

**UFSC  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE  
ALIMENTOS**

**TESE DE DOUTORADO**

**USO DE ALTA PRESSÃO HIDROSTÁTICA EM PRESUNTO  
FATIADO: AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL E  
MODELAGEM DO CRESCIMENTO MICROBIANO**

**ADRIANA PAULA SLONGO**

**2008**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO TECNOLÓGICO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

**USO DE ALTA PRESSÃO HIDROSTÁTICA EM PRESUNTO  
FATIADO: AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL E  
MODELAGEM DO CRESCIMENTO MICROBIANO**

**ADRIANA PAULA SLONGO**

*Sob a Orientação da Professora Dra.*  
**Gláucia Maria Falcão de Aragão**

*e Co-orientação do Professor Dr.*  
**Amauri Rosenthal**

Tese de Doutorado apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em  
Engenharia de Alimentos da  
Universidade Federal de Santa  
Catarina.

FLORIANÓPOLIS, SC  
Abril de 2008.

Slongo, Adriana Paula

Uso de alta pressão hidrostática em presunto: avaliação físico-química e sensorial e modelagem do crescimento microbiano/ Adriana Paula Slongo - 2008.

163 f.

Orientador: Gláucia Maria Falcão de Aragão.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos.

Bibliografias:

**USO DE ALTA PRESSÃO HIDROSTÁTICA EM PRESUNTO FATIADO:  
AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL E MODELAGEM DO  
CRESCIMENTO MICROBIANO**

**Adriana Paula Slongo**

Tese de Doutorado submetida à banca examinadora para obtenção do título de **Doutor em Engenharia de Alimentos**, área de concentração de **Desenvolvimento de Processos na Indústria de Alimentos** através do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Centro Tecnológico, Departamento de Engenharia Química e de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.

---

Prof<sup>a</sup>. Dr. Alcilene Rodrigues Monteiro Fritz  
**Coordenador do CPGEA**

---

Prof<sup>a</sup>. Gláucia Maria Falcão de Aragão  
**Orientadora**

**Banca Examinadora**

**Gláucia Maria Falcão de Aragão**  
**Orientadora**

---

Dr. Amauri Rosenthal  
Co-orientador

---

Dra. Rosires Deliza  
Membro externo

---

Dr. Marcelo Cristianini  
Membro externo

---

Dra. Pilar Rodriguez de Massaguer  
Membro externo

---

Dr. João Borges Laurindo  
Membro interno

---

Dra. Sandra Regina Salvador Ferreira  
Membro interno suplente

Florianópolis, abril de 2008.

À minha amada mãe e ao meu pai  
Ao meu amor Bernardo

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus** pela força sempre presente em minha vida.

À EMBRAPA – CTAA, por ter fornecido toda a infraestrutura para a realização desta pesquisa, e por reunir profissionais com os quais a convivência certamente trouxe muitos conhecimentos que contribuíram de forma decisiva.

À FAPERJ, pela bolsa concedida sem a qual esta pesquisa não teria sido possível.

À FAPERJ/FINEP, pela aprovação do projeto desenvolvido.

À minha orientadora Dra Gláucia Maria Falcão de Aragão, pela orientação, pelas críticas, correções, apoio, e exemplo de uma ótima profissional.

Ao meu co-orientador Dr Amauri Rosenthal, por ter acreditado na minha capacidade, chamando-me para fazer parte desse projeto que é de extrema importância para a indústria de alimentos. Obrigada pela orientação, paciência, apoio, críticas e sugestões, pelo exemplo de garra e pela expressiva contribuição para minha formação profissional. Com certeza adquiri muitos conhecimentos em virtude disso.

À pesquisadora Dra Rosires Deliza, pela orientação durante o desenvolvimento dessa pesquisa, principalmente na parte sensorial, repassando-me valiosos ensinamentos, e, também, pela grande presteza, sempre me recebendo com muito carinho e atenção.

Aos membros da banca examinadora, Dra Pilar Rodrigues de Massaguer, Dr Marcelo Cristianini, Dr João Borges Laurindo e a Dra. Sandra Regina Salvador Ferreira, por fazerem parte deste momento.

À minha mãezinha Alexandrina Ângela De Carli, por seu discernimento, amor e ternura apaziguando meu coração nos momentos mais difíceis, e me incentivando, para que nunca me deixasse ser vencida pelos desafios da vida. A você minha mãe dedico este mérito, pois você sempre quis estudar, mas por falta de condições não pôde concluir nem o ensino fundamental, mas que viu em mim uma maneira de tornar o seu sonho realidade. Obrigada por tudo minha mãe, eu a amo muito!!

Ao meu pai, Geraldo Slongo, por seu apoio, dedicação, amor e sempre me mostrando à realidade da vida e como ela é difícil. A você meu pai que também não teve a chance de estudar, dedico integralmente este mérito. Eu também o amo muito!

Ao meu noivo, Bernardo Alberto Marcussi, pelo real e sincero amor que vem da certeza de sempre estarmos onde deveríamos estar...“**Um ao lado do outro**”. Meu amor, obrigada pelo apoio, compreensão e paciência, sempre presentes, mesmo que à distância, e também pelas traduções e revisões. Você foi e é a minha base de equilíbrio. Este trabalho também é seu.

Ao meu irmão Valdemar e minha cunhada Noemi e minhas irmãs e cunhados, respectivamente: Valdira e Jacinto, Lorena e Senésio, Renilda e Pedro, Nair e Germino, Leoni e Vilmar e Irdes e Adelar, obrigada pelo apoio, especialmente nos momentos difíceis pelos quais passamos, e pelos laços de amor que sempre são manifestados e estão sempre presentes mesmo que de longe. Estarei sempre pronta a ajudar e os amo muito!

A todos os meus sobrinhos (Juçara, Tatiana, Francisco, Emanuelle, Flávio, Matheus, Anita, Edson, Vanessa, Robson, Leonardo, Paulo, Lucimara, Juliana, João Vitor, Luciano, Cristiano, Fernando, Ângela e Larissa) pelo amor, paz, alegria e felicidade que transmitem não só quando estamos juntos, mas em todos os momentos de nossas vidas. Eu os amo muito, mas muito mesmo e podem contar comigo hoje e sempre principalmente, para estudar.

À minha sogra, Maria de Fátima Valentim Alberto, por quem tenho muita consideração, obrigada pelo carinho, amor e apoio. Você é uma pessoa muito especial, que sempre esteve ao meu lado, apoiando-me, mesmo à distância. É também um exemplo de

pessoa que apesar de todos os problemas, enfrenta as dificuldades da vida de cabeça erguida. Pode contar com a gente sempre.

Aos meus cunhados: Rafael e Gustavo, pelo amor, paz, alegria e felicidade que transmitem não só quando estamos juntos, mas em todos os momentos da vida de vocês. Podem contar com a gente hoje e sempre.

Aos queridos avós Norivaldo e Kilminha Alberto pelos momentos em que passamos juntos e pelo amor que transmitem aos demais. Tenho a certeza de que eu e o neto de vocês chegaremos a suas idades, esbanjando o mesmo amor que vocês têm um pelo outro. Nós amamos muito vocês!

Às minhas tias por tabela da família Alberto: Inês, Kilze e Lúcia pela atenção, pelos momentos de alegria e pelo exemplo de que podemos sempre ser lindas. Amamos muito vocês!

À querida vovó Iolanda Marcussi, a qual transmite um amor e uma paz muito grande. Querida Iolanda, tenho a certeza de que iremos conviver inúmeros momentos todos reunidos e felizes!

À Maria José e Rúbia também pelo exemplo de mulheres de fibra e garra e que sabem encerrar as dificuldades da vida de cabeça erguida. Amamos muito vocês!

À minha querida cunhada Maria Carolina, por ser uma pessoa meiga, doce, alegre e muito lindinha!

A todos os demais membros das famílias Alberto e Marcussi, que sempre que ajudaram e me apoiaram durante toda essa trajetória.

À carinhosa amiga MSc. Simone Pereira Mathias, pela amizade, brincadeiras e principalmente pela ajuda prestada durante todo o projeto. Com certeza esse trabalho é seu também.

À grande amiga Maria Manuela Camino Feltes, pela amizade, companheirismo, ajuda na tradução dos artigos e que além de todo apoio, me auxiliou em parte das análises laboratoriais.

A todos os meus bolsistas, Hugo, Fernandinha e Luana, pela amizade, companheirismo, disposição e auxílio nos experimentos.

À Prof.<sup>a</sup> MSc. Lourdes Maria Masson, pelo apoio e auxílio na parte estatística.

À Dra. Lourdes Maria Araújo Quaresma de Camargo (Zizi), pelas idéias brilhantes que me fizeram direcionar a tese para várias áreas diferentes. Muito obrigada Zizi pela atenção e apoio sempre prestado.

Aos técnicos da Embrapa Agroindústria de Alimentos: Aline Leandro, Cláudio, Zé Carlos, Willian, e em especial ao Sérgio (Filé), uma pessoa iluminada e sempre pronta a ajudar e me trouxe vários conhecimentos e sempre estava pronto para ajudar.

Aos meus provadores sensoriais treinados (Aline Leandro, Sérgio, Zé Carlos, Sidney, Mariana, David, Marcelly, Flávia Gomes e Priscila Leal) e aos consumidores não treinados por toda a disponibilidade e atenção nos testes de análise sensorial, pois representaram parte fundamental nesse estudo.

À pesquisadora da Embrapa – CTAA Dr<sup>a</sup>. Ângela Furtado, pelo auxílio com reagentes e orientação sobre literatura na parte de oxidação de lipídeos.

À pesquisadora da Embrapa – CTAA Dra. Regina Siqueira, pela recepção no laboratório, com explicações e auxílio sobre a literatura na área de microbiologia, pois foram de grande valia.

Ao pesquisador da Embrapa – CTAA MSc. Otniel Freitas Silva, pela gentil receptividade no laboratório de micotoxinas e auxílio sobre a literatura de atividade de água.

A pesquisadora da Embrapa – CTAA Dr<sup>a</sup>. Marília Stephan e Sidnéia Cordeiro, pela recepção no laboratório e auxílio com explicações sobre eletroforese SDS-PAGE e composição centesimal.

Aos técnicos da empresa – CTAA Mário Ferreira, Henriqueta, Marco Antunes, Selma e Flávia Gomes pela gentileza em me auxiliar nos experimentos.

Aos amigos do Laboratório de Engenharia Bioquímica da UFSC (ENGEBIO), Beatriz, Jaciane, Francielo, Mônica, Vanessa, Gisanara, Denise Moritz, Américo, Chalana e Francieli Dalcanton, pela amizade, auxílio no ambiente de laboratório e pelos momentos de alegria que levarei sempre comigo. Podem contar sempre comigo!

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO.....</b>	<b>2</b>
<b>CAPÍTULO II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>7</b>
<b>2.1 – TECNOLOGIA DE FABRICAÇÃO DE PRESUNTO .....</b>	<b>7</b>
2.1.1 – EMBALAGENS E O PROCESSAMENTO DE PRESUNTO COOK-IN .....	7
2.1.2 – INGREDIENTES UTILIZADOS NA FABRICAÇÃO DE PRODUTOS CÁRNEOS (PRESUNTO) .....	9
<b>2.2 – BACTÉRIAS ÁCIDO LÁCTICAS .....</b>	<b>11</b>
<b>2.3 - TECNOLOGIA DE ALTA PRESSÃO HIDROSTÁTICA.....</b>	<b>12</b>
2.3.1 - ALTERAÇÕES NAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS .....	13
2.3.2 - ALTERAÇÕES DAS PROPRIEDADES DAS PROTEÍNAS DA CARNE .....	16
2.3.3 – OXIDAÇÃO LIPÍDICA.....	17
2.3.4 - INATIVAÇÃO DE MICRORGANISMOS .....	18
2.3.5 – APLICAÇÃO DA APH NA INDÚSTRIA DE CARNES E DERIVADOS CÁRNEOS .....	20
<b>2.5 – ANÁLISE SENSORIAL DE ALIMENTOS .....</b>	<b>23</b>
2.5.1 - MÉTODOS DA ANÁLISE SENSORIAL.....	24
2.5.1.1 – ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA .....	24
2.5.1.2 – TESTE DE PREFERÊNCIA.....	25
<b>2.6 - MICROBIOLOGIA PREDITIVA.....</b>	<b>27</b>
2.6.1 - MODELOS PREDITIVOS.....	29
2.6.2 - MODELOS SECUNDÁRIOS.....	32
2.6.3 – ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS MODELOS PREDITIVOS.....	33
<b>CAPÍTULO III – MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>36</b>
<b>3.1 – PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE PRESUNTOS PRESSURIZADOS E NÃO PRESSURIZADOS.....</b>	<b>36</b>
3.1.1 - OBTENÇÃO DAS MASSAS DE PRESUNTO.....	36
3.1.2 – PROCESSAMENTO PARA OBTENÇÃO DAS MASSAS DE PRESUNTO.....	36
3.1.3 – FATIAMENTO E EMBALAGEM A VÁCUO DAS MASSAS DE PRESUNTO .....	37
3.1.4 – PROCESSAMENTO A ALTA PRESSÃO .....	38
<b>3.2 – ACOMPANHAMENTO MICROBIOLÓGICO DA VIDA DE PRATELEIRA (600 MPa - 05 MINUTOS) 39</b>	<b>39</b>
3.2.1 – MODELAGEM DO CRESCIMENTO MICROBIANO .....	40
<b>3.3 – PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL FRACIONÁRIO .....</b>	<b>40</b>
3.3.1 - ANÁLISE MICROBIOLÓGICA .....	41
3.3.2 – ACOMPANHAMENTO DA VIDA DE PRATELEIRA .....	41
3.3.3 – MODELAGEM DO CRESCIMENTO MICROBIANO .....	41
<b>3.4 – EFEITO DA TEMPERATURA DE ARMAZENAMENTO NA VIDA DE PRATELEIRA DE PRESUNTO...42</b>	<b>42</b>
<b>3.5 – ESTUDO DO EFEITO DA ALTA PRESSÃO EM MICRORGANISMOS PATOGENICOS.....42</b>	<b>42</b>
<b>3.6 – ANÁLISE DE PROTEÍNAS PELA TÉCNICA DE ELETROFORESE SDS-PAGE.....43</b>	<b>43</b>
<b>3.7– ANÁLISE DE PH.....44</b>	<b>44</b>
<b>3.8 – ANÁLISE DE ATIVIDADE DE ÁGUA.....44</b>	<b>44</b>
<b>3.9– ANÁLISE DE COMPOSIÇÃO CENTESIMAL .....</b>	<b>45</b>
<b>3.10 – ANÁLISE INSTRUMENTAL DE COR .....</b>	<b>46</b>
<b>3.11 – ANÁLISE DE OXIDAÇÃO LIPÍDICA .....</b>	<b>48</b>
3.11.1 - DETERMINAÇÃO DA OXIDAÇÃO LIPÍDICA PELO TESTE DE TBA .....	48
3.11.2 - DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE PERÓXIDOS .....	50
<b>3.12 – ANÁLISE SENSORIAL .....</b>	<b>51</b>
3.12.1 – TESTE DE PREFERÊNCIA, INTENÇÃO DE COMPRA E ANÁLISE DESCRITIVA QUANTITATIVA – ADQ. ....	51

<b>CAPÍTULO IV – RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>56</b>
<b>4.1.1 – RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>58</b>
MSE .....	58
<b>4.3 – EFEITO DA TEMPERATURA SOBRE OS PARÂMETROS DE CRESCIMENTO DE BACTÉRIAS LÁCTICAS EM PRESUNTO TRATADO POR ALTA PRESSÃO HIDROSTÁTICA</b> .....	<b>67</b>
<b>EFEITO DA TEMPERATURA SOBRE OS PARÂMETROS DE CRESCIMENTO DE BACTÉRIAS LÁCTICAS EM PRESUNTO TRATADO POR ALTA PRESSÃO HIDROSTÁTICA</b> .....	<b>69</b>
<b>4.5 - CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS E PREFERÊNCIA DO CONSUMIDOR DE PRESUNTO PROCESSADO POR ALTA PRESSÃO HIDROSTÁTICA</b> .....	<b>107</b>
<b>CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS E PREFERÊNCIA DO CONSUMIDOR DE PRESUNTO PROCESSADO POR ALTA PRESSÃO HIDROSTÁTICA</b> .....	<b>108</b>
Amostas .....	118
Referências Bibliográficas .....	124
<b>4.6 - PREFERÊNCIA E INTENÇÃO DE COMPRA DE PRESUNTO PRESSURIZADO</b> .....	<b>128</b>
<b>PREFERÊNCIA E INTENÇÃO DE COMPRA DE PRESUNTO PRESSURIZADO</b> .....	<b>129</b>
<b>CAPÍTULO VI – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>144</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 2.1</b> - Fluxogramas do processo convencional e do processo “cook-in” (Arima e Neto, 1995).	9
<b>FIGURA 2.2</b> – Alterações da molécula de mioglobina (Faria, 2001).	12
<b>FIGURA 2.3</b> - Curva de crescimento de <i>Lactobacillus</i> sp em produtos cárneos, como presunto cozido fatiado e embalado a vácuo (Espuma, 2008).	29
<b>FIGURA 3.1</b> - Autoclave (A), controlador de temperatura (B) formas com presunto (C). 46	
<b>FIGURA 3.2</b> - Processo de fatiamento das amostras de presunto e selamento a vácuo.	46
<b>FIGURA 3.3</b> – Equipamento de APH marca Stated Fluid Power e modelo S-FL-850-9-W.	48
<b>FIGURA 3.4</b> – Processo de alta pressão hidrostática em presunto fatiado.	48
<b>FIGURA 3.5</b> - Amostra controle e pressurizada no recipiente (a); Equipamento Higrômetro Eletrônico Novasina Aw-Center com amostra dentro da célula.	55
<b>FIGURA 3.6</b> - Equipamento de cor S & M Colour Computer modelo SM – 4 – CH utilizado para as análises de L* e a*.	57
<b>FIGURA 3.7</b> - Metodologia de TBA: extração e leitura em espectrofotômetro.	59
<b>FIGURA 3.8</b> - Presunto de controle e pressurizada para oxidação de lipídeos	61

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 2.1</b> – Produtos disponíveis no mercado tratados com a alta pressão hidrostática.	29
<b>TABELA 3.1.</b> Níveis e fatores utilizados no planejamento experimental fracionário para presunto fatiado pressurizado embalado a vácuo.	50
<b>TABELA 3.2.</b> Ensaios do planejamento experimental $2^2$ com triplicata no ponto central para presunto fatiado pressurizado embalado a vácuo.	50

## RESUMO

A alta pressão hidrostática (APH) consiste em uma tecnologia inovadora que possui vantagens em relação às tecnologias convencionais. Ela promove o aumento da vida de prateleira dos produtos, assim como provoca mínimas mudanças nas características sensoriais dos mesmos, mantendo suas características sensoriais próximas às originais. As bactérias ácido lácticas (BAL) fazem parte da população de maior importância na deterioração em produtos cárneos embalados a vácuo estocados sob refrigeração, especialmente presunto, exercendo significativa influência na qualidade desses produtos, podendo levar ao aparecimento de limosidade superficial, exsudação de líquidos, odores desagradáveis, aumento da rancidez e esverdeamento. A microbiologia preditiva pode ser aplicada na determinação e na previsão da vida de prateleira de alimentos perecíveis, baseado na cinética de crescimento microbiano. A análise sensorial é de extrema importância na avaliação da preferência de um novo produto, pois é necessário saber se o consumidor irá aprová-lo ou reprová-lo para, posteriormente, comercializá-lo. Na presente pesquisa, foram realizadas diversas análises (microbiológicas, físicas, químicas e sensoriais) em presunto controle (não pressurizado) e pressurizado para se verificar possíveis alterações físico-químicas, sensoriais e microbiológicas e estimativa da vida de prateleira deste novo produto. As análises microbiológicas realizadas foram as exigidas pela legislação brasileira (*Salmonella* sp, *Staphylococcus* coagulase positiva, coliformes a 45°C, *Clostridium* sulfito redutor). Modelos preditivos foram utilizados para modelagem das curvas de crescimento de bactérias ácido lácticas em presunto controle e pressurizado, em diferentes temperaturas de armazenamento. Os resultados demonstraram que o processo de APH aumentou significativamente a vida de prateleira deste produto e que este aumento foi tanto maior quanto menor foi a temperatura de armazenamento. Foram realizadas análises físicas e químicas de cor, pH, atividade de água, índice de peróxido, ácido tiobarbitúrico (TBA), eletroforese, umidade, proteína total, cinzas, extrato etéreo, carboidratos totais e perfil de proteínas através do uso da eletroforese SDS-PAGE. Pôde-se verificar que o processo de APH causou mudanças no índice de peróxido, (TBA) e na eletroforese. Os demais parâmetros analisados não foram afetados pela aplicação de APH. As análises sensoriais foram à análise descritiva quantitativa (ADQ), teste de preferência e intenção de compra. O processo APH afetou pouco as propriedades sensoriais do presunto fatiado, que teve boa preferência pelos consumidores. Com estes resultados, foi possível verificar que a APH foi eficaz, pois, causou poucas alterações físico-químicas e proporcionou boa preferência sensorial, podendo ser aplicado ao produto em questão e usado comercialmente.

**Palavras-chave:** Alta Pressão Hidrostática, presunto, bactérias ácido lácticas, microbiologia preditiva, análise sensorial, consumidor.

## ABSTRACT

High hydrostatic pressure (HPP) is an innovative technology that has advantages compared to conventional technologies. It extends the shelf-life of food products preserving sensory characteristics. Lactic acid bacteria (LAB) are of major importance for the spoilage of vacuum packed meat products stored under refrigeration, especially ham, since it greatly influences the product quality, being responsible for slime production and greening. Predictive microbiology can be applied to determine and predict shelf-life of spoilable food, such as hams treated with new technologies like HHP, based on the kinetics of microbial growth. Sensory analysis is very important for the evaluation of the sensory acceptance of a new product: it is necessary to know whether the consumer approves or disapproves the new product to find out if it can be considered suitable or not for commercialization. In this research, microbiological, physical, chemical and sensory analyses were carried out to access possible changes in the ham samples and determine their shelf-life. The microbiological analyses carried out were *Salmonella sp.*, coagulase-positive staphylococci, coliforms at 45°C, and sulfite reducer *Clostridium*. Primary and secondary predictive models were used to model the growth curves of lactic acid bacteria on the control sample (not pressurized) and on the pressurized sample, stored under different temperatures. The results showed that the HHP process significantly increased the shelf-life of the product; mainly at low storage temperatures. Physical and chemical analyses carried out included color, pH, water activity, peroxide index, thiobarbituric acid (TBA), protein profile using electrophoresis (SDS-PAGE), water content, total protein, ashes, lipid content and total carbohydrates. It could be observed that this process was responsible for changes in the peroxide index, thiobarbituric acid production (TBA), and electrophoretic profile. The other studied parameters were not affected by the HHP treatment. Sensory analyses included quantitative descriptive analysis, preference test and intention to purchase. It could be observed that the HHP process significantly increased the shelf-life of ham preserving sensory characteristics, what may explain the good acceptance levels obtained in this research. The results showed that the HHP process was slightly changed physical and chemical parameters and, therefore, was responsible for good sensory acceptance levels being considered suitable for commercial purposes.

**Key-words:** High Hydrostatic Pressure, ham, lactic acid bacteria predictive microbiology, sensory analysis, consumer.

***CAPÍTULO I –  
INTRODUÇÃO***

## ***CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO***

O grande desafio atual que as indústrias de alimentos enfrentam é o desenvolvimento de produtos alimentícios com qualidade e que possam trazer benefícios à saúde do consumidor.

O consumidor, cada vez mais exigente em face da globalização e do avanço tecnológico, passou a exigir cada vez mais, alimentos que sejam de preparo e consumo facilitado, com qualidade superior, com características de um produto menos industrializado e que não tragam riscos à saúde.

A economia brasileira apresenta um crescimento expressivo na área da agroindústria e as novas tecnologias são promissoras, principalmente por aumentarem a produtividade aliada à preocupação com a qualidade e com a questão ambiental. O conhecimento técnico e científico é fundamental para que as empresas nacionais estejam preparadas para implantação dessas tecnologias e possam competir em um mercado competitivo e sejam bem sucedidas.

A crescente demanda do mercado consumidor por produtos de mais alta qualidade, revela a necessidade da utilização de tecnologias que propiciem seguridade microbiológica na produção, aumentando a vida útil dos produtos alimentícios, e ainda proporcione mínimas alterações na qualidade nutricional e sensorial dos alimentos.

Além de preservarem as características do alimento, as novas tendências em tecnologia devem buscar também a sustentabilidade para o meio ambiente, revelando uma preocupação com o equilíbrio entre a produção e o consumo de alimentos. Uma das conseqüências desta demanda é um crescente interesse por tecnologias de processamento/conservação que não provoquem alterações indesejáveis no alimento e também não agridam o meio ambiente, denominadas de “tecnologias não convencionais”, “tecnologias emergentes”, “tecnologias inovadoras”, “tecnologias limpas” ou “tecnologias de baixo impacto ambiental”. Dentre estas tecnologias, destacam-se o tratamento ôhmico, o processamento por campos eletromagnéticos, a tecnologia de ultra-som, a irradiação ionizante, a esterilização por membranas e, em especial, a tecnologia de alta pressão hidrostática. Conseqüentemente, a partir destas novas tecnologias surgem novos produtos, e o julgamento e a preferência destes pelo consumidor é o que certamente vai determinar o sucesso ou fracasso comercial, representando, desse modo, a avaliação da tecnologia utilizada e o produto final obtido.

A segurança microbiológica e a preferência de um produto pelo consumidor advindo de uma tecnologia nova é um dos principais objetivos para a indústria de alimentos. Atingir o sucesso no lançamento de novos produtos é essencial para todas as empresas cujo mercado consumidor é dinâmico e ávido por novidades, exigindo que as prateleiras dos supermercados sejam continuamente renovadas.

Algumas pesquisas têm se baseado nas respostas dos consumidores com o objetivo de estudar a aceitabilidade de determinados produtos, exatamente porque a percepção de qualidade, seguridade, confiabilidade, e consciência em relação à tecnologia que foi utilizada para a obtenção daquele determinado produto, assim como as vantagens e desvantagens, associadas aos possíveis riscos, certamente refletirão na intenção de compra e posterior consumo.

Desta maneira, para avaliar um novo produto desenvolvido através de tecnologias inovadoras é de fundamental importância, tanto conhecer o produto em relação às características sensoriais, através de testes sensoriais de análise descritiva quantitativa (ADQ), assim como investigar a preferência pelo público alvo (testes sensoriais de preferência e intenção de compra), considerando acima de tudo que o produto seja adequado do ponto de vista microbiológico. No caso da tecnologia de Alta Pressão Hidrostática (APH), não foi relatado até o momento estudos sensoriais de produtos cárneos que foram submetidos a essa nova tecnologia inovadora, para verificar a resposta do consumidor frente a esta nova tecnologia.

Com o propósito de aumentar a vida de prateleira de alimentos, a tecnologia de APH vem sendo muito estudada, pois se trata de um método não-térmico de processamento. O tratamento a altas pressões causa a injúria de microrganismos e a inativação de enzimas, enquanto deixa intactas moléculas pequenas, como a maioria das vitaminas e os compostos voláteis, que conferem sabor e aroma aos alimentos. Essa tecnologia possui ainda a vantagem de aumentar a vida de prateleira de alimentos processados industrialmente.

Para o consumidor, o final da vida de prateleira de um produto se configura quando o alimento não possui segurança e/ou aparência, aroma e sabor aceitáveis. A vida de prateleira, do ponto de vista microbiológico, depende do número de microrganismos, na sua maioria bactérias, inicialmente presentes e de seu subsequente crescimento. Durante o armazenamento, fatores ambientais como: temperatura, atmosfera gasosa, pH e teor de sal (NaCl) irão selecionar uma determinada bactéria e afetar sua taxa de crescimento e atividade. A vida de prateleira de produtos cárneos refrigerados pode variar de dias até diversos meses.

As bactérias ácido lácticas (BAL) abrangem um grupo complexo de microrganismos microaerófilos associados às plantas, carnes e produtos lácteos, podendo produzir uma diversidade de compostos antagônicos ao crescimento de outras bactérias. Essas bactérias fazem parte da microflora natural de muitos produtos cárneos armazenados à temperatura de refrigeração e embalados a vácuo. As bactérias ácido lácticas toleram baixos valores de pH, presença de NaCl e sais de cura, produzindo odores e sabores desagradáveis, além de descolorir e formar limo na superfície dos produtos.

A microbiologia preditiva é uma área promissora e em rápido desenvolvimento, tendo recebido expressiva atenção científica nos últimos anos, fornecendo base de dados e para alimentar pacotes de *softwares* que podem ser ferramentas úteis na análise de riscos de produtos alimentícios. Os modelos da microbiologia preditiva são usados na descrição do comportamento de microrganismos a diferentes condições físico-químicas, como também podem ser usados para prever a segurança microbiana e a vida de prateleira de produtos alimentícios. A utilização da microbiologia preditiva também pode ser uma ferramenta útil para prever a vida de prateleira de alimentos produzidos com novas tecnologias. Dentre estas novas tecnologias, a tecnologia de APH tem recebido um expressivo destaque, por ser uma tecnologia limpa e, principalmente, pela sua alta eficiência na inativação de microrganismos patogênicos e deteriorantes.

A APH representa um atrativo nos processos não-térmicos para o processamento de carnes, especialmente com relação à contaminação pós-processamento, pois o produto embalado pode ser tratado. No entanto, há poucos estudos até o momento empregando esta tecnologia no aumento da vida de prateleira de presuntos fatiados e não há nenhum estudo de aumento da vida de prateleira de produtos cárneos utilizando a tecnologia de alta pressão hidrostática em conjunto com a microbiologia preditiva.

Produtos cárneos adicionados de nitrato ou nitrito, e que sofrem o processo de cozimento, são bons produtos a serem pressurizados porque a cor vermelha, devido à formação de nitrosohemocromo, não é afetada pelo processo de alta pressão hidrostática.

Vários estudos vêm sendo realizados com a utilização da técnica de eletroforese SDS-PAGE (eletroforese em gel de poliacrilamida, contendo dodecil sulfato de sódio) com o objetivo de se verificar os efeitos da APH nas proteínas miofibrilares de diferentes tipos de carnes. No entanto, não há estudos relacionando esses efeitos em derivados cárneos como presunto.

Dentro deste contexto, esta pesquisa objetivou acompanhar a vida de prateleira do presunto fatiado submetido à APH, utilizar modelos preditivos de crescimento de

microrganismos para estimar essa vida de prateleira, e ainda avaliar as características físicas químicas e sensoriais desse produto submetido à APH.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo Geral**

Formular e produzir presunto suíno, seguindo as tecnologias pré-existentes, e submetê-lo ao tratamento com alta pressão hidrostática, visando o aumento da vida de prateleira. Avaliar as características sensoriais e os parâmetros físico, químicos, microbiológicos e estimar a vida de prateleira através de modelos preditivos.

### **Objetivos Específicos**

- Avaliação do crescimento de microrganismos deteriorantes e patogênicos em presunto pressurizado;
- Determinação da melhor condição de pressão e de tempo de pressurização e utilização de modelos preditivos primários (planejamento experimental);
- Estudo do efeito da temperatura de armazenamento nos parâmetros microbiológicos de crescimento de BAL em presunto pressurizado obtido da melhor condição (experimento 2);
- Realização de análises físicas e químicas em presunto pressurizado;
- Levantamento de atributos sensoriais de presunto pressurizado;
- Teste de preferência e intenção de compra do presunto pressurizado em comparação com os demais.

***CAPÍTULO II –***

***REVISÃO BIBLIOGRÁFICA***

## **CAPÍTULO II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 – Tecnologia de fabricação de presunto**

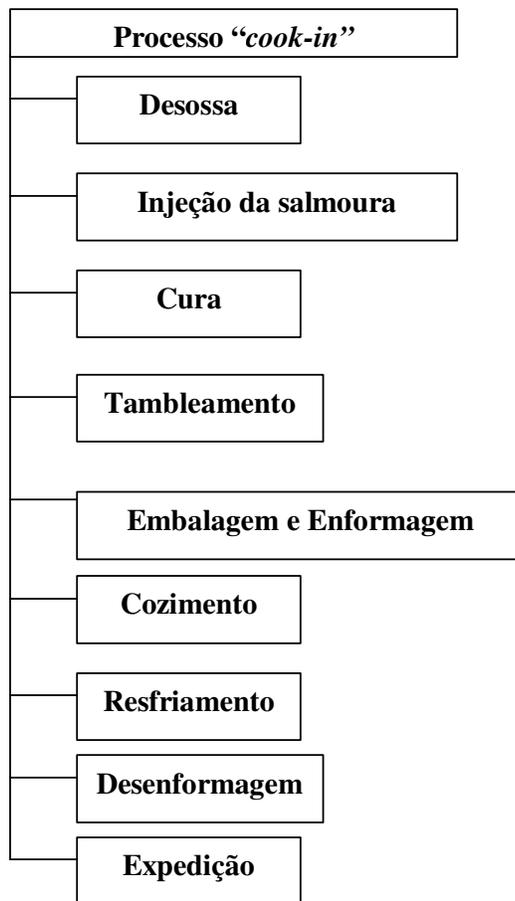
#### **2.1.1 – Embalagens e o processamento de presunto “cook-in”**

A embalagem influencia na qualidade e durabilidade de carnes frescas e de produtos cárneos, pois altera o ambiente ao redor do produto, podendo criar condições que retardam as reações de deterioração. Segundo Sarantópoulos et al. (2003), ela previne a evaporação da umidade do produto, evita perdas de peso e alterações de aparência, aroma e textura. No entanto, somente o uso de embalagem adequada não é suficiente para garantir vida de prateleira prolongada e a satisfação do consumidor. Várias alterações indesejáveis ocorrem nos alimentos embalados que devem ser solucionadas como, por exemplo, com a utilização de novas tecnologias que satisfaçam as exigências das indústrias de carnes e dos consumidores desses produtos.

Dentre as tecnologias modernas de processamento de carnes, poucas tiveram tanto impacto na indústria como a do cozimento do produto dentro de embalagens plásticas, tipo saco ou termoformadas, que normalmente são utilizadas como a própria embalagem de consumo. Esta tecnologia de cozimento dentro da embalagem, chamada de “*cook-in*”, é utilizada, principalmente, na fabricação de presunto cozido e apresuntados, e garante uma vida de prateleira maior a esses produtos, aliadas com uma boa embalagem (Arima e Neto, 1995).

O fluxograma do processamento de presunto cozido decorrentes da implantação do sistema “*cook-in*” é representado na Figura 2.1.

Ao contrário do sistema convencional, em que ocorrem perdas de água, gordura e proteínas solúveis durante o cozimento, no sistema “*cook-in*” não pode haver separação de substâncias, pois elas ficariam acumuladas entre a carne e a película plástica, prejudicando o visual do produto (Arima e Neto, 1995).



**Figura 2.1** - Fluxogramas do processo convencional e do processo "cook-in" (Arima e Neto, 1995).

As carnes utilizadas na fabricação do presunto (pernil suíno) são preparadas separando-se os músculos do pernil, retirando-se os tendões, nervos e excesso de gordura. Nesta etapa, os referidos aditivos e condimentos, que serão utilizados na elaboração da salmoura, são pesados. Após a pesagem e conferência dos ingredientes, inicia-se a diluição dos mesmos na água da formulação e o preparo da salmoura, sempre mantendo sob agitação constante até completa dissolução de todos os ingredientes (Lawrie, 1998). Em seguida, ocorre a injeção da salmoura em uma injetora. A quantidade de salmoura que deve ser injetada, não deve ser superior a 23% do peso total do produto (Arima e Neto, 1995). Posteriormente, as carnes injetadas são mantidas em cura nas câmaras de refrigeração durante 24 horas.

Após o tempo de descanso, as carnes são colocadas no “tambler”, para o processo denominado tambleamento. Este processo tem por finalidade fazer com que ocorra a extração das proteínas miofibrilares (actina e miosina), as quais têm a função de dar a liga aos pedaços de carne após o cozimento (Arima, 1995).

O processamento térmico (cozimento) das peças é realizado em estufas com escalonamento de temperaturas, até o produto atingir a temperatura de 68°C internamente. Nessa etapa, ocorre a destruição da maior parte das células vegetativas dos microrganismos. O perigo consiste na possibilidade de sobrevivência e/ou multiplicação de microrganismos patogênicos, caso o tratamento térmico seja insuficiente. Para evitar esse perigo é importante o controle da temperatura final do produto através de equipamentos que façam o controle da temperatura interna do mesmo (Pardi et al., 1996).

O resfriamento desempenha papel importante no processo “*cook-in*”. É imprescindível, para a qualidade do produto, que a redução da temperatura interna do mesmo seja rápida. Por isso, após o cozimento, as peças são submetidas ao resfriamento em água com gelo durante 40 minutos. Em seguida, ainda nas formas, os presuntos são transferidos para câmaras de resfriamento por 24 horas. Não se deve desenformar presuntos ainda quentes, pois, apesar do resfriamento, a peça continua com elevada temperatura interna, o que pode prejudicar a estrutura do produto, principalmente a fatiabilidade. Os presuntos são estocados em câmara de 0°C a 5°C, até a comercialização (Arima e Neto, 1995).

### **2.1.2 – Ingredientes utilizados na fabricação de produtos cárneos (presunto)**

As substâncias utilizadas na elaboração de produtos cárneos incluem: ascorbatos, polifosfatos, nitrito e nitrato, sal e açúcar.

Os polifosfatos são empregados como compostos sódicos ou potássicos de ácido pirofosfórico. Os polifosfatos, quando combinados com outros compostos alcalinos, atuam sinergicamente, aumentando os rendimentos de presunto e outros produtos cárneos (Ordóñez et al., 2005).

O nitrato e o nitrito são componentes obrigatórios nos processos de cura de carnes processadas. São classificados como conservadores devido à ação sobre o *Clostridium botulinum* e *Clostridium perfringens* e conferem às carnes a coloração rosada característica dos produtos curados, devido à sua ação sobre a mioglobina (Pardi et al., 1996).

Os níveis de  $\text{NaNO}_2$  necessários para ocorrência dos diversos efeitos do seu emprego em produtos cárneos variam de 30 a 50 ppm para o desenvolvimento de cor; 20 a 40 ppm para desenvolvimento de aroma; 80 a 150 ppm para efeito conservante, e níveis entre 20 e 50 mg nitrito/kg de produto para efeito antioxidante (Cichoski et al., 2004).

A nitrosomioglobina de cor vermelho-róseo é o pigmento responsável pela coloração atrativa encontrada nos produtos cárneos curados não tratados pelo calor. Frente ao tratamento térmico, a cor é estabilizada pela desnaturação da porção protéica da mioglobina, resultando na formação de um composto altamente estável devido à formação de ligações covalentes denominado de nitrosohemocromo, de cor rosa (Varnam e Sutherland, 1995). Este pigmento, apesar de termoestável, é susceptível às reações de oxidação, que resultam na formação de purpurinas verdes, amarelas ou sem cor. A Figura 2.2 apresenta a passagem da oximioglobina a nitrosohemocromo em carnes processadas termicamente.

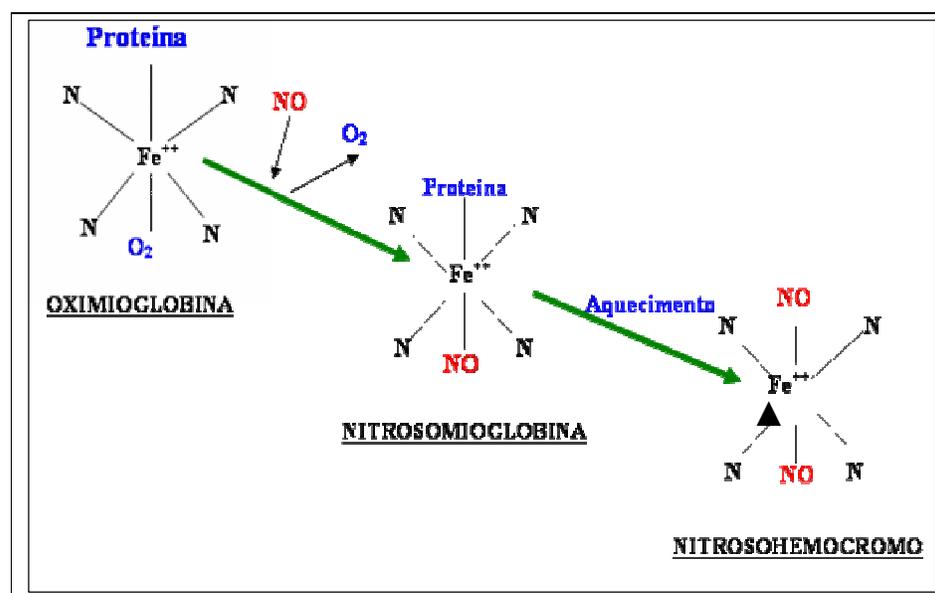


Figura 2.2 – Alterações da molécula de mioglobina (Faria, 2001).

O sal tem uma participação muito importante no processo de solubilização das proteínas da carne. As proteínas sarcoplasmáticas e as miofibrilares são solúveis em soluções salinas. Portanto, o sal tem uma importância fundamental na solubilização das proteínas do interior do músculo para a superfície (ITAL, 1995).

Não se pode considerar que o efeito inibitório do cloreto de sódio frente aos microrganismos seja somente devido à diminuição da atividade de água. Ele apresenta um efeito inibitório também devido aos íons  $\text{Na}^+$ . Com algumas exceções, microrganismos que

são sensíveis a níveis reduzidos de atividade de água também são sensíveis à inibição por íons  $\text{Na}^+$  (Varnam e Sutherland, 1998). Através do aumento da força iônica, o sal aumenta a solubilidade das proteínas musculares, favorecendo assim a manifestação das suas propriedades tecnológicas (poder emulsificante, ligante e outros) (Girardi, 1991).

O sal também desempenha um papel fundamental no desenvolvimento das propriedades sensoriais, tanto na textura como no sabor e muito provavelmente no aroma do produto final devido às suas características prooxidantes (Guerrero et al., 2000).

## **2.2 – Bactérias ácido lácticas**

O ponto de deterioração de produtos cárneos pode ser definido por um nível aceitável de bactérias presentes, ocorrência de odores indesejáveis ou pela aparência inaceitável. A vida de prateleira depende do número e do tipo de microrganismos, na sua maioria bactérias, inicialmente presentes e seu crescimento subsequente. A contagem bacteriana inicial de mesófilos, em carnes e em produtos cárneos processados é de aproximadamente  $10^2 - 10^3$  UFC/g, consistindo em uma variedade grande de espécies (Borch, Kant-Muermans e Bixt, 1996). Somente 10% das bactérias inicialmente presentes podem crescer em temperaturas de refrigeração. Quando produtos cárneos são armazenados sob refrigeração e em condições de microaerofilia, como em embalagens a vácuo ou em embalagens com atmosfera modificada, são as bactérias ácido lácticas que irão predominar no produto deteriorado. Como estes produtos são aquecidos à temperatura de 65-75°C, a maioria das células vegetativas são mortas e a recontaminação do tratamento pós-aquecimento é que determina a vida de prateleira dos mesmos (Vermeiren, Devlieghere e Debevere, 2004; Borch et al., 1996).

Alguns autores (Borch et al., 1996; Korkeala e Bjorkroth 1997; Samelis et al., 2000) afirmaram que as bactérias ácido lácticas são o maior grupo de bactérias associado com a deterioração de carnes cozidas e produtos cárneos embalados a vácuo (presunto) e estocados em temperaturas de refrigeração. Outros autores afirmam ainda que estas bactérias fazem parte da microflora natural de muitos produtos cárneos armazenados em temperaturas de refrigeração (Cayre et al., 1999; Cayre, Vignolo e Garro, 2003; Hugas, 1998; Bredholt, Nesbakken e Holck, 2001; Franz e Holy, 1996) e, segundo Egan (1983), causaram defeitos tais como odores, esverdeamento e a formação de limo superficial.

Bredholt et al. (2001) relataram que as bactérias ácido lácticas são consideradas microrganismos não patogênicos, seguros para o consumo e que já estão sendo utilizados em alimentos há vários anos e que algumas espécies heterofermentativas como os *Lactobacillus*

*viridescens* podem produzir peróxidos que reagem com os pigmentos da carne e causam o esverdeamento. Tais alterações afetam a vida de prateleira dos produtos.

Na determinação da vida de prateleira de produtos cárneos é comum o estudo de parâmetros microbiológicos (contagem total, contagem de *Lactobacillus*, enterobactérias, bolores e leveduras), químicos (acidez, índice de oxidação) e sensoriais (aparência, aroma, sabor e textura). Os produtos devem ser analisados no dia em que foram processados e, pelo menos três vezes durante a vida de prateleira projetada (Eburne e Pretice, 1996).

De acordo com Kotzekidou e Bloukas (1996), o presunto cozido é um produto cárneo altamente perecível. O seu índice de sal (em torno de 2,0%), seu valor de pH acima de 6,0 e sua alta atividade de água de 0,96 a 0,98, favorecem o crescimento predominante de bactérias ácido lácticas.

Alguns produtos que são adicionados em produtos cárneos, como, cloreto de sódio, nitritos e outros aditivos (fosfatos, lactatos, ascorbatos), embalagem a vácuo e temperatura, se utilizados nas concentrações/condições ideais e/ou dentro dos padrões exigidos, proporcionam o prolongamento da vida de prateleira dos produtos cárneos.

### **2.3 - Tecnologia de alta pressão hidrostática**

A procura por tecnologias não convencionais de processamento de alimentos vem, mundialmente, norteando grande parte das pesquisas nas instituições públicas e em empresas privadas. O surgimento de demandas por produtos de melhor qualidade nutricional e sensorial, com características mais próximas ao produto *in-natura*, tem levado à busca por processos capazes de preservar o produto contra os agentes deteriorantes, sem acarretar os efeitos adversos dos processamentos convencionais, notadamente dos processos envolvendo tratamento térmico. Como a obtenção de alta qualidade é um dos desafios da indústria de alimentos, técnicas de preservação moderadas, capazes de reter a qualidade inicial dos alimentos, estão sendo consideradas interessantes por processadores de alimentos e o uso de tecnologias de alto custo pode, assim, ser proposto (Donsí et al., 1996).

Hite e Bridgman (Bridgman, 1914; Hite, 1899) foram os pioneiros nas pesquisas usando a tecnologia de APH para inativação de bactérias em leite. Desde então, o processamento por APH em alimentos tem sido extensamente estudado durante o último século (Minerich, et al., 2003). A eficiência desta tecnologia está relacionada à natureza do alimento, isto é ao pH,  $A_w$ , à composição química, à estrutura física, e aos tipos de contaminantes do produto fresco, entre outros (Ruiz-Capillas, Carballo e Colmenero, 2007; Koseki e Yamamoto, 2007; Mor-Mur e Yuste, 2003; Donsí et al., 1996).

O processamento consiste em submeter o produto a níveis de pressões hidrostáticas bastante elevados (50 a 1000 MPa), bem acima daqueles normalmente empregados nos tratamentos convencionais (Zimmerman e Bergman, 1993).

A pressão protege o produto de danos excessivos de calor durante a pressurização. Fluidos típicos usados em recipientes de pressão para a esterilização de alimentos incluem glicerol, água, álcool 70%, óleos comestíveis, e água/emulsões de óleos comestíveis (Meyer, Cooper, Knorr e Lelieveld, 2000).

Dois princípios formam a base do efeito da APH: o princípio de *Lê Chatelier* e o princípio da pressão isostática. O primeiro é aquele no qual qualquer fenômeno, transição de fase, mudança de conformação molecular ou reação química, acompanhado por uma redução de volume, é favorecido pelo aumento de pressão, e vice-versa. No caso de uma reação, a pressão alterará o equilíbrio na direção do sistema de menor volume (Cheftel, 1995). O segundo indica que a pressão é transmitida de forma uniforme e quase instantânea, através da amostra que está sendo submetida a este processo (Barbosa-Cánovas e Rodríguez, 2002).

No processamento isostático, o produto é embalado em garrafa ou bolsa plástica (em ausência de ar) e colocado no interior do vaso de pressão (ou recipiente) para ser processado. Esse vaso contém um meio que transfere a pressão ao produto (Pelletier, 2001). Experimentos demonstraram que qualquer embalagem, com flexibilidade suficiente para compensar a compressão do ar dentro dela e a redução do volume do alimento (aproximadamente 12% a 400 MPa, ou até 15% em pressões acima de 500 MPa) (Farkas e Hoover, 2000), pode ser adotada sem sofrer danos (Food Manufacture, 1992). A energia mecânica de pressurização dentro do recipiente resulta em uma geração de calor moderada e temporária, chamada calor adiabático, onde a cada 100 MPa de pressão, a temperatura dentro do recipiente é aumentada de 3 a 6°C, dependendo do sistema, que pode variar conforme a natureza do produto, a temperatura do processo e a pressão aplicada (Farkas e Hoover, 2000; Rovere, 1995; Butz e Tauscher, 2002; Anstine, 2003; Heij et al., 2003).

Durante o processamento, é necessário um tempo inicial para atingir a pressão de trabalho programada. Logo após, ocorre o tempo de pressurização no nível desejado, seguido da despressurização do vaso de pressão (Barbosa-Cánovas e Rodríguez, 2002).

### **2.3.1 - Alterações nas propriedades físico-químicas**

As proteínas são polímeros formados por uma seqüência definida de aminoácidos. O material genético de cada célula é capaz de produzir uma única seqüência de aminoácidos de uma maneira bastante reprodutível. Entretanto, esta seqüência unidimensional de aminoácidos

necessita sofrer arranjos se dobrando sobre si mesma para que, ao final, forme-se uma proteína com uma estrutura tridimensional definida, dotada de função biológica. Este processo é conhecido como enovelamento protéico e a proteína final enovelada é dita nativa, formando, então, uma estrutura secundária (alfa hélices, folhas beta e voltas), terciária (arranjo tridimensional) e quaternária. Esta estrutura única enovelada é mantida por um somatório de interações (pontes de hidrogênio, interações iônicas, interações hidrofóbicas, forças de Van der Waals), porém, altamente específicas que se estabelecem entre diferentes regiões da proteína (Palmieri, 2005).

Quando expostas às condições de alta temperatura, pH extremo, APH, etc, as proteínas podem desenovelar-se e perderem parcialmente sua estrutura e ação. A APH age ao forçar a entrada de água no cerne protéico, o que resulta na quebra das interações fracas e, conseqüentemente, o desenovelamento protéico (Palmieri, 2005).

Nas décadas de 60 e 70, a APH passou a ser utilizada mais extensamente o que levou à intensificação do estudo de proteínas. A desnaturação reversível por APH foi observada para várias proteínas monoméricas, como a ribonuclease A e a mioglobina, e desde então a APH tem sido usada como uma ferramenta capaz de dissociar diversas proteínas (Foguel e Col, 2004).

Segundo Messens et al. (1997), os efeitos da APH nas proteínas estão primeiramente relacionados com a ruptura das interações não covalentes no interior das moléculas de proteína e à subsequente reformação das ligações intra e extracelulares. Estes autores também relataram que a pressão necessária para induzir mudanças na estrutura protéica é da ordem de 150 MPa.

Vários estudos bioquímicos sugerem que pressões acima de 200 MPa, geralmente causam, em temperatura ambiente: (1) a dissociação de estruturas oligoméricas em suas sub-unidades; (2) abertura parcial e deconformação das estruturas monoméricas (em muitos casos irreversíveis); (3) gelatinização das proteínas, sempre que a pressão e a concentração de proteínas forem muito elevadas (Cheftel e Dumay, 1997; Heremans e Smeller, 1997).

Segundo Molina-Garcia (2002), as proteínas citoplasmáticas também podem sofrer os efeitos da APH e pressões de 20-40 MPa já são suficientes para provocar importantes modificações conformacionais, capazes de levar a alterações na funcionalidade e na interação das proteínas. O autor relatou ainda que isso ocorre devido à reorganização da camada de hidratação das proteínas quando submetidas à pressurização e despressurização.

Segundo Gaspar (2000), tem sido observado que, no processo de pressurização e despressurização de várias proteínas, existe uma histerese substancial entre as curvas de

compressão e descompressão e isto sugere a formação de estruturas defectivas que vagarosamente voltam (relaxam) para sua conformação nativa. Estes autores realçaram ainda que essa deformação dependerá do número de subunidades e da complexidade das interações presentes nos oligômeros e pode ser evidenciada, por exemplo, através de mudanças na atividade enzimática de algumas proteínas.

