



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA E
ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
ALIMENTOS**

**AVALIAÇÃO DA VIDA ÚTIL DE FILÉS DE FRANGO
RESFRIADOS, EMBALADOS A VÁCUO E EM ATMOSFERA
MODIFICADA, SOB ARMAZENAMENTO ISOTÉRMICO E
NÃO ISOTÉRMICO**

MARIA ELIZABETH DE PAULA CANÇADO MEZAROBA

**Florianópolis
2014**

**Universidade Federal de Santa Catarina
Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos
Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos**

MARIA ELIZABETH DE PAULA CANÇADO MEZAROBA

**AVALIAÇÃO DA VIDA ÚTIL DE FILÉS DE FRANGO
RESFRIADOS, EMBALADOS A VÁCUO E EM ATMOSFERA
MODIFICADA, SOB ARMAZENAMENTO ISOTÉRMICO E
NÃO ISOTÉRMICO**

Tese de Doutorado submetida ao Curso de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial à obtenção do Grau de Doutor em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Prof. Dr^a. Gláucia Maria Falcão de Aragão

Florianópolis, 28 de fevereiro de 2014

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

Mezaroba, Maria Elizabeth de Paula Cançado

Avaliação da Vida Útil de Filés de Frango Resfriados, Embalados a Vácuo e em Atmosfera Modificada sob Armazenamento Isotérmico e não Isotérmico / Maria Elizabeth de Paula Cançado Mezaroba; orientadora, Gláucia Maria Falcão de Aragão – Florianópolis, SC; 2014.

133pgs.

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

Inclui referências

1. Engenharia de Alimentos. 2 microbiologia preditiva. 3. filés de frango. 4. atmosfera modificada. 5. bactérias ácido lácticas. I. De Aragão, Gláucia Maria Falcão. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós- Graduação em Engenharia de Alimentos. III. Título.

**AVALIAÇÃO DA VIDA ÚTIL DE FILÉS DE FRANGO
RESFRIADOS, EMBALADOS A VÁCUO E EM ATMOSFERA
MODIFICADA SOB ARMAZENAMENTO ISOTÉRMICO E NÃO
ISOTÉRMICO**

Por

Maria Elizabeth de Paula Cançado Mezaroba

Tese julgada para obtenção do título de **Doutor em Engenharia Alimentos**, área de Concentração de **Desenvolvimento de Processos da Indústria de Alimentos**, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.

Prof.^a. Dr.^a. Gláucia Maria Falcão de Aragão
Orientadora

Prof. Dr. João Borges Laurindo
Coordenador

Banca Examinadora:

Prof.^a. Dr.^a. Gláucia Maria F. de Aragão

Prof.^a. Dr.^a. Morgana Zimmermann

Prof.^a. Dr.^a. Franciny Campos Schmidt

Prof.^a. Dr.^a. Sandra Regina S.
Ferreira

Dr.^a. Andréia Tremarin

Dr. Luiz Gustavo Gonçalves
Rodrigues

Florianópolis, 28 de fevereiro de 2014.

Ao meu querido Pai, Antônio Carlos

Um exemplo de caráter e retidão que sempre me inspirou no caminho do bem

Apesar de ter partido desta vida, dedico a você o júbilo da vitória, meu amor e minhas eternas saudades...

Ao meu marido Altair, por estar sempre ao meu lado compartilhando angústias, alegrias e tristezas. Obrigada pela paciência, amor e carinho, a você todo meu amor.

Aos meus familiares que sempre estiveram presentes em minha vida. Obrigada por acreditarem em mim, pelos conselhos, e pelo apoio incondicional e todo seu amor. Então eu digo para minha mãe Aracy, minha irmã Tatá, meus irmãos Cacá e Neto, meus sobrinhos Antônio, Gabriela e Pedro, meu cunhado (as) Rimarcs, Valquíria, Tânia amo vocês.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Gláucia pela ajuda incondicional, pelos ensinamentos, pela paciência e dedicação no decorrer deste trabalho. Serei eternamente grata à você.

Agradecimento especial à Aurora Alimentos na pessoa do seu Presidente Sr. Mario Lanznaster, pessoa fundamental na realização desse trabalho, que sempre esteve presente em minha vida profissional me proporcionando sempre as melhores oportunidades. Muito Obrigada.

Ao vice-presidente da Aurora Sr. Neivor Canton, ao Diretor de Agropecuária Sr. Marcos Zordan, obrigada pelo incentivo e apoio.

À professora e coordenadora Alcilene, pela atenção, apoio e ajuda nas dificuldades diárias do curso.

Ao Professor coordenador João Borges Laurindo e colega de graduação, pelos conselhos e enriquecimento desse trabalho ao participar da banca de qualificação.

Às professoras Franciele Dalcanton e Franciny Schmidt, pelas contribuições, participando da banca de qualificação.

Agradecimento especial aos professores da banca examinadora: Morgana, Sandra, Franciny, Gustavo, Andréia por terem aceito o convite e pela contribuição nesse trabalho.

À minha irmã querida M.Aparecida, meu cunhado Rimarcs e meu afilhado Antonio, que mesmo a distância me deram sempre muito apoio me ajudando nos momentos difíceis e compartilhando alegrias. Obrigada pelo carinho. Amo vocês.

Aos meus queridos primos Leda e Lucas e Scott Allen por todo carinho, incentivo e ajuda.

Ao amigo Daniel Longhi, pela ajuda incondicional nas horas mais difíceis, pelo incentivo e pela colaboração. Muito obrigada. Você é um pessoa admirável e iluminada!

À Raquel, pessoa muito prestativa e atenciosa.

Aos meus colegas de empresa e amigos Elizandro Vedovatto e Sizinando Fonseca, que não pouparam esforços para me ajudar na parte prática e logística do meu experimento. Obrigada, pelo apoio, carinho e amizade.

Agradecimento especial ao amigo Francisco Konkel, sua ajuda foi fundamental, obrigada pela colaboração, sobretudo pelo apoio, paciência, amizade e incentivo.

Ao André pela colaboração e pela disponibilidade de sempre me ajudar.

Agradecimento ao amigo Edevilson pelo carinho e ajuda na finalização deste trabalho.

Agradecimento aos colegas de trabalho Gisely, Elizangela, Mariéli, Géssica, Arivandro pela colaboração.

Aos funcionários de outras unidades da Aurora Alimentos, Ana, Rodicler, Marcelo, Maurício, Vanderley, Antônio, Rodrigo, Tiago, Vitor, Celso e Alexandre.

À todas as pessoas que contribuíram no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Senai Chapecó, nas pessoas das Sras. Ivania Biazussi e Morgana Zimmermann, pelo apoio e realizações da análises microbiológicas.

À a empresa Linde gases na pessoa do Luiz Otavio, por disponibilizar os gases e equipamentos para realização do experimento.

À a empresa Cryovac, na pessoa do Luis e Afonso Martins, pela disponibilização das embalagens.

À UFSC e ao programa de pós- graduação em Engenharia de Alimentos por me oportunizar a realização deste trabalho.

RESUMO

A carne de frango é suscetível à deterioração bacteriana, à perda por evaporação, ao aparecimento de odores desagradáveis e descoloração. As bactérias ácido lácticas (BAL) fazem parte da microflora natural e correspondem à principal população deteriorante de produtos cárneos embalados a vácuo e em atmosfera modificada (ATM) e seu crescimento é um dos parâmetros que define o final da vida útil desses produtos. A temperatura é o fator ambiental mais importante que afeta o crescimento de BAL. Sendo assim, o objetivo geral deste trabalho foi avaliar a vida útil, através de análise microbiológica de BAL, de filés de frango embalados a vácuo e sob ATM, refrigerados e armazenados sob condições isotérmicas e não isotérmicas. A comparação das duas tecnologias de embalagem baseou-se no crescimento das BAL e a modelagem matemática foi utilizada como uma ferramenta para avaliação dos parâmetros de crescimento das BAL e para a determinação da vida útil do produto estudado. Primeiramente, observou-se que a vida útil dos filés de frango embalados sob ATM (70 % de CO₂ e 30 % de N₂) e sob vácuo, armazenados a temperatura de 4 °C, é similar à observada sob ar atmosférico (controle), sendo que armazenados sob ATM, à temperatura de 12 °C, a vida útil foi ligeiramente superior ao vácuo e ao controle. Posteriormente, comparou-se as embalagens sob ATM (50 % de CO₂ e 50 % de N₂) e sob vácuo, que foram armazenadas em condições isotérmicas em cinco diferentes temperaturas (1, 4, 8, 12 e 20 °C). Os modelos de Gompertz modificado, Baranyi e Roberts e Logístico foram ajustados aos dados experimentais para obtenção dos parâmetros de crescimento: A - aumento logarítmico da população (ln UFC/g), μ - velocidade específica máxima de crescimento (dia⁻¹) e λ - duração da fase lag (dia) e vida útil (dia). O desempenho dos modelos primários para descrever as curvas de crescimento foi avaliado através do erro médio quadrático (MSE), fator Bias, fator exatidão e coeficiente de determinação (R²). Observou-se um bom ajuste dos modelos aos dados experimentais, principalmente dos modelos de Gompertz modificado e de Baranyi e Roberts, sendo este último ligeiramente superior. Foram comparados modelos secundários para selecionar aquele modelo que melhor descreveu a influência da temperatura sobre os parâmetros de crescimento estudados. Verificou-se que a temperatura exerce uma forte influência sobre os parâmetros microbiológicos de crescimento e o modelo exponencial foi o modelo que melhor descreveu a influência da temperatura na vida útil dos filés de frango resfriado, em todos os tratamentos, podendo ser utilizado para

estimar a vida útil de filés de frango embalados sob ATM e vácuo, dentro da faixa da temperatura estudada. Com base nos modelos secundários selecionados, os modelos de Baranyi e Roberts e Gompertz modificado foram utilizados para prever o crescimento de BAL em condições de armazenamento não isotérmico, em temperaturas variáveis na faixa de 4 a 12 °C. Foi observado através dos resultados que o modelo que melhor descreveu o crescimento das BAL em vácuo e ATM foi o de Baranyi e Roberts, por fornecer melhores resultados nos índices estatísticos. A vida útil dos filés de frango foi de aproximadamente 6 e 4 dias para o tratamento não isotérmico sob ATM e vácuo, respectivamente. Este estudo evidenciou que a embalagem sob ATM (50 % de CO₂ e 50 % de N₂) foi a que levou ao aumento da vida útil de filés de frango resfriado, em relação ao controle em ar e embalagens a vácuo e que os modelo não isotérmicos obtidos podem ser utilizados para prever a vida útil destes produtos sob vácuo e ATM, dentro da faixa de temperatura estudada.

Palavras chave: microbiologia preditiva, filés de frango, atmosfera modificada, bactérias ácido lácticas, vida útil.

ABSTRACT

Chicken meat is susceptible to bacterial spoilage, water loss by evaporation, discoloration and unpleasant odors. Lactic acid bacteria (LAB) are part of the natural microflora and correspond to the main deteriorating population of meat products packaged in vacuum and modified atmosphere (MAP) and its growth is one of the parameters that defines the end of the shelf life of these products. Temperature is the most important environmental factor affecting the growth of LAB. Thus, the aim of this study was to evaluate the shelf life through microbiological analysis of LAB, of chicken fillets vacuum packed and under MAP, chilled and stored under isothermal and non-isothermal conditions. The study compares two packaging technologies based on the growth of LAB. Mathematical modeling was used as a tool for evaluation of the growth parameters of LAB and to determine the product shelf life. First, it was observed that the shelf life of chicken fillets packaged in MAP (70% CO₂ and 30% N₂) under vacuum and stored at 4 °C, is similar to that found in air (control) , and for the samples under MAP stored in the temperature of 12 °C, the shelf life was slightly higher than the control and vacuum. Subsequently, we compared the packaging under MAP (50% CO₂ and 50% N₂) and under vacuum, which were stored under isothermal conditions at five different temperatures (1, 4, 8, 12 and 20 °C). Mathematical models of modified Gompertz, Baranyi and Roberts and Logistics were fitted to experimental data to obtain the growth parameters: A - logarithmic increase in population (ln CFU/g), μ - maximum specific growth rate (day⁻¹) and λ - length of the lag phase (day) and shelf life (day). The performance of primary models to describe the growth curves was evaluated using the mean squared error (MSE), bias factor, accuracy factor and coefficient of determination (R²). A good fit of the models to experimental data was observed, especially the models modified Gompertz and Baranyi and Roberts, the latter being slightly higher. Secondary models were compared to select the one which best described the influence of temperature on the growth parameters studied. It was found that temperature has a strong influence on the microbiological growth parameters and the exponential model was best to describe the influence of temperature on the shelf life of cold chicken fillets in all treatments and can be used to estimate shelf life of chicken fillets packed under vacuum and MAP, within the temperature range studied. Based on the selected secondary models Baranyi and Roberts and modified Gompertz were used to predict the growth of LAB on a non-

isothermal storage at varying temperatures in the range from 4 to 12 °C. It was observed from the results that the model that best described the growth of LAB in vacuum and MAP was the Baranyi and Roberts, providing better results in the statistical indices. The shelf life of the chicken fillets for the non-isothermal storage was approximately 6 and 4 days under MAP and vacuum treatment respectively. This study showed that storage under MAP (50% CO₂ and 50% N₂) was the one that led to increased shelf life of cold chicken fillets compared to the control in air and vacuum packaging and the non-isothermal models obtained can be used to predict the shelf life of these products under vacuum and MAP, within the temperature range studied.

Keywords: predictive microbiology, chicken fillets, modified atmosphere, lactic acid bacteria, shelf life.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 Curva típica de crescimento microbiano (VAN IMPE et al. 1995; SWINNEN et al. 2004).....	44
Figura 3.1 Fluxograma de abate de frango e obtenção das amostras.....	57
Figura 3.2 Amostra embalada em ATM.....	60
Figura 3.3 Amostra embalada a vácuo.....	60
Figura 4.1 Curvas de crescimento de BAL em filés de frango em tratamento de ATM, vácuo e controle, armazenados a 4 °C (a) e 12 °C (b). As linhas representam o ajuste do modelo de Baranyi e Roberts....	70
Figura 4.2 Variação da concentração de CO ₂ na embalagem em função do tempo para as amostras armazenadas a 4 e 12 °C, embaladas em ATM com 70 % de CO ₂ e 30 % de N ₂	73
Figura 4.3 Curvas de crescimento de BAL em filés de frango em tratamento de ATM (50 % de CO ₂ e 50 % de N ₂), vácuo e amostra controle. (a): armazenamento a 4 °C e (b): armazenamento a 12 °C. As linhas representam o ajuste do modelo de Baranyi e Roberts.....	74
Figura 4.4 Variação da concentração de CO ₂ na embalagem em função do tempo para as amostras armazenadas a 4 e 12 °C, embaladas em ATM com 50 % de CO ₂ e 50 % de O ₂	77
Figura 4.5 Curvas de crescimento de BAL em filés de frango em tratamento de ATM em diferentes temperaturas de armazenamento. As linhas representam o ajuste do modelo de Gompertz modificado aos dados experimentais.....	80
Figura 4.6 Curvas de crescimento de BAL em filés de frango em tratamento de ATM em diferentes temperaturas de armazenamento. As linhas representam o ajuste do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais.....	80
Figura 4.7 Curvas de crescimento de BAL em filés de frango para tratamento a vácuo em diferentes temperaturas. As linhas representam o ajuste do modelo de Gompertz modificado aos dados experimentais....	82
Figura 4.8 Curvas de crescimento de BAL em filés de frango para tratamento à vácuo em diferentes temperaturas. As linhas representam o ajuste do modelo de Baranyi Roberts aos dados experimentais.....	82

Figura 4.9 Valores de pH para os tratamentos a vácuo e ATM (50 % de CO ₂ e 50 % de N ₂) nas temperaturas de 1, 4, 8 e 12 °C.....	85
Figura 4.10 Ajuste dos modelos secundários para descrever a influência da temperatura sobre os parâmetros de crescimento μ (raiz quadrada), λ (exponencial), A (linear) e vida útil (exponencial) obtido pelo ajuste do Modelo de Gompertz modificado aos dados de crescimento de BAL em filés de frango embalado em ATM.....	87
Figura 4.11 Ajuste dos modelos secundários sobre o efeito da temperatura em tratamento em ATM para os parâmetros de crescimento: μ (raiz quadrada), λ (exponencial), A (Arrhenius) e vida útil (exponencial).....	88
Figura 4.12 Ajuste dos modelos secundários sobre o efeito da temperatura em tratamento a vácuo para os parâmetros de crescimento: μ (raiz quadrada), λ (exponencial), A (Arrhenius) e vida útil (exponencial).....	90
Figura 4.13 Ajuste dos modelos secundários sobre o efeito da temperatura em tratamento a vácuo para os parâmetros de crescimento: μ (exponencial), λ (linear), A (Arrhenius) e vida útil (exponencial).....	91
Figura 4.14 Dados experimentais e predição dos dados de crescimento de BAL em filés de frango embalado em ATM, armazenado em condições não isotérmicas, utilizando-se os modelos de Gompertz modificado e Baranyi e Roberts com a temperatura variando de 4 a 12 °C.....	95
Figura 4.15 Dados experimentais e predição dos dados de crescimento de BAL em filés de frango embalado a vácuo, armazenado em condições não isotérmicas, utilizando-se os modelos de Gompertz modificado e Baranyi e Roberts com a temperatura variando de 4 a 12 °C, conforme o perfil de temperatura descrito.....	96
Figura 4.16 Variação da concentração de CO ₂ em função do tempo de armazenamento das amostras em condições não isotérmicas (4 e 12 °C) sob ATM (50 % de CO ₂ e 50 % de N ₂).....	99

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 Comparação da vida útil para produtos embalados em ar e com gás armazenadas sob refrigeração (0 a 4°C).....	40
Tabela 3.1 Equações dos modelos primários.....	63
Tabela 3.2 Equações dos modelos secundários.....	64
Tabela 3.3 Equações dos índices estatísticos.....	68
Tabela 4.1 Valores dos índices estatísticos do ajuste do modelo de Baranyi e Roberts às curvas de crescimento de BAL a 4 e 12 °C para embalagem ATM, vácuo e controle.....	71
Tabela 4.2 Parâmetros de crescimento de BAL em filés de frango embalados em ATM, vácuo e controle, obtidos pelo ajuste do modelo de Baranyi e Roberts.....	71
Tabela 4.3 Valores dos índices estatísticos do ajuste do modelo de Baranyi e Roberts às curvas de crescimento de BAL a 4 e 12 °C para embalagem ATM, vácuo e controle.....	75
Tabela 4.4 Parâmetros de crescimento de BAL em filés de frango embalados em ATM, vácuo e controle, obtidos pelo ajuste do modelo de Baranyi e Roberts.....	76
Tabela 4.5 Valores dos índices estatísticos para os modelos de GOM, LG e BA aplicados às curvas de crescimento de BAL a 1, 4, 8, 12 e 20 °C, para filés de frango embalados em ATM.....	78
Tabela 4.6 Valores dos índices estatísticos para os modelos de GOM, LG e BAR aplicados às curvas de crescimento de BAL a 1, 4, 8, 12 e 20 °C, para filés de frango embalados a vácuo.....	79
Tabela 4.7 Parâmetros de crescimento de BAL em filés de frango embalados em ATM, obtido pelo ajuste do modelo de Gompertz modificado.....	81
Tabela 4.8 Parâmetros de crescimento de BAL em filés de frango embalados em ATM, obtido pelo ajuste do modelo de Baranyi e Roberts.....	81
Tabela 4.9 Parâmetros de crescimento de BAL em filés de frango embalados a vácuo, obtidos pelo ajuste do modelo de Gompertz modificado aos dados experimentais.....	83

Tabela 4.10 Parâmetros de crescimento de BAL em filés de frango embalados a vácuo, obtidos pelo ajuste do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais.....	83
Tabela 4.11 Coeficiente de determinação (R^2) obtidos pelo ajuste dos modelos: linear, raiz quadrada, Arrhenius e exponencial para os parâmetros de crescimento, λ , μ , e A, obtidos pelos ajustes dos modelos de GOM e BAR aos dados experimentais de crescimento de BAL em filés de frango embalados sob ATM.....	86
Tabela 4.12 Coeficiente de determinação (R^2) obtidos pelo ajuste dos modelos: linear, raiz quadrada, Arrhenius e exponencial para os parâmetros de crescimento, λ , μ , e A, obtidos pelos ajustes dos modelos de GOM e BAR aos dados experimentais de crescimento de BAL em filés de frango embalados sob vácuo.....	89
Tabela 4.13 Equações que descrevem os modelos secundários para os parâmetros de crescimento de BAL em função da temperatura.....	92
Tabela 4.14 Valores dos índices estatísticos calculados entre os valores preditos e observados para comparação da predição do crescimento de BAL em filés de frango embalados em ATM e a vácuo utilizando-se os modelos de Gompertz modificado e Baranyi e Roberts nos tratamentos não isotérmicos propostos.....	97
Tabela 4.15 Valores da vida útil observados e preditos pelos modelos matemáticos de Gomperts modificado e Baranyi e Roberts para o crescimento das BAL em filés de frango embalados em ATM e a vácuo.....	98

NOMENCLATURA

BAL	Bactérias ácido lácticas
UFC	Unidades formadoras de colônias
λ	Duração da fase lag (h)
μ	Velocidade específica máxima de crescimento (h^{-1})
A	Aumento logarítmico da população
T	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)
MRS	Meio de cultivo (Man, Rogosa e Sharpe)
X	Concentração celular (UFC/g)
X_0	Concentração celular inicial (UFC/g)
t	Tempo (dia)
B	Velocidade relativa de crescimento no tempo M (h^{-1})
M	Tempo para atingir a velocidade máxima de crescimento (h)
K	Parâmetros de crescimento (λ , μ ou A)
m	Parâmetro de curvatura do modelo de Baranyi-Roberts
R^2	Coefficiente de determinação
MSE	Erro médio quadrático
RMSE	Raiz do erro médio quadrático
n	Número de dados experimentais
p	Número de parâmetros do modelo
Obs	Valor observado
Pred	Valor predito

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	25
1.1. DIAGRAMA CONCEITUAL DO TRABALHO	29
2. REVISÃO	31
2.1. AVICULTURA BRASILEIRA.....	31
2.2. ALTERAÇÕES DAS CARNES	32
2.3. IMPORTÂNCIA DAS BACTÉRIAS ÁCIDO LÁCTICAS	33
2.4. VIDA ÚTIL DE CARNE FRESCA	34
2.5. IMPORTÂNCIA DA EMBALAGEM NA PROTEÇÃO DE ALIMENTOS	35
2.5.1. Embalagem a vácuo.....	36
2.5.2. Embalagem em atmosfera modificada	39
2.5.3. Solubilidade do CO ₂	42
2.6. MICROBIOLOGIA PREDITIVA.....	42
2.6.1. Modelos Primários	43
2.6.1.1. Modelo de Gompertz.....	44
2.6.1.2. Modelo de Gompertz modificado.....	45
2.6.1.3. Modelo Logístico.....	45
2.6.1.4. Modelo de Baranyi e Roberts	46
2.6.2. Modelos Secundários.....	47
2.6.2.1. Modelo de Belehradek ou raiz quadrada	48
2.6.2.2. Modelo Arrhenius.....	49
2.7. MODELO NÃO ISOTÉRMICO	49
2.8. VALIDAÇÃO DOS MODELOS	51
2.8.1. Erro do quadrado médio (MSE)	52
2.8.2. Fator Bias.....	52

2.8.3. Fator exatidão.....	52
3. MATERIAL E MÉTODOS	55
3.1. MATERIAL	55
3.1.1. Amostra.....	55
3.1.2. Embalagem	55
3.1.2.1. Embalagens Plásticas	55
3.1.2.2. Gases.....	55
3.1.2.3. Embaladora	56
3.1.3. Meio de Cultura.....	56
3.1.4. Aparelho de medição de CO ₂	56
3.1.5. Monitoramento da temperatura	56
3.2. METODOLOGIA EXPERIMENTAL.....	56
3.2.1. Pendura	58
3.2.2. Insensibilização.....	58
3.2.3. Sangria	58
3.2.4. Escaldagem	58
3.2.5. Depenagem.....	58
3.2.6. Evisceração	58
3.2.7. Pré resfriamento e resfriamento	59
3.2.8. Cortes, Desossa e Filetagem.....	59
3.2.9. Embalagem	59
3.2.10. Armazenamento	60
3.2.11. Análises físico-químicas	61
3.2.11.1.pH.....	61
3.2.12. Análises Microbiológicas	61
3.2.13. Análise da vida útil.....	62

3.2.14. Modelos primários.....	62
3.2.15. Modelos Secundários.....	64
3.2.16. Modelos não isotérmicos	64
3.2.17. Validação dos modelos	68
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	69
4.1. COMPARAÇÃO DO CRESCIMENTO DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁCTICAS (BAL) EM FILÉS DE FRANGO RESFRIADOS E ARMAZENADOS EM EMBALAGENS SOB VÁCUO, ATMOSFERA MODIFICADA (ATM) E AR (CONTROLE).....	69
4.2. MODELAGEM DO CRESCIMENTO DE BAL EM FILÉS DE FRANGO RESFRIADOS E ARMAZENADOS A DIFERENTES TEMPERATURAS UTILIZANDO EMBALAGENS A VÁCUO E ATM.....	73
4.3. INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA SOBRE OS PARÂMETROS DE CRESCIMENTO: μ , λ , A e VIDA ÚTIL	85
4.3.1. Filés de frango embalado em atmosfera modificada ...	86
4.3.2. Filé de frango embalado a vácuo.....	88
4.4. ESTABELECIMENTO E VALIDAÇÃO DE MODELOS NÃO ISOTÉRMICOS - MODELOS DINÂMICOS	93
5. CONCLUSÕES.....	101
6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	103
7. REFERÊNCIAS.....	105
8. INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES	121
ANEXO A - Dados de contagem de microrganismos em filés de frango resfriado.....	125
ANEXO B - Resultados da avaliação do pH, coloração e odor das amostras.....	127

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas três décadas, a avicultura brasileira tem apresentado altos índices de crescimento. O Brasil mantém a posição de maior exportador mundial e terceiro maior produtor de carne de frango. A expectativa até 2020 é que a produção nacional de carnes suprirá 44,5 % do mercado mundial e que a carne de frango representará 48,1 % das exportações mundiais (BRASIL, 2014). Santa Catarina é o segundo estado em exportação de carne de frango no Brasil, comercializando o produto em mais de 150 países, contribuindo com 26,12 % da produção nacional (UBABEF, 2013).

De acordo com a UBA - União Brasileira de Avicultura (2012), a produção de carne de frango em 2012 chegou a 12,645 milhões de toneladas. Deste volume total produzido, cerca de 69 % foi destinada ao mercado interno e 31 % para o mercado externo. O consumo *per capita* anual de frango, atingiu 45 quilos por pessoa.

O consumo interno de carne de frango, comparativamente com outros tipos de carne, vem apresentando crescimento em virtude desta carne ser considerada mais saudável do que a carne vermelha em função de sua fácil digestão e por conter menor teor de gordura (SILVA e MENDONÇA, 2005; TALAMINI et al., 2005).

