exatidão	RMSE	R²
0	0,98	1,03	0,94	0,99
4	1,02	1,15	0,32	0,99
7	0,99	1,04	0,23	0,99
10	0,98	1,05	0,31	0,99

Fonte: elaborado pela autora (2024).

Tabela 12 - Valores dos índices estatísticos para o ajuste do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais para as temperaturas de 0, 4, 7 e 10 °C na análise de bactérias mesófilas para o Lote 2.

T (°C)	Bias	Exatidão	RMSE	R ²
0	0,98	1,05	0,12	0,99
4	0,99	1,04	0,20	0,99
7	0,98	1,06	0,32	0,99
10	0,99	1,04	0,21	0,99

Fonte: elaborado pela autora (2024).

A RDC nº 12/2001 não estabelece padrão para mesófilos aeróbios, entretanto a presença de grande número destes microrganismos nos produtos torna-se preocupante, uma vez que a maioria dos patogênicos encontrados nos alimentos são mesófilos, estes são microrganismos indicadores.

É possível observar na Figura 8 a bom ajuste do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais, comprovado pelos valores de R² na Tabela 11 e 12 que se aproximam de 1, na maioria dos resultados, enquanto a maior parte dos valores de RMSE estão próximos a zero. Isso permite uma análise preditiva confiável do comportamento bacteriano, auxiliando na tomada de decisões sobre conservação e armazenamento da CMS.

A maioria dos microrganismos presentes em aves vivas são aeróbios mesófilos, e poucos são capazes de crescer em temperaturas abaixo de 7 °C. Sua contagem é utilizada como indicador de qualidade higiênica dos alimentos, e valores elevados sugerem falhas no processo de produção (CARDOSO et al., 2005). A fase *lag* representa a adaptação do microrganismo ao meio, passando por uma etapa de crescimento mais lento, esse comportamento pode ser observado na Figura 8, em 7 e 10 °C, onde há uma fase exponencial com maior inclinação no gráfico em comparação a 4 °C, indicando que esta temperatura é um limiar crítico para o crescimento de mesófilos. Já nas temperaturas próximas ou superiores a 7 °C há o favorecimento do desenvolvimento microbiano, o que reforça Cardoso (2005), que indica que poucos microrganismos mesófilos conseguem crescer abaixo de 7 °C e que manter temperaturas abaixo dessa temperatura pode ser essencial para retardar o crescimento bacteriano.

Na Figura 8, em nenhuma das temperaturas estudadas a duração da fase *lag* é visualmente perceptível. Em temperaturas mais baixas (0 e 4 °C), a fase *lag* é maior,

porém, diminui à medida que a temperatura aumenta (7 e 10 °C). Esse comportamento é confirmado quantitativamente, na Tabela 7 e 8, com os valores para a fase lag variando de 123 h e 76,4 h a 0 °C para 12,9 h e 9,8 h a 10 °C, para o lote 1 e 2, respectivamente. O que representa uma redução de uma temperatura para a outra na fase lag de 89,51%, enquanto no Lote 2 foi de 87,17%, essa diferença destaca a importância do controle rigoroso da temperatura para mitigar o risco de proliferação microbiana em produtos cárneos. Esses dados reforçam que em temperaturas mais altas, as condições se tornam mais favoráveis para o metabolismo e divisão celular para as bactérias mesófilas, reduzindo o tempo necessário para que as bactérias iniciem a multiplicação.

Ao observar a Figura 8, é possível observar a partir da inclinação das curvas de crescimento de enterobactérias nas temperaturas de 0, 4, 7 e 10 °C diferenças importantes na velocidade de crescimento microbiano em CMS. Nota-se isso averiguando os parâmetros de crescimento primário dos dois Lotes nas Tabelas 4 e 5 quando se relaciona os de μ , em h^{-1} , com a temperatura. No Lote 2, em 0 °C a velocidade específica máxima de crescimento era de $0,014 h^{-1}$, enquanto em 10 °C foi obtido um valor de $0,076 h^{-1}$, 4,4 vezes maior.

