

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS
CAMPUS DE FRANCISCO BELTRÃO

MARCOS MENIN

RAFAEL FCO. CARVALHO DE LEÃO

**INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NO PERÍODO DE
ARMAZENAMENTO DE SALSICHAS EMBALADAS À VÁCUO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

FRANCISCO BELTRÃO

2012

MARCOS MENIN

RAFAEL FCO. CARVALHO DE LEÃO

**INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NO PERÍODO DE
ARMAZENAMENTO DE SALSICHAS EMBALADAS À VÁCUO**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso, do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná- UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre da Trindade Alfaro

FRANCISCO BELTRÃO

2012

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NO PERÍODO DE ARMAZENAMENTO DE SALSICHAS EMBALADAS À VÁCUO

Por

MARCOS MENIN

RAFAEL FCO. CARVALHO DE LEÃO

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos, no Curso Superior de Tecnologia em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

BANCA AVALIADORA

Prof. Dr. Luciano Lucchetta

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR

(Banca)

Prof^a MSc. Cleusa Inês Weber

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR

(Banca)

Prof. Dr. Alexandre T. Alfaro

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR

(Orientador)

Prof. Dr. Luciano Lucchetta

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR

(Coordenador do curso)

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer, primeiramente, a Deus por mais esta conquista.

Aos nossos familiares, pelo apoio, pelo incentivo nos momentos mais difíceis.

Aos professores que durante o curso foram nossos mestres e são os principais responsáveis por chegarmos até aqui.

A todos os nossos colegas e amigos, em especial ao pessoal do 1º semestre 2008, os pioneiros, fomos os primeiros alunos do Campus UTFPR - Francisco Beltrão, fato que ficará na história.

Ao nosso orientador professor Alexandre da Trindade Alfaro, obrigado professor.

Enfim, a todos que de alguma maneira ou de outra nos ajudaram em algum momento a chegarmos ao fim desta etapa.

RESUMO

LEAO, Rafael Francisco Carvalho. MENIN, Marcos. Influência da temperatura no período de armazenamento de salsichas embaladas à vácuo. 2012. Monografia (Curso Superior de Tecnologia em Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, 2012

No presente trabalho, buscou-se avaliar o tempo de armazenamento de salsicha em duas diferentes temperaturas. Foram avaliados os padrões microbiológicos de acordo com legislação vigente e o processo de deterioração causado por bactérias ácido lácticas, as análises físico-químicas de pH, atividade de água também foram realizadas. Foram realizados a coleta em 10 semanas subseqüentes, sendo que a cada semana foram coletados 1 pacote para temperatura de 0°C e outro pacote para temperatura de 7°C, os 2 pacotes coletados semanalmente, foram destinados aos ensaios microbiológico e físico-químicos. Quanto aos parâmetros microbiológicos todas as amostras em ambas as temperaturas de armazenamento não apresentaram valores fora da legislação vigente, porém ocorreu uma proliferação considerável de bactérias ácido lácticas, a partir dos 49 dias de estocagem a 0° C e aos 21 dias sob temperatura de 7° C. Quanto aos parâmetros físico-químicos de pH, atividade de água e peróxido obtiveram variações durante o tempo de armazenamento, sendo que a temperatura de 7 °C obteve as maiores diferenças durante o período das análises. O produto armazenado sob temperatura de 0°C teve melhores condições microbiológicas e físico-químicas sendo aptas ao consumo durante o tempo de estocagem. Quando as amostras apresentaram contagem superior a 10⁶ ufc/g de bactérias ácido lácticas tornou-se um produto com coloração pálida, presença de limosidade e perda de vácuo, ficando fora dos padrões de qualidade inicial.

Palavras-chave: Salsicha. Parâmetros físico-químicos. Parâmetros Microbiológicos.