As vendas e o consumo de carne de frango têm crescido ano a ano, devido à sua atratividade e praticidade. Os cortes para exportação já ultrapassam 60 % do volume total produzido, forçando as indústrias a investirem em parque fabril e em tecnologia, inclusive com melhorias nos cortes e nos rendimentos. A carne de frango é bastante susceptível à deterioração bacteriana, perda por evaporação, odores desagradáveis, descoloração e deterioração bioquímica. A quantidade e tipo de microrganismos que se desenvolvem na carne dependerão das condições de abate, estresse do animal, evisceração correta, entre outros (OLIVO e RABELO, 2006; ALCANTARA et al., 2012).

As bactérias ácido lácticas (BAL) em carnes, armazenadas em temperatura de refrigeração, representam os principais microrganismos responsáveis pela deterioração dos produtos embalados a vácuo e em atmosfera modificada (BORCH et al., 1996; SAMELIS et al., 2000; BJORKROTH, 2005).

O comportamento dos microrganismos nos alimentos (crescimento, sobrevivência e morte) é determinado pelas propriedades dos alimentos (atividade de água, pH, etc.) e pelas condições de armazenamento (temperatura, umidade relativa e atmosfera do meio que a rodeia) (NAKASHIMA et al., 2000).

O fator ambiental mais importante que afeta a multiplicação de microrganismos é a temperatura. Os microrganismos podem multiplicar-se em uma faixa bastante ampla de temperatura, havendo registro de multiplicação a um mínimo de $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ e um máximo de $90\text{ }^{\circ}\text{C}$. Portanto, é essencial o controle da temperatura ao longo de toda cadeia de frio, caso contrário pode ocorrer o desenvolvimento microbiano rápido, diminuindo a vida útil do produto e podendo colocar em risco a saúde do consumidor (MASSAGUER, 2005).

Alguns métodos de embalagem são utilizados para estender a vida útil de produtos cárneos através da alteração do ambiente interno da embalagem, que podem afetar a qualidade do produto embalado (LI et al., 2012).

A embalagem a vácuo e ATM são tecnologias de preservação que, associadas com baixa temperatura, são capazes de inibir o crescimento de microrganismos responsáveis pela deterioração do produto (CORTEZ-VEGA et al., 2012).

A embalagem a vácuo vem sendo utilizada para aumentar a vida útil dos produtos cárneos, através da remoção do ar, inibindo o crescimento de microrganismos aeróbios, oxidação, alteração na cor e mantendo as características sensoriais do produto (CHURCH e PARSONS, 1995; CAYRÉ et al., 2005; DEGIRMENCIOGLU et al., 2012).

A utilização de embalagens com atmosfera modificada (ATM) vem se apresentando muito eficiente, principalmente para o acondicionamento de carnes frescas. É uma tecnologia que substitui os métodos de conservação tradicionais, tais como os que alteram fisicamente e quimicamente os alimentos, por um método menos severo em que o alimento é acondicionado em uma embalagem cuja atmosfera que envolve o produto é alterada e a carne conserva a aparência de frescor (GUERREIRO, 2006; TRINDADE et al., 2009; LATOU et al., 2014).

A escolha da mistura de gases é influenciada pelos microrganismos que podem se desenvolver no produto a ser embalado. Os gases normalmente utilizados na composição da nova atmosfera são: nitrogênio (N_2); oxigênio (O_2) e dióxido de carbono (CO_2). De acordo com a literatura, a inibição do crescimento de microrganismos em alimentos utilizando-se ATM é condicionada pela concentração de CO_2 dissolvida no produto (CHURCH, 1994; DEVLIEGHIERE e DEBEVERE, 2000; FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2013).

O tempo de vida útil é um atributo importante para os alimentos, sendo que a perda de qualidade sensorial devido a alterações

físico-químicas pode ocorrer por fatores como oxidação lipídica e crescimento de microrganismos deteriorantes. Do ponto de vista microbiológico, o tempo de vida útil pode ser definido como o tempo em que a população microbiana atinge uma determinada concentração.

Os modelos matemáticos são uma importante ferramenta para avaliar o crescimento microbiano em alimentos. Os modelos de microbiologia preditiva têm sido amplamente utilizados e validados para meios sintéticos, e também podem ser utilizados e validados para alimentos armazenados em condições reais. Para isso, entretanto, é necessário considerar no modelo o efeito das mudanças das variáveis externas sobre o crescimento microbiano, como a variação da temperatura com o tempo, por exemplo. O objetivo dessa avaliação é obter predições do crescimento microbiano e da vida útil de alimentos com maior exatidão (CAYRÉ et al., 2003; ZURERA-COSANO et al., 2006).

A necessidade de garantir a segurança microbiológica e a qualidade dos alimentos tem estimulado a aplicação da microbiologia preditiva. O interesse pelo uso de modelos matemáticos tem aumentado, pois podem descrever parâmetros para definir as características de crescimento de microrganismos. Os modelos matemáticos facilitam a comparação de condições de armazenamento e podem levar à predição do crescimento de microrganismos dentro da faixa de condições estudadas. A temperatura é o fator mais importante dentro da produção, armazenamento e distribuição de alimentos, sendo susceptível a variações ao longo da cadeia. Em função dessa variação, tem sido reportado pela literatura a utilização de modelos dinâmicos que permitem prever a vida útil dos alimentos sob variação de temperatura (VAN IMPE et al. 1995; BARANYI et al., 1995; CAYRÉ, 2003; FUJIKAWA et al., 2004; JUNEJA et al., 2007).

Considerando que a temperatura e a composição da atmosfera gasosa, entre outros parâmetros, nem sempre se mantêm constantes durante a estocagem e distribuição de alimentos refrigerados e que a temperatura é o fator ambiental mais importante que afeta o crescimento das bactérias em alimentos, nos últimos anos a modelagem matemática está orientada para obtenção de modelos dinâmicos, ou seja, modelos que permitam prever a vida útil dos alimentos sob condições que variam com o tempo, principalmente condições não isotérmicas (BARANYI e ROBERTS, 1994; YAGHLENE et al., 2009).

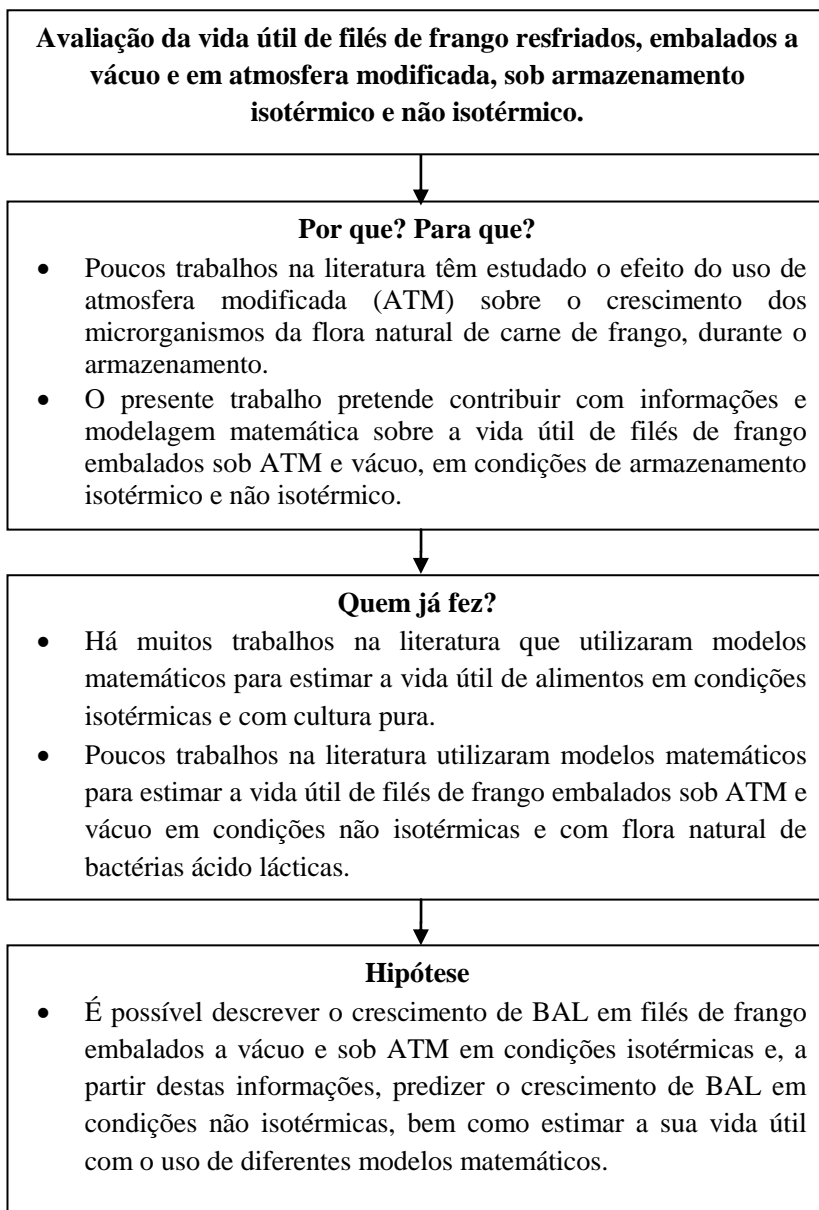
Neste contexto, o objetivo geral deste trabalho foi avaliar e modelar a vida útil de filés de frango, resfriados e armazenados sob condições isotérmicas e não isotérmicas através de análise

microbiológica de BAL, comparando-se as tecnologias de embalagem a vácuo e sob ATM.

Os objetivos específicos foram:

1. Determinar a vida útil de filés de frango filés de frango, nas temperaturas de 4 e 12 °C;
2. Determinar a vida útil de filés de frango resfriados embalados a vácuo e ATM nas concentrações de gases de 50 % de CO₂ e 50 % de N₂, nas temperaturas de 1, 4, 8, 12 e 20 °C, pelo acompanhamento e modelagem primária do crescimento de BAL nestas condições;
3. Ajustar e selecionar modelos secundários de crescimento para descrever a influência das temperaturas isotérmicas sobre os parâmetros de crescimento de BAL e vida útil do produto;
4. A partir das condições isotérmicas estudadas, propor um modelo não isotérmico e validá-lo com o levantamento de dados experimentais obtidos sob vácuo e atmosfera modificada;
5. Escolher, entre as tecnologias utilizadas, a melhor alternativa para o aumento da vida útil de filés de frango resfriado.

1.1 DIAGRAMA CONCEITUAL DO TRABALHO



Metodologia Científica

- Incubação de filés de frango naturalmente contaminados com BAL em embalagens a vácuo e sob ATM em diferentes temperaturas para obtenção de dados experimentais do crescimento das BAL, em condições isotérmicas;
- Ajuste dos modelos primários de Baranyi e Roberts, e Gompertz modificado aos dados experimentais do crescimento de BAL para obtenção dos parâmetros dos modelos;
- Ajuste e seleção de modelos secundários apropriados para descrever a dependência dos parâmetros dos modelos primários com a temperatura;
- Simulação do crescimento de BAL em filés de frango embalados a vácuo e sob ATM com os modelos matemáticos, em condições não isotérmicas;
- Incubação de filés de peito de frango naturalmente contaminados com BAL em embalagens a vácuo e sob ATM para obtenção de dados experimentais do crescimento das BAL, em condições não isotérmicas;
- Comparação entre os resultados da simulação do crescimento de BAL em condições não isotérmicas e dos dados experimentais obtidos, e validação dos modelos matemáticos utilizando índices estatísticos (como RMSE, fator Bias e fator exatidão) como indicadores.



Respostas

- Modelos matemáticos capazes de descrever o crescimento de BAL em filés de frango embalados a vácuo e com ATM em condições isotérmicas e de prever o crescimento de BAL em condições nãoisotérmicas, além de estimar a vida útil dos filés de peito de frango.

2. REVISÃO

2.1. AVICULTURA BRASILEIRA

De acordo com o Ministério do Desenvolvimento Indústria e Comércio (MDIC, 2011), o setor de carne é destaque na diferenciação e segmentação de mercados, sendo uma das áreas do agronegócio brasileiro com maior dinâmica tecnológica e de conhecimento. O Brasil consolidou-se como um dos grandes fornecedores de proteína animal para o mundo, e a indústria frigorífica nacional é um dos setores mais promissores da economia agroexportadora do país.

De acordo com a União Brasileira de Avicultura (UBA, 2012), o principal cliente da carne de frango produzida pela indústria brasileira nacional é o consumidor brasileiro (69 % do total), que consome os produtos com os mesmos padrões de qualidade dos destinados ao mercado externo.

Segundo dados da FAESP/ SENAR (2013), estima-se que a produção nacional de carne de frango passe de 13,2 milhões de toneladas na safra atual para até 23,7 milhões de toneladas em dez anos, o que representa aumento de 79,2 %. No caso da carne bovina, deve passar de 8,4 milhões de toneladas para até 13,6 milhões de toneladas (61,5 % de aumento), enquanto a carne suína pode passar de 3,3 milhões de toneladas para até 5,3 milhões de toneladas (aumento de 56,2 %).

Em relação ao consumo mundial, em uma década as carnes de frango poderão estar na liderança do consumo, com participação de 37 % no total de carnes consumidas, enquanto a participação da carne suína tende a recuar para 36 %. No Brasil, a previsão aponta que na safra de 2022/ 2023 o consumo interno não apresentará mudanças significativas, passando o consumo de frango para cerca de 59 %, o de produtos de origem bovina para 82,7 %, e suína, 84 % (FAESP/ SENAR, 2013; SUPERFRANGO, 2013).

A carne de frango é um alimento saudável altamente nutritivo. Uma porção de 100 gramas de filé de peito sem pele contém 110 calorias e 23 gramas de proteína, que equivalem a 46 % das necessidades de proteína diárias. Em função de conter menos gordura

saturada que a carne vermelha, é recomendado seu consumo pelos profissionais da saúde (MENDES, 2002).

A carne de frango pode ser comercializada na forma refrigerada ou congelada. Em geral, na forma de carcaças inteiras evisceradas ou cortes como coxa, sobrecoxa, peito, asas e na forma de filés de peito ou de coxa (CONTRERAS et al. 2002).

Ao Brasil cabe através do Ministério da Agricultura controlar e regulamentar as exportações de produtos de origem animal, atestando sua qualidade e segurança, através das secretarias de agricultura estaduais, com o objetivo de atender a legislação e inspeção sanitária brasileira, bem como as normas exigidas pelo país importador. Dessa forma, o frango brasileiro continuará sendo cada vez mais reconhecido em seus diversos atributos (UBA, 2012; BRASIL, 2014).

2.2. ALTERAÇÕES DAS CARNES

A carne apresenta uma composição química favorável ao crescimento de microrganismos. Apresenta alta atividade de água, é um alimento rico em substâncias nitrogenadas e minerais. Além disso, o pH é favorável para a maioria dos microrganismos (FRANCO e LANDGRAF, 2005).

A deterioração da carne é fortemente determinada pelo crescimento de bactérias em sua superfície, porque o tecido interno do músculo é considerado estéril até o momento do corte. Os tipos de microrganismos deteriorantes que se desenvolvem em carnes resfriadas são determinados pelas condições de estocagem (HOLLEY et al., 2004; GILL e GILL, 2005).

A deterioração é a maior responsável pelas perdas econômicas nas indústrias processadoras de carne e de produtos derivados (GALLO NETTO, 2009). Os microrganismos mais importantes na alteração dos produtos proteicos são aqueles que crescem em temperaturas nas faixas de mesofilia (22 °C a 45 °C) e psicofilia (-15 °C a 22 °C), incluindo o grupo dos psicrotróficos cuja faixa de crescimento é mais ampla, aumentando o seu poder de deterioração (-5 °C a 45 °C) em carne de frango, pescado, ovos e outros. Além da produção enzimática que

propicia a deterioração, os microrganismos produzem uma série de substâncias decorrentes da multiplicação, como os pigmentos responsáveis por algumas alterações de cor, ácidos, gases, substâncias alcalinizantes e substâncias fétidas (JÚNIOR e PANETTA, 1992; FRANCO e LANDGRAF, 2005).

A durabilidade e a qualidade da carne de frango são influenciadas por vários fatores internos e externos. A temperatura é um desses fatores e a refrigeração é um método de conservação, com objetivo de reduzir o desenvolvimento microbiano, impedindo que de certa forma eles se desenvolvam de forma a não provocar danos, mantendo a qualidade original do alimento. A aplicação de baixas temperaturas em carnes, como conservação por congelamento, tem como objetivo manter a qualidade organoléptica e nutritiva, além de reduzir ou cessar a velocidade da deterioração causadas por microrganismos, reações enzimáticas e químicas. As técnicas de refrigeração e congelamento tem como vantagem aumentar o tempo da vida útil dos alimentos (HOOPS e ROBERTS, 1999; VIEIRA, 2007; PINTO e NEVES, 2010).

2.3. IMPORTÂNCIA DAS BACTÉRIAS ÁCIDO LÁCTICAS

As bactérias lácticas são Gram-positivas, destituídas de citocromo, anaeróbias facultativas, microaerófilas (toleram oxigênio), podem ser cocos ou bacilos não esporulados, e produzem catalase negativa. Estas bactérias ainda são imóveis, e obtêm sua energia pela fermentação da glicose, produzindo ácido láctico como maior produto da fermentação. A geração de ATP é pela via fermentativa e sua energia não é obtida mediante a respiração (MASSAGUER, 2005; EVANGELISTA, 2005).

As BAL são mesófilas (com algumas linhagens termófilas), se desenvolvem em uma faixa de temperatura 25 a 40 °C (temperatura ótima de crescimento) podem tolerar temperaturas mínimas 5 a 25 °C e máximas de 40 e 50 °C, incluindo os microrganismos patogênicos. Esses microrganismos são ácido tolerantes e podem crescer em valores de pH baixos de 3,2, e valores altos como 9,6 e sobreviveriam

naturalmente em pH entre 4,0 até 4,5 (FORSYTHE, 2002; RAMIREZ et al., 2011).

A temperatura, a atividade de água, a disponibilidade de oxigênio e a quantidade e o tipo de microrganismos influenciam no desenvolvimento de bactérias nas carnes. A temperatura é um dos fatores mais importantes que influenciam no crescimento de bactérias em carnes e produtos cárneos (BORCH et al., 1996; LABADIE, 1999; CAYRÉ et al., 2003).

De acordo com Perez (2003), as BAL são os principais microrganismos que alteram os produtos cárneos embalados em atmosfera de microaerofilia. Também se pode destacar lactobacilos heterofermentativos e *Leuconostoc* como sendo responsáveis pelas alterações encontradas em produtos cárneos cozidos embalados a vácuo. A deterioração causada por estas bactérias é primordialmente devido à produção de metabólitos que causam mudanças indesejáveis na aparência, textura e *flavor* do alimento, produzindo odores e sabores desagradáveis, além de formar limo na superfície dos produtos (BORCH et al., 1996; SAMELIS et al., 2000; CAYRÉ et al., 2003; NYCHAS et al., 2008).

As BAL constituem uma parte substancial da microflora natural responsáveis pela deterioração e podem crescer em altas concentrações de CO₂ e em condições de vácuo (KARABAGIAS et al., 2011).

2.4. VIDA ÚTIL DE CARNE FRESCA

O tempo de vida útil é um atributo importante de todos os alimentos. Pode ser definido como o tempo que se passa desde a produção, embalagem até o ponto em que o alimento se torna inaceitável para o consumo (FORSYTHE, 2002; SINGH e SINGH, 2005).

A microflora da deterioração de carne é muito complexa, depende de fatores como a velocidade de resfriamento e a temperatura. Alguns critérios objetivos para uma boa aceitação incluem itens como: a aparência, capacidade de retenção de água, parâmetros sensoriais, como cor, sabor e textura (ZHAO et al., 1994). O aparecimento de limo e odores inviabilizam o consumo para o ser humano (DJENANE et al.,

2005; KOUTSOUMANIS et al., 2006; ERCOLINI et al., 2006, IRKIN et al., 2011).

A carga inicial de microrganismos em carcaças durante evisceração varia na faixa de 10^2 a 10^4 UFC/g, o nível crítico estabelecido para a deterioração de carne, é de 10^6 a 10^7 UFC/g (DJENANE et al., 2005; BERRUGA et al., 2005; IRKIN et al., 2011).

Latou et al. (2014), pesquisando a vida útil de peito de frango combinado com ATM, comparado com vácuo e ar encontraram resultados de contagem de BAL na faixa de 10^3 a 10^4 UFC/g e evidenciaram que, em relação às características organolépticas (sabor e odor), o produto estava inadequado para o consumo.

A vida útil de alimentos embalados é influenciada pelas propriedades dos alimentos (incluindo a atividade de água, o pH, enzimas e microrganismos e os requerimentos de oxigênio, luz, dióxido de carbono e umidade ou sensibilidade a esses elementos) e pelas propriedades de barreira da embalagem (FELLOWS, 2006; LATOU et al., 2014).

O princípio da utilização de baixas temperaturas retarda a atividade microbiana, bem como as reações químicas e enzimáticas que causam alterações. A velocidade de tais alterações é diretamente proporcional à temperatura da carne (a relação não é totalmente linear e varia nas diferentes reações). Na refrigeração de carnes, empregam-se temperaturas de -1 a 5 °C (ROÇA, 2000).

A cadeia do frio relaciona-se com a qualidade do produto final sob dois diferentes aspectos, porém complementares. O primeiro é a contaminação microbiológica dos alimentos e o risco associado à saúde humana. O segundo está relacionado com as características organolépticas e sensoriais do produto final (BORRÉ e AGITO, 2005).

2.5. IMPORTÂNCIA DA EMBALAGEM NA PROTEÇÃO DE ALIMENTOS

A embalagem para alimentos, de acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – (BRASIL, 2013), é o artigo que está em contato direto com alimentos, destinado a contê-los, desde a sua fabricação até a sua entrega ao consumidor, com a finalidade de protegê-

los de agentes externos, de alterações e de contaminações, assim como de adulterações.

A embalagem influencia a qualidade e durabilidade de carnes de aves frescas, pois altera o ambiente ao redor do produto, criando condições que retardam as reações de deterioração. A embalagem previne a evaporação da umidade do produto evitando perdas de massa e alterações de aparência, textura e aroma (SARANTÓPOULOS, et. al., 1991; BRODY et al., 2008).

As principais funções da embalagem são: proteger o produto de possíveis contaminações, perdas danos ou degradação, identificar: o conteúdo, o fabricante e o padrão de qualidade do produto, induzir o consumidor a adquirir o produto, facilitar o transporte e a distribuição, instruir o consumidor para utilização no prazo de validade (LAUTENSCHÄGER, 2001; BRODY et al., 2008).

Os avanços tecnológicos verificados nos processos de acondicionamento de alimentos e nos materiais de embalagem têm sido, em parte, decorrente das exigências impostas pelos novos hábitos de consumo, caracterizado por maior exigência por qualidade, menor custo, maior conveniência de preparo, menores porções e maior período de durabilidade do produto. Os novos avanços têm focado muito no retardamento da oxidação, controle da migração da umidade, crescimento de microrganismos, taxa de respiração e volatilização de *flavor* e aroma (SARANTÓPOULOS e ANTONIO, 2006; BRODY et al., 2008).

2.5.1. Embalagem a vácuo

A embalagem a vácuo, com baixa permeabilidade ao oxigênio, é uma técnica utilizada para aumentar a vida útil de alimentos perecíveis, tais como cortes de carne fresca. O oxigênio favorece o crescimento de microrganismos aeróbios de alto potencial de deterioração que alteram o odor, a cor e a aparência dos produtos cárneos, acarreta na rancidez oxidativa das gorduras, causa alterações nos pigmentos da carne e destrói algumas vitaminas e aromas. A deterioração em baixa temperatura de cortes de carne fresca em contato

com o ar difere consideravelmente da embalada a vácuo, embora em ambos os casos a deterioração ocorra principalmente na superfície do produto (GIANNUZZI et al., 1998; OSMANAGAOGLU, 2002; BRESSAN, 2007).

Na utilização da embalagem a vácuo, altera-se radicalmente a atmosfera gasosa ao seu redor. A pequena quantidade de oxigênio remanescente no interior da embalagem é consumida pela atividade metabólica da carne e das bactérias, criando-se, assim, um microssistema anaeróbio/microaeróbio dentro da embalagem, que, auxiliado pelo efeito inibitório do CO₂ liberado na respiração de microrganismos, retarda o crescimento de bactérias deterioradoras, como as *Pseudomonas*, permitindo a predominância de BAL, que têm menor potencial de deterioração e crescimento limitado a baixas temperaturas. O resultado é uma vida útil mais longa do que a produto exposto ao ar, principalmente, se a estocagem for feita na faixa de 0 a 3 °C (GILL, 1990; SARANTÓPOULOS e ANTONIO, 2006).

No Brasil, existe uma tendência de crescimento no mercado de carnes de aves frescas embaladas a vácuo. Esse sistema de embalagem é mais utilizado no mercado institucional para distribuição de peças inteiras. No varejo é mais utilizada para cortes de carne para churrasco (SARANTÓPOULOS, et. al., 2001).

Nas embalagens de carnes frescas sob vácuo, alguns parâmetros devem ser analisados, pois influenciam diretamente na vida útil do produto:

- Taxas de permeabilidade ao oxigênio do material, pois a entrada de pequena quantidade de oxigênio na embalagem gera uma pressão parcial baixa deste gás que favorece a formação de metamioglobina, de coloração cinza amarronzada, de forma irreversível;
- “Aderência” da embalagem ao produto, que é desejável para minimizar a exsudação de líquidos da carne, que causa perda de suculência, prejudica a aparência e favorece a deterioração microbiológica;
- Nível de vácuo aplicado no interior da embalagem, que definirá o teor de oxigênio residual na embalagem em contato com o produto e conseqüente alteração de cor do pigmento;

- Temperatura de estocagem, que irá reger a velocidade das deteriorações microbiológicas e de coloração. Para carnes frescas, recomenda-se manter a temperatura de estocagem em uma faixa de -1 a 2 °C (SARANTÓPOULOS et al., 2001).

As embalagens a vácuo mais utilizadas são as de múltiplas camadas, porque materiais constituídos por um único polímero não satisfazem simultaneamente a todas as exigências. A estrutura mais comumente empregada é composta por PA/PEBD (Poliamida/ Polietileno de baixa densidade), porém há outras combinações disponíveis comercialmente. Resinas como o EVOH (Etileno vinil álcool), PVDC (Cloro de polivinilideno), PA e PET (Politereftalato de etileno) funcionam na estrutura como barreira ao oxigênio; PA e PET conferem resistência mecânica, e o PVDC e as poliolefinas de camada selante apresentam boas propriedades de barreira ao vapor de água. Já a camada interna termosselante pode ser de PEBD, EVA (Etileno-vinil acetato), PELBD (Polietileno linear de baixa densidade) ou ionômero (SARANTÓPOULOS, 1994).

Os dois métodos comumente utilizados pela indústria de alimentos para modificar a atmosfera de gás dentro da embalagem são relacionados à utilização do vácuo e à introdução de gás. Na embalagem a vácuo, o produto é envolvido em um filme com baixa permeabilidade ao oxigênio, com remoção de ar da embalagem e a aplicação de uma vedação hermética. Sob boas condições de vácuo, o espaço livre do oxigênio é reduzido para menos do que 1 %, enquanto os níveis de dióxido de carbono, produzidos a partir da respiração microbiana, aumentam de 10 a 20 % no espaço livre do pacote. A embalagem com utilização de gás é simplesmente uma extensão da tecnologia da embalagem a vácuo. A técnica envolve a remoção ar da embalagem e substituição por uma mistura de gases (SMITH et. al., 1990; SMITH e DAY, 2003).