Foguel (1993) relatou que o efeito desestabilizador da pressão sobre proteínas é regido, exclusivamente, por alterações proporcionadas nas distâncias intermoleculares e que isto resulta em uma variação de volume do sistema, que este é o único parâmetro termodinâmico alterado pelo emprego da pressão sobre proteínas. Gaspar (2000) relatou que este fenômeno consiste também no melhor empacotamento das moléculas de água ao redor dos grupos iônicos liberados durante o processo de dissociação e, segundo Fennema (1993), mais de 40 % das cadeias das proteínas são apolares. A hipótese mais aceita para explicar porque as altas pressões favorecem a dissociação de proteínas pressupõe também a existência de espaços mortos no interior das proteínas que se originam em decorrência da impossibilidade de que todos os resíduos de aminoácidos assumam os mínimos de distância intermoleculares possíveis. Quando a proteína se desenrola, o sistema proteína-solvente sofre contração de volume devido ao empacotamento dos resíduos de aminoácidos pela molécula do solvente. Dessa forma, o que se supõe é que, sob pressão, a água infiltra na proteína, onde as ligações fracas são desestabilizadas (Foguel, 1993).

Em geral, na faixa de 700 MPa, a pressão causa o rompimento de ligações não covalentes, principais responsáveis pela manutenção da estrutura nativa de uma proteína. As interações hidrofóbicas são as ligações mais fracas envolvidas na estabilidade de proteínas, de micelas e de lipídeos. Ligações iônicas são rompidas pela pressão e a ionização de sais, ácidos e bases e a auto-ionização da água sofrem aumento sobre pressão. Ácidos nucléicos e açúcares são resistentes à pressão por que a sua estrutura é principalmente estabilizada por pontes de hidrogênio que não são afetadas drasticamente pela pressão por serem ligações muito fortes (Camargo, 2002).

As propriedades funcionais das proteínas alimentares são classificadas em três grupos principais: propriedades de hidratação que são dependentes das interações proteína-água (absorção e retenção de água, adesão, dispersibilidade, solubilidade e viscosidade); propriedades relacionadas às interações proteína-proteína (precipitação e geleificação) e propriedades de superfície (tensão superficial, emulsificação e características espumantes) (Messens et al., 1994).

## **2.3.2 - Alterações das propriedades das proteínas da carne**

### **2.3.2.1 – Alterações na coloração ( $L^*$ e $a^*$ )**

Segundo Mor-Mur e Yuste (2003) carne fresca e produtos derivados podem sofrer modificações na coloração quando submetidos ao processo de APH, dependendo das condições de processo aplicadas (pressão, tempo e temperatura), devido às possíveis mudanças na mioglobina, tais como desnaturação da globina, liberação do grupo heme e oxidação do átomo de ferro. Como resultado, a cor da carne torna-se mais clara devido à coagulação da proteína causada pela pressurização, que afeta as propriedades de estrutura e superfície dos produtos com aumento na relação luz refletida: luz absorvida. Ainda segundo outros autores (Serra et al., 2007; Andrés et al., 2006; Tanzi et al., 2004; Rovere, 2001; Cheftel e Curioli, 1997; Carlez et al., 1995; Goutefongea et al., 1995), quando produtos cárneos são cozidos antes de serem submetidos ao processo de APH, há formação do composto estável nitrosohemocromo, que não é afetado pela APH. Goutefongea et al. (1995) e López-Caballero et al. (1999) pressurizaram presunto cozido e constataram que a cor não sofreu mudanças significativas durante a vida de prateleira deste produto. Serra et al. (2007), em pesquisa realizada com presunto suíno, verificaram que a pressurização não afetou os parâmetros de  $L^*$  e  $a^*$  em amostras pressurizadas em comparação com amostras controle.

Produtos cárneos que não são adicionados de nitrito e submetidos ao processo de APH podem sofrer mudanças significativas na sua coloração. Tanzi et al. (2004) em pesquisa realizada com presunto de Parma (produto ausente de nitrito) constataram um decréscimo na intensidade visual da cor desse produto após a pressurização. Similarmente, Andrés et al. (2006) reportaram um aumento na luminosidade nas amostras de presunto Iberian pressurizado. Serra et al. (2007) relataram que mudanças na coloração durante a vida de prateleira de presuntos pressurizados podem ser devido à oxidação do composto nitrosohemocromo. Segundo Gou, Guerrero, Arnau (1995) e Gandenor (2002), o conteúdo de lipídios (especialmente ácidos graxos insaturados) presente em produtos cárneos (por exemplo, presunto) afetou fortemente os parâmetros de cor. Assim, segundo estes autores, enquanto os valores de intensidade de vermelho ( $a^*$ ) e de luminosidade ( $L^*$ ) decresceram em presunto fatiado embalado a vácuo e submetido ao processo de APH, a oxidação lipídica aumentou ao longo da vida de prateleira.

### **2.3.2.2 – Alterações na estrutura das proteínas (actina e miosina)**

Como já conhecido, o processo de APH pode causar alterações nas proteínas majoritárias de produtos cárneos submetidos a este processo.

Scheibenzuber et al. (2002), em pesquisas realizadas com carne de porco, usaram a eletroforese SDS-PAGE para verificar as alterações nas proteínas miofibrilares deste produto após tratamento a diferentes pressões. Estes autores verificaram que componentes de filamentos finos foram solubilizados facilmente com aplicação de pressão, contudo, a solubilização da miosina dependeu da magnitude e da duração da pressão aplicada.

De acordo com Jimenez-Colmenero, Cofrades, Carballo, Frenandez e Fernandez-Martin (1998), o aquecimento sob pressão favoreceu a quebra da cadeia de proteína que foi atribuída a uma quebra enzimática acelerada pela pressão de um componente de peso molecular mais alto (possivelmente a miosina). Estes autores afirmaram, ainda, que a diminuição da atividade das proteases nas proteínas da carne foi devido à alta pressão aplicada, levando à quebra das proteínas miofibrilares.

Yamamoto et al. (1992) realizaram estudos relacionados com a agregação de proteínas cárneas, quando submetidas às altas pressões. Verificaram que as moléculas de miosina não pressurizadas apresentaram-se como monômeros e, tipicamente, apresentaram duas cabeças. Compararam estas características com as moléculas de miosina pressurizada, verificando que, em pressões acima de 140 MPa, começaram a ocorrer mudanças na estrutura. Através de microscopia eletrônica de transmissão, estes autores verificaram que o tratamento de miosina com pressão levou a uma interação entre extremidades para formar oligômeros. Com o aumento da pressão, os grupamentos se compactaram e aumentaram de tamanho. Mesmo depois da aplicação de 210 MPa por 5 minutos moléculas de miosina monoméricas foram ainda observadas, apesar da proporção de moléculas de miosina com apenas uma extremidade ter aumentado. Verificaram que tratamentos de até 210 MPa não induziram à geleificação, e que o tratamento térmico da solução puramente pressurizada resultou em um gel com rigidez e microestrutura similar ao formado somente com o tratamento térmico. Desta maneira, os autores constataram que o tratamento com pressão, provavelmente, não afetou a estrutura helicoidal original da cauda de monômeros da miosina.

### ***2.3.3 – Oxidação lipídica***

Produtos cárneos processados, que sofreram trituração são suscetíveis à oxidação de lipídios e ao desenvolvimento de “off-flavors”. Atualmente a oxidação de lipídios é considerada o principal processo responsável pela perda da qualidade de produtos cárneos, além da deterioração microbiológica. Do ponto de vista da cor do produto cárneo, supõe-se que produtos originários da oxidação de lipídios promovam a oxidação de pigmentos, destruindo-os direta e/ou indiretamente (Gray et al., 1996). Se os pigmentos não estiverem

protegidos durante o armazenamento, a coloração marrom será desenvolvida, em decorrência da mudança dos pigmentos pela ação do oxigênio (Eburne e Prentice, 1996).

Cheah e Ledward (1996) realizaram uma pesquisa para avaliar a oxidação lipídica em carne de porco tratada com alta pressão. Verificaram que pressões de até 200 MPa não aumentaram a extensão da oxidação lipídica (indicada pelo número de TBA), durante os 4 dias de armazenamento a 4°C. Entretanto, verificaram que houve um aumento acentuado no número de TBA a 400 MPa e acima desta pressão. Verificaram também que o cozimento, associado à alta pressão em carne de porco, aumentou o número de TBA. Estes autores, através de espectrometria de reflectância, verificaram que o aumento dos níveis de pressão nestes tratamentos ocasionou a oxidação da oximioglobina para metamioglobina, sendo constatado este fenômeno através do desaparecimento do pico de oximioglobina em carne de porco quando níveis de pressão maiores foram aplicados.

Cheah e Ledward (1996) estudaram os efeitos da APH na oxidação lipídica de carne de porco moída em amostras tratadas com 800 MPa, por 20 min, a 20°C. As amostras foram armazenadas por 8 dias, a 4°C. Os autores observaram que as amostras pressurizadas mostraram oxidação mais rápida do que as controles. No entanto, um aumento significativo na taxa de oxidação da carne de porco moída foi observado em pressões maiores que 300 MPa por estes autores. Significante desnaturação de proteínas sarcoplasmáticas e fibrilares e conversão de mioglobina a oximioglobina reduzida a formas oxidadas de ferro também foram observadas em pressões de 400 MPa, por estes mesmos autores.

#### **2.3.4 - Inativação de microrganismos**

Uma melhor compreensão dos efeitos da alta pressão na célula de microrganismos é essencial para que o desenvolvimento de processos com aplicação desta tecnologia seja eficaz e a elucidação dos aspectos do mecanismo de inativação microbiana induzida pela APH possa auxiliar na preservação dos alimentos (Smelt, 1998).

A aplicação da APH pode causar danos à fisiologia microbiana e à sua viabilidade, tanto danificando as células como as inativando. Assim, exercem efeito direto sobre a segurança dos alimentos, podendo prolongar a sua vida de prateleira (López-Caballero et al., 2002).

As membranas biológicas têm sido identificadas como as mais afetadas pela pressão. As membranas são compostas por uma camada de fosfolipídios envolvidos por proteínas funcionais que (entre outras funções) exercem papel importante no transporte de íons e outras substâncias para as células (San Martín et al., 2002).

As formas vegetativas dos eucariotos, tais como os fungos e leveduras, são inativadas por pressões entre 200 e 300 MPa. Bactérias Gram positivas são mais resistentes ao calor e à pressão do que as bactérias Gram negativas. Segundo Paterson et al. (2005), o tratamento a alta pressão não inativa completamente microrganismos e uma pequena proporção da população sofre injúria.

O modo de ação da pressão em microrganismos depende do nível de pressão aplicado. Pressões entre 30 e 50 MPa podem influenciar a expressão do gene e a síntese de proteínas. Dependendo da pressão aplicada, pode ainda haver a ruptura da membrana celular de microrganismos e a alteração da estrutura de enzimas, ocasionando, desta maneira, a sua destruição e desnaturação, respectivamente. Pressões acima de 100 MPa podem afetar a membrana nuclear de leveduras, e, acima de 400 MPa, causar alterações em nível de mitocôndrias e de citoplasma. Íons metálicos são liberados em pressões acima de 300 MPa (Smelt, 1998).

A morfologia das células dos microrganismos influencia na sua sensibilidade aos efeitos da pressão, sendo os bacilos mais sensíveis do que os cocos. A temperatura exerce importante papel na inativação microbiana durante o tratamento sob APH. A inativação microbiana é menor na temperatura ótima de crescimento e maior acima ou abaixo dessa (Hugas, Garriga, Monfort, 2002; Cheftel e Culioli, 1997; Sherry et al., 2002).

Wouters, Glaasker e Smelt (1998) verificaram que o tratamento com alta pressão resultou em uma queda no pH intracelular de *Lactobacillus plantarum*, o que indicou que a regulação do pH interno foi prejudicada nestas células pela alta pressão. Os agrupamentos de DNA foram observados quando as células foram tratadas com 250 MPa, por 10 minutos. Entretanto, quase todas as células (86%) sobreviveram a este tratamento, sugerindo que o agrupamento do DNA pela pressão pode ser reversível. Estes autores observaram também este agrupamento de DNA para as células tratadas por 10 minutos a 350MPa, com a sobrevivência de 0,05% das células.

O efeito da pressão sobre os microrganismos depende de fatores relacionados com os microrganismos propriamente ditos (espécie, formato, Gram, fase de crescimento e idade da cultura), com a natureza do meio (pH, composição do alimento ou meio de dispersão, presença de sais e/ou nutrientes, atividade de água, força iônica e tipos de íons presentes) e com as variáveis de pressão (níveis de pressão, tempo e temperatura e tipo do tratamento – contínuo ou descontínuo) (San Martín et al., 2002; Hugas et al. 2002).

### **2.3.5 – Aplicação da APH na indústria de carnes e derivados cárneos**

Pesquisadores têm estudado a aplicação da APH na indústria de carnes utilizando diversas combinações de pressão, tempo e temperatura de processo.

A vida de prateleira de carnes e produtos cárneos pode ser definida como o tempo de armazenamento até a deterioração. O ponto de deterioração pode ser definido por análises microbiológicas até níveis definidos como máximos ou por análise sensorial. A vida de prateleira depende do número e tipo de microrganismos presentes, na sua maioria bactérias, inicialmente presentes e seu subsequente crescimento. Durante o armazenamento, fatores ambientais como: temperatura, atmosfera gasosa, pH e NaCl irão selecionar uma determinada bactéria e afetar sua taxa de crescimento e atividade.

Garriga et al. (2004), em estudo realizado com presunto cozido e presunto curado, avaliaram o comportamento de diferentes microrganismos patogênicos em tratamento a alta pressão a 600 MPa, por 6 minutos a 31°C, durante o armazenamento a 4°C, por 120 dias. Estes autores verificaram que o tratamento foi eficiente para prevenção do crescimento de leveduras e enterobactérias e atrasou o crescimento de bactérias ácido lácticas, assim como a esporulação de microrganismos. Constataram ainda que a alta pressão reduziu os riscos associados com *Salmonella* e *Listeria monocytogenes*, verificando ainda, que as bactérias ácido lácticas, principalmente provenientes de contaminação cruzada durante o fatiamento e a embalagem, cresceram rapidamente até  $10^8$  UFC/g, em todas as amostras não tratadas, em 30 dias, enquanto que amostras tratadas a alta pressão mostraram um atraso significativo no crescimento de deteriorantes (120 dias). Os autores observaram que o tratamento a alta pressão ajudou a prevenir mudanças de coloração, e que a composição do alimento foi, talvez, um dos fatores-chave que influenciou o efeito conservador do tratamento a alta pressão.

Yuste Mor-Mur, Capellas, Guamis e Pla (1999) compararam o tratamento sob alta pressão hidrostática (500 MPa a 65°C) por 5 e 15 minutos em salsicha de frango, com tratamento térmico de 80-85°C por 40 minutos e acompanharam a vida de prateleira dos produtos por 18 semanas a 2°C. Praticamente não foi detectado o crescimento de enterobactérias nos produtos pressurizados até ao final do armazenamento. Contagens similares de bactérias lácticas foram verificadas entre os tratamentos a 500 MPa a 65°C por 15 minutos e o tratamento térmico ( $<10^1$ UFC/g) até o final do armazenamento. Comprovaram assim, que o tratamento sob alta pressão pode substituir a pasteurização de salsichas de frango cozidas após a embalagem.

Estudos envolvendo alta pressão em carne de frango mecanicamente separada inoculada com *Listeria innocua* 910 CECT foram realizados por Yuste et al. (1999). Nesta

pesquisa, os autores trabalharam com amostras embaladas a vácuo que foram submetidas a diferentes combinações de pressões (350, 400, 450 e 500 MPa), tempo (5, 10, 15 e 30 minutos) e temperaturas (2, 10, e 20°C), sendo o produto estocado a 2°C por 2 meses. Os autores determinaram a contagem de *L. innocua* e mesófilos aeróbios após 1, 4, 7, 15, 30 e 60 dias após a pressurização e verificaram ao final que a pressurização reduziu significativamente o número de mesófilos. Verificaram ainda que a alta pressão causou um notável efeito bactericida para *L. innocua*, onde reduções mais altas que 7,5 log foram atingidas em alguns casos. Algumas células foram sub-letalmente injuriadas pela pressão. Amostras tratadas a 500 MPa por 30 minutos, foram estocadas a 2°C e tiveram a contagem de 2,3 log unidades depois de 60 dias de armazenamento a frio. Os autores concluíram que o processo de alta pressão melhorou a qualidade microbiológica de carnes de frango mecanicamente separadas.

Carlez et al (1994) armazenaram amostras de carne moída pressurizadas por 16 - 23 dias a 3°C. Bactérias gram-negativas foram mais sensíveis a APH do que as gram-positivas. A inibição total dos microrganismos ocorreu a 400 - 450 MPa. No entanto, *Pseudomonas* sp. foram detectadas após 3 - 9 dias de armazenamento a 3°C, o que significa que elas não foram completamente inativadas pelo estresse da pressão aplicada. Estes resultados sugerem que a APH poderia ser associada com outro tratamento (ex: temperatura moderada de 50°C) para eliminar *Pseudomonas* viáveis.

Em pesquisa realizada em carne de porco triturada e submetida ao processo de APH a 400 MPa/10min a 25°C, Shigehisa et al. (1991) verificaram uma redução de 6 ciclos log na população de *E.coli*, *Campylobacter jejuni*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Yersinia enterocolitica*, *Saccharomyces cereviae* e *Candida utilis* inoculadas com um nível de  $10^6$ - $10^7$  UFC/g. O'Brien e Marshall (1996) relataram que o tempo de armazenamento refrigerado de carne de frango picada foi estendido, significativamente, com o tratamento a alta pressão, na faixa de 400 a 900 MPa, por um tempo de 10 minutos, a uma faixa de temperatura de 14 a 28°C.

As mudanças na qualidade e os efeitos do uso de APH na sobrevivência de microrganismos em lingüiças frescas de porco foram investigadas por Huang et al. (1999). As lingüiças de porco, inoculadas com três cepas de *Listeria monocytogenes* ( $10^7$  UFC/g), foram submetidas a pressões de 414 e 552 MPa, em temperaturas de 25 e 50°C e intervalos de tempo de 2, 4, 6, 8 e 10 minutos. Significativa redução na contagem de *Listeria monocytogenes* foi verificada à pressão de 414 MPa a 50°C por 2 minutos. Tal condição mostrou também

completa inativação dos microrganismos presentes na lingüiça de porco fresca e mudanças mínimas na sua qualidade.

Mor-Mur e Yuste (2003) aplicaram a tecnologia de APH no processamento de salsichas cozidas. As salsichas foram cozidas e empacotadas a vácuo e submetidas a pressão de 500 MPa em tempos variando de 5 a 15 minutos, e uma temperatura de processo de 65°C. Os autores avaliaram a cor, a textura e o rendimento das amostras tratadas por pressão, e compraram estes resultados com os obtidos em amostras tratadas no processo convencional de pasteurização (80-85°C por 40 minutos). Os autores não verificaram mudanças na coloração. Verificaram que salsichas pressurizadas ficaram menos firmes que as tratadas termicamente, e que o tratamento de pressão induziu maiores mudanças que o tratamento térmico. Nas análises sensoriais, os autores não verificaram, em alguns casos, diferenças entre os dois processos e, quando houve diferenças, as amostras pressurizadas foram preferidas por causa da sua aparência, gosto e, especial, a sua textura. Os autores verificaram ainda que o processamento por calor e por pressão não afetou a maioria das características do produto em relação à textura. Em relação às mudanças no rendimento, verificaram que a perda de peso foi muito mais elevada em salsichas tratadas em tratamento térmico que em salsichas pressurizadas. Ao final, os autores concluíram que as diferenças entre bateladas do mesmo produto foram devido, principalmente, às variações ocorridas no cozimento industrial, e que o processo de alta pressão pode ser recomendável na produção em grande escala. Estes autores verificaram ainda que, para a carne fresca, aves domésticas e produtos derivados, as modificações da cor por pressão induzida dependem extremamente das condições do tratamento, ou seja, da pressão, do tempo e da temperatura de processo.

A APH representa um atrativo nos processos não térmicos para o processamento de carnes especialmente com relação à contaminação pós-processamento (Garriga et al., 2002). Embora essa tecnologia seja pouco empregada comercialmente, San Martín et al. (2002) citaram que já está sendo comercializado no Espanha presunto fatiado tratado sob alta pressão. Com o uso dessa tecnologia, a vida de prateleira do presunto pressurizado passou de 3 para 8 semanas.

Espuña (2008) mostrou um exemplo de presunto cozido comercializado e outros produtos cárneos fatiados e embalados a vácuo, tratados com pressão de 400MPa por 10 minutos. Nesses estudos, para comercialização, foi constatado que a alta pressão hidrostática reduziu significativamente a quantidade, atividade e crescimento de microrganismos capazes de causar alterações de sabor e aroma dos produtos cárneos embalados. Após os 60 dias, que correspondem à faixa de consumo preferencial, o produto se manteve fresco porque a APH

reduziu o crescimento de *Lactobacillus sp*, que são os microrganismos causadores de alterações de sabor e aroma.

A Tabela 2.1 mostra alguns países que utilizam a tecnologia de alta pressão hidrostática em produtos cárneos e a vida de prateleira conseguida através da utilização desta tecnologia.

**Tabela 2.1** – Produtos disponíveis no mercado tratados com a alta pressão hidrostática.

País (ano)	Produto	Processo	Embalagem	Vida de Prateleira (VDP)	Conseqüências observadas
Espanha (1998)	Presunto cozido fatiado	400 MPa/10 min a 8°C	Vácuo ou com gases	2 meses	Sem alterações de cor ou sabor. Aumento da VDP
EUA (2001)	Presunto cozido fatiado e presunto de Parma		Vácuo		Sem alterações de cor ou sabor. Destruição de <i>Listeria</i> . Aumento da VDP
EUA (2001)	Preparações culinárias de ave (prontas para servir)		Plásticos embalados com gases a vácuo		Sem alterações de cor ou sabor. Destruição de <i>Listeria</i> . Aumento da VDP
EUA (2002)	Frango temperado pré-cozido fatiado		Vácuo	21 dias	Sem alterações de cor ou sabor. Destruição de <i>Listeria</i> . Aumento da VDP
Espanha (2002)	Presunto em fatias finas, produtos de frango e peru.	500 MPa, 4 a 10 min a 8°C.	Vácuo	2 meses para produtos cozidos	Sem alterações de cor ou sabor. Destruição de <i>Listeria</i> . Aumento da VDP com redução dos conservantes.
Itália (2003)	Presunto de Parma, salame e mortadela	600 MPa por 10 min a 7°C.	Vácuo		Sem alterações da cor ou sabor. Destruição de <i>Listeria</i> . Aumento da VDP.
Japão (2005)	Salsicha, bacon, presunto	600 MPa por 5 min a 5°C	Vácuo	4 semanas	Aumento da VDP
Alemanha (2005)	Presunto alemão defumado: produtos inteiros e fatiados	600 MPa por 2min a 5°C.	Vácuo		Destruição de <i>Listeria</i> . Produtos para exportação para EUA e aumento da VDP.

## 2.5 – Análise sensorial de alimentos

A análise sensorial é uma ferramenta moderna utilizada para o desenvolvimento de novos produtos, reformulação dos produtos já estabelecidos no mercado, estudos de vida de prateleira (*shelf life*), determinação das diferenças e similaridades apresentadas entre produtos concorrentes, identificação da preferência do consumidor por um determinado produto e, finalmente, para a otimização e melhoria da qualidade.

A análise sensorial tem desempenhado uma importante função na avaliação e interpretação das propriedades sensoriais de alimentos (textura, sabor, aroma, aparência e

cor), em função de sua composição química, de processamento, condições de embalagem e armazenamento.

A análise sensorial também avalia a preferência do consumidor o qual, via de regra, determina a qualidade percebida de um produto alimentício. Avaliações sensoriais, quando conduzidas por equipes de avaliadores selecionados e treinados ou junto a consumidores, geram resultados que permitem compreender as transformações estudadas e verificar seu impacto sobre a preferência, a atitude e a expectativa do consumidor em relação ao produto. Em complementação, dados sensoriais também podem ser correlacionados com medidas químicas e físicas, tais como parâmetros de cor, textura, etc, de forma a se prever uma característica sensorial a partir de parâmetros instrumentais.

### **2.5.1 - Métodos da Análise Sensorial**

A indústria alimentícia moderna utiliza a Análise Sensorial como ferramenta considerando a avaliação das características sensoriais dos produtos como componente essencial no desenvolvimento, manutenção, otimização, controle de qualidade e avaliação do potencial de mercado de um determinado alimento (Meilgaard, Civille e Carr, 1991; Stone e Sidel, 1993; Piggot, 1995).

Os testes sensoriais são importantes por serem uma medida multidimensional integrada que possuem importantes vantagens, como serem capazes de identificar a presença ou ausência de diferenças perceptíveis, definirem características sensoriais importantes de um produto, e serem capazes de detectar particularidades dificilmente detectadas por outros procedimentos analíticos e ainda avaliarem se um produto é aceito pelo consumidor (Munoz, Civille e Carr, 1992). Piggot (1995) acrescentou ainda que os testes sensoriais são usados para entender as reações do consumidor a um produto.

O sucesso da aplicação dos testes sensoriais em problemas reais da indústria de alimentos e pesquisas depende da adequada correlação entre a utilização do método e a informação desejada ao final da sua aplicação, isto é, o objetivo a ser alcançado (Piggot, 1995).

#### **2.5.1.1 – Análise Descritiva Quantitativa**

A Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) foi desenvolvida por Stone et al. (1974) sendo considerada uma das principais e mais sofisticadas metodologias para a Análise Sensorial. A técnica é capaz de promover a descrição qualitativa e quantitativa do produto avaliado, com precisão em termos matemáticos, baseado na percepção de um grupo de

pessoas capacitadas (Murray, Delahunty e Baxter, 2001; Araújo, Silva e Minim, 2003; Bi, 2003; Stone e Sidel, 2004).

Segundo Stone et al. (1974), o foco desta técnica é o aspecto psicológico da percepção e da aplicação desta percepção em escalas, promovendo a caracterização sensorial do produto.

Os resultados obtidos incluem a descrição sensorial completa dos produtos e proporcionam uma base para determinar os atributos sensoriais que são importantes para a aceitabilidade (Meilgaard, Civille e Carr, 1991; Stone e Sidel, 2004).

Segundo Umbelino (2005), as principais etapas relacionadas à ADQ são: pré-seleção de provadores, desenvolvimento de terminologia descritiva, treinamento, seleção de provadores, avaliação sensorial, análise de dados e interpretação dos resultados.

O sucesso da implementação da ADQ está ligado, principalmente, à performance dos provadores e o alcance desta performance é obtido através de adequada seleção e treinamento (Husson e Pages, 2003). Segundo McEwan et al. (2002), na Análise Sensorial, os provadores devem ser vistos como instrumentos de medida de atributos sensoriais, por esta razão, a avaliação da performance do provador é etapa fundamental.

Issanchou, Lesschaeve e Koster (1995) relataram que, para a utilização da ADQ, é necessária a utilização de provadores com habilidades descritivas e discriminativas, o que leva à necessidade da realização de testes para avaliação dessas habilidades. Os provadores com a habilidade descritiva devem identificar os diferentes estímulos (atributos). Para a habilidade discriminativa os provadores devem perceber diferenças mínimas de intensidade entre estímulos e, ainda, terem a capacidade de quantificar, sendo aptos a utilizar a escala em toda a sua amplitude, com pequena dispersão entre as repetições e em consenso com a equipe (Umbelino, 2005).

### **2.5.1.2 – Teste de Preferência**

O Teste de preferência é um valioso e necessário componente de toda a Análise Sensorial, que utiliza o consumidor como instrumento de medida e, a partir da correta aplicação, é possível transformar dados subjetivos em objetivos, obtendo informações importantes sobre o grau com que as pessoas gostam ou não de um determinado produto (Stone e Sidel, 1993).

Para a realização dos testes de preferência é de fundamental importância que mais de 50 consumidores sejam consultados, os quais tenham o hábito de consumir o produto, para que os dados possam ser representativos da população avaliada. Meilgaard, Civille e Carr

(1991) recomendam ainda a realização de testes em diferentes cidades em um mesmo país, para que a heterogeneidade advinda de diferentes regiões possa ser avaliada.

A escala hedônica de nove pontos é a mais utilizada para testes de preferência, devido à confiabilidade dos resultados e à fácil compreensão da ficha pelos consumidores (Stone e Sidel, 1993).

Os dados obtidos nos testes de preferência são submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e teste de médias, onde se verifica se houve diferença significativa entre as médias, em um determinado nível de confiança (Meilgaard, Civille e CARR, 1991; Stone e Sidel, 1993).

Os Testes de Preferência e Intenção de Compra, em associação com a ADQ, podem explicar as diferenças responsáveis pela maior ou menor preferência dos produtos estudados (Daillant-Sprinnler, MacFie, Beyts e Hedderley, 1995). Entendendo quais atributos direcionaram a preferência de alimentos e bebidas, é possível auxiliar a indústria de alimentos a se adequar às necessidades de mercado (Guinard, Uotani e Schlich, 2001).

O Teste de Preferência pode refletir o grau de preferência por determinado produto. Porém, quando os dados da preferência são analisados por técnicas estatísticas univariadas, médias são obtidas e assume-se que o critério de aceitabilidade dos consumidores seja homogêneo, o que implica que os valores, desta forma obtidos, podem não ser representativo da real situação. Por esta razão, a variabilidade individual dos consumidores também deve ser considerada (Greenhoff e MacFie, 1994).

Villanueva (2003) acrescentou que as médias obtidas em testes de preferência podem ser afetadas por valores extremos, por distribuições assimétricas ou por distribuições multimodais de dados. Em testes com consumidores, esta limitação é grave porque impede a detecção de segmentos de indivíduos em função das amostras de sua preferência. Por exemplo, se em um teste de preferência, 50% dos consumidores mostrarem alta preferência por determinada amostra, e os demais mostrarem baixa preferência pela mesma, a média dos dados coletados resultará em um valor intermediário de preferência, o que não representará a verdadeira opinião de nenhum dos dois grupos de consumidores. Assim, informações sobre preferências individuais dos consumidores são perdidas.

No entanto, a detecção de preferências individuais tem sido fundamental para a área de marketing das indústrias, que, em função da atual competitividade dos mercados, procura identificar consumidores potenciais e dirigir a otimização e venda de produtos para mercados específicos (Deliza, 2004; Villanueva, 2003).

Segundo Greenhoff e MacFie (1994), a solução para o problema da utilização de médias na análise de dados de preferência é o uso de técnicas multivariadas, que conduz de forma separada as análises dos vários subgrupos encontrados dentro dos consumidores que participaram do estudo.

A técnica intitulada Mapa Interno da Preferência (MIP) é um tratamento multidimensional dos dados afetivos, baseada na Análise de Componentes Principais e “Cluster Analysis” (Greenhoff e MacFie, 1994; Yackinous, Wee e Guinard, 1995).

O MIP gera um gráfico onde os produtos são representados como pontos e cada indivíduo como um vetor, sendo que os pontos mais próximos de um conjunto de vetores correspondem aos produtos de maior preferência daquele segmento de consumidores. A grande vantagem do MIP sobre a ANOVA e tradicionais testes de médias é a identificação da preferência individual de cada consumidor em relação aos produtos avaliados, bem como, por meio do “Cluster Analysis”, a identificação de segmentos da população (Greenhoff e MacFie, 1994; Westad, Hersleth e Lea, 2004).

A partir da identificação de grupos de consumidores, em função de suas preferências, é possível estudar cada segmento em função de características sócio-demográficas e hábitos de consumo. Desta forma, a indústria de alimentos pode direcionar estratégias de marketing específicas para o produto avaliado (Greenhoff e MacFie, 1994; Helgesen, Solheim e Naes, 1997; Westad, Hersleth e Lea, 2004).

Além do MIP utiliza-se na Análise Sensorial o Mapa Externo da Preferência (PREFMAP) que relaciona os dados obtidos através de testes de preferência com os obtidos por meio de testes descritivos, como a ADQ, com o propósito de explicar as características intrínsecas dos produtos que direcionam a aceitabilidade dos consumidores (Greenhoff e MacFie, 1994).

Os resultados obtidos nos testes de preferência e ADQ são analisados de forma a construir um gráfico, semelhante ao MIP, no qual estão posicionados os consumidores, amostras e atributos que as descrevem. Greenhoff e MacFie (1994) relataram que no gráfico formado, os consumidores que se encontram localizados próximos dos atributos que caracterizam as amostras, foram influenciados por estes descritores para a aceitabilidade do produto.

## **2.6 - Microbiologia preditiva**

A demanda crescente por modelos matemáticos, no campo da segurança microbiológica de alimentos, começou com o fato de que o controle da qualidade dos

alimentos, baseado na inspeção do produto final, era de alto custo, trabalhoso e ineficaz. Os modelos são maneiras rápidas e econômicas de se avaliar objetivamente a segurança do alimento (Baranyi et al., 2001).

A microbiologia preditiva pode ser usada na predição da qualidade dos produtos. Baseia-se na premissa de que é possível estimar, através do uso de modelos matemáticos criados através de estudos quantitativos dos microrganismos, o crescimento destes nos alimentos (Mcmeekin, 2007).

Zwietering et al. (1991) afirmam que a modelagem pode ser uma ferramenta útil para o levantamento da importância dos fatores relacionados à deterioração do produto, em qualquer parte da produção e da cadeia de distribuição, e é baseada em predições quantitativas da taxa de deterioração. Tal modelagem, segundo estes autores, permite a predição da qualidade ou da vida de prateleira dos produtos, identificação dos pontos críticos de controle na produção, na distribuição e na otimização da produção e cadeia de distribuição, combinando para a melhor relação custo/benefício.

O comportamento dos microrganismos nos alimentos (crescimento, sobrevivência e morte) é determinado por fatores ambientais a que estão submetidos os alimentos (temperatura, pH, atividade de água (aw), índice de nitrito, alta pressão, atmosfera gasosa, etc.). O conhecimento da influência desses vários fatores combinados na inativação microbiana é indispensável para a otimização das condições de processo. Numerosos modelos preditivos de inativação microbiana têm sido desenvolvidos para a otimização de processos (Koseki e Yamamoto, 2007; Kajak e Krajewska, 2006; Nakashima, et al., 2000).

Segundo 3), os modelos são usados para descrever a deterioração sob condições físicas ou químicas diferentes, como temperatura, pH e atividade de água. Whiting (1995) afirmou que o objetivo principal da microbiologia preditiva é de descrever matematicamente o crescimento ou a inativação de microrganismos presentes em alimentos sob condições ambientais específicas. De acordo com ele, com esta habilidade para descrever, vem a habilidade para prever combinações de condições onde não existem dados experimentais, dentro de uma faixa apropriada de cada condição. Estas condições ambientais incluem ambos fatores intrínsecos e extrínsecos.

O verdadeiro poder das abordagens feitas pela microbiologia preditiva é que, ao contrário do processo tradicional de armazenamento, os modelos, uma vez validados, podem ser utilizados para prever com rapidez e segurança a resposta dos microrganismos sob várias condições, dentro dos limites investigados para temperatura, pH, concentração de sal, etc. Isto

faz com que a microbiologia preditiva seja considerada uma ferramenta preciosa para os microbiologistas de alimentos na tomada de decisão diária (Mcclure et al., 1994).

As aplicações das técnicas de modelagem matemática para o crescimento e sobrevivência de microrganismos em alimentos começaram a ser empregadas a partir da década de 80. Segundo Ross e Mcmeekin (1994), a utilização dos modelos ocorreu por duas razões. A primeira foi o aumento de casos importantes de envenenamento alimentar durante os anos 80, levando ao aumento da conscientização pública da necessidade da oferta de alimentos seguros. A segunda razão foi à constatação de muitos microbiologistas, de que os métodos tradicionais na determinação de qualidade e segurança – inclusive os considerados rápidos – eram limitados pelo tempo de obtenção de resultados e tinham um pequeno valor preditivo.

### **2.6.1 - Modelos preditivos**

Dentre outros, os microbiologistas de alimentos têm procurado modelos eficientes para o crescimento microbiano que possam permitir a previsão de conseqüências microbiológicas no armazenamento de alimentos (Baranyi e Roberts, 1994). Eles utilizam, de maneira clássica, três parâmetros na caracterização da curva de crescimento bacteriano: ( $\lambda$ ) a duração da fase lag; ( $\mu$ ) a velocidade específica máxima de crescimento e ( $A$ ) a densidade populacional máxima de crescimento final. Todos os parâmetros precisam ser estimados de forma exata em diversas áreas de conhecimento, em especial na microbiologia de alimentos (Baty e Delignette-Muller, 2004). Segundo Dalgaard e Koutsoumanis (2001), a estimativa destes parâmetros é essencial na caracterização de efeitos de anti-microbianos, otimização de meios microbiológicos e no desenvolvimento de modelos cinéticos utilizados nas tecnologias de alimentos e de fermentação.

Os modelos que descrevem o crescimento microbiano formam a base para a adoção de estratégias na área de segurança alimentar. O objetivo de um modelo, segundo Soboleva, Pleasants e Roux (2000), é de prever quando, e em quais circunstâncias, o número microbiano crescerá a um nível que tornem o produto inadequado ao consumo. Um bom modelo de crescimento microbiano é também vantajoso na análise de perigos e pontos críticos de controle nos procedimentos de qualidade dos alimentos. Entretanto, Wijtzes, van't Riet, Huis in't Veld e Zwietering (1998) relataram ainda que os modelos desenvolvidos na microbiologia preditiva podem ser utilizados para calcular o número de microrganismos presentes em um alimento para cada composição específica, linha de produção e cadeia de distribuição do alimento.

Os modelos da microbiologia são divididos em primários, secundários e terciários. Os primários descrevem as curvas de crescimento ou de sobrevivência de microrganismos, onde a resposta pode ser expressa por contagem total em placas, produção de toxinas ou outros, podendo-se obter informações sobre o tempo de geração, fase lag, crescimento exponencial (fase log) e a densidade máxima da população na fase estacionária. Os modelos secundários descrevem como os parâmetros da fase lag ( $\lambda$ ) e  $\log(\mu)$  do modelo primário mudam com parâmetros ambientais, como pH, temperatura, atividade de água, entre outros. Os modelos terciários combinam o uso de modelos primários e secundários em um pacote de programas. São *softwares* que transformam modelos primários e secundários em modelos na forma de aplicativos, que podem determinar respostas microbianas em diferentes condições ou ainda comparar o crescimento de diferentes microrganismos (Kajak e Krajewska, 2006; McDonald e Sun, 1999; Mcmeekin, Olley, Ratkowsky e Ross, 2002; Whiting, 1995; Schaffner e Labuza, 1997).

Os modelos primários de crescimento mais utilizados na literatura são; o Modelo de Gompertz, Modelo de Gompertz Modificado e Modelo Logístico.

### **Modelo de Gompertz**

O modelo de Gompertz é um modelo não linear e tem sido utilizado com sucesso para descrever o comportamento microbiano em diferentes alimentos (Masson et al., 2002). O Modelo de Gompertz está representado na Equação 2.1 (Erkmen e Alben, 2002).

$$\text{Log}\left(\frac{N}{N_0}\right) = A * \exp(-\exp(-\mu * (t - \lambda))) \quad (2.1)$$

onde  $\text{Log } N/N_0$  é o logaritmo decimal da contagem microbiana [ $\text{Log UFC/g}$ ] no tempo  $t$ , sendo que  $N$  é o número de unidades formadoras de colônias finais [ $\text{UFC/g}$ ] e  $N_0$  é o número de unidades formadoras de colônias iniciais [ $\text{UFC/g}$ ],  $A$  é o equivalente ao  $\text{Log}$  da contagem microbiana final [ $\text{Log (UFC/g)}$ ],  $\mu$  é a velocidade relativa máxima de crescimento no tempo [ $\text{dias}^{-1}$ ], e  $\lambda$  é o tempo necessário para atingir a velocidade máxima de crescimento [dias].

A equação de Gompertz, não considera a fase lag, apenas o aumento da densidade de células, uma vez iniciado o crescimento exponencial (Nakashima, André e Franco, 2000).

A função ou Modelo de Gompertz foi modificado por Zwietering et al. (1990). A reparametrização do modelo foi feita para que os parâmetros estimados pudessem ter um

significado biológico. Os parâmetros: velocidade específica máxima de crescimento ( $\mu_{\max}$ ), duração da fase lag ( $\lambda$ ) e aumento logarítmico da população ( $A$ ) foram então introduzidos no modelo. Isto facilitou o encontro de valores iniciais e o cálculo de intervalos de confiança para o ajuste da curva (Labuza e Fu, 1993; Van Impe et al., 1995). Zwietering et al. (1990) concluíram que, em quase todos os casos testados, o Modelo de Gompertz Modificado é estatisticamente suficientemente para descrever dados de crescimento e também o mais simples de se usar na maioria dos casos em que o mesmo é utilizado (Whitnig, 1995).

O Modelo de Gompertz Modificado é uma função exponencial dupla, que descreve uma curva sigmóide assimétrica. O Modelo está representado na Equação 2.2.

$$\text{Log}\left(\frac{N}{N_0}\right) = A * \exp(-\exp((\mu * \exp(1/A) * (\lambda - t) + 1))) \quad (2.2)$$

onde  $\text{Log } N/N_0$  é o logaritmo decimal da contagem microbiana [ $\text{Log UFC/g}$ ] no tempo  $t$ , sendo que  $N$  é a unidade formadora de colônias em  $t$  [ $\text{UFC/g}$ ] e  $N_0$  é a unidade formadora de colônias inicial [ $\text{UFC/g}$ ],  $A$  é o aumento logarítmico da população,  $\mu$  é a velocidade específica máxima de crescimento ( $\text{dias}^{-1}$ ) e  $\lambda$  é a duração da fase lag (dias).

Tanto o Modelo de Gompertz original quanto o Modificado, segundo Labuza e Fu (1993), têm sido testados em muitas espécies de microrganismos com bons ajustes.

### Modelo Logístico

A equação 2.3 descreve o modelo logístico.

$$\text{Log}\left(\frac{N}{N_0}\right) = \frac{C}{1 + \exp(D - F * t)} \quad (2.3)$$

onde  $\text{Log } (N/N_0)$  possui o mesmo significado que para o Modelo de Gompertz Modificado,  $D$  é um parâmetro adimensional,  $F$  é o crescimento relativo na metade do tempo da fase exponencial [ $\text{dias}^{-1}$ ].  $C$  é aumento logarítmico da população, equivalente a  $A$ . Destes parâmetros podem ser obtidos: a velocidade específica máxima de crescimento, que é dada pela equação (2.4) e a duração da fase lag é obtida pela equação (2.5).

$$\mu = \frac{C * F}{4} \quad (2.4)$$

$$\lambda = \frac{(D-2)}{F} \quad (2.5)$$

Giannuzzi Pinotti e Zaritzky (1998) compararam os modelos de Gompertz e o Logístico através da análise estatística utilizando o teste F no crescimento microbiano de carnes embaladas e resfriadas em diferentes temperaturas de armazenamento. Dalgaard e Koutsoumanis (2001) avaliaram a vida de prateleira de peixes utilizando estes modelos.

### **2.6.2 - Modelos secundários**

Os modelos secundários descrevem como os parâmetros ( $A$ ,  $\mu$  e  $\lambda$ ) do modelo primário mudam com parâmetros ambientais, como o pH, temperatura, atividade de água ( $a_w$ ), concentração de agentes antimicrobianos, entre outros (Schaffner e Labuza, 1997). Nos últimos anos, têm-se encontrado na literatura diversos trabalhos sobre modelos secundários. Alguns exemplos deste modelo são: modelos polinomiais ou metodologia de superfície de resposta, equação de Arrhenius, modelo da raiz quadrada ou de Ratkowsky (2002) entre outros (Davey e Daughtry, 1995; Mcmeekin, Olley, Ratkosky e Ross, 2002; Schaffner e Labuza, 1997; Whiting, 1995).

Fu e Labuza (1993) mostram que a lei de Arrhenius se aplica para uma determinada faixa de temperatura, uma vez que o crescimento microbiano é um processo bioquímico. Deste modo, a influência da temperatura na velocidade específica de crescimento pode ser caracterizada por uma energia de ativação uma vez que todos os outros fatores são mantidos constantes. A equação 2.6 representa esta função de dois parâmetros.

$$k = A * \exp(-Ea/RT) \quad (2.6)$$

onde  $k$  é a velocidade específica de crescimento determinada da curva de crescimento;  $A$  representa o fator de colisão,  $T$  é a temperatura absoluta (K),  $R$  é a constante universal dos gases (8.314 J/K.mol) e  $E_a$  (J/mol) é a energia de ativação, a qual é uma medida da sensibilidade da temperatura na velocidade específica de crescimento.

O Modelo de Belehradek, ou Modelo da Raiz Quadrada é baseado na relação linear entre a raiz quadrada da velocidade específica máxima de crescimento e a temperatura. Este modelo foi inicialmente utilizado por Ratkowsky et al. (1982) para descrever o efeito da temperatura na velocidade específica máxima de crescimento. A versão mais comum do modelo para temperaturas abaixo da velocidade específica máxima de crescimento está na equação 2.7:

$$\sqrt{k} = a(T - T_0) \quad (2.7)$$

onde k representa a velocidade específica máxima de crescimento ou outro parâmetro, a é a constante de regressão, T<sub>0</sub> representa a temperatura mais baixa onde o crescimento é observado, e T é a temperatura (Van Impe et al., 1992).

Além dos modelos da raiz quadrada e de Arrhenius, bastante utilizados na literatura, Corradini e Peleg (2005) têm demonstrado que modelos empíricos (equações empíricas) podem ser utilizados para descrever a variação dos parâmetros dos modelos primários com a temperatura e outros fatores como atividade de água, pH, concentração de sal, etc.

Segundo Giannuzzi et al. (1998), a temperatura é o fator mais importante nas reações de deterioração de alimentos, principalmente para a deterioração microbiana, uma vez que a velocidade específica máxima de crescimento e a fase lag são altamente dependentes da temperatura. Apesar da temperatura ser um fator importante na estabilidade microbiana, as temperaturas de refrigeração nem sempre são mantidas constantes durante a manipulação e o transporte. Para isso, os efeitos da temperatura na estabilidade microbiana têm sido amplamente estudados por pesquisadores, através de modelos computacionais baseados em transferência de calor e estimativas de crescimento microbiano.

### **2.6.3 – Análise estatística dos modelos preditivos**

Os seguintes índices são utilizados para comparação dos modelos: erro médio quadrático (MSE), coeficiente de regressão (R<sup>2</sup>), fator bias e fator de exatidão.

Quanto menor o valor de MSE, melhor é o ajuste do modelo aos dados experimentais (Sutherland e Bayliss, 1994). O MSE é definido na equação 2.8.

$$MSE = (RSS / n)^{E\left(\left(\text{valor}_{\text{observado}} - \text{valor}_{\text{predito}}\right)^2 / n\right)} \quad (2.8)$$

onde RSS é a soma dos quadrados residuais, n é o número de graus de liberdade (n = número de ponto experimentais – número de parâmetros do modelo).

O fator bias procura dar o mesmo peso na média dos valores que superestimam e subestimam a média, ou seja, é um desvio relativo médio, portanto, o fator bias é uma estimativa para a diferença média entre os valores observados e preditos. O fator Bias deve estar próximo a 1 e pode ser calculado através da equação 2.9.

$$fatorbias = 10^{\log(\text{valor}_{observado} / \text{valor}_{predito}) / n} \quad (2.9)$$

Sabe-se que, teoricamente, os valores do fator de exatidão dão uma estimativa da média dos valores da média e por se tratar de valores absolutos serão sempre maiores que 1. O fator de exatidão pode ser calculado pela equação 2.10.

$$fatordeexatidao = 10 * \sum (\log(\text{valor}_{observado} / \text{valor}_{predito}) / n) \quad (2.10)$$

***CAPÍTULO III –  
MATERIAL E MÉTODOS***

## ***CAPÍTULO III – MATERIAL E MÉTODOS***

### **3.1 – Processo para obtenção de presuntos pressurizados e não pressurizados**

#### ***3.1.1 - Obtenção das massas de presunto***

As peças de carne de porco foram adquiridas em hipermercados da região da cidade do Rio de Janeiro. A fabricação de presunto foi realizada semanalmente na Planta Piloto da Embrapa Agroindústria de Alimentos, para posterior aplicação de altas pressões hidrostáticas e realização das análises necessárias, também na Embrapa.

#### ***3.1.2 – Processamento para obtenção das massas de presunto***

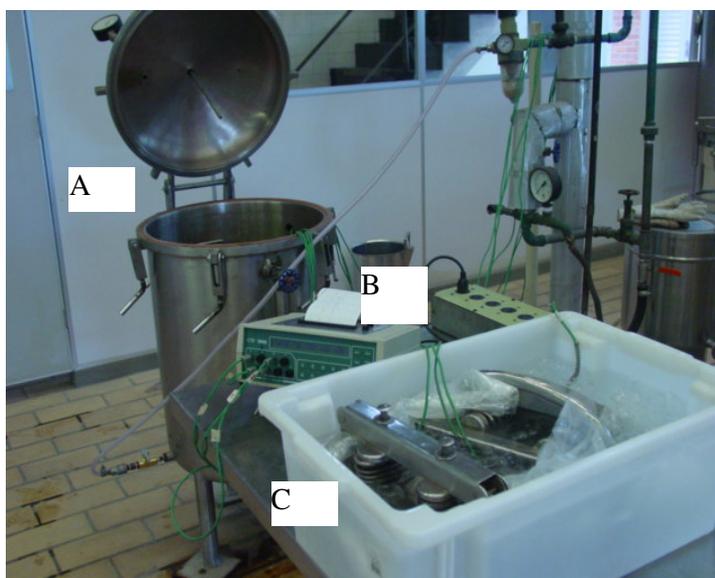
Primeiramente, foi retirada a gordura externa da carne e, em seguida, foi cortada em pequenos pedaços menores.

Para a formulação, foram utilizados aditivos e condimentos, adquiridos da empresa Duas Rodas Industriais, todos os produtos possuem certificação ISO 9001/2000 e ISO 14001. Os componentes da salmoura foram pesados em balança analítica e diluídos em água gelada, em recipiente plástico, mantendo sob agitação constante para completa dissolução, até que a mesma fosse adicionada à carne. Para cada 10 quilos de matéria prima (carne de porco) foi adicionada a salmoura, 300g de supergal 202/11 (produto formulado contendo, sal, açúcar, conservador nitrito de sódio, estabilizante polifosfato, antioxidante eritorbato de sódio), 70g de condimento misto para presunto califórnia 616/1, 28g de realçador de sabor 404/1, 40g de açúcar, 210g de sal e 3 litros de água gelada.

A salmoura foi adicionada à massa e misturada no triturador (marca Geiger e modelo UM12) em intervalos de 30 segundos a 2 minutos. Posteriormente, foi levado à geladeira (4°C), em um recipiente estéril, lá permanecendo por 24 horas. Os componentes da salmoura foram pesados em balança analítica e, em seguida, foram adicionados à quantidade de água que foi utilizada segundo a formulação. A quantidade de cada componente seguiu a orientação do fabricante de condimentos.

Após este período, a massa foi retirada da geladeira e colocada em embalagens plásticas duplas, contendo em média 3,5 kg. A massa foi inserida em duas formas de presunto *cook-in* (idênticas) e, em seguida, as embalagens foram seladas em uma seladora a vácuo

(marca Engevac e modelo 30 gás). O cozimento foi realizado a vapor, dentro de uma autoclave. Uma das formas foi utilizada somente para monitorar a temperatura no ponto central do produto, que deveria atingir 68°C. Para controlar essa temperatura, foi utilizado um equipamento de controle da temperatura (ELLAB). Após atingir a temperatura desejada no ponto central (cozimento completo), as formas foram colocadas em um banho de gelo, onde ali permaneceram por 40 minutos. Posteriormente, os presuntos foram até o freezer, onde ficaram por 40 minutos. Em seguida, os presuntos foram colocados em uma geladeira por 24 horas e posteriormente, seguiram para o fatiamento, embalagem em embalagens stomacher e selagem a vácuo. A Figura 3.1 apresenta a autoclave com as formas de presunto em cozimento, assim como o equipamento controlador da temperatura interna.



**Figura 3.1** - Autoclave (A), controlador de temperatura (B) formas com presunto (C).

### ***3.1.3 – Fatiamento e embalagem a vácuo das massas de presunto***

Para a etapa de fatiamento, o fatiador de frios (marca SKYMSEN, modelo CFI-300) foi colocado em uma câmara de fluxo onde a mesma antes do fatiamento, foi higienizada e submetida à luz UV por 15 minutos. O fatiador de frios também foi higienizado e permaneceu na câmara de fluxo durante o tempo em que a luz UV estava ligada (Figura 3.2). O fatiamento das massas de presunto cozido foi realizado posteriormente com ajuste da espessura da fatia de 0,5 mm.