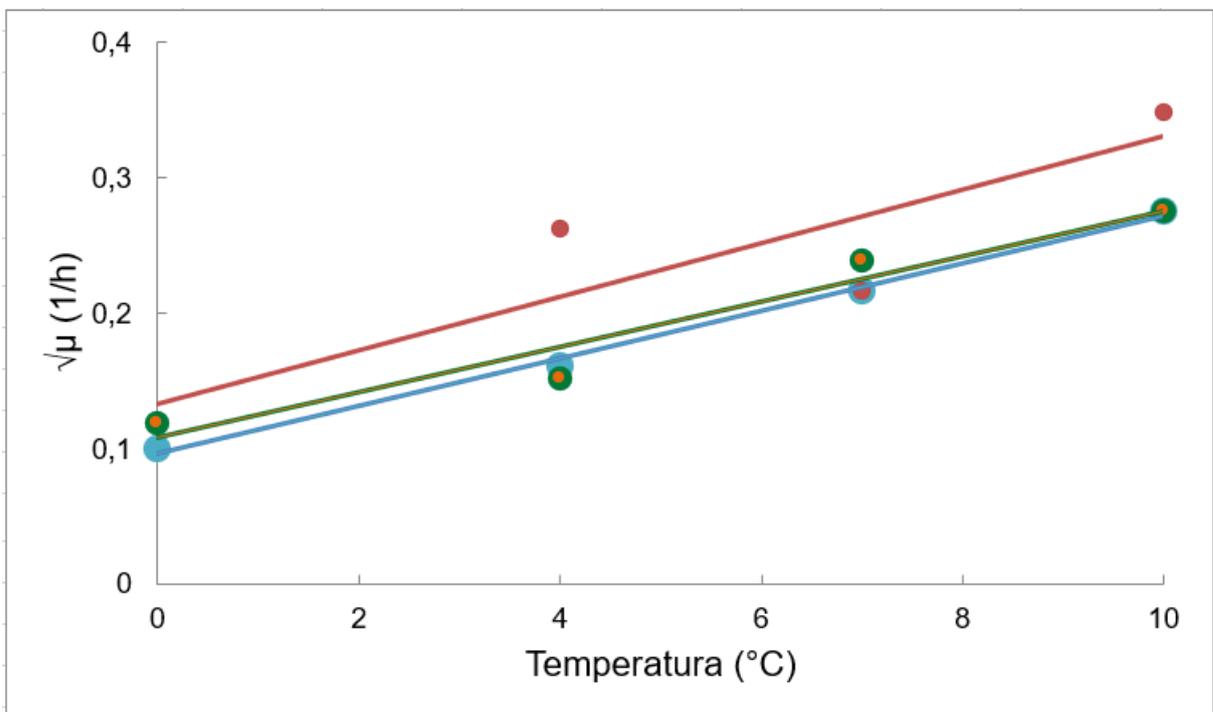
A análise das cargas microbiológicas iniciais (log UFC/g) de aeróbios mesófilos em CMS variou de 2,5 a 4,0, sendo inferiores ao encontrado por Xavier et al (1994) que obtiveram uma contagem de 4,5 log UFC/g em CMS de dorso de frango. A divergência entre os valores registrados neste estudo e aqueles relatados por Xavier et al. pode estar associada a diferenças nas práticas de manejo, armazenamento ou processamento do material.

Assim como para as enterobactérias, também foi calculado o parâmetro h_0 (Equação 8) para cada temperatura e Lote analisado. No Lote 1, para a temperatura de 7 °C, registrou-se um valor de h_0 de 0,28, enquanto no Lote 2, sob a mesma temperatura, o valor observado foi de 0,89. Ao comparar os resultados obtidos para as enterobactérias e para as bactérias mesófilas, apesar de ter padrões semelhantes, houve um aumento de 2,18 vezes maior para as bactérias mesófilas, enquanto para as enterobactérias foi 12,5 vezes maior, evidenciando que o parâmetro h_0 não permaneceu constante nas condições experimentais avaliadas e que ele varia significativamente para cada bactéria analisada.

5.3 INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NOS PARÂMETROS PRIMÁRIOS DE CRESCIMENTO

Os modelos secundários foram elaborados a partir dos resultados obtidos dos parâmetros primários de crescimento, conforme representado nas Tabelas 4, 5, 7 e 8. Dentre os modelos analisados, o modelo da Raiz Quadrada foi identificado como o mais adequado para descrever o impacto da temperatura sobre o parâmetro μ , em razão do melhor coeficiente de correlação (R^2). O ajuste do modelo aos dados experimentais é apresentado na Figura 9, levando em conta os dois tipos de bactérias nas condições de temperatura avaliadas. As equações derivadas do ajuste, assim como os índices estatísticos que avaliam a precisão do modelo, encontram-se detalhados na Tabela 10.