2.5.2. Embalagem em atmosfera modificada

Devido ao constante crescimento da consciência do consumidor sobre a relação entre alimentação e saúde para conservar os alimentos usando conservantes naturais e tecnologias, existe uma tendência no setor de alimentos de substituição dos métodos de preservação que alteram química e fisicamente os alimentos para métodos menos severos. A resposta das indústrias de alimentos tem sido investir em novas tecnologias que satisfaçam essa demanda. Por isso, tem sido dada grande atenção ao acondicionamento em atmosfera modificada porque atende à crescente demanda dos consumidores por alimentos frescos e de boa qualidade, com maior vida útil, porém, sem conservantes e aditivos (MACEDO, et al., 2009, MEXIS, et al., 2012).

A embalagem em atmosfera modificada (ATM) é reconhecida como uma das aplicações mais eficazes para a extensão da vida útil de produtos frescos e é amplamente utilizado pela indústria de carne. A eficácia da ATM no prolongamento da vida de útil de carne é baseada na atividade antimicrobiana do CO₂. O período de estocagem dos alimentos é consideravelmente prolongado pela modificação da atmosfera que circunda o produto que diminui a atividade metabólica dos microrganismos presentes (JAYAS et al., 2002; KOUTSOUMANIS et al., 2008).

As atmosferas modificadas usadas combinam concentrações diferentes de oxigênio (O₂), dióxido de carbono (CO₂) e nitrogênio (N₂) para manter a aparência de carne fresca e de coloração vermelha, tanto sob o ponto de vista microbiológico como organoléptico, e cada um desses gases possui participação específica na extensão da vida útil do produto (ZHAO et al. 1994; CORTEZ-VEGA et al., 2012).

Segundo Mancini e Hunt (2005), o foco das pesquisas está em descobrir qual a melhor mistura destes gases nas embalagens, com a qual será mantida a cor inicial da carne, a estabilidade desta cor e o tempo de vida deste produto, retardando o crescimento bacteriano e a oxidação lipídica.

Na Tabela 2.1 são apresentadas a vida útil de vários tipos de alimentos embalados com ar e com gás (LINDE, 2012).

Tabela 2.1 Comparação da vida útil para produtos embalados em ar e com gás armazenadas sob refrigeração (0 a 4 °C).

Produto	Vida útil em ar	Vida útil com gás	Mistura de gases
Carne crua vermelha	2 a 4 dias	5 a 8 dias	60 a 80 % de O ₂ + 20 a 40 % de CO ₂
Aves cruas brancas	4 a 7 dias	16 a 21 dias	40 a 100 % de CO ₂ + 0 a 60 % de N ₂
Aves cruas escuras	3 a 5 dias	7 a 14 dias	70 % de O ₂ + 30 % de CO ₂
Salsichas	2 a 4 dias	2 a 5 semanas	20 a 30 % de CO ₂ + 70 a 80 % de N ₂
Carne cozida em fatias	2 a 4 dias	2 a 5 semanas	30 % de CO ₂ + 70 % de N ₂
Peixe cru	2 a 3 dias	5 a 9 dias	40 a 90 % de CO ₂ + 10 % de O ₂ + 0 a 50 % de N ₂
Peixe cozido	2 a 4 dias	3 a 4 semanas	30 % de CO ₂ + 70 % de N ₂

Fonte: LINDE, 2012.

O dióxido de carbono é o gás mais importante no campo da tecnologia de atmosfera modificada, pois a maioria dos microrganismos como fungos e as bactérias aeróbicas mais comuns são fortemente afetadas pelo dióxido de carbono. O crescimento de microrganismos anaeróbicos, por outro lado, é menos afetado por essa atmosfera gasosa. O dióxido de carbono inibe a atividade microbiana dissolvendo-se eficazmente na fase líquida e gordura do alimento, deste modo reduzindo seu pH, e penetrando nas membranas biológicas, causando alterações na permeabilidade (FLOROS e MATSOS, 2005; LINDE, 2012; NEHLAWI, 2013). Desta forma, a embalagem flexível tende a colapsar sobre o alimento a medida que o CO₂ for sendo absorvido (PARRY 1993; SARANTÓPOULOS e ANTONIO, 2006).

O efeito bacteriostático do uso ATM está relacionado com o CO₂ que é influenciado por fatores como: carga microbiana inicial, pela temperatura de estocagem e o tipo de produto embalado. A eficácia de embalagem ATM é geralmente determinada pela quantidade de CO₂ dissolvido no produto embalado, a pressão parcial do gás no interior da embalagem e o grau de enchimento (isto é, o volume do produto em relação ao volume da embalagem). Um grau de enchimento de 25 % é

recomendado para embalagens em ATM para carnes (CHURCH, 1995; GILL, 1996).

A concentração ótima de CO₂ para um aumento na vida útil não foi estabelecida mas a literatura indica que um aumento na concentração inicial de CO₂ estende a vida útil de carnes (HOTCHKISS e LANGSTON 1995; ROTABAKK et al., 2005).

A concentração do CO₂ abaixo de 20 % pode não inibir o crescimento de microrganismos de forma efetiva de 20 a 30 %, aumenta linearmente sua efetividade e na faixa de 50 a 60 % o seu efeito é menor, além disso, na concentração de 40 % poderá ocorrer colapso da embalagem, em função da dissolução do CO₂ em água e gordura. O efeito inibitório do CO₂ ao crescimento microbiano aumenta com a diminuição da temperatura da carne devido ao aumento da solubilidade (McMILLIN et al., 1999; FLOROS e MATSOS, 2005; McMILLIN, 2008; LORENZO e GOMES, 2012).

O nitrogênio é um gás inerte. É principalmente utilizado para substituir o oxigênio na embalagem e, desse modo, prevenir a oxidação. Devido à sua baixa solubilidade em água, o nitrogênio também ajuda a prevenir o colapso da embalagem mantendo o volume interno (LINDE, 2012).

Para a maioria dos alimentos, a embalagem deve conter o mínimo de oxigênio possível para retardar o crescimento de microrganismos aeróbicos e reduzir o grau de oxidação (SPENCER, 2005; LINDE, 2012).

As vantagens da utilização de atmosfera modificada consistem em: aumento da vida útil do produto; possibilidade de comercialização de produtos de alta qualidade, onde se conserva a cor, o aroma e o frescor dos alimentos; redução de perdas na distribuição; possibilidade de economia (redução de manuseio e distribuição de produtos inadequados para a venda); aumento da margem de lucro; melhor apresentação do produto e a eliminação ou redução de conservantes e outras (CHURCH, 1994; SARANTÓPOULOS et al., 1996; EMPLAL, 2010).

Como toda tecnologia, a utilização de embalagem em atmosfera modificada apresenta desvantagens. Dentre as desvantagens podemos citar: o custo adicional com embalagem, equipamentos e gases. Além disso, a tecnologia não substitui o controle rígido de temperatura refrigerada na estocagem, distribuição e venda (SARANTÓPOULOS et al., 1996; SCHMIDT, 2002).

2.5.3. Solubilidade do CO₂

A inibição do crescimento dos microrganismos em alimentos sob ATM é significativamente condicionada pela concentração de CO₂ dissolvido no produto. Contudo, o CO₂ é altamente solúvel em água e gordura. Dessa forma, quando é aplicado uma alta concentração em carne utilizando um sistema de embalagem flexível, o gás é absorvido pelo tecido muscular e adiposo até que o equilíbrio seja atingido (NEHLAWI et al., 2013).

A efetividade da embalagem sob ATM é geralmente determinada pela quantidade de CO₂ disponível. O CO₂ dissolvido na parte aquosa do produto em embalagem sob ATM resulta em uma contração de volume em embalagem flexível. O colapso da embalagem é reduzido baixando-se a pressão parcial do CO₂ com a introdução de gases com significativamente menor solubilidade, como o N₂ e O₂. Uma outra forma de evitar o colapso da embalagem é dissolver o oxigênio dentro do produto antes de embalar. Isso é possível porque a solubilidade do CO₂ aumenta a baixas temperaturas e altas pressões parcial e total do gás (GILL, 1988; ROTABAKK, et al., 2008).

2.6. MICROBIOLOGIA PREDITIVA

O principal objetivo da microbiologia preditiva é prever através de modelos matemáticos o comportamento dos microrganismos, tais como: crescimento, sobrevivência, inativação e o efeito de suas interações relacionadas com fatores ambientais como temperatura, atmosfera modificada (extrínsecos), pH e atividade de água (intrínsecos) (McDONALD e SUN, 1999; CAYRÉ et al., 2005).

Os modelos matemáticos têm sido analisados sob dois aspectos principais:

Modelo Probabilístico: Os modelos probabilísticos correspondem a modelos para prever a probabilidade de algum evento, como por exemplo, a germinação de esporos ou a formação de uma quantidade de toxina detectável, em um determinado período de tempo.

Modelos Cinéticos: correspondem à modelagem da extensão e velocidade de crescimento ou de destruição de microrganismos de interesse (NAKASHIMA et al., 2000).

Estes modelos poderiam ser do tipo empírico (descrevem um conjunto de dados através de relação matemática conveniente), ou determinístico (fornecem interpretação dos parâmetros em termos de fenômenos e processos conhecidos) (McMEEKIN, et al., 1993). A

resposta microbiana poderia ser completamente descrita mediante uma combinação de ambos.

Como os modelos preditivos são classificados de acordo com o comportamento da população que descrevem, existem modelos de crescimento, de inativação (WHITING, 1995; McMEEKIN e ROSS, 2002) e de limites ou interface de crescimento (modelos cresce-não-cresce) (McMEEKIN e ROSS, 2002).

Whiting e Buchanan (1993) propuseram uma classificação dos modelos matemáticos utilizados na microbiologia preditiva, onde os modelos são divididos em primários, secundários e terciários. De acordo com Whiting (1995), os modelos primários e secundários podem ser lineares ou não lineares; segregados, quando a população é definida por células heterogêneas, ou não segregados, quando a população é definida por uma população média de células; estruturado, quando é formado por vários componentes, ou não estruturado, quando é formado por um único componente. Os modelos terciários utilizam rotina de *software* combinando o uso de modelos primários e secundários na forma de aplicativos.

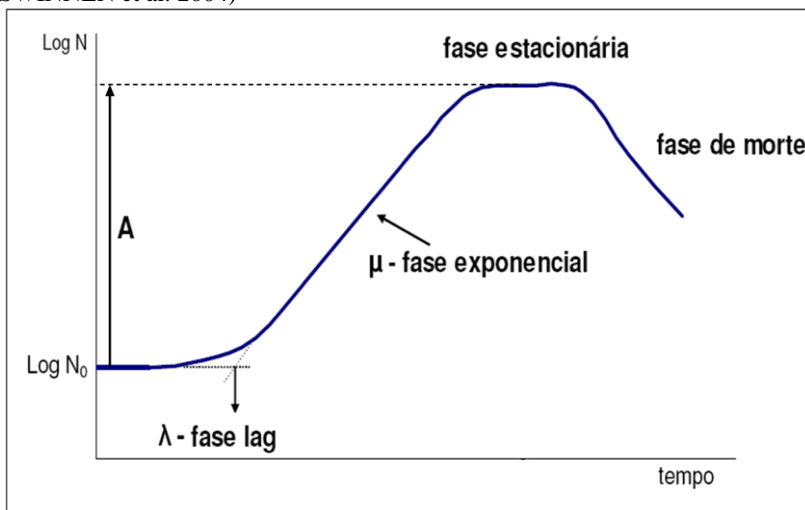
2.6.1. Modelos Primários

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

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

Os parâmetros obtidos pelos modelos primários mais conhecidos são: λ - duração da fase lag (horas), μ_{\max} - velocidade específica máxima de crescimento (horas^{-1}) e A - aumento logarítmico da população (UFC/g). Estes parâmetros podem ser visualizados na Figura 2.1.

Figura 2.1 Curva típica de crescimento microbiano (VAN IMPE et al. 1995; SWINNEN et al. 2004)



Os principais modelos primários de crescimento são: modelo de Gompertz ou Gompertz modificado, modelo Logístico, modelo Logístico modificado, modelo de Baranyi e Roberts, e modelo linear de três fases, também conhecido como modelo de Buchanan.

2.6.1.1. Modelo de Gompertz

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

O modelo de Gompertz é dado pelas Equações 1, 2 e 3.

$$y = C. \exp\{\exp[-B. (t - M)]\} \quad (1)$$

$$\mu = B. \frac{C}{e} \quad (2)$$

$$\lambda = M - \left(\frac{1}{B}\right) \quad (3)$$

Onde:

$$y = \ln N/N_0$$

C, M e B = parâmetros do modelo;

μ = velocidade específica máxima de crescimento (h^{-1});
 λ = duração da fase lag (h);
 $e = 2,7182$
 t = tempo (h).

Zwietering, et al. (1990) propuseram a reparametrização com a introdução direta dos parâmetros cinéticos de crescimento velocidade específica máxima de crescimento (μ), duração da fase lag (λ) e aumento logarítmico da população (A) no modelo. Isto facilitou o encontro de valores iniciais e o cálculo de intervalos de confiança durante 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 modificado de Gompertz é estatisticamente suficientemente para descrever dados de crescimento e também o mais simples de se usar.

2.6.1.2. Modelo de Gompertz modificado

O Modelo de Gompertz modificado, está representada na Equação 4

$$y = A \cdot \exp \left[- \exp \left(\frac{\mu e}{A} \cdot (\lambda - t) + 1 \right) \right] \quad (4)$$

Onde:

$y = \ln N$;

A = aumento logarítmico da população;

μ = velocidade específica máxima de crescimento (dia^{-1})

λ = duração da fase lag (dia);

t = tempo (dia);

$e = 2,7182$

2.6.1.3. Modelo Logístico

As curvas de crescimento microbiano são geralmente bem descritas pelo modelo Logístico (VADASZ et al., 2001). Uma curva de crescimento obtida por este modelo é sigmoideal em um plano cartesiano ordinário (FUJIKAWA et al., 2004).

O Modelo Logístico pode ser representado pelas Equações: 5, 6 e 7.

$$y = \frac{A}{(1 + \exp(D - F \cdot t))} \quad (5)$$

Sendo

$$\mu = C \cdot \frac{F}{4} \quad (6)$$

$$\lambda = D - \frac{2}{F} \quad (7)$$

Onde:

$y = \log(N)$

$A =$ aumento logarítmico da população;

$C, D, F =$ parâmetros do modelo;

$\mu =$ velocidade específica máxima de crescimento (dia^{-1});

$\lambda =$ duração da fase lag (dia);

2.6.1.4. Modelo de Baranyi e Roberts

Para fornecer uma base mais mecanística e biológica aos modelos de crescimento, Baranyi e Roberts (1994) propuseram um modelo que incluiu uma fase de crescimento exponencial linear e uma fase lag determinada por uma função de ajuste. A equação proposta por Baranyi e Roberts (1994) está demonstrada na Equação 8:

$$y(t) = y_0 + \mu_{\max} A(t) - \ln \left(1 + \frac{e^{\mu_{\max} A(t)} - 1}{e^{y_{\max} - y_0}} \right) \quad (8)$$

Onde:

$y(t) =$ concentração de células no tempo (t);

$y_0 =$ concentração inicial de células no tempo 0 ($t=0$);

$y_{\max} =$ concentração máxima de células (UFC/g);

$\mu_{\max} =$ velocidade máxima de crescimento (dia^{-1});

O valor do tempo de adaptação é calculado pela Equação 9:

$$\lambda = \frac{\ln(1 + 1/q_0)}{v} \quad (9)$$

O coeficiente, q_0 , é representado por $q_0 = P_0/K_p$, que expressa o estado fisiológico do inóculo. Onde P_0 é a concentração de células no início do crescimento, e K_p é a constante de Michaelis-Menten.

O valor da velocidade específica do crescimento é representado pela Equação 10.

$$\mu(t) = \frac{d(\ln(t))}{dt} \quad (10)$$

Onde $\mu(t)$ representa a concentração celular bacteriana aumentando em função do tempo.

A função $A(t)$ é expressa pela Equação 11.

$$A(t) = \frac{\ln(e^{-\mu t} + e^{-h_0} - e^{-\nu t - h_0})}{\mu_{\max}}, \text{ para } h_0 = -\ln \alpha_0 \quad (11)$$

Onde o parâmetro α_0 é chamado de estado fisiológico das células no tempo $t = t_0$. Consequentemente, h_0 é utilizado para caracterizar o estado fisiológico inicial da célula. Além de apresentar várias vantagens computacionais quando comparado a outras funções sigmóides, o uso principal deste modelo é prever a resposta de crescimento bacteriano mesmo com alteração de temperatura durante a fase lag e estacionária. Enfim, esta função considera as características do meio e do microrganismo em questão; critério importante devido às influências dos diferentes fatores ou variáveis que provocam mudanças no meio e no metabolismo do microrganismo de forma mais completa que a equação de Gompertz (PEÑA, 2005).

O modelo de Baranyi e Roberts (1994) pode ser comparado a uma série de equações diferenciais que ajustam um ambiente dinâmico, resultando em perfis de temperatura não-isotérmicos, desta forma o modelo pode ser utilizado para descrever comportamento de microrganismos em temperatura subótimas (McKELLAR e LU, 2004).

2.6.2. Modelos Secundários

Os modelos secundários são equações que descrevem como variam os parâmetros de crescimento dos modelos primários com a mudança de um ou mais fatores extrínsecos e intrínsecos, como temperatura, pH, atividade de água, entre outros (WHITING, 1995).

De acordo com McMeekin e Ross (2002), a modelagem secundária tem por objetivo considerar o efeito individual de cada fator, mas em diferentes situações, sendo necessário considerar a maneira pela qual diferentes fatores interagem restringindo o crescimento microbiano. Para Nakashima et al.(2000), o nível secundário da modelagem envolve

equações que descrevem como as respostas dos modelos primários (duração da fase de adaptação, velocidade de crescimento e densidade máxima da população), mudam com alterações de fatores ambientais.

O ajuste secundário pode ser modelado por qualquer equação que apresente o melhor ajuste para os dados experimentais, sem levar em conta o mecanismo, uma vez que a utilidade do modelo secundário é a descrição da variação dos parâmetros de interesse em função de fatores ambientais através de funções. Entretanto, ao utilizar modelos gerais, deve-se levar em consideração o comportamento da curva de crescimento. Sendo assim, diversas equações podem ser usadas, como por exemplo, linear (Equação 12) e exponencial (Equação 13).

$$k = b + rT \quad (12)$$

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

Quando um grupo específico de alimentos está sendo modelado, particularmente quando a temperatura for o fator primário de interesse, como é frequentemente o caso, estas equações podem ser baseadas nas equações de Arrhenius ou de Belehradek (modelo de raiz quadrada) (SKINNER e LERKIN, 1994) ou modelo de superfície de resposta (BUCHANAN e PHILIPS, 1990).

A equação de Arrhenius assume que a velocidade de crescimento é controlada pela velocidade limite de uma única reação enzimática. No modelo de Belehradek, é assumido que os fatores ambientais são independentes, ou seja, que não existe interação entre eles.

As equações de regressão polinomial não assumem nenhuma relação mecânica entre a variável dependente e a independente, neste caso, a equação representa o melhor ajuste a um conjunto de dados em particular. Quanto mais complexa a equação, com interações e termos quadráticos e cúbicos, mais flexível a superfície multidimensional e melhor o ajuste da equação aos dados de origem (WHITING e BUCHANAN, 1997). Deve-se considerar, entretanto, a parcimônia do modelo.

2.6.2.1. Modelo de Belehradek ou raiz quadrada

Em 1982, Ratkowsky apresentou um modelo simples para descrever a velocidade de crescimento como uma função da temperatura. O modelo era baseado na observação da raiz quadrada da

velocidade de degradação do nucleotídeo no músculo de carpa, em função da temperatura (ROSS e MCMEEKIN, 1994).

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.

A Equação 14 representa este modelo:

$$\sqrt{k} = (T - T_0) \quad (14)$$

onde k representa a velocidade específica máxima de crescimento ou outro parâmetro T_0 representa a temperatura mais baixa onde o crescimento é observado, e T é a temperatura (VAN IMPE et al., 1992).

2.6.2.2. Modelo Arrhenius

Fu e Labuza (1993) mostraram 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 dependência 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 15 representa esta função de dois parâmetros.

$$k = A \cdot \exp\left(-\frac{E_a}{R}\right) \quad (15)$$

Onde k é a velocidade específica de crescimento determinada na 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/mol.K) e E_a (J/mol) é a energia de ativação, a qual é uma medida da sensibilidade da velocidade específica de crescimento em relação à temperatura.

2.7. MODELO NÃO ISOTÉRMICO

Na cadeia de frio de alimentos refrigerados, ocorrem flutuações de temperatura, em todas as etapas de processamento, armazenamento e distribuição. Dessa forma, se torna necessária a utilização de modelos não isotérmicos para prever o crescimento microbiano em condições de variação de temperatura (KOUTSOUMANIS, 2001).

Segundo McMeekin et al. (2002) e Corradini et al. (2006), os modelos matemáticos são usados para quantificar e prever o comportamento microbiano sob diferentes condições ambientais, sendo que muitos destes modelos são baseados em dados experimentais a condições constantes. No entanto, condições tais como a temperatura, pH ou a composição da atmosfera, entre outros, nem sempre se mantêm constantes durante o armazenamento. Por isto, nos últimos anos, tem aumentado o interesse por modelos dinâmicos, ou seja, modelos que permitam prever o crescimento dos microrganismos sob condições que variam com o tempo de estocagem, principalmente condições não isotérmicas.

A maior parte dos modelos encontrados na literatura, geralmente assume que a temperatura se mantém constante durante todo o processo de crescimento. (DEVLIEGHERE et al., 1998; GIANUZZI et al., 1998). Entretanto, em situações reais de processamento, transporte e armazenamento, a temperatura do alimento não se mantém constante.

Para que os modelos possam ser aplicados a alimentos armazenados em condições reais, quer dizer, condições onde a temperatura varia com o tempo, é necessário considerar no modelo o efeito das mudanças das variáveis externas sobre o crescimento microbiano, com o objetivo de obter predições mais precisas para assegurar a vida útil dos mesmos (CAYRÉ et al., 2003).

Na literatura, alguns modelos não isotérmicos são propostos, entre eles o modelo de Corradini e Peleg (2005) e o modelo de Van Impe et al. (1992). Van Impe et al. (1992) propuseram um modelo dinâmico de crescimento e inativação durante o processamento de alimentos, em função da temperatura e do tempo. A principal característica deste modelo é a sua capacidade de avaliar os produtos sob variação da temperatura com o tempo. O modelo pode simular o comportamento de microrganismos em diferentes temperaturas em torno da transição entre o crescimento e a inativação. O modelo é útil para a predição e o controle de crescimento microbiano durante o armazenamento de produtos resfriados. O modelo utilizado por Van Impe et al., (1992) foi utilizado por Van Impe et al., (1995) com dados experimentais para *Brochothrix thermosphacta* e *Lactobacillus plantarum*. Segundo Van Impe et al. (1995), o desenvolvimento de um modelo dinâmico (modelo não isotérmico) pode ocorrer em duas etapas. Primeiro é desenvolvido um modelo dinâmico apenas para o crescimento microbiano e, em uma segunda etapa, são incluídas a inativação e uma possível transição entre crescimento e a inativação.

Ainda segundo os mesmos autores, alguns requisitos são necessários a um modelo dinâmico, conforme descritos abaixo:

1. deve ser capaz de descrever perfis de temperaturas variáveis de forma consistente, obtendo variáveis que tenham valores aceitáveis em quaisquer condições;
2. o modelo deve ser capaz de simular a transição (suave ou não) entre crescimento e inativação, usando o menor número possível de parâmetros;
3. a história prévia do produto deve ser considerada;
4. o modelo deve ser reduzido a um modelo simples existente, caso a temperatura seja constante;
5. o modelo deverá ter alguns requisitos matemáticos, como o cálculo não linear de parâmetros através da utilização de técnicas matemáticas modernas.

Os modelos dinâmicos, que consideram a variação de temperatura, são de grande importância na previsão de vida útil, sob condições reais da cadeia de frio (KOUTSOUMANIS, 2001).

2.8. VALIDAÇÃO DOS MODELOS

Realiza-se a validação para verificar se o modelo encontrado descreve bem os dados experimentais (McCLURE et al., 1994). Há um número de fontes de variabilidade que podem ser inerentes ao microrganismo, a erros sistemáticos devido aos métodos analíticos de laboratório e às técnicas de modelagem impróprias em descrever inadequadamente os dados (BLACKBURN, 2000). Estima-se que, para modelos gerados utilizando meios de laboratório, o erro relativo na predição de velocidades de crescimento específicas é de 7 a 10 %, para modelos primários e de 20 a 50 % para modelos secundários (MASANA, 1999).

Na microbiologia preditiva, alguns índices matemáticos podem ser usados para avaliar a confiabilidade ou qualidade do ajuste (*goodness of fit*) dos modelos preditivos de crescimento, bem como para comparar o ajuste de uma série de modelos aos dados utilizados para a sua elaboração (McCLURE et al., 1994). Os índices matemáticos normalmente utilizados na literatura são o coeficiente de determinação (R^2), o erro médio quadrático (MSE) ou raiz do erro médio quadrático (RMSE), o fator Bias e o fator exatidão.

O primeiro indicador sobre a confiabilidade de um modelo é o R^2 . Este índice mede a fração de variação sobre a média que é explicada

pelo modelo. Quanto maior o valor ($0 < R^2 < 1$), melhor é a predição obtida pelo modelo.

2.8.1. Erro do quadrado médio (MSE)

O erro do quadrado médio (MSE) é um índice estatístico que é definido pela soma quadrática do resíduo, dividido pelo número de graus de liberdade. O MSE representa o desvio entre a medida experimental e o valor predito. Quanto menor o valor do MSE, melhor será a adequação do modelo. A Equação 16 representa o cálculo do erro médio quadrático.

$$\text{MSE} = \frac{\sum(\text{valor}_{\text{observado}} - \text{valor}_{\text{predito}})^2}{n-p} \quad (16)$$

2.8.2. Fator Bias

O fator Bias indica se a média dos valores observados encontra-se acima ou abaixo da linha de equivalência (predito = observado). O valor do índice Bias fornece informações importantes sobre o tipo de desvio verificado nos valores preditos pelos modelos matemáticos, ou seja, se eles superestimam ou subestimam os valores observados. A Equação 17 representa o cálculo do fator Bias:

$$\text{fator bias} = 10^{\left(\frac{\sum \log(\text{valor}_{\text{predito}}/\text{valor}_{\text{observado}})}{n}\right)} \quad (17)$$

O fator Bias é uma estimativa da diferença média entre os valores observados e preditos, considerado um desvio relativo médio. Se o valor do fator Bias é igual 1: resposta predita = observada; se o valor do fator Bias maior que 1: resposta predita é maior que a observada; se o valor do fator Bias menor que 1: resposta predita é menor que a observada.

2.8.3. Fator exatidão

O fator exatidão calcula a média da distância entre cada ponto e a linha da equivalência como uma medida de quão próximas, da média, as predições estão das observações (ROSS, 1996).

A Equação 18 representa o cálculo do fator exatidão:

$$\text{fator exatidão} = 10^{\left(\frac{\sum |\log(\text{valor}_{\text{predito}}/\text{valor}_{\text{observado}})|}{n}\right)} \quad (18)$$

O fator exatidão é uma medida para a diferença média absoluta entre os valores preditos e observados. Quanto maior o valor do fator exatidão, menor será a exatidão da estimativa da média.