ABSTRACT

LEÃO, Rafael Francisco Carvalho. Menin, Marcos. Influence of temperature on the shelf life of vacuum-packed sausages. 2012. Monograph (Degree in Food Technology), Federal Technological University of Paraná, Francisco Beltrão, 2012

In this study, we sought to evaluate the storage time of sausage at two different temperatures. We assessed the microbiological standards according to current legislation and the process of decay caused by lactic acid bacteria, the physico-chemical analysis of pH, water activity were also performed. Collection were performed in 9 subsequent weeks, with each week were collected for 1 package temperature of 0 ° C and another package for temperature 7 ° C, 2 packets collected weekly, were intended to test microbiological and physico-chemical. Microbiological parameters all samples at both storage temperatures showed no values outside the legislation, but there has been a proliferation considerable lactic acid bacteria, from 49 days of storage at 0 ° C and 21 days at a temperature of 7 ° C. As for the physicochemical parameters of pH, water activity and peroxide variations obtained during the storage time, and the temperature 7 ° C had the highest differences during the period of analysis. The product stored at a temperature of 0 ° C had better microbiological and physical-chemical being able to use during the storage time. When the count samples showed more than 10⁶ cfu / g of lactic acid bacteria became pale with a product, the presence of limosidade vacuum and loss, out of the initial quality standards.

Keywords: Sausage. Physicochemical parameters. Microbiological parameters.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Preparo das Carnes.....	20
Figura 2: Sala de pesagem e dosagem de ingredientes.....	20
Figura 3: Produção de Massas: Matéria-prima com ingredientes prontos para realizar a emulsão.....	21
Figura 4: Massa pronta para embutir.....	21
Figura 5: Produção de Salsicha: Entrada e saída das salsichas nas estufas de cozimento.....	22
Figura 6: Produção de Salsichas: Salsichas na sala de depelagem e tingimento.....	23
Figura 7: Produção de Salsichas: Salsichas nas esteiras para o setor de embalagem.....	23
Figura 8: Salsicha no tempo zero dia de armazenamento.....	35
Figura 09: Salsicha a 7°C com 70 dias de armazenamento.....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 01: Quantidade máxima permitida de ingredientes em Salsichas.....	15
Tabela 02: Padrão microbiológico para salsicha	19
Tabela 03: Resultados microbiológicos das amostras de salsicha estocadas à 0°C em diferentes períodos de tempo.....	33
Tabela 04: Resultados microbiológicos das amostras de salsicha estocadas à 7°C em diferentes períodos de tempo.....	34
Tabela 05: Resultados Físico-Químicos de pH das amostras de salsicha estocadas em diferentes períodos de tempo:.....	37
Tabela 06: Resultados Físico-Químicos de Atividade de Água (Aw) das amostras de salsicha estocadas em diferentes períodos de tempo.....	39
Tabela 07: Resultados Físico-Químicos de Índice de Peróxido das amostras de salsicha estocadas em diferentes períodos de tempo.....	40

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	09
2. OBJETIVOS.....	11
2.2 OBJETIVO GERAL.....	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	12
3.1 SALSICHA.....	12
3.2 CLASSIFICAÇÃO DAS SALSICHAS.....	14
3.3 INGREDIENTES CÁRNEOS.....	15
3.4 INGREDIENTES NÃO CÁRNEOS.....	16
3.4.5 Aditivos.....	17
3.5 PADRÃO MICROBIOLÓGICO DE SALSICHA.....	19
3.6 DESCRIÇÃO DA PRODUÇÃO.....	19
3.7 DEFEITOS DE QUALIDADE.....	23
3.8 ESTOCAGEM DE ALIMENTOS.....	25
3.9 MANIPULAÇÃO DOS ALIMENTOS.....	26
4. ALTERAÇÕES NOS ALIMENTOS DURANTE A ESTOCAGEM.....	27
4.1. Alterações microbiológicas.....	27
4.2 Alterações químicas.....	28
4.3 Alterações físicas.....	29
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	29
5.1 ENSAIOS LABORATORIAIS.....	30
5.1.1 Análises microbiológicas.....	30
5.1.2 Análises físico-químicas.....	31
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
6.1 PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS.....	32
6.2 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS	36
6.2.1 pH.....	36
6.2.2 Atividade de Água (Aw).....	38
6.2.3 Índice de Peróxido (IP).....	40
7. CONCLUSÃO.....	42
REFERÊNCIAS.....	43

1 INTRODUÇÃO

Os produtos embutidos comportam uma significativa faixa dentro dos produtos industrializados e as salsichas comandam a porcentagem de produção total dos embutidos. A elaboração de embutidos, antes tomada como uma arte se baseia agora em uma ciência altamente sofisticada. Cada dia surge novos conhecimentos desde a indústria até os laboratórios governamentais ou universitários. Além do mais, as inovações juntamente com a engenharia mecânica em todos os pontos do processo de produção desde a manufatura até o envase, fazem da elaboração de embutidos uma das áreas da indústria cárnea mais dinâmica (PRICE & SCHWEIGERT, 1994).