Figura 9 - Ajuste do Modelo da Raiz Quadrada para o parâmetro μ . Os pontos representam os dados experimentais para o Lote 1 enterobactérias (azul), Lote 2 enterobactérias (vermelho), Lote 1 bactérias mesófilas (verde) e Lote 2 bactérias mesófilas (laranja), respectivamente e as linhas os ajustes do modelo.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 13 - Modelo secundário da Raiz Quadrada para o parâmetro μ para cada condição dos lotes 1 e 2 de enterobactérias e bactérias mesófilas.

Enterobactérias					
Lote	$\mu_{m\acute{a}x} (h^{-0,5})$	Bias	Exatidão	RMSE ($h^{-0,5}$)	R²
1	$\sqrt{\mu} = 0,0176 \cdot (T + 5,46)$	1,00	1,05	0,0013	0,99
2	$\sqrt{\mu} = 0,0198 \cdot (T + 6,70)$	0,54	1,84	0,0279	0,98
Bactérias Mesófilas					
1	$\sqrt{\mu} = 0,0169 \cdot (T + 6,32)$	1,41	1,47	0,0297	0,98
2	$\sqrt{\mu} = 0,0167 \cdot (T + 6,48)$	0,99	1,15	0,0045	0,95

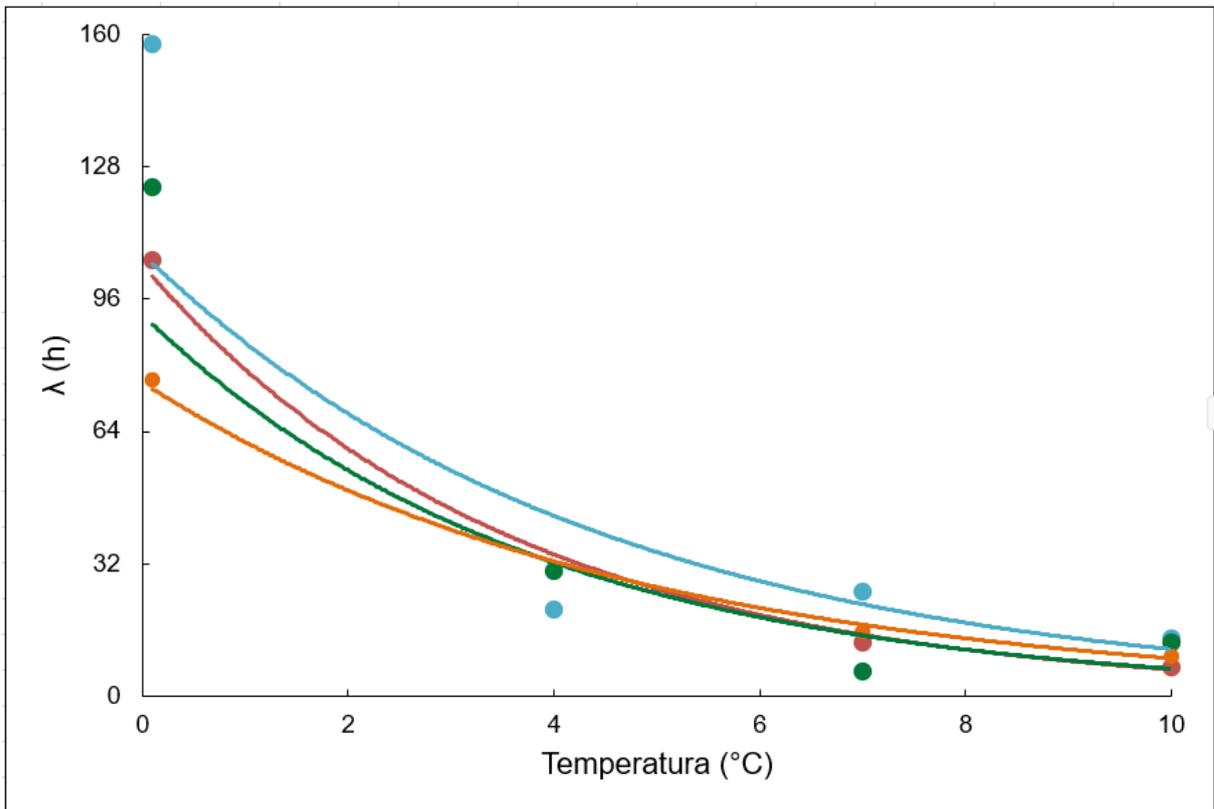
Fonte: elaborado pela autora (2024).