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

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. MATERIAL

3.1.1. Amostra

As amostras utilizadas nos experimento foram fornecidas pela empresa Aurora Alimentos, Unidade de Abate de Frango em Quilombo - SC e as análises microbiológicas e pH foram realizadas no laboratório Central do Frigorífico Aurora Chapecó (FACH II) e SENAI/ Chapecó.

O trabalho foi desenvolvido com filés de peito de frango resfriado, sem pele, sem osso, pesando aproximadamente 400 gramas (200 g cada metade), retirados da linha de cortes de forma aleatória, resfriados a 0 °C, embalados a vácuo e em atmosfera modificada e armazenados a diferentes temperaturas.

3.1.2. Embalagem

O tipo de embalagem, a concentração de gases e o modelo da embaladora utilizados no experimento serão descritos a seguir:

3.1.2.1. Embalagens Plásticas

As embalagens plásticas utilizadas para o tratamento a vácuo e atmosfera modificada foram um saco de filme multicamada coextrusado, camada selante à base de polietileno (Polietileno linear de baixa densidade - PELBD), camada externa à base de Nylon e barreira a oxigênio (Etileno vinil álcool – EVOH). Possuem barreira com baixa permeabilidade aos gases, cuja permeabilidade ao oxigênio é menor que $3 \text{ cm}^3/\text{m}^2.\text{dia}$ (a 23 °C, 0 % UR) e permeabilidade ao vapor d'água menor que $6 \text{ gH}_2\text{O}/\text{m}^2.\text{dia}$ (a 38 °C, 90 % UR), com espessura 125 μ e dimensões 200 mm de largura x 260 mm de comprimento.

3.1.2.2. Gases

Os cilindros de gases utilizados foram cedidos pela Linde Gases Ltda, com a mistura de gases: 70 % de N₂ e 30 % de CO₂, 50 % de CO₂ e 50 % de N₂.

3.1.2.3. Embaladora

O equipamento utilizado para embalar os filés de frango foi a embaladora Microvac CV08, marca Selovac. Este equipamento permite embalar a vácuo e com atmosfera modificada, pois o funcionamento do sistema é por substituição mecânica do ar (técnica do vácuo compensado), isto é, inicialmente é feito o vácuo, retirando todo ar da embalagem e a seguir injeta-se o gás, seguido de termo selagem.

3.1.3. Meio de Cultura

O meio de cultura utilizado para contagem de bactérias ácido lácticas foi o Agar MRS (Man, Rogosa e Sharpe) da marca Merck.

3.1.4. Aparelho de medição de CO₂

Para medir a porcentagem de CO₂ e O₂ na embalagem, utilizou-se o analisador de gás para atmosferas modificadas CheckPoint, modelo CO₂/O₂, intervalo de medição de 0 a 100 %, resolução 0,1 %, precisão de 2 % num intervalo 0 a 20 % de CO₂ e 3 % num intervalo de 20 a 100 % de CO₂, tipo de sensor infravermelho não dispersivo com compensação de temperatura.

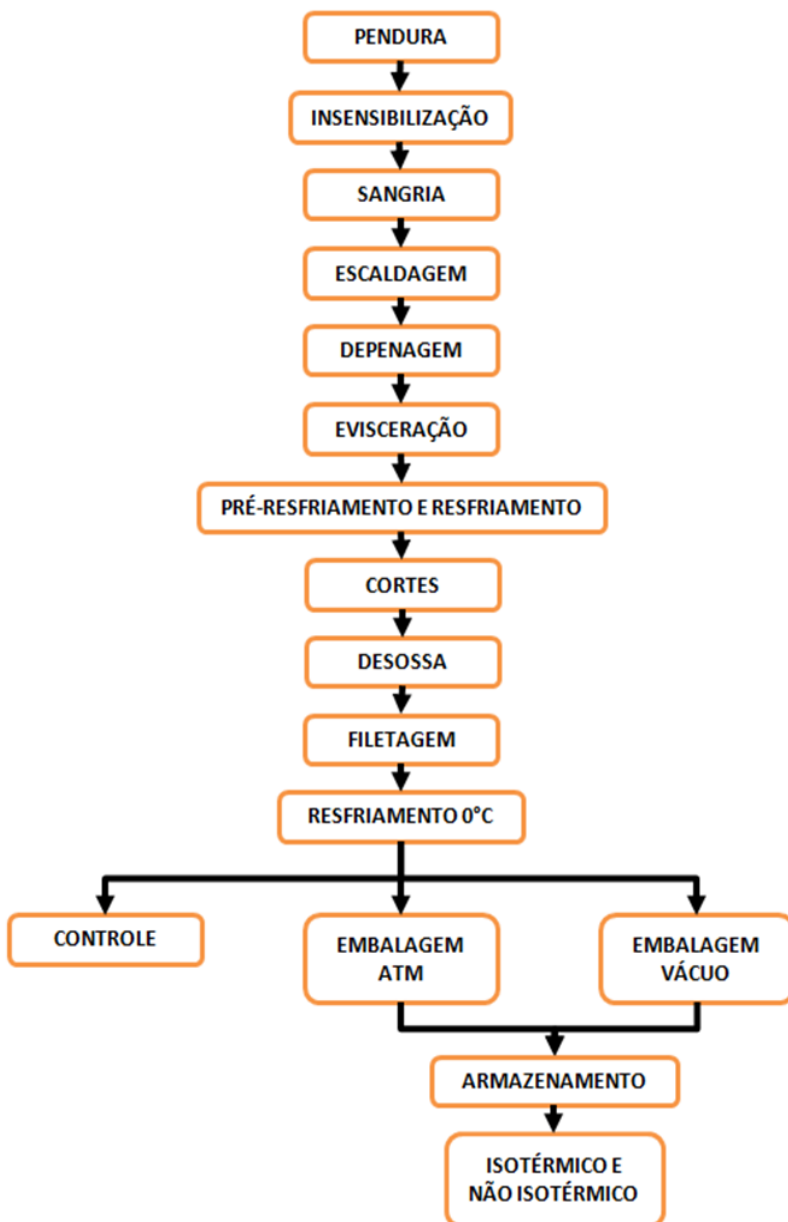
3.1.5. Monitoramento da temperatura

A temperatura durante a armazenagem foi monitorada utilizando-se um equipamento que registra a temperatura do ambiente e temperatura da amostra, via sonda de penetração. O modelo utilizado foi o *datalogger* AK-285, que possui memória para 16000 registros, sendo 5300 para cada parâmetro. A resolução é de 0,1 °C e exatidão de ±1 °C.

3.2. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

O processo de obtenção dos filés de frango está descrito no fluxograma a seguir, de acordo com o padrão da Aurora. Até a etapa da filetagem, o procedimento é padrão do frigorífico de aves. As demais etapas do fluxograma são específicas do trabalho desenvolvido (Figura 3.1).

Figura 3.1 Fluxograma de abate de frango e obtenção das amostras



3.2.1. Pendura

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

3.2.2. Insensibilização

Os frangos foram enganchados na nória, passam pela insensibilização (eletronarcole) e seguiram para sangria.

3.2.3. Sangria

Os frangos foram conduzidos ao túnel de sangria, onde foram sangradas pelo sistema automático com uma incisão na jugular.

3.2.4. Escaldagem

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

3.2.5. Depenagem

Os frangos passaram em depenadeira automática e após passaram por pré-inspeção “post mortem” do Serviço de Inspeção Federal (SIF) e quando liberados passaram por um chuveiro de lavagem sob pressão e em seguida destinados até o cortador de pés.

3.2.6. Evisceração

As carcaças após o corte dos pés foram rependuradas, passadas pelo arrancador de cabeça e por chuveiro com água sob pressão. As etapas de extração da cloaca, corte abdominal, eventração e extração das vísceras foram realizadas por equipamentos automáticos. Após esta etapa, realizou-se a inspeção sanitária e as carcaças e vísceras que apresentarem problemas sanitários e/ou outras lesões foram desviadas, onde ocorreu a condenação total ou parcial. As carcaças seguiram até máquina de extração de papo e traqueia, passando pela máquina extratora de pele e pescoço e por chuveirão com água sob pressão (1,5 L/ave), seguindo para o pré-resfriamento.

3.2.7. Pré resfriamento e resfriamento

As carcaças foram destinadas ao pré-resfriamento, que foi realizado em dois estágios: *pré-chiller* e *chiller*. No processo de pré-resfriamento ou *pré-chiller*, as carcaças foram imersas em tanques de aço inox, por doze minutos, a uma temperatura menor que 16 °C (1,5 L/carcaça), em seguida passaram pelos *chillers* 1 e 2 com temperatura de água inferior a 4 °C (1,0 L/carcaça), saindo à temperatura menor que 4 °C subcutâneo e menor ou igual a 7 °C no interior do músculo. Após passaram por uma esteira com gotejamento mínimo de 20 minutos, seguindo para sala de cortes (climatizado ≤ 12 °C).

3.2.8. Cortes, Desossa e Filetagem

Em equipamento automático ou esteira de cones, foi realizada a retirada do corte primário da carcaça (peito, asa e coxas e sobrecoxas) para serem processados. Os filés de frango obtidos nesta etapa, seguiram através de esteiras, sendo retirados da linha de forma aleatória e após, foram resfriados a 0 °C e embalados.

3.2.9. Embalagem

Os filés de frango retirados da esteira, resfriados a 0 °C, foram acondicionados em sacos plásticos, colocadas em caixas térmicas, com gelo seco e transportadas para Chapecó (aproximadamente 40 minutos).

Na embalagem a vácuo, o ar foi removido até pressão de 700 mmHg. Para a embalagem sob ATM, após remoção do ar, injetou-se os gases de 70 % de CO₂ e 30 % de N₂ para estudo isotérmico, e 50 % de CO₂ e 50 % de N₂ (isotérmicos e não isotérmicos). A proporção de volume de gás em relação ao volume de amostra foi de um para um. As Figuras 3.2 e 3.3 apresentam as amostras embaladas sob ATM e vácuo, respectivamente.

Figura 3.2 Amostra embalada em ATM



Figura 3.3 Amostra embalada a vácuo



3.2.10. Armazenamento

Todas as amostras foram estocadas em caixas plásticas, em câmaras de refrigeração nas temperaturas de 4 °C e 12 °C para o primeiro experimento com ATM de 70 % de CO₂ e 30 % de N₂ e nas

temperaturas de 1, 4, 8, 12 e 20 °C, para os experimentos com ATM de 50 % de CO₂ e 50 % de N₂.

Para as condições de armazenamento não isotérmico, utilizou-se as temperaturas de 4 e 12 °C, alternando a cada 12 horas, com armazenamento sob abrigo da luz. O registro da variação de temperatura foi realizado a cada 5 minutos com auxílio de um *datalogger* (Akso, AK 285).

O tempo de armazenamento foi determinado no decorrer dos experimentos com base nos resultados das análises microbiológicas realizadas durante os experimentos. Cada experimento foi finalizado no momento em que as análises evidenciavam que as amostras atingiam a fase estacionária.

3.2.11. Análises físico-químicas

3.2.11.1. pH

O pH foi medido com pHmetro (METTLER TOLEDO MP120) em dois pontos diferentes da amostra, com sistema de indicação Digital, precisão +/- 0,01 pH, sensor de compensação de temperatura (-5 a 105 °C) e eletrodo de penetração de vidro.

3.2.12. Análises Microbiológicas

Foram utilizados 2 filés de frango para cada análise e pesados 25 g de amostra em balança digital (Marte, modelo AS 5000) na câmara de fluxo laminar (Valiclean, modelo CL II) utilizando-se saco plástico estéril para homogeneização das amostras em solução salina peptonada (0,85 % NaCl; 0,1 % peptona) durante 1 minuto em “*Stomacher*” (Interscience, modelo Bag Mixer). Após, foram preparadas as diluições adequadas para cada amostra em duplicata e foram semeadas em placas de Petri descartáveis estéreis em meio de cultura MRS em dupla camada para contagem de BAL. As placas semeadas foram incubadas em incubadora biológica (Biopar modelo 150 L) à temperatura de 30 °C ± 1 °C por 48 horas. Após o período de incubação, realizou-se a contagem de unidades formadoras de colônia presentes nas placas, utilizando-se o contador de colônias tipo Quebec. O resultado foi expresso em unidades formadoras de colônia por grama de amostra (UFC/g).

3.2.13. Análise da vida útil

A determinação da vida útil foi realizada a partir dos ajustes dos modelos de Gompertz modificado e Baranyi e Roberts aos dados experimentais de crescimento de BAL sob condições isotérmicas e a partir da predição do modelo de Baranyi e Roberts, para o experimentos não isotérmicos. O critério utilizado para estabelecer a vida útil foi o tempo de armazenamento observado nas curvas dos modelos ajustados aos dados experimentais para a contagem de BAL de 10^3 UFC/g. O critério de contagem de BAL de 10^3 UFC/g para determinação da vida útil de filé de frango foi baseado em Latou et al. (2014), conforme apresentado no item 2.4 deste trabalho e no aparecimento das alterações de cor, odor e exsudação das amostras.

As alterações organolépticas (cor e odor) foram realizadas visualmente, durante o preparo das amostras para a realização das análises microbiológicas.

3.2.14. Modelos primários

A partir dos dados de crescimento de BAL, analisados em função do tempo, em filés de frango embalados a vácuo e sob atmosfera modificada submetidos às temperaturas constantes de 1, 4, 8, 12 e 20°C, foram determinados os parâmetros microbiológicos: duração da fase lag (λ), aumento logarítmico de população (A) e velocidade específica máxima de crescimento (μ) (descritos no item 2.6.1). Os modelos primários de crescimento: Gompertz modificado (GOM), Logístico (LG) e Baranyi e Roberts (BAR) foram utilizados para obtenção dos parâmetros de crescimento, conforme mostrado na Tabela 3.1. Para ajuste dos modelos (equações 4, 5 e 8) aos dados foi utilizado o *software* MATLAB[®] 2010^a.

Tabela 3.1 Equações dos modelos primários.

Modelo Primário	Equação
Gompertz modificado	$y = A \cdot \exp\left[-\exp\left(\frac{\mu^e}{A} \cdot (\lambda - t) + 1\right)\right]$
Baranyi e Roberts	$y = y_0 + \mu_{\max} A(t) - \ln\left(1 + \frac{\exp(\mu_{\max} A(t)) - 1}{\exp([y_{\max} - y_0])}\right)$ $A(t) = \left(t + \left(\frac{1}{\mu_{\max}}\right) \ln(\exp(-\mu_{\max} t) - \exp(\mu_{\max} t - (\mu_{\max} \lambda))) + \exp(-\mu_{\max} \lambda)\right)$
Logístico	$y = \frac{A}{(1 + \exp(D - F \cdot t))}$ $\mu = C \cdot F/4$ $\lambda = (D - 2)/F$

3.2.15. Modelos Secundários

A Tabela 3.2 apresenta as equações dos modelos secundários utilizados para avaliar a influência da temperatura sobre os parâmetros de crescimento obtidos dos modelos primários (μ , λ e A). Para o ajuste dos modelos secundários, utilizou-se o *software* Microsoft Excel 2007®.

Tabela 3.2 Equações dos modelos secundários.

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

p
 arâmetro de interesse do modelo primário (μ , λ ou A);
 T = temperatura (°C);
 T_{min} = temperatura mínima para o crescimento ou
 coeficiente do modelo;
 a, b e r = coeficientes do modelo.

Foram utilizados índices estatísticos: coeficiente de determinação (R^2), erro médio quadrático (MSE), fator Bias e fator exatidão para escolha dos melhores ajustes (Equações 16, 17 e 18).

3.2.16. Modelos não isotérmicos

Para o estabelecimento dos modelos não-isotérmicos, foram utilizados modelos secundários que descrevem a influência da temperatura sobre os parâmetros de crescimento μ , λ e A . Os modelos não isotérmicos de Baranyi e Roberts e Gompertz modificado foram utilizados para predição do crescimento de BAL em condições ambientais não- isotérmicas.

O Modelo não isotérmico de Baranyi e Roberts é apresentado pelas equações 19 e 20.

$$\frac{dy(t)}{dt} = \mu_{\max} \left[\frac{1}{1+e^{-Q(t)}} \right] [1 - \exp(y(t) - y_{\max})] \quad (19)$$

$$\frac{dQ(t)}{dt} = \mu_{\max} \quad (20)$$

sendo que $y(t)$ é o logaritmo natural da contagem microbiana no tempo t , ou seja

$$y(t) = \ln(N(t));$$

$Q(t)$ é a função logarítmica correspondente ao estado fisiológico das células ($Q(t) = \ln(q(t))$);

sendo que os parâmetros μ_{\max} e y_{\max} são funções da temperatura, descritos por modelos secundários.

Desta forma, utilizou-se as condições iniciais para resolução das equações diferenciais (19) e (20), como apresentado nas Equações (21) e (22), respectivamente:

$$y(0) = y_0 \quad (21)$$

$$Q(0) = Q_0 \quad (22)$$

Sendo y_0 que é o valor do logaritmo natural da contagem bacteriana inicial, ou seja, $y(0) = \ln(N_0)$, Q_0 é o valor logarítmico do estado fisiológico inicial das células e se relaciona com o parâmetro h_0 através da Equação (23).

$$Q_0 = -\ln(\exp(h_0) - 1) \quad (23)$$

A Equação (24) é função de ajuste deste modelo e procura descrever o mecanismo biológico da evolução do estado fisiológico das células do microrganismo no novo ambiente.

$$\mu_{\text{lag}} = \frac{q(t)}{q(t)+1} \quad (24)$$

$q(t)$ é uma função que representa a evolução de uma substância crítica v . Sendo que essa função é obtida a partir da equação diferencial e está relacionada às reações enzimáticas envolvendo o microrganismo (25).

$$\frac{dq(t)}{dt} = vq(t) \quad (25)$$

o v pode ser considerada igual à velocidade específica máxima de crescimento da cultura microbiana $\mu_{\text{máx}}$.

Tem-se a função de inibição que pertence à família de curvas de Richards (1959), Equação (26), não havendo mecanismo biológico envolvido.

$$\mu_{\text{est}} = 1 - \left[\frac{N(t)}{N_{\text{máx}}} \right]^m \quad (26)$$

m é um parâmetro de curvatura. Desta forma considera-se as equações para μ_{lag} e μ_{est} , e com as condições ambientais constantes, construiu-se a equação diferencial (27).

$$\frac{dN(t)}{dt} = \left[\frac{q_0}{q_0 + \exp(-\mu_{\text{máx}}t)} \right] \mu_{\text{máx}} \left[1 - \left[\frac{N(t)}{N_{\text{máx}}} \right]^m \right] N(t) \quad (27)$$

Considerando a equação (25), tem-se a solução explícita, apresentada na Equação (28).

$$y(t) = y_0 + \mu_{\text{máx}} F(t) - \left[\frac{1}{m} \right] \ln \left(1 + \frac{\exp(m\mu_{\text{máx}}F(t)) - 1}{\exp(m|y_{\text{máx}} - y_0|)} \right) \quad (28)$$

A função $F(t)$ é dada pela Equação (29).

$$F(t) = t + \left[\frac{1}{\mu_{\text{máx}}} \right] \ln \left(\frac{q_0 + \exp(-\mu_{\text{máx}}t)}{1 + q_0} \right) \quad (29)$$

sendo que q_0 é o estado fisiológico inicial da célula.

Em função do parâmetro m não melhorar de forma significativa a qualidade dos ajustes em muitos casos, é possível considerá-lo igual a um.

Para o ajuste do modelo aos dados experimentais, os autores aconselham a transformação do parâmetro q_0 no parâmetro h_0 utilizando-se a equação (30), de modo que o ajuste da equação se torne mais estável.

$$h_0 = \ln \left(1 + \frac{1}{q_0} \right) \quad (30)$$

Sendo que a Equação (29) pode ser transformada na Equação (31).

$$F(t) = t + \left[\frac{1}{\mu_{\max}} \right] \ln(\exp(-\mu_{\max} t) + \exp(-h_0) - \exp(-\mu_{\max} t - h_0)) \quad (31)$$

Desta forma, a duração da fase lag (λ) pode ser obtida pela Equação (32).

$$\lambda = \frac{h_0}{\mu_{\max}} \quad (32)$$

Modelo não isotérmico de Gompertz modificado

A reparametrização do modelo de Gompertz, denominada como Gompertz modificado, está representada pela Equação 33 e a sua derivada é apresentada na Equação 32.

$$\ln \left(\frac{x}{x_0} \right) = A \cdot \exp \left\{ -\exp \left[\frac{\mu \cdot e}{A} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (33)$$

A Equação (34) representa a velocidade de crescimento momentânea isotérmica

$$\frac{dy}{dt} = \mu \cdot \exp \cdot \exp \frac{\mu \cdot \exp(\lambda - t)}{A} + 1 \quad (34)$$

Sendo que

$\ln(X/X_0)$ logaritmo neperiano da densidade celular no tempo t , $A(t)$ aumento da população microbiana, $\mu(T)$ velocidade específica máxima de crescimento (h^{-1}), $\lambda(T)$ é a duração da fase lag (h) e $\exp(1) = 2,7182$.

Pode-se descrever como

$$\frac{dy}{dt} = \mu(T) \cdot \exp \left(\frac{\mu(T) \cdot \exp(\lambda(T) - t^*)}{A(T)} + 1 \right) \exp^{-\exp \left(\frac{\mu(T) \cdot \exp(\lambda(T) - t^*)}{A(T)} + 1 \right)} \quad (35)$$

onde:

$$t^* = \left(\frac{\mu \cdot \exp \cdot \lambda + A - \ln \left(-\ln \left(\frac{y}{A} \right) \right) A}{\mu \cdot \exp} \right) \quad (36)$$

A partir da equação do modelo não isotérmico (Equação 35), pode-se prever o comportamento do microrganismo dentro da faixa de temperatura estudada (4 a 12 °C), variando-se a temperatura de cultivo.

3.2.17. Validação dos modelos

Os modelos foram validados e comparados a partir da análise dos índices estatísticos: coeficiente de determinação (R^2), erro médio quadrático (MSE), fator Bias e fator Exatidão, conforme equações apresentados na Tabela 3.3.

Tabela 3.3 Equações dos índices estatísticos

Índice Estatístico	Equação
MSE	$MSE = \frac{\sum (\text{Valor}_{\text{observado}} - \text{Valor}_{\text{predito}})^2}{n - p}$
Fator Bias	$\text{fator Bias} = 10 \left(\sum \frac{\log(\text{Valor}_{\text{predito}} / \text{Valor}_{\text{Observado}})}{n} \right)$
Fator Exatidão	$\text{fator Exatidão} = 10 \left(\sum \frac{\log(\text{Valor}_{\text{predito}} / \text{Valor}_{\text{Observado}})}{n} \right)$

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

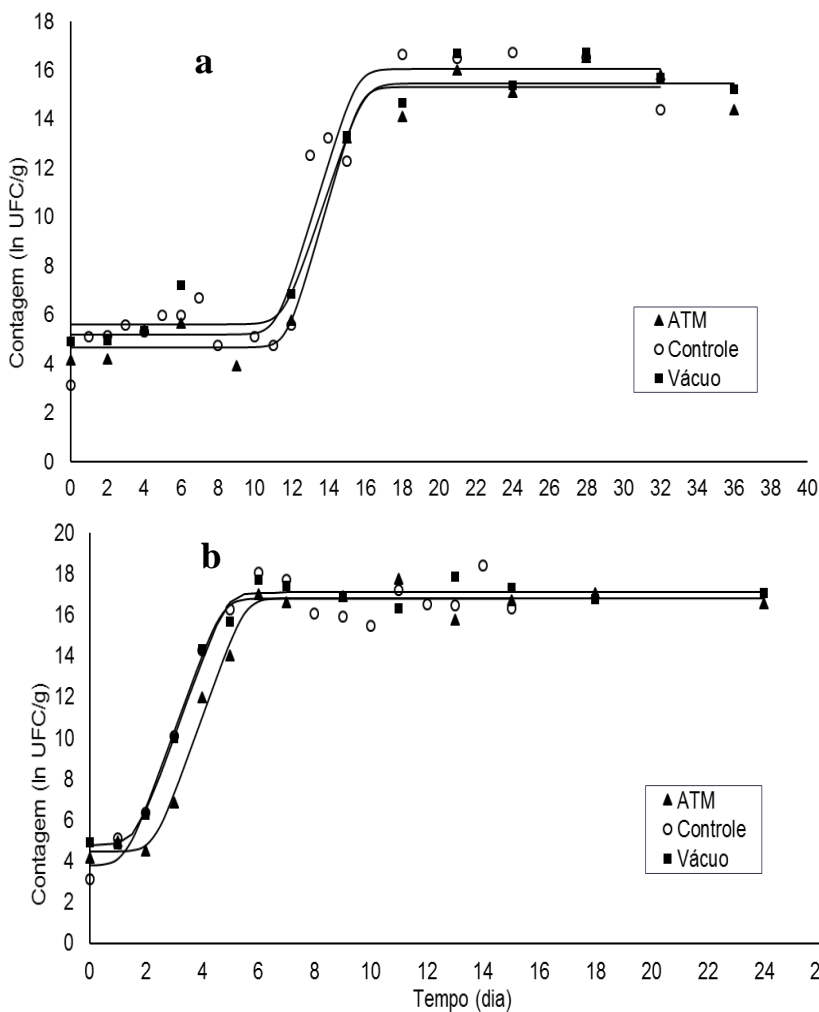
4.1. COMPARAÇÃO DO CRESCIMENTO DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁCTICAS (BAL) EM FILÉS DE FRANGO RESFRIADOS E ARMAZENADOS EM EMBALAGENS SOB VÁCUO, ATMOSFERA MODIFICADA (ATM) E AR (CONTROLE)

Neste capítulo, serão apresentados e discutidos os resultados dos experimentos obtidos da avaliação microbiológica do crescimento de BAL em filés de frango embalados a vácuo e em atmosfera modificada, a diferentes temperaturas.

Foi estudado o efeito da adição de gases nas concentrações de 70 % CO₂ e 30 % N₂ sobre a vida útil de filé de frango, levando-se em consideração o aspecto microbiológico. A escolha da concentração dos gases foi baseada em dados da literatura e em trabalhos realizados por Jimenez et al. (1997) e Saucier et al. (2000). No que diz respeito ao oxigênio, não foi aplicado neste experimento, em função de que a vida útil do produto embalado em atmosfera modificada está relacionada com a baixa concentração de O₂ que resulta em controle de bactérias aeróbias, responsáveis pela deterioração (FLOROS e MATSOS, 2005).

O modelo primário de Baranyi e Roberts foi ajustado às curvas experimentais de crescimento de BAL nas temperaturas de 4 e 12 °C (Figura 4.1) para obtenção dos parâmetros de crescimento (duração da fase lag (λ) velocidade específica máxima de crescimento (μ) e aumento logarítmico da população (A)) e vida útil do produto, nos diferentes tipos de tecnologia de embalagem, apresentados na Tabela 4.2. Este modelo foi escolhido por ser amplamente utilizado na literatura (DALGAARD, 1995; ZHANG et al., 2011).

Figura 4.1 Curvas de crescimento de BAL em filés de frango em tratamento de ATM, vácuo e controle, armazenados a 4 °C (a) e 12 °C (b). As linhas representam o ajuste do modelo de Baranyi e Roberts.



Os valores dos índices estatísticos que descrevem a adequação dos ajustes dos modelos às curvas de crescimento de BAL a 4 e 12 °C para embalagem em atmosfera modificada, vácuo e controle estão apresentados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 Valores dos índices estatísticos do ajuste do modelo de Baranyi e Roberts às curvas de crescimento de BAL a 4 e 12 °C para embalagem ATM, vácuo e controle.