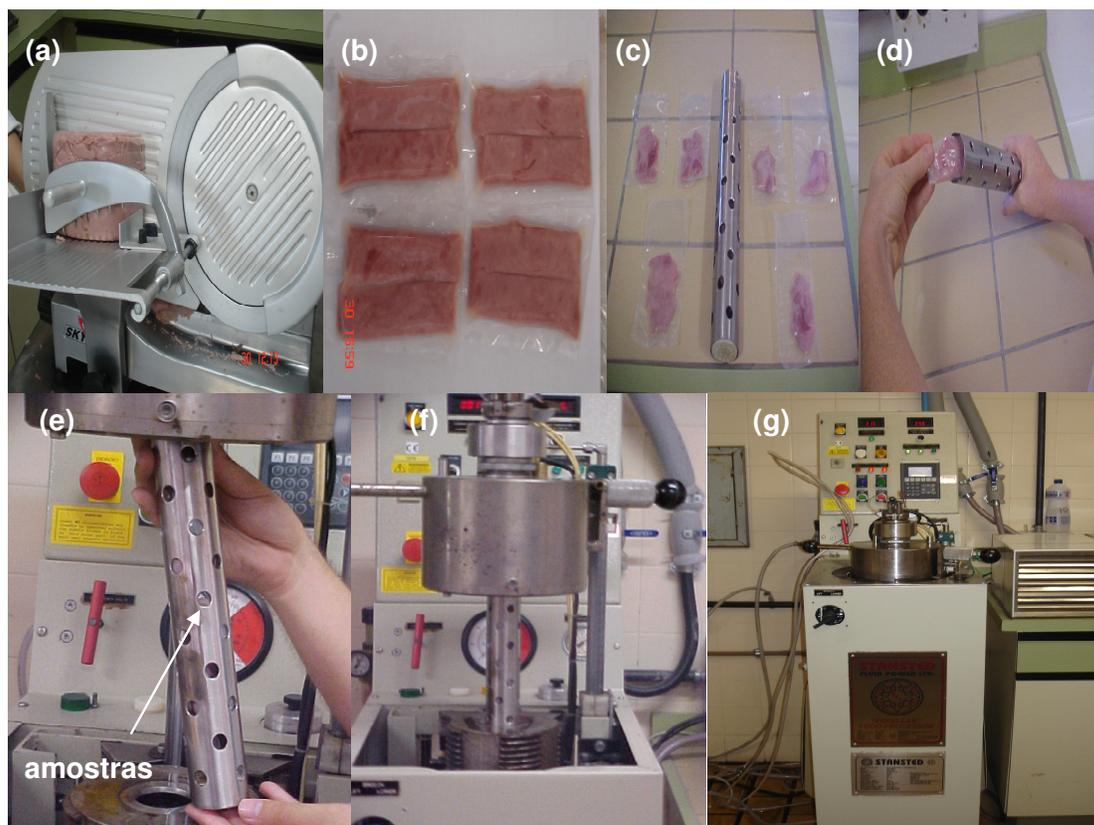


**Figura 3.2** - Processo de fatiamento das amostras de presunto e selagem a vácuo.

### **3.1.4 – Processamento a alta pressão**

A etapa de aplicação da alta pressão foi realizada posteriormente à etapa de fatiamento e de selamento a vácuo do presunto. O equipamento de alta pressão hidrostática utilizado encontra-se na Embrapa Agroindústria de Alimentos, localizado na Planta Piloto II (marca Stanted Fluid Power e modelo S-FL-850-9-W), e tem a capacidade de operar em uma faixa de pressão de 100 a 500 MPa, em um intervalo de temperatura de 0 a 80°C a intervalos de tempos diversos. Possui um cilindro interno de aproximadamente 7 cm de diâmetro e 20 cm de comprimento. O fluido pressurizador deste equipamento foi o álcool etílico 70%. O seu funcionamento consistiu em um cilindro de aço com uma câmara onde é colocado o recipiente de inox contendo as amostras. O equipamento foi controlado através de um painel para o ajuste da pressão, do tempo e da temperatura de processo. Posteriormente, as amostras de produto, embaladas e seladas a vácuo, foram colocadas dentro do cilindro interno, que foi ajustado em seguida, dentro da câmara de pressão. A câmara contendo o cilindro de inox foi hermeticamente fechada e vedada para que não houvesse vazamentos. Primeiramente, uma bomba pneumática foi acionada na câmara, injetando uma pré-carga até que os selos da mesma se vedassem e, posteriormente, acionou-se automaticamente uma segunda bomba hidráulica que deslocou um pistão e elevou a pressão até a de trabalho desejada; caracterizando assim, 2 estágios de pressurização. O equipamento operou com uma taxa de pressurização de 7 MPa/s até alcançar a pressão desejada e, a partir deste momento, contou-se o tempo de processo do produto, não contando o tempo até chegar a pressão necessária e nem o tempo de despressurização. O tempo de pressurização propriamente dito foi contado a partir do momento em que a câmara alcançou a pressão desejada, até o início da despressurização. No decorrer do processo, pequenas oscilações da temperatura ocorreram devido à pressão ser diretamente proporcionais à temperatura; logo, como houve uma aplicação de pressão, também houve o aumento da temperatura. Ao término do ciclo, abriu-se a câmara e retirou-se

o recipiente contendo as amostras, sendo as mesmas encaminhadas para análises específicas. A Figura 3.3 apresenta o equipamento de alta pressão utilizado.



**Figura 3.3** – (a) Fatiamento das amostras de presunto; (b) Amostras sem aplicação de APH; (c) Amostras e o cilindro de APH; (d) Amostras sendo colocadas no cilindro para sofrerem o processo de APH; (e) Acoplamento do cilindro com amostras no equipamento de APH; (f) Fechamento do equipamento de APH; (g) Aplicação da APH.

### **3.2 – Acompanhamento microbiológico da vida de prateleira (600 MPa - 05 minutos)**

Foram colocados aproximadamente 25g do produto fatiado em embalagens plásticas resistentes a altas pressões. Estas embalagens, contendo o produto, foram seladas a vácuo (seladora marca Engevac e modelo 30 gás).

Após o fatiamento, uma parte do produto embalado a vácuo não foi pressurizada (controle) e a outra parte foi submetida ao processo de alta pressão hidrostática (pressurizada) (Stanted Fluid Power e modelo S-FL-850-9-W), onde a pressão aplicada foi de 600 MPa por 5 minutos a 30°C. Em seguida, as embalagens com o presunto controle e as pressurizadas foram armazenadas em BOD a temperatura de 5°C. Ambas as amostras foram analisadas

periodicamente, para o acompanhamento da contagem de bactérias ácido lácticas (por ser a flora deteriorante predominante) e contagem total que é um dos critérios para definição da vida de prateleira deste produto. O final da vida de prateleira foi determinado após o produto atingir  $10^7$  UFC/g e/ou apresentar alterações das características físico-químicas.

De cada embalagem de presunto controle e pressurizado, retirou-se paralelamente, de forma asséptica, 25g de amostra que foram colocados em sacos de procedimento estéril e acrescidos de 225 ml de água peptonada (1%). Homogeneizou-se a amostra por 60 segundos em *stomacher* (ITR, modelo 1204) realizando-se, na seqüência, diluição e plaqueamento, seguido de incubação a 30°C e 10°C. Foram utilizados dois meios de cultura: Agar Contagem Total (PCA) para contagem de microrganismos totais e Agar MRS para contagem de bactérias ácido lácticas. Todas as análises foram realizadas em duplicata e os resultados foram expressos em Log (N/No) (N: unidade formadora de colônias final [UFC/g]; No: unidade formadora de colônias inicial [UFC/g]).

### **3.2.1 – Modelagem do crescimento microbiano**

Os modelos primários de crescimento de Gompertz modificado e Logístico foram utilizados para o ajuste das curvas de crescimento e obtenção dos parâmetros de crescimento dos microrganismos e estão descritos no item 2.6.1 e 2.6.3.

### **3.3 – Planejamento experimental fracionário**

Com o objetivo de estudar o efeito combinado de diferentes pressões e tempos de pressurização no aumento da vida de prateleira de presunto, fez-se um planejamento experimental fracionário  $2^2$  com triplicata no ponto central.

A obtenção do presunto controle e do pressurizado é realizada conforme descrito no item 3.1.1 a 3.1.4. Os experimentos foram estabelecidos pela combinação de níveis e de fatores e estão descritos na tabela 3.1. A Tabela 3.2 apresenta os diferentes ensaios realizados. Para todos os ensaios, a temperatura de pressurização utilizada foi de 27°C ( $\pm 5^\circ\text{C}$ ).

**Tabela 3.1.** Níveis e fatores utilizados no planejamento experimental fracionário para presunto fatiado pressurizado embalado a vácuo.

Fatores	Níveis		
	- 1	0	+ 1
Pressão aplicada (MPa)	200	300	400
Tempo de pressão aplicada (min.)	5	10	15

**Tabela 3.2.** Ensaios do planejamento experimental  $2^2$  com triplicata no ponto central para presunto fatiado pressurizado embalado a vácuo.

Ensaio	Fator	
	Pressão	Tempo
1 – (200 MPa -05 min)	- 1	- 1
2 – (200 MPa -15 min)	- 1	+ 1
3 – (400 MPa -05 min)	+ 1	- 1
4 – (400 MPa -15 min)	+ 1	+ 1
5 – (300 MPa -10 min)	0	0
6 – (300 MPa -10 min)	0	0
7 – (300 MPa -10 min)	0	0

### **3.3.1 - Análise microbiológica**

O fatiamento das massas de presunto foi realizado no fatiador descrito na etapa 3.1.3. Foram colocados aproximadamente 30g do produto fatiado em embalagens plásticas estéreis resistentes a altas pressões. Estas embalagens contendo o produto foram seladas a vácuo e, posteriormente, seguiram para a etapa de aplicação de altas pressões.

As amostras controle e pressurizadas foram armazenadas em BOD a temperatura de 8°C, onde foram analisadas periodicamente, até o final da vida de prateleira.

### **3.3.2 – Acompanhamento da vida de prateleira**

De cada embalagem de presunto controle e pressurizado, retirou-se, de forma asséptica, 10g de amostra as quais foram colocados em sacos de procedimento estéril e acrescidos de 90 ml de solução salina (0,85%). Homogeneizaram-se as amostras por 120 segundos em *stomacher* (Nova Ética), realizando, na seqüência, diluição e plaqueamento em meio MRS, seguido de incubação a 30°C. Todas as análises foram realizadas em duplicata e os resultados foram expressos em log (N/No) (N: unidade formadora de colônias final [UFC/g]; No: unidade formadora de colônias inicial [UFC/g]).

### **3.3.3 – Modelagem do crescimento microbiano**

Os modelos primários de crescimento de Gompertz modificado e Logístico foram utilizados para o ajuste das curvas de crescimento e obtenção dos parâmetros de crescimento dos microrganismos e estão descritos no item 2.6.1 e 2.6.3.

### **3.4 – Efeito da temperatura de armazenamento na vida de prateleira de presunto**

Foi estudado o efeito da temperatura de armazenamento (4, 8, 12 e 15°C) na velocidade específica máxima de crescimento e na duração da fase lag de bactérias ácido lácticas em presunto controle e pressurizado. A metodologia utilizada foi a mesma descrita no item 3.3.2.

Após o ajuste do modelo primário às curvas de crescimento do item 3.3 e a escolha da melhor condição de processo desta etapa, foi estudado o efeito da temperatura de armazenamento sobre os parâmetros de crescimento das bactérias ácido lácticas: velocidade máxima de crescimento e duração da fase lag. Para isto, foram utilizados três modelos secundários: equação empírica, modelo da raiz quadrada e modelo linear.

### **3.5 – Estudo do efeito da alta pressão em microrganismos patogênicos**

Com o objetivo de se verificar o efeito da alta pressão na inativação de microrganismos patogênicos em presunto pressurizado, e frente à exigência do Ministério da Agricultura, a fim de garantir a segurança alimentar, foi realizado um acompanhamento microbiológico durante a vida de prateleira deste produto, sendo que as análises foram realizadas em dias pré-determinados (a cada 15 dias) durante a vida de prateleira (aproximadamente 75 dias) para as amostras controle e pressurizadas. Foram realizadas análises de *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* e contagem total em placa de microrganismos psicrotórficos de acordo com os padrões de qualidade especificados na RDC nº12 – ANVISA (Brasil, 2001), que estabelece os padrões microbiológicos para alimentos em geral.

Realizou-se pesquisa de Coliformes a 45°C/g, *Estafilococcus coagulase positiva*/g, *Clostridium sulfito redutor* a 46°C e *Salmonella sp*/25g.

Após a pressurização na condição de 400MPa a 15 minutos a temperatura ambiente, 2.000g das amostras controle e pressurizada, embaladas a vácuo e divididas em sacos estéreis (*Nasco WHIL-PACK*), contendo em média 25g cada, foram armazenadas a 8°C. Todas as análises foram realizadas a cada 15 dias até completar os 75 dias de armazenamento.

A pesquisa de Coliformes a 45°C, foi realizada seguindo-se a metodologia analítica do Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (2001). Inicialmente as amostras foram preparadas e semeadas em caldo LST (Caldo Lauril Sulfato Triptose), técnica do NMP (número mais provável), posteriormente foi complementada por outra

técnica, mais seletiva, baseada na utilização de um meio de cultura seletivo “Caldo E.C”, incubado a temperaturas superiores a 45°C.

Para pesquisa de *Estafilococcus* coagulase positiva utilizou-se a metodologia preconizada pelo Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (2001). Utilizou-se o plasma de coelho e o cultivo foi feito de 18-24 horas em caldo B.H.I., da cepa testada. Esse meio verifica se houve a coagulação do plasma.

Na pesquisa de *Salmonella sp* empregou-se a metodologia segundo Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (2001). A detecção envolveu as etapas de pré-enriquecimento que foi utilizado para recuperar as células de microrganismos injuriados durante o processamento, ou ainda para aumentar o número de células de enterobactérias, de maneira não seletiva. Posteriormente utilizou-se enriquecimento seletivo: esta etapa teve como função, favorecer a multiplicação das salmonelas, inibindo ou restringindo o desenvolvimento de outros microrganismos presentes. Foi realizado plaqueamento em meio seletivo-indicador, utilizando-se dois meios sólidos, sendo um de pequeno efeito inibidor e o outro de efeito maior, favorecendo o reconhecimento de colônias suspeitas de *Salmonella*. Após triagem as colônias suspeitas foram testadas em meios que forneciam indicações sobre as características bioquímicas dos microrganismos, como os meios ágar três açúcares-ferro (ágar TSI) e ágar lisina-ferro (LIA). Posteriormente foram realizadas provas bioquímicas e sorológicas complementares para comprovação do gênero *Samonella*.

Para a pesquisa de *Clostridium* sulfito redutor a 46°C seguiu-se a metodologia do Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (AFHA) (2001). As amostras inoculadas em ágar SPS foram mantidas e meio de anaerobiose (sistema GASPAC), com papel indicador de anaerobiose, e incubadas em estufa a 35-37°C por 72 horas. Depois desse tempo, as colônias seccionadas foram incubadas por mais 12 horas, até leve crescimento e a comprovação como presuntiva para *C. perfringens*, utilizando-se os meios ágar nitrato-motilidade, ágar lactose-motilidade e meio de leite-ferro e por último incubado por mais 24 horas e feito a leitura.

### **3.6 – Análise de proteínas pela técnica de Eletroforese SDS-PAGE**

As análises de eletroforese em gel de poliacrilamida, contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), em presunto controle e pressurizado tiveram por objetivo estudar o efeito da aplicação de altas pressões sobre as proteínas miofibrilares de presunto fatiado. Utilizou-se 10g por pacote para cada condição de presunto fatiado embalado a vácuo controle e

pressurizado por um tempo de 15 minutos a diferentes pressões (0 (controle), 100, 200, 500 e 600 MPa).

Para o presente estudo, foi utilizado o sistema de eletroforese de Biorad e a metodologia de preparação dos géis descrita por Laemmli (1970). Para o gel de corrida, foi utilizada acrilamida na concentração de 12% e para o gel da aplicação da amostra, foi utilizada acrilamida na concentração de 4%. A corrida foi realizada durante sete horas sob uma tensão de 100V. As proteínas dos géis foram coradas com o reagente de cor “coomassie blue R250”, durante uma noite. Após este período, foram descoradas com uma solução de metanol/ácido acético (40:10:50), durante três horas. Uma amostra de 10g de cada diferente condição de pressurização foi homogeneizada em “blender” durante dois minutos, usando 30 ml de uma solução aquosa composta de tampão fosfato 20mM, acrescido de KCl na concentração de 0,45M. Após centrifugação durante 20 minutos a uma velocidade de 4000 rpm, 30µl das amostras, concentradas em tampão de extração, foram aplicadas em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE).

### **3.7- Análise de pH**

A fim de se estudar possíveis alterações no pH das amostras de presunto controle e pressurizada, análises de pH foram realizadas. A massa de presunto controle e pressurizado foram obtidas conforme descrito nos itens 3.1.1 a 3.1.4.

As condições de pressão e tempo de pressurização seguiram o planejamento experimental descrito nas Tabelas 3.1 e 3.2. Aproximadamente 3g de presunto por saco de amostra foram utilizadas para cada análise. Essa quantidade de amostra foi colocada em sacos estéreis e acrescida de 30 ml de água destilada e em seguida o pH foi medido. O pH foi medido em aparelho de medição de pH (marca Tecnoyon). A medição do pH foi realizada desde o dia 0 até o 45º dia de armazenamento a 4°C.

Em uma nova análise de pH, foram realizadas análises de presunto controle e pressurizado (400 MPa/15 min) por um período de 90 dias (0, 15, 30, 45, 60, 75 e 90º dia) armazenados a 8°C.

### **3.8 – Análise de atividade de água**

A fim de se estudar possíveis alterações no teor de atividade água ( $A_w$ ) das amostras de presunto controle e pressurizada durante a vida-de-prateleira, análises de  $A_w$  foram realizadas. A massa de presunto controle e pressurizado foram obtidas conforme descrito nos itens 3.1.1 a 3.1.4.

As condições de pressão e tempo de pressurização seguiram o planejamento experimental descrito nas Tabelas 3.1 e 3.2. Foram preparadas amostras suficientes para a realização de análises durante 45 dias de armazenamento a 4°C. Aproximadamente 10g de amostra de presunto para cada condição foram utilizadas para cada análise durante o período de armazenamento. As amostras de presunto foram colocadas em recipiente para leitura de atividade de água. A leitura da atividade de água de cada amostra foi realizada em aparelho de atividade de água (marca Novasina e modelo Aw Sprint TH-500). A Figura 3.4 apresenta o aparelho de atividade de água utilizado para a realização destas análises.



**Figura 3.4** - Amostra controle e pressurizada no recipiente (a); Equipamento Higrômetro Eletrônico Novasina Aw-Center com amostra dentro da célula.

### **3.9– Análise de composição centesimal**

A fim de se estudar possíveis alterações na composição centesimal das amostras de presunto controle e pressurizada, análises de cinzas, extrato etéreo, nitrogênio total e umidade foram realizadas conforme a AOAC (1990). A massa de presunto controle e pressurizado foram obtidas conforme descrito nos itens 3.1.1 a 3.1.4.

Para as análises de composição centesimal, após a pressurização na condição de 400MPa a 15 minutos a temperatura ambiente, 400g das amostras controle e pressurizada, embaladas à vácuo e divididas em sacos plásticos estéreis (*Nasco WHIL-PACK*), foram enviadas para o Laboratório de Físico-Química, situado na Asa 01, da Embrapa Agroindústria de Alimentos/ CTAA e armazenadas a 8°C até análise físico química.

#### **3.9.1. Cinzas**

A análise de cinzas realizada para o presunto suíno controle e pressurizado, onde as mesmas foram feitas com o intuito de avaliar o resíduo inorgânico presente, após a queima da matéria orgânica, indicando o valor nutricional e seguiu a metodologia da AOAC Official

Methods 923.03, 2005. Foi realizada a incineração das amostras em mufla a 550°C, passagem por dessecador e pesagem das diferenças dos pesos, para fornecer a quantidade de cinzas.

### **3.9.2. Extrato etéreo**

A análise do extrato etéreo foi feita com o intuito de avaliar o teor de lipídeos, indicando o valor nutricional e seguiu a metodologia da AOAC Official Methods 922.06, 2000. Foi realizada a extração da gordura com solvente, sua eliminação por evaporação, quantificação pesagem.

### **3.9.3. Nitrogênio total**

A análise de nitrogênio total foi feita com o intuito de avaliar o teor de nitrogênio da matéria orgânica. Seguiu a metodologia da American Association for Clinical Chemistry - AACC, 1995, método 46-13. Foram realizadas as etapas de digestão, destilação e titulação da amostra, para extrair o nitrogênio e depois foi multiplicado pelo fator de conversão para proteínas que é de 6,25.

### **3.9.4. Umidade**

A análise de umidade foi feita com o intuito de avaliar o teor de umidade do produto do presunto controle e do pressurizado. Seguiu a metodologia do DGF, 1995, B-1-4 (equivalente ao Método Internacional Padrão ISSO 665 “Oilseeds – Determination of Moisture and Volatile Matter Content”). Foram feitas pesagens sucessivas da amostra antes e após a exposição em estufa previamente mantida a  $103 \pm 2^\circ\text{C}$  e a determinação da umidade foi concluída quando a diferença após operações de secagem e pesagem foi igual ou menor que 0,1% do peso da amostra.

## **3.10 – Análise instrumental de cor**

Para esta análise, utilizou-se o presunto obtido no item 3.1.1 a 3.1.3. O fatiamento foi realizado no fatiador de frios localizado dentro da câmara de fluxo, com ajuste da espessura da fatia em 2cm. As fatias foram modeladas em um cilindro de 2 cm de diâmetro, obtendo-se uma amostra com especificações de 2 cm de altura e 2 cm de diâmetro. Em cada embalagem estéril, foram colocadas 3 amostras com essas especificações que foram seladas a vácuo e seguiram para a etapa de aplicação de altas pressões.

As pressões e tempos de pressurização para estas análises foram realizados conforme o planejamento experimental demonstrado nas Tabelas 3.3.1 e 3.3.2. Para cada diferente

condição foram preparadas embalagens contendo três amostras para cada condição. Foram feitas amostras suficientes para a realização das análises do dia zero de armazenamento até o 65º dia de armazenamento do produto à 4°C.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e estimativa dos efeitos através do *software* Statistica 6.0 para as variáveis respostas valor de L\* e valor de a\*. Também foi realizada a análise estatística de Dunnett que compara a amostra controle com as demais amostras pressurizadas para verificar se houve diferença significativa entre as amostras controle e as pressurizadas. Os fatores foram considerados estatisticamente significativos quando  $p < 0,05$ .

As análises foram realizadas com amostras com quatro repetições e foram realizadas um total de 12 leituras. A análise instrumental de cor foi realizada por reflectância no S & M Colour Computer modelo SM – 4 – CH da Suga, no sistema de Hunter com abertura de 10mm de diâmetro do laboratório de Análise Sensorial e Instrumental da Embrapa Agroindústria de Alimentos. A Figura 3.5 mostra o equipamento utilizado para as análises de cor de presunto suíno.

Os parâmetros de cor medidos em relação à placa branca ( $L = 90,21$ ;  $a = 2,34$ ;  $b = 1,39$ ) foram:

- **L** = luminosidade (0 = preto e 100 = branco)
- **a** = (- 80 até zero = verde, do zero ao + 100 = vermelho)
- **b** = (-100 até zero = azul, do zero ao + 70 = amarelo)
- **ΔE** (diferença total de cor =  $\sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$ )



**Figura 3.5** - Equipamento de cor S & M Colour Computer modelo SM – 4 – CH utilizado para as análises de L\* e a\*.

### **3.11 – Análise de Oxidação Lipídica**

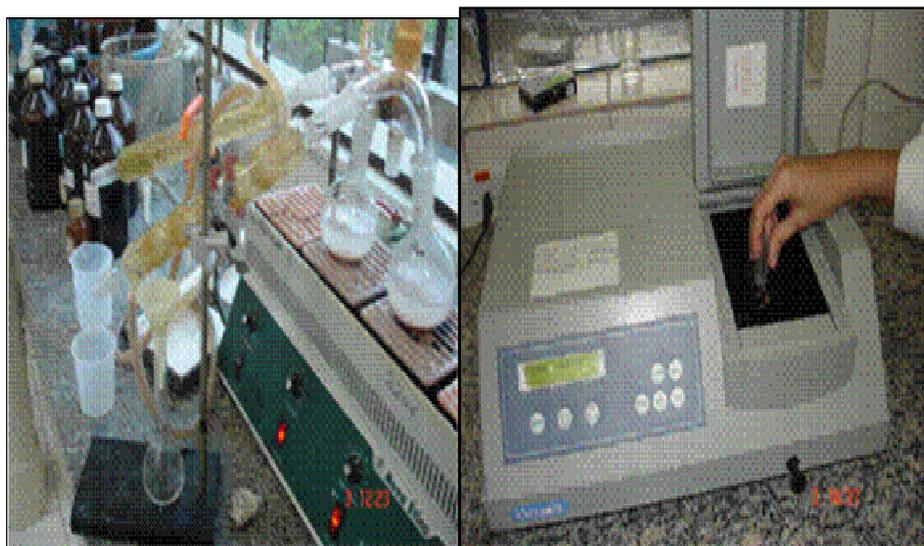
Para as análises de oxidação de lipídeos, após a pressurização na condição de 400MPa por 15 minutos à temperatura ambiente, 1000g das amostras controle e pressurizada, embaladas à vácuo e divididas em sacos plásticos estéreis (*Nasco* WHIL-PACK) de 20 g cada, foram enviadas para o Laboratório de Análises Físico-Químicas, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, no Instituto de Tecnologia de Alimentos. As amostras foram armazenadas a 8°C, e analisadas a cada 15 dias, durante 90 dias de armazenamento.

#### **3.11.1 - Determinação da oxidação lipídica pelo teste de TBA**

O teste de TBA (ácido 2-tiobarbitúrico) gera informações úteis a respeito da oxidação de lipídios de produtos cárneos e pescados. A rancidez ou a oxidação de lipídios é a deterioração mais importante que ocorre nesse tipo de produto, definindo a sua vida de prateleira, na medida em que gera produtos indesejáveis do ponto de vista sensorial e destrói vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos essenciais. Apesar de suas limitações, o método mais

usual na avaliação da oxidação de lipídios em carnes e produtos cárneos é o teste de TBA, devido à sua simplicidade e rapidez.

Para determinação do TBA utilizou-se a metodologia analítica do Ministério da Agricultura - Métodos Analíticos para Controle dos Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes - Instrução Normativa, nº 20 de 21/07/1999. Essa metodologia fundamenta-se na formação de um composto de coloração vermelha resultante da condensação de 2 moles de ácido 2-tiobarbitúrico com 1 mol de aldeído malônico ou de seus tautômeros (originados na oxidação de lipídeos). A Figura 3.6 apresenta a extração e leitura em espectrofotômetro para as análises de TBA.



**Figura 3.6** - Metodologia de TBA: extração e leitura em espectrofotômetro.

Para esta análise, 10g da amostra de presunto suíno foi homogeneizada e adicionada de 50mL de água destilada e posteriormente transferida para um balão de destilação de 250mL com auxílio de bastão de vidro. Adicionou-se 2,5mL de solução de ácido clorídrico 4N para levar o pH a 1,5. Para evitar a formação de espuma, foi adicionado um antiespumante (glicerol) e pérolas de vidro. Feito isto, adicionou-se 2mL de solução de sulfonamida e seguido para a destilação fracionada. Foi aquecido em placa aquecedora até se obter 50mL do destilado após 10 minutos do começo da ebulição. Colocou-se 5mL do destilado em tudo de ensaio e adicionou-se 5mL do reativo do tiobarbitúrico. O tubo foi então tampado, agitado e colocado em banho-maria por aproximadamente 35 minutos. Em seguida, esfriou-se em água corrente por 10 minutos e foi levado para leitura em espectrofotômetro a 538nm comparando-se os resultados obtidos com a curva padrão.

O teste de TBA quantifica o malonaldeído (MDA), um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados, formado durante o processo oxidativo – o MDA é um dialdeído de três carbonos, com grupos carbonilas nos carbonos C-1 e C-3. A reação envolve o ácido 2-tiobarbitúrico com o malonaldeído, produzindo um composto de cor vermelha, medido espectrofotometricamente a 532 nm de comprimento de onda. A formação do composto TBA-MDA, na proporção de 2:1, é possivelmente iniciada pelo ataque nucleofílico, envolvendo o carbono 5 do TBA e o carbono 1 do MDA, seguido de desidratação e reação similar subsequente do composto intermediário com uma segunda molécula de TBA, na proporção de 1:1. A quantificação de malonaldeído é feita a partir de curvas de calibração construídas com concentrações conhecidas de malonaldeído. Os padrões mais freqüentemente utilizados são 1,1,3,3 –tetrametoxipropano (TMP) e 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) que, nas condições ácidas do teste, sofrem hidrólise, resultando na liberação do malonaldeído. Os resultados são expressos em unidade de absorvância por unidade de massa de amostra ou em “valor de TBA” ou “número de TBA”, definidos como a massa, em mg, de malonaldeído por kg de amostra.

### **3.11.2 - Determinação do Índice de Peróxidos**

Devido à sua ação fortemente oxidante, os peróxidos orgânicos formados no início da rancificação atuam sobre o iodeto de potássio liberando iodo, que é titulado com tiosulfato de sódio em presença de amido como indicador. Ele indica o grau de oxidação da amostra. A quantidade de peróxido não constitui um índice infalível das características de conservação, porém indica até que ponto a oxidação progrediu.

A metodologia utilizada foi do Instituto Adolfo Lutz, onde em um erlenmeyer de 250mL com tampa esmerilhada, foi colocado 05 g da amostra triturada e foi adicionado mistura de ácido acético + clorofórmio (3+2), agitando-se até dissolver por completo. Filtrou-se imediatamente o conteúdo em papel de filtro. Realizou-se a refiltração em papel de filtro com pequena quantidade de sulfato de sódio anidro, utilizando 10 mL de clorofórmio para lavar o recipiente. Transferiu-se, volumetricamente, 25 mL de filtrado obtido para erlenmeyer de 250mL, adicionou-se 37 mL de ácido acético e 1mL de solução saturada de iodeto de potássio. Após um minuto sob agitação no escuro, acrescentou-se 30mL de água. Foi realizada titulação com solução de tiosulfato de sódio 0,01N, usando solução de amido a 1% como indicador. A Figura 3.7 mostra as amostras de presunto trituradas e a titulação.



**Figura 3.7** - Amostras de presunto de controle e pressurizada para oxidação de lipídeos

### **3.12 – Análise Sensorial**

#### **3.12.1 – Teste de Preferência, Intenção de Compra e Análise Descritiva Quantitativa – ADQ.**

##### **- Teste de Preferência e Intenção de Compra**

Para a análise de preferência e intenção de compra foram utilizadas sete amostras de presunto, sendo cinco marcas comerciais, uma amostra controle e uma amostra pressurizada (400 MPa por 15 minutos). A obtenção das amostras controle e pressurizada seguiu os itens 3.1.1 a 3.1.3.

Foram utilizadas diferentes amostras de presunto comerciais para comparar o novo produto em estudo (presunto pressurizado) com presuntos comerciais disponíveis no mercado. Foram utilizadas diferentes marcas para se verificar se havia diferença ou não entre as amostras pressurizadas e as comerciais. Setenta consumidores avaliaram as amostras quanto a preferência. Neste teste, foram utilizadas cinco marcas comerciais de presunto, a amostra processada e mais a amostra processada pressurizada.

As amostras foram apresentadas de forma monódica para os consumidores em pratos descartáveis brancos, codificados com números de três algarismos e servidas à temperatura ambiente em cabines individuais do Laboratório de Análise Sensorial e Instrumental da Embrapa Agroindústria de Alimentos – RJ. A ordem de apresentação das amostras seguiu o delineamento de blocos completos balanceados (MacFie et al. 1989). A Figura 3.8 mostra os consumidores nas cabines no teste de preferência de presunto realizado.

As amostras foram avaliadas utilizando escala hedônica não estruturada de nove pontos. A intenção de compra foi investigada empregando escala não estruturada de sete pontos. Os dados obtidos quanto à preferência, foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) com testes de médias de Tukey, análise de distribuição de frequências médias e também através do Mapa Interno da Preferência e “Cluster Analysis”. Para a intenção de compra, os dados foram analisados através da ANOVA e distribuição de frequência.



**Figura 3.8** - Consumidores não treinados recebendo amostras de presunto.

#### **- Análise Descritiva Quantitativa - ADQ**

A ADQ envolve uma série de etapas, dentre elas a pré-seleção de provedores. Para dar início à pré-seleção de provedores, foi necessário identificar as amostras que comporiam os testes. Foram utilizadas amostras de presunto controle e pressurizadas obtidas nos itens 3.1.1 a 3.1.3. Além destas, foram utilizadas mais cinco amostras comerciais obtidas em supermercados da região da cidade do Rio de Janeiro. Os testes sensoriais foram realizados toda a semana e para os mesmos foi processado o presunto seguido da pressurização semanalmente. Peças de presunto inteiras de diferentes marcas comerciais também foram compradas semanalmente.

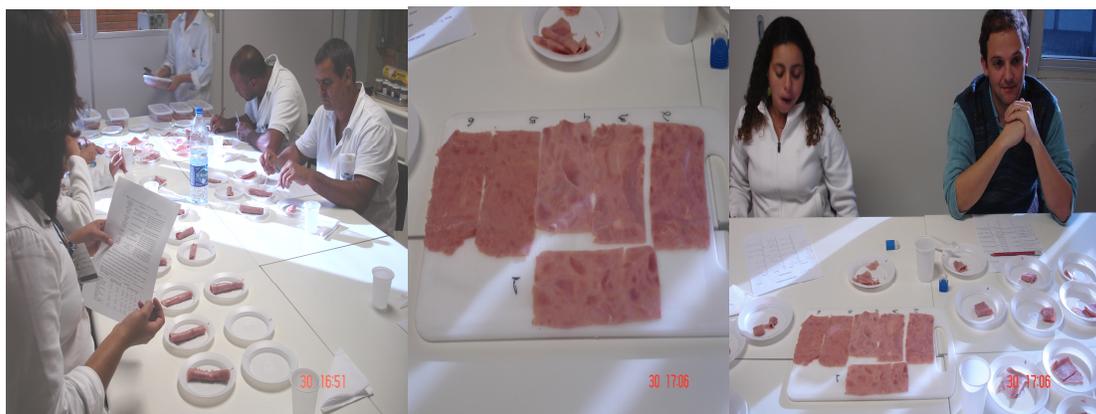
A etapa de seleção de provadores e levantamento dos atributos sensoriais teve duração de aproximadamente 2 meses e meio e os testes foram realizados semanalmente.

Sete indivíduos previamente selecionados para gosto salgado e textura integraram a equipe de provadores. O levantamento dos termos descritivos foi realizado a partir de amostras comerciais e experimentais de presunto (controle e pressurizada). A diversidade das amostras oferecidas aos provadores teve como objetivo facilitar o levantamento dos atributos sensoriais.

Posteriormente à etapa de levantamento dos atributos, a equipe reuniu-se em várias sessões para estabelecer, por consenso, as definições e referências, para a posterior elaboração da ficha de avaliação.

Após a identificação dos atributos e definição das referências, o treinamento dos termos descritivos foi realizado utilizando os pontos âncora; “fraco” ou “forte” para cada atributo avaliado.

Antes da realização da ADQ, a performance da equipe de provadores foi avaliada, verificando a discriminação entre as amostras, repetibilidade e concordância entre os membros (Damásio e Costell, 1991). Para isto, foi realizada a análise de variância (ANOVA) com duas causas de variação (amostra e repetição) para cada atributo e provador, sendo selecionados os provadores com valores de  $F_{amostra}$  significativo para  $p < 0,30$  e  $F_{repetição}$  para  $p > 0,05$  (não significativos). Os provadores selecionados participaram a ADQ. Na ADQ foram utilizadas cinco marcas diferentes de presunto, disponíveis no mercado, bem como as amostras de presunto controle e pressurizada (400 MPa por 15 minutos). A Figura 3.9 apresenta os provadores treinados recebendo as diferentes amostras de presunto para análise.



**Figura 3.9** - Provadores treinados recebendo amostras de presunto.

As amostras foram avaliadas no Laboratório de Análise Sensorial da Embrapa Agroindústria de Alimentos – RJ, em cabines individuais, codificadas com números de três algarismos, de forma monádica, com três repetições, seguindo delineamento de blocos completos balanceados (MacFie et al., 1989).

Todas as amostras foram apresentadas em pratos plásticos descartáveis brancos. Para avaliação da aparência, as amostras foram apresentadas à temperatura ambiente e sob luz branca. Os demais atributos foram avaliados sob luz vermelha.

Os dados obtidos foram avaliados através da análise de variância (ANOVA), teste de médias e Análise de Componentes Principais (ACP), utilizando o programa estatístico XLSTAT-MX (2007).

***CAPÍTULO IV –***  
***RESULTADOS E DISCUSSÕES***

## **CAPÍTULO IV – RESULTADOS E DISCUSSÕES**

Este capítulo é apresentado na forma de artigos que tratam de diversos aspectos investigados.

### **4.1. Estudos preliminares;**

#### **4.2. 1º Artigo:**

**Modeling the growth of lactic acid bacteria in sliced ham processed by high hydrostatic pressure**

#### **4.3. 2º Artigo:**

**Efeito da temperatura sobre os parâmetros de crescimento de bactérias lácticas em presunto fatiado tratado por alta pressão hidrostática**

#### **4.4. 3º Artigo:**

**Efeito da Alta Pressão Hidrostática (APH) sobre as propriedades físicas, químicas e microbiológicas de presunto pressurizado**

#### **4.5. 4º Artigo:**

**Características sensoriais e preferência do consumidor de presunto processado por alta pressão hidrostática**

#### **4.6. 5º Artigo:**

**Preferência e intenção de compra de presunto tratado por alta pressão hidrostática**

#### **4.1- Estudos preliminares**

##### **Resumo:**

Com o intuito de se verificar a eficácia do processo de APH utilizando o equipamento Stated Fluid Power (S-FL-850-9-W), sobre os principais microrganismos deteriorantes de presunto suíno, fez um ensaio preliminar na condição de 600 MPa por 5 minutos a 30°C em presunto suíno fatiado e embalado a vácuo. Foram realizadas análises para verificação do crescimento de bactérias ácido lácticas e microrganismos psicrotróficos nas amostras controle e pressurizadas armazenadas a 5°C por um período de 120 dias.

O presunto cozido é um produto cárneo não fermentado. A atividade de água, pH e a alta concentração de sal característica deste produto implicam em uma deterioração causada principalmente por microrganismos Gram positivos, especialmente as bactérias ácido lácticas. O empacotamento a vácuo dos presuntos propicia um ambiente microaerófilo na superfície do produto. Esta condição torna-se ideal para o crescimento das bactérias ácido lácticas e conseqüente deterioração do produto. Na presente pesquisa, realizada com presuntos fatiados empacotados a vácuo, pressurizados, as bactérias ácido lácticas constituíram a flora predominante em todas as amostras analisadas durante o período de armazenamento. Também foram realizadas análises de contagem total de mesófilos nesse produto e, para esta análise, os microrganismos aeróbios totais alcançaram o final da vida de prateleira com 32 dias de armazenamento a 5°C.

#### 4.1.1 – Resultados e Discussões

Na Figura 4.1.1 são apresentadas as curvas de crescimento de bactérias ácido lácticas e de microrganismos aeróbios totais, em presunto controle durante o acompanhamento da vida de prateleira a 5°C, durante 32 dias. As curvas foram ajustadas ao Modelo de Gompertz Modificado e Logístico através do *software* Statística 6.0.

As amostras controle atingiram o final da vida de prateleira no 32º dia de armazenamento do produto a 5°C, quando foi observado um aumento significativo na contagem microbiana de bactérias ácido lácticas e de microrganismos aeróbios totais (7 ciclos logarítmicos). O presunto pressurizado armazenado nas mesmas condições não apresentou crescimento microbiano por 120 dias. Após esse período, não foi mais possível a realização de análises microbiológicas por terem acabado as amostras de presunto pressurizado.

Os modelos de Gompertz Modificado e Logístico foram ajustados às curvas de crescimento de bactérias ácido lácticas e de microrganismos aeróbios totais. A tabela 4.1.1 apresenta os índices estatísticos para a comparação destes modelos, para os experimentos já finalizados. A análise dos índices matemáticos mostra que o modelo de Gompertz Modificado foi o que proporcionou melhores resultados de predição do crescimento microbiano.

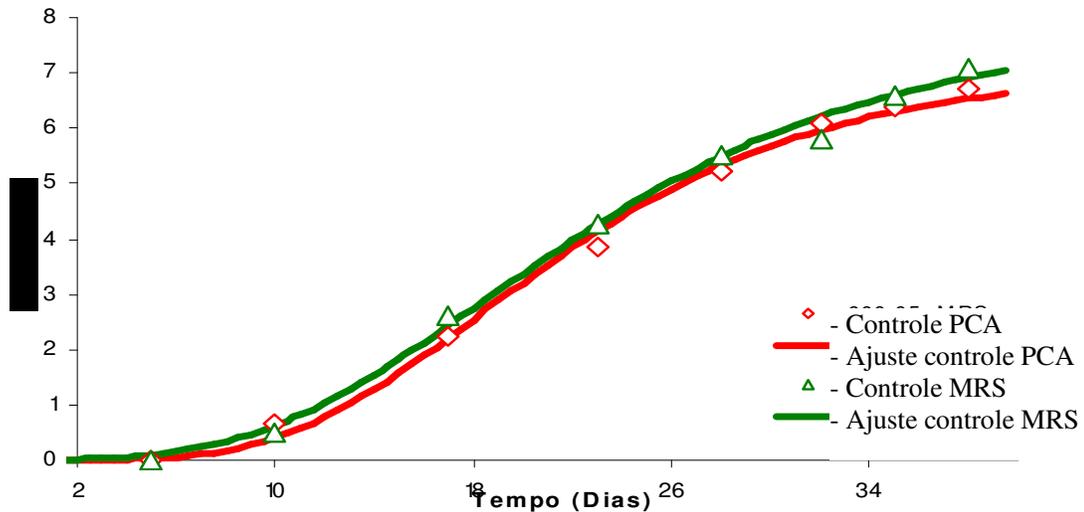
**Tabela 4.1.1** - Valores dos índices matemáticos e estatísticos para o modelo de Gompertz Modificado e Logístico ajustado às curvas de crescimento microbiano para a temperatura de armazenamento de 5°C.

Meios	Modelo de Gompertz modificado				Modelo Logístico			
	r <sup>2</sup>	MSE	F. bias	F. exatidão	r <sup>2</sup>	MSE	F. bias	F. exatidão
MRS	0,9994	0,00658	0,9992	1,03804	0,998	0,0180	1,0099	1,02917
PCA	0,9975	0,03144	1,0074	1,06681	0,9938	0,0795	1,0164	1,11683

<sup>a</sup>MSE: erro médio quadrático.

Os fatores bias e de exatidão fornecem uma indicação objetiva do ajuste do modelo e são considerados ferramentas importantes na determinação da performance de modelos preditivos (Dagaard et al., 1998; Neumeyer, Ross, Thomson, Mcmeekin, 1997; Ross, 1996; Giffel e Zwietering, 1999). O fator Bias deve estar próximo a 1. Na presente pesquisa, pode-se verificar que para todos os ensaios os valores de bias, encontram-se próximos de 1.

Teoricamente, os valores do fator de exatidão dão uma estimativa da média dos valores da média e por se tratar de valores absolutos serão sempre maiores que 1. Quanto maior o seu valor, menor a exatidão da estimativa da média.



**Figura 4.1.1** – Ajuste do Modelo de Gompertz modificado às contagens microbianas de bactérias ácido lácticas e de microrganismos aeróbios totais em amostras de presunto controle, armazenado a 5°C.

Os parâmetros microbiológicos de crescimento  $A$  – aumento logarítmico da população, para microrganismos aeróbios totais e bactérias ácido lácticas encontrados foram: 7,75 e 7,82, respectivamente. Entretanto, as análises foram realizadas até a contagem atingir  $10^7$  UFC/g e não até a fase estacionária. O parâmetro  $\mu$  – velocidade específica máxima de crescimento [ $\text{dias}^{-1}$ ], encontrado para contagem total e bactérias ácido lácticas encontrados foram 0,314 e 0,30, respectivamente, mostrando claramente a forte predominância das bactérias ácido lácticas.

Pelo ajuste do Modelo de Gompertz Modificado, verificou-se também que as amostras de presunto controle, armazenadas a 5°C, apresentaram uma fase lag ( $\lambda$ ) de aproximadamente 10 dias em relação ao crescimento de microrganismos aeróbios e de bactérias ácido lácticas. Em relação ao presunto pressurizado a 600 MPa por 5 minutos a 30°C, o mesmo foi armazenado a 5°C por 120 dias, e durante este período, o mesmo não apresentou crescimento de microrganismos aeróbios totais e de bactérias ácido lácticas. Após este período, não foi possível a realização de mais análises pois as amostras de presunto pressurizado haviam terminado.

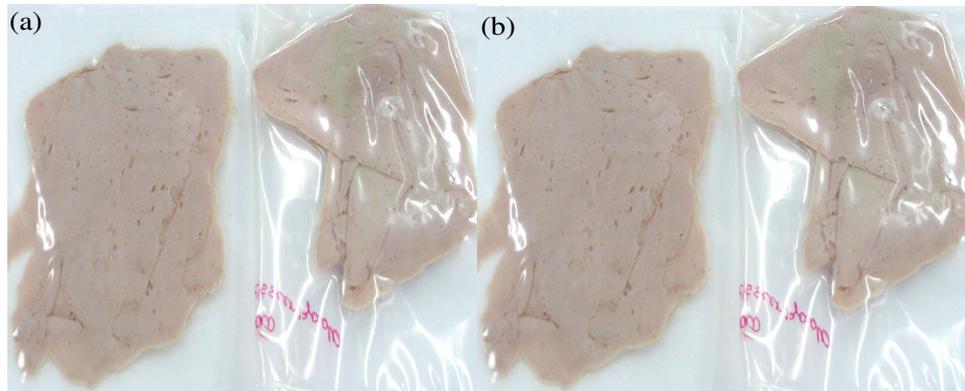
A sensibilidade à pressão de microrganismos psicrotróficos foi relatada por outros autores. Garriga et al. (2004), em estudo realizado com presunto cozido, avaliaram o comportamento de esporos e de microrganismos patogênicos com tratamento a alta pressão a 600 MPa, por 6 minutos, a 31°C e avaliaram o comportamento durante o armazenamento a 4°C, por 120 dias (tempo em que o presunto pressurizado chegou ao final da sua vida de

prateleira, devido ao crescimento de bactérias ácido lácticas ( $10^7$  UFC/g). Ao final do estudo, os autores verificaram também, que o tratamento aplicado foi um eficiente método para prevenir o crescimento de leveduras e de enterobacteriais e atrasou significativamente o crescimento de bactérias ácido lácticas nos produtos analisados. Os autores constataram que as bactérias ácido lácticas foram a flora predominante em presunto cozido. Essas bactérias cresceram rapidamente até  $10^7$  UFC/g em todas as amostras não pressurizadas, aos 30 dias, enquanto que amostras tratadas a alta pressão mostraram um atraso significativo no crescimento destas bactérias (120 dias).

O uso da tecnologia de alta pressão hidrostática aumentou a vida de prateleira do presunto fatiado embalado a vácuo. Isto foi possível porque este tratamento provoca uma deconformação nas proteínas que compõem a parede celular das bactérias deteriorantes, evitando o seu crescimento no produto (Smelt, 1998).

Os resultados encontrados na presente pesquisa estão de acordo com as pesquisas realizadas por Carpi et al. (1999), que relataram um aumento na vida de prateleira em até 75 dias de presunto cozido fatiado tratado a 600 MPa, por 5 minutos, e armazenado a 4°C. Os resultados atingidos por López-Caballero et al. (1998) com o mesmo tipo de produto, mas tratado a pressões menores (200 MPa ou 400 MPa), não atingiram o mesmo grau de inativação e a vida de prateleira máxima obtida a 3°C foi de 21 dias, para presunto cozido fatiado e tratado a alta pressão (400 MPa, por 20 minutos). Esses resultados estão de acordo com o fato de que a vida de prateleira está, geralmente, relacionada ao nível de pressão aplicado.

Nas Figuras 4.1.2 e 4.1.3 são apresentadas fotografias de amostras de presunto controle e pressurizado. Os resultados obtidos mostraram uma diferença de coloração entre as amostras de presunto tratado por APH e controle. Verificou-se que, nas amostras controle, no 32º dia de vida de prateleira, começaram a apresentar pontos de esverdeamento, enquanto que as amostras pressurizadas continuavam com a sua aparência normal. No 52º dia de vida de prateleira, o esverdeamento das amostras não pressurizadas tornava-se cada vez mais evidente e intenso, enquanto que as amostras pressurizadas continuaram com boa aparência, sem esverdeamento, sem limosidade e sem líquido exsudado.



**Figura 4.1.2** - Comparação de amostras de presunto pressurizado (a) e controle (b), no 31º dia de armazenamento a 5°C.



**Figura 4.1.3** - Amostra de presunto pressurizado, no 120º dia de armazenamento a 5°C.

Vários pesquisadores (Vermeiren et al., 2004), trabalhando com presunto fatiado empacotado a vácuo, constataram que o esverdeamento desses produtos foi devido ao desenvolvimento de bactérias ácido lácticas. A combinação de condições de microaerofilia, a presença de sais de cura e nitrito e a atividade de água baixa, resultado da adição de cloreto de sódio e de outros umectantes favorecem o crescimento destas bactérias. Estes autores relataram ainda que a atividade metabólica das bactérias ácido lácticas resulta da deterioração por produção de sabores estranhos, líquido exsudado e freqüentemente viscoso, inchaço dos pacotes devido à produção de gás e esverdeamento. Segundo Cayre et al. (1999) e Samelis et al. (2000), a utilização de embalagens a vácuo em produtos cárneos, fornece condições favoráveis para o desenvolvimento de bactérias ácido lácticas psicrotróficas, já que podem crescer em atmosferas microaerofílicas e anaeróbicas.

Cheftel e Curioli (1997) sugeriram que os presuntos cozidos são produtos susceptíveis ao tratamento por APH porque a cor vermelha não é afetada pelo tratamento de alta pressão.

#### **4. – Modeling the growth of lactic acid bacteria in sliced ham processed by high hydrostatic pressure**

##### **Apresentação:**

Diante dos resultados obtidos no estudo preliminar onde não houve crescimento de microrganismos nas amostras pressurizadas, fez-se um planejamento experimental 2<sup>2</sup> com triplicata no ponto central, para a obtenção da melhor condição de pressão e de tempo de pressurização para o crescimento de bactérias ácido lácticas em presunto suíno e, então, modelagem através da utilização de modelos preditivos primários as curvas de crescimento de bactérias ácido lácticas. Este trabalho já foi concluído e publicado na revista internacional **Food Science and Technology**.

Além dos resultados apresentados no presente artigo, foram realizadas contagens do número inicial de microrganismos para cada condição experimental de pressão e de tempo de pressurização aplicado. Estes resultados são apresentados na Tabela 4.2.1.

**Tabela 4.2.1.** Valores de No para cada condição experimental de pressão e tempo de pressurização aplicado.

Condições experimentais	Valores de No
200 MPa/05 min	5,7E+01
200 MPa/15 min	1,0E+01
400 MPa/05 min	1,0E+01
400 MPa/15 min	1,0E+01
300 MPa/10 min	1,0E+01
300 MPa/10 min	1,0E+01
300 MPa/10 min	1,2E+02



## Modeling the growth of lactic acid bacteria in sliced ham processed by high hydrostatic pressure

Adriana Paula Slongo<sup>a,\*</sup>, Amauri Rosenthal<sup>b</sup>, Lourdes Maria Quaresma Camargo<sup>c</sup>, Rosires Deliza<sup>b</sup>, Simone Pereira Mathias<sup>d</sup>, Gláucia Maria Falcão de Aragão<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Department of Chemical and Food Engineering, UFSC, CEP 88040-900, Florianópolis, SC, Brazil

<sup>b</sup> Embrapa Food Technology, Av. das Américas, 29501, CEP 23.020-470, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

<sup>c</sup> FAPEP/Embrapa Agroindústria de Alimentos, RJ, Brazil

<sup>d</sup> Department of Food Technology, UFRRJ CEP 23890-000, Seropédica, RJ, Brazil

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 24 September 2007

Received in revised form 12 June 2008

Accepted 12 June 2008

#### Keywords:

Lactic acid bacteria  
High hydrostatic pressure  
Ham  
Predictive microbiology  
Shelf-life

### ABSTRACT

The main responsible for the spoilage of cooked cured meat products stored under refrigerated and anaerobic conditions are lactic acid bacteria. The application of high hydrostatic pressure (HHP) reduces the lactic acid bacterial growth extending the product shelf-life and preserving natural taste, texture, color and vitamin content. This work studied the influence of pressure level and holding time on the lactic acid bacterial growth in vacuum-packaged sliced ham. Modified Gompertz and Logistic models were used to fit experimental data obtained from post-treatment microbial counts carried out along the product storage. Samples of sliced vacuum-packaged ham treated by HHP and control samples (non-treated) were stored at 8 °C until the microorganism population reached 10<sup>7</sup> CFU/g. An experimental planning 2<sup>2</sup> with triplicate at the central point was designed to determine the influence of pressure level (200, 300, and 400 MPa) and holding time (5, 10, and 15 min) on the product shelf-life. The results have shown that the pressure intensity and the holding time significantly influenced microbial population over the product storage. Shelf-life of ham treated at 400 MPa for 15 min was extended from 19 (control samples) to 85 days.