O modelo teve um bom ajuste os dados experimentais, com Bias, exatidão e R² próximo de 1 e RMSE próximo de 0. Este desempenho foi consistente em todas as condições analisadas.

Nas temperaturas estudadas, para as Enterobactérias, para o Lote 1 foi obtido um valor de R² e RMSE 0,99 e 0,0013, respectivamente e de 0,98 e 0,0279 para o Lote 2. Pessoa (2019) utilizou o Modelo da Raiz quadrada para descrever a multiplicação de *Salmonella*, da família das enterobactérias, em carne de frango em temperaturas entre 7 e 45°C, apresentando bom ajuste do modelo escolhido aos dados experimentais com R² e RMSE de 0,97 e 0,029, respectivamente.

Foi utilizado o modelo da Potência para descrever a influência da temperatura sobre o parâmetro λ a fim de avaliar o seu comportamento.

Figura 10 - Modelo secundário da Potência para o parâmetro λ . Os pontos representam os dados experimentais para o Lote 1 enterobactérias (azul), Lote 2 enterobactérias (vermelho), Lote 1 bactérias mesófilas (verde) e Lote 2 bactérias mesófilas (laranja), respectivamente e as linhas os ajustes do modelo.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Tabela 14 - Modelo secundário da potência para o parâmetro λ para cada condição dos Lotes 1 e 2 de enterobactérias e bactérias mesófilas.

Enterobactérias					
Lote	$\mu_{m\acute{a}x} (h^{-0,5})$	Bias	Exatidão	RMSE ($h^{-0,5}$)	R²
1	$\lambda = 105,57 \cdot T^{-0,223}$	0,37	2,7	44,34	0,99
2	$\lambda = 101,61 \cdot T^{-0,275}$	0,36	2,8	64,38	0,99
Bactérias Mesófilas					
1	$\lambda = 90,74 \cdot T^{-0,261}$	0,32	3,21	40,68	0,99
2	$\lambda = 70,39 \cdot T^{-0,209}$	0,45	2,23	64,38	0,99

Fonte: elaborado pela autora (2024).

Segundo Ross (1994), quando o fator BIAS apresenta valores menores do que 1, indica que o modelo subestima os dados, não sendo considerados seguros. Além disso, foram observados valores de RMSE acima de 40, variando de 44,34 a 64,38 $h^{-0.5}$ para as duas bactérias, sendo que um modelo ideal é aquele com fator igual a 1, quanto mais distante deste valor, maior será a variação do modelo. Um possível motivo é visto quando se observa os valores das fases lag das temperaturas mais baixas, 0 e 4 °C, dificultando o ajuste do parâmetro. Já para o fator Exatidão, o modelo ideal é aquele com fator igual a 1, quanto mais distante deste valor, maior será a variação do modelo, como foi visto no exposto trabalho.

Para o Modelo da Potência, o único parâmetro mais próximo de 1 foi o coeficiente de determinação (R^2), sendo que seus valores variam de 0 a 1, e quanto mais próximo de 1 maior é a segurança e ajuste do modelo.

6 CONCLUSÃO

O crescimento de enterobactérias e bactérias mesófilas em CMS foi observado em todas as condições de temperatura analisadas (0, 4, 7 e 10 °C). A presença de crescimento bacteriano em todas as temperaturas, ainda que de forma mais lenta em ambientes refrigerados, destaca a necessidade de adoção rigorosa de boas práticas higiênicas durante a produção. Níveis elevados de contaminação sinalizam falhas no processo produtivo, reforçando a importância dessas práticas.

Os resultados evidenciam que manter condições de refrigeração rigorosas, próximas a 0 °C, assim como salienta a INSTRUÇÃO NORMATIVA N ° 4, DE 31 DE MARÇO DE 2000 – SDA/MAPA, é fundamental para reduzir a taxa de crescimento bacteriano. Contudo, o controle da contaminação final depende também de práticas higiênicas adequadas. A integração de modelagem primária e secundária com os dados experimentais permitiu previsões mais precisas sobre a segurança microbiológica da CMS.