Temperatura	Tratamento	MSE	Fator Biais	Fator	
				Exatidão	R ²
4 °C	Vácuo	0,92	1,00	1,07	0,88
	ATM	0,80	1,01	1,08	0,98
	Controle	1,87	1,02	1,13	0,94
12 °C	Vácuo	0,31	1,00	1,03	0,95
	ATM	0,42	1,00	1,04	0,99
	Controle	0,87	1,00	1,06	0,97

De acordo com a Tabela 4.1, o modelo de Baranyi e Roberts apresentou R² acima de 0,88, MSE de 0,31 a 1,87 e fator Biais e exatidão de 1,00 a 1,08 o que mostra a adequação da utilização desse modelo para a descrição das curvas de crescimento.

Tabela 4.2 Parâmetros de crescimento de BAL em filés de frango embalados em ATM, vácuo e controle, obtidos pelo ajuste do modelo de Baranyi e Roberts.

Temperatura	Tratamento	μ_{\max} (dia ⁻¹)	λ (dia)	A ln	
				(x)	Vida útil (dia)
4 °C	Vácuo	2,3	11,6	15,5	12,0
	ATM	2,6	11,7	15,3	12,5
	Controle	2,5	11,2	16,1	11,8
12 °C	Vácuo	3,8	1,6	17,1	2,1
	ATM	3,8	2,3	16,8	2,9
	Controle	3,7	1,3	16,8	2,1

Analisando a Tabela 4.2, pode-se observar que o tipo de tratamento evidenciou que para as embalagens a vácuo, ATM e controle os resultados foram muito próximos nas temperaturas de 4 e 12 °C, apresentando uma pequena diferença entre eles. Os parâmetros duração da fase lag e a vida útil apresentaram resultados similares. No entanto, esperava-se que a aplicação de vácuo e atmosfera modificada com 70 % de CO₂ e 30 % de N₂ apresentasse um resultado muito melhor que o controle, o que não ocorreu neste estudo.

Estudo realizado por Pexara et. al. (2002) em salsichas e fatias de peito de peru, com diferentes misturas e utilizando 5 gases evidenciou que não houve um efeito de inibição do crescimento de BAL

quando comparado com a embalagem a vácuo em temperaturas de 4 e 10 °C.

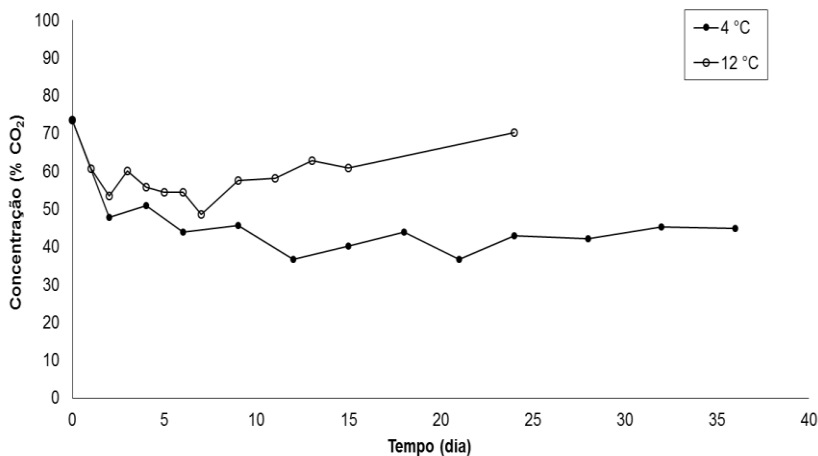
Soldatou et al. (2009) trabalhando com carne de cordeiro tipo Souvlaki (espetinho de carne fresca) embaladas com ar, a vácuo e ATM (70 % de CO₂ e 30 % de N₂) e armazenadas a 4 °C, obtiveram um resultado de 5 dias de vida útil para a embalagem com ar e de 10 dias para as embalagens a vácuo e ATM.

Latou et al. (2014) estudaram o efeito combinado da quitosana e ATM para aumentar a vida útil de filés de peito de frango, comparando com amostras controle (ar) e com tratamento em ATM. De acordo com os resultados apresentados pelos autores, as características organolépticas de sabor e odor ficaram com notas abaixo do aceitável para contagens de BAL entre 10³ e 10⁴ UFC/g e evidenciaram que existe correlação significativa entre a contagem de BAL e o odor das amostras e uma alta correlação com o sabor. Nesse estudo, as amostras de filés de peito de frango mantiveram as características aceitáveis de sabor e odor até o 12º dia de armazenamento a 4 °C no tratamento em ATM (70 % CO₂ e 30 % N₂).

Jimenez et al. (1997) compararam a vida útil de filés de frango com pele embalados em ATM 70 % de CO₂ e 30 % de N₂, com ar e vácuo a 4 °C, resultando aumento na fase lag com ATM, se comparada com as outras embalagens relacionadas, e sua vida útil se manteve por 14 dias com aroma e aspecto aceitável.

Na Figura 4.2, observa-se que a concentração de CO₂ na embalagem diminuiu para ambas as temperaturas até o sétimo dia. Isso pode ser explicado pela dissolução do gás na fase aquosa (LATOU et al., 2014), uma vez que as amostras avaliadas apresentavam alta umidade (aproximadamente 74 %), podendo influenciar na dissolução. De acordo com a Figura 4.2, a amostra na temperatura de 4 °C produziu menos CO₂ e foi mais estável que a 12 °C.

Figura 4.2 Variação da concentração de CO₂ na embalagem em função do tempo para as amostras armazenadas a 4 e 12 °C, embaladas em ATM com 70 % de CO₂ e 30 % de N₂.



Sørheim et al. (1996), estudando a concentração de 50 % de CO₂ e 50 % de N₂ em lombo suíno obtiveram melhores resultados quando comparado ao tratamento a vácuo.

De acordo com Pexara et al. (2002), a inibição do crescimento de BAL com uso de atmosfera modificada com a mistura gasosa de 50 % de CO₂ foi maior quando comparada com as concentrações mais elevadas de CO₂ em salsichas e fatias de peito de peru.

A empresa fornecedora de gases (LINDE, 2012) recomenda a concentração de CO₂ de 50 a 80 % e N₂ de 20 a 50 % para carnes de frango. De acordo com a mesma, o custo do gás 50 % de CO₂ e 50 % de N₂ é em torno de 2 % menor quando comparado ao custo do gás com a composição 70 % de CO₂ e 30 % de N₂ e essa diferença para indústria que trabalha com grandes volumes, deve ser levada em consideração.

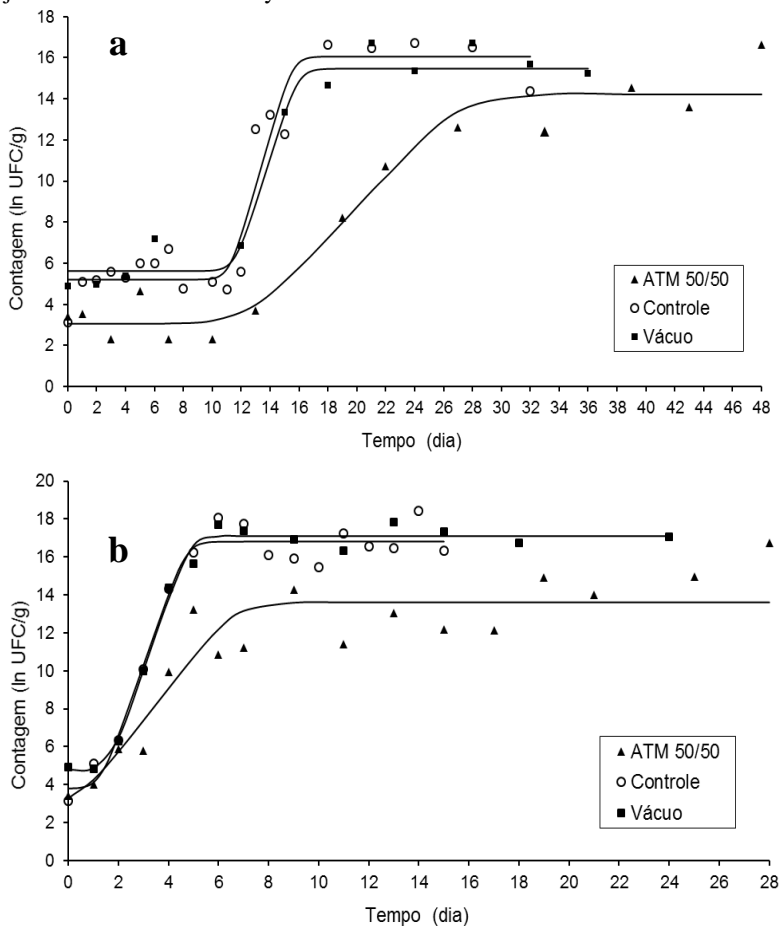
4.2. MODELAGEM DO CRESCIMENTO DE BAL EM FILÉS DE FRANGO RESFRIADOS E ARMAZENADOS A DIFERENTES TEMPERATURAS UTILIZANDO EMBALAGENS A VÁCUO E ATM

Pela necessidade de aumentar a vida útil de filé de frango sob atmosfera modificada, foram desenvolvidos novos experimentos com

concentração de gases 50 % de CO₂ e 50 % de N₂, utilizando-se temperaturas de 1, 4, 8, 12 e 20 °C.

As diferentes tecnologias de embalagens foram comparadas pela realização de experimentos a 4 e 12 °C, com filés de frango embalados sob ATM com uma concentração de gases 50 % de CO₂ e 50 % de N₂ (ATM 50/50), vácuo e sob ar (controle). A Figura 4.3 apresenta o ajuste para o modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais.

Figura 4.3 Curvas de crescimento de BAL em filés de frango em tratamento de ATM (50 % de CO₂ e 50 % de N₂), vácuo e amostra controle. (a): armazenamento a 4 °C e (b): armazenamento a 12 °C. As linhas representam o ajuste do modelo de Baranyi e Roberts.



Conforme apresentado na Figura 4.3, o tratamento em ATM com 50 % de CO₂ e 50 % de N₂ resultou em menor crescimento de BAL, quando comparado com o controle e vácuo, tanto na temperatura de 4°C quanto na temperatura de 12°C. Na Tabela 4.3 são apresentados os parâmetros de crescimento de BAL obtidos a partir do modelo de Baranyi e Roberts.

Na Tabela 4.3 são mostrados os valores dos índices estatísticos obtidos a partir do ajuste do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais de crescimento de BAL para os tratamentos controle, vácuo e ATM, armazenados a 4 °C e a 12 °C.

Tabela 4.3 Valores dos índices estatísticos do ajuste do modelo de Baranyi e Roberts às curvas de crescimento de BAL a 4 e 12 °C para embalagem ATM, vácuo e controle.

Temperatura	Tratamento	MSE	Fator	Fator	R ²
			Bias	Exatidão	
4 °C	Vácuo	0,92	1,00	1,07	0,88
	ATM	2,20	1,10	1,23	0,96
	Controle	1,87	1,02	1,13	0,94
12 °C	Vácuo	0,31	1,00	1,03	0,95
	ATM	2,38	1,03	1,11	0,85
	Controle	0,87	1,00	1,06	0,97

Ao se analisar os dados da Tabela 4.3 é possível verificar que os índices estatísticos apresentaram bons resultados, indicando que o modelo de Baranyi e Roberts foi adequado para a modelagem do crescimento de BAL em filés de frango armazenado nas temperaturas de 4 e 12 °C em todos os tratamentos.

Na Tabela 4.4 são apresentados os parâmetros de crescimento de BAL obtidos a partir do modelo de Baranyi e Roberts.

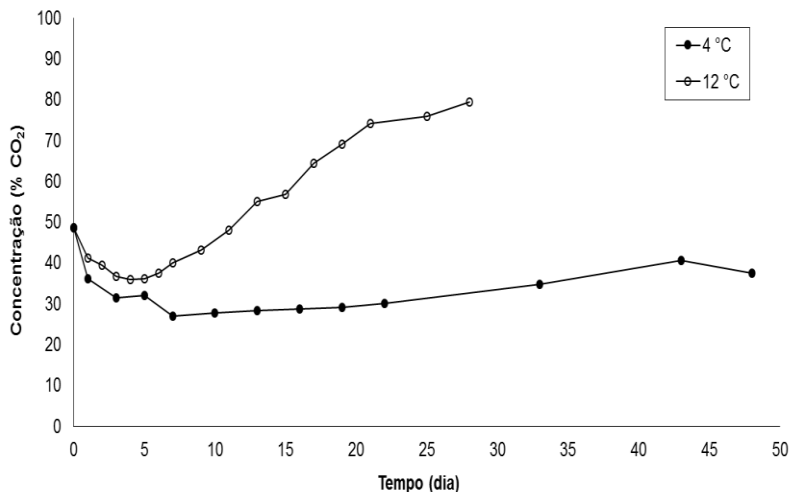
Tabela 4.4 Parâmetros de crescimento de BAL em filés de frango embalados em ATM, vácuo e controle, obtidos pelo ajuste do modelo de Baranyi e Roberts.

Temperatura	Tratamento	μ_{\max} (dia ⁻¹)	λ (dia)	A ln(x)	Vida útil (dia)
4 °C	Vácuo	2,3	11,6	15,5	12,0
	ATM	0,7	12,4	14,2	17,5
	Controle	2,5	11,2	16,1	11,8
12 °C	Vácuo	3,8	1,6	17,1	2,1
	ATM	1,7	0,6	13,6	2,7
	Controle	3,7	1,3	16,8	2,1

De acordo com a Tabela 4.4, na temperatura de 4 °C, foi observado um acréscimo de 5 dias na vida útil para os produtos armazenados sob ATM quando comparado com o tratamento sob vácuo e controle. No entanto, na temperatura de 12 °C houve pouca diferença na vida útil dos filés de frango quando comparado entre os diferentes tratamentos, sendo um pouco maior (0,6 dia) no tratamento em ATM. Ao se analisar a Tabela 4.3 é possível verificar que a vida útil dos filés de frango diminui de aproximadamente 12 dias em 4 °C para aproximadamente 2 dias a 12 °C no tratamento controle, enquanto que para o tratamento em ATM a redução foi de aproximadamente 17,5 dias a 4 °C para 2,7 dias a 12 °C. De maneira complementar para avaliação da vida útil, foram realizadas análises de *Pseudomonas* e das alterações organolépticas (cor e odor) e os resultados encontram-se nos ANEXOS A e B.

A Figura 4.4 apresenta a variação na concentração de CO₂ das amostras embaladas sob ATM com uma concentração de gases 50 % de CO₂ e 50 % de N₂ (ATM 50/50) e armazenadas a 4 e 12 °C.

Figura 4.4 Variação da concentração de CO₂ na embalagem em função do tempo para as amostras armazenadas a 4 e 12 °C, embaladas em ATM com 50 % de CO₂ e 50 % de O₂.



Conforme pode ser observado na Figura 4.4, a concentração do CO₂ diminuiu até aproximadamente o 5º dia de armazenamento para ambas as temperaturas analisadas, apresentando posterior aumento da concentração de CO₂, atingindo valores acima de 70 % na temperatura de 12 °C e em torno de 35 % na temperatura de 4 °C, após 20 dias de armazenamento. O aumento na concentração de CO₂ na temperatura de 12 °C pode ser explicado pela menor solubilização do gás, uma vez que a solubilização do gás diminui com o aumento da temperatura e pela produção de CO₂ pelo metabolismo das BAL no final da fase exponencial. (GILL, 1988; SIMPSON et al., 2009; ROTABAKK et al., 2010; NEHLAWI, et al., 2013).

A partir desta etapa, foram realizados apenas experimentos comparativos entre ATM (50 % de CO₂ e 50 % de N₂) e vácuo.

O estudo foi realizado com a obtenção das curvas de crescimento de BAL nas temperaturas constantes (isotérmicas) de 1, 4, 8, 12 e 20 °C, embaladas em vácuo e ATM e armazenadas até atingir a fase estacionária de crescimento.

Para permitir a melhor comparação do crescimento de BAL nas diferentes tecnologias, fez-se, inicialmente, a escolha do modelo que melhor descreveu o crescimento de BAL em filés de frango. Embora a

literatura tenha indicado em vários trabalhos o Modelo de Baranyi e Roberts (BARANYI et al., 1995, JUNEJA et al., 2007; LONGHI et al., 2013; ZHANG et al., 2011), poucos trabalhos (ZHANG et al., 2011) utilizam a flora natural de produtos cárneos, como na presente pesquisa. Frente a isso, outros modelos primários, Gompertz modificado (Equação 4) e Logístico (Equação 5) foram ajustados aos dados experimentais para a escolha daquele que melhor descreve o crescimento da flora natural de BAL em filés de frango, sob ATM e vácuo.

Os valores dos índices estatísticos dos ajustes dos modelos de Baranyi e Roberts (BAR), Gompertz modificado (GOM) e Logístico (LG) às curvas de crescimento de BAL a 1, 4, 8, 12 e 20 °C, para embalagem em atmosfera modificada e vácuo, estão apresentados nas Tabelas 4.5 e 4.6, respectivamente.

Tabela 4.5 Valores dos índices estatísticos para os modelos de GOM, LG e BA aplicados às curvas de crescimento de BAL a 1, 4, 8, 12 e 20 °C, para filés de frango embalados em ATM.

Tratamento	Modelo	MSE	Fator Bias	Fator Exatidão	R²
1 °C	GOM	2,51	0,98	1,15	0,83
	LG	1,79	1,08	1,35	0,82
	BAR	1,92	1,00	1,14	0,83
4 °C	GOM	0,79	1,05	1,13	0,97
	LG	1,03	0,76	1,51	0,95
	BAR	2,20	1,10	1,23	0,96
8 °C	GOM	0,74	1,00	1,06	0,97
	LG	0,76	0,84	1,25	0,97
	BAR	0,68	1,00	1,06	0,98
12 °C	GOM	2,83	1,03	1,12	0,86
	LG	3,19	1,06	1,23	0,86
	BAR	2,38	1,03	1,11	0,85
20 °C	GOM	1,09	1,01	1,10	0,96
	LG	2,12	0,96	1,13	0,93
	BAR	1,96	0,98	1,10	0,92

Tabela 4.6 Valores dos índices estatísticos para os modelos de GOM, LG e BAR aplicados às curvas de crescimento de BAL a 1, 4, 8, 12 e 20 °C, para filés de frango embalados a vácuo.

Tratamento	Modelo	MSE	Fator Bias	Fator Exatidão	R²
1 °C	GOM	1,66	1,02	1,13	0,88
	LG	1,11	1,00	1,29	0,87
	BAR	1,55	1,00	1,13	0,88
4 °C	GOM	5,04	1,08	1,21	0,97
	LG	1,23	1,00	1,04	0,97
	BAR	2,93	0,98	1,19	0,95
8 °C	GOM	1,34	1,01	1,10	0,95
	LG	1,21	0,97	1,19	0,95
	BAR	1,53	1,01	1,10	0,95
12 °C	GOM	2,43	1,03	1,11	0,87
	LG	2,82	1,13	1,33	0,87
	BAR	2,58	1,00	1,11	0,90
20 °C	GOM	1,13	1,00	1,09	0,96
	LG	1,66	1,00	1,07	0,91
	BAR	2,47	0,98	1,10	0,89

Analisando os dados das Tabelas 4.5 e 4.6, verifica-se que os três modelos se ajustaram bem aos dados experimentais. Entretanto, no conjunto de ajustes dos modelos às curvas nas diferentes temperaturas, os modelos de Gompertz modificado e Baranyi e Roberts apresentaram melhores capacidades de ajustes (para as várias condições) quando comparados ao modelo Logístico, para ambos os tipos de embalagem (à vácuo e sob ATM). Destaca-se, por exemplo, os valores do fator Bias e fator exatidão que, para o modelo de Gompertz modificado variou de 1,00 a 1,21, para Baranyi e Roberts de 0,98 a 1,23 e para Logístico de 0,76 a 1,51. O R² variou de 0,83 a 0,97 para o modelo de Gompertz modificado e de 0,83 a 0,98 para o modelo de Baranyi e Roberts.

O modelo de Baranyi e Roberts apresentou um bom ajuste estatístico em relação ao fator Bias, fator exatidão e coeficiente de determinação. Zhang et al. (2011) evidenciaram um bom ajuste para modelagem do crescimento da flora natural em carne bovina utilizando a equação de Baranyi e Roberts, quando comparado com o modelo de Gompertz modificado.

Por terem apresentado os melhores índices estatísticos, os ajustes dos modelos de Gompertz modificado e Baranyi e Roberts aos dados experimentais do crescimento de BAL em filés de frango

resfriado, nas cinco temperaturas estudadas, para a embalagem com ATM são apresentados nas Figuras 4.5 e 4.6, respectivamente, e para a embalagem a vácuo nas Figuras 4.7 e 4.8, respectivamente.

Figura 4.5 Curvas de crescimento de BAL em filés de frango em tratamento de ATM em diferentes temperaturas de armazenamento. As linhas representam o ajuste do modelo de Gompertz modificado aos dados experimentais.

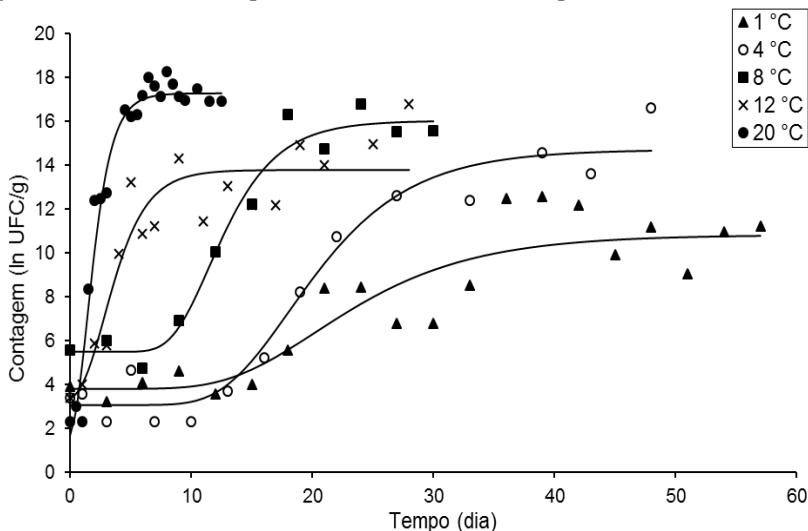
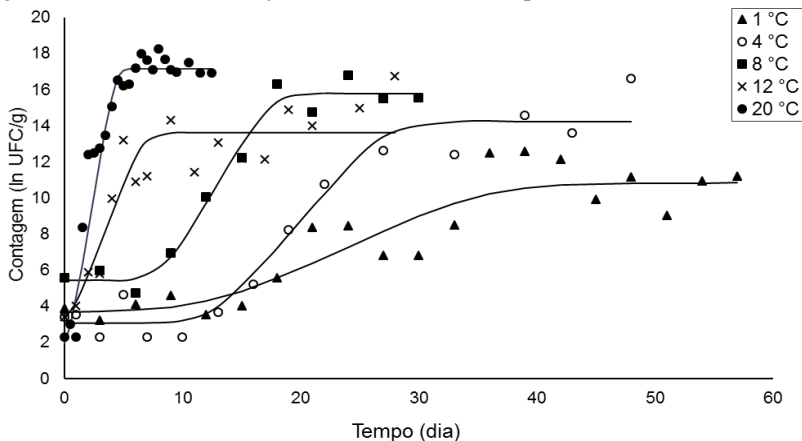


Figura 4.6 Curvas de crescimento de BAL em filés de frango em tratamento de ATM em diferentes temperaturas de armazenamento. As linhas representam o ajuste do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais.



A partir dos ajustes dos modelos de Gompertz modificado e Baranyi e Roberts aos dados experimentais de crescimento de BAL em filés de frango embalados sob atmosfera modificada, os parâmetros de crescimento: λ , μ , A e vida útil foram obtidos para todas as condições de temperatura avaliadas. Os resultados são apresentados nas Tabelas 4.7 e 4.8 para o modelo de Gompertz modificado e de Baranyi e Roberts, respectivamente.

Tabela 4.7 Parâmetros de crescimento de BAL em filés de frango embalados em ATM, obtido pelo ajuste do modelo de Gompertz modificado.

Modelo	Temperatura	μ_{\max} (dia ⁻¹)	λ (dia)	A ln(x)	Vida útil (dia)
GOM	1 °C	0,4	13,1	7,0	21,7
	4 °C	0,8	12,6	11,6	17,5
	8 °C	1,2	8,4	10,5	9,3
	12 °C	2,0	0,9	10,6	2,7
	20 °C	5,2	0,3	16,0	1,4

Tabela 4.8 Parâmetros de crescimento de BAL em filés de frango embalados em ATM, obtido pelo ajuste do modelo de Baranyi e Roberts.

Modelo	Temperatura	μ_{\max} (dia ⁻¹)	λ (dia)	A ln(x)	Vida útil (dia)
BAR	1 °C	0,3	12,5	10,8	22,8
	4 °C	0,7	12,4	14,2	17,5
	8 °C	1,1	8,1	15,8	9,2
	12 °C	1,7	0,6	13,6	2,7
	20 °C	3,8	0,4	17,1	1,7

Ao analisar as Figuras 4.5 e 4.6 e Tabelas 4.7 e 4.8, é possível verificar que a temperatura influencia o crescimento das BAL no produto analisado, com o aumento da temperatura, a duração da fase lag diminuiu, a velocidade específica máxima de crescimento aumentou e os valores do aumento logarítmico da população ficaram próximos para as temperaturas de 4, 8 e 12 °C. Comparando-se as temperaturas de 4 e 12 °C observa-se um aumento de 15 dias na vida útil dos filés de frango na temperatura de 4 °C, calculada pelos os ajustes dos modelos de Gompertz modificado e Baranyi e Roberts.

Em estudo realizado por Cortez-Veja et al. (2012) em peito de frango inteiro armazenado a 5 °C e embalado sob ATM (50 % de CO₂ e 50 % de O₂), os autores obtiveram vida útil de 5 dias, para uma

contagem inicial de 3,35 log (UFC/g). No presente trabalho a contagem inicial foi de 1,48 log (UFC/g) e vida útil de 17 dias em filé de frango embalado sob ATM (50 % de CO_2 e 50 % de O_2) e armazenado a 4 °C.

As Figuras 4.7 e 4.8 apresentam respectivamente os ajustes para os modelos de Gompertz modificado e Baranyi e Roberts aos dados de crescimento de BAL em filés de frango para tratamento a vácuo em diferentes temperaturas.

Figura 4.7 Curvas de crescimento de BAL em filés de frango para tratamento a vácuo em diferentes temperaturas. As linhas representam o ajuste do modelo de Gompertz modificado aos dados experimentais.