Devido à complexidade dos alimentos, a previsão da sua vida útil não é uma tarefa fácil e de resultado preciso. Contudo, é sempre muito importante ter o máximo de informações sobre o alimento a conservar, pois isto, aliado a um bom conhecimento do mecanismo ou da cinética das reações de deterioração irá possibilitar uma estimativa do tempo de conservação. (BATTISTELLA, 2008).

A vida de prateleira é um atributo importante de todos os alimentos. Pode ser definido como o tempo que se passa desde a produção e embalagem até o ponto em que ele se torna inaceitável para o consumo. É relacionado, então, com a qualidade total do alimento e diretamente ligado ao planejamento da produção, às especificações dos ingredientes, ao processo de manipulação e à estocagem. (FORSYTHE, 2005).

A maioria dos alimentos por provir de material biológico de origem vegetal ou animal está sujeita a diferentes processos de deterioração, sendo os mais emergentes, aqueles de origem microbiana e que, portanto, recebem sempre o máximo de atenção. Contudo, mesmo com a prevenção adequada a esse tipo de deterioração, o alimento estará sujeito durante o seu ciclo de vida de prateleira a uma série de outras reações, cuja velocidade, variará em função de muitos fatores, tais como: temperatura, umidade, acidez, teor de oxigênio, embalagem e outros (BATTISTELLA, 2008).

O período de estocagem dos alimentos pode ser determinado pela combinação de análises microbiológicas e químicas de amostras durante o tempo de prateleira estimado (FORSYTHE, 2005). A determinação de condições que

proporcionem um maior período de vida útil ao alimento é de grande interesse para as indústrias processadoras e aos estabelecimentos varejistas.

O trabalho foi desenvolvido em parceria com uma empresa de embutidos situada no sudoeste do Paraná. Para tanto a empresa disponibilizou a matéria-prima e custeou as análises realizadas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência da temperatura no período de armazenamento de salsichas embaladas à vácuo.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a conservação do produto sob duas diferentes temperaturas;
- Avaliar a relação entre a qualidade sanitária do produto final e as etapas do processo;
- Realizar avaliações físico-químicas e microbiológicas ao final do processamento e durante a estocagem do produto;
- Determinar a faixa ótima de temperatura para conservação do produto;

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 SALSICHA

Segundo denominação do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), a salsicha é caracterizada como um produto cárneo embutido, formulado com carnes de diversas espécies, vísceras e outros tecidos animais aprovados para o consumo, são embutidos em envoltório natural ou artificial ou por processo de extrusão e submetida a um processo térmico adequado. Poderá ter como processo alternativo o tingimento, depelagem, defumação e a utilização de recheios e molhos. Devido ao próprio procedimento de fabricação, onde se utilizam as mais diversas partes do animal e ao seu amplo consumo pela população. Seu controle microbiológico torna-se um fator imprescindível para assegurar a qualidade do produto e, principalmente, a saúde do consumidor (CARVALHO, 2006; BRASIL, 2000).

A elaboração de produtos embutidos iniciou-se com um simples processo de salga e seca de carne. Isto se fazia para conservar a carne fresca que não poderia ser consumida imediatamente. Nossos antepassados descobriram que estes produtos melhoravam com a adição de especiarias e outros condimentos. Tanto a conservação como o sabor, eram favorecidas. Os produtos, no entanto, eram mais bem armazenados dentro de envases constituídos de tripas retiradas de intestino de animais (PRICE & SCHWEIGERT, 1994).