© 2008 Published by Elsevier Ltd on behalf of Swiss Society of Food Science and Technology.

### 1. Introduction

The increasing demand for processed products that preserve original sensory and nutritional characteristics has been responsible for the increasing number of researches on alternative technologies. Ohmic heating, processing by electromagnetic fields, ultrasound technology, ionizing radiation, sterilization by membrane and, especially, high hydrostatic pressure processing are among these technologies and have been highlighted in many works (Butz & Tauscher, 2002; Rosenthal & Silva, 1997; Sangronis et al., 1997).

High hydrostatic pressure (HHP) processing is a very promising preservation technology for sliced cured meat products (Hugas, 1998; Rubio, Martínez, García-Cachán, Rovira, & Jaime, 2007), since it can be applied to vacuum-packaged food, avoiding product recontamination. Ham, for instance, is a high added value product that could be processed by this technology. Despite the high market value, ham shelf-life is very short and, therefore, it is of great

academic and industrial interest to know how it can be extended by HHP.

Predictive microbiology has been extensively used to model bacterial growth as a function of environmental factors such as temperature, pH and *a<sub>w</sub>* (Cayre, Garro, & Vignolo, 2005; McMeekin, et al., 1987) and also can be employed to predict product shelf-life (Cayre et al., 2005). Sigmoidal equations, such as Logistic and modified Gompertz models, have been widely applied to describe the growth of lactic acid bacteria (Chowdhury, Chakraborty, & Chaudhuri, 2007; Mataragas, Drosinos, Vaidanis, & Metaxopoulos, 2006).

Lactic acid bacteria (LAB) are naturally found in many vacuum-packaged meat products stored under refrigeration, e.g. ham, provoking spoilage and diminishing shelf-life. Low oxygen concentration, high water activity (normally between 0.96 and 0.98) and pH around 6.0 are some of the characteristics that favors the lactic acid bacterial growth (Cayre et al., 2005; Cayre, Vignolo, & Garro, 2003; Mataragas et al., 2006).

The use of predictive microbiology to model microbial growth along storage of ham processed by high hydrostatic pressure plays an important role to access the effects of this technology on the product shelf-life. However few studies using predictive models for

\* Corresponding author. Tel.: +55 48 3721 9448.

E-mail address: [adrianaslongo@yahoo.com.br](mailto:adrianaslongo@yahoo.com.br) (A.P. Slongo).

this purpose have been carried out. Thus, the aim of this work was to investigate the influence of pressure level and holding time on the shelf-life of vacuum-packaged sliced ham treated by high hydrostatic pressure, using predictive microbiology. Modified Gompertz and Logistic models were used to fit data of lactic acid bacterial growth along obtained from counts carried out the storage of treated and non-treated (control) ham, providing the time elapsed to reach  $10^7$  CFU/g (shelf-life criterion), the maximum growth specific rate and the lag phase extension.

## 2. Material and methods

### 2.1. Cooked ham

Ingredients (g): pork ham 2000, water 400, salt 20, carragenate 2.0, sodium nitrite 0.30 and spice 0.30. Meat was trituated and injected with brine containing all the ingredients. Hams were molded, pressed and cooked in steam (atmospheric pressure) until the internal temperature reached  $68^\circ\text{C}$  determined with a temperature sensor inserted in the product center (CTF 9008, ELLAB A.S, Denmark). After cooking, the product was kept in an ice bath for 40 min followed by more 40 min in a freezer at  $-18^\circ\text{C}$ . Afterwards, the product was stored at  $4^\circ\text{C}$  for 24 h in a refrigerator and, then, sliced in 0.5 mm thick slices (CFI200, Skymesen, Brazil) and vacuum-packaged in plastic pressure resistant bags containing 15 g each (about 2 slices). The plastic bags were composed by polyethylene-co-vinyl alcohol (EVOH) and polyethylene, and the oxygen permeability was  $2\text{ cm}^3/\text{m}^2\text{ 24 h 1 atm}$  and the water permeability was  $<7\text{ g}/24\text{ h m}^2$ .

### 2.2. Experimental design

An experimental design was planned using the treatment pressure and holding time as variables. The pressure range varied from 200 to 400 MPa and the holding time from 5 to 15 min.

The design consisted of seven trials 200 MPa/05 min; 200 MPa/15 min; 400 MPa/05 min; 400 MPa/15 min and three replications at the central point (300 MPa/10 min). Ham shelf-life, lag phase extension and maximum specific growth rate were the searched responses. For all the experiments, the pressurization temperature was  $27 \pm 5^\circ\text{C}$ .

### 2.3. High hydrostatic pressure (HHP) treatment

The samples of vacuum-packaged sliced ham were treated by high hydrostatic pressure (HHP) in the 500 ml and 7 mm diameter chamber of the equipment Stanted Fluid Power (S-FL-850-9-W, England). The device was able to operate under pressures ranging from 100 to 450 MPa and temperatures ranging from 0 to  $80^\circ\text{C}$ . The pressurization fluid used in this work was ethanol aqueous solution (0.70 L/L). Pressure was increased at  $7\text{ MPa s}^{-1}$  and the decompression time was 30 s. The temperature of the pressurization medium increased by  $5^\circ\text{C}$  while pressurizing, returning to the initial temperature after 3.5 min. The treated samples were stored together with the non-treated samples (control) at  $8^\circ\text{C}$ , until the end-point defined as product shelf-life ( $10^7$  CFU/g). Lactic acid bacteria (LAB) counts were carried out in duplicate at given times during storage.

### 2.4. Microbiological analyses of ham

Ten grams of each sample were taken and placed in sterile plastic bags with 90 ml of NaCl solution (0.85 g/100 ml). After 2 min in a stomacher blender (Nova Ética, 130/1, São Paulo, Brazil), appropriate decimal dilutions were pour-plated (1 ml) on

De Man, Rogosa, Sharp (MRS) Agar medium (Biolife, Milano, Italy) for lactic acid bacteria and incubated at  $30^\circ\text{C}$  for 3–5 days. The results were expressed as  $\log(N/N_0)$ , where  $N$  is the LAB concentration at time  $t$  (CFU/g) and  $N_0$  is the LAB concentration at time zero (CFU/g).

### 2.5. Predictive model evaluation

The growth curve of LAB,  $\log(N/N_0) \times \text{time}$ , for each HHP treatment, was fitted by the modified Gompertz and Logistic models, by nonlinear regression, using Matlab<sup>®</sup> software (Math Works, Natick, MA, USA). The modified Gompertz model (Gibson, Bratchell, & Roberts, 1987) is given by Eq. (1),

$$\log\left(\frac{N}{N_0}\right) = A \times \exp\left\{-\exp\left[\frac{\mu \times e}{A}(\lambda - t) + 1\right]\right\} \quad (1)$$

where  $\lambda$  is the lag phase extension (days);  $\mu$  is the exponential microbial growth rate ( $\text{days}^{-1}$ );  $A$  the logarithmic increase of population and  $t$  is the storage time.

The Logistic Model is presented by Eq. (2),

$$\log\left(\frac{N}{N_0}\right) = \frac{A}{(1 + \exp(D - B \times t))} \quad (2)$$

where  $D$  is a dimensionless parameter; and  $B$  is the specific growth rate at the half-time value of the exponential phase ( $\text{day}^{-1}$ ) and  $A$  is the logarithmic increase of microbial population (Gallo, Pilosof, & Jagus, 2007; Giannuzzi, Pinotti, & Zaritzky, 1998). From these parameters,  $\mu$  and  $\lambda$  were derived as given by Eqs. 3 and 4.

$$\mu = \frac{A \times B}{4} \quad (3)$$

$$\lambda = \frac{(D - 2)}{B} \quad (4)$$

The predictive models used in this work are based on the post-treatment growth of LAB over storage at  $8^\circ\text{C}$ .

### 2.6. Statistical analyses

The following statistical indicators were used to compare the performance of the models: mean square error (MSE), correlation coefficients ( $r^2$ ), bias factor (BF) and accuracy factor (AF). The lower the MSE value (Eq. (5)) the better is the goodness-of-fit of each model.

$$\text{MSE} = \frac{\sum(O - P)^2}{n} \quad (5)$$

$O$  represents the observed value,  $P$  the predicted value and  $n$  is the degree of freedom (number of experimental points – number of model parameters).

The bias factor (BF) is an index of the model performance calculated by  $\text{BF} = \exp[\sum(\ln(P/O))/n]$ . A bias factor greater than 1.0 indicates that the predicted value is greater than the observed value. Conversely, a bias factor less than 1.0 indicates that the predicted value is lower than the observed value. Perfect agreement between predictions and observations leads to a bias factor of 1.0.

The accuracy factor is the sum of the absolute differences between predictions and observations, it measures the overall model error and is calculated by  $\text{AF} = \exp[\sum((\ln P - \ln O)^2/n)^{0.5}]$ . The higher this value, the lower the accuracy of the average estimation.

**Table 1**

Statistical indexes obtained from fit Modified Gompertz (MG) and Logistic (LM) models to growth curves of lactic bacteria in pressurized and non-pressurized (control) sliced vacuum-packaged ham stored at 8 °C

Trials	Modified Gompertz model				Logistic model			
	$r^2$	MSE	Bias factor	Accuracy factor	$r^2$	MSE	Bias factor	Accuracy factor
1	0.999	0.004	0.939	1.200	0.998	0.017	1.055	1.130
2	0.987	0.159	1.039	1.282	0.986	0.170	1.025	1.189
3	0.998	0.057	0.965	1.081	0.997	0.107	0.974	1.079
4	0.997	0.043	1.080	1.205	0.982	0.012	1.085	1.160
5	0.991	0.114	0.985	1.123	0.994	0.079	1.017	1.155
6	0.992	0.126	0.969	1.124	0.994	0.093	1.007	1.105
7	0.996	0.062	0.969	1.129	0.992	0.121	0.969	1.159
Control	1.000	0.001	1.118	1.254	0.999	0.009	1.191	1.373

### 3. Results and discussion

Statistical indexes obtained for each trial are presented in Table 1. Both models were able to describe microbial growth in ham, but Gompertz model presented a slightly superior performance. Therefore, microbial growth parameters (Table 2) and product shelf-life were calculated using MG model. Levels of  $10^7$  CFU/g have been pointed by some authors as the safety limit for cooked meat products (Ruiz-Capillas, Carballo, & Colmenero, 2007).

Fig. 1 shows the curves of lactic acid bacterial growth in treated and non-treated (control) samples. The lag phase extension is very important to the product commercialization. As can be seen, it varied from 11 (control samples) to 55 days (samples treated at 400 MPa for 15 min). Fig. 1 and Table 2 show that the shelf-life of the control sample was limited to 19 days, at 8 °C, due to microbial growth. The shelf-life of samples treated by the most severe conditions (400 MPa/15 min) increased up to 85 days. Even the less severe conditions (200 MPa for 5 min), was responsible for the extended lag phase and product shelf-life up to 13 and about 47 days, respectively. Thus, the application of HHP to the vacuum-packaged sliced ham significantly increased shelf-life. Although it is well known that some strains of lactic acid bacteria are responsible for slime in vacuum-packaged ham (Cayre et al., 2003, 2005; Kotzekidou & Bloukas, 1996), in this work, this kind of alteration was observed only in control samples.

Although the increased lethality of the treatments carried out at higher pressures may also have resulted from higher temperatures this study did not aim to access the role of each variable of the HHP processing but to demonstrate that the product shelf-life can be extended.

Ruiz-Capillas et al. (2007) treated the HHP processing of 400 MPa for 10 min to a vacuum-packaged sliced ham. They obtained shelf-lives of 77 and 28 days, for products stored at 2 and 12 °C, respectively. As expected, the product storage temperature

was a very important parameter to determine the product shelf-life. Statistical analysis were performed on data presented in Table 2 using the software Statistical 6.0. The statistical parameter  $p$  value ( $p < 0.05$ ) was used to determine the significance of pressure and holding time on the product shelf-life and on the growth parameters ( $\mu$  and  $\lambda$ ). The results are reported in Table 3.

Even the less severe conditions revealed to diminish microbial growth be able to products treated under 200 MPa for 5 min had then lag phase and shelf-life extended to 13 and about 47 days, respectively. Slongo et al. (2007a) noticed that the sensory characteristics of pressurized sliced ham were similar to the non-pressurized.

The effects of pressure, holding time and the interaction between them were significant for the lag phase extension ( $\lambda$ ). The more influent factor was the pressure intensity: by increasing pressure from 200 to 400 MPa, the lag phase length increased almost 30%.

Different holding times did not cause significant differences on the  $\mu$  value. The pressure intensity and the interaction between pressure and holding time were significant. The increase of pressure and holding time was responsible for the reduced  $\mu$  values.

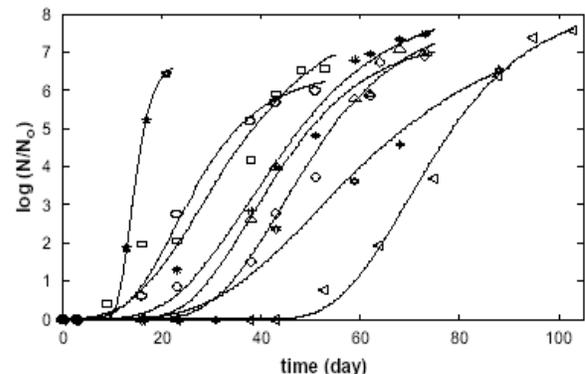
The results showed that the pressure intensity was the most significant factor affecting the shelf-life extension and the growth parameters of LAB in vacuum-packaged sliced ham processed by HHP technology. Garriga, Grebol, Aymerich, Monfort, and Hugas (2004) also observed an important microbial inactivation after treating vacuum-packaged sliced ham by HHP technology. They concluded that this process could also contribute for preserving the product sensory characteristics. Besides, the results of preference tests revealed that the pressurized sliced hams performed very well among consumers (Slongo et al., 2007b).

**Table 2**

Microbial growth parameters ( $\mu$  and  $\lambda$ ) and product shelf-life ( $t_{s1}$ ) obtained by fitting Modified Gompertz model to LAB growth curves of sliced vacuum-packaged ham treated by HHP and non-treated samples (control), stored at 8 °C

Trials	Factors		Responses		
	Pressure	time	$t_{s1}^a$ [day]	$\mu$ [Day <sup>-1</sup> ]	$\lambda$ [Day]
1	200	05	47	0.24	13
2	200	15	45	0.21	14
3	400	05	80	0.13	30
4	400	15	85	0.21	55
5	300	10	61	0.21	30
6	300	10	55	0.19	22
7	300	10	58	0.21	26
Control	-	-	19	1.00	11

<sup>a</sup>  $t_{s1}$  – time to reach  $10^7$  CFU/g – end of product shelf-life.



**Fig. 1.** LAB growth curves in sliced vacuum-packaged ham submitted to different HPP treatments (△ – control; ■ – 200 MPa/05 min; □ – 200 MPa/15 min; ○ – 300 MPa/10 min; ● – 300 MPa/10 min; ◆ – 400 MPa/05 min; ▲ – 400 MPa/15 min) and stored at 8 °C. Data were fitted by Modified Gompertz model (MG).

**Table 3**

Influence of pressure (*P*) and holding time (*PT*) on product shelf-life and on the growth parameters ( $\mu$  and  $\lambda$ ) of LAB growth in vacuum-packaged sliced ham, stored at 8 °C

Factors	Responses					
	$\lambda$ (day)		$t_d^a$ (day)		$\mu = (\text{dias}^{-1})$	
	Effect	p Value	Effect	p Value	Effect	p Value
<i>P</i>	29.5	0.0047	36.6	0.0067	-0.055	0.013
<i>PT</i>	13.2	0.0426	1.35	0.697	0.025	0.096
<i>P</i> × <i>PT</i>	12.1	0.0530	3.05	0.613	0.055	0.013

<sup>a</sup> time to LAB count reach 10<sup>7</sup> CFU/g in vacuum-sliced packaged ham.

#### 4. Conclusions

The application of HHP technology to vacuum-packaged sliced ham increased the product shelf-life based on LAB population.

Both Gompertz and Logistic models were able to describe microbial growth in ham, but Gompertz model revealed a slightly superior performance. Through this model, shelf-lives of products treated by different pressures and holding times could be accessed.

The pressure intensity was the most significant factor influencing ham shelf-life and the growth parameters of LAB in vacuum-packaged sliced ham treated by HHP technology. The most severe treatment used in this study (400 MPa for 15 min) increased the product shelf-life from 19 days (non-pressurized sample) to almost 85 days. This result clearly showed that HHP is a very useful technology to extend the shelf-life of vacuum-packaged sliced ham.

Further studies are necessary to access the influence of high pressure on physical (texture, color) and chemical (moisture, pH, lipid oxidation,  $a_w$ ) properties of pressurized ham.

#### Acknowledgement

The authors greatly acknowledge the FAPERJ (The State of Rio de Janeiro Research Foundation, Brazil) for the financial support.

#### References

- Butz, P., & Tauscher, B. (2002). Emerging technologies: chemical aspects. *Food Research International*, 35, 279–284.
- Cayre, M. E., Garro, O., & Vignolo, G. (2005). Effect of storage temperature and gas permeability of packaging film on the growth of lactic acid bacteria and *Brochothrix thermosphacta* in cooked meat emulsions. *Food Microbiology*, 22(6), 505–512.
- Cayre, M. E., Vignolo, G., & Garro, O. (2003). Modelling lactic acid bacteria growth in vacuum-packaged cooked meat emulsions stored at three temperatures. *Food Microbiology*, 20, 561–566.
- Chowdhury, B. R., Chakraborty, R., & Chaudhuri, U. R. (2007). Validity of modified Gompertz and Logistic models in predicting cell growth of *Pediococcus acidilactici* H during the production of bacteriocin pediocin ACh. *Journal of Food Engineering*, 80(4), 1171–1175.
- Gallo, L. L., Pilosof, A. M. R., & Jagus, R. J. (2007). Effective control of *Listeria innocua* by combination of nisin, pH and low temperature in liquid cheese whey. *Food Control*, 18(9), 1086–1092.
- Garriga, M., Grebol, N., Aymerich-Monfort, J. M., & Hugas, M. (2004). Microbial inactivation after high-pressure processing at 600 MPa in commercial meat products over its shelf-life. *Innovative Food Science and Technologies*, 5, 451–457.
- Giannuzzi, L., Pnotti, A., & Zaritzky, N. (1998). Mathematical modelling of microbial growth in packaged refrigerated beef stored at different temperatures. *International Journal of Food Microbiology*, 39(1–2), 101–110.
- Gibson, A. M., Bratchell, H., & Roberts, T. A. (1987). The effect of sodium chloride and temperature on rate and extent of growth of *Clostridium botulinum* type A in pasteurized pork slurry. *Applied Bacteriology*, 62, 479–490.
- Hugas, M. (1998). Bacteriocinogenic lactic acid bacteria for the biopreservation of meat and meat products. *Meat Science*, 49, S139–S150.
- Kotzekidou, P., & Bloukas, J. G. (1996). Effect of protective cultures and packaging film permeability on shelf-life of sliced vacuum-packed cooked ham. *Meat Science*, 42, 333–345.
- McMeekin, T. A., Chandler, R. E., Doe, P. E., Garland, C. D., Olley, J., Putro, S., et al. (1987). Model for combined effect of temperature and salt concentration/water activity on the growth rate of *Staphylococcus xylosum*. *Journal of Applied Bacteriology*, 62, 543–550.
- Mataragas, M., Drosinos, E. H., Vaidanis, A., & Metaxopoulos, I. (2006). Development of a predictive model for spoilage of cooked cured meat products and its validation under constant and dynamic temperature storage conditions. *Journal of Food Science*, 71(6), 157–167.
- Rosenthal, A., & Silva, J. L. (1997). Alimentos sob pressão. *Engenharia de alimentos*, 14, 37–39.
- Rubio, B., Martínez, B., García-Cachán, M. D., Rovira, J., & Jaime, I. (2007). Effect of high pressure preservation on the quality of dry cured beef Cecina de Leon. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8, 102–110.
- Ruiz-Capillas, C., Carballo, J., & Colmenero, F. J. (2007). Biogenic amines in pressurized vacuum-packaged cooked sliced ham under different chilled storage conditions. *Meat Science*, 75, 397–405.
- Sangronis, E., Pothakamury, U., Ramos, A. M., Ibarz, A., Barbosa-Canovas, G. V., & Swanson, B. G. (1997). La alta presión hidrostática: una alternativa en el procesamiento no térmico de alimentos. *Alimentaria*, 283, 33–43.
- Slongo, A. P., Deliza, R., Rosenthal, A., Mathias, S. P., Camargo, L. M. A., & Aragao, G. M. F. (2007a). Características sensoriais de presunto suino submetido ao processo de alta pressão hidrostática. In *Simpósio Brasileiro de Análise Sensorial* (pp. 498), Campinas, Brazil.
- Slongo, A. P., Deliza, R., Rosenthal, A., Mathias, S. P., Camargo, L. M. A., & Aragao, G. M. F. (2007). Avaliação da preferência de presunto pressurizado. In *Simpósio Brasileiro de Análise Sensorial* (pp. 498), Campinas, Brazil.

### ***4.3 – Efeito da temperatura sobre os parâmetros de crescimento de bactérias lácticas em presunto tratado por alta pressão hidrostática***

#### **Apresentação:**

Como visto no experimento anterior, o produto tratado por APH teve a sua vida de prateleira prolongada quando comparada com a amostra controle quando armazenado na temperatura de 8°C. Sabe-se que a temperatura de armazenamento de produtos cárneos, especialmente presunto, é de grande importância para o prolongamento da sua vida de prateleira e afeta os parâmetros de crescimentos dos microrganismos. Diante disso, foi realizada uma pesquisa variando-se a temperatura de armazenamento do presunto controle e pressurizado obtido na melhor condição de pressão e de tempo de pressurização (experimento 2) para verificação do efeito da temperatura de armazenamento sobre a vida de prateleira desses produtos.

A temperatura pode ser considerada o fator mais importante na deterioração microbiana de alimentos, sendo um dos fatores de maior influência sobre os parâmetros de crescimento: densidade populacional máxima ( $A$ ), velocidade específica máxima de crescimento ( $\mu$ ) e duração da fase lag ( $\lambda$ ). Na presente pesquisa, os parâmetros preditivos de crescimento de bactérias ácido-lácticas (flora natural) em presunto fatiado embalado a vácuo pressurizado (400 MPa/15 min) e controle (não pressurizado) foram pesquisados nas temperaturas de 4, 8, 12 e 15°C, pelo ajuste do Modelo de Gompertz Modificado. Foi ainda analisado o tempo até a contagem de bactérias ácido lácticas atingir  $10^7$  UFC/g, o que é considerado o final da vida de prateleira (VDP) de presunto, em termos microbiológicos. A influência da temperatura sobre estes fatores foi descrita por modelos preditivos secundários. As informações obtidas permitiram prever o crescimento microbiano sob diferentes condições isotérmicas, na faixa de temperatura estudada. A densidade populacional máxima ( $A$ ) foi o parâmetro menos influenciado pela variação da temperatura. Já o parâmetro VDP foi o mais influenciado pela variação da temperatura de armazenamento. Os modelos foram estatisticamente validados e o erro padrão médio (MSE), coeficiente de determinação ( $r^2$ ), fator bias e fator de exatidão foram utilizados para calcular e comparar a performance dos três modelos secundários de crescimento utilizados. O efeito da temperatura para o parâmetro microbiológico de crescimento  $A$  para a amostra de presunto controle, foi melhor interpretado por uma equação empírica. Este parâmetro não foi afetado pela temperatura para a amostra de presunto pressurizada, e seu valor permaneceu constante. A influência da temperatura no parâmetro  $\lambda$ , para a amostra controle e pressurizada, foi melhor descrita por uma equação

empírica e modelo Linear, respectivamente. A influência da temperatura no parâmetro  $\mu$  foi melhor descrita pelo modelo Linear para as amostras controle e pressurizada. Para o parâmetro VDP, a influência da temperatura foi melhor descrita para as amostras controle e pressurizada, por uma equação empírica e pelo modelo da Raiz Quadrada, respectivamente. A presente pesquisa permitiu a predição do crescimento microbiano de presunto fatiado controle e pressurizado em diferentes temperaturas de armazenamento. Estas informações são úteis para o estabelecimento da vida de prateleira destes produtos.

**Palavras-chaves:** Alta Pressão Hidrostática, bactérias ácido lácticas, presunto, modelos preditivos secundários.

## ***Efeito da temperatura sobre os parâmetros de crescimento de bactérias lácticas em presunto tratado por alta pressão hidrostática***

Adriana Paula Slongo<sup>a</sup>, Amauri Rosenthal<sup>b</sup>, Lourdes Maria Quaresma Camargo<sup>c</sup>, Rosires Deliza<sup>b</sup>, Simone Pereira Mathias<sup>d</sup>, Gláucia Maria Falcão de Aragão<sup>a1</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Eng. Química e Eng. de Alimentos, UFSC, CEP 88040-900, Florianópolis, SC.

<sup>b</sup> Embrapa Agroindústria de Alimentos, Av. das Américas, 29501, CEP 23.020-470, Rio de Janeiro – RJ.

<sup>c</sup> FAPERJ-FP/Embrapa Agroindústria de Alimentos, RJ, Brazil.

<sup>d</sup> Departamento de Tecnologia de Alimentos, UFRRJ CEP 23890-000, Seropédica –RJ.

### **1. Introdução**

A qualidade e a vida de prateleira de produtos cárneos cozidos são determinadas pelo crescimento de microrganismos. O controle do crescimento microbiano nesses produtos deve ser prolongado ao máximo. O uso de embalagens a vácuo tem tido um expressivo efeito na extensão da vida de prateleira destes produtos (Cayré, Garro, Vignolo, 2005).

A tecnologia de Alta Pressão Hidrostática (APH) vem sendo estudada e aplicada há alguns anos em alimentos como presunto embalado a vácuo e outros produtos cárneos para prolongar a vida de prateleira destes produtos. A aplicação desta tecnologia ao presunto tem a vantagem de que a sua coloração rósea não é considerada expressivamente afetada por este processo, porque o nitrosohemocromo formado pela adição de nitrito e pela adição de calor ao produto cárneo, o torna estável e resistente a APH (Serra, Grebol, Guàrdia, Guerrero, Gou, Masoliver, Gassiot, Sárraga, Monfort, Arnau, 2007; Jofré, Garriga, Aymerich, 2007; Jofré, Vergès, Anglade, Baraige, Martín, Garriga, Zagorec, Aymerich, 2007; Rastogi, Raghavarao, Balasubramaniam, Niranjana, Knorr, 2007; Tassou, Galiatsatou, Samaras, Mallidis, 2007; Morales, Calzada, nunez, 2006; Garriga, Grebol, Aymerich, Monfort, Hugas, 2004; Paterson, 2005; Taoukis, Katsaros, Galiatsatou, Mallidis, 2003).

As bactérias ácido lácticas (BAL) foram identificadas como a população de maior deterioração em produtos cárneos embalados a vácuo estocados sob refrigeração (Samelis, Kakouri, Rementzis, 2000; Korleala, Bjorkroth, 1997). Estas bactérias exercem significativa influência na qualidade de carnes e produtos cárneos, podendo levar ao aparecimento de limosidade superficial, assim como de mela e esverdeamento devido à produção de peróxido

---

<sup>1</sup> Autor para correspondência: Tel.: + 55 48 3721-9448  
E-mail: glaucia@enq.ufsc.br (G.M.F.Aragão)

de hidrogênio (Cayré, Garro, Vignolo, 2005). Segundo Samelis et al. (2000), com a utilização de embalagem a vácuo para produtos cárneos, as BAL psicrotróficas encontram condições favoráveis para seu desenvolvimento, já que podem crescer em atmosferas microaerófilas e anaeróbias, toleram baixos valores de pH, presença de sal, nitritos e nitratos.

A temperatura é um fator de grande importância na estabilidade microbiana. No entanto, a temperatura de refrigeração nem sempre é mantida constante durante o manuseio de produtos alimentícios (Giannuzzi, Pinotti, Zaritzky, 1998; Li e Torres, 1993).

Os modelos que descrevem o efeito das condições ambientais, como pH, temperatura ou atividade de água, sobre os valores dos parâmetros dos modelos primários são denominados modelos secundários (Soboleva, Pleasants, Roux, 2000; Katkowsky, 1983)

Vários modelos secundários têm sido normalmente utilizados na literatura como modelo de Arrhenius, modelo da Raiz Quadrada e modelo Linear (Sarmiento, 2006; Mcmeekin, Olley, Ross, Skinner, Larkin, Rhodehamel, 1994; Katkowsky, 1993). Entretanto, Peleg (2006) mostra que, mais importante do que usar um modelo “tradicional” é encontrar uma equação, mesmo que empírica, que represente a influência do fator ambiental sobre os parâmetros de crescimento dos microrganismos. Esta pesquisa teve como objetivo a obtenção de modelos secundários que expressem o efeito da temperatura de armazenamento, sob condição de refrigeração e de “abuso” térmico (4, 8, 12 e 15°C) nos parâmetros de Gompertz Modificado para o crescimento de bactérias ácido lácticas em presunto suíno fatiado submetido ao processo de APH.

## **2. Material e Métodos**

### **2.1. Preparo da matéria prima**

As carnes foram levemente trituradas e a salmoura contendo os ingredientes foi injetada. Os presuntos foram moldados, prensados e cozidos no vapor (atmosfera sob pressão), até que a temperatura interna atingisse 68°C, sendo a mesma determinada por sensores que foram inseridos no centro de uma das formas de presunto (CTF 9008, ELLAB A.S, Denmark). Após o cozimento, o produto foi armazenado em um banho de gelo por 40 minutos e, em seguida, permaneceu por mais 40 minutos no freezer a -18°C. Após, o produto foi armazenado a 4°C durante 24 horas em refrigerador. As amostras de presunto foram fatiadas com espessura de 0,5mm (FI 200, Skymesen, Brazil), e 15g de amostras (cerca de 2 fatias por saco) foram embaladas a vácuo em embalagens resistentes a altas pressões.

### **2.3. Tratamento a Alta Pressão Hidrostática (APH)**

As amostras de presunto embalado a vácuo foram submetidas ao tratamento a APH na condição de 400MPa/15minutos. O tratamento foi realizado no equipamento Stated Fluid Power (S-FL-850-9-W, England). A temperatura média foi de 30°C durante o tempo de pressurização. As amostras tratadas foram estocadas juntamente com as amostras controle nas temperaturas de armazenamento de 4, 8, 12 e 15°C. Análises microbiológicas de bactérias ácido lácticas foram realizadas periodicamente até a fase estacionária em cada condição.

### **2.4. Análises microbiológicas de presunto**

Dez gramas de amostra nas diferentes condições de armazenamento foram tomadas e colocadas em um saco plástico estéril com 90 ml de solução NaCl a 0,85 g/ml. As mesmas foram homogeneizadas por 2 minutos em Stomacher (Nova Ética, 130/1, São Paulo, Brazil), e diluições decimais apropriadas foram realizadas em plaqueadas (1 ml) em meio de plaqueamento MRS (De Man, Rogosam Sharp) (Biolife, Milano, Italy) para contagem do crescimento de bactérias ácido lácticas (BAL) após 3 a 5 dias de incubação a 30°C. Os resultados foram expressos em  $\log(N/N_0)$ , onde N é a concentração de BAL no tempo t [UFC/g] e  $N_0$  é a contagem inicial de BAL no tempo zero [(UFC/g)].

### **2.5. Modelos Preditivos**

Foram avaliados e comparados três modelos secundários amplamente utilizados na literatura: Modelo Linear, Modelo da Raiz Quadrada e dois modelos empíricos.

#### **Modelo Linear**

A equação do modelo linear é apresentada na eq. 1:

$$-k = k_0 + rT \quad (1)$$

onde k é o parâmetro de crescimento em estudo (A,  $\mu$  ou  $\lambda$ ),  $k_0$  é um parâmetro do modelo, T é a temperatura (°C), r é a constante de regressão linear [dias<sup>-1</sup>. °C] (Spencer, Baines, 1964; Li, Torres, 1993).

#### **Modelo da Raiz Quadrada**

Este modelo é baseado na relação linear entre a raiz quadrada do parâmetro de crescimento em estudo e a temperatura. O modelo está representado na equação 2.

$$\sqrt{k} = a(T - T_0) \quad (2)$$

onde k representa o parâmetro de crescimento em estudo (A,  $\mu$  ou  $\lambda$ ), a é a constante de regressão,  $T_0$  representa a temperatura mais baixa onde o crescimento é observado, e T é a temperatura (V).

### Equações Empíricas

Duas equações empíricas utilizadas por Corradini e Peleg (2005), são apresentadas nas equações 3 e 4.

$$k = a / (1 + \exp(b + (T - c))) \quad (3)$$

onde k é um parâmetro primário de crescimento, a, b e c são constantes do modelo e T é a temperatura em (C).

$$k = a * \exp(b^T) \quad (4)$$

onde k é um parâmetro primário de crescimento, a e b são constantes do modelo e T é a temperatura em (C).

### 2.6. Análise estatística

Os seguintes índices foram utilizados para comparação dos modelos: erro médio quadrático (MSE), coeficiente de regressão ( $R^2$ ), fator bias e fator de exatidão.

Quanto menor o valor de MSE, melhor é o ajuste do modelo aos dados experimentais (Sutherland e Bayliss, 1994). O MSE é definido na equação 5.

$$MSE = (RSS / n) = \sum [(Valor_{observado} - Valor_{predito})^2 / n] \quad (5)$$

onde RSS é a soma dos quadrados residuais, n é o número de graus de liberdade (n = número de ponto experimentais – número de parâmetros do modelo).

O fator bias procura dar o mesmo peso na média dos valores que superestimam e subestimam a média, ou seja, é um desvio relativo médio, portanto, o fator bias é uma estimativa para a diferença média entre os valores observados e preditos. O fator Bias deve estar próximo a 1 e pode ser calculado através da equação 6.

$$fatorbias = 10^{\log((Valor_{observado} - Valor_{predito}) / n)} \quad (6)$$

Sabe-se que, teoricamente, os valores do fator de exatidão dão uma estimativa da média dos valores da média e por se tratar de valores absolutos serão sempre maiores que 1. O fator de exatidão pode ser calculado pela equação 7.

$$fatordeexatidão = 10^{\sum (\log(Valor_{observado} / Valor_{predito}) / n)} \quad (7)$$

### 3 - Resultados e Discussões

Trabalhos anteriores de nossa equipe (Slongo, Rosenthal, Camargo, Deliza, Mathias, Aragão, 2007) onde foi feita comparação entre os modelos primários Modelo de Gompertz Modificado e Modelo Logístico mostraram que o Modelo de Gompertz Modificado foi o que melhor se ajustou ao crescimento de BAL em presunto fatiado. Alguns trabalhos na literatura também confirmam estes resultados (Giannuzzi et al., 1998; Mcdonald e Sun, 1999). Por este motivo, o Modelo de Gompertz Modificado foi ajustado às curvas de crescimento de BAL em presunto fatiado embalado a vácuo controle e pressurizado (submetido ao tratamento de alta pressão hidrostática). Os parâmetros microbiológicos de crescimento: A – aumento logarítmico da população,  $\mu$  - velocidade específica máxima de crescimento ( $\text{dias}^{-1}$ ) e  $\lambda$  - duração da fase lag (dias) e o tempo em dias para atingir o final da vida de prateleira (VDP) para o crescimento de bactérias ácido lácticas em presunto são apresentados na Tabela 1. Estes resultados foram obtidos pelo ajuste do Modelo de Gompertz Modificado às curvas de crescimento de BAL. Os valores de  $N_0$  para cada condição dos experimentos é apresentada na Tabela 2.

**Tabela 1** - Parâmetros de crescimento de BAL pelo Modelo de Gompertz Modificado.

T (°C)	Controle					Pressurizado				
	VDP (dias)	A	$\lambda$ (dias)	$\mu$ (dia <sup>-1</sup> )	r <sup>2</sup>	VDP (dias)	A	$\lambda$ (dias)	$\mu$ (dia <sup>-1</sup> )	r <sup>2</sup>
4	65	6.3	28	0.25	0.892	115	6.6	64	0.15	0.953
8	35	6.7	14	0.41	0.992	90	6.5	51	0.18	0.802
12	27	6.8	9	0.41	0.961	45	6.5	26	0.30	0.863
15	23	7.0	10	0.50	0.957	36	6.6	16	0.32	0.954

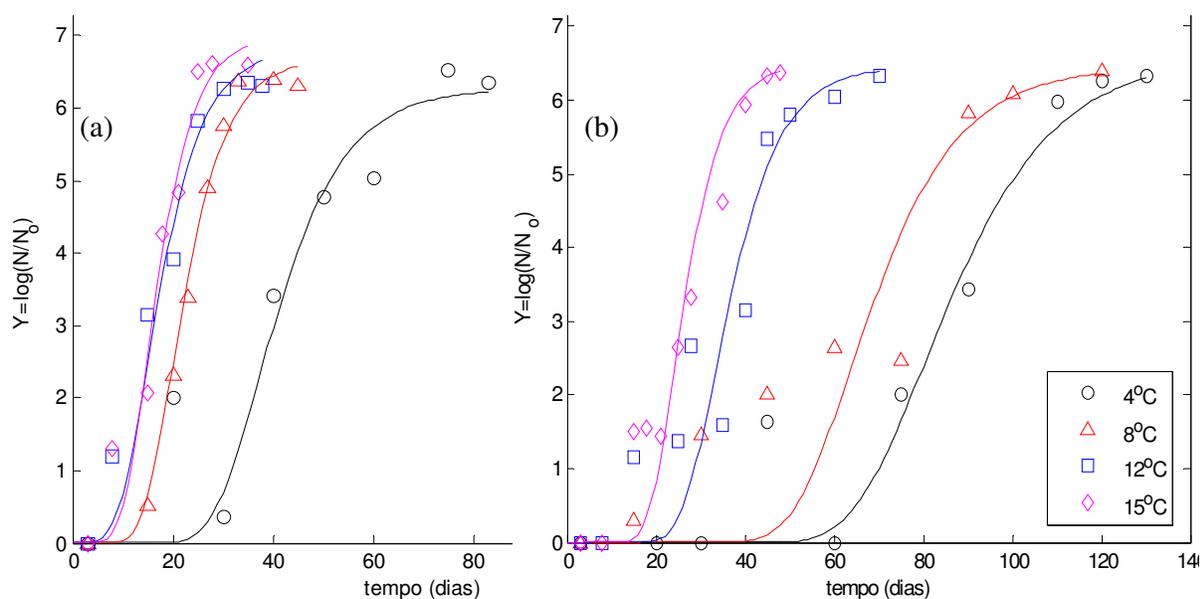
**Tabela 2** – Valores de  $N_0$  para cada condição experimental de pressão e de tempo de pressurização aplicado.

Condições experimentais	Temperaturas de armazenamento			
	4°C	8°C	12°C	15°C
400 MPa/15 min	1,0E+01	1,0E+01	1,0E+01	1,0E+01
Controle	1,0E+01	1,0E+01	1,0E+01	1,0E+01

A utilização da tecnologia de alta pressão levou a um aumento do  $\lambda$  e uma diminuição de  $\mu$  (Tabela 1). A diminuição da temperatura de armazenamento ocasionou o aumento da VDP desde produtos. Os produtos pressurizados armazenados nas temperaturas mais elevadas (15°C) apresentaram uma VDP maior que os produtos não pressurizados armazenados nas temperaturas mais baixas (4°C). Foi observado também que, a 4°C, para as amostras controle, a vida de prateleira foi de 65 dias e para as amostras pressurizadas foi de 115 dias. Desta

maneira, pode-se verificar que o processo de alta pressão prolongou em 50 dias a vida de prateleira deste produto, que é um resultado de grande importância para a indústria.

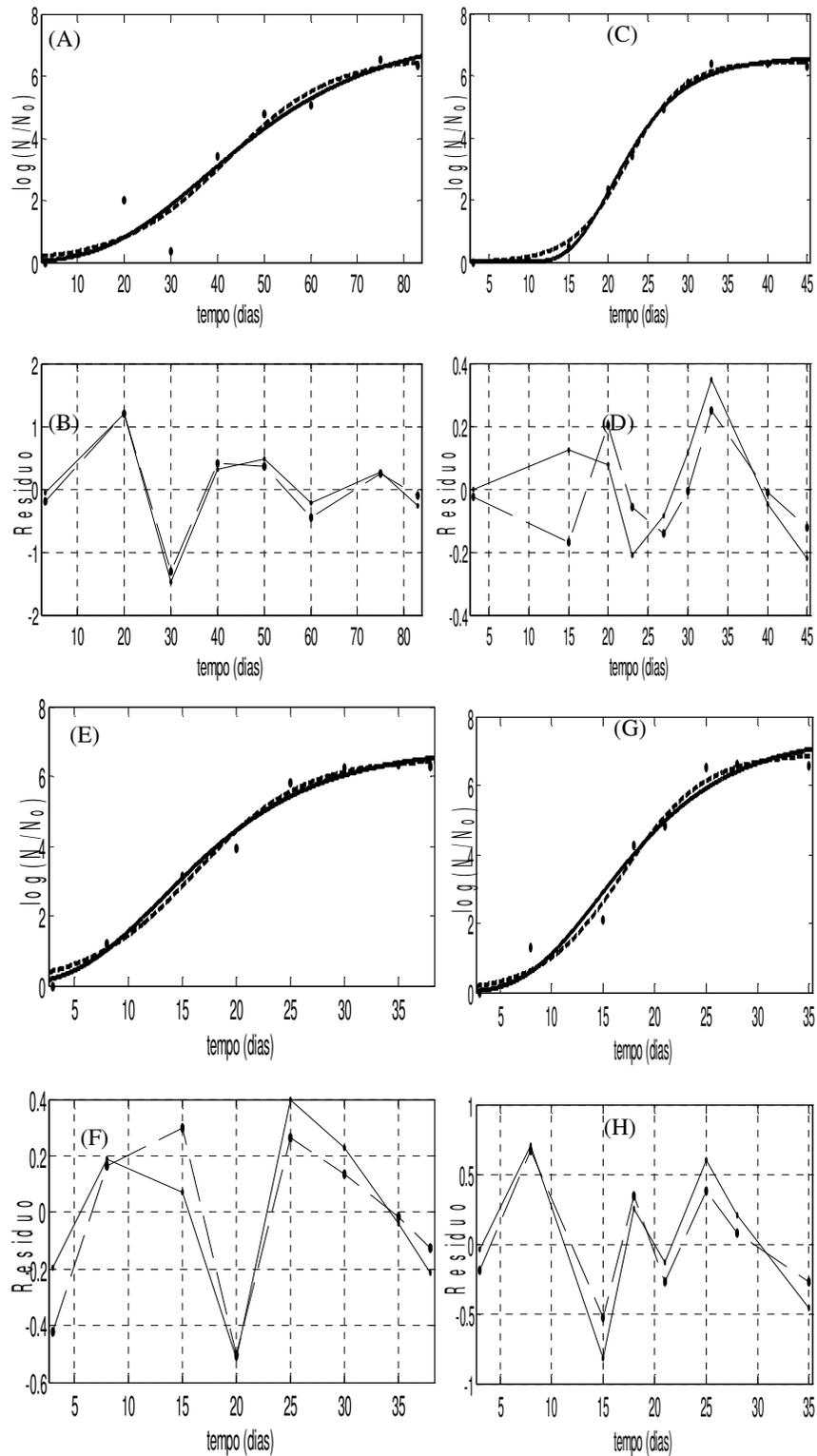
Os resultados do crescimento às temperaturas de 4, 8, 12 e 15°C, bem como o ajuste do Modelo de Gompertz Modificado às curvas de crescimento de BAL em presunto controle e pressurizado, são apresentados, respectivamente, nas Figuras 1(a) e 1(b).



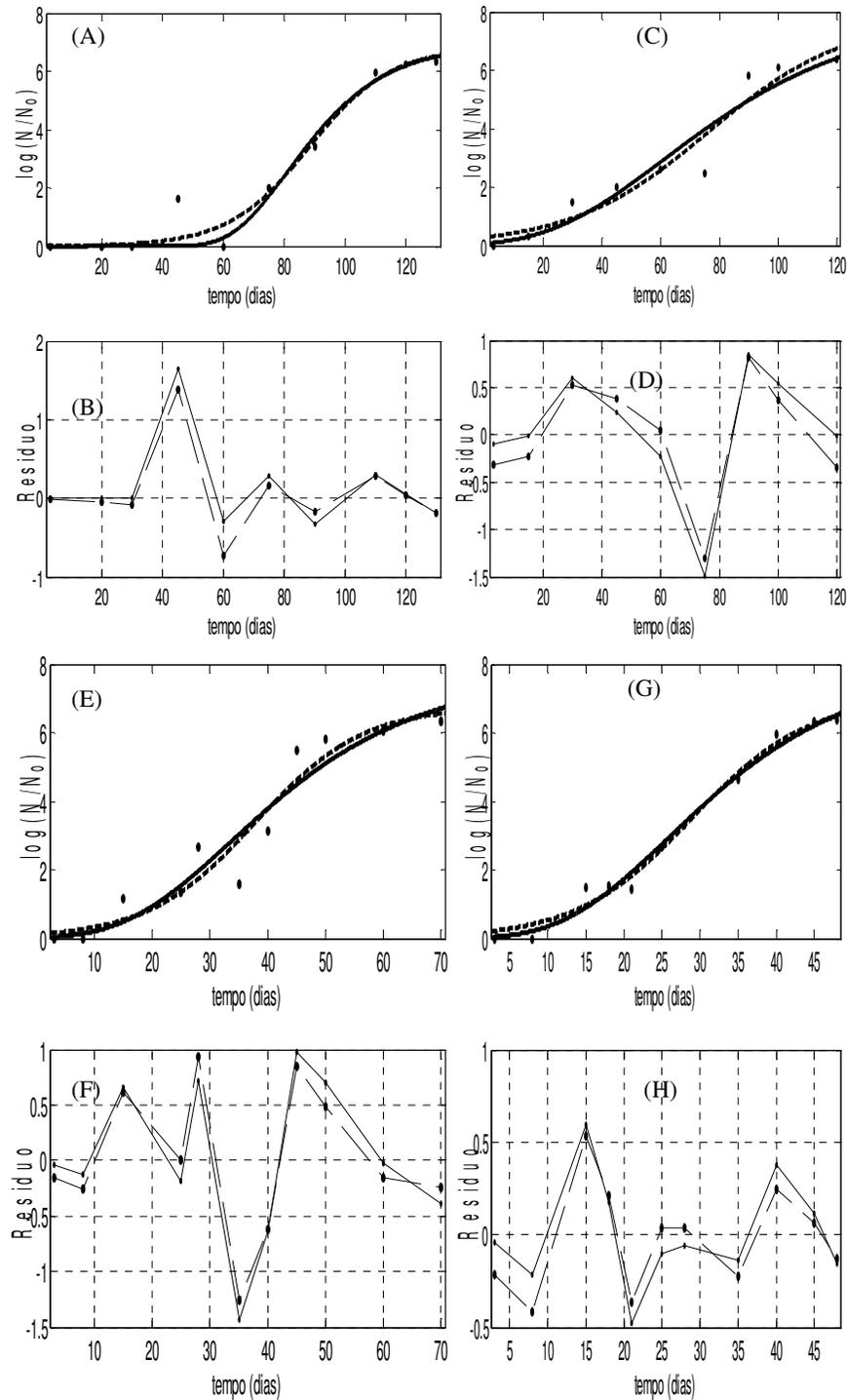
**Figura 1** - Curvas de crescimento de BAL em presunto controle (a) e pressurizado (b) nas temperaturas de armazenamento de 4(○), 8(△), 12(□) e 15°C(◇).

Pode-se verificar que o Modelo de Gompertz Modificado se ajustou bem aos dados experimentais. Alguns valores de  $r^2$  em torno de 0,8 podem ser facilmente explicados pelo fato de se tratar da contagem de bactérias ácido lácticas (flora natural mista) em um alimento sólido, o que pode levar a variações nas contagens. As Figuras 2 e 3 apresentam a análise dos resíduos das curvas de crescimento microbiano modeladas pelos modelos de Gompertz e Logístico nas diferentes temperaturas de armazenamento para as amostras controle e pressurizada.

A temperatura de armazenamento mostrou ter grande influência nos parâmetros de crescimento das BAL. O aumento da temperatura levou a uma diminuição da duração da fase lag ( $\lambda$ ) e aumento da velocidade específica máxima de crescimento ( $\mu$ ) tanto para a amostra controle quanto para a amostra pressurizada. O parâmetro de crescimento menos afetado pela temperatura foi o A.



**Figura 2** - Análise de resíduos das curvas de crescimento microbiano modeladas pelos modelos de Gompertz (linha contínua) e modelo Logístico (linha pontilhada) nas diferentes temperaturas de armazenamento para amostras de presunto não pressurizadas: 4°C (A e B); 8°C (C e D); 12°C (E e F); 15°C (G e H).



**Figura 3** - Análise de resíduos das curvas de crescimento microbiano modeladas pelos modelos de Gompertz (linha contínua) e modelo Logístico (linha pontilhada) nas diferentes temperaturas de armazenamento para amostras de presunto pressurizadas: 4°C (A e B); 8°C (C e D); 12°C (E e F); 15°C (G e H).

A modelagem secundária, que representa como os parâmetros de crescimento são influenciados pela temperatura, é útil para prever o crescimento de BAL em presuntos

fatiados submetidos ou não a APH, na faixa de temperaturas estudada. Foram ajustados três modelos secundários aos parâmetros microbiológicos de crescimento ( $A$ ,  $\lambda$  e  $\mu$ ) e a VDP e, as respectivas equações destes modelos encontram-se na Tabela 3 para as amostras controle e

**Tabela 3** – modelos secundários utilizados para o ajuste dos parâmetros microbiológicos de crescimento para as amostras controle e pressurizada.

Equações dos modelos	Parâmetros		
	A	$\lambda$	$\mu$
<b>Controle</b>			
Equação empírica	$A(T)=7,167/(1+\exp(-0,1448*(T-(-9,502))))$	$\lambda(T)=99,92*T^{(-0,9235)}$	$\mu(T)=0,5/(1+\exp(-0,4*(T-4,126)))$
Modelo Linear	$A(T)=(0,0121*T+2,468)^2$	$\lambda(T)=(-0,2318*T+6,024)^2$	$\mu(T)=(0,016*T+0,46)^2$
Modelo da Raiz Quadrada	$A(T)=0,06265*T+6,077$	$\lambda(T)=-1,648*T+31,29$	$\mu(T)=0,02025*T+0,195$
<b>Pressurizada</b>			
Equação empírica		$\lambda(T)=104*\exp(-0,1101*T)$	$\mu(T)=0,4/(1+EXP(-0,1913*(T-7,547)))$
Modelo Linear	Constante = 6,53	$\lambda(T)=(-0,3621*T+9,613)^2$	$\mu(T)=0,017*T+0,306)^2$
Modelo da Raiz Quadrada		$\lambda(T)=-4,581*T+83,82$	$\mu(T)=0,0171*T+0,0705$

Os resultados dos parâmetros estatísticos para a comparação destes modelos são apresentados na Tabela 4 para as amostras controle e pressurizada.

Para as amostras controle, a temperatura de armazenamento teve influência sobre o parâmetro A, e se pode então aplicar os modelos secundários as curvas de crescimento microbiano. A equação empírica acrescentou os melhores ajustes, verificados através dos valores de  $r^2$ , MSE, fator bias e fator de exatidão. Os fatores bias e de exatidão fornecem uma indicação objetiva da performance de modelos. Estes valores mostram se a resposta observada está ou não próxima da resposta predita. Um fator de exatidão de 1.0 mostra que há perfeita concordância entre todos os valores preditos e observados. Para parâmetro microbiológico A, os valores do fator bias e fator de exatidão mais próximos de 1, foram obtidos pela Equação Empírica, mostrando desta maneira, que este modelo apresentar o melhor ajuste, juntamente com os dados de  $r^2$  e MSE.

**Tabela 4** – Parâmetros estatísticos para comparação dos modelos secundários utilizados aos parâmetros microbiológicos de crescimento ( $A$ ,  $\lambda$  e  $\mu$ ) e para o parâmetro VDP.