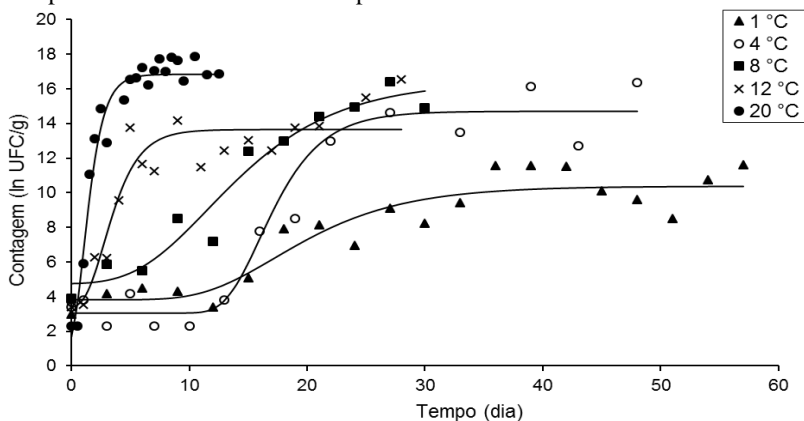
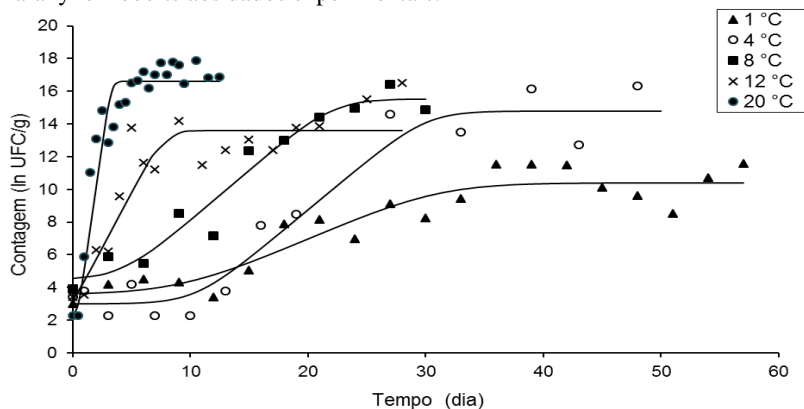


Figura 4.8 Curvas de crescimento de BAL em filés de frango para tratamento à vácuo em diferentes temperaturas. As linhas representam o ajuste do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais.



A partir dos ajustes dos modelos de Gompertz modificado e Baranyi e Roberts aos dados experimentais de crescimento de BAL em filés de frango embalados a vácuo (Figuras 4.7 e 4.8), os parâmetros de crescimento: λ , μ , A e vida útil foram obtidos para todas as condições de temperatura avaliadas. Os resultados são apresentados nas Tabelas 4.9 e 4.10 para os modelos de Gompertz modificado e de Baranyi e Roberts, respectivamente.

Tabela 4.9 Parâmetros de crescimento de BAL em filés de frango embalados a vácuo, obtidos pelo ajuste do modelo de Gompertz modificado aos dados experimentais.

Modelo	Temperatura	μ_{\max} (dia ⁻¹)	λ (dia)	A ln(x)	Vida útil (dia)
GOM	1 °C	0,4	11,2	6,6	18,9
	4 °C	1,5	13,0	11,7	15,7
	8 °C	0,7	5,4	11,7	8,4
	12 °C	2,3	1,1	10,3	2,7
	20 °C	6,2	0,1	15,9	1,1

Tabela 4.10 Parâmetros de crescimento de BAL em filés de frango embalados a vácuo, obtidos pelo ajuste do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais.

Modelo	Temperatura	μ_{\max} (dia ⁻¹)	λ (dia)	A ln(x)	Vida útil (dia)
BAR	1 °C	0,3	9,5	10,4	19,8
	4 °C	0,6	10,4	14,8	16,9
	8 °C	0,6	4,2	15,5	7,9
	12 °C	1,4	0,1	13,6	2,9
	20 °C	5,0	0,4	16,6	1,4

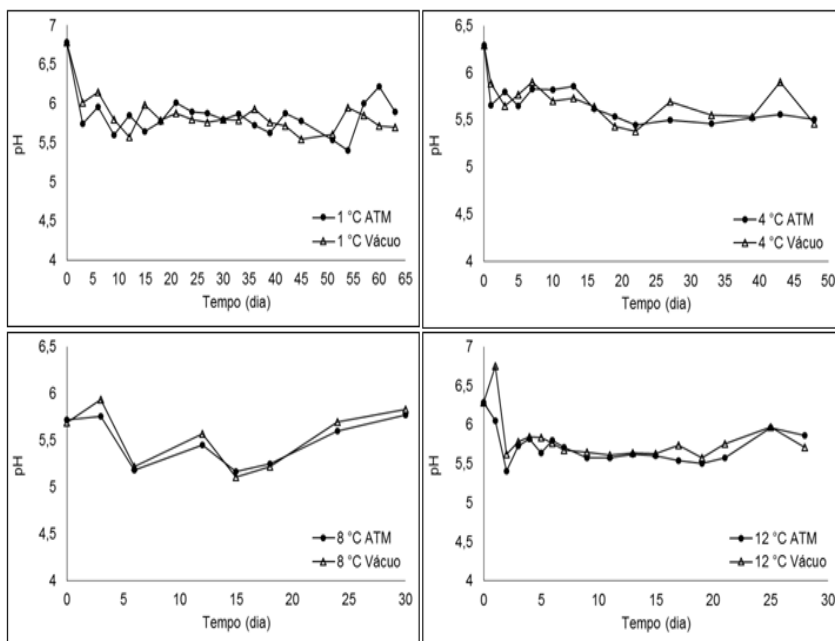
De acordo com as Tabelas 4.9 e 4.10, considerando os valores de temperatura 1, 8, 12 e 20 °C, observou-se que, com o aumento da temperatura, a fase lag diminuiu, a velocidade específica de crescimento aumentou e os valores do aumento logarítmico da população ficaram próximos para as temperaturas de 4, 8 e 12 °C. A vida útil no tratamento a vácuo variou de 1,1 a 18,9 dias para o modelo de Gompertz modificado e de 1,4 a 19,8 dias para o modelo de Baranyi e Roberts.

Dalcanton (2010) investigou o efeito de seis temperaturas de estocagem (4, 8, 12, 16, 20 e 30 °C) no crescimento de cepas selecionadas de BAL em condições de cultivo controladas em meio de cultura. De uma maneira geral, a pesquisa de bactéria láctica em filés de frango com flora natural apresentou menor qualidade do ajuste aos dados experimentais quando comparado com modelos ajustados para cultura proveniente de cepas selecionadas, em função de que os filés de frango foram retirados da linha de processamento de forma aleatória e podem apresentar variação na contagem inicial, o que não ocorre com a cultura pura que é inoculada nas amostras com contagens iniciais conhecidas.

Na comparação dos resultados obtidos em ambos os modelos, para os tratamentos sob ATM e vácuo, verificou-se que os valores de vida útil para cada condição são bastante próximos. Entretanto, observa-se um ligeiro aumento da vida útil de filés de frango embalados sob ATM. Esse resultado foi semelhante a outros trabalhos realizados com produtos cárneos, nos quais o tratamento em ATM causou apenas um pequeno impacto na vida útil do produto (PATSIAS et al., 2008; PEXARA et al., 2002).

O pH das amostras variou de 5,5 a 6,3 nas amostras em ATM e vácuo e não foi utilizado como parâmetro de comparação, porque os dados ficaram próximos entre os tratamentos e observou-se um comportamento semelhante nas diferentes temperaturas, conforme apresentado na Figura 4.9.

Figura 4.9 Valores de pH para os tratamentos a vácuo e ATM (50 % de CO₂ e 50 % de N₂) nas temperaturas de 1, 4, 8 e 12 °C.



4.3. INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA SOBRE OS PARÂMETROS DE CRESCIMENTO: μ , λ , A e VIDA ÚTIL

Os modelos secundários descrevem, através de equações matemáticas, como os parâmetros do modelo primário mudam com os fatores ambientais, como atividade de água, temperatura e pH, etc. Este estudo terá a finalidade de verificar como a variação de temperatura (entre 1 e 20 °C) influencia nos parâmetros de crescimento de BAL em filés de frango embalados a vácuo e sob ATM. Serão avaliadas quatro equações matemáticas como modelos secundários: equação linear, equação da raiz quadrada, equação tipo Arrhenius e equação exponencial.

4.3.1. Filés de frango embalado em atmosfera modificada

A Tabela 4.11 apresenta os coeficientes de determinação (R^2) obtidos pelo ajuste de todos os modelos secundários (modelos linear (Equação 12), exponencial (Equação 13), raiz quadrada (Equação 14) e Arrhenius (Equação 15)) aos dados experimentais que descrevem a influência da temperatura sobre os parâmetros de crescimento obtidos pelo modelo de Gompertz modificado e Baranyi e Roberts.

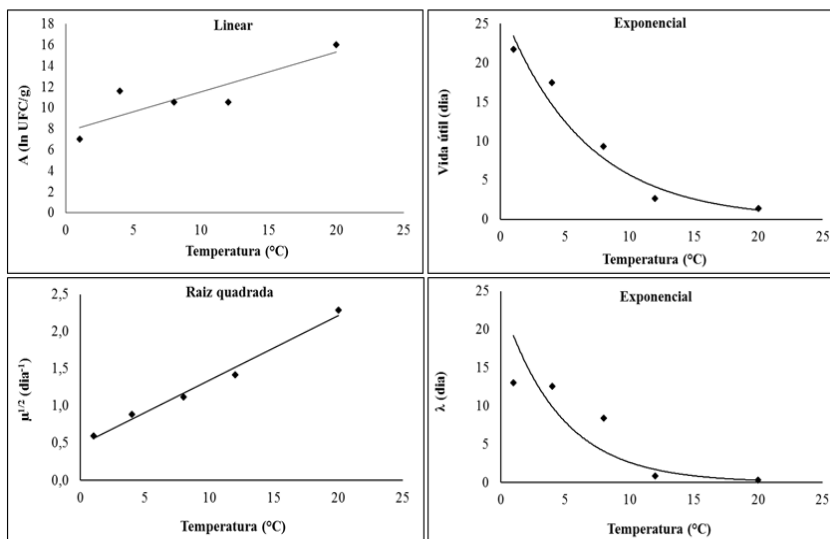
Tabela 4.11 Coeficiente de determinação (R^2) obtidos pelo ajuste dos modelos: linear, raiz quadrada, Arrhenius e exponencial para os parâmetros de crescimento, λ , μ , e A, obtidos pelos ajustes dos modelos de GOM e BAR aos dados experimentais de crescimento de BAL em filés de frango embalados sob ATM.

Modelo Primario	Modelo secundário	Coeficiente de determinação (R^2)			
		λ	μ	A	Vida útil
GOM	Linear	0,86	0,93	0,75	0,87
	Raiz Quadrada	0,88	0,99	0,73	0,92
	Arrhenius	0,34	0,67	0,71	0,47
	Exponencial	0,90	0,98	0,71	0,95
BAR	Linear	0,84	0,95	0,62	0,85
	Raiz Quadrada	0,84	0,99	0,61	0,90
	Arrhenius	0,35	0,73	0,79	0,51
	Exponencial	0,85	0,95	0,60	0,93

Ao analisar a Tabela 4.11, é possível verificar que o modelo da Raiz quadrada foi o modelo secundário que melhor se ajustou aos dados do parâmetro μ obtidos por ambos os modelos primários (Gompertz modificado e Baranyi e Roberts) para os dados de filés de frango embalados sob ATM. O modelo Exponencial também foi o modelo que melhor se ajustou aos dados do parâmetro λ e vida útil obtidos pelos modelos de Gompertz e Baranyi e Roberts para os dados de filés de frango embalados sob ATM.

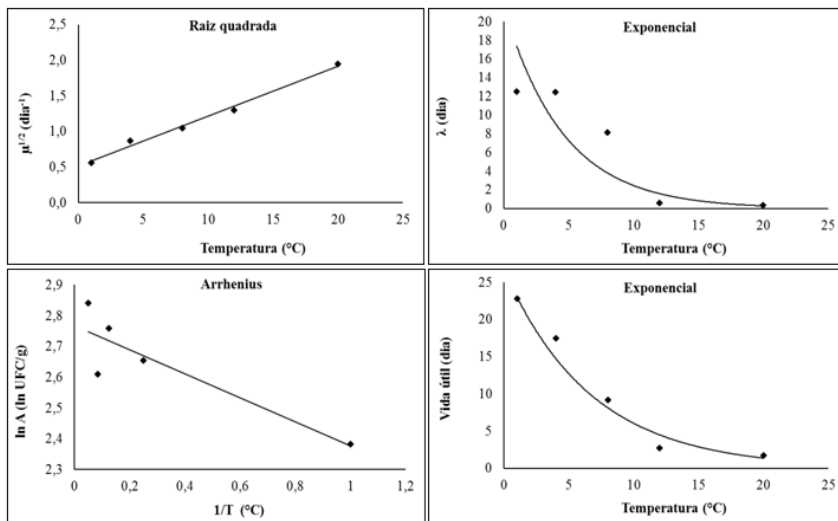
A Figura 4.10 apresenta os ajustes dos modelos secundários selecionados, mostrando como os parâmetros de crescimento de BAL em filés de frango embalado em ATM são influenciados pela temperatura.

Figura 4.10 Ajuste dos modelos secundários para descrever a influência da temperatura sobre os parâmetros de crescimento μ (raiz quadrada), λ (exponencial), A (linear) e vida útil (exponencial) obtido pelo ajuste do Modelo de Gompertz modificado aos dados de crescimento de BAL em filés de frango embalado em ATM.



A Figura 4.11 apresenta os ajustes do modelo secundários selecionados, mostrando como os parâmetros de crescimento mudam com a temperatura para tratamento em ATM a partir dos dados obtidos pelo ajuste do modelo de Baranyi e Roberts.

Figura 4.11 Ajuste dos modelos secundários sobre o efeito da temperatura em tratamento em ATM para os parâmetros de crescimento: μ (raiz quadrada), λ (exponencial), A (Arrhenius) e vida útil (exponencial).



4.3.2. Filé de frango embalado a vácuo

A Tabela 4.12 apresenta os coeficientes de determinação (R^2) obtidos pelo ajuste de todos os modelos secundários (modelos linear (Equação 12), exponencial (Equação 13), raiz quadrada (Equação 14) e Arrhenius (Equação 15)) aos dados experimentais que descrevem a influência da temperatura sobre os parâmetros de crescimento obtidos pelo modelo de Gompertz modificado e Baranyi e Roberts, para filés de frango.

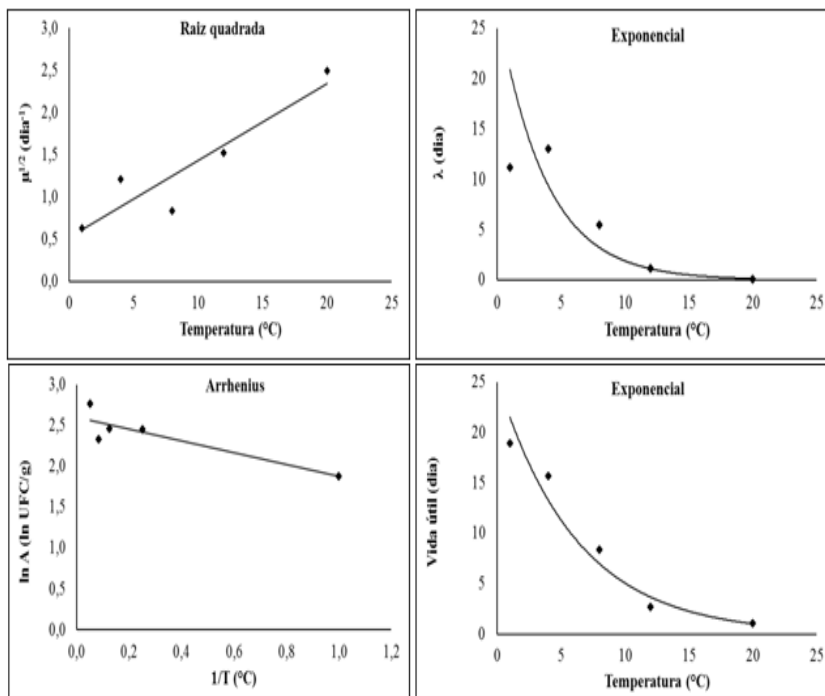
Tabela 4.12 Coeficiente de determinação (R^2) obtidos pelo ajuste dos modelos: linear, raiz quadrada, Arrhenius e exponencial para os parâmetros de crescimento, λ , μ , e A, obtidos pelos ajustes dos modelos de GOM e BAR aos dados experimentais de crescimento de BAL em filés de frango embalados sob vácuo.

	Modelo secundário	Coeficiente de determinação (R^2)			
		λ	μ	A	Vida útil
GOM	Linear	0,82	0,84	0,71	0,88
	Raiz	0,92	0,86	0,68	0,94
	Quadrada	0,31	0,54	0,79	0,45
	Arrhenius	0,95	0,81	0,65	0,97
	Exponencial	0,78	0,84	0,52	0,86
BAR	Linear	0,77	0,91	0,51	0,92
	Raiz	0,36	0,47	0,84	0,48
	Quadrada	0,66	0,96	0,49	0,96
	Arrhenius				
	Exponencial				

De acordo com a Tabela 4.12, é possível verificar que no tratamento a vácuo, o modelo Raiz quadrada foi o modelo secundário que melhor se ajustou aos dados experimentais do parâmetro μ , obtidos pelo modelo primário de Gompertz modificado e que o modelo exponencial foi o que melhor se ajustou para o parâmetro μ obtido pelo modelo primário de Baranyi e Roberts. O modelo Exponencial também foi o modelo que melhor se ajustou aos dados do parâmetro vida útil obtidos pelos modelos de Gompertz e Baranyi e Roberts para os dados de filés de frango embalados a vácuo. O parâmetro λ apresentou melhor ajuste pelos modelos exponencial e linear para o modelo de Gompertz modificado e Baranyi e Roberts, respectivamente.

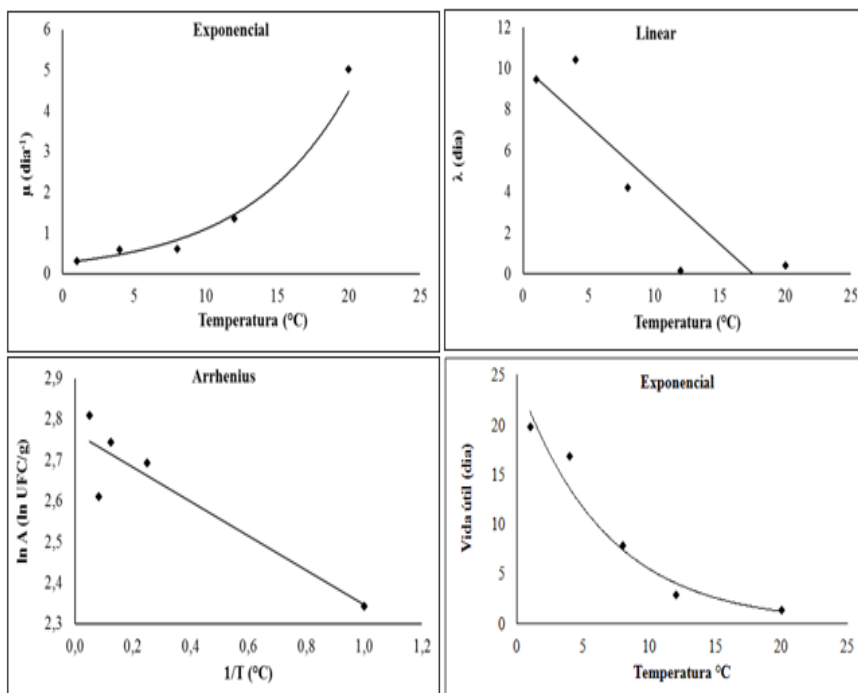
A Figura 4.12 apresenta os ajustes do modelo secundários selecionados pelo modelo de Gompertz modificado, mostrando como os parâmetros de crescimento mudam com a temperatura para tratamento a vácuo.

Figura 4.12 Ajuste dos modelos secundários sobre o efeito da temperatura em tratamento a vácuo para os parâmetros de crescimento: μ (raiz quadrada), λ (exponencial), A (Arrhenius) e vida útil (exponencial).



A Figura 4.13 apresenta os ajustes dos modelos secundários selecionados a partir do modelo de Baranyi e Roberts, mostrando como os parâmetros de crescimento mudam com a temperatura para o tratamento a vácuo.

Figura 4.13 Ajuste dos modelos secundários sobre o efeito da temperatura em tratamento a vácuo para os parâmetros de crescimento: μ (exponencial), λ (linear), A (Arrhenius) e vida útil (exponencial).



A partir dos ajuste dos modelo secundários que podem ser visualizados nas Figuras 4.10, 4.11, 4.12 e 4.13 para tratamento a ATM e vácuo, foi possível obter as equações que descrevem o efeito da variação de temperatura sobre os parâmetros de crescimento de BAL. As equações correspondentes a cada parâmetro estão apresentadas na Tabela 4.13.

Tabela 4.13 Equações que descrevem os modelos secundários para os parâmetros de crescimento de BAL em função da temperatura.

Tratamento	Modelo primário	Parâmetro	Equação	R ²	Modelo secundário
ATM	GOM	λ (dia)	$\lambda = 23,9e^{-0,22*T}$	0,90	Exponencial
		μ (dia ⁻¹)	$\sqrt{\mu} = 0,09*T + 0,48$	0,99	Raiz quadrada
		A (ln UFC/g)	$A = 0,38*T + 7,76$	0,75	Linear
		vida útil (dia)	vida útil = $27,4e^{-0,16*T}$	0,95	Exponencial
BAR	BAR	λ (dia)	$\lambda = 21,60e^{-0,22*T}$	0,85	Exponencial
		μ (dia ⁻¹)	$\sqrt{\mu} = 0,07*T + 0,51$	0,99	Raiz Quadrada
		A (ln UFC/g)	$\ln(A) = -0,39*(1/T) + 2,77$	0,79	Arrhenius
		vida útil (dia)	vida útil = $26,7e^{-0,15*T}$	0,95	Exponencial
Vácuo	GOM	λ (dia)	$\lambda = 27,31e^{-0,27*T}$	0,95	Exponencial
		μ (dia ⁻¹)	$\sqrt{\mu} = 0,09*T + 0,52$	0,86	Raiz Quadrada
		A (ln UFC/g)	$\ln(A) = -0,72*(1/T) + 2,59$	0,79	Arrhenius
		vida útil (dia)	vida útil = $25,3e^{-0,16*T}$	0,97	Exponencial
BAR	BAR	λ (dia)	$\lambda = -0,58*T + 10,13$	0,78	Linear
		μ (dia ⁻¹)	$\mu = 0,27e^{0,14*T}$	0,96	Exponencial
		A (ln UFC/g)	$\ln(A) = -0,42*(1/T) + 2,77$	0,84	Arrhenius
		vida útil (dia)	vida útil = $24,9e^{-0,15*T}$	0,96	Exponencial

Através das equações obtidas pelos ajustes dos modelos secundários apresentadas na Tabela 4.13 para o tratamento a ATM e vácuo, pode-se prever os parâmetros de crescimento de BAL e vida útil em filés de frango dentro da faixa estudada neste trabalho (1 a 20 °C).

Dalcanton (2010) investigou o efeito de seis temperaturas de estocagem (4, 8, 12, 16, 20 e 30 °C) no crescimento de BAL em condições de cultivo. O modelo da raiz quadrada foi o que melhor se ajustou para descrever a influência da temperatura sobre o parâmetro μ , o modelo tipo Arrhenius foi o que melhor se ajustou no parâmetro A e o modelo exponencial foi o que melhor descreveu esta influência sobre o parâmetro λ .

De maneira geral, o presente trabalho apresentou resultados semelhantes aos obtidos no referido trabalho, sendo os mesmos modelos com os melhores ajustes para os parâmetros λ , μ e A. A exceção foi para o tratamento a vácuo, ajustado pelo modelo de Baranyi, que apresentou melhor ajuste pelo modelo linear para λ e exponencial para μ .

4.4. ESTABELECIMENTO E VALIDAÇÃO DE MODELOS NÃO ISOTÉRMICOS - MODELOS DINÂMICOS

A partir do ajuste primário e dos modelos secundários obtidos com a avaliação do crescimento de BAL em filés de frango embalados em ATM e vácuo, armazenados sob condições isotérmicas, os modelos de Gompertz modificado e Baranyi e Roberts foram ajustados aos dados experimentais para obtenção da vida útil em armazenamento não isotérmico.

O perfil de temperatura para realização dos experimentos não isotérmicos representam a variação de duas temperaturas em intervalos de tempos constantes. O perfil temperatura nestas condições foi obtido através dos dados registrados por *datalogger*. Essa condição é apresentada na Figura 4.13, onde a predição da curva não isotérmica é correspondente à submetida ao seguinte perfil de temperatura: as amostras permaneceram armazenadas à temperatura de 4 °C por 12 horas, em seguida à temperatura de 12 °C por mais 12 horas e assim sucessivamente até atingir a fase estacionária de crescimento, para o tratamento em ATM e vácuo.

As Figuras 4.14 e 4.15 apresentam dados experimentais e a predição da curva de crescimento de BAL em filés de frango embalados em atmosfera modificada e vácuo, respectivamente, armazenados em condições não isotérmicas, utilizando-se o modelo de Gompertz

modificado e Baranyi e Roberts com o perfil de temperatura proposto nesse estudo.

Figura 4.14 Dados experimentais e predição dos dados de crescimento de frango embalado em ATM, armazenado em condições não isotérmicas, utilizando-se os modelos de Gompertz modificado e Baranyi e Roberts com a temperatura variando de 4 a 12 °C.

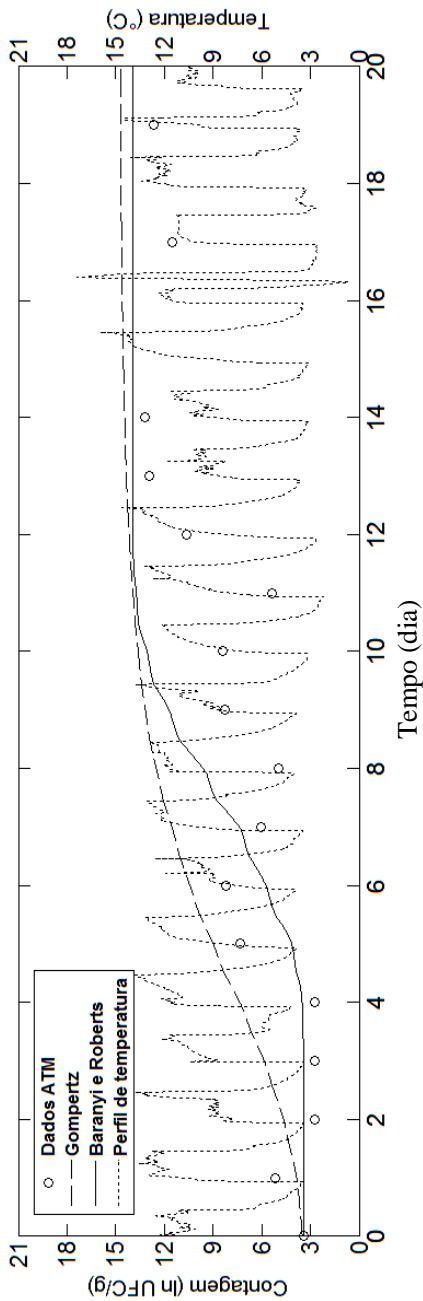
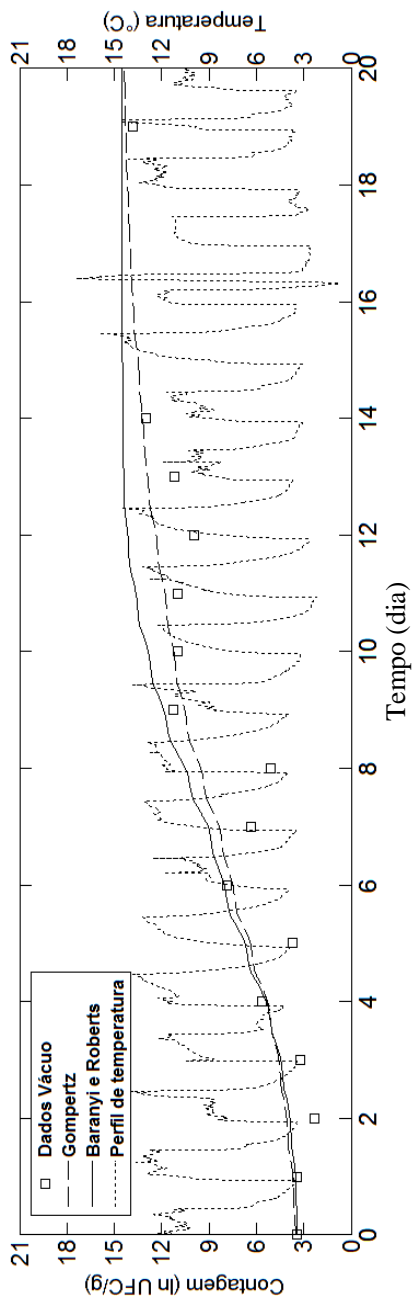


Figura 4.15 Dados experimentais e predição dos dados de crescimento de BAL em filés de frango embalado a vácuo, armazenado em condições não isotérmicas, utilizando-se os modelos de Gompertz modificado e Baranyi e Roberts com a temperatura variando de 4 a 12 °C, conforme o perfil de temperatura descrito.