A partir dos crescimentos observados, foi confirmado que em diferentes valores de temperatura de refrigeração, impactam de forma expressiva o crescimento de enterobactérias e bactérias mesófilas. Em temperaturas mais elevadas (10 °C), o crescimento é acelerado, enquanto em condições refrigeradas (0 e 4 °C), a taxa de crescimento é reduzida. No entanto, a concentração final de bactérias pode ser significativa nessas condições devido a um maior tempo de adaptação e à capacidade de sobrevivência em longo prazo.

Observou-se que as variações na fase lag estão diretamente relacionadas ao estado fisiológico inicial h_0 das enterobactérias em cada lote, bem como às características intrínsecas da carne, que influenciam o processo de adaptação microbiana.

O Modelos matemáticos utilizados demonstraram elevada precisão na representação dos dados experimentais, com valores de Bias, exatidão e R^2 próximos a 1, além de um RMSE próximo de 0, mantendo um desempenho consistente em todas as condições avaliadas. Conforme os dados apresentados na Tabela 11, os parâmetros estimados mostraram variações entre os diferentes lotes e tipos de bactérias. No caso do Modelo da Potência, o coeficiente de determinação (R^2) destacou-se como o parâmetro mais próximo de 1, evidenciando um ajuste adequado e a confiabilidade do modelo.

Os modelos matemáticos utilizados para estimar o crescimento de microrganismos patogênicos em alimentos, como a CMS, desempenham um papel essencial na indústria de alimentos. Esses modelos possibilitam a simulação de cenários que podem comprometer a segurança alimentar, tornando as análises de risco mais rápidas e eficazes, além de oferecerem suporte para a ampliação da vida útil dos produtos.

REFERÊNCIAS

- ABDULLAH, B. & AL-NAJDAMI, R. Functional and sensory properties of chicken meat from spent-hen carcasses deboned manually or mechanically in Jordan. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 40, p. 537- 543, 2005.
- Abgrall, M. e Misner, S. Food Safety, Preparation and Storage Tips. Time and Temperature Make a Difference. Cooperative Extension, **College of Agriculture and Life Sciences**. The University of Arizona. 1998
- ANASTÁCIO, A. Microbiologia Preditiva Alimentar: As sinergias entre a microbiologia, a matemática e as tecnologias da informação. **Segurança e Qualidade alimentar [online]**, n.7, p.56-59, 2009
- ARCHILE, A.C. MARQUEZ, E.; BENITEZ, B; RANGEL, M. Calidad de la carne de pollo deshuesada mecanicamente. **An. Ven. Nut.**, v.13, n. 2, p. 88-93, 2000.
- ARROYO-LÓPEZ, F.N.; BAUTISTA-GALLEGO, J.; GARRIDO-FERNÁNDEZ, A. Role of predictive microbiology in food preservation. In: BHAT, R.; ALIAS, A.K.; PALIYATH, G. **Progress in Food Preservation. 1. ed. Wiley-Blackwell**, 10/01/2012. Capítulo 19. Wiley-Blackwell.
- BARANYI, J.; ROBERTS, T. A dynamic approach to predicting bacterial-growth in food. **International Journal of Food Microbiology**, v. 23, n. 3-4, p. 277-294, 1994.
- BERAQUET, N. J. Carne mecanicamente separada de aves. In: **SEMINÁRIO E CURSO TEÓRICO PRÁTICO, AGREGANDO VALOR A CARNE DE AVES, 2000**, Campinas. Anais... Campinas: ITAL, 2000. v. 1. CD-ROM
- BERNAERTS, K. et al. Modeling Microbial Responses in Food . In: **Modeling Microbial Responses in Food**. Washington, D.C.: CRC Press, p. 255-273, 2004.
- BRASIL. Brasil lidera ranking mundial de exportação de carne de frango. Disponível em: <https://www.gov.br/pt-br/noticias/financas-impostos-e-gestao-publica/2022/09/brasil-lidera-ranking-mundial-de-exportacao-de-carne-de-frango>.
- CARDOSO, A. L. S. P. et al. Pesquisa de Salmonella spp, coliformes totais, coliformes fecais, mesófilos, em carcaças e cortes de frango. **Higiene Alimentar**, 2005.
- CARVALHO, A. C. F. B. et al. Presença de microrganismos mesófilos, psicrotróficos e coliformes em diferentes amostras de produtos avícolas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 3, p. 303-307, 2005.
- CARVALHO, E. P. Microbiologia de alimentos, saúde pública e legislação. LAVRAS: UFLA/ FAEPE, 2001. 171p.
- ComBase. Disponível em: <<https://browser.combase.cc/>>. Acesso em: 30 Jul. 2024.
- CORRADINI, M. G. Modeling and predicting non-isothermal microbial growth using general purpose software. **International Journal of Food Microbiology**, v.106, p.223-226, 2006.