Valores estatísticos	Controle			Pressurizado		
	Modelos			Modelos		
	Equação Empírica	Raiz Quadrada	Linear	Equação Empírica	Raiz Quadrada	Linear
<b>A</b>	Valor constante = 6,53					
$r^2$	0,9768	0,9457	0,9480			
MSE	0,001654	0,27295	0,003698		0,09717	
F. Bias	1,00000	0,93505	0,99989		1,02388	
F. Exatidão	1,00530	1,6947	1,00781		1,0446	
<b><math>\lambda</math></b>						
$r^2$	0,9708	0,8728	0,8051	0,9422	0,9701	0,9828
MSE	1,12949	7,3725	1,4745	21,9772	12,6478	0,00145
F. Bias	1,01001	1,0687	1,0649	0,96005	0,9994	1,0204
F. Exatidão	1,0926	1,5447	1,5447	1,17077	1,14627	1,3926
<b><math>\mu</math></b>						
$r^2$	0,8446	0,8539	0,8685	0,933	0,933	0,9304
MSE	0,00429	0,06635	0,00207	0,00149	0,000726	0,00075
F. Bias	0,91745	2,4055	0,9934	1,0204	0,9943	0,9968
F. Exatidão	1,2239	2,7097	1,15894	1,3926	1,1603	1,1762
<b>VDP</b>						
$r^2$	0,9959	0,9115	0,8631	0,8293	0,9611	0,9545
MSE	2,2447	47,915	74,138	223,304	76,4155	89,36
F. Bias	1,0110	1,0391	1,0164	0,99316	0,9935	1,0022
F. Exatidão	1,0615	1,2870	1,3808	1,3345	1,2112	1,2453

Não houve variação no valor do parâmetro  $A$  para as amostras pressurizadas, indicando que, a população final de BAL neste presunto foi a mesma, após diferentes tempos de armazenamento. Sendo assim, pode-se considerar que este parâmetro não foi influenciado pelas diferentes temperaturas de armazenamento do produto, por isso o seu valor permaneceu constante (6,53) nos três modelos secundários testados.

A temperatura teve influência sobre o parâmetro microbiológico  $\lambda$  (duração da fase lag em dias) e esta variação pode ser descrita por modelos secundários. Para as amostras controle, a Equação Empírica apresentou os melhores ajustes aos dados experimentais em relação aos índices  $r^2$ , MSE, fator bias e fator de exatidão. No caso da amostra pressurizada, o Modelo Linear apresentou os melhores índices estatísticos.

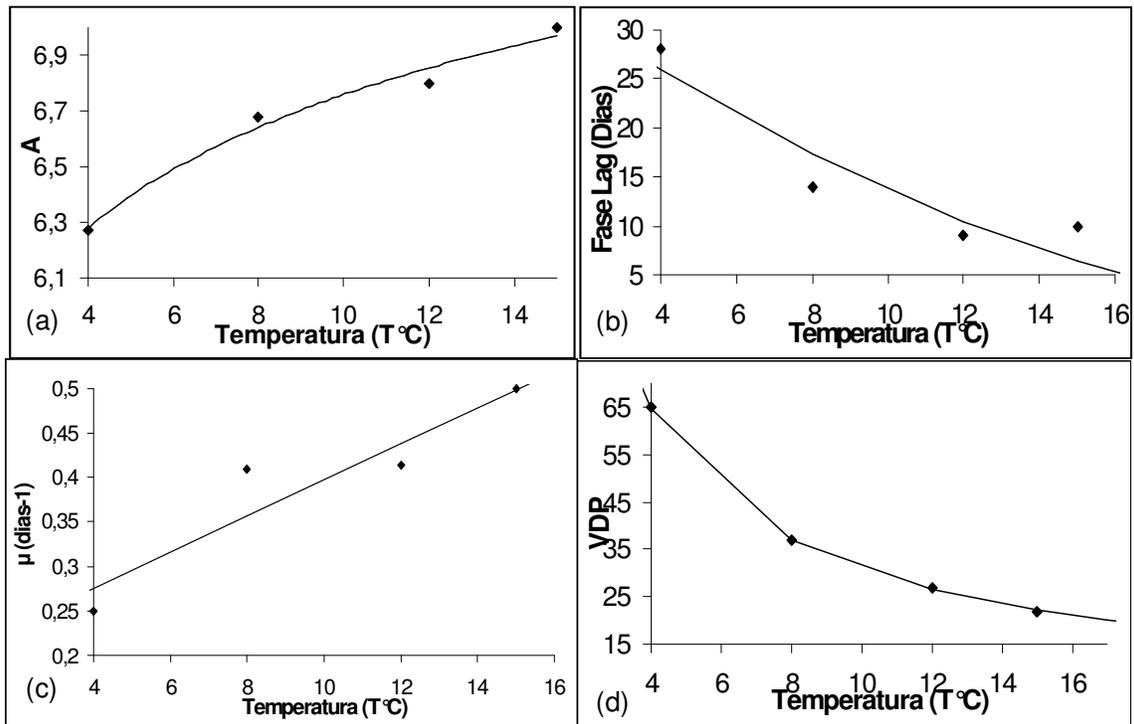
Avaliando-se o parâmetro microbiológico  $\mu$  (velocidade específica máxima de crescimento ( $\text{dias}^{-1}$ )) o modelo Linear apresentou os melhores índices estatísticos para a amostra controle e para a amostra pressurizada.

Para o parâmetro VDP a temperatura de armazenamento também teve bastante influência, onde se pôde também aplicar os modelos secundários para descrever essa variação. Para as amostras controle, a equação empírica apresentou os melhores índices estatísticos,

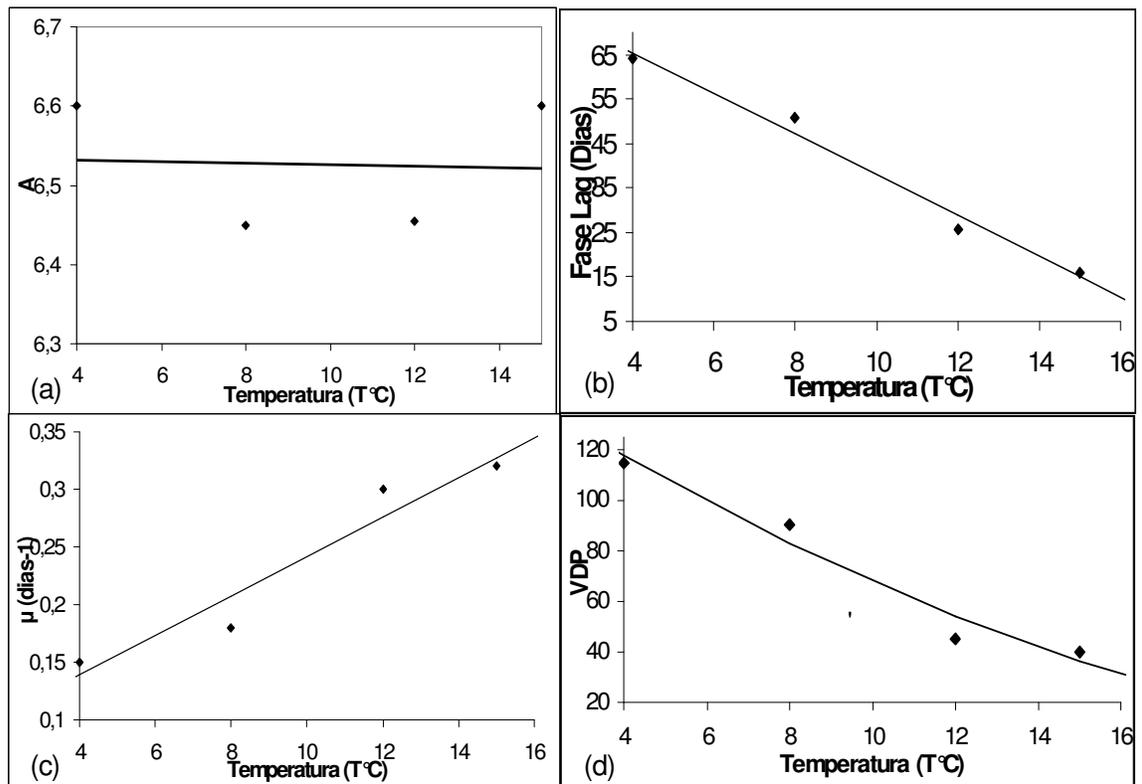
assim como o melhor valor de  $r^2$ . O modelo da Raiz Quadrada apresentou os melhores ajustes para a amostra controle.

A maior diferenciação dos ajustes dos modelos ocorreu em relação os índices estatísticos MSE, fator bias e fator de exatidão. Desta maneira, fica clara a importância da utilização de vários índices estatísticos na escolha de um modelo a ser aplicado. Os valores bastante elevados de MSE no ajuste dos modelos secundários para  $\lambda$  e VDP são devido à magnitude dos valores destes parâmetros onde pequenas diferenças absolutas causam grandes variações nos valores de MSE. Nestes casos, os outros índices estatísticos (Bias e fator de exatidão) descrevem melhor o ajuste dos modelos.

Os três modelos secundários de crescimento estudados foram estatisticamente aceitáveis e ajustados aos dados experimentais dos três parâmetros microbiológicos de crescimentos estudados e para o parâmetro VDP. Analisando-se as performances das predições, de uma forma geral, as equações empíricas e o modelo Linear, foram os que obtiveram os melhores resultados, pois apresentaram os melhores índices matemáticos e estatísticos. O modelo da Raiz Quadrada também apresentou índices estatísticos aceitáveis, porém, com os ajustes um pouco inferiores quando comparados aos outros modelos. O efeito da temperatura nos parâmetros microbiológicos de crescimento ( $A$ ,  $\lambda$  e  $\mu$ ) e para o parâmetro VDP para as amostras controle e pressurizadas são apresentados nas Figuras 4 e 5, respectivamente.



**Figura 4** - Efeito da temperatura nos parâmetros de crescimento de BAL em presunto controle: (a) A - aumento logarítmico da população (equação empírica); (b)  $\lambda$  - duração da fase lag (equação empírica); (c)  $\mu$  - velocidade específica máxima de crescimento (modelo linear) e (d) VDP (equação empírica).



**Figura 5** - Efeito da temperatura nos parâmetros de crescimento de BAL em presunto pressurizado: (a) A - aumento logarítmico da população; (b)  $\lambda$  - duração da fase lag (modelo linear); (c)  $\mu$  - velocidade específica máxima de crescimento (modelo linear) e (d) VDP (modelo da raiz quadrada).

Os dados obtidos nesta pesquisa são úteis para descrever a variação dos parâmetros microbiológicos com a temperatura durante o armazenamento de produtos que foram submetidos à APH.

Uma pesquisa semelhante à apresentada, porém não utilizando o processo de APH e presunto, mas variando-se a temperatura de armazenamento de emulsões de carne cozidas, foi realizada por Cayré, Vignolo e Garro (2003), modelando o crescimento de bactérias ácido lácticas em três diferentes temperaturas de armazenamento (0, 8 e 15°C). Estes autores utilizaram o modelo preditivo de Gompertz para ajustar as curvas de crescimento de BAL neste produto, e, para descrever o efeito das diferentes temperaturas de armazenamento nos parâmetros de crescimento microbiano ( $A$ ,  $\lambda$  e  $\mu$ ), utilizaram o modelo de Arrhenius e o modelo da Raiz Quadrada. Assim como na presente pesquisa, para comparação e avaliação da performance dos modelos preditivos secundários, estes autores utilizaram os índices estatísticos MSE, fator bias e fator de exatidão, e, ainda o coeficiente de determinação ( $r^2$ ), verificando, também, que, apesar das diferenças apresentadas entre os modelos, os valores obtidos puderam ser considerados satisfatórios, uma vez que também foram derivados de dados obtidos usando alimentos não estéreis e não homogêneos.

Apesar de sua importância, poucos são os trabalhos encontrados na literatura envolvendo o processo de APH e a utilização de modelos preditivos para a descrição do crescimento de bactérias lácticas, importantes deteriorantes deste produto durante o armazenamento.

## **Conclusão**

Os modelos secundários de crescimento, equações empíricas, modelo da raiz quadrada e modelo linear, foram ajustados aos dados de crescimento de bactérias ácido lácticas em presunto controle e submetido ao processo de APH para analisar o efeito da temperatura de armazenamento nos parâmetros microbiológicos de BAL. Os dados obtidos nesta pesquisa são importantes, pois se verificou que a variação da temperatura influenciou praticamente todos os parâmetros microbiológicos (VDP,  $\mu$  e  $\lambda$ ). A aplicação da APH no presunto levou à inativação da maior parte da flora presente e isto pode ser verificado pelo aumento da sua VDP. Neste sentido, é de extrema importância o controle da temperatura de armazenamento deste produto, pois a sua qualidade e extensão da vida de prateleira dependem diretamente da temperatura de armazenamento.

## Agradecimentos

Os autores agradecem o suporte financeiro da FAPERJ (Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro).

## Referências Bibliográficas

- CAYRÉ, M.E., GARRO, O., VIGNOLO, G. Effect of storage temperature and gás permeability of packaging film on the growth of lactic acid bacteria and *Brochothrix thermosphacta* in cooked meat emulsions. **Food Microbiology**, 22, 505-512, 2005.
- CORRADINI, M. G., PELEG, M. Estimating non-isothermal bacterial growth in foods from isothermal experimental. **Journal of Applied Microbiology**, 99(1), 187-200, 2005.
- GARRIGA, M., GREBOL, N., AYMERICH, M.T., MONFORT, J.M., HUGAS, M. Microbial inactivation after high pressure processing at 600 MPa in commercial meat products over its shelf life. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, 5, 451-457, 2004.
- JOFRÉ, A., GARRIGA, M., AYREMICH, T. Inhibition of *Salmonella* sp. *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in cooked ham by combining antimicrobials, high hydrostatic pressure and refrigeration. **Meat Science**, in press, 2007.
- JOFRÉ, A., VERGÈS, M.C., ANGLADE, P., BARAIGE, F., MARTÍN, B., GARRIGA, M., ZAGOREC, M., AYMERICH, T. Protein synthesis in lactic acid and pathogenic bacteria during recovery from a high pressure treatment. **Research in Microbiology**, 158, 512-520, 2007.
- KORKEALA, H., BJORKKOTH, K.J. Spoilage and contamination of vacuum-packaged cooked sausages. **Journal of Food Protection**, 60, 724-731, 1997.
- LI, K.L.Y., TORRES, J.A. Microbial growth estimation in liquid media exposed to temperature fluctuations. **Journal of Food Science**, 58, 644-648, 1993.
- McDONALD, K., SUN, D. Predictive food microbiology for the meat industry: a review. **International Journal of Food Microbiology**, 52, 1-27, 1999.
- McMEEKIN, T.A., OLLEY, M.B., ROSS, T., RATKOWSK, D.A. Predictive microbiology: theory and application. **Researches Studies**, 1-86, 1994.
- MORALES, P., CALZADA, J., NUNEZ, M. Effect of high pressure treatment on the survival of *Listeria monocytogenes* Scott A in sliced vacuum-packaged Iberian and Serrano hams. **Journal of Food Protection**, 69(10), 2539-2543, 2006.
- PATERSON, M.F. Microbiology of pressure treated foods. **Journal of Applied Microbiology**, 98(6), 1400-1409, 2005.
- RASTOGI, N.K., RAGHAVARAO, K.S.M.S., BALASUBRAMANIAM, V.M., NIRANJAN, K., KNORR, D. Opportunities and challenges in high pressure processing of foods. **Critical Review Food Science and Nutrition**, 47, 69-112, 2007.

SAMELIS, J., KAKORI, A., REMENTZIS, J. Selective effect of the product type and the packaging conditions on the species of lactic acid bacteria dominating the spoilage microbial association of cooked meats at 4°C. **Food microbiology**, 17 9-40, 2000.

SARMENTO, C.M.P. Modelagem do Crescimento Microbiano e Avaliação Sensorial no estudo da Vida de Prateleira de mortadela e lingüiça defumada em armazenamento isotérmico e não isotérmico. 2006. 146 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina.

SERRA, X., GREBOL, N., GUÀRDIA, M.D., GUERRERO, L., GOU, L., MASOLIVER, P., GASSIOT, M., SÁRRAGA, C., MONFORT, J.M., ARNAU, J. High pressure applied to frozen ham at different process stages. 2. Effect on the sensory attributes and on the colour characteristics of dry-cured ham. **Meat Science**, 75, 21-28, 2007.

SKINNER, G.E., LARKIN, J.W., RHODEHAMEL, E.J. Mathematical modeling of microbial growth: a review. **Journal Food Safety**, 14, 175-217, 1994.

SPENCER, R., BAINES, C.R. The effect of temperature on spoilage of wet white fish. **Food Technology**, 18, 769-73, 1964.

TAOUKIS, P., KATSAROS, G., GALIATSATOU, P., MALLIDIS, K. (2003). Shelf life study of high hydrostatic pressure processed packed ham. *IFT Ann. Meeting*, Chicago, USA.

#### ***4.4 – Efeito da Alta Pressão Hidrostática (APH) sobre as propriedades físico-químicas e microbiológicas de presunto pressurizado durante a vida de prateleira***

##### **Apresentação:**

Vários autores já verificaram que o processo de APH causa alterações nas propriedades físicas, químicas e microbiológicas de presunto, e diante disso, foi realizada uma pesquisa para verificação dessas possíveis alterações em presunto pressurizado na melhor condição do experimento 2 (400 MPa/15 minutos) para as análises microbiológicas, composição centesimal, pH, índice de peróxidos e ácido tiobarbitúrico (TBA) e seguindo o planejamento experimental para as análises de cor e novamente pH.

Amostras de presunto suíno foram submetidas ao processo de alta pressão hidrostática (APH) em diferentes condições de pressão e de tempo de pressurização e armazenadas a 8°C. Análises físicas (cor, pH, atividade de água ( $a_w$ )), químicas (oxidação lipídica, índice de peróxidos, eletroforese) e microbiológicas (*Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, coliformes a 45°C e bactérias psicrotróficas aeróbias) foram realizadas. Não houve diferença significativa entre as amostras controle e pressurizadas em relação à coloração do produto durante a vida de prateleira, o mesmo acontecendo para as análises de pH e  $a_w$ . Nas amostras de presunto pressurizado houve uma maior redução do pH em comparação com as amostras controle. A oxidação lipídica também foi maior nas amostras pressurizadas do que nas amostras controle sendo que, no final do tempo de armazenamento, a amostra controle apresentou maior oxidação. Através da análise de proteínas feitas por eletroforese SDS-PAGE, pode-se verificar que o tratamento a APH provocou alterações nas proteínas majoritárias do produto em estudo, o que pode favorecer uma melhora da sua textura. O produto pressurizado apresentou maior vida de prateleira quando analisado em relação às bactérias psicrotróficas aeróbias. Desta maneira, pode-se verificar que o processo de APH promoveu poucas alterações nas propriedades físicas e químicas do presunto, permitindo um maior prazo de validade para este produto.

## **Efeito da Alta Pressão Hidrostática (APH) sobre as propriedades físico-químicas e microbiológicas de presunto pressurizado durante a vida de prateleira**

Adriana Paula Slongo<sup>a</sup>, Amauri Rosenthal<sup>b</sup>, Rosires Deliza<sup>b</sup>, Simone Pereira Mathias<sup>c</sup>, Maria Manuela Camino Feltes<sup>a</sup>, Juarez Vicente<sup>c</sup>, Arlene Gaspar<sup>c</sup>, Gláucia Maria Falcão de Aragão<sup>a2</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Eng. Química e Eng. de Alimentos, UFSC, CEP 88040-900, Florianópolis, SC.

<sup>b</sup> Embrapa Agroindústria de Alimentos, Av. das Américas, 29501, CEP 23.020-470, Rio de Janeiro - RJ

<sup>c</sup> Departamento de Tecnologia de Alimentos, UFRRJ CEP 23890-000, Seropédica -RJ

### **1. Introdução**

A crescente demanda do mercado consumidor por produtos de mais alta qualidade revela a necessidade da utilização de tecnologias que propiciem segurança microbiológica e sensorial e altere ao mínimo as propriedades organolépticas, e ainda proporcionem o aumento da vida de prateleira dos produtos alimentícios (Ruiz-Capillas, Carballo, Colmenero, 2007).

Um dos maiores desafios para a indústria de carnes é oferecer produtos macios, suculentos, com cor e sabores agradáveis, e que estas características mantenham-se estáveis durante a maior parte da sua vida de prateleira, com a maior segurança e o menor custo possível. Os produtos cárneos, devido a riqueza na sua composição (umidade, proteínas, gorduras e outros nutrientes), são produtos bastante susceptíveis a alterações de ordem física, química e microbiológica (Olivo, 2006).

A oxidação lipídica é uma das mais importantes causas da deterioração de alimentos, podendo conduzir à perda de cor, flavor, modificação da textura e formação de compostos tóxicos (Borgo, Araújo, 2005).

O processo APH pode conduzir a mudanças na estrutura da carne, e causar efeitos adversos em alguns parâmetros de qualidade, como cor (Rubio, Martínez, García-Cachán, Rovira e Jaime, 2007; Serra, Grèbol, Guàrdia, Guerrero, Gou, Masolier, Gassiot, Sárriga, Monfort e Arnau, 2007; Ramirez-Suarez e Morrissey, 2006; Mor-Mur e Yuste, 2003; Cheftel e Curioli, 1997; Goutefongea, Rampona, Nicolas e Dumont, 1995; Carlez, Veciana-Nogués e Cheftel, 1995), oxidação dos lipídios (Rubio et al., 2007; Marcos, Aymerich, Guardia e Garriga, 2007; Gómez-Estaca, Gómez-Guillén e Montero, 2007; Ramirez-Suarez e Morrissey,

<sup>2</sup>

Autor para correspondência. Tel.: + 55 48 3721-9448

*E-mail:* glaucia@enq.ufsc.br (G.M.F.Aragão)

2006) e alteração da estrutura das proteínas (Supavitpatana e Apichartsrangkoon, 2007; Ramirez-Suarez e Morrissey, 2006; Ma e Ledward, 2004).

A inativação de microrganismos por APH vem sendo investigada há alguns anos por vários pesquisadores (Koseki e Yamamoto, 2007; Hoover, 1993; Knorr, 1993). No entanto, a eficiência do tratamento a APH depende da resistência e da variedade de microrganismos que possam estar presentes no alimento, assim como dos parâmetros de processo (pressão aplicada, temperatura de tratamento e tempo de exposição) (Rubio et al., 2007; Saccani, Parolari, Tanzi, Barbutti, 2004; Hugas, Garriga, Monfort, 2002; Hoover, Metrick, Papineau, Farkas, Knorr, 1989).

Segundo Ruiz-Capillas et al. (2007), nos últimos anos o consumo de produtos cárneos (em especial presunto) teve um grande aumento na sua comercialização. Alguns autores (Serra et al., 2007; Tanzi, Saccani, Barbuti, Grisenti, Lori, Bolzoni, 2004; Andrés, Adamsen, Moller, Ruiz, Skibsted, 2006; Mor-Mur e Yuste, 2003; Rovere, 2001; Cheftel e Curioli, 1997; Carlez et al., 1995; Goutefongea et al., 1995) relataram que, em produtos adicionados de nitrito e submetidos ao processo de cozimento, ocorre a formação de um composto covalente estável (nitrosohemocromo), e, em consequência disso, a cor vermelha destes produtos não é afetada pela aplicação de altas pressões. Na prática, a APH tem sido usada no prolongamento da vida de prateleira de presunto cozido embalado a vácuo sem alterações na sua coloração. Esta pesquisa teve como objetivo investigar os efeitos do processo a APH nas propriedades físicas, químicas e microbiológicas de presunto suíno armazenado a 4°C.

## **2. Material e Métodos**

### **2.1. Presunto cozido**

As carnes suínas foram levemente trituradas e a salmoura foi injetada contendo os ingredientes na quantidade sugerida para a quantidade de carne suína utilizada. Os presuntos foram moldados, prensados e cozidos no vapor (atmosfera sob pressão), até que a temperatura interna atingisse 68°C, sendo a mesma determinada por sensores que foram inseridos no centro de uma das fôrmas de presunto (CTF 9008, ELLAB A.S, Denmark). Após o preparo, o produto foi armazenado a 4°C durante 24 horas em refrigerador.

### **2.2. Selagem e empacotamento**

#### **2.2.1. Preparo das amostras para análise de cor**

O fatiamento foi realizado em um fatiador de frios (CFI 200, Skymesen, Brazil), localizado dentro de uma câmara de fluxo, com ajuste da espessura da fatia em 2 cm. As

fatias foram modeladas em um cilindro de 2 cm de diâmetro, obtendo-se uma amostra com especificações de 2 cm de altura com 2 cm de diâmetro. Em cada embalagem estéril (*Nasco WHIL-PACK*), foram colocadas 3 amostras com estas especificações. As embalagens foram seladas a vácuo e seguiram para a etapa de aplicação de altas pressões.

### ***2.2.2. Preparo das amostras para determinação de pH, $a_w$ , composição centesimal, oxidação lipídica, índice de peróxidos e eletroforese***

As amostras de presunto foram cortadas em fatias com espessura de 0,5 mm no fatiador de frios, e aproximadamente 20g de amostra foram embaladas e seladas a vácuo sendo posteriormente, submetidas ao tratamento a APH (conforme tratamentos indicados na Tabela 1). Essas amostras foram posteriormente armazenadas a 4°C.

### ***2.2.3. Preparo das amostras para realização das análises microbiológicas***

As amostras foram fatiadas em fatias com espessura de 0,5 mm e cerca de 50g de amostra foram embaladas a vácuo e submetidas ao processo de APH.

## **2.3. Tratamento a Alta Pressão Hidrostática (APH)**

Amostras de presunto embalado a vácuo foram tratadas pelo processo de APH. O processamento foi realizado no equipamento Stated Fluid Power (S - FL - 850 - 9 - W, Inglaterra). Para o tratamento a APH, foi realizado um planejamento experimental fatorial  $2^2$  com triplicata no ponto central. As amostras foram submetidas às diferentes condições de pressão e de tempo de pressurização indicadas na Tabela 1. A amostra de presunto considerada como controle não foi submetida ao tratamento a APH. As amostras pressurizadas juntamente com as amostras controle foram armazenadas a 4°C, durante a vida de prateleira.

## **2.4. Análises de Cor**

Verificaram-se possíveis mudanças na coloração das amostras de presunto controle e das amostras submetidas a APH (tratadas conforme dados da Tabela 1) durante a estocagem por 65 dias (Tabela 1). As análises de cor foram realizadas durante os períodos de 1, 15, 35, 45 e 65 dias de estocagem. As coordenadas de cor foram determinadas por reflectância no S & M Colour Computer modelo SM - 4 - CH da Suga, no sistema de Hunter com abertura de 10mm de diâmetro para cada amostra e os resultados foram expressos em relação a luminosidade ( $L^*$ ) e variação da cor vermelha ( $a^*$ ).

**Tabela 1** – Matriz do planejamento experimental fatorial 2<sup>2</sup> para presunto fatiado embalado a vácuo pressurizado.

Ensaio	Fatores	
	Pressão (MPa)	Tempo (min)
1	200	05
2	200	15
3	400	05
4	400	15
5	300	10
6	300	10
7	300	10

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e à estimativa dos efeitos através do *software* Statistica 6.0 para as variáveis respostas valor de L\* e valor de a\*. Também foi realizada a análise estatística de Dunnett que compara a amostra controle com as demais amostras pressurizadas para verificar se houve diferença significativa entre as mesmas.

## 2.5. pH, a<sub>w</sub> e composição

Com o objetivo de se verificar se houve diferença nos valores de pH e de a<sub>w</sub> entre as amostras pressurizadas, utilizou-se o mesmo planejamento experimental indicado na Tabela 1.

Aproximadamente 10g de presunto por saco de amostra foram utilizadas para cada análise durante a vida de prateleira deste produto. Aproximadamente 3g de cada amostra (controle e pressurizada) foi colocada em sacos estéreis e acrescida de 30 ml de água destilada e em seguida o pH foi medido. O pH foi medido em aparelho de medição de pH (marca Tecnopon). A medição do pH foi realizada desde o dia 0 até o 45° dia de armazenamento a 4°C.

Em uma nova análise de pH, foram realizadas análises de presunto controle e pressurizado (400 MPa/15 min) por um período de 90 dias (0, 15, 30, 45, 60, 75 e 90° dia) armazenados a 8°C.

Para as análises de atividade de água, cerca de aproximadamente 3g de amostras de presunto (controle e pressurizado) foram colocadas em recipiente para leitura no aparelho de atividade de água (marca Novasina e modelo Aw Sprint TH-500). A medição da a<sub>w</sub> foi realizada no 1°, 35° e 45° dia de armazenamento a 4°C.

A fim de se estudar possíveis alterações na composição centesimal das amostras de presunto controle e pressurizada, análises de cinzas, extrato etéreo, nitrogênio total e umidade foram realizadas conforme a AOAC (1990).

As análises de cinzas e de extrato etéreo realizadas para o presunto suíno controle e pressurizado, seguiram as metodologias da AOAC Official Methods 923.03, 2005 (cinzas) e 922.06 (extrato etéreo). Para a análise de nitrogênio total, seguiu-se a metodologia da American Association for Clinical Chemistry - AACC, 1995, método 46-13. Foram realizadas as etapas de digestão, destilação e titulação da amostra, para extrair o nitrogênio, sendo que o resultado foi multiplicado pelo fator de conversão para proteínas (6,25). A análise de umidade seguiu a metodologia do DGF, B-1-4 (equivalente ao Método Internacional Padrão ISO 665 “Oilseeds – Determination of Moisture and Volatile Matter Content”, 1995).

## **2.6. Oxidação lipídica (TBA) e índice de peróxidos**

Para a análise de TBA foi utilizada a metodologia analítica do LANARA (1981).

Devido à sua ação fortemente oxidante, os peróxidos orgânicos formados no início da rancificação atuam sobre o iodeto de potássio liberando iodo, que é titulado com tiosulfato de sódio em presença de amido como indicador. A análise de TBA indica o grau de oxidação da amostra. A quantidade de peróxido não constitui um índice infalível das características de conservação, porém indica até que ponto à oxidação progrediu.

A metodologia utilizada para determinação de peróxidos seguiu as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz – Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos (2005). Em um erlenmeyer de 250 ml com tampa esmerilhada, foram colocados 5g da amostra triturada e foi adicionado a mistura de ácido acético/ clorofórmio (3:2, v/v), com agitação até a completa dissolução. Filtrou-se imediatamente o conteúdo em papel de filtro. Realizou-se a refiltração em papel de filtro com pequena quantidade de sulfato de sódio anidro, utilizando 10 ml de clorofórmio para lavar o recipiente. Transferiu-se, volumetricamente, 25 ml de filtrado para erlenmeyer de 250 ml, adicionaram-se 37 ml de ácido acético e 1mL de solução saturada de iodeto de potássio. Após um minuto sob agitação no escuro, acrescentou-se 30 ml de água. Foi realizada titulação com solução de tiosulfato de sódio 0,01N, usando solução de amido a 1% como indicador.

## **2.7. Análise de proteínas miofibrilares**

As análises de eletroforese em gel de poliacrilamida, contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) em presunto controle e pressurizado tiveram por objetivo estudar o efeito da aplicação de altas pressões sobre as proteínas miofibrilares das amostras. Utilizou-se 10g (para cada condição) de presunto fatiado embalado a vácuo pressurizado por um tempo de 15 minutos a diferentes pressões (0 (controle), 100, 200, 500 e 600 MPa). Para o presente estudo,

foi utilizado o sistema de eletroforese da Biorad e a metodologia de preparação dos géis descrita por Laemmli (1970). Para o gel de corrida, foi utilizada acrilamida na concentração de 12% (p/v) e para o gel da aplicação da amostra, foi utilizada na concentração de 4% (p/v). A corrida foi realizada durante sete horas sob uma tensão de 100V. As proteínas dos géis foram coradas com o reagente de cor “coomassie blue R250”, durante uma noite. Após este período, foram descoradas com uma solução de metanol/ácido acético (40:10 v/v), durante três horas, para posterior obtenção das corridas de géis formadas.

## **2.8. Análises Microbiológicas**

Após a pressurização na condição de 400 MPa por 15 minutos a temperatura ambiente, 2.000g das amostras controle e pressurizada, embaladas a vácuo e divididas em sacos estéreis (*Nasco WHIL-PACK*), contendo em média 25g cada, foram armazenadas a 4°C. Realizou-se pesquisa de coliformes a 45°C/g, *estafilococcus coagulase* positiva/g, *Clostridium* sulfito redutor a 46°C e *Salmonella* sp. em 25g.

A pesquisa de coliformes a 45°C, *estafilococcus coagulase* positiva, *Salmonella* sp e *Clostridium* sulfito redutor foram realizadas seguindo-se a metodologia analítica do Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (2001). Todas as análises foram realizadas a cada 15 dias até completar 75 dias de armazenamento.

## **3. Resultados e Discussões**

### **3.1. Análise instrumental de cor**

A cor de presunto é o principal atributo de qualidade que leva o consumidor a decidir pela aquisição deste produto. A sua alteração durante a vida de prateleira se deve à oxidação do pigmento heme, que pode também estar associada com a oxidação lipídica das gorduras, e também pode ser devido às alterações microbiológicas. Essas alterações podem ocasionar deterioração de produtos cárneos, levando a muitos efeitos adversos às suas características de qualidade, tais como: sabor, aroma, cor, textura e valor nutritivo, influenciando na decisão de compra pelos consumidores e podendo colocar em risco a segurança destes alimentos (Olivo, Shimokoomaki, 2006).

Na presente pesquisa, foram realizadas análises de cor baseadas nos parâmetros L\* e a\* em presunto submetido ou não (controle) ao processo de APH, para verificação das possíveis alterações durante o período de armazenamento de 65 dias a 4°C. Os resultados da análise encontram-se na Tabela 2. A análise estatística de Dunnett foi utilizada para verificar se houve diferença significativa entre as amostras controle (não pressurizada) e as amostras

pressurizadas nas diferentes condições de pressão e tempo de pressurização aplicadas, ao longo do armazenamento.

Pelos resultados obtidos, pode-se verificar que não houve diferença significativa entre a amostra controle em comparação com as diferentes amostras pressurizadas. Consta-se, desta maneira, que os parâmetros de cor das amostras pressurizadas, em comparação com as amostras controle, não sofreram alterações significativas durante a aplicação de APH, nem durante o período de armazenamento. A Figura 1 apresenta as variações dos valores de L\* e a\* durante os diferentes períodos de armazenamento a 4°C.

**Tabela 2** – Comparação, através do Teste de Dunnett, das alterações de cor, expressa em termos dos parâmetros L\* e a\*, das amostras pressurizadas em diferentes condições e armazenadas a 4°C em relação à amostra controle.

Dias		Condições							
		Controle	200-05	200-15	400-05	400-15	300-10	300-10	300-10
<b>1º dia</b>	L*	51,79	51,25	51,43	51,46	51,38	51,35	51,54	51,27
	L* Dunnett		0,964	0,995	0,988	0,999	0,971	0,997	0,992
	a*	10,87	10,66	10,76	10,91	10,68	10,96	10,77	10,78
	A* Dunnett		0,914	0,996	0,999	0,997	0,998	0,999	0,936
<b>15º dia</b>	L*	51,57	51,03	50,76	50,63	51,10	50,69	51,30	51,19
	L* Dunnett		0,514	0,144	0,092	0,9603	0,836	0,0655	0,9712
	a*	10,34	10,29	10,45	10,39	10,24	10,40	10,49	10,46
	A* Dunnett		0,999	0,989	0,999	0,955	0,984	0,999	0,996
<b>35º dia</b>	L*	50,59	50,27	50,55	50,78	50,57	50,22	50,44	50,52
	L* Dunnett		0,992	1,000	0,980	0,999	1,000	0,999	1,000
	a*	10,20	10,28	10,22	10,05	10,13	10,05	10,29	10,24
	A* Dunnett		0,999	1,000	0,999	0,999	0,999	1,000	0,999
<b>45º dia</b>	L*	50,13	49,60	50,08	50,36	50,56	50,08	50,15	50,08
	L* Dunnett		0,888	1,000	0,999	0,999	1,000	0,998	0,958
	a*	10,09	10,08	10,06	10,01	10,03	10,10	10,06	10,03
	A* Dunnett		1,000	0,9999	0,9999	1,000	0,999	0,9991	0,9998
<b>65º dia</b>	L*	49,22	49,27	49,39	49,94	49,57	49,49	49,78	49,89
	L* Dunnett		1,000	0,9999	0,9996	0,9696	0,932	0,9079	0,9983
	a*	9,73	9,99	9,95	9,82	9,96	9,87	9,81	9,81
	A* Dunnett		0,886	0,893	0,9894	0,9996	0,999	0,999	0,870

Alguns autores relatam que processos como APH pode ocasionar mudanças principalmente nas estruturas de proteínas e causar oxidação lipídica das gorduras e do grupamento heme da mioglobina de produtos cárneos e, com isso causar alterações indesejáveis na coloração (Serra et al., 2007; Gandemer, 2002; Gou, Guerrero e Arnau, 1995). Segundo Gandemer (2002) e Gou, Guerrero e Arnau (1995) o conteúdo de lipídios (especialmente ácidos graxos insaturados) presente em produtos cárneos (por exemplo,

presunto) afeta fortemente os parâmetros de cor. Assim, segundo estes autores, enquanto os valores de vermelho ( $a^*$ ) e de luminosidade ( $L^*$ ) decrescem em presunto fatiado, o conteúdo de oxidação lipídica aumenta.

Segundo Mor-Mur e Yuste (2003), em carne de porco e seus derivados, a pressão induz modificações na cor desses produtos dependendo das condições de tratamento (pressão, tempo de pressurização e temperatura), devendo-se isso às mudanças nas estruturas da globina com oxidação do ferro da mioglobina. Diferentes colorações podem aparecer no produto como decorrência deste fator e também pelas alterações nas estruturas das proteínas causadas pela aplicação da APH. Ainda segundo outros autores (Serra et al., 2007; Tanzi et al., 2006; Andrés et al., 2004; Rovere, 2001; Cheftel e Curioli, 1997; Carlez et al., 1995; Goutefongea et al., 1995), quando produtos cárneos adicionados de nitrato ou nitrito são previamente cozidos, ocorre desnaturação da parte protéica da mioglobina e a formação do composto estável nitrosohemocromo, o qual não é afetado pela APH.

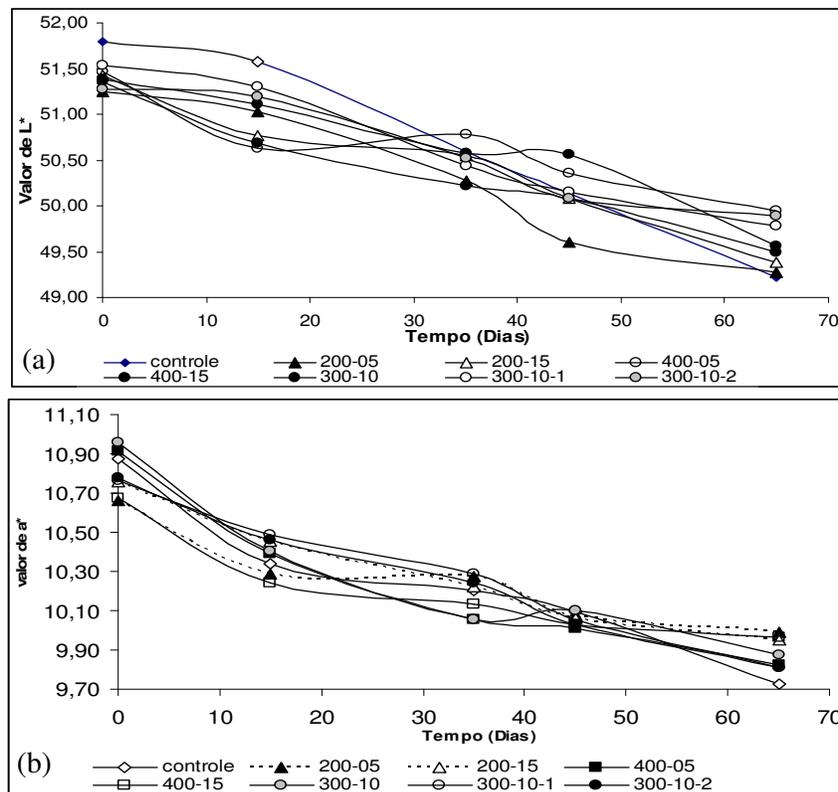


Figura 1 – Variação dos parâmetros,  $L^*$  (a) e  $a^*$  (b) no período de armazenamento a 4°C.

Serra et al. (2007) relataram que mudanças na coloração durante a vida de prateleira de presuntos pressurizados podem ser devidas à oxidação do composto nitrosohemocromo. López-Caballero, Carballo, Jiménez-Colmenero (1999) e Goutefongea et al. (1995) pressurizaram presunto cozido embalado a vácuo e não verificaram modificações na coloração durante a sua vida de prateleira. Tanzi et al. (2004) em pesquisa realizada com presunto de Parma (produto ausente de nitrito) constataram um aumento na luminosidade (valor de L\*) e um decréscimo na intensidade visual da cor vermelha desse produto após a pressurização.

No presente estudo, o presunto pressurizado não apresentou mudanças significativas nos parâmetros de L\* e a\*, em comparação com a amostra controle, durante o tempo de armazenamento de 65 dias. Diante disso, e levando-se em consideração as constatações de alguns autores, pode-se dizer que os resultados obtidos podem ser explicados por alguns fatores, como relatado a seguir: proteção que a adição de nitrito provoca em produtos cárneos, formação do composto covalente nitrosohemocromo (estável a altas pressões), e também devido ao fato de este produto (carne suína) possuir em sua maioria gordura saturada, o que dificulta a oxidação lipídica. Estes resultados indicam que presunto suíno é um produto adequado para ser submetido à pressurização.

### 3.2. Composição Centesimal

Os resultados das médias das análises feitas em triplicata para a determinação da composição centesimal (cinzas, lipídeos, proteína e umidade) do presunto cozido encontram-se na Tabela 3.

**Tabela 3.** Médias (%) e desvio padrão da composição físico-química das amostras de presunto controle e pressurizada (400 MPa a 15 minutos).

<b>Determinações</b>	<b>Controle</b> (%)	<b>Desvio</b> <b>Padrão</b>	<b>Pressurizada</b> (%)	<b>Desvio</b> <b>Padrão</b>
Cinzas	3,90 <sup>a</sup>	± 0,108	3,89 <sup>a</sup>	± 0,083
Lipídeos	2,90 <sup>a</sup>	± 0,092	3,03 <sup>a</sup>	± 0,124
Proteínas	16,58 <sup>a</sup>	± 0,030	17,64 <sup>b</sup>	± 0,035
Umidade	75,01 <sup>a</sup>	± 0,127	74,61 <sup>b</sup>	± 0,065

Letras iguais em uma mesma linha, não diferem entre si significativamente (p≤0,05).

Analisando-se os resultados obtidos através do tratamento estatístico, pode-se observar que para porcentagens de cinzas, lipídeos, proteínas e umidade não houve diferença entre as

amostras controle e pressurizada, indicando que a APH não alterou a composição centesimal da amostra pressurizada, quando comparada com a amostra controle.

Os valores para proteína estão de acordo com o padrão de identidade e qualidade de presunto cozido, cujo mínimo foi estabelecido como sendo 14,0%.

Serra et al (2007) descreveram o efeito da alta pressão hidrostática de 400 a 600 MPa em presunto curado na fase inicial de cura e na fase final, e avaliaram os parâmetros físico-químicos (pH, aw, proteína total), oxidação de lipídeos e a atividade de enzimas proteolíticas, não observando diferença significativa entre os resultados das amostras pressurizadas em comparação com as amostras controle para estes parâmetros.

### 3.3. pH

A evolução dos valores de pH, das amostras controle e pressurizadas durante o período de armazenamento a 4°C, é apresentada na Tabela 4. Através de análise de variância verificou-se que não houve diferença significativa ( $p < 0,055$ ) entre as amostras nos diferentes períodos de análise, durante os 45 dias de armazenamento do produto.

**Tabela 4** – Valores de pH para todas as condições do planejamento experimental fracionário 2<sup>2</sup> com triplicata no ponto central para amostras pressurizadas e para as amostras controle armazenadas a 4°C por 45 dias.

Ensaio	3º dia de armazenamento	35º dia de armazenamento	45º dia de armazenamento
	pH	pH	pH
Controle	6,5 <sup>a</sup>	6,5 <sup>a</sup>	6,41 <sup>a</sup>
200 MPa-05 minutos	6,53 <sup>a</sup>	6,51 <sup>a</sup>	6,46 <sup>a</sup>
200 MPa-15 minutos	6,5 <sup>a</sup>	6,49 <sup>a</sup>	6,47 <sup>a</sup>
400 MPa-05 minutos	6,51 <sup>a</sup>	6,5 <sup>a</sup>	6,45 <sup>a</sup>
400 MPa-15 minutos	6,51 <sup>a</sup>	6,43 <sup>a</sup>	6,35 <sup>a</sup>
300 MPa-10 minutos	6,53 <sup>a</sup>	6,5 <sup>a</sup>	6,37 <sup>a</sup>
300 MPa-10 minutos	6,52 <sup>a</sup>	6,48 <sup>a</sup>	6,4 <sup>a</sup>
300 MPa-10 minutos	6,52 <sup>a</sup>	6,5 <sup>a</sup>	6,4 <sup>a</sup>

Letras iguais em uma mesma linha, não diferem entre si significativamente ( $p \leq 0,05$ ).

Pode-se verificar que para o presunto pressurizado e controle, os valores de pH diminuíram com o aumento do tempo de armazenamento a 4°C.

Para se certificar de que o pH das amostras realmente diminuía com o tempo de armazenamento, um estudo posterior foi realizado com amostras de presunto controle e pressurizadas a 400 MPa por 15 minutos por um período de 90 dias. Os resultados da análise estatística feita para os valores de pH para as amostras controle e as pressurizadas a 400MPa por 15 minutos, provenientes de análises em duplicata, encontram-se na Tabela 5.

**Tabela 5** - Valores (médias) do pH do presunto controle e pressurizado (400MPa por 15 minutos), durante 90 dias de armazenamento a 4°C.

Amostras	Tempo (Dias)						
	1°	15°	30°	45°	60°	75°	90°
<b>Controle</b>	6,26 <sup>a</sup>	6,25 <sup>ab</sup>	6,33 <sup>a</sup>	6,23 <sup>ab</sup>	5,96 <sup>b</sup>	6,01 <sup>ab</sup>	6,05 <sup>ab</sup>
<b>Pressurizada (400-15)</b>	6,25 <sup>a</sup>	6,25 <sup>ab</sup>	6,33 <sup>a</sup>	6,26 <sup>ab</sup>	6,10 <sup>b</sup>	6,22 <sup>ab</sup>	6,20 <sup>ab</sup>

Letras iguais em uma mesma linha e coluna não diferem entre si significativamente ( $p \leq 0,05$ ).

Em relação ao pH, não houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre as amostras controle e pressurizada ao longo dos 90 dias de armazenamento, mas houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) dos valores de pH ao longo dos dias, indicando que houve diferença significativa entre o 1° e 60° dias e que estes não diferiram significativamente dos demais.

Segundo Cheftel (1995) o pH dos alimentos representa um importante fator na determinação do efeito da APH sobre microrganismos. A dissociação iônica da água (e de vários ácidos fracos) é aumentada sob pressão, ocasionando uma diminuição do pH do meio. Essa redução provoca a desnaturação de proteínas e a inativação de microrganismos presentes no alimento que foi submetido a este processo. Vários autores observaram que o processo a APH causa uma redução nos valores de pH, favorecendo a ionização, resultando em grandes danos às células de microrganismos (Rubio et al., 2007; Smelt, 1998; Hoover et al., 1989). No entanto, na presente pesquisa, isto não foi observado, pois não houve diferença significativa no pH das amostras controle e pressurizada.

### 3.4. $a_w$

A água provavelmente é o fator mais importante que orienta o crescimento de microrganismos e as mudanças nas características sensoriais dos alimentos. Ela também está associada com a oxidação lipídica de produtos alimentícios gordurosos, nos quais sua diminuição aumenta o grau de oxidação lipídica. Desta maneira, é de extrema importância o seu controle durante o período de armazenamento.

Os resultados de  $a_w$  para as amostras controle e as pressurizadas em diferentes condições encontram-se na Tabela 6. Através da análise de variância, pode-se verificar que não houve diferença significativa nos valores de  $a_w$  entre as diferentes amostras (controle e diferentes condições de pressão), nem ao longo dos 45 dias de armazenamento a 4°C.

**Tabela 6** - Valores de atividade de água para todas as condições do planejamento experimental fracionário 2<sup>2</sup> com triplicata no ponto central para presunto pressurizado e para as amostras controle armazenadas a 4°C, durante 45 dias de armazenamento.

Ensaio	A <sub>w</sub>		
	3º dia de armazenamento	35º dia de armazenamento	45º dia de armazenamento
<b>Controle</b>	0,986 <sup>a</sup>	0,982 <sup>a</sup>	0,981 <sup>a</sup>
<b>200 MPa-05 min.</b>	0,978 <sup>a</sup>	0,975 <sup>a</sup>	0,972 <sup>a</sup>
<b>200 MPa-15 min.</b>	0,983 <sup>a</sup>	0,977 <sup>a</sup>	0,974 <sup>a</sup>
<b>400 MPa-05 min.</b>	0,978 <sup>a</sup>	0,975 <sup>a</sup>	0,972 <sup>a</sup>
<b>400 MPa-15 min.</b>	0,978 <sup>a</sup>	0,974 <sup>a</sup>	0,971 <sup>a</sup>
<b>300 MPa-10 min.</b>	0,979 <sup>a</sup>	0,975 <sup>a</sup>	0,971 <sup>a</sup>
<b>300 MPa-10 min.</b>	0,981 <sup>a</sup>	0,977 <sup>a</sup>	0,974 <sup>a</sup>
<b>300 MPa-10 min.</b>	0,979 <sup>a</sup>	0,975 <sup>a</sup>	0,973 <sup>a</sup>

Letras iguais em uma mesma linha e coluna não diferem entre si significativamente ( $p \leq 0,05$ ).

Nos resultados obtidos através do tratamento estatístico mostrados na Tabela 6, pode-se observar que o tratamento não causou alterações na quantidade de água livre do produto.

Rubio et al. (2007) fizeram análises de  $a_w$  em bifes curados embalados a vácuo, até o 210º dia de cura deste produto, e não verificaram mudanças expressivas nos valores de  $a_w$ . Resultados semelhantes também foram encontrados por Marcos et al. (2007) em salsichas embaladas a vácuo submetidas ao processo de APH e armazenadas por 28 dias.

### 3.5. Oxidação Lipídica

O índice do ácido tiobarbitúrico (TBA) foi usado para medir a oxidação lipídica nas amostras de presunto controle e pressurizado (400MPa/15min). A Tabela 8 apresenta os valores das médias de TBA para amostras de presunto controle e pressurizado, avaliadas através da análise.

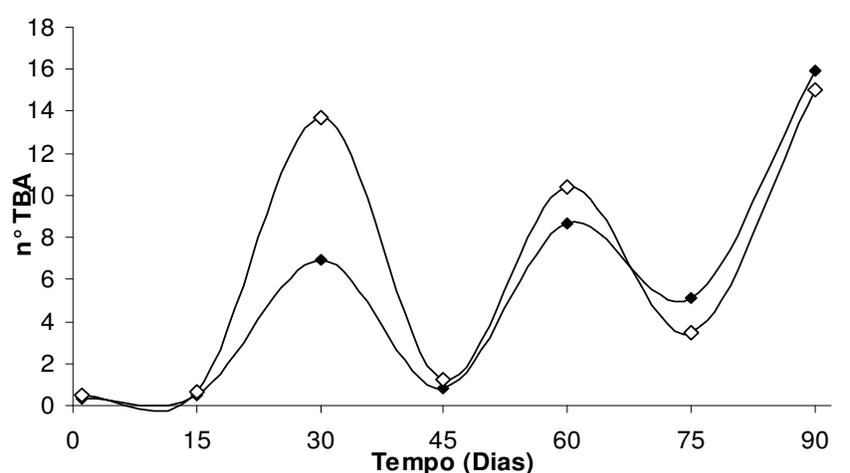
**Tabela 8** - Valores das médias de TBA em mg de malonaldeído/kg para amostras de presunto controle e pressurizada armazenadas a 8°C ao longo de 90 dias.

Amostras	Tempo (Dias)						
	1º	15º	30º	45º	60º	75º	90º
<b>Controle</b>	0,3046 <sup>a</sup>	0,483 <sup>a</sup>	6,936 <sup>bc</sup>	0,851 <sup>a</sup>	8,706 <sup>bc</sup>	5,108 <sup>ab</sup>	15,906 <sup>c</sup>
<b>Pressurizada (400-15)</b>	0,5248 <sup>a</sup>	0,668 <sup>a</sup>	13,67 <sup>bc</sup>	1,208 <sup>a</sup>	10,414 <sup>bc</sup>	3,490 <sup>ab</sup>	15,021 <sup>c</sup>

Letras iguais em uma mesma linha e coluna não diferem entre si significativamente ( $p \leq 0,05$ ).

Para o índice de TBA, não houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre as amostras controle e pressurizada ao longo dos 90 dias de armazenamento, embora a amostra pressurizada tenha apresentado um índice de TBA maior do que a amostra controle até o 60º dia de armazenamento. Observou-se que houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) dos valores de TBA ao longo dos dias para a mesma amostra. Entre o 1º, 15º, 45º e 75º dias não houve diferença significativa, mas o 30º diferiu significativamente ( $p > 0,05$ ) de 1º, 15º, 45º dias. O

90º dia não apresentou diferença significativa em relação ao 30º dia, mas diferiu dos demais, apresentando os maiores valores do índice de TBA. A Figura 4 apresenta as variações dos valores de TBA para as amostras controle e pressurizada durante o período de armazenamento de 90 dias.