Ao analisar os dados experimentais das Figuras 4.14 e 4.15 é possível observar que as BAL apresentaram menor crescimento no início do armazenamento em filés de frango embalados com ATM, onde as BAL foram capazes de crescer após 5 dias de armazenamento, enquanto que, em filés de frango embalados a vácuo, as BAL apresentaram crescimento após 4 dias de armazenamento.

Na Tabela 4.14, são apresentados os valores dos índices estatísticos calculados entre os valores preditos e observados para comparação da predição dos modelos de Gompertz modificado e Baranyi e Roberts nos tratamentos não isotérmicos propostos.

Tabela 4.14 Valores dos índices estatísticos calculados entre os valores preditos e observados para comparação da predição do crescimento de BAL em filés de frango embalados em ATM e a vácuo utilizando-se os modelos de Gompertz modificado e Baranyi e Roberts nos tratamentos não isotérmicos propostos

Tratamento	Modelo não isotérmico	Fator Bias	Fator Exatidão	MSE	R²
ATM	GOM	1,52	1,57	21,20	0,77
	BAR	1,04	1,27	5,06	0,88
VÁCUO	GOM	1,49	1,49	18,59	0,87
	BAR	0,92	1,26	6,23	0,86

Ao analisar os resultados da Tabela 4.14, é possível verificar que ambos os modelos apresentaram predições seguras (fator Bias maior que 1) para o crescimento das BAL em filés de peito de frango embalados com ATM, ou seja, o crescimento microbiano predito pelos modelos foi maior que o observado no experimento, e o erro de predição é considerado um erro seguro. Por outro lado, o modelo de Baranyi apresentou predições perigosas (fator Bias menor que 1) para o crescimento das BAL em filés de frango embalados a vácuo.

Os erros de predição do crescimento microbiano pelos modelos matemáticos podem ocorrer por diversas razões, sendo que algumas delas são a qualidade dos modelos secundários e o perfil de temperatura não isotérmico avaliado. Juneja et al. (2007) concluíram que o desempenho satisfatório de predição de um modelo matemático para o crescimento microbiano em condições não isotérmicas depende do desempenho dos modelos primários e secundários em condições isotérmicas. Entretanto, Longhi et al. (2013) verificaram que a capacidade preditiva dos modelos matemáticos é menor quando ocorrem

variações bruscas de temperatura durante o armazenamento, o que pode ser verificado nos perfis de temperatura obtidos no presente trabalho. Dalcanton (2010) também obteve falhas seguras de predição do crescimento de *Lactobacillus plantarum* em meio MRS em três condições não isotérmicas, com variações bruscas de temperatura usando o modelo de Gompertz modificado.

Os modelos não isotérmicos propostos neste estudo podem ser úteis para investigar a influência da variação de temperatura sobre o crescimento dos microrganismos, dentro da faixa estudada.

De forma comparativa, é possível verificar que o modelo de Gompertz modificado apresentou predições do crescimento das BAL mais conservadoras para os filés de frango embalados tanto com ATM como a vácuo, ou seja, o crescimento das BAL predito pelo modelo de Gompertz modificado é mais rápido em relação ao modelo de Baranyi e Roberts. Por consequência, esse comportamento refletiu na predição da duração da vida útil dos filés de frango, como pode ser observado na Tabela 4.15, onde a vida útil dos filés de frango predita pelo modelo de Gompertz modificado é menor que a predita pelo modelo de Baranyi e Roberts, tanto para embalagem com ATM como a vácuo.

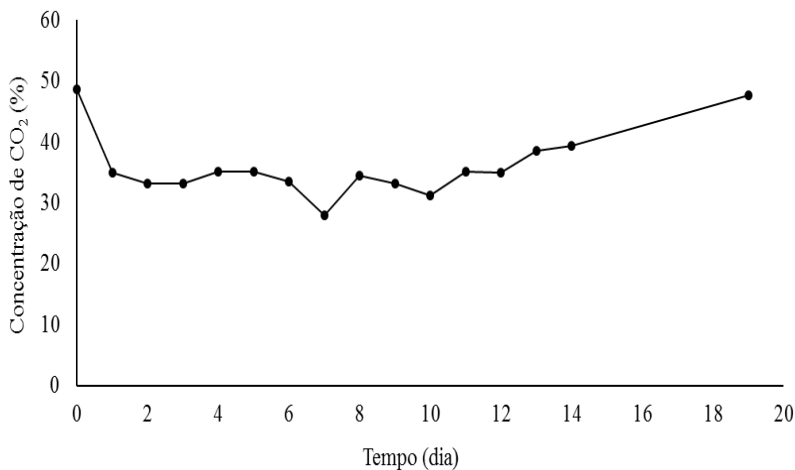
Tabela 4.15 Valores da vida útil observados e preditos pelos modelos matemáticos de Gompertz modificado e Baranyi e Roberts para o crescimento das BAL em filés de frango embalados sob ATM e a vácuo.

Embalagem	Vida útil observada*	Vida útil predita	
		GOM	BAR
ATM	5 dias	4 dias	6 dias
Vácuo	4 dias	4 dias	4 dias

* Valores aproximados baseados na observação dos dados experimentais.

A Figura 4.16 apresenta os dados de concentração de CO₂ coletados durante a realização do experimento não isotérmico para a amostra sob ATM.

Figura 4.16 Variação da concentração de CO_2 em função do tempo de armazenamento das amostras em condições não isotérmicas (4 e 12 °C) sob ATM (50 % de CO_2 e 50 % de N_2).



De acordo com a Figura 4.16, houve redução na concentração de CO_2 até aproximadamente o 7º dia, com posterior aumento até o 19º dia, representando aproximadamente 48 % de CO_2 .

5. CONCLUSÕES

As principais conclusões obtidas durante a realização deste trabalho mostraram que a vida útil de filés de frango resfriado (4 e 12 °C) embalado sob ATM com a concentração de gases de 50 % de CO₂ e 50 % de N₂, apresentou melhor resultado quando comparado com as embalagens com ar (controle), sob vácuo e ATM, com a concentração de gases de 70 % de CO₂ e 30 % de N₂.

Na comparação dos resultados para os tratamentos sob ATM (50 % de CO₂ e 50 % de N₂) e vácuo em diferentes temperaturas (1, 4, 8, 12 e 20 °C) verificou-se que os valores de vida útil para cada condição são próximos. Entretanto, observa-se um ligeiro aumento da vida útil de filés de frango embalados sob ATM.

As curvas de crescimento de BAL nas cinco temperaturas de cultivo foram melhor ajustadas pelos modelos de Gompertz modificado e Baranyi e Roberts. A influência da temperatura nos parâmetros de crescimento λ , μ , A e no tempo de vida útil obtidos por esses modelos foi descrita através dos modelos secundários. Foi possível observar que o modelo exponencial descreve a influência da temperatura na vida útil de filés de frango sob ATM e vácuo e este poderá ser utilizado dentro da faixa de temperatura estudada. A partir do estudo dos modelos primário e secundário, pode-se concluir que o crescimento das BAL é fortemente influenciado pela temperatura de estocagem, mesmo sob condição de refrigeração.

Os modelos não isotérmicos estudados (Gompertz modificado e Baranyi e Roberts) apresentaram boa predição do perfil de temperatura 4-12 °C para os dois tipos de tratamento realizados (ATM e vácuo). No entanto, as predições do crescimento microbiano em condições não isotérmicas pelo modelo de Gompertz modificado foram mais conservadoras e seguras. Por outro lado, o modelo de Baranyi e Roberts apresentou as predições do crescimento mais próximas aos dados experimentais, evidenciado pelos melhores índices estatísticos (MSE, fator Bias e fator Exatidão).

O objetivo geral desse trabalho foi atingido pois as tecnologias de embalagem sob ATM e vácuo foram comparadas e foi observado que o tratamento em ATM foi um pouco mais efetivo no aumento da vida útil, quando comparado ao vácuo e ambos levaram ao aumento da vida útil, quando comparados à embalagem sob ar. A proposta de um modelo não-isotérmico para prever o crescimento de BAL em filés de frango embalados a vácuo e sob atmosfera modificada, foi igualmente alcançada.

As conclusões obtidas neste trabalho serão úteis para a indústria, sendo uma importante contribuição devido a possibilidade de aumentar a vida útil, oferecer um produto com facilidade de manuseio para o consumidor em função do produto ser resfriado e manter suas características naturais.

6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Testar o sistema de estabilização do gás solúvel (EGS): Consiste em introduzir na carne uma quantidade suficiente de CO₂ como pré-tratamento e deixar de 1 a 2 horas antes de fazer o tratamento sob ATM (ROTABAKK et al., 2005).
- Avaliar a absorção do CO₂ em carne de frango: através de análises da concentração de CO₂ nas amostras em equipamento específico.
- Testar diferentes proporções da relação volume de gás x volume de amostra;
- Testar embalagem *masterpack* (bandeja);

7. REFERÊNCIAS

ALCANTARA, M., MORAIS, I. C. L., MATOS, C., SOUZA, O. da C. C. de. Principais Microrganismos envolvidos na deterioração das características sensoriais de derivados cárneos. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, v. 6, n. 1, p. 1-20, jan-jun, 2012. Disponível: <www.higieneanimal.ufc.br> - ISSN 1981-2965. Acesso em 28 de junho de 2013.

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

BARANYI, J.; ROBERTS, T. Mathematics of predictive food microbiology. *International Journal of Food Microbiology*, v. 26, p. 199-218, 1995.

BERRUGA, M. I., H. VERGARA and M. B. LINARES. Control of microbial growth and rancidity in rabbit carcasses by modified atmosphere packaging. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85: 1987-1991, 2005.

BORCH, E.; KANT-MUERMANS, M.L.; BLIXT, Y. Bacterial spoilage of meat and cured meat products. *International Journal of Food Microbiology*.v.33, p.103-120, 1996.

BJÖRKROTH, J.; RISTINIEMIB, M.; VANDAMME, P.; KORKEALA, H. Enterococcus species dominating in fresh modified-atmosphere-packaged, marinated broiler legs are overgrown by Carnobacterium and Lactobacillus species during storage at 6 °C. *International Journal of Food Microbiology*, v. 97 (3), p. 267–276, 2005.

BLACKBURN, W.C., Modelling shelf life, In: Kilcast, D.;Subramaniam, P. The stability and shelf life of food, CRC Press LLC, Cambridge, England, Cap. 3. 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária: Glossário de Vigilância Sanitária. Disponível em: <http://e-glossario.bvs.br/glossary/public/scripts/php/Page_search.php?lang=pt&letter=E> acesso em 23 março, 2013.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução nº 91, de 11 de maio de 2001. Critérios gerais e classificação de materiais para embalagens e equipamentos em contato com alimentos. Disponível em:<<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 22 jun., 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimentos – MAPA. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/exportacao>. Acesso em 13 de janeiro de 2014.

BRODY, A. L.; BUGUSU, B.; HAN, J.H.; SAND, C. K.; McHUGH, T.H. Innovative Food Packaging Solutions. *Journal of Food Science*, v. 73, p. 107-116, 2008.

BORRÉ, M. H.; AGITO, N. Operadores Logísticos Frigorificados. Grupo de Estudos Logísticos. Universidade Federal de Santa Catarina. 2005.

BRESSAN, M. C.; LODI, F.; FERREIRA, M. W.; ANDRADE, P. L.; BOARI, C. A.; PICCOLI, R. H. Influência da embalagem na vida útil de presuntos fatiados *Ciência. Agrotec, Lavras*, v.31, n.2, p. 433-438, 2007.

BUCHANAN, R.L.; PHILLIPS, J.G. Response surface model for predicting the effect of temperature, pH, sodium chloride content, sodium nitrite concentration and atmosphere on the growth of *Listeria monocytogenes*, *Journal Food Protection*, n.53, p.370-376, 1990.

CAYRÉ, M. E.; VIGNOLO, G.; GARRO, O. Modeling lactic acid bacteria growth in vacuum-packaged cooked meat emulsions stored at three temperatures. *Food Microbiology*, v. 20 p. 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*. v. 22, p. 505–512, 2005.

CONTRERAS C.C.J.; BROMBERG R.; MIYAGUSKU, L. Higiene e Sanitização na Indústria de Carnes e Derivados. São Paulo: Livraria Varela, 181p. 2002.

CORRADINI, M.G.; PELEG, M. Estimating non-isothermal bacterial growth in foods from isothermal experimental data. *Journal of Applied Microbiology*, v. 99, p. 187–200, 2005.

CORRADINI, M.G., AMÉZQUITA, A., NORMAND, M.D., PELEG, M. Modeling and predicting non-isothermal microbial growth using general purpose software. *International Journal of Food Microbiology*, v.106, p.223-228, 2006.

CORTEZ-VEGA, W.R.; PIZATO S.; PRENTICE C. Quality of raw chicken breast stored at 5 °C and packaged under different modified atmospheres. *Journal of Food Safety*, v. 32 p. 360–368, 2012.

CHURCH, N. Developments in modified-atmosphere packaging in related technologies. *Trends in Food Science & Technology*, v. 5, 345-352. 1994.

CHURCH, I. J; PARSONS, A. L. Modified Atmosphere Packaging Technology: A Review. *Journal Science FoodAgriculture*, v. 67, p. 143 – 152, 1995.

DALCANTON, F. Modelagem matemática do crescimento de bactérias ácido lácticas em condições isotérmicas e não isotérmicas. Tese de Doutorado. Florianópolis. 2010.

DALGAARD, P. Modelling of microbial activity and prediction of shelf life for packed fresh fish, *Int. J Food Microbiol.*, v.26, p.305-317, 1995.

DEGIRMENCIOGLU, N.; ESNER, O.K.; IRKIN, R.; DEGIRMENCIOGLU, A. Effects of Vacuum and Modified Atmosphere packaging on shelf life extention of minced meat chemical and microbiological changes. *Journal of animal and Veterinary Advances*, v. 11, p. 898-911, 2012.

DJENANE, D., L. MARTINEZ, D. BLANCO, J. YANGUELA, J. A. BELTRAN and P. RONCALES. Effect of lactic acid bacteria on extention of shelf life and growth of *Listeria monocytogenes* in beef stored in CO₂- rich atmosphere. *Brazilian Journal of Microbiology*, 36: 405-412, 2005.

DEVLIEGHERE, F.; DEBEVERE, J.; VAN IMPE, J. Concentration of predict carbon dioxide in the water-phase as a parameter to model the effect of a modified atmosphere on microorganisms. *InternationalJournalofFoodMicrobiology*, v. 43, p.105-113, 1998.

DEVLIEGHERE, F.; DEBEVERE, J. Influence of Dissolved Carbon Dioxide on the Growth of Spoilage Bacteria. *LWT - Food Science and Technology*, v. 33 (8), p.531-537, 2000.

EMPLAL. Embalagem para acondicionamento de alimentos com atmosfer modificada. Disponível em: <http://www.emplal.com.br/extra.htm>>. Acesso em: 25 agosto de 2010.

ERCOLINI, D., F. RUSSO, E. TORRIERI, P. MASI and F. VILLANI. Changes in the spoilage related microbiota of beef during storage under different packaging conditions. *AppliedandEnviromentalMicrobiology*, 72: 4663-4671, 2006.

EVANGELISTA, J. Tecnologia de Alimentos. São Paulo. Atheneu. 2005.

FARBER, J.M.; DALEY, E. Presence and growth of *Listeria monocytogenes* in naturally-contaminated meats. *International Journal of Food Microbiology*, v. 22(1), p. 33-42, 1994.

FAESP/ SENAR. Consumo doméstico aumentará oferta de carne no Brasil. Disponível em: <http://www.faespsenar.com.br/geral/noticias/detalhe/consumo-domestico-aumentara-oferta-de-carne-no-brasil/32834>. Acesso em: 06/09/2013.

FELLOWS, P. J. Tecnologia do Processamento de Alimentos: Princípios e Práticas. Porto Alegre: Artmed. 2006.

FLOSOS J.D.; MATSOS K.L. Introduction to modified atmosphere packaging. *Innovations in FoodPackaging*, p. 159-172, 2005.

FOOD INGREDIENTS BRASIL Nº 18 Disponível em: <www.revista-fi.com>, 2011. Acesso em 20 de agosto de 2013.

FORSYTHE, S.J. *Microbiologia da segurança alimentar*. Porto Alegre: ARTMED, 424 p., 2002.

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

FUJIKAWA, H., KAI, A., MOROZUMI, S., A new logistic model for *Escherichia coli* growth at constant and dynamic temperatures. Food Microbiology, v.21, p.501-509, 2004.

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

GALLO NETTO, C. Pesquisa mostra ação do alho e da sálvia na carne de frango. Jornal da Unicamp, Campinas. 2009.

GIANNUZZI, L., PINOTTI, A., ZARITZKY, N. Mathematical modeling of microbial growth in packaged refrigerated beef at different temperature. International Journal of Food Microbiology, v.39, p.101-110, 1998.

GIBSON, A.M., BRATCHELL, N., 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. Journal of Applied Bacteriology, v.62, p.479-490, 1987.

GILL, C.O. The Solubility of Carbon Dioxide in Meat. Meat Science, v.22, p. 65-71, 1988.

GILL, C. O. In: The Encyclopedia of Food Science and Technology. New York: Y. H. Hui. Wiley, 1678 p., 1990.

GILL, C.O. Extending the storage life of raw chilled meats. Meat Science, v.43, p.S99- S109, 1996.

GILL, A.O.; GILL, C.O. Preservative packaging for fresh meats, poultry and finfish. In: Innovations in Food Packaging. J.H. Han (ed). Elsevier Ltd., New York, pp. 204-226, 2005.

GUERREIRO, L. Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas - Atmosfera Modificada, 2006.

HOLLEY, R.A.; PEIRSON, M.D.; LAM, J.; TAN, K.B. Microbial profiles of commercial, vacuum packaged, fresh pork of normal or short storage life. *Int. J. Food Microbiol.*, p. 97, 2004.

HOBBS, B. C.; ROBERTS, D. *Toxinfecções e controle higiênico-sanitário de alimentos*. São Paulo: Varela, 1999.

HOTCHKISS JH, LANGSTON SW. MAP of cooked meat and poultry products. In: FARBER JM, DODDS KL, editors. *Principles of modified-atmosphere and sous Vide product packaging*. Lancaster, Pa.: Technomic Publishing Co. p 137–52. [ISO] Intl. Organization for Standardization. 1993. *Sensory analysis—general guidance for assessors*. ISO 8586-1. 1st ed. Geneva, Switzerland: Intl. Organization for Standardization. 1995.

IRKIN R.; ESMER, O. K.; DEGIRMENCIOGLU.N and DEGIRMENCIOGLU.A Influence of packaging conditions on some microbial properties of minced beef meat at 4 °C storage Bulgarian *Journal of Agricultural Science*, 17 (No 5) p.655-663, 2011.

JAYAS, D. S.; JEYAMKONDAN, S. *Modified Atmosphere Storage of Grains Meats Fruits and Vegetables*. Biosystems Engineering, Londres, v.82 n.3, p.235–51, 2002.

JIMENEZ, S.M.; SALSI, M.S.; TIBURZI, M.C.; RAFAGHELLI, R.C.; TESSI, M.A.; COUTAZ,V.R. Spoilage microflora in fresh chicken breast stored at 4 °C: Influence of packaging methods. *J. Appl. Microbiol.* v. 83, p. 613–618, 1997.

JUNEJA, V.K.; MELENDRES, M.V.; HUANG, L.; GUMUDAVELLI V.; SUBBIAH J. THIPPAREDDI H. Modeling the effect of temperature on growth of Salmonella in chicken *Food Microbiology*, v. 24, p. 328–335, 2007.

JUNIOR, E. A. D. S.; PANETTA, J. C..Deterioração das carnes: eficiência e limitação das provas de gás sulfídrico e amônia. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 6, nº. 21, p.5-7, mar.,1992.

KARABAGIAS, I; BADEKA, A.; KONTOMINAS, M.G. Shelf life extension of lamb meat using thyme or oregano essential oils and

modified atmosphere packaging. *Meat Science*, v. 88(1), p. 109-116, 2011.

KOUTSOUMANIS, K. Predictive Modeling of the Shelf Life of Fish under nonisothermal Conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 67, N°. 4 p. 1821–1829, 2001.

KOUTSOUMANIS, K.P; STAMATIOU, A. P. SKANDAMIS AND G. J. E. NYCHAS, Development of a microbial model combined effect of temperature and ph on spoilage of ground meat and validation of the model under dynamic temperature conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 72: 124-134. 2006.

KOUTSOUMANIS, K.P; STAMATIOU, A.P; DROSINOS, E.H; NYCHAS, G.-J.E. Control of spoilage microorganisms in minced pork by a self-developed modified atmosphere induced by the respiratory activity of meat microflora. *Food Microbiology* 25 915–921. 2008.

LABADIE, J. Consequences of packaging on bacterial growth. Meat is an ecological niche. *Meat Science*, v. 52(3), p. 299-305, 1999.

LABUZA, T.P., FU, B. Growth kinetics for shelf-life prediction: theory and practice. *Journal of Industrial Microbiology*, v.12, p.309–323, 1993.

LATOU, E.; MEXIS, S.F.; BADEKA, A.V.; KONTAKOS S.; KONTOMINAS M.G. Combined effect of chitosan and modified atmosphere packaging for shelf life extension of chicken breast fillets. *LWT - Food Science and Technology*. V. 55, p. 263-268. 2014.

LAUTENSCHÄGER, B.I. Avaliação de embalagem de consumo com base nos requisitos ergonômicos informacionais. Florianópolis, SC. Dissertação de Mestrado.UFSC, 109p, 2001.

LI, X., LINDAHL, G., ZAMARATSKAIA, G., LUNDSTRÖM, K. Influence of vacuum skin packaging on color stability of beef *longissimuslumborum* compared with vacuum and high-oxygen modified atmosphere packaging. *Meat Science*, v. 92, p. 604-609, 2012.

LIMBO, S.; TORRI, L.; SINELLI, N.; FRANZETTI, L.; CASIRAGHI, E. Evaluation and predictive modeling of shelf life of minced beef

stored in high-oxygen modified atmosphere packaging at different temperatures. *Meat Science*, v. 84(1), p. 129-136, 2010.

LINDE. A combinação ótima para a frescura. MAPAX®, embalagem em atmosfera modificada. Catálogo, disponível em:

http://www.lindesogas.pt/internet.lg.lg.prt/pt/images/Cat%C3%A1logo%20MAPAX310_47044.pdfAcesso em: 05/11/2012.

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

LÓPEZ, S.; PRIETO, M.; DIJKSTRA, J.; DHANOA, M.S.; FRANCE, J. Statistical evaluation of mathematical models for microbial growth. *International Journal of Food Microbiology*, v. 96, p.289-300. 2004.

LORENZO, J.M.; GOMEZ.M .Shelf life of fresh foal meat under MAP, overwrap and vacuum packaging conditions. *Meat Science* 92, p. 610–618, 2012.

MACEDO, R.E.F.; ROSSA L.S.; NUNES L.C.A.S.; BIASI R.S.; GOMES C., GALEB, L. DO A. G.; KIRSCHNIK, P.G.. Atmosferas modificadas para conservação de carnes frescas: tendências e aplicabilidade tecnológica do monóxido de carbono. *Rev. Acad., Ciênc. AgráriasAmbientais, Curitiba*, v. 7, n. 4, p. 469-482, 2009.

MANCINI, R.A.; HUNT, M.C. Current research in meat color. *Meat Science*, Londres, v.71, n.1, p.100–21, 2005.

MASANA, M.O. Limitations and extensions of predictive microbiological models, M. Phil Thesis, University of Reading, 1999, In: Blackburn, W.C., Modeling shelf-life, In: Kilcast, D.; Subramaniam, P. (Ed.) *The stability and shelf-life of food*. CRC Press LLC, Cambridge, England, 2000.

MASSAGUER, P.R. *Microbiologia dos processos alimentares*. Varela editor, São Paulo, SP, Brazil. 2005.

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

McMEEKIN, T.A.; OLLEY, J.; ROSS, T.; RATKOWSKY, D.A. *Predictive microbiology: Theory and Applications*. Research studies Press, Taunt UK, 1993.

McMEEKIN, T. A. ROSS, T. *Predictive microbiology: providing a knowledge-based framework for change management*. *International Journal of Food Microbiology*, v.78, p.133-153, 2002.

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

McKELLAR, R. C.; LU, X. *Modeling Microbial Response in Food*. CRC series in contemporary food science. CRC PRESS Boca Raton, London, New York, Washington, D.C., 2004.

McMILLIN, K. W., HUANG, N. Y., HO, C. P., & SMITH, B. S. *Quality and shelf-life of meat in case-ready modified atmosphere packaging*. In Y. L. Xiong, F. Shahidi, & C. T. Ho (Eds.), *Quality attributes in muscle foods* (pp. 73–93). New York: ACS Symposium Series, Plenum Publishing Corporation. 1999.

McMILLIN, K. W. *Where is MAP going? A review and potential future of modified atmosphere packaging for meat*. *Meat Science*, 80, 43–65. 2008.

MDIC. MINISTÈRIO DO DESENVOLVIMENTO INDÚSTRIA E COMÈRCIO EXTERIOR. 2011. Disponível em <<http://www.mdic.gov.br/sitio/>> Acesso em: 25/03/2013.

MENDES, A. A. *Carne de frango saudável e nutritiva*. *Revista Avicultura Industrial*. 2002.

MEXIS, S.F.; CHOULIARA, E.; KONTOMINAS, M.G. Shelf life extension of ground chicken meat using an oxygen absorber and a citrus extract. *LWT - Food Science and Technology* v. 49, p. 21-27, 2012.

NAKASHIMA, S.M.K.; ANDRÉ, C.D.S. & FRANCO, B.D.G.M. Aspectos básicos da microbiologia preditiva (Revisão). *Braz. Journal Food Technology*.p. 41-51, 2000.