CULLEN, A. C.; FREY, H. C. **Probabilistic Techniques in Exposure Assessment**. v. 1, New York: Springer, 1999.

DA COSTA, Henrique Adriano Bruges. **Cadeia de Frio e Segurança Alimentar–Controlo Estatístico da Temperatura**. 2010. Tese de Doutorado. Universidade dos Acores (Portugal).

De Oliveira, M. S. R., de Lima Franzen, F., & Terra, N. N. (2014). Utilização da carne mecanicamente separada de frango para a produção de hidrolisados proteicos a partir de diferentes enzimas proteolíticas. **Semina:Ciencias Agrarias**, 35(1), 291–302. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2014v35n1p29>.

FONTANA, E. B.; VAZ, A. C.; ZANOTELLI, C.; YAMAGUCHI, M. O estudo da carne mecanicamente separada de aves (CMS) na qualidade da salsicha. In: **ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ**, 11., 2002, Maringá. Anais... Maringá: PIBIC/CNPq, 2002. CD-ROM.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2008. 93-98 p.

FRONING, G.W. Mechanically deboned poultry meat. **Food Technol.**, v.30, p. 50-63, 1976.

Galvão, A., & Pereira, T. (2010). USO DE CARNE MECANICAMENTE SEPARADA DE AVES E FIBRA DE COLÁGENO NA ELABORAÇÃO DE SALSICHAS.

GARCIA-MATAMOROS, E., ARROYO, E., JIMENEZ-COLMENERO, F., PELAEZ, M.C. **Influencia del lavado sobre la calidad microbiológica de la carne recuperada mecánicamente conservada em refrigeración**. Rev. Agroq. Tecnol. Aliment., v. 25, n. 1, p. 125-132, 1985

GARRE, A. et al. Package “biogrowth” Title Modelling of Population Growth. 23 ago. 2021.

HOLLEY, R. A.; GILL, C. O. Usos da embalagem em atmosfera modificada para carnes e produtos cárneos. Palestra. III Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Carnes, 27 a 29 de setembro, 2005.

HOLT, J.G.; KRIEG, N.R.; SNEATH, P.H.A.; STALEY, J.T.; WILLIAMS, S.T. Facultatively anaerobic gram-negative rods. In: Bergey’s Manual of determinative bacteriology. 9. ed., Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. 787p.

HUANG, L. A comprehensive data analysis tool for predictive microbiology. International Journal of Food Microbiology, v.171, p.100-107, 2014.

ICMSF – International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Utility of Microbiological Testing for Safety and Quality. In: **Microorganisms in Foods 8: Use of Data for Assessing Process Control and Product Acceptance**. Springer, New York, p. 3-11, 2011b.

KICH, J. D.; SOUZA, J. C. P. V. B. Salmonella na suinocultura brasileira: do problema ao controle. 1. ed. Brasília: **EMBRAPA**, 2015.

KRAUTIL, F.L., TULLOCH, J.D. **Microbiology of mechanically recovered meat**. J. Food Prot., v. 50, n. 7, p. 557-561, 1987.

KUMAR, S.; PEDERSEN-WISMER, J.; CASPERSEN, C. Effect of raw materials, deboning methods and chemical additives on microbial quality of mechanically deboned poultry meat during frozen storage. **Journal of Food Science and Technology**, v.23, n.4, p.217-220, 1986.

LONGHI, D. A. 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, SC, 2012.

MASSIA, Ana G. et al. Prior freezing impact on the growth kinetics of *Listeria monocytogenes* in hot dog sausages. **Food Control**, v. 157, p. 110186, 2024.