**Figura 4** – Variação dos parâmetros de TBA no período de armazenamento de 90 dias para amostras pressurizadas (○) e amostras controle (●).

A oxidação lipídica é difícil de ser controlada, principalmente devido à sua complexidade e variedade. É uma reação química que pode ser potencializada por ação microbiológica e pela redução do conteúdo de água dos alimentos (Ramirez-Suarez e Morrissey, 2007; Cheach, Ledward, 1996).

Os lipídeos são importantes componentes dos produtos cárneos, conferindo características desejáveis de suculência, sabor e aroma, valor nutricional e propriedades tecnológicas. Contudo, os mesmos são facilmente oxidáveis, levando à rancificação, com a produção de toxinas indesejáveis e comprometendo a qualidade e a vida útil dos produtos alimentícios. As substâncias tóxicas produzidas são cetonas, aldeídos, álcoois, ácidos e hidrocarbonetos, responsáveis pelo odor e gosto característico de ranço (Olivo, 2006).

Vários autores confirmaram que a pressão aumenta a taxa de oxidação de lipídeos em sistemas musculares e atribuíram este efeito principalmente a dois fatores: teor de água e ou íons metálicos liberados de complexos hemoproteicos durante os tratamentos a APH (Ramirez-Suarez e Morrissey, 2007; Cheach e Ledward, 1996; Ohsmina, Ushio e Koizukmi, 1993; Tanaka, Xueyi, Nagashima e Taguchi, 1991). Cheah e Ledward (1996) observaram que à medida que o pH diminui, a oxidação de lipídeos aumenta, o que pode ser uma outra razão possível pelo aumento dos valores de ácido tiobarbitúrico (TBA) produzidos.

Gómez-Estaca et al. (2007) verificaram diferenças nos valores de TBA de amostras de carne de frango pressurizada (400 MPa) em comparação com as amostras controle. Entretanto, as amostras não diferiram estatisticamente entre si.

Tuboly et al. (2003) trataram carne de peru mecanicamente separada sob APH (200 MPa por 20 minutos) e realizaram acompanhamento do produto por 15 dias. Esse produto foi submetido a análises microbiológicas (contagem total e enterobactérias), oxidação de lipídios (TBA) e concentração dos produtos da oxidação de colesterol (cromatografia e métodos enzimáticos). Foi observada redução significativa no número de células viáveis, e aumento nos valores de TBA, bem como formação de compostos de oxidação do colesterol.

No presente trabalho, também se constatou que o tratamento a APH provoca um aumento nos valores de TBA de presunto cozido, embora não tenha sido observada diferença estatística significativa entre as amostras.

### 3.6. Índice de Peróxido

Como já relatado, o tempo de armazenamento de produtos cárneos é altamente afetado pela oxidação lipídica, que pode também ser monitorada pela análise de índice de peróxido no período inicial da oxidação.

A Tabela 9 apresenta a evolução dos valores de índice de peróxido com o tempo de armazenamento para as amostras controle e pressurizada, sendo que os resultados foram avaliados através da análise. Analisando-se os resultados obtidos, pode-se observar que houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre as amostras controle e pressurizada somente no 30º dia de armazenamento.

**Tabela 9** - Valores (médias) do índice de peróxido, em equivalente de peróxido/ 100g, para amostras de presunto controle e pressurizada.

Amostras	Tempo (Dias)						
	1º	15º	30º	45º	60º	75º	90º
<b>Controle</b>	0,00 <sup>a</sup>	5,00 <sup>b</sup>	6,91 <sup>c</sup>	4,50 <sup>b</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>
<b>Pressurizada (400-15)</b>	0,00 <sup>a</sup>	4,98 <sup>b</sup>	8,85 <sup>c</sup>	4,22 <sup>b</sup>	1,99 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>	0,00 <sup>a</sup>

Letras iguais em uma mesma linha e coluna não diferem entre si significativamente ( $p \leq 0,05$ ).

Não houve diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre as amostras controle e pressurizada ao longo dos 90 dias de armazenamento, mas houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) dos valores de índice de peróxido ao longo dos dias, indicando que o 15º dia diferiu dos demais e não teve diferença em relação ao 45º dia. No 30º dia houve diferença em relação ao demais,

observando-se a maior produção do índice de peróxido, embora não tenha ultrapassado o limite da legislação que é de 10mg de peróxido/kg.

Pode-se verificar que os valores de índice de peróxido das amostras pressurizadas foram maiores que os das amostras controle somente no tempo de armazenamento de 30 e 60 dias. Após este período, as amostras tiveram seus valores decrescidos até não haver mais a produção do peróxido, e sim de compostos intermediários, avaliados pelo índice de TBA.

Segundo Araújo (1995) e Wong (1995), inicialmente ocorre a reação dos radicais livres dos ácidos graxos com oxigênio, ocorrendo posteriormente a formação dos peróxidos e hidroperóxidos, que são considerados os primeiros produtos formados na oxidação de gorduras.

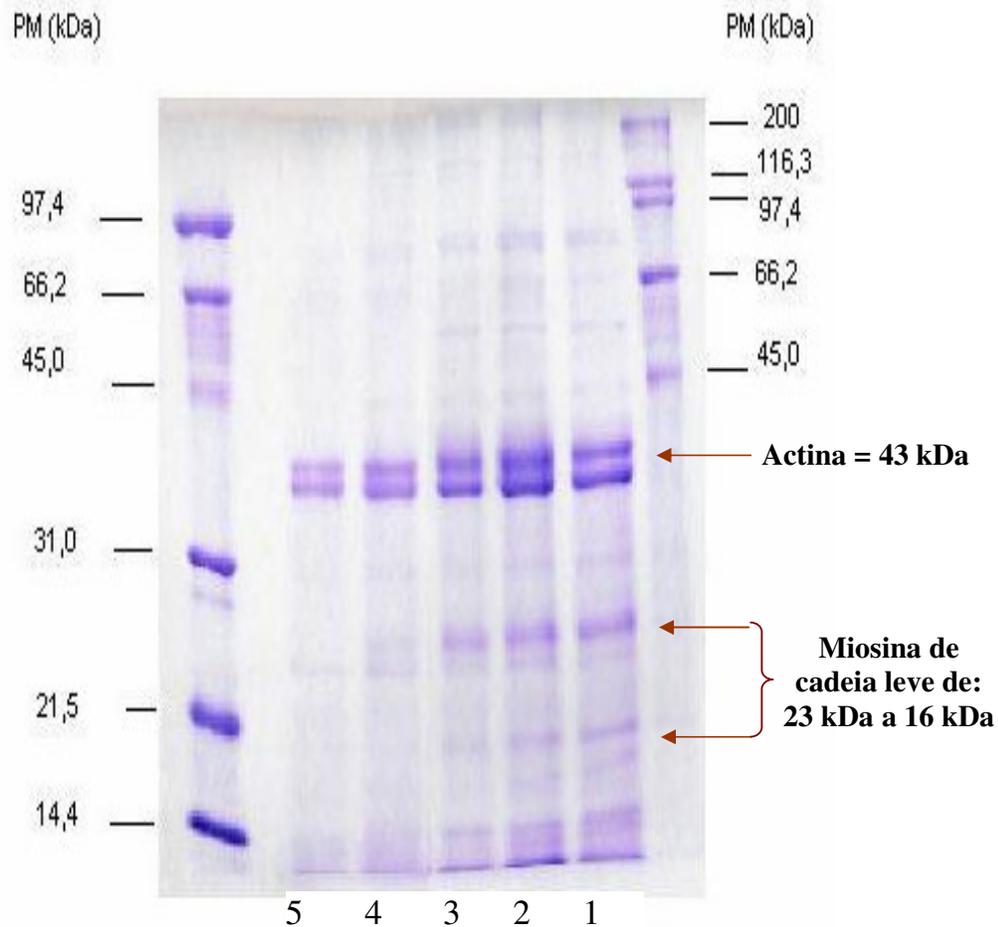
### **3.7. Eletroforese**

Sabe-se que as proteínas miofibrilares representam 52-56% de toda a proteína muscular das carnes. A miosina é a proteína mais abundante das proteínas miofibrilares, correspondendo a cerca de 50-58% do total das proteínas miofibrilares. A actina constitui de 15 a 20% das proteínas miofibrilares. O estudo do efeito da aplicação de alta pressão em presunto da presente pesquisa foi realizado em relação às proteínas miofibrilares miosina e actina, por constituírem a maior parte da estrutura protéica. O perfil eletroforético das proteínas miofibrilares de presuntos submetidos a diferentes condições de pressão por 10 minutos é apresentado na Figura 5.

Pode-se verificar que o aumento da pressão ocasionou a desnaturação das proteínas majoritárias do presunto, fato este verificado pelo clareamento das bandas de actina (43kDa) e miosina (16 kDa a 23 kDa) do perfil eletroforético.

Vários autores também verificaram este clareamento nas bandas de actina e miosina em produtos cárneos submetidos a alta pressão através da eletroforese SDS-PAPGE. Scheibenzuber et al. (2002), em pesquisas realizadas com carne de porco, usaram a eletroforese SDS-PAGE para verificar as alterações nas proteínas miofibrilares deste produto após tratamento a diferentes pressões. Estes autores concluíram que a alta pressão induziu a solubilização das proteínas miofibrilares, levando à gelatinização das miofibrilas. Verificaram também que componentes de filamentos finos foram solubilizados facilmente com aplicação de pressão, contudo, a solubilização da miosina dependeu da magnitude e da duração da pressão aplicada.

De acordo com Jimenez-Colmenero, Cofrades, Carballo, Frenandez e Fernandez-Martin (1998), o aquecimento sobre pressão favorece a quebra da cadeia de proteína que foi atribuída a uma quebra enzimática acelerada pela pressão de um componente de peso molecular mais alto (possivelmente a miosina).



**Figura 5** - Perfil eletroforético das proteínas miofibrilares de presuntos submetidos a diferentes condições de pressão por 10 minutos (1= controle; 2 = 100 MPa; 3 = 200 MPa; 4 = 500 MPa e 5 = 600 MPa).

Proteínas são formadas por uma seqüência definida de aminoácidos e, quando expostas a condições de alta temperatura, pH extremo, altas pressões hidrostáticas, podem desenovelar-se e perder parcial ou totalmente sua estrutura e função. Segundo Palmieri (2005), a pressão hidrostática age ao forçar a entrada de água no cerne protéico, o que resulta na quebra das interações fracas e, conseqüentemente, no desenovelamento protéico.

### 3.8. Análises microbiológicas

Os resultados obtidos na pesquisa de coliformes a 45°C/g, estafilococcus coagulase positiva/g, *Clostridium* sulfito redutor a 46°C e *Salmonella* sp. , de acordo com a Resolução RDC nº12 da ANVISA (BRASIL, 2001) estão expressos na Tabela 9.

De acordo com os resultados obtidos, pode-se concluir que não houve alteração dos valores obtidos entre a amostra controle e pressurizada, durante os 75 dias de armazenamento refrigerado a 8°C, pois os resultados obtidos nas repetições ao longo dos dias mantiveram-se sem grandes variações com exceção das bactérias aeróbias psicrotróficas que tiveram um bom crescimento nas amostras controle e um aumento reduzido nas amostras pressurizadas. Os resultados encontrados estão de acordo com os relatados na literatura.

**Tabela 9** - Resultados obtidos enumeração de coliformes a 45°C/g, estafilococcus coagulase positiva/g, *Clostridium* sulfito redutor a 46°C e *Salmonella* sp. para as amostras de presunto controle e pressurizada mantidas a 8°C.

Microrganismos	Tempo (Dias)					
	1°	15°	30°	45°	60°	75°
<b>Bactérias aeróbias psicrotróficas</b>						
Controle	3,0E+01	2,0E+02	6,0E+01	1,0E+04	1,0E+06	6,5E+06
Pressurizada	1,0E+01	1,0E+01	1,0E+01	1,0E+01	2,9E+02	1,0E+03
<b>Coliformes a 45°C (UFC/g)</b>						
Controle	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
Pressurizada	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
<b><i>S.coagulase</i> positiva (UFC/g)</b>						
Controle	1,0E+02	1,0E+01	1,0E+02	1,0E+02	1,0E+02	1,0E+02
Pressurizada	1,0E+02	1,0E+02	1,0E+02	1,0E+02	1,0E+02	1,0E+02
<b><i>Clostridium</i> sulfito redutor a 46°C</b>						
Controle	1,0E+01	1,0E+01	1,0E+01	1,0E+01	1,0E+01	1,0E+01
Pressurizada	1,0E+01	1,0E+01	1,0E+01	1,0E+01	1,0E+01	1,0E+01
<b><i>Salmonella</i> sp (ausência 25g)</b>						
Controle	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
Pressurizada	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência

O efeito do tratamento sob APH (300 MPa, 15 minutos) e da temperatura (5, 20, 35 e 50°C) sobre a inativação de microrganismos (bactérias aeróbias psicrotróficas, bactérias lácticas, *Pseudomonas* sp. e enterobactéria) de presunto cozido fatiado e pedaços de carne de porco foi estudada por López-Caballero et al. (2002). A redução da carga microbiana mostrou-se maior nos pedaços de carne fatiada. As bactérias Gram-negativas revelaram maior sensibilidade ao tratamento sob pressão, exibindo maior perda de viabilidade. A inativação microbiana mais pronunciada ocorreu quando foi utilizada temperatura de processamento de 50°C.

Linton et al. (2004) realizaram estudos com frangos em pedaços que foram empacotados a vácuo e depois tratados a pressão de 500 MPa, por 15 minutos a 40°C, e estocados a 3°C. Os autores verificaram que a contagem em placa para aeróbios e psicrotróficos e anaeróbios aumentou rapidamente durante o armazenamento e chegando a  $10^7$  UFC/g, depois de aproximadamente 8 dias, a 3°C em amostras não tratadas. Entretanto, amostras tratadas com alta pressão não tiveram aumento significativo, durante os 182 dias de armazenamento a 3°C.

Para Coliformes a 45°C/g a contagem manteve-se ausente, indicando que não houve contaminação fecal nas amostras analisadas, e que as condições higiênico-sanitárias foram adequadas.

O *Clostridium* sulfito redutor a 46°C manteve sua contagem em  $1,0E+01$  UFC/g, abaixo da legislação que estipula o valor de  $1,0E+03$  UFC/g, indicando que o tratamento térmico, o processo de APH e o resfriamento após processamento para os presuntos foram adequados e suficientes para evitar que possíveis esporos presentes se desenvolvessem.

Quanto a *Salmonella* sp., o resultado mostrou ausência, dentro dos padrões preconizados pela legislação, indicando que as condições de higiene tanto no processamento quanto posteriormente foram adequadas.

Garriga et al. (2004), em estudo realizado com presunto cozido e presunto curado, avaliaram o comportamento de diferentes microrganismos patogênicos em tratamento a alta pressão a 600 MPa, por 6 minutos a 31°C, durante a armazenamento a 4°C, por 120 dias. Estes autores verificaram que a alta pressão reduziu os riscos associados com *Salmonella* e *Listeria monocytogenes*. Os autores observaram que o tratamento a alta pressão ajudou a prevenir mudanças de coloração, e que a composição do alimento é, talvez, um dos fatores-chave que influencia o efeito conservador do tratamento a alta pressão.

Pode-se verificar que o processo de cozimento até 68°C no ponto interno das peças de presunto, inativou os microrganismos em estudo com exceção das bactérias aeróbias psicrotróficas que tiveram um crescimento expressivo nas amostras controle em comparação com as amostras pressurizadas que tiveram um crescimento mais lento. No entanto, pesquisas futuras com a inoculação do microrganismo alvo no produto podem ser conduzidas para se verificar se o processo de APH é eficiente para sua inativação.

## **Conclusão**

O processo a APH não causou mudanças expressivas nas propriedades físicas, químicas e microbiológicas das amostras de presunto pressurizadas em comparação com as

amostras controle. Este processo mostra-se eficiente para o prolongamento da vida de prateleira de presunto fatiado embalado a vácuo. Pode-se verificar que houve a desnaturação das proteínas, o que provavelmente deve ter contribuído para as pequenas mudanças nos resultados de cor, pH,  $a_w$ , oxidação lipídica, índice de peróxido e atraso no crescimento de microrganismos das amostras pressurizadas em comparação com as amostras controle. Possivelmente a desnaturação das proteínas pode ter acarretado mudanças nos nutrientes disponíveis necessários para o crescimento das bactérias estudadas e com isso o seu crescimento foi atrasado. No entanto, de uma maneira geral, pode-se afirmar que o processo de APH ajuda a prevenir o crescimento microbiano, contribuindo para o aumento da vida de prateleira deste produto, minimizando perdas industriais.

### **Agradecimentos**

Os autores agradecem o suporte financeiro da FAPERJ (Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro).

### **Referências Bibliográficas**

- ANDRÉS, A.I., ADAMSEN, C.E., MOLLER, J.H.S., RUIZ, J., SKIBSTED, L.H. High pressure treatment of dry-cured Iberian ham. Effect on colour and oxidative stability during chill storage packed in modified atmosphere. **European Food Research and Technology**, 222, 486-491, 2006.
- AOCS. **Official methods and recommended practices of the american oil chemists society**. 4ed. Champaign, 1990.
- BORGO, L.A., ARAÚJO, W.M.C. Mecanismos dos processos de oxidação lipídica. **Higiene Alimentar**, v. 19(130), 50-57, 2005.
- CARLEZ, A., VECIANA-NOGUES, T., CHEFTEL, J.C. Changes in colour and myoglobin of minced beef meat due to high pressure processing. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, 28(5), 528-538, 1995.
- CHEFTEL, P.B., LEDWARD, D.A. High pressure effects on lipid oxidation in minced pork. **Meat Science**, 43(2), 123-134, 1996.
- CHEFTEL, J.C. Review: high-pressure, microbial inactivation and food preservation. **Food Science and Technology International**, 1, 75-90, 1995.
- CHEFTEL, J., CURIOLI, J. Effects of high pressure on meat: a review. **Meat Science**, 46(3), 211-236, 1997.
- GANDEMER, G. Lipids in muscle and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. **Meat Science**, 62, 309-312, 2002.

GÓMEZ-ESTACA, J., GÓMEZ-GUILLÉN, M.C., MONTERO, P. High pressure effects on the quality and preservation of cold-smoked dolphinfisch (*Coryphaena hippurus*) fillets. **Food Chemistry**, 102, 1250-1259, 2007.

GOUTEFONGEA, R., RAMPON, V., NICOLAS, N., DUMONT, J.P. (1995). Meat color changes under high pressure treatment. **In proceeding 41<sup>st</sup> international congress of meat science and technology** (pp. 384-385). 20-25 August, 1995, San Antonio, Texas, USA.

HOOVER, D.G. Pressure effects on biological systems. **Food Technology**, 47, 150-155, 1993.

HOOVER, D.G., METRICK, C., PAPINEAU, A.M., FARKAS, D.F., KNORR, D. Biological effects of high hydrostatic pressure on food microorganisms. **Food Technology**, 43, 99-107, 1989.

HUGAS, M., GARRIGA, M., MONFORT, J.M. New mild technologies in meat processing: High pressure as a novel technology. **Meat Science**, 62, 359-371, 2002.

JIMÉNEZ-COLMENERO, F., COFRADES, S., CARBALLO, J., FERNÁNDEZ, P., FERNÁNDEZ-MARTIN, F. Heating of chicken and pork meat batters under pressure conditions: protein interactions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 46(11), 4706-4711, 1998.

KNORR, D. Effects of high-hydrostatic- pressure process on food safety and quality. **Food Technology**, 47(6), 156-161, 1993.

KOSEKI, S., YAMAMOTO, K. Modelling the bacterial survival/death interface induced by high pressure processing. **Innovative Journal of Food Microbiology**, 116, 136-143, 2007(a).

KOSEKI, S., YAMAMOTO, K. A novel approach to predicting microbial inactivation kinetics during high pressure processing. **Innovative Journal of Food Microbiology**, 116, 275-282, 2007(b).

LANARA. Métodos Analíticos para Controle dos Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes, Portaria nº 1, de 07 de outubro de 1981. (II -Produtos de Salsicharia – Embutidos e Não Embutidos - Instrução Normativa, nº 20, de 21/07/1999).

LÓPEZ-CABALLERO, M.E., CARBALLO, J., JIMÉNEZ-COLMENERO, F. Microbial changes in pressurized prepackaged sliced cooked ham. **Journal of Food Protection**, 62, 1411-1415, 1999.

MA, H.J., LEDWARD, D.A. High pressure/thermal treatment effects on the texture of beef muscle. **Meat Science**, 68, 347-355, 2004.

MARCOS, B., AYMERICH, T., GUARDIA, M.D., GARRIGA, M. Assessment of high hydrostatic pressure and starter culture on the quality properties of low-acid fermented sausages. **Meat Science**, 76, 46-53, 2007.

MOR-MUR, M., YUSTE, J. High-pressure processing applied to cooked sausage manufacture: Physical properties and sensory analysis. **Meat Science**, 65, 1187-1191, 2003.

- OHSHIMA, T., USHIO, H., KOIZUKMI, C. High pressure processing of fish and fish products. **Trends in Food Science and Technology**, 4, 370-375, 1993.
- OLIVO, R. Alterações oxidativas em produtos cárneos. In: Atualidades em Ciência e Tecnologia de Carnes. 2006, 236pp.
- PALMIERI, L.C. **Estudo do envelhecimento e agregação do monômero da proteína amiloidogênica transtirretina (M-TTR)**. UFRJ, 2005. Dissertação (Mestrado em Química Biológica), Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2005.
- PREGNOLATTO, W., PREGNOLATTO, N.P. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. – Métodos Químicos e Físicos para a análise de Alimentos. Instituto Adolfo Lutz, 3.ed. São Paulo (Brasil), 1985.
- RAMIREZ-SUAREZ, J., MORRISEY, M.T. Effect of high pressure processing (HPP) on shelf life of albacore tuna (*Thunnus alalunga*) minced muscle. **Innovative Food Science and Technology**, 7 (1-2), 2006.
- ROVERE, P. Industrial-scale high pressure processing of foods. In M.E.G. Hendrickx & D. Knorr (Eds.), *Ultra high pressure treatments of foods* (pp.251-268). New York: Klumer Academic/Plenum Publishers, 2001.
- RUBIO, B., MARTÍNEZ, B., GARCÍA-CACHÁN, M.D., ROVIRA, J., JAIME, I. The effects of high pressure treatment and of storage periods on the quality of vacuum-packed “salchichón” made of raw material enriched in monounsaturated and polyunsaturated fatty acids. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 8, 180-187, 2007.
- RUIZ-CAPILLAS, C., CARBALLO, J., COLMENERO, F.J. Biogenic amines in pressurized vacuum-packaged cooked sliced ham under different chilled storage conditions. **Meat Science**, 75, 397-405, 2007.
- SACCANI, G., PAROLARI, G., TANZI, E., BARBUTI, S. Sensory and microbiological properties of dried hams treated with high hydrostatic pressure (HP). **Proceedings 50<sup>th</sup> International Congress of Meat Science and Technology** (pp. 726-729). (August, Helsinki, Finland), 2004.
- SCHEIBENZUBER, M., RUB, W., GORG, A., MEYER-PITTROFF, R. Scanning electron microscopic study of high pressure induced microstructural changes of proteins in Turkey and pork meat. **Trends in High Pressure Bioscience and Biotechnology**, 2002.
- SERRA, X., GREBOL, N., GUÀRDIA, M.D., GUERRERO, L., GOU, L., MASOLIVER, P., GASSIOT, M., SÁRRAGA, C., MONFORT, J.M., ARNAU, J. High pressure applied to frozen ham at different process stages. 2. Effect on the sensory attributes and on the colour characteristics of dry-cured ham. **Meat Science**, 75, 21-28, 2007.
- SMELT, J.P.P.M. Recent advances in the microbiological of high pressure processing. **Trends in Food Science and Technology**, 9, 152-158, 1998.

SUPAVITIPATANA, T., APICHARTSRANGKOON, A. Combination effects of ultra-high pressure and temperature on the physical and thermal properties of ostrich meat sausage (yor). **Meat Science**, 76, 555-560, 2007.

TANAKA, M., XUEYI, Z., NAGASHIMA, Y., TAGUCHI, T. Effect of high pressure on lipid oxidation in sardine meat. **Nippon Suisan Gakkaiski**, 57(5), 957-963, 1991.

TANZI, E., SACCANI, G., BARBUTI, S., GRISENTI, M.S., LORI, D., BOLZONI, S., et al. High-pressure treatment of raw ham. **Sanitation and impact on quality. Industria Converse**, 79, 37-50, 2004.

#### ***4.5 - Características sensoriais e preferência do consumidor de presunto processado por alta pressão hidrostática***

##### ***Apresentação:***

O uso da tecnologia de alta pressão hidrostática (HHP) tem sido um tema de investigação ativa devido ao seu potencial para extensão da vida de prateleira em produtos à base de carne. No entanto, os seus efeitos sobre as propriedades sensoriais ainda não foram completamente investigados. Este estudo avaliou as características sensoriais de presunto submetido à alta pressão hidrostática (HHP) e controle (não pressurizado), comparando-os com cinco amostras de presunto comerciais, bem como comparou a preferência do consumidor entre as referidas amostras. Uma equipe treinada de sete provadores avaliou as amostras por meio da Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) e 70 consumidores participaram do teste de preferência. Os dados foram analisados por meio da ANOVA, Análise dos Componentes Principais (ACP), "Cluster Analysis" e Mapa da Preferência. A amostra pressurizada diferiu da amostra controle apenas para o atributo firmeza ( $p < 0.05$ ). Nos dois maiores segmentos de consumidores identificados, o presunto pressurizado assim como a amostra controle e duas comerciais (A e B) foram as preferidas. Verificou-se que todos os atributos investigados contribuíram para a preferência dos consumidores.

## ***Características sensoriais e preferência do consumidor de presunto processado por alta pressão hidrostática***

Adriana Paula Slongo<sup>a</sup>, Rosires Deliza<sup>b1</sup>, Amauri Rosenthal<sup>b</sup>, Simone Pereira Mathias<sup>c</sup>,  
Gláucia Maria Falcão de Aragão<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Eng. Química e Eng. de Alimentos, UFSC, CEP 88040-900, Florianópolis, SC.

<sup>b</sup> Embrapa Agroindústria de Alimentos, Av. das Américas, 29501, CEP 23.020-470, Rio de Janeiro - RJ

<sup>c</sup> Departamento de Tecnologia de Alimentos, UFRRJ CEP 23890-000, Seropédica -RJ

### **1. Introdução**

#### ***1.1. Alta Pressão Hidrostática***

A crescente demanda do mercado consumidor por produtos de mais alta qualidade, fez com que houvesse um crescente interesse nos últimos anos por tecnologias de processamento/conservação que não provocassem alterações indesejáveis nos alimentos e também não agredissem o meio ambiente. Tais tecnologias são denominadas “tecnologias não convencionais”, “tecnologias emergentes”, “tecnologias inovadoras”, “tecnologias limpas” ou “tecnologias de baixo impacto ambiental”. Dentre estas tecnologias, destacam-se o tratamento ôhmico, o processamento por campos eletromagnéticos, a tecnologia de ultra-som, a irradiação ionizante, a esterilização por membranas e, em especial, a tecnologia de alta pressão hidrostática (Deliza, Rosenthal, Abadio, Silva e Castillo, 2005; Rosenthal e Silva, 1997; Sangronis, Pothakamury, Ramos, Ibarz e Barbosa-Cánovas, 1997; Butz e Tauscher, 2002).

O interesse em alta Pressão Hidrostática (HHP) é devido, em parte, a procura crescente dos consumidores por produtos processados com características semelhantes às da matéria prima em termos de cor, sabor e textura. Esta tecnologia tem recebido muita atenção como um método de processamento de carne, com importantes aplicações na área de estabilização e texturização de carnes ou produtos cárneos, e utilizada em conjunto com os métodos tradicionais de processamento com o propósito também de aumentar a vida de prateleira destes produtos (Supavititpatana e Apichartsrangkoon, 2007; Apichartsrangkoon, 2003; Apichartsrangkoon, 2002; Apichartsrangkoon e Leadward, 2002; Apichartsrangkoon, Bell, Leadward e Schofield, 1999; Apichartsrangkoon, Leadward, Bell e Brennan, 1998).

---

<sup>3</sup> <sup>1</sup> Corresponding author. Tel.: + 55 21 2410 9566  
E-mail address: rodeliza@ctaa.embrapa.br (R. Deliza)

Alguns autores já constataram que a APH tem prolongado a vida de prateleira de presunto fatiado embalado a vácuo (Ruiz-Capillas, Carballo e Colmenero, 2007; Hugas, Garriga e Monfort, 2002; Carpi, Squarcina, Gola, Rovere, Pedrielli e Bergamaschi, 1999; López-Caballero, Carballo e Jiménez-Colmenero, 1999). Essa tecnologia já está sendo aplicada em produtos a base de carnes em várias empresas para aumentar a vida de prateleira e muitos destes produtos estão disponíveis nos supermercados (Serra, Grebol, Guàrdia, Guerrero, Gou, Masoliver, Gassiot, Sárraga, Monfort e Arnau, 2007a).

A pressão aplicada nos produtos causa o desdobramento das proteínas, e posterior agregação, levando à formação de gel, o que irá afetar a qualidade dos produtos alimentícios. As propriedades sensoriais estão entre os mais importantes critérios utilizados pelos consumidores para a escolha de um produto entre diferentes marcas comerciais (Christiansen, Kreling, Kohler, Vegarud, Langsrud e Egelandsdal, 2006). A APH pode melhorar a textura da carne através do aumento da elasticidade e melhorando as propriedades da estrutura, bem como dando-lhe uma aparência mais brilhante (Apichartsrangkoon, Ledward, Bell e Brennan, 1998).

Contudo, o tratamento a alta pressão pode provocar alterações na estrutura da carne, podendo afetar também as propriedades sensoriais, como cor (Carlez, Veciana-Nogues e Cheftel, 1995), textura (Angsupanich e Ledward, 2002; Angsupanich, Edde e Ledward, 1999; Ueno, Ikeuchi e Suzuki, 1999), e sabor (Suzuki, Homma, Fukuda, Hirao, Uryu e Ikeuchi, 1994). Como consequência, essas possíveis mudanças nas características sensoriais dos produtos pressurizados têm sido investigadas.

## ***1.2 – Análise sensorial***

A qualidade de produtos alimentícios é determinada por seus atributos sensoriais, composição química, propriedades físicas, e características microbiológicas que irão afetar a vida de prateleira de tais produtos. Os atributos sensoriais têm sido reconhecidos como tendo relevante papel no sucesso de um novo produto no mercado consumidor, mas faz-se necessário que estes atributos sejam mantidas até o final da sua vida de prateleira (VDP).

Conhecer o produto em termos das características sensoriais tem auxiliado profissionais de diversas áreas. Estas características podem ser analisadas utilizando técnicas descritivas, como a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ). A ADQ foi desenvolvida por volta de 1970 e envolve a discriminação e a descrição dos componentes quantitativos e qualitativos dos componentes sensoriais de um produto, através da formação de um painel

sensorial de provadores treinados (Laboissière, Deliza, Barros-Marcellini, Rosenthal, Camargo e Junqueira, 2007; Stone e Sidel, 2004; Stone e Sidel, 1998; Stone, Sidel, Oliver, Woolsey e Singleton, 1974). Através da técnica da ADQ, provadores treinados, identificam, caracterizam e quantificam as propriedades sensoriais dos alimentos em análise (Murray, Delahunty e Baxter, 2001). Esta metodologia pode ser usada para controlar a qualidade, para comparar produtos semelhantes em relação a atributos sensoriais, e para o mapeamento de produtos concorrentes. Também pode ser utilizada para monitorar mudanças no produto ao longo de sua vida de prateleira, e para investigar os efeitos de diferentes ingredientes adicionados no produto em estudo (Laboissière et al., 2007; Murray et al., 2001; Stone e Sidel, 1998; Zook e Wessman, 1977).

Além de conhecer as características sensoriais do produto, é importante avaliar sua preferência pelo consumidor. Para tal, ferramentas foram desenvolvidas, bem como métodos estatísticos para a análise dos dados. Nos últimos anos, a aplicação das técnicas de mapeamento da preferência tem tido considerável atenção (Carroll, 1972; Greenhoff e Macfie, 1994). Para identificar os fatores que influenciam na percepção do consumidor, uma variedade de técnicas estatísticas multivariada estão sendo propostas, por exemplo, análise de componentes principais, análise de agrupamento, mapeamento da preferência. Em tais aplicações, essas metodologias podem auxiliar na identificação de novas oportunidades de produtos no mercado. Uma segunda característica fundamental é a capacidade de se combinar perfis sensorial e a aceitabilidade de dados para identificar atributos sensoriais que dirigiu a preferência dos consumidores (Pagliarini, Monteleone e Ratti, 2001; Costell, Vicenta-Pastor, Izquierdo e Duran, 2000; Jaeger, Andani, Wakeling e Macfie, 1998).

O objetivo desta pesquisa foi investigar o efeito da alta pressão hidrostática nas características sensoriais de presunto cozido fatiado, comparando-o com o não pressurizado (controle) e com marcas comerciais, bem como avaliar a preferência do consumidor para tais produtos. Em seguida, os dados descritivos e de preferência foram reunidos para se identificar os atributos que têm dirigido a preferência do presunto.

## **2. Material e Métodos**

### **2.1. Material**

Cinco marcas comerciais de presunto, a amostra controle (presunto processado na Embrapa Agroindústria de Alimentos) e a amostra pressurizada (amostra controle seguida de aplicação de HHP) foram utilizadas neste estudo. Os presuntos comerciais foram comprados em peças inteiras em supermercados da cidade do Rio de Janeiro, com datas de fabricação próximas.

As amostras (comerciais e experimentais) foram fatiadas em fatiador de frios (CFI-300, Skymen, Brusque, Brazil) no interior de câmara de fluxo, colocadas em sacos plásticos estéreis, selados a vácuo e identificados.

## ***2.2. Tratamento por alta pressão hidrostática***

A amostra experimental (produzida na Embrapa Agroindústria de Alimentos) foi pressurizada em embalagens selados a vácuo contendo aproximadamente 50g, foi colocada no equipamento Stansted Food Lab 9000 (Stansted Fluid Power Ltd., England) modelo S-FL-850-9-W, com capacidade de operar em uma faixa de pressão de 100 a 900 MPa, em um intervalo de temperatura de 0 a 80°C, e em intervalos de tempos diversos. O fluido pressurizador deste equipamento foi o álcool 70%. A pressão e o tempo de pressurização aplicado nas amostras para o presente estudo foi de 400MPa por 15 minutos, à temperatura ambiente.

## ***2.3. Análise Descritiva Quantitativa (ADQ)***

Amostras, compreendendo o presunto controle, presunto pressurizado e cinco marcas comerciais de presunto (A, B, C, D e E), foram avaliadas neste estudo seguindo o procedimento padrão do ADQ (Greenhoff e MacFie, 1994). Sete indivíduos previamente selecionados para gosto salgado e textura integraram a equipe de provadores. O levantamento dos termos descritivos foi realizado a partir de amostras comerciais e experimentais de presunto. A diversidade das amostras oferecidas aos provadores teve como objetivo facilitar o levantamento dos atributos sensoriais.

Posteriormente ao levantamento dos atributos, a equipe reuniu-se em várias sessões para estabelecer, por consenso, as definições e referências, para a posterior elaboração da ficha de avaliação. Após a identificação dos atributos e definição das referências, o treinamento dos termos descritivos foi realizado utilizando os pontos âncora; “pouco” ou “muito” para cada atributo avaliado.

Antes da realização da ADQ, a performance da equipe de provadores foi avaliada, verificando-se a discriminação entre as amostras, repetibilidade e concordância entre os membros (Damásio e Costell, 1991). Para isto, foi realizada a análise de variância (ANOVA) com duas causas de variação (amostra e repetição) para cada atributo e provador, sendo selecionados os provadores com valores de  $F_{amostra}$  significativo para  $p < 0,30$  e  $F_{repetição}$  para  $p > 0,05$  não significativos. Os provadores selecionados participaram dos testes subsequentes.

No perfil, as sete amostras de presunto foram monadicamente servidas em triplicata na seqüência de apresentação equilibrada (MacFie et al., 1989), codificadas com números de três algarismos e servidas à temperatura ambiente nas cabines individuais do Laboratório de Análise Sensorial e Instrumental da Embrapa Agroindústria de Alimentos, RJ. Todas as amostras foram apresentadas em pratos plásticos descartáveis brancos. Para avaliação da aparência, as amostras foram apresentadas a temperatura ambiente e em luz branca. Os demais atributos foram avaliados sob luz vermelha. Para limpar o palato, entre uma amostra e outra, era servido biscoito e água.

#### **2.4. Teste de Preferência do Consumidor**

Um total de 70 consumidores participou do teste de preferência, os quais foram recrutados baseados no critério de gostar e consumir presunto. Os participantes eram trinta homens e quarenta mulheres na faixa etária entre 19 a 59 anos de idade (média de 33 anos). Considerando o nível de escolaridade, verificou-se que a maioria (67%) atingiu o nível universitário completo ou pós-graduação; fato este que pode ser explicado devido aos testes terem sido realizados em um centro de pesquisa. Os consumidores também possuíam renda expressiva considerando a renda *per capita* do brasileiro em 2003 de cinco salários mínimos (HDR, 2005), pois 53% reportaram possuir renda familiar de 5 a 20 salários mínimos mensais (R\$ 350,00).

A aceitabilidade sensorial foi medida através de uma escala hedônica de nove pontos, variando entre 9 – gostei extremamente e 1 – desgostei extremamente. As sete amostras de presunto (controle, pressurizada, e as cinco marcas comerciais) foram apresentadas monadicamente, de acordo com uma combinação equilibrada (MacFie, Bratchell, Greenhoff e Vallis, 1989). Água e biscoito foram servidos entre uma amostra e outra para limpar o palato.

#### **2.5. Análise estatística**

O perfil sensorial dos dados foi analisado utilizando ANOVA, e Análise dos Componentes Principais (ACP), utilizando XLSTAT (2007).

Os dados da preferência foram analisados utilizando o mapeamento da preferência e a metodologia de “Cluster Analysis”. O mapeamento da preferência constitui-se de um grupo de técnicas estatísticas com o objetivo de analisar os dados de preferência, levando-se em conta as diferenças individuais da preferência do consumidor (Carroll, 1972). O mapa interno da preferência refere-se à análise dos dados apenas da preferência, e fornece um resumo das principais direções da preferência dos segmentos de consumidores (Greenhoff e MacFie,

1994). Informações sobre as propriedades sensoriais que conduzem a preferência podem ser obtidas pela projeção dos atributos sensoriais para cada amostra do mapeamento interno de preferência (MacFie e Hedderley, 1993; McEwan, Earthy e Ducher, 1998).

### 3. Resultados e Discussões

#### 3.1. Perfil sensorial de presunto -ADQ

A equipe de provadores levantou nove atributos sensoriais, compreendendo três atributos para a aparência (aspecto característico, aspecto uniforme e cor característica), três para textura (suculência, firmeza e presença de fibras) e dois para sabor (sabor característico e gosto salgado). Os atributos sensoriais, assim como as definições e as referências dos mesmos, foram definidos pela equipe durante o painel sensorial e encontram-se na Tabela 1.

Todos os provadores apresentaram habilidade em discriminar as amostras, apresentando valores de  $F_{amostra}$  significativo para  $p < 0,30$  e  $F_{repetição}$  para  $p > 0,05$  não significativo. Assim, os sete provadores selecionados participaram deste estudo.

Os resultados da ADQ são mostrados na Tabela 2, que contém as médias alcançadas para as amostras de presunto investigadas neste estudo, isto é, amostra controle, pressurizada, bem como as marcas comerciais (A, B, C, D e E).

**Tabela 1** - Atributos sensoriais, definições e referências para presunto.

Atributos	Definições	Referências
<b>Aparência</b>		
Aspecto característico	Aparência das fatias característica de presunto suíno	Pouco: Presunto comercial marca D Muito: Presunto comercial marca A
Aspecto uniforme	Fatia com aspecto uniforme	Pouco: Presunto comercial marca D Muito: Presunto comercial marca B
Cor característica	Cor rósea característica de presunto suíno	Pouco: Presunto comercial marca E Muito: Presunto comercial marca A
<b>Aroma</b>		
Aroma característico	Aroma típico de presunto suíno	Pouco: Presunto comercial marca E Muito: Presunto comercial marca A
<b>Textura</b>		
Suculência	Liberção de água da amostra percebida durante a mastigação	Pouco: Presunto comercial marca D Muito: Presunto comercial marca A
Firmeza	Propriedade de textura percebida ao mastigar o produto. Este relacionado com a resistência das fibras durante a mastigação.	Pouco: Presunto comercial marca E Muito: Presunto comercial marca A
Presença de fibras	Percepção de fibras durante a mastigação	Pouco: Presunto comercial marca E Muito: Presunto comercial marca A
<b>Sabor</b>		
Sabor característico	Sabor característico de presunto suíno	Pouco: Presunto comercial marca E Muito: Presunto comercial marca A
Gosto salgado	Presença de gosto salgado percebido durante a mastigação e proveniente da adição de sal na formulação	Pouco: Presunto comercial marca E Muito: Presunto comercial marca C

Os atributos relacionados à aparência, aroma e sabor não foram afetados pela aplicação de alta pressão, ou seja, nenhuma diferença significativa entre a amostra controle e pressurizada foi observada para estes atributos, como pode ser visto na Tabela 2. No entanto, o processamento de presunto a 400 MPa/15 min. afetou significativamente a firmeza do produto avaliada pelos provadores, podendo ser verificado pela diferença estatística entre a amostra controle e a pressurizada (médias de 6.4 e 4.7, respectivamente,  $p \leq 0,05$ ) para este atributo (Tab. 2).

Os atributos relacionados à aparência, aroma e sabor não foram afetados pela aplicação de alta pressão, ou seja, nenhuma diferença significativa entre a amostra controle e pressurizada foi observada para estes atributos, como pode ser visto na Tabela 2. No entanto, o processamento de presunto a 400 MPa/15 min. afetou significativamente a firmeza do produto avaliada pelos provadores, podendo ser verificado pela diferença estatística entre a amostra controle e a pressurizada (médias de 6.4 e 4.7, respectivamente,  $p \leq 0,05$ ) para este atributo (Tab. 2).

**Tabela 2** - Média\* dos atributos sensoriais para o presunto controle, presunto pressurizado e diferentes marcas comerciais (A, B, C, D e E).

Atributos sensoriais	Amostras						
	Amostras experimentais		Amostras comerciais				
	Controle	Pressurizada	A	B	C	D	E
<b>Aparência</b>							
Aspecto característico	7.9 <sup>a,b</sup>	7.8 <sup>a,b</sup>	8.4 <sup>a</sup>	8.2 <sup>a</sup>	6.5 <sup>b</sup>	3.5 <sup>c</sup>	3.3 <sup>c</sup>
Aspecto uniforme	7.7 <sup>a,b</sup>	7.7 <sup>a,b</sup>	8.4 <sup>a</sup>	7.8 <sup>a</sup>	5.1 <sup>c</sup>	4.7 <sup>c,b</sup>	3.8 <sup>d</sup>
Cor característica	8.1 <sup>a</sup>	7.8 <sup>a,b</sup>	8.4 <sup>a</sup>	8.1 <sup>a</sup>	6.4 <sup>b</sup>	6.4 <sup>b</sup>	3.4 <sup>c</sup>
<b>Aroma</b>							
Aroma característico	7.5 <sup>a,b</sup>	7.4 <sup>a,b</sup>	8.5 <sup>a</sup>	7.8 <sup>a,b</sup>	5.0 <sup>c</sup>	3.8 <sup>d,e</sup>	2.6 <sup>e</sup>
<b>Textura</b>							
Suculência	6.1 <sup>a</sup>	6.9 <sup>a</sup>	7.3 <sup>a</sup>	7.3 <sup>a</sup>	5.8 <sup>a,b</sup>	4.1 <sup>b,c</sup>	3.7 <sup>c</sup>
Presença de fibras	7.0 <sup>a,b</sup>	5.6 <sup>a,b,c</sup>	7.8 <sup>a</sup>	6.1 <sup>a,b,c</sup>	3.6 <sup>c</sup>	4.2 <sup>c,d</sup>	4.9 <sup>c,d</sup>
Firmeza	6.4 <sup>a,b</sup>	4.7 <sup>c,d</sup>	7.8 <sup>a</sup>	5.9 <sup>b,c,d</sup>	4.5 <sup>c</sup>	5.4 <sup>b,c,d</sup>	5.3 <sup>b,c,d</sup>
<b>Sabor</b>							
Sabor característico	7.8 <sup>a,b</sup>	7.3 <sup>a,b,c</sup>	8.5 <sup>a</sup>	6.8 <sup>a,b,c</sup>	4.1 <sup>d</sup>	3.3 <sup>e</sup>	2.6 <sup>e</sup>
Gosto salgado	4.3 <sup>b</sup>	4.5 <sup>b</sup>	4.9 <sup>b</sup>	6.7 <sup>a</sup>	7.3 <sup>a</sup>	3.8 <sup>b</sup>	4.0 <sup>b</sup>

\* Letras iguais em uma mesma linha não diferem entre si significativamente ( $p > 0.05$ ) pelo teste de Tukey.

Apesar dessa diminuição na firmeza nas amostras pressurizadas em comparação com as amostras controle, a sua firmeza era semelhante a algumas marcas comerciais, o que indica que o processo de alta pressão produziu um produto adequado para o consumo. Para os atributos de aparência (aspecto característico, aspecto uniforme e cor característica) e aroma (aroma característico) e textura (suculência), a amostra comercial A seguida pela comercial B,

controle e pressurizada, respectivamente, apresentaram as maiores médias pela equipe de provadores e não diferiram significativamente ( $p>0,05$ ) entre si para tais atributos (Tab. 2). As amostras comerciais D e E alcançaram as menores pontuações para tais atributos. Estudos prévios têm demonstrado que este processo não causou mudanças significativas nos principais atributos sensoriais relacionados ao presunto, com exceção de firmeza e gosto salgado (incluir referências).

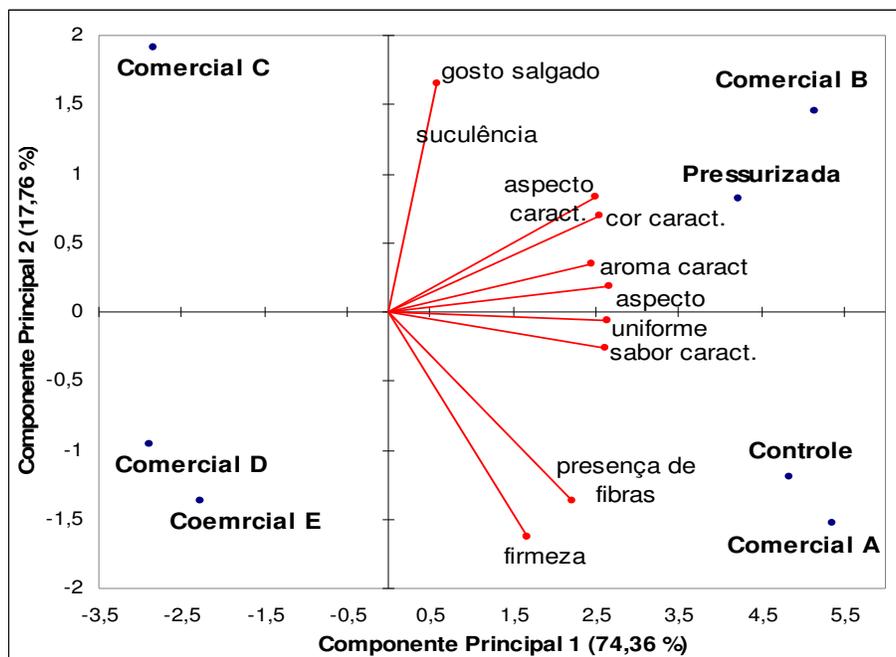
Para o atributo sabor característico, a amostra comercial A seguida pela amostra controle e pressurizada, receberam as maiores médias enquanto que as amostras comerciais D e E receberam as menores pontuações. Para os atributos de textura (presença de fibra e firmeza), a amostra comercial A seguida pela amostra controle não diferiram significativamente ( $p>0,05$ ) e obtiveram as maiores pontuações.

Para o atributo gosto salgado, as amostras comerciais B e C não diferiram entre si e receberam as maiores pontuações. As demais amostras, inclusive a pressurizada, não diferiram entre si e receberam as menores médias. Estes resultados diferem dos apresentados por Serra, Sarraga, Grebol, Guardia, Guerrero, Gou, Masoliver, Gassiot, Monfort e Arnau (2007b) que reportaram que os provadores detectaram diferença significativa para o atributo gosto salgado entre as amostras pressurizadas e não pressurizadas. Segundo estes autores, tal resultado pode ser devido à desnaturação das proteínas pela alta pressão, contribuindo para o aumento da percepção do gosto salgado pelos provadores.

A Análise dos Componentes Principais (ACP) tem sido uma ferramenta muito utilizada e útil para auxiliar a interpretação dos resultados da ADQ, de acordo com Borgognone, Bussi e Hough (2001). A Figura 1 mostra a posição das sete amostras de presunto e a distribuição dos atributos sensoriais, no espaço definido pela primeira e segunda dimensão.

Com relação ao componente principal 1, as amostras controle e pressurizada e as comerciais A e B ficaram correlacionadas na parte positiva desta dimensão. Enquanto que as amostras comerciais C, D e E, ficaram negativamente correlacionadas com esta dimensão. As amostras comerciais D e E foram separadas do restante das amostras sobre essa dimensão, com baixa pontuação sendo que a amostra comercial A teve a maior pontuação positiva. Todos os atributos estudados ficaram correlacionados fortemente na parte positiva do componente principal um. No componente principal dois as amostras controle e as comerciais A, D e E, e os atributos de textura (presença de fibras e firmeza), sabor (sabor característico) e de aparência (aspecto uniforme) foram negativamente correlacionadas com essa dimensão. Em contraste, a amostra pressurizada e as comerciais B e C foram positivamente

correlacionadas com essa dimensão. Segundo Greenhoff e MacFie (1994), ao se analisar uma figura de ACP, atributos que são muito próximos indicam correlações positivas entre eles, enquanto aqueles em direções opostas indicam correlações negativas.



**Figura 1** - Análise dos Componentes Principais (ACP) das amostras de presunto controle, pressurizado e comerciais A, B, C, D e E.

Desta maneira, na Figura 1, verifica-se que os atributos de aparência (aspecto e cor característica e aspecto uniforme), aroma (aroma característico), sabor (sabor característico) e textura (suculência), apresentaram correlações positivas entre eles por seus vetores encontrarem-se próximos. O mesmo é verificado para os atributos de textura (presença de fibras e firmeza).

Apichartsrangkoon et al. (1998) relataram que o processo de alta pressão ocasionou mudanças na aparência de produtos cárneos submetidos a este processo, melhorando o brilho e a aparência dos mesmos. No entanto, estas constatações não foram verificadas na presente pesquisa. Serra et al. (2007b) verificaram que a alta pressão não causou efeito significativo no aroma do produto nas pressões aplicadas (400 MPa/10 min e 600 MPa/10 min) e constataram que o tratamento a altas pressões ocasionou mudanças sensoriais significativas na textura, as quais foram detectadas pelos consumidores, especialmente nas pressões de 600 MPa. Segundo alguns autores (Ramirez-Suarez e Morrissey, 2006; Angsupanich, Edde e Ledward, 1999; Apichartsrangkoon et al., 1998; Funtenberger, Dumay e Cheftel, 1997; Gilleland, Lanier e Hamann, 1997; Okamoto, Kawamura e Hayashi, 1990), as alterações na textura de

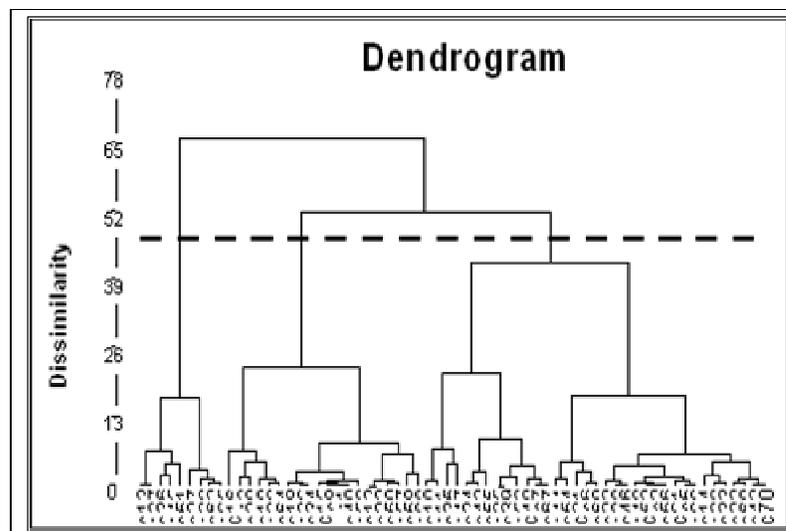
produtos cárneos são devido ao aumento da elasticidade que, conseqüentemente, resulta na diminuição da resistência da estrutura do produto. Tal processo contribui para o desdobramento das proteínas majoritárias do produto cárneo, ocasionando sua agregação com formação de géis, e conseqüente efeito na textura do produto, facilmente percebida pelo consumidor. Yamamoto, Yoshida, Morita e Yassui (1994) relataram que as mudanças na textura de produtos cárneos foram atribuídas à desnaturação e agregação das moléculas de miosina, processo iniciado a pressões acima de 100 MPa. Stephan, Slongo, Deliza e Rosenthal (2006) em pesquisa realizada para verificação do efeito da alta pressão nas proteínas de presunto suíno, utilizando a técnica de eletroforese SDS-PAGE, verificaram que pressões até 200 MPa/15 min, não ocasionam mudanças nas proteínas do produto, porém acima de 300 MPa/15min, mudanças puderem ser verificadas na eletroforese SED-PAGE.