A salsicha, no entanto, comanda o carro chefe da família dos embutidos com 27% da produção total. Teve sua origem na cidade de Frankfurt por um açougueiro de nome Johann Georghehner, na Alemanha, por volta de 1484 e em 1893 o consumo explodiu nos Estados Unidos. Os consumidores gostavam do produto porque ele era fácil de comer, prático e barato (PRICE & SCHWEIGERT, 1994; KORMIKIARIS, 2006).

Neste mesmo ano as salsichas tornaram-se o lanche padrão nos estádios de beisebol. O nome cachorro quente começou sua história em Polo Grounds, estádio dos New York Giants. Num dia frio de abril, o comerciante Harry Stevens, responsável pelos alimentos vendidos no estádio, não estava conseguindo vender sorvete e refrigerante e mandou seus funcionários comprarem todas as salsichas e

pães que encontrassem. Em menos de uma hora, eles estavam oferecendo os sanduíches utilizando tanques portáteis com água quente e gritando “*They’re red hot! Get your dachshund sausages while they’re red hot!*”, numa tradução livre algo como “Elas estão pelando! Peguem suas salsichas dachshund enquanto elas estão quentes!”. Ao mesmo tempo, um cartunista que estava na cabine de imprensa do estádio ao ouvir os vendedores ele fez um cartão, onde, sem ter certeza de como escrever “dachshund”, ele simplesmente colocou “Get your hot dog!”, ou “Pegue o seu cachorro-quente!”. O cartum fez muito sucesso e o nome pegou (PRICE & SCHWEIGERT, 1994; KORMIKIARIS, 2006).

De certa forma, Kormikiaris (2006) já previa o que iria acontecer com a alimentação humana. As pessoas em decorrência de novas demandas geradas pelo modo de vida urbana são obrigadas a reequacionar suas vidas segundo as condições das quais se dispõe, como tempo, recursos financeiros, locais disponíveis para se alimentar, entre outros. As soluções são capitalizadas pela indústria e comércio, apresentando alternativas adaptadas às condições urbanas e delineando novas modalidades no modo de comer, o que certamente contribui para mudanças no consumo alimentar (GARCIA, 2003).

Para comprovar estes fatos, Garcia (2003) em sua pesquisa, apresenta dados obtidos pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, onde no início da década de 90, com a abertura de mercado, a importação de produtos alimentares industrializados cresceu 409%. O maior aumento foi observado nas preparações alimentícias diversas (1193%). Como se observa claramente, a industrialização da carne vem se intensificando e com finalidades diversas. Em decorrência deste consumo crescente de alimentos industrializados, as indústrias tornam-se obrigadas a adaptarem-se a esta demanda para continuarem no mercado (OLIVEIRA, 2000).

Os produtos embutidos comportam uma significativa faixa dentro dos produtos industrializados e as salsichas comandam a porcentagem de produção total dos embutidos. A elaboração de embutidos, antes tomada como uma arte se baseia agora em uma ciência altamente sofisticada. Cada dia surge novos conhecimentos desde a indústria até os laboratórios governamentais ou universitários. Além do mais, as inovações juntamente com a engenharia mecânica em todos os pontos do processo de produção desde a manufatura até o envase, fazem da elaboração de embutidos uma das áreas da indústria cárnea mais dinâmica (PRICE & SCHWEIGERT, 1994).

A produção de embutidos exige uma ampla variedade de ingredientes cárneos e não cárneos cada um exercendo uma função específica de acordo com sua propriedade. Dentre os ingredientes cárneos, existe uma grande variação quanto à sua composição devido às diversas fontes das quais essa matéria-prima pode ser obtida (REIS, 1999).

3.2 CLASSIFICAÇÕES DAS SALSICHAS

A Instrução Normativa Nº 4 (BRASIL, 2000) defini os tipos de salsicha passíveis de comercialização, de acordo com a composição da matéria-prima e das técnicas de fabricação, a saber:

Salsicha - Carnes de diferentes espécies de animais de açougue, carnes mecanicamente separadas até o limite máximo de 60%, miúdos comestíveis de diferentes espécies de animais de açougue (Estômago, Coração, Língua, Rins, Miolos, Fígado), tendões, pele e gorduras.

Salsicha Tipo Viena - Carnes bovina e/ ou suína e carnes mecanicamente separadas até o limite máximo de 40%, miúdos comestíveis de bovino e/ ou suíno (Estômago, Coração, Língua, Rins, Miolos, Fígado), tendões, pele e gorduras.