MERCIER, S. et al. Time–Temperature Management Along the Food Cold Chain: A Review of Recent Developments. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 16, n. 4, p. 647–667, 1 jul. 2017

McCLURE, P.J., BLACKBURN, C de W., COLE, M.B., CURTIS, P.S., JONES, J.E., LEGAN, J.D., OGDEN, I.D., PECK, M.W., ROBERTS, T.A., SUTHERLAND, J.P., WALKER, S.J. Review Paper. Modelling the growth, survival and death of microorganisms in foods: the UK Food Micromodel approach. **International Journal of Food Microbiology**, v.23, p.265-275, 1994.

MCMEEKIN, T. A. et al. Predictive microbiology: towards the interface and beyond. **International Journal of Food Microbiology**, v. 73, n. 2–3, p. 395–407, 11 mar. 2002.

Móri, C., Garcia, E. A., Andrighetto, C., & Pelícia, K. (2006). Carne de aves separada mecanicamente. REDVET. **Revista Electrónica de Veterinaria**, 7(4)

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.

NUNES, Tatiana Pacheco. Efeito da pré-cura na estabilidade microbiológica da carne mecanicamente separada e elaboração de um produto reestruturado de filés de peito de galinhas de descarte. Piracicaba, SP: **Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz**, 2003.

- PEREIRA, V. Avaliação de temperaturas em câmaras frigoríficas de transporte urbano de alimentos refrigerados e congelados. **Ciência e tecnologia de alimentos**. Campinas, 2010
- PESSOA, João Pedro Sequeira. Avaliação da multiplicação de salmonella spp. em carne de frango exposta a condições isotérmicas e não isotérmicas. 2019.
- RANJBARAN, M.; CARCIOFI, B. A. M.; DATTA, A. K. For Peer Review For P. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 2021.
- RATKOWSKY, D. et al. Relationship between temperature and growth rate of bacterial cultures. **Journal of Bacteriology**, v. 149, n. 1, p. 1-5, 1982.
- ROBAZZA, W. S. Modelagem Matemática do Crescimento de Microrganismos em Alimentos. **Universidade Estadual de Santa Catarina**, 2010.
- Rodrigues, C., de Carli, M., Helena De Souza Maran, M., & Palezi, S. C. (n.d.). Área: Ciência de Alimentos IMPACTO DA QUALIDADE DA CARNE MECANICAMENTE SEPARADA DE FRANGO EM EMBUTIDOS DE MASSA FINA.
- ROSS, T.; MCMEEKIN, T. A. Predictive microbiology. **International Journal of Food Microbiology**, v. 23, n. 3–4, p. 241–264, 1 nov. 1994.
- RYSER, E. T.; SCHUMAN, J. D. Mesophilic Aerobic Plate Count. In: SALFINGER, Y.; TORTORELLO, M. LOU (Eds.). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 5th. ed. Washington, D.C: **American Public Health Association**, 2015. p. 96–101.
- SCHAFFNER, D. W.; SMITH-SIMPSON, S. Indicator Organisms in Meat. **Encyclopedia of Meat Science**, Elsevier, 2014.
- SCHLEI, K. P. et al. Microbiologia preditiva: aspectos gerais e tendências. **Perspectivas da Ciência e Tecnologia**, v. 10, p. 52-68, 2018.
- SERRANO, A. et al. Visual evaluation of cattle cleanliness and correlation to carcass microbial contamination during slaughtering. **Meat Science**, [S.l.], v. 90, issue. 2, p. 502-506, fev. 2012.
- SILVA, Nathália Buss da et al. Modelagem matemática do crescimento de *Lactobacillus viridescens* sob condições não isotérmicas em presunto fatiado embalado a vácuo. 2015.
- SWINNEN, I. A. M. et al. Predictive modelling of the microbial lag phase: a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 2, p. 137–159, 15 jul. 2004.
- TRINDADE, M. A.; FELÍCIO, P. E.; CASTILHO, C. J. C. Mechanically separated meat of broilers breeder and white layer spent hens. *Scientia Agricola*. v. 61. n. 2.p. 234-239, 2004.
- VAN IMPE, J. F. et al. Dynamic mathematical model to predict microbial growth and inactivation during food processing. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 58, n. 9, p. 2901–2909, 1992.
- XAVIER, C.V.A.; BERAQUET, N.J. Vida-de-prateleira de carne mecanicamente separada de frango estocada sob refrigeração. **Coletânea do Instituto de**

Tecnologia de Alimentos, v.1, n.24, p.91-104, 1994.

ZWIETERING, M. H. et al. Modeling of the Bacterial Growth Curve. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, n. 6, p. 1875, 1990.