Os resultados apresentados indicaram que as amostras foram bem caracterizadas em termos das propriedades sensoriais, demonstrando que o painel de provadores treinados conseguiu discriminar diferenças entre as amostras estudadas, confirmando a ADQ como ferramenta adequada para descrever e quantificar atributos sensoriais de presunto. Esta análise demonstrou que as amostras controle e pressurizada diferenciaram-se entre si somente em relação ao atributo firmeza, e nenhuma diferença significativa foi encontrada nos demais atributos sensoriais, revelando que a APH não alterou significativamente os atributos sensoriais do produto em estudo.

### **3.2. Resultados de preferência do consumidor**

A média dos resultados da preferência para as sete amostras de presunto avaliadas pelos consumidores (n=70) encontra-se na Tabela 3. Considerando a média dos participantes não houve diferença ( $p>0.05$ ) quanto à preferência entre as amostras controle, pressurizada, comercial A e B. Os consumidores preferiram as amostras comerciais A e B, controle e pressurizada e desgostaram da amostra comercial D e E.

Posteriormente, foi utilizado a “Cluster Analysis”, método estatístico multivariado para a classificação de consumidores em grupos baseado na similaridade de respostas, e três grupos foram identificados, os quais compreenderam 9, 20 e 35 consumidores, respectivamente. A partir desta análise, seis pessoas foram excluídas do painel sensorial inicial (n= 70), conforme sua pontuação, não se enquadrando no modelo. A Figura 2 apresenta os consumidores no dendrograma mostrando os três segmentos de consumidores identificados após a análise.



**Figura 2** - Dendrograma dos consumidores (n=64).

Esta análise mostrou a heterogeneidade na preferência dentre os participantes, e a média destes segmentos é apresentada na Tabela 3. A partir da identificação dos três segmentos de consumidor, a ferramenta Mapa Interno da Preferência (MIP) foi utilizada na análise dos dados. Tal ferramenta permite representar graficamente a preferência individual de cada consumidor, em relação às amostras estudadas, gerando um espaço multidimensional, representado por dimensões de preferência que explicaram a variação total das respostas sensoriais. A Figura 3 mostra os resultados do MIP.

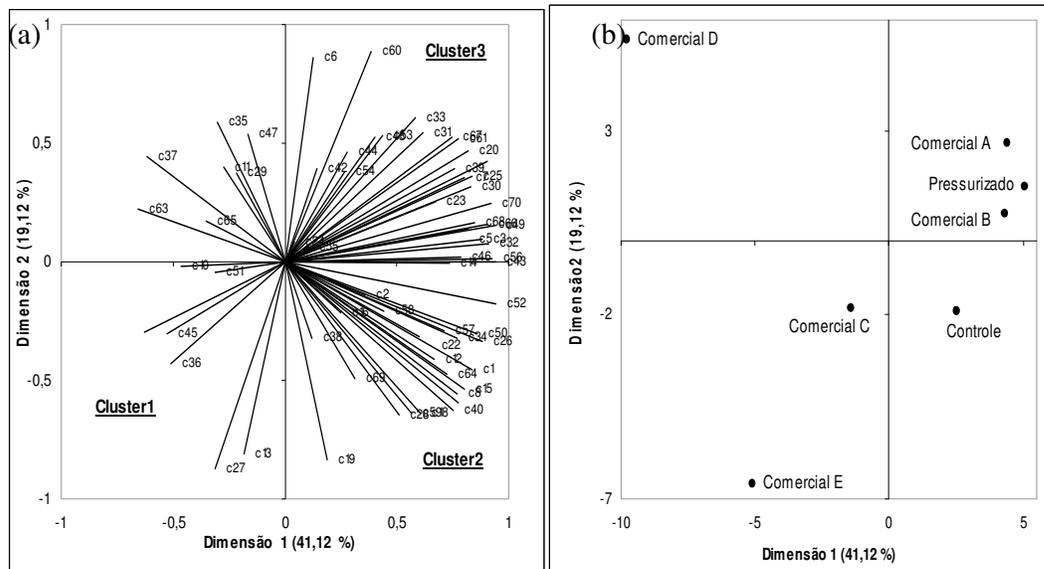
**Tabela 3** - Médias\* da preferência\*\* das amostras de presunto e para os diferentes segmentos de consumidores.

Amostas	Total (n = 70)	Segmento 1 (n=9)	Segmento 2 (n=20)	Segmento 3 (n=35)
Controle	6.5 <sup>a,b</sup>	5.3 <sup>a,b</sup>	7.2 <sup>a</sup>	6.4 <sup>a,b</sup>
Pressurizada	6.7 <sup>a,b</sup>	4.9 <sup>b</sup>	7.5 <sup>a</sup>	7.3 <sup>a</sup>
Comercial A	7.1 <sup>a</sup>	6.7 <sup>a,b</sup>	6.4 <sup>a</sup>	7.4 <sup>a</sup>
Comercial B	7.0 <sup>a</sup>	6.0 <sup>a,b</sup>	6.5 <sup>a</sup>	7.0 <sup>a</sup>
Comercial C	5.6 <sup>b,c</sup>	6.6 <sup>a,b</sup>	6.0 <sup>a</sup>	5.2 <sup>b,c</sup>
Comercial D	5.3 <sup>c,d</sup>	7.6 <sup>a</sup>	5.1 <sup>b</sup>	3.7 <sup>d</sup>
Comercial E	4.4 <sup>d</sup>	7.3 <sup>a</sup>	5.5 <sup>b</sup>	3.0 <sup>c,d</sup>

\* Letras iguais na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p > 0.05$ ).

\*\* Avaliada em escala hedônica estruturada, sendo 1 = desgostei extremamente até 9 = gostei extremamente.

As dimensões 1 e 2 do Mapa Interno da Preferência explicaram 60.24% do total da variação (dimensão 1 – 41.12 %; dimensão 2 – 19.12 %). A Figura 3(a) mostra a posição dos consumidores e Fig. 3(b) das amostras nas dimensões 1 e 2.



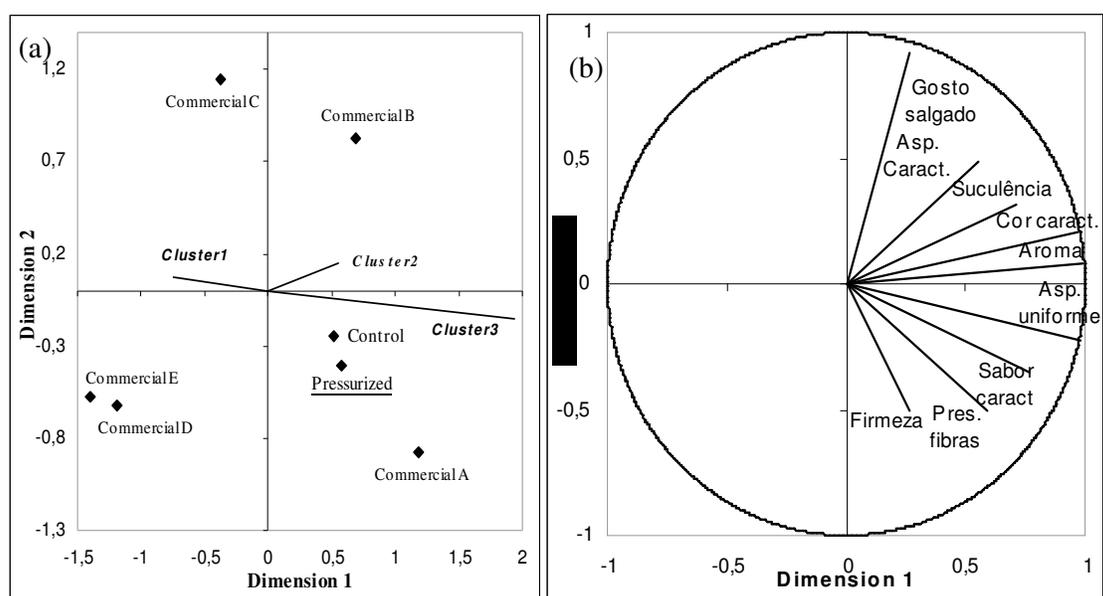
**Figura 3** - Mapa Interno da Preferência mostrando (a) a posição dos consumidores e (b) a posição das amostras no espaço definido pela primeira e segunda dimensão.

As amostras comerciais D e E foram as menos preferidas. O segmento 1, gerado pelo “Cluster Analysis”, apresentou o menor número de consumidores (12.85%), sendo localizado no quadrante inferior esquerdo da Figura 3(a). A amostra comercial C, D e E foram as preferidas por estes consumidores. A amostra pressurizada teve a menor preferência para este segmento. O segmento 2, localizado na parte inferior direita da Figura 3(a), revelou a amostra D com menor preferência e a amostra pressurizada com a maior. Este segmento foi constituído por 28.6% dos consumidores. O segmento 3 foi composto por 50% dos consumidores, estando localizados no quadrante superior direito da Figura 3(a). Verificou-se que a amostra controle e pressurizada e as comerciais A e B foram as preferidas pelos consumidores e a comercial E com a menor preferência.

No presente estudo, pode-se verificar que um largo número de consumidores não gostaram das amostras D e E, enquanto que as amostras controle e pressurizada foram bem aceitas por um número bem expressivo de consumidores. Estes resultados são de extrema importância, pois o novo produto em estudo (presunto pressurizado), mesmo não estando disponível comercialmente, teve uma boa preferência por estes.

Com estes resultados, para identificar quais atributos dirigiram a preferência dos consumidores, foi utilizado o Mapa Externo de Preferência (MEP). Através dos resultados das médias dos atributos avaliados na ADQ e do teste de preferência para cada segmento de consumidor de presunto, foi possível utilizar tal técnica, a qual, como já mencionado, auxilia a interpretação dos resultados da preferência dos consumidores.

A Figura 4(a) mostra a representação gráfica das dimensões 1 e 2 do Mapa Externo da Preferência para os três segmentos de consumidor e amostras estudadas. Fig. 4(b) apresenta os atributos sensoriais. Os segmentos 2 (20 consumidores) e 3 (35 consumidores), que compreenderam a maioria dos participantes do estudo, foram caracterizados por preferirem as amostras controle e pressurizada, bem como as comerciais A e B. Como já discutido anteriormente, pode-se observar que os atributos sensoriais das referidas amostras foram bastante semelhantes, valendo ressaltar que as marcas de presunto comerciais (A e B) são as líderes de mercado. Os consumidores do segmento 1 (9 indivíduos) preferiram as amostras comerciais C, D e E, cujos atributos sensoriais foram negativamente correlacionados com os atributos das demais amostras (controle, pressurizada, comercial A e B).



**Figura 4** - Representação gráfica das dimensões 1 e 2 do Mapa Externo da Preferência: (a) segmento de consumidores e amostras; (b) atributos sensoriais.

Os resultados apresentados indicaram que o presunto pressurizado - o novo produto em estudo - assim como a amostra controle e as comerciais A e B foram as preferidas para os dois maiores segmentos de consumidor identificados. Com os resultados alcançados, pode-se concluir que o presunto pressurizado foi bem aceito pelos participantes em relação aos atributos sensoriais, quando todos os consumidores foram considerados. Considerando-se os segmentos de consumidores identificados, ficou evidente a importância das ferramentas estatísticas utilizadas (“Cluster Analysis” e Mapa da Preferência Interno e Externo) na interpretação dos resultados, possibilitando investigar o papel das características individuais dos consumidores na preferência dos produtos.

Vários trabalhos podem ser encontrados na literatura utilizando o Mapa da Preferência em estudos com produtos cárneos como presuntos e salsichas. No entanto, pesquisas que tenham utilizado presuntos submetidos à APH não foram identificados (Serra et al., 2007; Geel, Kinnear e Kock, 2005; Berna, Lammertyn, Buysens, Natale e Nicolai, 2005; Jaeger, Rossiter, Wismer e Harker, 2003). Nute, Jones, Dransfield e Whelehan (1987) realizaram estudo de preferência com uma grande variedade de presuntos. Estes autores verificaram que a aparência e a textura foram os atributos sensoriais mais importantes para os consumidores nos testes de preferência realizados. Eadie et al. (1990) e Siret e Issanchou (1995) relataram resultados semelhantes, porém, observaram que o sabor também teve importante papel na preferência do consumidor para esta categoria de produto. Os autores verificaram que os presuntos preferidos foram aqueles de textura mais fibrosa, com sabor característico de presunto mais intenso e com nenhum aroma estranho.

Uma das grandes vantagens na utilização do MIP é a possibilidade de descrever cada segmento de consumidores de acordo com características sócio demográficas, e/ou hábitos de consumo, possibilitando que a indústria direcione estratégias de marketing levando em conta as características dos consumidores alvo de seus produtos.

A Tabela 4 apresenta as características sócio demográficas dos distintos segmentos de consumidores de presunto.

**Tabela 4** - Características demográficas do segmento de consumidores.

	Segmento 1 (n=9)	Segmento 2 (n=20)	Segmento 3 (n=35)
<b>Sexo</b>			
1 – Masculino	56	35	43
2 – Feminino	44	65	57
<b>Idade</b>			
< 18 anos	0.0	5.0	2.85
19-30 anos	33.3	35.0	41.7
31-40 anos	22.2	25.0	27.1
41-50 anos	22.2	35.0	22.6
> 50 anos	22.2	0.0	5.71
<b>Nível de instrução</b>			
1 - Fund. Completo	41.1	10.0	2.8
2 - Méd. Incompleto	0.0	0.0	5.71
3 - Méd. Completo	0.0	10.0	17.1
4 - Univ. Incompleto	22.2	10.0	10.1
5 - Univ. Completo	23.3	35.0	12.1
6 - Pós-graduação	13.3	35.0	52.1
<b>Renda</b>			
1 - 1-5 s.m.*	44.4	35.0	23.5
2 - 5-10 s.m. *	23.3	20.0	31.4
3 - 10-20 s.m.*	21.1	25.0	30.1
4 - 20-30 s.m.*	11.1	15.0	10.1
5 - > 30 s.m.*	0.0	0.0	5.71

- salário mínimo = R\$ 380,00, em março de 2006.

Ao analisarmos estatisticamente os resultados obtidos, verificamos o segmento 1 diferiu estatisticamente dos segmentos 2 e 3 em relação ao nível de instrução. Este segmento também apresentou renda familiar inferior ao segmento 3 ( $p < 0.05$ ). Vale ressaltar que os consumidores do segmento 1 preferiram as amostras de presunto comerciais D e E e atribuíram a menor média quanto à preferência para a amostra pressurizada. O segmento 3 apresentou resultados opostos, com a maior preferência para a amostra pressurizada e a controle. Tais resultados nos permitem sugerir que o grau de instrução e a renda familiar dos consumidores contribuíram para o direcionamento da preferência das amostras de presunto. Os resultados da análise estatística encontram-se na Tabela 5.

Verificou-se que a maioria dos participantes do segmento 2 foi composta por mulheres (65%) enquanto que, nos demais segmentos, houve um certo equilíbrio entre homens e mulheres. Com relação à idade, para o segmento 1, 2 e 3 cerca de 33,3; 35 e 41,7%, respectivamente, encontraram-se na faixa de 19-30 anos.

Considerando-se o nível de escolaridade, observou-se que entre os consumidores do segmento 1, 41,1% possuíam nível fundamental incompleto e 13% possuíam pós-graduação. Já no segmento 2, 70% dos consumidores possuíam nível universitário completo ou com pós-

graduação. No segmento 3, 52.1% dos consumidores possuíam pós-graduação e apenas 2.8% possuíam nível fundamental incompleto.

Resultados semelhantes foram observados em relação à renda dos segmentos, isto é, consumidores do segmento 1 possuíam, assim como um nível de escolaridade baixo, baixa renda, com 44,4% dos consumidores, entre 1-5 salários mínimos (s.m). No segmento 2, 35% apresentaram renda entre 1-5 s.m. Já para o segmento 3, que apresentou nível de escolaridade mais elevado em relação aos demais segmentos, a renda deste segmento também foi superior, onde 61.4% dos consumidores apresentaram renda entre 5-20 s.m., e 5.71% renda superior a 30 s.m.

Se forem comparados os resultados demográficos dos diferentes segmentos de consumidores obtidos através do “Cluster Analysis”, com o resultado do teste de preferência, obtido pelo Mapa Interno da Preferência, pode-se verificar que o presunto pressurizado foi o menos preferido no segmento 1 (menor nível de escolaridade e a menor renda entre os consumidores participantes), e o mais preferido dentre os indivíduos do segmento 3 (maior nível de escolaridade e a maior renda entre os consumidores participantes), juntamente com as amostras de presunto líderes do mercado consumidor e a amostra controle. Diferenças individuais dos participantes, reveladas nos distintos perfis demográficos, foram úteis na interpretação dos resultados da preferência.

**Tabela 5** - Médias\* dos dados demográficos dos segmentos de consumidores.

<b>Dados demográficos</b>	<b>Segmento 1 (n=9)</b>	<b>Segmento 2 (n=20)</b>	<b>Segmento 3 (n=35)</b>
<b>Idade</b>	39.11 <sup>a</sup>	36.26 <sup>a</sup>	32.20 <sup>a</sup>
<b>Nível de instrução</b>	2.00 <sup>a</sup>	4.68 <sup>b</sup>	4.91 <sup>b</sup>
<b>Renda</b>	1.88 <sup>a</sup>	2.21 <sup>a</sup>	2.91 <sup>b</sup>

\* Letras iguais na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p < 0.05).

## **Conclusão**

Os resultados da ADQ permitiram observar que o processo de APH (400MPa/15min), causou alteração significativa no presunto pressurizado apenas em relação ao atributo firmeza. A utilização da metodologia do mapeamento de preferência, nos sugerir essa nova tecnologia como uma promissora alternativa para o aumento da vida de prateleira de presunto processado, principalmente para os consumidores com renda per capita mais elevada. O novo produto em estudo alcançou satisfatória preferência no teste de preferência para a maioria dos consumidores. Desta maneira, pode-se concluir que o processo de APH a 400 MPa/15 afetou pouco os atributos sensoriais e o presunto pressurizado nestas condições, teve suas

características sensoriais pouco afetadas. Verificou-se que as características sócio demográficas dos participantes também contribuíram para o direcionamento da preferência para o presunto pressurizado e as marcas líderes do mercado.

### **Agradecimentos**

Os autores agradecem o suporte financeiro da FAPERJ (Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro).

### **Referências Bibliográficas**

- APICHARTSRANGKOON, A. 2003. Effects of high pressure on rheological properties of soy proteins gels. *Food Chemistry*, 80: 55-60.
- APICHARTSRANGKOON, A. 2002. Dynamic viscoelastic properties of heated gluten/soy protein gels. *Journal of Food Science*, 67(2), 653-57.
- APICHARTSRANGKOON, A., LEAWARD, D.A. (2002). Dynamic viscoelastic behaviour of high pressure treated gluten-soy mixtures. *Food Chemistry*, 77, 317-323.
- APICHARTSRANGKOON, A., BELL, A.E., LEAWARD, D.A., SCHOFIELD, J.D. Dynamic viscoelastic behavior of high pressure treated wheat gluten. *Cereal Chemistry*, v.76(5), p.777-782, 1999.
- ANGSUPANICH, K., EDDE, M., LEAWARD, D.A. (1999). Effects of high pressure on the myofibrillar proteins of cod and turkey muscle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 92-99.
- APICHARTSRANGKOON, A., LEAWARD, D.A., BELL, A.E., BRENNAN, J.G. (1998). Physicochemical properties of high pressure treated wheat gluten. *Food Chemistry*, 63, 215-220.
- BERNA, A.Z., LAMMERTYN, J., BUYSSENS, S., NATALE, C., NICOLAI, B.M. (2005). Mapping consumer liking of tomatoes with fast aroma profiling techniques. *Postharvest Biology and Technology*, 38, 115-127.
- BORGOGNONE, M.G., BUSSI, J., HOUGH, G. (2001). Principal component analysis in sensory analysis: covariance or correlation matrix? *Food Quality and Preference*, 12(1), 323-326.
- BUTZ, P., TAUSCHER, B. (2002). Emerging Technologies: chemical aspects. *Food Research International*, 35, 279-284.
- CARLEZ, A., VECIANA-NOGUES, T., CHEFTEL, J.C. (1995). Changes in colour and myoglobin of minced beef meat due to high pressure processing. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 28(5), 528-538.

- CARROLL, J.D. Individual differences and multidimensional scaling. In R.N. Shepard, A.K. Romney, & S.B. Nerlove (Eds), *Multidimensional scaling: theory and application in the behavioral sciences* (pp. 105-155). New York: Seminar Press.
- CARPI, G., SQUARCINA, N., GOLA, S., ROVERE, P., PEDRIELLI, R., BERGAMASCHI, M. (1999). Application of high pressure treatment to extend the refrigerated shelf-life of sliced cooked ham. *Industria Conserve*, 74, 327-339.
- CHAMBERS, E., BOWERS, J.R. (1993). Consumer perception of sensory qualities in muscle foods. *Food Technology*, 47, 116-120.
- CHEFTEL, P.B., LEDWARD, D.A. (1996). High pressure effects on lipid oxidation in minced pork. *Meat Science*, 43(2), 123-134.
- CHRISTIANSEN, K.F.; KREKLING, T.; KOHLER, A.; VEGARUD, G.; LANGSRUD, T., LANDSDAL, B. (2006). Microstructure and sensory properties of high pressure processed dressings stabilized by different whey proteins. *Food Hydrocolloids*, 20, 650-662.
- COSTELL, E., VICENTA-PASTOR, M., IZQUIERDO, L., DURAN, L. (2000). Relationships between acceptability and Sensory Attributes of peach nectars using internal preferente mapping. *European Food Research an Technology*, 211(3), 199-204.
- DELIZA, R., ROSENTHAL, A., ABADIO, F.B.D., SILVA, C.H. O., CASTILLO, C. (2005). Application of high pressure technology in the fruit juice processing: benefits perceived by consumers. *Journal of Food Engineering*, 67, 241-246.
- FUNTENBERGER, S., DUMAY, E., CHEFTEL, J.C. (1997). High pressure promotes  $\beta$ -lactoglobulin aggregation through SH/S-S interchange reactions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 912-921.
- GILLELAND, G.M., LANIER, T.C., HAMANN, D.D. (1997). Covalent bonding in pressure-induced fish protein gels. *Journal of Food Science*, 62(4), 713-716,733.
- GEEL, L., KINNEAR, M., KOCK, H.L. (2005). Relating consumer preferences to sensory attributes of instant coffee. *Food Quality and Preference*, 16, 237-244.
- GREENHOFF, K., MACFIE, H.J.H. Preference mapping in practice. In H.J.H. MacFie, & D.M.H. Thpmson (Eds). *Measurement of food preferences* (pp.137-166). Glasgow: Blackie Academic & Professional.
- HDR. **HUMAN DESENVOLVIMENT REPORT**. Disponível em <http://hrd.undp.org>. Acesso em 22 out. 2005.
- HUGAS, M, GARRIGA, M., MONFORT, J.M. (2002). New mild technologies in meat processing: high pressue as a model technology. *Meat Science*, 62 , 359-371.
- JAEGER, S.R., ROSSITER, K.L., WISMER, W.V., HARKER, F.R. (2003). *Food Quality and Preference*, 14, 187-198.

- JAEGER, S.R., ANDANI, Z., WAKELING, I.N., MACFIE, H.J.H. (1998). Consumer preference for fresh and aged apples: a cross-cultural comparison. *Food Quality and Preference*, 9(5), 355-366.
- LABOISSIÈRE, L.H.E.S., DELIZA, R., BARROS-MARCELLINI, A.M., ROSENTHAL, A., CAMARGO, L.M.A.Q., JUNQUEIRA, R.G. Effects of high hydrostatic pressure (HHP) on sensory characteristics of yellow passion fruit juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, in press.
- LÓPEZ-CABALLERO, M.E., CARBALLO, J., JIMÉNEZ-COLMENERO, F. (1999). Microbial inactivation in meta products by pressure/temperatura processing. *Journal of Food Protection*, 62, 1411-1415.
- MACFIE, H.J.H., HEDDERLEY, D. (1993). Current practice in relating sensory perception to instrumental measurements. *Food Quality and Preference*, 4(1/2), 41-49.
- MACFIE, H.J.H., BRATCHELL, N., GREENHOFF, K., VALLIS, L.V. (1989). Designs to balance the effects of order of presentation and first order carry-over effects in hall tests. *Journal of Sensory Studies*, 4(2), 41-49.
- MCEWAN, J.A., EARTHY, P.J., DUCHER, C. (1998). Preference mapping: a review. Review N°. 06. Gloucestershire, UK: Campden & Chorleywood Food Research Association.
- MURRAY, J.M., DELAHUNTY, C.M., BAXTER, I.A. (2001). Descriptive sensory analysis: past, present and future. *Food Research International*, 34(1), 461-471.
- NUTE, G.R., JONES, R.C.D., DRANSFIELD, E., WHELEHAN, O.P. (1987). Sensory characteristics of ham and their relationships with composition, visco-elasticity and strength. *International Journal of Food Science and Technology*, 22, 461-476.
- OKAMOTO, M., KAWAMURA, Y., HAYASCHI, R. (1990). Application of high pressure to food processing: Textural comparison of pressure and heat induced gels of food proteins. *Agricultural and Biological Chemistry*, 54(1), 83-189.
- O'REILLY, C.E., KELLY, A.L., MURPHY, P.M., BERESFORD, T.P. (2001). High pressure treatment: Applications in cheese manufacture and ripening. *Trends in Food Science and Technology*, 12, 51-59.
- PAGLIARINI, E., MONTELEONE, E., RATTI, S. (2001). Sensory profile of eight tomato cultivars (*Lycopersicon esculentum*) and its relationship to consumer preference. *Italian Journal Food Science*, 13(3), 285-295.
- ROSENTHAL, A., SILVA, J.L. (1997). Alimentos sob pressão. *Engenharia de Alimentos*, 14, 37-39.
- RUIZ-CAPILLAS, C., CARBALLO, J., COLMENERO, F.J. (2007). Biogenic amines in pressurized vacuum-packaged cooked sliced ham under different chilled storage conditions. *Meat Science*, 75, 397-405.

- SANGRONIS, E., POTHAKAMURY, U., RAMOS, A.M., IBARZ, A., BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. (1997). La alta presión hidrostática: una alternativa en el procesamiento no térmico de alimentos. *Alimentaria*, 33, 33-43.
- SERRA, X., GREBOL, N., GUÀRDIA, M.D., GUERRERO, L., GOU, L., MASOLIVER, P., GASSIOT, M., SÁRRAGA, C., MONFORT, J.M., ARNAU, J. (2007a). High pressure applied to frozen ham at different process stages. 2. Effect on the sensory attributes and on the colour characteristics of dry-cured ham. *Meat Science*, 75, 21-28.
- SERRA, X., SÁRRAGA, C., GRÈBOL, N., GUÀRDIA, M.D., GUERRERO, L., GOU, P., MASOLIVER, P., GASSIOT, M., MONFORT J.M., ARNAU, J. (2007b). High pressure applied to frozen ham at different process stages. 1. Effect on the final physicochemical parameters and on the antioxidant and proteolytic enzyme activities of dry-cured ham. *Meat Science*, 75(1), 12-20.
- SIRET, F., ISSANCHOU, S. (2000). Traditional process: influence on sensory properties and on consumers' expectation and liking Application to 'pâté de campagne'. *Archives de Pédiatrie*, 7(4), 391-395.
- STEPHAN, M. P., SLONGO, A.P., DELIZA, R., ROSENTHAL, A. (2006). Adaptação de método de extração e caracterização das proteínas extraídas de presunto submetido à alta pressão. *Comunicado Técnico da Embrapa-CTAA*, 96, 1-3.
- STONE. H., SIDEL, J. (2004). Sensory Evaluation Practices, Academic Press: New York.
- STONE. H., SIDEL, J. (1998). Quantitative descriptive analysis: developments, applications and the future. *Food Technology*, 52(8), 48-52.
- STONE. H., SIDEL, J., OILVER, S., WOOLSEY, R.C. (1974). Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis. *Food Technology*, 28(1), 24-34.
- SUPAVITITPATANA, T., APICHARTSRANGKOON, A. (2007). Combination effects of ultra-high pressure and temperature on the physical and thermal properties of ostrich meat sausage. *Meat Science*, 76, 555-560.
- SUZUKI, A., HOMMA, N., FUKUDA, A., HIRAO, K., URYU, T., IKEUCHI, Y. (1994). Effects of high pressure treatment on the flavor-related components in meat. *Meat Science*, 37(3), 369-379.
- UENO, Y., IKEUCHI, Y., SUZUKI, A. (1999). Effects of high pressure treatments on intramuscular connective tissue. *Meat Science*, 52, 143-150.
- YAMAMOTO, K., YOSHIDA, Y., MORITA, J., YASSUI, T. (1994). Morphological and physicochemical changes in the myosin molecules induced by hydrostatic pressure. *Journal of Biochemistry*, 116, 215-220.
- ZOOK, K., WESSMAN, C. (1977). The selection and use of judges for descriptive panels. *Food Technology*, 31(1), 56-61.

#### ***4.6 - Preferência e intenção de compra de presunto pressurizado***

##### ***Apresentação:***

Presunto suíno cozido, fatiado, embalado a vácuo foi submetido ao processo de alta pressão hidrostática, utilizando-se a pressão de 400 MPa por 15 minutos para verificar a preferência e intenção de compra do consumidor em relação ao presunto pressurizado e o produzido comercial. Para os testes foram utilizadas cinco amostras de presunto comerciais e duas amostras de presunto processado sendo que uma dessas foi submetida ao processo de alta pressão hidrostática posteriormente a etapa de fatiamento e selamento a vácuo. Todas as amostras foram apresentadas em fatias, codificadas com números de três algarismos e servidas a temperatura ambiente. As amostras foram avaliadas quanto à preferência por 70 consumidores, utilizando escala hedônica não estruturada de nove pontos. A intenção de compra foi investigada empregando escala não estruturada de sete pontos. Os dados foram analisados usando ANOVA, Teste de médias de Tukey, Mapa Interno de Preferência (MIP) e “Cluster Analysis”. Os resultados de intenção de compra foram submetidos ao Teste de médias de Tukey. As amostras comerciais A e B, seguida pela amostras controle e pressurizada não diferiram entre si nas análises de preferência e intenção de compra, e ainda obtiveram a maior pontuação nestes testes.

## *Preferência e intenção de compra de presunto pressurizado*

Adriana P. SLONGO, Rosires DELIZA<sup>2</sup>, Amauri ROSENTHAL<sup>2</sup>, Simone P. MATHIAS<sup>3</sup>, Gláucia M. F. ARAGÃO<sup>1</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Eng. Química e Eng. de Alimentos, UFSC, CEP 88040-900, Florianópolis, SC.

<sup>b</sup>Embrapa Agroindústria de Alimentos, Av. das Américas, 29501, CEP 23.020-470, Rio de Janeiro - RJ

<sup>c</sup>Departamento de Tecnologia de Alimentos, UFRRJ CEP 23890-000, Seropédica – RJ

### **1 - INTRODUÇÃO**

A alta pressão hidrostática (APH) é uma tecnologia nova que vem sendo aplicada em muitos alimentos para o prolongamento da vida de prateleira e para diminuição dos efeitos causados pelo tratamento térmico, já que é uma tecnologia que não utiliza calor e mantém as qualidades nutritivas e sensoriais do produto. O uso desta tecnologia no processamento de alimentos representa uma grande vantagem na indústria, pois além das vantagens já mencionadas, ela também não agride o meio ambiente, podendo então ser considerada uma tecnologia limpa, de baixo impacto ambiental ou uma tecnologia não convencional.

Atualmente pesquisas vêm sendo realizadas para avaliar a eficiência da APH em carnes e produtos cárneos. Segundo Rovere (2001) produtos como presuntos são recomendados para serem processados por essa tecnologia porque o processo não afeta a cor devido à grande estabilidade do nitrosohemocromo formado a partir da adição de nitrito e posterior aquecimento. Desta forma, esta tecnologia prolonga a vida de prateleira destes produtos e favorece a manutenção das características sensoriais, principalmente as relacionadas ao aroma e sabor. Diversas indústrias da Europa, EUA e Japão estão utilizando a APH para o processamento de produtos como sucos, geléias, ostras, presunto, entre outros com o intuito de disponibilizar ao consumidor produtos com características semelhantes ao produto fresco e também prolongar a vida de prateleira. No entanto o uso de altas pressões pode causar mudanças na estrutura dos produtos, afetando as características de textura (Angsupanich e Ledward, 2002; Angsupanich, Edde e Ledward, 1999; Bouton e Harris, 1972; Bouton et al., 1999), além de ter efeito na oxidação lipídica (Cheach e Ledward, 1996).

A avaliação das características sensoriais dos produtos submetidos à APH tem papel relevante nas pesquisas envolvendo tal tecnologia, entretanto, investigar a preferência do consumidor em relação ao produto pressurizado vem sendo cada vez mais reconhecido pelos processadores de alimentos como altamente importante e recomendável. Portanto, a preferência destes produtos pelo consumidor é o que certamente vai determinar o sucesso ou

fracasso comercial desta nova tecnologia (Cardello, Schutz e Lesher, 2007). Dentre os métodos afetivos existentes para avaliar a preferência de determinado produto está o Teste de Preferência, o qual utiliza o consumidor como instrumento de medida e, fornece informação sobre o grau com que as pessoas gastaram ou não do produto (Stone e Sidel, 2004). Porém, quando os dados de preferência são analisados por técnicas estatísticas univariadas, assume-se que o critério de aceitabilidade dos consumidores seja homogêneo, o que implica que os valores desta forma obtidos podem não refletir a *performance* real do produto. Por esta razão a variabilidade individual dos participantes deve também ser considerada na análise dos dados. O Mapa da Preferência e a *Cluster Analysis* são ferramentas que podem ser utilizadas para tal propósito (Greenhoff e MacFie, 1994; Jaeger et al., 1998; Schlich, 1995; Berna et al., 2005). Nesse caso, os critérios avaliados são identificados como dimensões que ocupam posições ortogonais em uma representação gráfica. Assim, permitem que as amostras sejam representadas como pontos e os consumidores como vetores no espaço definido pela preferência. Aliada à análise de variância e testes de médias, as ferramentas citadas contribuem para uma melhor interpretação dos resultados, pois permitem segmentar consumidores favorecendo o desenvolvimento de produtos voltados para o público alvo. O objetivo deste estudo foi avaliar a preferência do consumidor para presunto submetido ao processo de alta pressão hidrostática, comparando-o com amostras comerciais e controle (não pressurizada).

## **2 - MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 - Amostras**

Cinco amostras comerciais de presunto disponíveis no mercado foram avaliadas juntamente com a amostra controle (presunto processado na Embrapa Agroindústria de Alimentos) e a pressurizada (amostra controle mais aplicação de alta pressão hidrostática). Os presuntos comerciais foram comprados em peças inteiras em supermercados da cidade do Rio de Janeiro, com datas de fabricação próximas. As amostras (comerciais e experimentais) foram fatiadas (fatiador de frios CFI-300, Skymen, Brusque, Brazil) no interior de uma câmara de fluxo, e colocadas em sacos estéreis selados a vácuo e identificados.

### **2.2 - Tratamento a alta pressão hidrostática**

A etapa de aplicação de alta pressão foi realizada posteriormente à etapa de fatiamento e de selamento a vácuo. O equipamento utilizado foi da marca Stanted Fluid Power, modelo S-FL-850-9-W (Stansted, Inglaterra), com capacidade de operação na faixa de pressão de 100

a 600 MPa, em intervalo de temperatura de 0 a 80°C. O fluido pressurizador deste equipamento foi o álcool 70%. A pressão e o tempo de pressurização aplicados nas amostras para o presente estudo foram de 400MPa por 15 minutos, à temperatura ambiente.

### **2.3 - Avaliação da preferência e intenção de compra**

As amostras foram avaliadas quanto à preferência por 70 consumidores, os quais foram recrutados baseados no critério de gostar de presunto. As amostras foram apresentadas de forma monádica, em pratos plásticos descartáveis, codificados com números de três algarismos e servidos à temperatura ambiente nas cabines individuais do Laboratório de Análise Sensorial e Instrumental da Embrapa Agroindústria de Alimentos, RJ. A ordem de apresentação das amostras foi balanceada (MacFIE et al., 1989). Foi utilizada a escala hedônica de nove pontos, variando de 1: desgostei extremamente a 9: gostei extremamente. A intenção de compra foi investigada empregando escala não estruturada de sete pontos, onde 1: certamente não compraria e 7: certamente compraria. Água e biscoito água foram oferecidos aos participantes para limpeza do palato entre uma amostra e outra. Os dados foram analisados por ANOVA, Mapa da Preferência e *Cluster Analysis* usando o software XLSTAT-MX (2007).

## **3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Dentre os 70 consumidores que participaram do estudo, 30 foram homens e 40 mulheres, com idade variando de 19 a 59 anos de idade (média de 33 anos). As médias alcançadas para as sete amostras de presunto, encontram-se na Tabela 1, juntamente com a porcentagem de notas superiores e inferiores a 5 (não gostei nem desgostei).

Os resultados da Tabela 1 demonstraram que as marcas comerciais A, B e a amostras controle e pressurizada foram as preferidas dos consumidores, e não diferiram estatisticamente entre si ( $p > 0,05$ ). Os presuntos comerciais E e Comercial D foram os menos preferidos pelos participantes deste estudo, sendo que esta última foi similar à comercial C em termos de preferência. Os resultados do teste de preferência obtidos através da Análise de Variância não forneceram a percepção individual dos consumidores, pois os resultados foram apresentados como médias, não refletindo a real *performance* de cada amostra em termos da preferência (Greenhoff e MacFie, 1994).

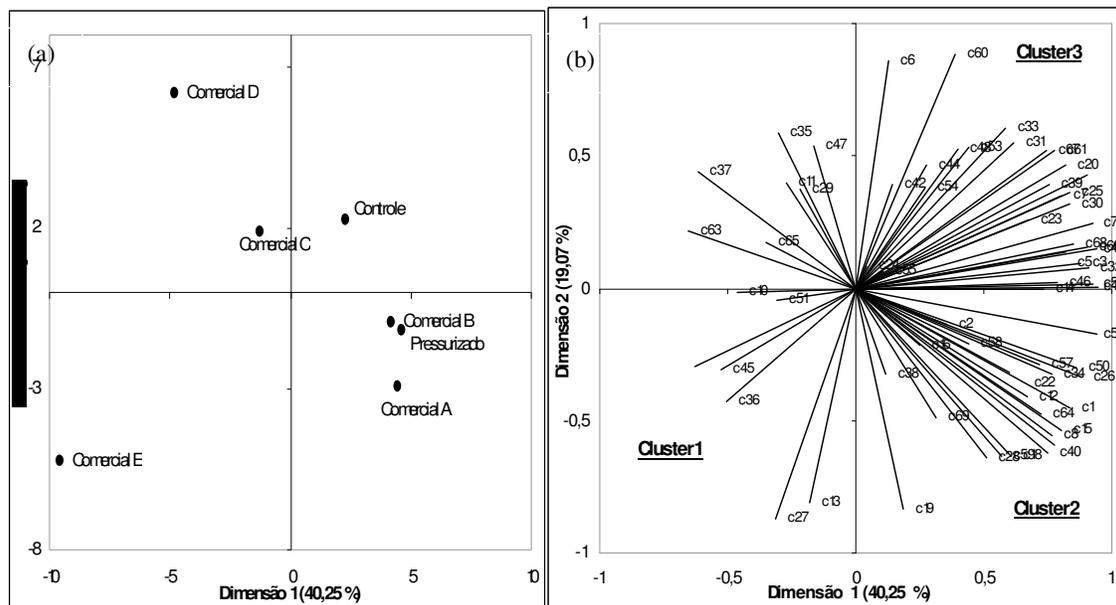
**Tabela 1** – Médias\* da preferência\*\* atribuídas às amostras de presunto.

Amostra	Preferência	% de reprovação	
		Notas < 5	Notas > 5
Controle	6,5 <sup>a,b</sup>	25,8	74,2
Pressurizada	6,7 <sup>a,b</sup>	22,9	77,1
Comercial A	7,1 <sup>a</sup>	28,6	71,4
Comercial B	7,0 <sup>a</sup>	14,3	85,7
Comercial C	5,6 <sup>b,c</sup>	40,0	60,0
Comercial D	5,3 <sup>c,d</sup>	45,7	54,3
Comercial E	4,4 <sup>d</sup>	60,0	40,0

\* Letras iguais na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).

\*\* Avaliada em escala hedônica não estruturada, sendo 1 = desgostei extremamente até 9 = gostei extremamente.

A análise dos dados pelo Mapa da Preferência gerou um espaço multidimensional (onde as variações com relação aos dados de preferência foram extraídas em eixos ortogonais e para cada dimensão de preferência), de coordenadas relativas aos produtos, que foram por sua vez geradas em função da resposta de cada consumidor. Observa-se que a primeira e a segunda dimensão explicaram 59,3 % da variação dos dados. A Figuras 1(a) apresentam as duas primeiras dimensões do Mapa da Preferência com a posição das sete amostras de presunto avaliadas neste estudo. A primeira dimensão separou as amostras comerciais A, B, controle e pressurizada das demais. A segunda dimensão separou as amostras comerciais C, D e E das outras amostras avaliadas.



**Figura 1** – (a) Representação gráfica das dimensões 1 e 2 do mapa interno da preferência mostrando a posição das amostras de presunto controle, pressurizado e diferentes marcas comerciais (A, B, C, D e E); (b) *Cluster analysis* para os três segmentos de consumidores formados.

“Cluster Analysis” é um método estatístico multivariado para a classificação de objetos em grupos. Utilizando tal ferramenta nos dados deste estudo, três segmentos de consumidores foram identificados, baseado na similaridade de resposta quanto à preferência, os quais compreenderam 9, 20 e 35 indivíduos, respectivamente. Os resultados obtidos pelo “Cluster Analysis” para os centróides de cada um dos segmentos formados foram inseridos nos dados da preferência e re-analisados, obtendo-se, assim, o vetor dos segmentos nas mesmas dimensões dos vetores de cada um dos participantes do estudo. Esta técnica permitiu melhor visualização da preferência e vem sendo recomendada nas análises usando o Mapa da Preferência (MacFie e Hasten, 2007). A Figura 1(b) mostra a posição dos consumidores, bem como dos três segmentos identificados a partir da “Cluster Analysis” .

Observa-se que o maior número de indivíduos encontra-se nos quadrantes da direita do “Cluster Analysis” revelando que para tais consumidores as amostras comerciais A, B, pressurizada e controle foram as preferidas, confirmando os resultados apresentados pela ANOVA. Observa-se que as demais amostras avaliadas foram apreciadas por um segmento menor de consumidores.

Segundo Greenhoff e MacFie (1994) apenas os consumidores significativamente ajustados ( $p < 0,05$ ) ao modelo, isto é, os consumidores capazes de discriminar sensorialmente as amostras e que não conferiram notas de preferência ao acaso, deveriam ser considerados na análise dos dados utilizando o MIP. Entretanto, MacFie (2005), recentemente reportou que essas exclusões não devem ser feitas, pois todos os consumidores, mesmo os que não são capazes de diferenciar, ou que gostaram ou desgostaram igualmente em todas as amostras, devem ser levados em consideração, pois estes também fazem parte do “real” mercado consumidor.

A partir da identificação dos três segmentos de consumidores, foi possível obter as médias das amostras para cada um dos referidos segmentos, as quais são mostradas na Tabela 2. A maioria dos consumidores ( $n = 70$ ) preferiram as comerciais A e B, seguida pelo controle e pressurizada, não diferindo estatisticamente entre si. O segmento 1 apresentou o menor número de consumidores (12,85%), sendo localizado no quadrante inferior esquerdo da Figura 1(b).

**Tabela 2** – Médias\* de preferência\*\* das amostras de presunto para diferentes segmentos de consumidores.

Amostras	Total (n = 70)	Segmento 1 (n=9)	Segmento 2 (n=20)	Segmento 3 (n=35)
Controle	6,46 <sup>a,b</sup>	5,3 <sup>a,b</sup>	7,2 <sup>a</sup>	6,4 <sup>a,b</sup>
Pressurizada	6,72 <sup>a,b</sup>	4,9 <sup>b</sup>	7,5 <sup>a</sup>	7,3 <sup>a</sup>
Comercial A	7,05 <sup>a</sup>	6,7 <sup>a,b</sup>	6,4 <sup>a</sup>	7,4 <sup>a</sup>
Comercial B	6,83 <sup>a,b</sup>	6,0 <sup>a,b</sup>	7,5 <sup>a</sup>	7,0 <sup>a</sup>
Comercial C	5,53 <sup>b,c</sup>	6,6 <sup>a,b</sup>	6,0 <sup>a</sup>	5,2 <sup>b,c</sup>
Comercial D	4,42 <sup>c</sup>	7,6 <sup>a</sup>	7,1 <sup>a</sup>	3,7 <sup>d</sup>
Comercial E	5,31 <sup>c</sup>	6,3 <sup>a,b</sup>	3,0 <sup>b</sup>	3,0 <sup>b</sup>

\* Letras iguais na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).

\*\* Avaliada em escala hedônica estruturada, sendo 1 = desgostei extremamente até 9 = gostei extremamente.

Através de análise de dados utilizando ANOVA verificou-se que para o segmento 1 (n=9) as amostras controle e as comerciais A, B, C, D e E foram as preferidas pelos consumidores. A amostra pressurizada foi a menos preferida pelos consumidores. O segmento 2 localizado na parte inferior direita da Figura 1(b), revelou que somente a amostra E apresentou diferença significativa em relação as demais amostras, sendo a amostra menos preferida pelos consumidores. Este segmento foi constituído por 28,6% dos participantes deste estudo. O segmento 3 foi composto por 50 % dos consumidores, estando localizados no quadrante superior direito da Figura 1(b). Verificou-se que as amostras controle e pressurizada, assim como as comerciais A e B foram às preferidas pelos consumidores deste segmento.

Vários trabalhos podem ser encontrados na literatura utilizando a ferramenta MIP, a qual foi aplicada a diversos produtos cárneos como presuntos e salsichas. No entanto, pesquisas que tenham utilizado presunto tratado por APH não foram identificados. NUTE et al. (1987) realizaram estudo de preferência com uma grande variedade de presuntos. Estes autores verificaram que a aparência e a textura foram os atributos sensoriais que mais fizeram distinção entre os presuntos nos testes de preferência realizados. Eadie et al. (1990) em pesquisa realizada com diferentes amostras de presunto, verificaram que o sabor, aparência e textura foram os atributos mais importantes para discriminar a preferência do consumidor em relação a tal produto. Os autores verificaram que os presuntos preferidos foram aqueles de textura mais fibrosa, com sabor de presunto e com nenhum aroma estranho. Siret e Issanchou (1995) também em pesquisa realizada para verificar diferenças entre marcas de presuntos relataram que a aparência, textura e sabor foram importantes na avaliação dos 102 consumidores que tomaram parte no estudo.

A Tabela 3 apresenta as médias da intenção de compra para os três segmentos de consumidores formados a partir dos segmentos baseados na preferência.

**Tabela 3** – Médias\* de intenção de compra\*\* atribuídas às amostras de presunto considerando os segmentos de consumidores.

<b>Amostras</b>	<b>Total (n=70)</b>	<b>Segmento 1 (n=9)</b>	<b>Segmento 2 (n=20)</b>	<b>Segmento 3 (n=35)</b>
Controle	5,21 <sup>a,b</sup>	4,11 <sup>a</sup>	6,00 <sup>a</sup>	5,14 <sup>a,b</sup>
Pressurizada	5,63 <sup>a,b</sup>	4,22 <sup>a</sup>	5,65 <sup>a</sup>	5,64 <sup>a,b</sup>
Comercial A	6,72 <sup>a</sup>	5,77 <sup>a</sup>	5,05 <sup>a</sup>	6,28 <sup>a</sup>
Comercial B	5,87 <sup>a</sup>	5,11 <sup>a</sup>	5,95 <sup>a</sup>	5,65 <sup>a,b</sup>
Comercial C	4,42 <sup>b,c</sup>	4,33 <sup>a</sup>	5,05 <sup>a</sup>	4,44 <sup>b,c</sup>
Comercial D	3,28 <sup>d</sup>	3,77 <sup>a</sup>	2,31 <sup>b</sup>	3,74 <sup>c,d</sup>
Comercial E	4,01 <sup>c,d</sup>	5,44 <sup>a</sup>	5,31 <sup>a</sup>	3,00 <sup>d</sup>

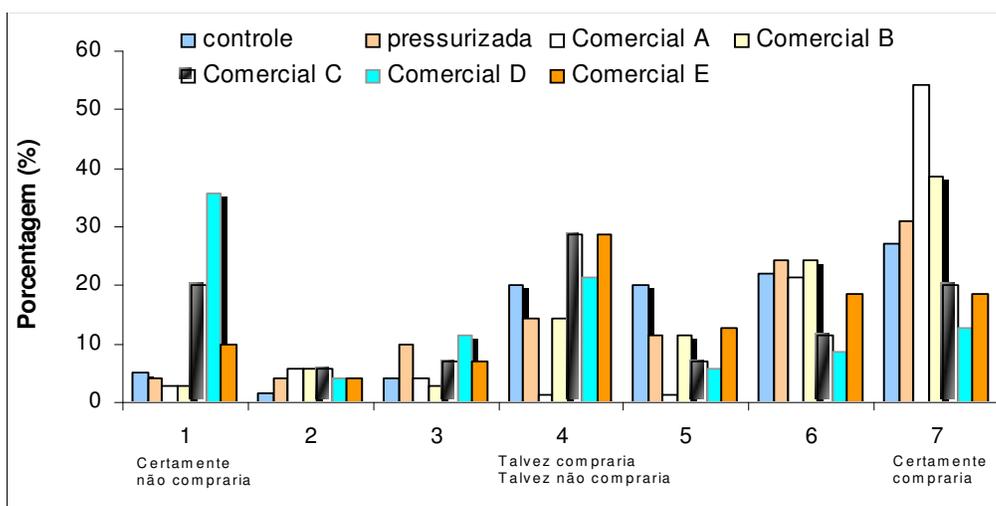
\* Médias com letras iguais na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).

\*\* 1 = certamente não compraria até 7 = certamente compraria

Considerando a média da intenção de compra para cada uma das sete amostras e os 70 consumidores, verifica-se que as amostras comerciais A e B, seguida pela amostra pressurizada e controle, respectivamente, alcançaram as maiores médias para tal fator.

Porém, observando os resultados após segmentação, verifica-se que no segmento 1 não houve diferença na intenção de compra entre as amostras. Para o segmento 2, somente a amostra comercial D diferiu significativamente entre as amostras. O segmento 3, não apresentou diferença significativa entre as amostras controle, pressurizada e as comerciais A e B. As amostras comerciais C, D e E, diferiram significativamente das amostras controle, pressurizada e comercial A.

A Figura 2 mostra o histograma de distribuição de porcentagem da intenção de compra dos consumidores para as diferentes amostras de presunto. Observa-se na Figura 2 que as amostras comerciais A e B, pressurizada e controle, alcançaram as maiores porcentagens de notas altas para a intenção de compra, enquanto as amostras comerciais D e E receberam as maiores porcentagens de notas baixas, demonstrando que os participantes estavam desfavoráveis à intenção de compra (certamente não compraria).



**Figura 3** – Histograma de distribuição de porcentagem da intenção de compra das amostras de presunto controle, pressurizado e as diferentes amostras comerciais (A, B, C, D e E).

Os resultados sugerem possível correlação entre a preferência e a intenção de compra. Segundo Moskomitz (1995), a intenção de compra estima comportamento futuro e quando ambas são realizadas juntas, o teste de preferência e de intenção de compra, é possível avaliar melhor a qualidade do produto percebida pelo consumidor. Os resultados destas duas análises confirmaram a preferência dos consumidores pelas marcas comerciais A e B e as amostras controle e pressurizada. O uso do Mapa da Preferência e da segmentação dos consumidores em relação à preferência e intenção de compra das amostras permitiu identificar oportunidades de mercado para o presunto pressurizado. Estratégias de marketing podem ser desenvolvidas visando alcançar os indivíduos que gostaram e demonstraram positiva intenção de compra, consolidando o presunto pressurizado como alternativa promissora de processamento.