NEHLAWI, A. AL-; SALDO J.; VEJA, L.F.; GURI S. Effect of high carbon dioxide atmosphere packaging and soluble gas stabilization pre-treatment on the shelf-life and quality of chicken drumsticks. *Meat Science*, v. 94, p. 1–8, 2013.

NYCHAS, G. J., P. N. Skandamis, C. C. Tassou, and K. P. Koutsoumanis. Meatspoilage during distribution. *MeatSci*.78:77–89. 2008.

OLIVO, N., RABELO, R. A. Cortes e Rendimentos. In: OLIVO, N. O Mundo do Frango: Cadeia Produtiva da Carne do Frango. Criciúma, 2006.

OLIVEIRA, L. M.; SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; CUNHA, D. G.; LEMOS, A. B. Embalagens termoformadas e termoprocessáveis para produtos cárneos processados. *CETEA, ITAL, Polímeros*, v.16, n.3, 2006.

OSMANAGAOGLU, O. Behaviour and biological control of bacteriocin-producing *Leuconostocs* associated with spoilage of vacuum- packaged sucuk. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 27, 471–480. 2002.

PARRY, R. T. Principles and applications of modified atmosphere packaging of food. Glasgow, Blackie Academic & Professional, p.63-100, 269-298, 1993.

PATSIAS, A.; BADEKA, A.V.; SAVVAIDIS, I.N.; KONTOMINAS M.G. Combined effect of freeze chilling and MAP on quality parameters of raw chicken fillets. *FoodMicrobiology*, v. 25, p. 575–581, 2008.

PEÑA, W.L. Uso de modelos preditivos no crescimento e inativação de esporos de *Alicyclobacillus acidoterrestris* em suco de laranja e maçã. Campinas, 360p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP. 2005.

PEREZ, M. DEL R. R. Desarrollo y Validación de modelos matemáticos para La predicción de vida comercial de produtos cárnicos. Tese de Doutorado, CORDOBA, 2003.

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

PINTO, J.; NEVES, R. Análise de Riscos no Processamento Alimentar. PORTO: Publindústria, Edições Técnicas. 2010.

RAMIREZ, R. J. C., ULLOA, P. R., VELAZQUEZ, G., ULLOA, J. A., ROMERO, F. A. Bactérias Lácticas: Importancia en alimentos y su efecto en la salud. *Revista Fuente Año 2*, N.º. 7, ISSN 2007-0713, 2011.

RATKOWSKY, D.A., OLLEY, J., MCMEEKIN, T.A., BALL, A. Relationship between temperature and growth rate of bacterial cultures, *Journal of Bacteriology*, v.149, p.1-5, 1982.

RICHARDS, F. A flexible growth function for empirical use. *Journal of Experimental Botany*, v. 10, n. 29, p. 290-300, 1959.

ROÇA, R.O; REFRIGERAÇÃO.

http://pucrs.campus2.br/~thompson/Roça_108.pdf 2000. Disponível em 06 de agosto 2010.

ROSS, T.; McMEEKIN, T. A. Predictive Microbiology. *International Journal of Food Microbiology*, v.23, p.41-264, 1994.

ROSS, T. Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology. *Journal of Applied Bacteriology* 81, 501-508.1996.

ROSS, T., DALGAARD, P., TIENUNGOON, S. Predictive modelling of the growth and survival of *Listeria* in fishery products. *International Journal of Food Microbiology* 62 231–245. 2000.

ROTABAKK, B.T.; BIRKELAND, S., JEKSRUD, W. K.; SIVERTSVIK, M. Effect of Modified Atmosphere packaging and Soluble Gas Stabilization on the Shelf Life of Skinless Chicken Breast Fillets. *Sensory & Nutritive Qualities of Food*. 2005.

ROTABAKK, B.T.; WYLLER, J.; LEKANG, O.I.; SIVERTSVIK, M.A. mathematical method for determining equilibrium gas composition in modified atmosphere packaging and soluble gas stabilization systems for non-respiring foods. *Journal of Food Engineering*. v. 85, p. 479 – 490, 2008.

ROTABAKK, B.T.; LEKANG, O.; SIVERTSVIK M. Solubility, absorption and desorption of carbon dioxide in chicken breast fillets. *LWT - Food Science and Technology*, v.43, p. 442–446, 2010.

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 of meats at 4 degrees C. *Food Microbiol*. v. 17, p. 329-340, 2000.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L., OLIVEIRA, L.M., ANJOS, V.D.A., ALVES, R.M.V., ARDITO, E.F.G., Embalagens para produtos cárneos. Campinas: CETEA/ITAL, 92 p. 1991.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L. Embalagens para aves e derivados. Fundação APINCO de Ciência e Tecnologia Avícolas, Campinas, 1994.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; ALVES, R. M. V.; OLIVEIRA, L. M.; GOMES, T. Embalagens com atmosfera modificada. Campinas: CETEA/ITAL, 1996.

SARANTÓPOULOS, C I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; CANAVESI, E. Requisitos de conservação de alimentos em embalagens flexíveis. Campinas: CETEA/ITAL, 2001.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L, ANTONIO, J.T., Embalagens plásticas. *In: OLIVO, R., O mundo do frango: Cadeia produtiva da carne de frango*. Criciúma. 2006.

SARMENTO, C. M.P, Modelagem do crescimento microbiano e avaliação sensorial no estudo da vida de prateleira da mortadela e da

linguiça defumada em armazenamento isotérmico e não isotérmico. Tese de Doutorado. Universidade federal de Santa Catarina, 2006.

SAUCIER, L.; GENDRON, C.; GARIEPY, C. Shelf life of ground poultry meat stored under modified atmosphere. *Poult. Sci.* v. 79, p. 1851–1856, 2000.

SCHMIDT, F L. Tecnologias emergentes para aumentar a vida útil de alimentos (ênfase em carnes) *In: Simpósio de tecnologias de intervenção para manter a qualidade da carne e derivados*, 22 e 23 de agosto de 2002, Campinas/SP. *Anais*. Campinas: Centro de Tecnologia de Carnes, p.23-28m, 2002.

SILVA L. M.; MENDONÇA, P. S. M. Fatores que Influenciam o Consumo de Carne de Frango: Saúde e Preço. XLIII CONGRESSO DA SOBER. Sociedade Brasileira de Economia e Sociologia Rural. 2005.

SIMPSON R. ACEVEDO C. ALMONACID S. Mass transfer of CO₂ in MAP systems: Advances for non-respiring foods. *Journal of Food Engineering*, v. 92, p. 233–239, 2009.

SINGH, R.K.; SINGH, N. Quality of packaged.Foods. *Innovations in Food Packaging*, ISBN: 0-12-311632-5, p. 24-40, 2005.

SKINNER, E.G.; LERKIN, J.W. Mathematical modeling of bacterial growth: a review. *Journal of food safety*, n.14, p.175-217, 1994.

SMITH, J.; RAMASWAMY, H.; SIMPSON, B. Developments in Food Packaging Technology. Part 2: Storage Aspects. *Trends Food Science Technology*, Cambridge, v. 01, n. 05, p. 111 – 118, 1990.

SMITH, A.G.; DAY, B.P.F. Chill Food: Effect of Modified-atmosphere Packaging on Food Quality. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (Second Edition), p. 1157-1163, 2003.

SOLDATOU, N.; NERANTZAKI, A.; KONTOMINAS, M.G.; SAVVAIDIS, I.N. Physicochemical and microbiological changes of “Souvlaki” – A Greek delicacy lamb meat product: Evaluation of shelf-life using microbial, colour and lipid oxidation parameters. *Food Chemistry* v. 113, p. 36–42, 2009.

SØRHEIM, O.; KROPF, D. H.; HUNT, M. C.; KARWOSK, M. T.; WARREN, K.E. Effects of Modified Gas Atmosphere Packaging on Pork Loin Colour, Display Life and Drip Loss. *Meat Science*, v. 43, n. 2, p. 203-212, 1996.

SPENCER, K.C. Modified atmosphere packaging of ready to eat foods. *Innovations in foodpackaging*. ISBN: 0-12-311632-5, p. 185-203. 2005.

SUPERFRANGO. Tendências do consumo mundial de carnes em 2022. Disponível em: <http://www.superfrango.com.br/pt> Acesso em: 06/09/2013.

SWINNEN, I.A.M.; BERNAERTS, K; DENS, E.J.J.; GEERAERD, A.H.; VAN IMPE, J.F. Predictive modelling of the microbial lag phase: a review. *International Journal of Food Microbiology*, v. 94(2), p. 137-159, 2004.

TALAMINI, D. J. D.; MARTINS, F. M.; NOVAES, M. Embrapa: mercado nacional e internacional do frango. *Avicultura Industrial*, Porto Feliz, v.97, n.1140, p.20-25, 2005.

TRINDADE, M. A.; FREIRE, M.T.A.; OLIVEIRA, J.S. Diagnostico dos pontos críticos e avaliação das perspectivas para estudos relativos ao abate, processamento e embalagens da carne de ovinos. In: CARRER, C.C. A cadeia de negócios da ovinocultura de corte paulista: diagnóstico de pontos críticos e proposta de estruturação técnica e mercadológica. Pirassununga: Law book, Cap. 2, pag.62-66.v.1. 2009

UBA - UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA. Relatório Anual 2004/2005. Disponível em: <http://www.uba.org.br>. Acessado em: 22/05/2012.

UBABEF - União Brasileira de Avicultura. Disponível em: <<http://www.abef.com.br/ubabefnovo/frango>>. Acesso em: 22 maio 2012.

UBABEF, União Brasileira de Avicultura de Exportação de Frango *Revista Nacional da Carne*, ISSN 1413-4837, pag. 37-38.433, 2013.

VADASZ, A.S.; VADASZ, P.; ABASHAR, M.E.; GUPTHAR, A.S. Recovery of an oscillatory mode of batch yeast growth in water for a pure culture. *International Journal of Food Microbiology*, v.71, p.219-234, 2001.

VAN IMPE, J. F.; BART, I.; NICOLAI, B. M.; MARTENS, T; BAERDEMAEKER, J.; VANDEWALLE J. Dynamic Mathematical Model To Predict Microbial Growth and Inactivation during Food Processing, *Applied And Environmental Microbiology*, v. 58(9), p. 2901-2909, 1992.

VAN IMPE, J. F.; BART, M. N.; SCHELLEKENS, M.; MARTENS, T.; BAERDEMAEKER, J. A. Predictive microbiology in a dynamic environment: a system theory approach. *International Journal of Food Microbiology*, v. 25, p.227-49, 1995.

VIEIRA, E.T.T. Influência no Processo de Congelamento na Qualidade do Peito de Frango. 2007. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões. URI. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos. Disponível em: http://www.uricer.edu.br/cursos/arq_trabalhos_usuario/569.pdf. Acesso em 10 de fevereiro de 2013

WHITING, R. C.; BUCHANAN, R. L. A. Classification of Models for Predictive Microbiology. *Food Microbiology*, v.10, p. 175-177, 1993.

WHITING, R.C. Microbiological modeling. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35, 467-494, 1995.

WHITING, R.C.; BUCHANAN, R.L. Predictive modeling In: Doyle, M.P. Beuchat, L.R.; Montville, T.J. *Food microbiology fundamentals and frontiers*, Washington, ASM, P.728-739. 1997.

YAGHLENE, H.B.; LEGUERINEL, I.; HAMDY, M.; MAFART P.A. A new predictive dynamic model describing the effect of the ambient temperature and the convective heat transfer coefficient on bacterial growth. *International Journal of Food Microbiology*, v. 133, p. 48–61, 2009.

ZHANG et al. Models of *Pseudomonas* Growth kinetics and shelf life in chilled *longissimusdorsi* muscles of beef. Asian-Aust. J. Anim. Sci. v. 24, n. 5, p. 713-722, 2011.

ZHAO, Y. WELLS, J.H., MCMILLIN,. Applications of dynamic modified atmosphere packaging system for fresh red meats: review. J. muscle foods, 5: 299-328, 1994

ZWIETERING, M.H., JONGEBURGER, I., ROMBOUTS, F.M., RIET, K.V. Modeling of bacterial growth curve. Applied and Environmental Microbiology, v.56, p.1875 1881, 1990.

8. INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

8.1. Dados de contagem de microrganismos em filés de frango resfriado.

Foram realizadas análises microbiológicas de bactérias mesófilas, pseudomonas e bactérias ácido lácticas (BAL) em amostras embaladas com a concentração de gases de 100 % de CO₂, armazenadas a 4 °C e 8 °C e os resultados obtidos são mostrados nas Tabelas 8.1 e 8.2, respectivamente.

Tabela 8.1 Resultados das análises microbiológicas em amostras de filé de frango resfriado a 4 °C, embalado sob ATM e vácuo.

Tempo	4°C vácuo				4°C ATM 100 % CO ₂			
	Mesófilos (ufc/g)	Pseudomonas (ufc/g)	BAL (ufc/g)	Mesófilos (ufc/g)	Pseudomonas (ufc/g)	BAL (ufc/g)	Mesófilos (ufc/g)	Pseudomonas (ufc/g)
1	2,40E+04	<3	1,20E+03	2,40E+04	<3	1,20E+03	<3	1,20E+03
3	2,00E+05	<3	5,50E+03	3,10E+05	<3	3,10E+05	<3	3,10E+05
6	1,20E+06	<3	4,30E+05	4,10E+05	<3	3,70E+05	<3	3,70E+05
9	6,10E+06	<3	3,20E+06	2,95E+05	<3	3,30E+05	<3	3,30E+05
12	1,10E+08	<3	1,50E+07	9,75E+06	<3	5,05E+06	<3	5,05E+06
15	1,01E+06	<3	8,75E+05	1,16E+06	<3	8,75E+05	<3	8,75E+05
18	1,50E+08	<3	7,55E+06	4,85E+07	<3	4,45E+06	<3	4,45E+06
21	2,35E+07	<3	1,35E+07	3,70E+07	<3	2,20E+07	<3	2,20E+07
24	1,85E+08	<3	3,45E+06	4,85E+07	<3	5,20E+06	<3	5,20E+06
27	8,35E+07	<3	4,90E+07	3,20E+07	<3	9,30E+06	<3	9,30E+06
30	3,50E+08	<3	1,33E+07	4,05E+07	<3	3,00E+07	<3	3,00E+07
33	9,30E+07	<3	1,07E+07	1,51E+07	<3	6,45E+06	<3	6,45E+06
36	6,40E+07	<3	4,85E+07	4,80E+07	<3	2,70E+07	<3	2,70E+07
39	3,57E+07	<3	4,25E+05	2,15E+07	<3	4,55E+07	<3	4,55E+07

Tabela 8.2 Resultados das análises microbiológicas em amostras de filé de frango resfriado a 8 °C, embalado sob ATM e vácuo.

Tempo	8°C vácuo			8°C ATM 100 % CO ₂		
	Mesófilos (ufc/g)	Pseudomonas (ufc/g)	BAL (ufc/g)	Mesófilos (ufc/g)	Pseudomonas (ufc/g)	BAL (ufc/g)
1	2,40E+04	< 3	1,20E+03	2,40E+04	< 3	1,20E+03
3	1,50E+04	< 3	7,40E+03	1,00E+03	< 3	1,70E+02
6	1,40E+07	< 3	1,10E+07	5,50E+06	< 3	3,30E+06
9	6,60E+05	< 3	8,30E+05	1,85E+07	< 3	9,10E+06
12	2,30E+07	< 3	2,20E+07	7,60E+06	< 3	5,20E+06
15	1,80E+07	< 3	1,11E+07	2,80E+07	< 3	1,90E+07
18	4,40E+08	< 3	7,30E+07	1,25E+07	< 3	1,30E+05
21	5,15E+07	< 3	4,15E+07	3,45E+07	< 3	1,70E+07
24	2,90E+08	< 3	6,30E+06	2,35E+07	< 3	1,25E+07
27	1,48E+07	< 3	2,90E+06	6,75E+07	< 3	4,45E+07
30	4,05E+07	< 3	3,80E+06	1,35E+08	< 3	7,55E+07
33	3,00E+07	< 3	7,55E+06	2,75E+07	< 3	2,50E+07
36	6,25E+07	< 3	2,75E+07	7,95E+07	< 3	4,50E+07
39	6,45E+07	< 3	2,40E+06	6,85E+07	< 3	8,55E+06

Os resultados obtidos (Tabelas 8.1 e 8.2) evidenciaram que a contagem de pseudomonas ficou abaixo de 3 UFC/g e a contagem de mesófilos foi semelhante a de bactérias lácticas nas temperaturas de 4 e 8 °C nos diferentes dias de armazenamento. Observou-se que as contagens de bactérias mesófilas, pseudomonas e bactérias ácido lácticas foram semelhantes na comparação entre os tratamentos a vácuo e ATM com 100 % de CO₂. Ao comparar os resultados da Tabela 8.1 e 8.2, verifica-se que os resultados obtidos evidenciaram pouca diferença na contagem de BAL entre as temperaturas de 4 e 8 °C em vácuo e ATM. Para o tratamento a vácuo, o resultado foi incoerente com os obtidos em experimentos anteriores realizados para contagem de BAL nas temperaturas de 4 e 8 °C. Por esse motivo optou-se por não utilizar os resultados deste experimento com 100 % de CO₂ na discussão do presente trabalho.

ANEXO A - Dados de contagem de microrganismos em filés de frango resfriado.

Tempo	12°C ATM 50 % CO ₂		12°C vácuo	
	Pseudomonas (ufc/g)	BAL (ufc/g)	Pseudomonas (ufc/g)	BAL (ufc/g)
0	4,60E+02	3,00E+01	4,60E+02	3,00E+01
1	3,50E+00	5,50E+01	6,50E+00	3,50E+01
2	9,00E+00	3,55E+02	1,60E+01	5,30E+02
3	4,00E+00	3,25E+02	5,40E+01	5,00E+02
4	< 3	2,10E+04	3,50E+00	1,42E+04
5	5,00E+00	5,50E+05	< 3	9,50E+05
6	< 3	5,30E+04	< 3	1,15E+05
7	< 3	7,50E+04	1,05E+01	7,50E+04
9	1,30E+01	1,60E+06	1,50E+01	1,45E+06
11	4,00E+00	9,15E+04	9,50E+00	9,75E+04
13	< 3	4,70E+05	< 3	2,50E+05
15	< 3	1,95E+05	3,50E+00	4,55E+05
17	< 3	1,90E+05	4,00E+00	2,50E+05
19	< 3	2,95E+06	< 3	9,65E+05
21	< 3	1,20E+06	< 3	1,05E+06
25	< 3	3,15E+06	< 3	5,40E+06
28	< 3	1,90E+07	< 3	1,50E+07

Tempo	4°C ATM 50 % CO ₂	
	Pseudomonas (ufc/g)	BAL (ufc/g)
0	6,50E+00	3,00E+01
1	6,50E+00	3,50E+01
3	3,50E+00	1,00E+01
5	< 3	1,05E+02
7	4,00E+00	1,00E+01
10	3,50E+00	1,00E+01
13	< 3	4,00E+01
16	4,00E+00	
19	< 3	3,70E+03
22	< 3	4,63E+04
27	< 3	3,00E+05
33	< 3	2,38E+05
39	< 3	2,10E+06
43	< 3	7,95E+05

ANEXO B - Resultados da avaliação do pH, coloração e odor das amostras.

Data	Nº da amostra	pH	Odor	Coloração	Descrição da amostra
04/10	11780-11781	5.91	Característico	Característica	Vácuo 12 °C
04/10	11782-11783	6.03	Característico	Característica	ATM 12 °C
04/10	11784-11785	6.01	Característico	Característica	Controle 4°C
04/10	11786-11787	5.95	Característico	Característica	Controle 12 °C
05/10	11801-11802	5.97	Odor um pouco forte	Esbranquiçada	Vácuo 12 °C
05/10	11803-11804	5.91	Característico	Característica	ATM 12 °C
05/10	11805-11806	5.93	Característico	Característica	Controle 4°C
05/10	11807-11808	6.05	Característico	Característica	Controle 12 °C
05/10	11809-11810	6.09	Odor um pouco forte	Esbranquiçada	Vácuo 4°C
05/10	11811-11812	5.89	Característico	Característica	ATM 4°C
06/10	11813-11814	5.89	Característico	Característica	Vácuo 12 °C

06/10	11815-11816	6.23	Característico	Característica	ATM 12 °C
06/10	11817-11818	6.05	Característico	Característica	Controle 4°C
06/10	11819-11820	5.97	Característico	Característica	Controle 12 °C
07/10	11822-11823	6.08	Odor um pouco forte	Esbranquiçada	Vácuo 4°C
07/10	11824-11825	6.05	Característico	Característica	ATM 4°C
07/10	11826-11827	5.78	Odor um pouco forte	Esbranquiçada	Vácuo 12 °C
07/10	11828-11829	5.97	Característico	Característica	ATM 12 °C
07/10	11830-11831	6.25	Característico	Característica	Controle 4°C
07/10	11832-11833	5.94	Característico	Característica	Controle 12 °C
08/10	11866-11867	5.92	Odor forte	Esbranquiçada	Vácuo 12 °C
08/10	11868-11869	5.99	Odor forte	Esbranquiçada	ATM 12 °C
08/10	11870-11871	5.98	Odor forte	Esbranquiçada	Controle 4°C
08/10	11872-11873	6.02	Odor forte	Esbranquiçada	Controle 12°C
09/10	11952-11953	5.99	Odor forte	Esbranquiçada	Vácuo 12 °C

09/10	11954-11955	5.76	Odor forte	Esbranquiçada	ATM 12 °C
09/10	11956-11957	5.96	Odor forte	Esbranquiçada	Controle 4°C
09/10	11958-11959	5.93	Odor característico de putrefação	Esbranquiçada com tons esverdeados	Controle 12 °C
09/10	11960-1161	5.98	Odor característico de putrefação	Esbranquiçada com tons esverdeados	Vácuo 4°C
09/10	11962-11963	5.90	Odor característico de putrefação	Esbranquiçada com tons esverdeados	ATM 4°C
10/10	12040-12041	6.04	Odor forte	Esbranquiçada	Controle 4°C
10/10	12042-12043	5.99	Odor forte	Esbranquiçada	Controle 12 °C
10/10	12044-12045	5.99	Odor característico de putrefação	Esbranquiçada com tons esverdeados	Vácuo 12°C
10/10	12046-12047	6.02	Odor forte	Esbranquiçada	ATM 12 °C
11/10	12111-12112	5.88	Odor forte	Esbranquiçada	Controle 4°C
11/10	12113-12114	5.97	Odor característico de putrefação	Esbranquiçada com tons esverdeados	Controle 12 °C
12/10	12151-12152	5.97	Odor forte	Esbranquiçada	Controle 4°C
12/10	12153-12154	5.82	Odor característico de putrefação	Esbranquiçada com tons esverdeados	Controle 12 °C

12/10	12155-12156	5.95	Odor forte	Esbranquiçada	Vácuo 4 ^o C
12/10	12157-12158	5.93	Odor forte	Esbranquiçada	ATM 4 ^o C
12/10	12159-12160	5.99	Odor característico de putrefação	Esbranquiçada com tons esverdeados	Vácuo 12 ^o C
12/10	12161-12162	5.85	Odor forte	Esbranquiçada	ATM 12 ^o C
13/10	12163-12164	6.01	Odor forte	Esbranquiçada	Controle 4 ^o C
13/10	12165-12166	6.03	Odor característico de putrefação	Esbranquiçada com tons esverdeados	Controle 12 ^o C
14/10	12168-12169	5.82	Odor característico de putrefação	Esbranquiçada com tons esverdeados	Vácuo 12 ^o C
14/10	12170-12171	5.75	Odor característico de putrefação	Esbranquiçada com tons esverdeados	ATM 12 ^o C
14/10	12172-12173	5.84	Odor Forte	Esbranquiçada	Controle 4 ^o C
14/10	12174-12175	5.76	Odor característico de putrefação	Esbranquiçada com tons esverdeados	Controle 12 ^o C
15/10	12229-12230	5.85	Odor fraco	Esbranquiçada	Vácuo 4 ^o C
15/10	12231-12232	5.95	Odor fraco	Esbranquiçada	ATM 4 ^o C

15/10	12233-12234	5.92	Odor fraco	Esbranquiçada	Controle 4 ^o C
15/10	12235-12236	5.82	Odor característico de putrefação	Esbranquiçada com tons esverdeados	Controle 12 ^o C
16/10	12355-12356	6.04	Odor fraco	Esbranquiçada	Controle 4 ^o C
16/10	12357-12358	5.90	Odor característico de putrefação	Esbranquiçada com tons esverdeados	Controle 12 ^o C
16/10	12359-12360	5.89	Odor característico de putrefação	Esbranquiçada com tons esverdeados	Vácuo 12 ^o C
16/10	12361-12362	5.86	Odor forte	Esbranquiçada	ATM 12 ^o C
17/10	12464-12465	5.95	Odor fraco	Esbranquiçada	Controle 4 ^o C
17/10	12466-12467	5.90	Odor característico de putrefação	Esbranquiçada com tons esverdeados	Controle 12 ^o C
18/10	12540-12541	5.92	Odor fraco	Esbranquiçada	Vácuo 4 ^o C
18/10	12542-12543	5.88	Odor fraco	Esbranquiçada	ATM 4 ^o C
18/10	12544-12545	5.89	Odor fraco	Esbranquiçada	Controle 4 ^o C

18/10	12546-12547	5.88	Odor característico de putrefação	Esbranquiçada com tons esverdeados	Controle 12°C
18/10	12548-12549	5.73	Odor característico de putrefação	Esbranquiçada com tons esverdeados	Vácuo 12°C
18/10	12550-12551	5.90	Odor característico de putrefação	Esbranquiçada com tons esverdeados	ATM 12°C
21/10	12599-12600	5.97	Odor fraco	Esbranquiçada	Controle 4°C
21/10	12601-12602	5.76	Odor fraco	Esbranquiçada	Vácuo 4°C
21/10	12603-12604	5.83	Odor fraco	Esbranquiçada	ATM 4°C
21/10	12605-12606	6.07	Odor característico de putrefação	Esbranquiçada com tons esverdeados	Vácuo 12°C
21/10	12607-12608	5.92	Odor característico de putrefação	Esbranquiçada com tons esverdeados	ATM 12°C
24/10	12777-12778	5.99	Odor fraco	Um pouco esbranquiçada	Controle 4°C
24/10	12779-12780	5.87	Odor fraco	Um pouco esbranquiçada	Vácuo 4°C

24/10	12781-12782	6.02	Odor fraco	Um pouco esbranquiçada	ATM 4°C
27/10	12951-12952	5.90	Odor fraco	Um pouco esbranquiçada	Vácuo 4°C
27/10	12953-12954	5.93	Odor fraco	Um pouco esbranquiçada	ATM 4°C
27/10	12955-12956	6.11	Odor forte	Esbranquiçada	Vácuo 12°C
27/10	12957-12958	6.08	Odor característico de putrefação	Esbranquiçada	ATM 12°C
27/10	12959-12960	6.05	Odor característico de putrefação	Esbranquiçada com tons esverdeados	Controle 4°C
31/10	13169-13170	6.10	Odor fraco	Característica	Controle 4°C
31/10	13171-13172	6.05	Odor forte	Esbranquiçada	Vácuo 4°C
31/10	13173-13174	5.97	Odor forte	Esbranquiçada	ATM 4°C
04/11	13274-13275	5.98	Odor fraco	Esbranquiçada	Vácuo 4°C
04/11	13276-13277	5.99	Odor fraco	Esbranquiçada	ATM 4°C