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstram que as amostras de presunto pressurizado e controle assim como as amostras comerciais A e B foram melhores avaliadas quanto à preferência e intenção de compra pelos consumidores deste estudo, quando comparadas às demais amostras de presunto comerciais analisadas (C, D e E). Tais resultados sugerem que o processo de APH não causou alterações sensoriais significativas no produto, e, se algumas modificações ocorreram, as mesmas não foram percebidas pelos participantes deste estudo, pois não refletiram na avaliação da preferência.

## Referências Bibliográficas

- ARDITTI, S. Preference mapping: a case study. **Food Quality and Preference**, 8(5), 323-326, 1997.
- ANGSUPANICH, K., EDDE, M., LEDWARD, D.A. Effects of high pressure on the myofibrillar proteins of cod and turkey muscle. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 47, 92-99, 1999.
- APICHTSRANGKOON, A. Dynamic viscoelastic properties of heated gluten/soy protein gels. **Journal of Food Science**, 67 (2), 653-657, 2002.
- BERNA, A.Z., LAMMERTYN, J., BUYSENS, S., di NATALE, C., NICOLAI, B.M. Mapping consumer liking of tomatoes with fast aroma profiling techniques. **Postharvest Biology and Technology**, 38, 115-127, 2005.
- BOUTON, P.E., HARRIS, P.V. The effects of cooking temperature and time on some mechanical properties of meat. **Journal of Food Science**, 37, 140-143, 1972.
- BOUTON, P.E., FORD, A.E., HARRIS, P.V., MACFARLANE, J.J., O'SHEA, J.M. Pressure-heat treatment of post-rigor muscle: Objective-subjective measurements. **Journal of Food Science**, 42, 857-859, 1977.
- CARDELLO, A.V., SCHUTZ, H, & LESHER, L.L. Consumer perceptions of foods processed by innovative and emerging technologies: a conjoint analytic study. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 8, p. 73-83, 2007.
- CARLEZ, A., VECIANA-NOGUES, T., CHEFTEL, J.C. Changes in colour and myoglobin of minced beef meat due to high pressure processing. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, 28(5), 528-538, 1995.
- CHEFTEL, P.B., LEDWARD, D.A. High pressure effects on lipid oxidation in minced pork. **Meat Science**, 43(2), 123-134, 1996.
- DALLIANT-SPINLER, B., MACFIE, H.J.H., BEYTS, P.K., HEDDERLEY, D. Relationships between perceived sensory properties and major preference directions of 12 varieties of apples from the southern hemisphere. **Food Quality and Preference**, 7(2), 113-126, 1996.
- GREENHOFF, K., MACFIE, H.J.H. Preference mapping in practice. In H.J.H. MacFie, & D.M.H. Thompson (Eds). *Measurement of food preferences* (pp.137-166). Glasgow: Blackie Academic & Professional, 1994.
- HOUGH, G., SANCHEZ, R. Descriptives analysis and external preference mapping of powdered chocolate milk. **Food Quality and Preference**, 9(4), 197-204, 1998.
- JAEGER, S.R., ANDANI, Z., WAKELING, I.N., MACFIE, H.J.H. Consumer preference for fresh and aged apples: a cross-cultural comparison. **Food Quality and Preference**, 9(5), 355-366, 1998.

MacFIE, H.J. H. Apostila de Curso – **Produto, Mercado e Inovação: Métodos Estatísticos Utilizados em Estudos de Consumidor**, Miramar Palace-Hotel, Rio de Janeiro, Brasil, 2005, 291p.

MacFIE, H.J.H. Hands on Sensory Statistics. **Lecture Notes**. Euler Training Center, Minneapolis, USA. 2007.

MacFIE, H.J.H., BRATCHELL, N., GREENHOFF, K., VALLIS, L.V. Designs to balance the effects of order of presentation and first order carry-over effects in hall tests. **Journal of Sensory Studies**, 4(2), 41-49, 1989.

McEWAN, J.A., EARTHY, P.J., DUCHER, C. Preference mapping: a review. Review N°. 06. Gloucestershire, UK: Campden & Chorleywood Food Research Association, 1998.

MONTELEONE, E., FREWER, L., WAKELING, I., MELA, D.J. Individual differences in starchy food consumption: the application of preference mapping. **Food Quality and Preference**, 9(4), 211-220, 1998.

MOSKOWITZ, H.R. The dollar value of product quality: the effect of pricing versus overall liking on consumer stated purchase intent for pizza. **Journal of Sensory Studies**, 10 (3), 239-247, 1995.

MURRAY, J.M., DELAHUNTY, C.M., BAXTER, I.A. Descriptive sensory analysis: past, present and future. **Food Research International**, 34(1), 461-471, 2001.

NORONHA, R.L.F.A. A expectativa do consumidor e sua influência na aceitação e percepção sensorial de café solúvel. **Tese de doutorado**. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, SP. 2003.130p.

NUTE, G.R., JONES, R.C.D., DRANSFIELD, E., WHELEHAN, O.P. Sensory characteristics of ham and their relationships with composition, visco-elasticity and strength. **International Journal of Food Science and Technology**, 22, 461-476, 1987.

ROVERE, P. Industrial-scale high pressure processing of foods. In M.E.G. Hendrickx & D. Knorr (Eds.), *Ultra high pressure treatments of foods*. New York: Klumer Academic/Plenum Publishers, 2001, p.251-268.

SCHLICH, P. Preference mapping: relating consumer preferences to sensory or instrumental measurements. In *Bioflavour 95. Analysis/precursor studies/biotechnology*, eds. P. Etiévant and P. Schreier. INRA Editions, Versailles, 1995, p.135-150.

SIRET, F., ISSANCHOU, S. Traditional process: influence on sensory properties and on consumers' expectation and liking Application to 'pâté de campagne'. **Food Quality and Preference**, 11(3), 217-228, 2000.

STONE, H., SIDEL, J. Sensory evaluation practices. Academic Press: New York. 3 ed. 1993, 338p.

SUZUKI, A., HOMMA, N., FUKUDA, A., HIRAO, K., URYU, T. IKEUCHI, Y. Effects of high pressure treatment on the flavor-related components in meat. **Meat Science**, 37(3), 369-379, 1994.

UENO, Y., IKEUCHI, Y., SUZUKI, A. Effects of high pressure treatments on intramuscular connective tissue. **Meat Science**, 52, 143-150, 1999.

***CAPÍTULO V –  
CONCLUSÃO***

## CAPÍTULO V – CONCLUSÃO

- ▶ Observou-se que o Modelo de Gompertz Modificado descreveu bem o crescimento de BAL em presunto controle e pressurizado. A análise dos resultados permitiu concluir que o processo de APH é um eficiente método para prolongamento da vida de prateleira de presunto fatiado embalado a vácuo, pois o mesmo leva a uma diminuição do crescimento de microrganismos deteriorantes neste produto e não provocou mudanças físicas e químicas indesejáveis no produto.
  
- ▶ Pode-se constatar que o controle da temperatura de armazenamento é de extrema importância para o prolongamento da vida de prateleira de presunto fatiado pressurizado embalado a vácuo. Praticamente todos os parâmetros primários de crescimento ( $\lambda, \mu$  e A) e o tempo para atingir o final da vida de prateleira (VDP) foram afetados pela variação da temperatura de armazenamento do produto. Observou-se que os modelos preditivos secundários descreveram bem esta variação dos parâmetros com a temperatura.
  
- ▶ Através das análises químicas, pode-se constatar que a alta pressão é capaz de alterar a estrutura das proteínas como visto através da análise de eletroforese SDS-PAGE. Este processo também alterou de maneira pouco expressiva os demais parâmetros físico-químicos analisados, como a  $a_w$ , o pH, a composição centesimal, o índice de peróxido e a produção de ácido tiobarbitúrico do presunto, o que consiste em um ponto importante, pois indica que o produto pressurizado mantém as mesmas qualidades do produto original.
  
- ▶ A pesquisa sensorial também foi de extrema importância, pois possibilitou verificar se os consumidores iriam aceitar ou rejeitar o novo produto em estudo (teste de preferência) e se verificariam se este processo afeta os atributos sensoriais (teste de análise descritiva quantitativa). Pode-se constatar que este novo produto teve boa preferência comercial e somente o atributo de firmeza diferiu estatisticamente dos demais atributos sensoriais.

▶ Nos estudos realizados pode-se observar que a APH trouxe grandes vantagens relacionadas ao aumento da vida de prateleira, não comprometendo a qualidade do produto, o que pode tornar vantajosa sua implantação e comercialização futura, como já vem sendo feito no exterior.

▶ Apesar de o investimento inicial ser muito alto, o tratamento com alta pressão consome menos energia que outros tratamentos térmicos, altera pouco as propriedades sensoriais, assim como as propriedades físicas e químicas e dá ao produto processado uma vida de prateleira praticamente duplicada, o que minimiza as perdas econômicas.

***CAPÍTULO VI –***  
***REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

## CAPÍTULO VI – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANSTINE, T.T. High pressure processing for safe. Quality Foods. **Cereal Food World**, 48(1), 5-8, 2003.
- ANDRÉS, A.I., ADAMSEN, C.E., MOLLER, J.H.S., RUIZ, J., SKIBSTED, L.H. High pressure treatment of dry-cured Iberian ham. Effect on colour and oxidative stability during chill storage packed in modified atmosphere. **European Food research and Technology**, 222, 486-491, 2006.
- ANESE, M., NICOLI, M.C., DALL'AGLO, G., LERICI, C.R. Effect of high pressure treatments on peroxidase and polyphenoloxidase activities. **Journal of Food Biochemistry**, 18, 285-293, 1995.
- ANGSUPANICH, K., EDDE, M., LEDWARD, D.A. Effects of high pressure on the myofibrillar proteins of cod and turkey muscle. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 47, 92-99, 1999.
- APICHARTSRANGKOON, A., LEAWARD, D.A., BELL, A.E., BRENNAN, J.G. Physicochemical properties of high pressure treated wheat gluten. **Food Chemistry**, 63, 215-220, 1998.
- APICHARTSRANGKOON, A., BELL, A.E., LEAWARD, D.A., SCHOFIELD, J.D. Dynamic viscoelastic behavior of high pressure treated wheat gluten. **Cereal Chemistry**, 76(5), 777-782, 1999.
- APICHARTSRANGKOON, A. Dynamic viscoelastic properties of heated gluten/soy protein gels. **Journal of Food Science**, 67 (2), 653-657, 2002.
- APICHARTSRANGKOON, A., LEAWARD, D.A. Dynamic viscoelastic behaviour of high pressure treated gluten-soy mixtures. **Food Chemistry**, 77, 317-323, 2002.
- APICHARTSRANGKOON, A. Effects of high pressure on rheological properties of soy proteins gels. **Food Chemistry**, 80, 55-60, 2003.
- ARDITTI, S. Preference mapping: a case study. **Food Quality and Preference**, 8(5), 323-326, 1997.
- ARIMA, H.K.; NETO, M.P. Curso sobre qualidade e processamento de presunto cozido e apresentado. **Curso para produtos cárneos**. Instituto de Tecnologia de Alimentos - ITAL, 121p. 1995.
- BARANYI, J., ROBERTS, T. A. A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. **International Journal of Food Microbiology**, 23, 277-294, 1994.
- BARANYI, J., ROBINSON, T.T., KALOTI, A., MACKAY, B.M. Predicting growth of *Brochothrix thermosphacta* at changing temperatures. **International Journal of Food Microbiology**, 27, 61-75, 1995.

- BARBOSA-CÁNOVAS, G.V., RODRÍGUEZ, J.J. Update on nonthermal food processing technologies, irradiation and ultrasound. **Food Australia**, Australia, 54 (11), 2002.
- BATY, F., DELIGNETTE-MULLER, M.L. Estimating the bacterial lag time: wich model, which precision. **International Journal of Food Microbiology**, 91, 261-277, 2004.
- BERNA, A.Z., LAMMERTYN, J., BUYSSENS, S., di NATALE, C., NICOLAI, B.M. Mapping consumer liking of tomatoes with fast aroma profiling techniques. **Postharvest Biology and Technology**, 38, 115-127, 2005.
- BORCH, E., KANT-MUERMANS, M.L., BLIXT, Y. Bacterial spoilage of meat and cured meat products. **International Journal of Food Microbiology**, 33, 103-120, 1996.
- BORGO, L.A., ARAÚJO, W.M.C. Mecanismos dos processos de oxidação lipídica. **Higiene Alimentar**, 19(130), 50-57, 2005.
- BORGOGNONE, M.G., BUSSI, J., HOUGH, G. Principal component analysis in sensory analysis: covariance or correlation matrix? **Food Quality and Preference**, 12(1), 323-326, 2001.
- BOUTON, P.E., HARRIS, P.V. The effects of cooking temperature and time on some mechanical properties of meat. **Journal of Food Science**, 37, 140-143, 1972.
- BOUTON, P.E., FORD, A.E., HARRIS, P.V., MACFARLANE, J.J., O'SHEA, J.M. Pressure-heat treatment of post-rigor muscle: Objective-subjective measurements. **Journal of Food Science**, 42, 857-859, 1977.
- BREDHOLT, S., NESBAKKEN, T., HOLCK, A. Industrial application of an antilisterial strain of *Lactobacillus sakei* as a protective culture and its effect on the sensory acceptability of cooked, sliced, vacuum-packaged meats. **International Journal of Food Microbiology**, 66, 191-196, 2001.
- BRIDGMAN, P.W. The coagulation of albumen by pressure. **Proceedings of American Academy of Arts and Sciences XLIX**, 627, 1914.
- BUTZ, P., TAUSCHER, B. Emerging Technologies: chemical aspects. **Food Research International**, 35, 279-284, 2002.
- CAMARGO, L.M.A.Q. **Efeito da alta pressão hidrostática sobre o pneumovírus aviário: queda da infectividade e manutenção da imunogenicidade**. UNICAMP, 2002. Tese : Doutorado em Biologia, UNICAMP, 2002.
- CARDELLO, A.V., SCHUTZ, H, LESHER, L.L. Consumer perceptions of foods processed by innovative and emerging technologies: a conjoint analytic study. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, 8, 73-83, 2007.

- CARLEZ, A., ROSEC, J., RICHARD, N., CHEFTEL, J. Bacterial growth during chilled storage of pressure treated minced meat. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, 27, 48-54, 1994.
- CARLEZ, A., VECIANA-NOGUES, T., CHEFTEL, J.C. Changes in colour and myoglobin of minced beef meat due to high pressure processing. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, 28(5), 528-538, 1995.
- CARROLL, J.D. Individual differences and multidimensional scaling. In R.N. Shepard, A.K. Romney, S.B. Nerlove (Eds), *Multidimensional scaling: theory and application in the behavioral sciences* (pp. 105-155). New York: Seminar Press.
- CARPI, G., SQUARCINA, N., GOLA, S., ROVERE, P., PEDRIELLI, R., BERGAMASCHI, M. Application of high pressure treatment to extend the refrigerated shelf-life of sliced cooked ham. **Industria Conserve**, 74, 327-339, 1999.
- CAYRE, M. E. et al. Efeito de la proliferacion de bacterias lácticas sobre la calidad de las salsichas tipo viena. **Actas de la Reunion de Comunicaciones Cientificas y Tecnologicas**, VIII, 139-142, 1999.
- CAYRÉ, M. E., VIGNOLO, G., GARRO, O. Modeling lactic acid bacteria growth in vacuum-packaged cooked meat emulsions stored at three temperatures. **Food Microbiology**, 20, 561-566, 2003.
- CAYRÉ, M.E.; GARRO, O.; VIGNOLO, G. Effect of storage temperature and gas permeability of packaging film on the growth of lactic acid bacteria and *Brochothrix thermosphacta* in cooked meat emulsions. **Food Microbiology**, 22, 505-512, 2005.
- CHAMBERS, E., BOWERS, J.R. Consumer perception of sensory qualities in muscle foods. **Food Technology**, 47, 116-120, 1993.
- CHATTONG, U., APICHARTSRANGKONN, A., BELL, A.E. Effects of hydrocolloid addition and high Pressure processing on the rheological properties and microstructure of a commercial ostrich meat product “Yor” (Thai sausage). **Meat Science**, 76, 548-554, 2007.
- CHEACH, P.B., LEDWARD, D.A. High pressure effects on lipid oxidation in minced pork. **Meat Science**, 43(2), 123-134, 1996.
- CHEFTEL, J.C. Review: high-pressure, microbial inactivation and food preservation. **Food Science and Technology International**, 1, 75-90, 1995.
- CHEFTEL, P.B., LEDWARD, D.A. High pressure effects on lipid oxidation in minced pork. **Meat Science**, 43(2), 123-134, 1996.
- CHEFTEL, J., CURIOLI, J. Effects of high pressure on meat: a review. **Meat Science**, 46(3), 211-236, 1997.

- CHIRIFE, J., BUERA, M.P. Water Activity, Water Glass Dynamics, and the Control of microbiological Growth in Foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 36(5), 465-513, 1996.
- CHOWDHURY, B.R., CHAKRABORTY, R., CHAUDHURI, U.R. Validity of modified Gompertz and Logistic models in predicting cell growth of *Pediococcus acidilactici* H during the production of bacteriocin pediocin AcH. *Journal of Food Engineering*, 80(4), 1171-1175, 2007.
- CHRISTIANSEN, K.F.; KREKLING, T.; KOHLER, A.; VEGARUD, G.; LANGSRUD, T.; EGELANDSDAL, B. Microstructure and sensory properties of high pressure processed dressings stabilized by different whey proteins. **Food Hydrocolloids**, 20, 650-662, 2006.
- CICHOSKI, A.J., TERRA, N.N., FREITAS, R.J.S. Teoria dos obstáculos (Hurdle Technology) em produtos cárneos curados. **Higiene Alimentar**, 18 (116-117), 33-36, 2004.
- COSTELL, E., VICENTA-PASTOR, M., IZQUIERDO, L., DURAN, L. Relationships between acceptability and Sensory Attributes of peach nectars using internal preferente mapping. **European Food Research and Technology**, 211(3), 199-204, 2000.
- DALGAARD, P., KOUTSOUMANIS, K. Comparison of maximum specific growth rates and lag times estimated from absorbance and viable count data by different mathematical models. **Journal of Microbiology Methods**, 43, 183-196, 2001.
- DAILLANT-SPINLER, B., MACFIE, H.J.H., BEYTS, P.K., HEDDERLEY, D. Relationships between perceived sensory properties and major preference directions of 12 varieties of apples from the southern hemisphere. **Food Quality and Preference**, 7(2), 113-126, 1995.
- DAVEY, K. R. Modelling the combined effect of temperature and pH on the rate coefficient for bacterial growth. **International Journal of Food Microbiology**, 23, 295-303, 1994.
- DAVEY, K. R., DAUGHTRY, B. J. Validation of a model for predicting the combined effect of three environmental factors on both exponential and lag phases of bacterial growth: temperature, salt concentration and pH. **Food Research International**, 28, 233-237, 1994.
- DELIZA, R., ROSENTHAL, A., ABADIO, F.B.D., SILVA, C.H. O., CASTILLO, C. Application of high pressure technology in the fruit juice processing: benefits perceived by consumers. **Journal of Food Engineering**, 67, 241-246, 2005.
- DELIZA, R. A embalagem é importante na avaliação do produto pelo consumidor? Ministério da Ciência e Tecnologia C T Jovem Website, Brasília, 2004

DONSÍ, G.; FERRARI, G.; DI MATTEO, M. High Pressure Stabilization of Orange Juice: Evaluation of the effects of process conditions. **Italian Food & Beverage Technology**, VIII: 10-14, 1996.

EGAN, A. F. Lactic acid bacteria of meat and meat products. **Antonie van Leeuwenhoek**, 49, 327-336, 1983.

ERKMEN, O., ALBEN, E. Mathematical modeling of citric acid production and biomass formation by *Aspergillus niger* in undersized semolina. **Journal of Food Engineering**, 52(2), 161-166, 2002.

FARIA, J.A., FELÍCIO, P.E., NEVES, M.A., ROMANO, M.A. Formação e estabilidade da cor de produtos cárneos curados. Revisão. **Revista Tecnologia de Carnes**, 3(2), 16-22, 2001.

FARKAS, D.F., HOOVER, D.G. High pressure processing. **Journal of Food Science**, Chicago, suplement, 47-64, 2000.

FENNEMA, O.R. **Química de los alimentos**. Zaragoza, Espanha: ED. Acribia S.A, 2º edición, 1258p, 1993.

FERNÁNDEZ GARCIA, A., BUTZ, P., TAUSCHER, B. Under Pressure. **Food Manufacture**, 23-24, 1992.

FOGUEL, D. **Efeito da alta pressão hidrostática e baixas temperaturas em organismos e estruturas fotossintéticas**. UFRJ, 1993. Tese: Doutorado em Bioquímica. UFRJ, 1993.

FONBERG-BROCZEK, M., WINDYGA, B., SZCZAWINSKI, J., SZCZAWINSKA, M., PIETRZACK, D., PRESTAMO, G. High pressure processing for food safety. **Acta Biochimica Polonica**, 52, 721-724, 2005.

FRANZ, C. M. A. P., HOLY, A. Bacterial populations associated with pasteurized vacuum-packed Vienn sausages. **Food Microbiology**, 165-174, 1996.

FREWER, L.J., HOWARD, C., SHEPHERD, R. Genetic engineering and food: What determines consumer acceptance? **British Food Journal**, 97(8), 31-36, 1995.

FREWER, L.J., HOWARD, C., SHEPHERD, R. Public concerns about general and specific applications of genetic engineering: risk, benefit and ethics. **Science Technology and Human values**, 22(1), 98-124, 1997.

FREWER, L.J., MOLES, A., SABA, A. Public concerns about general and specific applications of general engineering: a comparative study between the UK and Italy. **Nutrition & Food Science**, 1, 19-29, 1998.

FU, B., LABUZA, T. P. Shelf-life prediction: theory and application. **Food Control**, 4, 125-133, 1993.

FUNTENBERGER, S., DUMAY, E., CHEFTEL, J.C. High pressure promotes  $\beta$ -lactoglobulin aggregation through SH/S-S interchange reactions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 45, 912-921, 1997.

GALLO, L.I., PILOSOF, A.M.R., JAGUS, R.J. Effective control of *Listeria innocua* by combination of nisin, pH and low temperature in liquid cheese whey. **Food Control**, 18 (9), 1086-1092, 2007.

GANDEMER, G. Lipids in muscle and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. **Meat Science**, 62, 309-312, 2002.

GARRIGA, M., GREBOL, M.T., AYMERICH, J.M., MONFORT, J.M., HUGAS, M. Microbial inactivation after high-pressure processing at 600 MPa in commercial meat products over its shelf life. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 5, 451-457, 2004.

GARRIGA, M., AYMERICH, M.T., COSTA, S., MONFORT, J.M., HUGAS, M. Bactericidal synergism through bacteriocins and high pressure in a meat model system during storage. **Food Microbiology**, 19, 509-518, 2002.

GARRIGA, M., GREBOL, N., AYMERICH, M.T., MONFORT, J.M., HUGAS, M. Microbial inactivation after high pressure processing at 600 MPa in commercial meat products over its shelf life. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, 5, 451-457, 2004.

GASPAR, L.P. **Estudo do estado fusogênico, dos mecanismos de inativação e da desmontagem de nucleocapsídeos de vírus envelopados**. UFRJ, 2000. Tese: Doutorado em Ciências Biológicas (Química Biológica), UFRJ, 2000.

GIANNUZZI, L., PINOTTI, A., ZARITZKY, N. Mathematical modelling of microbial growth in packaged refrigerated beef stored at different temperatures. **International Journal of Food Microbiology**, 39, 101-110, 1998.

GIBSON, A.M., BRATCHELL, H., ROBERTS, T.A. The effect of sodium chloride and temperature on rate and extent of growth of *Clostridium botulinum* type A in pasteurized pork slurry. **Applied Bacteriology**, 62, 479-490, 1987.

GIFFEL, M.C., Zwietering, M.H. Validation of predictive models describing the growth of *Listeria monocytogenes*. **International Journal of Food Microbiology**, 46, 135-149, 1999.

GILLELAND, G.M., LANIER, T.C., HAMANN, D.D. Covalent bonding in pressure-induced fish protein gels. **Journal of Food Science**, 62(4), 713-716, 1997.

GIRARD, J.P. *Tecnología de la carne y de los Productos Cárnicos*. Zaragoza: **Editorial Acribia**, 299p., 1991.

GÓMEZ-ESTACA, J., GÓMEZ-GUILLÉN, M.C., MONTERO, P. High pressure effects on the quality and preservation of cold-smoked dolphinfisch (*Coryphaena hippurus*) fillets. **Food Chemistry**, 102, 1250-1259, 2007.

GOU, P., GUERRERO, L., GELABERT, J., ARNAU, J. Potassium chloride, potassium lactate and glycine as sodium chloride substitutes in fermented sausages and in dry-cured pork loin. **Meat Science**, 42(1), 37-48, 1996.

GOUTEFONGEA, R., RAMPON, V., NICOLAS, N., DUMONT, J.P. (1995). Meat color changes under high pressure treatment. **In proceeding 41<sup>st</sup> international congress of meat science and technology** (pp. 384-385). 20-25 August, 1995, San Antonio, Texas, USA.

GRANT, S., PATTERSON, M., LEDWARD, D. Food processing gets freshly squeezed. **Chemistry & Industry**, 24 January, 2000.

GREENHOFF, K., MACFIE, H.J.H. Preference mapping in practice. In H.J.H. MacFie, & D.M.H. Thpmson (Eds). *Measurement of food preferences* (pp.137-166). Glasgow: Blackie Academic & Professional, 1994.

GUINARD, J.X., UOTANI, B., SCHLICH, P. Internal and external mapping of preferences for commercial lager beers: comparison of hedonic ratings by consumers blind versus with knowledge of brand and price. **Food Quality and Preference**, 12, 243-255, 2001.

HASMIN, I.B., RESURRECCION, A.V.A., McWATTERS, K.H. Consumer attitudes toward irradiated poultry. **Food Technology**, 50(3), 77-80, 1996.

HEREMANS, K., SMELLER, L. Review: Protein structure and dynamic at high pressure. **Biochimica et Biophysica Acta**, 1386, 353-370, 1997.

HITE, B.H., GILDDINGS, N.J., WEAKLEY, Jr., C.E. The effect of pressure on certain microorganisms encountered in the preservation of fruits and vegetables. **West VirginiaUniversity Agricultural Experiment Station Bulletins**, 146, 3-67, 1914.

HDR. **HUMAN DESENVOLVIMENT REPORT**. Disponível em <http://hrd.undp.org>. Acesso em 22 out. 2005.

HELGESEN, H., SOLHEIM, R., NAES, T. Consumer preference mapping of dry fermented lamb sausages. **Food Quality and Preference**, 8(2), 97-109, 1997.

HOBAN, T.J. How japanese consumers view biotechnology. **Food Technology**, 50(7), 85-88, 1996.

HOOVER, D.G. Pressure effects on biological systems. **Food Technology**, 47, 150-155, 1993.

- HOOVER, D.G., METRICK, C., PAPINEAU, A.M., FARKAS, D.F., KNORR, D. Biological effects of high hydrostatic pressure on food microorganisms. **Food Technology**, 43, 99-107, 1989.
- HOUGH, G., SANCHEZ, R. Descriptives analysis and external preference mapping of powdered chocolate milk. **Food Quality and Preference**, 9(4), 197-204, 1998.
- HUGAS, M. Bacteriocinogenic lactic acid bacteria for the biopreservation of meat and meat products. **Meat Science**, 49, S139-S150, 1998.
- HUGAS, M., GARRIGA, M., MONFORT, J.M. New mild technologies in meat processing: High pressure as a novel technology. **Meat Science**, 62, 359-371, 2002.
- HUGAS, M., GARRIGA, M., MONFORT, J.M. New mild technologies in meat processing: high pressure as a model technology. **Meat Science**, 62, 359-371, 2002.
- JAEGER, S.R., ANDANI, Z., WAKELING, I.N., MACFIE, H.J.H. Consumer preference for fresh and aged apples: a cross-cultural comparison. **Food Quality and Preference**, 9(5), 355-366, 1998.
- JIMÉNEZ-COLMENERO, F., COFRADES, S., CARBALLO, J., FERNÁNDEZ, P., FERNÁNDEZ-MARTIN, F. Heating of chicken and pork meat batters under pressure conditions: protein interactions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 46(11), 4706-4711, 1998.
- JOFRÉ, A., GARRIGA, M., AYREMICH, T. Inhibition of *Salmonella* sp. *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in cooked ham by combining antimicrobials, high hydrostatic pressure and refrigeration. **Meat Science**, 78(1-2), 53-59, 2008.
- JOFRÉ, A., VERGÈS, M.C., ANGLADE, P., BARAIGE, F., MARTÍN, B., GARRIGA, M., ZAGOREC, M., AYMERICH, T. Protein synthesis in lactic acid and pathogenic bacteria during recovery from a high pressure treatment. **Research in Microbiology**, 158, 512-520, 2007.
- JONES, R. J. Observations on the succession dynamics of lactic acid bacteria populations in chilled-stored vacuum-packaged beef. **International Journal of Food Microbiology**, 90, 273-282, 2004.
- JUNG, S., GHOULD, M., de LAMBALLERIE-ANTON, M. Influence of high pressure on the color and microbial quality of beef meat. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, 36, 625-631, 2003.
- KAJAK, K., KRAJEWSKA, D.K. Construction of predictive models of growth of microorganisms in salted and cured meat products. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, 7 (1-2), 152-159, 2006.

KNORR, D. Effects of high-hydrostatic- pressure process on food safety and quality. **Food Technology**, 47(6), 156-161, 1993.

KORKEALA, H.; BJORKOTH, K.J. Spoilage and contamination of vacuum-packaged cooked sausages. **Journal of Food Protection**, 60, 724-731, 1997.

KOSEKI, S., YAMAMOTO, K. A novel approach to predicting microbial inactivation kinetics during high pressure processing. **Innovative Journal of Food Microbiology**, 116, 275-282, 2007(a).

KOSEKI, S., YAMAMOTO, K. Modelling the bacterial survival/death interface induced by high pressure processing. **Innovative Journal of Food Microbiology**, 116, 136-143, 2007(a).

KOTZEKIDOU, P., BLOUKAS, J. G. Effect of protective cultures and packaging film permeability on shelf-life of sliced vacuum-packed cooked ham. **Meat Science**, 42, 333-345, 1996.

LABOISSIÈRE, L.H.E.S., DELIZA, R., BARROS-MARCELLINI, A.M., ROSENTHAL, A., CAMARGO, L.M.A.Q., JUNQUEIRA, R.G. Effects of high hydrostatic pressure (HHP) on sensory characteristics of yellow passion fruit juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 8(4), 469-477, 2007.

LABUZA, T. P., FU, B. Growth kinetics for shelf-life prediction: theory and practice. **Journal of Industrial Microbiology**, 12, 309-323, 1993.

LAWRIE, R. A. **Meat Science**. 4 ed., New York: Pergamon Press, 265p., 1998.

LI, K.L.Y., TORRES, J.A. Microbial growth estimation in liquid media exposed to temperature fluctuations. **Journal of Food Science**, 58, 644-648, 1993.

LINTON, M., McCLEMENTS, J.M.J., PATTERSON, M.F. Changes in the microbiological quality of vacuum-packaged, minced chicken treated with high hydrostatic pressure. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 5, 151-159, 2004.

LIU, F., YANG, R.Q., LI, Y.F. Correlations between growth parameters of spoilage microorganisms and shelf life of pork stored under air and modified atmosphere at 2, 4 and 10 °C. **Food Microbiology**, 23(6), 578-583, 2006.

LÓPEZ-CABALLERO, M.E., CARBALLO, J., JIMÉNEZ-COLMENERO, F. Microbial inactivation in meat products by pressure/temperature processing. **Journal of Food Protection**, 62, 1411-1415, 1999.

MA, H.J., LEDWARD, D.A. High pressure/thermal treatment effects on the texture of beef muscle. **Meat Science**, 68, 347-355, 2004.

MACFIE, H.J.H., BRATCHELL, N., GREENHOFF, K., VALLIS, L.V. Designs to balance the effects of order of presentation and first order carry-over effects in hall tests. **Journal of Sensory Studies**, 4(2), 41-49, 1989.

MACFIE, H.J.H., HEDDERLEY, D. Current practice in relating sensory perception to instrumental measurements. **Food Quality and Preference**, 4(1/2), 41-49, 1993.

MACFIE, H.J. Apostila de Curso – **Produto, Mercado e Inovação: Métodos Estatísticos Utilizados em Estudos de Consumidor**, Miramar Palace-Hotel, Rio de Janeiro, Brasil, 2005, 291p.

MACFIE, H.J.H. Hands on Sensory Statistics. **Lecture Notes**. Euler Training Center, Minneapolis, USA. 2007.

MARCOS, B., AYMERICH, T., GUARDIA, M.D., GARRIGA, M. Assessment of high hydrostatic pressure and starter culture on the quality properties of low-acid fermented sausages. **Meat Science**, 76, 46-53, 2007.

MASSON, Y., AINSWORTH, P., FULLER, D., BOZKURT, H., IBANOGLU, S. Growth of *Pseudomonas fluorescens* and *Candida sake* in homogenized mushrooms under modified atmosphere. **Journal of Food Engineering**, 54(2), 125-131, 2002.

MATARAGAS M., DROSINOS E.H., VAIDANIS A., METAXOPOULOS I. Development of a predictive model for spoilage of cooked cured meat products and its validation under constant and dynamic temperature storage conditions. **Journal of Food Science**, 71(6), 157-167, 2006.

MCEWAN, J.A., EARTHY, P.J., DUCHER, C. Preference mapping: a review. Review N°. 06. Gloucestershire, UK: Campden & Chorleywood Food Research Association, 1998.

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

MCDONALD, K., SUN, D.W. Predictive food microbiology for the meat industry: A review. **International Journal of Food Microbiology**, 52, 1-27, 1999.

MCMEEKIN, T. A., CHANDLER, R.E., DOE, P.E., GARLAND, C.D., OLLEY, J., PUTRO, S., RATKOWSKY, D.A. Model for combined effect of temperature and salt concentration/water activity on the growth rate of *Staphylococcus xylosum*. **Journal Applied Bacteriologic**, 62, 543-550, 1987.

MCMEEKIN, T.A. Predictive microbiology: Quantitative science delivering quantifiable benefits to the meat industry and other food industries. **Meat Science**, 77(1), 17-27, 2007.

McEWAN, J.A., EARTHY, P.J., DUCHER, C. Preference mapping: a review. Review N°. 06. Gloucestershire, UK: Campden & Chorleywood Food Research Association, 1998.

McMEEKIN, T. A., OLLEY, J., RATKOWSKY, D. A., ROSS, T. Predictive microbiology: Towards the interface and beyond. **International Journal of Food Microbiology**, 73, 395-407, 2002.

McMEEKIN, T. A., ROSS, T. Predictive microbiology: providing a knowledge-based framework or change management. **International Journal of Food Microbiology**, 78, 133-153, 2002.

MEILGAARD, M.C. Individual differences in sensory threshold for aroma chemicals added to beer. **Food Quality and Preference**, 4(3), 153-167, 1993.

MESSENS, W., VAN CAMP, J., HUYGHEBAERT, A. 1997. The use of high pressure to modify the functionality of food proteins. **Trends in Food Science and Technology**, 8, 07-112, 1994.

MEYER, R.S., COOPER, K.L., KNORR, D., LELIEVELD, H.L.M. High pressure sterilization of foods. **Food Technology**, 54(11), 67-72, 2000.

MOLINA-GUTIERREZ, A. et al. In situ determination of the intracellular pH of *Lactococcus lactis* and *Lactobacillus plantarum* during pressure treatment. **Applied and Environmental Microbiology**, 4399-4406, 2002.

MONTELEONE, E., FREWER, L., WAKELING, I., MELA, D.J. Individual differences in starchy food consumption: the application of preference mapping. **Food Quality and Preference**, 9(4), 211-220, 1998.

MOR-MUR, M., YUSTE, J. High pressure processing applied to cooked sausage manufacture: physical properties and sensory analysis. **Meat Science**, 65, 1187-1191, 2003.

MOSKOWITZ, H.R. The dollar value of product quality: the effect of pricing versus overall liking on consumer stated purchase intent for pizza. **Journal of Sensory Studies**, 10 (3), 239-247, 1995.

MURRAY, J.M., DELAHUNTY, C.M., BAXTER, I.A. Descriptive sensory analysis: past, present and future. **Food Research International**, 34(1), 461-471, 2001.

NAKASHIMA, S. M.K, ANDRÉ, C.D.S., FRANCO, B.D.G.M. Revisão: Aspectos básicos da microbiologia preditiva. **Brazilian Journal of Food Technology**, 3, 41-51, 2000.

NEUMEYER, K., ROSS, T., THOMSON, G., McMEEKIN, T.A. Validation of a model describing the effects of temperature and water activity on the growth of psychrotrophic pseudomonads. **International Journal of Food Microbiology**, 38, 55-63, 1997.

- NORONHA, R.L.F.A. A expectativa do consumidor e sua influência na aceitação e percepção sensorial de café solúvel. **Tese de doutorado**. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, SP. 2003.130p.
- NUTE, G.R., JONES, R.C.D., DRANSFIELD, E., WHELEHAN, O.P. Sensory characteristics of ham and their relationships with composition, visco-elasticity and strength. **International Journal of Food Science and Technology**, 22, 461-476, 1987.
- OKAMOTO, A.; SUZUKU, A. Effects of high hydrostatic pressure-thawing on pork meat. **Trends in High Pressure Bioscience and Biotechnology**, 2002.
- OKAMOTO, M., KAWAMURA, Y., HAYASCHI, R. Application of high pressure to food processing: Textural comparison of pressure and heat induced gels of food proteins. **Agricultural and Biological Chemistry**, 54(1), 183-189, 1990.
- O'REILLY, C.E., KELLY, A.L., MURPHY, P.M., BERESFORD, T.P. High pressure treatment: Applications in cheese manufacture and ripening. **Trends in Food Science and Technology**, 12, 51-59, 2001.
- O'BRIEN, J.K.; MARSHALL, R.T. Microbiological quality of raw ground chicken processed at high isostatic pressure. **Journal of Food Protection**, 59(2), 146-150, 1996.
- OHSHIMA, T., USHIO, H., KOIZUKMI, C. High pressure processing of fish and fish products. **Trends in Food Science and Technology**, 4, 370-375, 1993.
- OGAWA, H., FUKUHISA, K., KUBO, Y., FUKUMOTO, H. Pressure Inactivation of Yeast, Molds and Pectinesterase in Satsuma Mandarin Juice: Effects of Juice Concentration, pH and Organic Acid and Comparison with Heat Sanitation, 1989.
- OLIVO, R. Alterações oxidativas em produtos cárneos. In: Atualidades em Ciência e Tecnologia de Carnes. 2006, 236pp.
- ORDÓNEZ, J.A.P., ÁLVAREZ, L.F., SANZ, M.L.G., MINGUILLÓN, G.D.G.F., PERALES, L. de LA HOZ, & CORTECERO, M.D.S. (2005). Tecnologia de Alimentos. Alimentos de origem animal. Vol 2. Ed. Artmed, Porto Alegre.
- PAGLIARINI, E., MONTELEONE, E., RATTI, S. Sensory profile of eight tomato cultivars (*Lycopersicon esculentum*) and its relationship to consumer preference. **Italian Journal Food Science**, 13(3), 285-295, 2001.
- PALMIERI, L.C. **Estudo do enovelamento e agregação do monômero da proteína amiloidogênica transtirretina (M-TTR)**. UFRJ, 2005. Dissertação (Mestrado em Química Biológica), Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2005.
- PARDI, M.C., SANTOS, I.F., PARDI, H.S. Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne. V. I. Goiânia: **CEGRAF**; UFG, 574p., 1996.

PARDI, M.C., SANTOS, I.F., PARDI, H.S. Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne. V. II. Goiânia: **CEGRAF**; UFG, 489p., 1996.

PATERSON, M.F. Microbiology of pressure treated foods. **Journal of Applied Microbiology**, 98(6), 1400-1409, 2005.

PELLIETIER, B. High pressure treatment for fruit juice. New solutions for low-cost high pressure processing of fruit juice. **Fruit Processing**, 6, 216-217, 2001.

PHUA, S.T.G., DAVEY, K.R. Predictive modeling of high pressure (? 700 Mpa)-cold pasteurization (? 25°C) of *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica* and *Listeria monocytogenes* in three liquid foods. **Chemical Engineering and Processing**, 46, 458-464, 2007.

RAMIREZ-SAUREZ, J., MORRISSEY, M.T. Effect of high pressure processing (HPP) on shelf-life of albacore tuna (*Thunnus alalunga*) minced muscle. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 7(1-2), 19-27, 2006.

RASTOGI, N.K., RAGHAVARAO, K.S.M.S., BALASUBRAMANIAM, V.M., NIRANJAN, K., KNORR, D. Opportunities and challenges in high pressure processing of foods. **Critical Review Food Science and Nutrition**, 47, 69-112, 2007.

RATKOWSKY, D. A. Some examples of, and some problems with, the use of nonlinear logistic regression in predictive food microbiology. **International Journal of Food Microbiology**, 73, 119-125, 2002.

ROSENTHAL, A., SILVA, J.L. Alimentos sob pressão. **Engenharia de alimentos**, 14, 37-39, 1997.

ROSS, T., McMEEKIN, T. A. Predictive microbiology. **International Journal of Food Microbiology**, 23, 241-264, 1994.

ROVERE, P. The third dimension of food technology. **Tecnologie Alimentari Sistemi per produrre**, 4, 2-8, 1995.

ROVERE, P. Industrial-scale high pressure processing of foods. In M.E.G. Hendrickx & D. Knorr (Eds.), *Ultra high pressure treatments of foods* (pp.251-268). New York: Klumer Academic/Plenum Publishers, 2001.

RUBIO, B., MARTÍNEZ, B., GARCÍA-CACHÁN, M.D., ROVIRA, J., JAIME, I. The effects of high pressure treatment and of storage periods on the quality of vacuum-packed “salchichón” made of raw material enriched in monounsaturated and polyunsaturated fatty acids. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 8, 180-187, 2007.

RUIZ-CAPILLAS, C., CARBALLO, J., COLMENERO, F.J. Biogenic amines in pressurized vacuum-packaged cooked sliced ham under different chilled storage conditions. **Meat Science**, 75, 397-405, 2007.

SACCANI, G., PAROLARI, G., TANZI, E., BARBUTI, S. Sensory and microbiological properties of dried hams treated with high hydrostatic pressure (HP). **Proceedings 50<sup>th</sup> International Congress of Meat Science and Technology** (pp. 726-729). (August, Helsinki, Finland), 2004.

SAMELIS, J., KAKOURI, A., REMENTZIS, J. Selective effect of the product type and the packaging conditions on the species of lactic acid bacteria dominating the spoilage microbial association of cooked meats at 4°C. **Food Microbiology**, 17, 329-340, 2000.

SANGRONIS, E., POTHAKAMURY, U., RAMOS, A.M., IBARZ, A., BARBOSA-CÁNOVAS, G.V. La alta presión hidrostática: una alternativa en el procesamiento no térmico de alimentos. **Alimentaria**, 33, 33-43, 1997.

SAN MARTÍN, M.F., BARBOSA-CÁNOVAS, G.V., SWANSON, B.G. Food processing by high hydrostatic pressure. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 42 (6), 627-645, 2002.

SARMENTO, C.M.P. Modelagem do Crescimento Microbiano e Avaliação Sensorial no estudo da Vida de Prateleira de mortadela e lingüiça defumada em armazenamento isotérmico e não isotérmico. 2006. 146 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina.

SCHAFFNER, D. W., LABUZA, T. P. Predictive microbiology: where are we and where are we going? **Food Technology**, 51, 95-99, 1997.

SCHEIBENZUBER, M., RUB, W., GORG, A., MEYER-PITTROFF, R. Scanning electron microscopic study of high pressure induced microstructural changes of proteins in Turkey and pork meat. **Trends in High Pressure Bioscience and Biotechnology**, 2002.

SCHEID, D. Cooked ham manufacture pumping, mechanical treatment and heat treatment. **Fleischwirtschaft**. Espanha, 66, 1022p., 1986.

SCHLICH, P. Preference mapping: relating consumer preferences to sensory or instrumental measurements. In *Bioflavour 95. Analysis/precursor studies/biotechnology*, eds. P. Etiévant and P. Schreier (pp.135-150). INRA Editions, Versailles, 1995.

SERRA, X., GREBOL, N., GUÀRDIA, M.D., GUERRERO, L., GOU, L., MASOLIVER, P., GASSIOT, M., SÁRRAGA, C., MONFORT, J.M., ARNAU, J. High pressure applied to frozen ham at different process stages. 2. Effect on the sensory attributes and on the colour characteristics of dry-cured ham. **Meat Science**, 75, 21-28, 2007.

SERRA, X., SÁRRAGA, C., GRÈBOL, N., GUÀRDIA, M.D., GUERRERO, L., GOU, P., MASOLIVER, P., GASSIOT, M., MONFORT J.M., ARNAU, J. High pressure applied to frozen ham at different process stages. 1. Effect on the final physicochemical parameters and on the antioxidant and proteolytic enzyme activities of dry-cured ham. **Meat Science**, 75(1), 12-20, 2007.

SHIGEHISA, T., OHMORI, T., SAITO, A., TAJI, S., HAYASHI, R. Effects of high hydrostatic pressure on characteristics of pork slurries and inactivation of microorganisms associated with meat and meat products. **International Journal of Food Microbiology**, 12, 207-216, 1991.

SHIMOKOMAKI, M., OLIVO, R. Suplementação de Vitamina E melhora a qualidade de carnes e derivados. **In: Atualidades em Ciência e Tecnologia de Carnes**, 2006.

SHERRY, A.E., PATTERSON, M.F. MADDEN, R.H. Resistance of Salmonellae to heat, high-pressure and irradiation stress. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY (ICoMST), 48., Rome, 25-30 de agosto de 2002. **Proceedings**. Rome: Università di Parma/Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 1, 200-201, 2002.

SILVA, J.L., WEBER, G. Pressure stability of proteins. *Annu. Rev. Phys. Chem*, 44, 89-113, 1993.

SIRET, F., ISSANCHOU, S. Traditional process: influence on sensory properties and on consumers' expectation and liking Application to 'pâté de campagne'. **Archives de Pédiatrie**, 7(4), 391-395, 2000.

SKINNER, G.E., LARKIN, J.W., RHODEHAMEL, E.J. Mathematical modeling of microbial growth: a review. **Journal Food Safety**, 14, 175-217, 1994.

SLONGO, A.P., DELIZA, R., ROSENTHAL, A., MATHIAS, S. P., CAMARGO, L.M.A., ARAGÃO, G.M.F. (2007). Características sensoriais de presunto suíno submetido ao processo de alta pressão hidrostática. *In: Simpósio Brasileiro de Análise Sensorial*, (pp. 498). Campinas, Brazil.

SLONGO, A.P., DELIZA, R., ROSENTHAL, A., MATHIAS, S. P., CAMARGO, L.M.A., ARAGÃO, G.M.F. (2007). Avaliação da preferência de presunto pressurizado. *In: Simpósio Brasileiro de Análise Sensorial*, (pp. 498). Campinas, Brazil.

SMELT, J.P.P.M. Recent advances in the microbiological of high pressure processing. **Trends in Food Science and Technology**, 9, 152-158, 1998.

SOBOLEVA, T. K., PLEASANTS, A.B., ROUX, G. le. Predictive microbiology and food safety. **International Journal of Food Microbiology**, 57, 183-192, 2000.

SPENCER, R., BAINES, C.R. The effect of temperature on spoilage of wet white fish. **Food Technology**, 18, 769-773, 1964.

STEPHAN, M. P., SLONGO, A.P., DELIZA, R., ROSENTHAL, A. Adaptação de método de extração e caracterização das proteínas extraídas de presunto submetido à alta pressão. **Comunicado Técnico da Embrapa-CTAA**, 96, 1-3, 2006.

STONE. H., SIDEL, J., OILVER, S., WOOLSEY, R.C. Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis. **Food Technology**, 28(1), 24-34, 1974.

STONE, H., SIDEL, J. Sensory evaluation practices. Academic Press: New York. 3 ed. 1993, 338p.

STONE. H., SIDEL, J. Quantitative descriptive analysis: developments, applications and the future. **Food Technology**, 52(8), 48-52, 1998.

STONE. H., SIDEL, J. Sensory Evaluation Practices, Academic Press: New York, 2004.

SUPAVITITPATANA, T., APICHARTSRANGKOON, A. Combination effects of ultra-high pressure and temperature on the physical and thermal properties of ostrich meat sausage (yor). **Meat Science**, 76, 555-560, 2007.

SUTHERLAND, J. P., BAYLISS, A.J. Predictive modelling of growth of *Yersinia enterocolitica*: the effects of temperature, pH and sodium chloride. **International Journal of Food Microbiology**, 21(3), 197-215, 1994.

SUTHERLAND, J. P., BAYLISS, A.J. Predictive modelling of growth of *Staphylococcus aureus*: the effects of temperature, pH and sodium chloride. **International Journal of Food Microbiology**, 21(3), 217-236, 1994.

SUZUKI, A., HOMMA, N., FUKUDA, A., HIRAO, K., URYU, T., IKEUCHI, Y. Effects of high pressure treatment on the flavor-related components in meat. **Meat Science**, 37(3), 369-379, 1994.

TANAKA, M., XUEYI, Z., NAGASHIMA, Y., TAGUCHI, T. Effect of high pressure on lipid oxidation in sardine meat. **Nippon Suisan Gakkaiski**, 57(5), 957-963, 1991.

TAOUKIS, P., KATSAROS, G., GALIATSATOU, P., MALLIDIS, K. (2003). Shelf life study of high hydrostatic pressure processed packed ham. *IFT Ann. Meeting*, Chicago, USA.

TANZI, E., SACCANI, G., BARBUTI, S., GRISENTI, M.S., LORI, D., BOLZONI, S., et al. High-pressure treatment of raw ham. **Sanitation and impact on quality. Industria Converse**, 79, 37-50, 2004.

TUBOLY, E., LBOVICS, V.K., GAÁL, O., MÉSZÁROS L., FARKAS, J. Microbiological and lipid oxidation studies on mechanically deboned turkey meat treated by high hydrostatic pressure. **Journal of Food Engineering**, 56(2-3), 241-244, 2003.

UENO, Y., IKEUCHI, Y., SUZUKI, A. Effects of high pressure treatments on intramuscular connective tissue. **Meat Science**, 52, 143-150, 1999.

- Van IMPE, J. F. et al. Dynamic mathematical model to predict microbial growth and inactivation during food processing. **Applied and Environmental Microbiology**, 58, 2901-2909, 1992.
- Van IMPE, J. F., NICOLAI, B.M., SCHEILLELENS, M. Predictive microbiology in a dynamic environment: a system theory approach. **International Journal of Food Microbiology**, 25(3), 227-249, 1995.
- VARDAG, T., DIERKES, H., KÖRNER, P. High pressure food processing. **Food Tech Europe**, 3(2), 106-110, 1995.
- VARNAN, A.H. SUTHERLAND, J.L. Meat and meat products. **Technology, Chemistry and Microbiology**, London: Chapman & Hall, 430p., 1995.
- VERMEIREN, L., DEVLIEGHERE, F., DEBEVERE, J. Evaluation of meat born lactic acid bacteria as protective cultures for the biopreservation of cooked meat products. **International Journal of Food Microbiology**, 96, 149-164, 2004.
- VILLANUEVA, I. Integral mappings between Banach spaces. **Journal of Mathematical Analysis and Applications**, 279(1), 56-70, 2003.
- WESTAD, F., HERSLETH, M., LEA, P. Strategies for consumer segmentation with applications on preference data. **Food Quality and Preference**, 15(7-8), 681-687, 2004.
- WILLIAMS, A. New Technologies in Food Preservation and Processing: Part II. **Nutrition & Food Science**, 1, 20-23, 1994.
- WHITING, R. C. Microbial modelling in foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 35, 467-494, 1995.
- WIJZES, T., van't RIET, K., HUIS in't VELD, J.H.J, ZWIETERING, M.H. A decision support system for the prediction of microbial food safety and food quality. **International Journal of Food Microbiology**, 42, 79-90, 1998.
- WILLIAMS, A. New Technologies in Food Preservation and Processing: Part II. **Nutrition & Food Science**, 1, 20-23, 1994.
- WOUTERS, P.C., GLAASKER, E., SMELT, J.P.P.M. Effects of high pressure on inactivation kinetics and events related to proton efflux in *Lactobacillus plantarum*. **Applied and Environmental Microbiology**, 64(2), 509-514, 1998.
- YAMAMOTO, K., MIURA, T., YASUI, T. Gelation of myosin filament under high hydrostatic pressure. **Food Structure**, 9, 269-277, 1992.
- YAMAMOTO, K., YOSHIDA, Y., MORITA, J., YASSUI, T. Morphological and physicochemical changes in the myosin molecules induced by hydrostatic pressure. **Journal of Biochemistry**, 116, 215-220, 1994.