Salsicha Tipo Frankfurt - Carnes bovina e/ ou suína e carnes mecanicamente separadas até o limite de 40%, miúdos comestíveis de bovino e/ ou suíno (Estômago, Coração, Língua, Rins, Miolos, Fígado) tendões, pele e gorduras.

Salsicha Frankfurt - Porções musculares de carnes bovina e/ ou suína e gorduras.

Salsicha Viena - Porções musculares de carnes bovina e/ ou suína e gordura.

Salsicha de Carne de Ave - Carne de ave e carne mecanicamente separada de ave, no máximo de 40%, miúdos comestíveis de ave e gorduras.

Designação (Denominação de Venda): Será denominada de Salsicha, e opcionalmente poderá ter as seguintes denominações, isoladas ou combinadas de acordo com a sua apresentação para venda: Salsicha, Salsicha Viena, Salsicha Frankfurt, Salsicha Tipo Viena, Salsicha Tipo Frankfurt, Salsicha de Carne de Ave, Salsicha de Peru.

3.3 INGREDIENTES CÁRNEOS

A produção de embutidos exige uma ampla variedade de ingredientes cárneos e não cárneos cada um exercendo uma função específica de acordo com sua propriedade. Dentre os ingredientes cárneos, existe uma grande variação quanto à sua composição devida diversas fontes das quais essa matéria-prima pode ser obtida (GUERREIRO, 2006).

A matéria-prima da salsicha conforme Instrução Normativa Nº4 de 2000, é basicamente composta de carne de diferentes espécies de animais de açougue, carnes mecanicamente separada, miúdos comestíveis de diferentes espécies de animais de açougue, tendões, pele, gordura e alguns ingredientes opcionais como: água, proteína vegetal e/ou animal, agentes de liga, aditivos intencionais, açúcares, aromas, especiarias e condimentos. Os limites máximos permitidos para cada ingrediente encontram-se na tabela abaixo:

Tabela 1: Quantidade máxima permitida de ingredientes em Salsichas

Ingrediente	Limite máximo
Carnes (diferentes espécies e CMS)	60,0%
Miúdos comestíveis	10,0%
Proteínas não cárnicas	4,0%
Amido	2,0%
Gordura	30,0%
Água	10,0%

Fonte: IN nº 4 de 31/03/2000.

Carnes utilizadas na formulação: Na produção de embutidos, as carnes são os ingredientes principais, fornecendo suas características aos produtos. Podem ser de origem bovina, suína, de frango, entre outras. As proteínas, principal elemento que compõe a carne, são essenciais para a formação da massa da salsicha homogênea e estável, chamada emulsão.

Antes da utilização da carne, devem ser removidos os tendões, tecidos conjuntivos grossos, linfonodos, gorduras, cartilagem, pele de ossos, restos de pele, hematomas, carimbos de inspeção e demais coisas indesejáveis. Após a limpeza, a carne é cortada em pedaços de tamanho de acordo com o tamanho da boca do moedor que será utilizado. Sempre antes do processamento no cutter, a carne deve

passar pelo moedor para facilitar a trituração. É de fundamental importância a manutenção da temperatura da carne abaixo de 4°C (GUERREIRO, 2006).

Gorduras utilizadas na formulação: São usadas com finalidade de dar um paladar adequado ao produto, sendo usados nos teores de 15-30%. Os toucinhos de melhor qualidade são os de suíno, de cor branca, firmes e sem cheiro. Gorduras como a banha em rama causa uma consistência muito mole à salsicha, sendo mais usadas em patês. As gorduras bovinas são muito duras e causam uma sensação desagradável na boca. Se necessário, deve-se separar o toucinho da pele antes do uso e cortá-lo em pedaços. Moer o toucinho antes de colocá-lo no cutter, facilita o preparo. A gordura também é altamente perecível e sugere-se manter a temperatura em todas as etapas do processo abaixo dos 4°C (BATTISTELLA, 2008).

Carne mecanicamente separada de aves: de acordo com o regulamento técnico de identidade e qualidade, a carne mecanicamente separada (CMS) é a obtida por processo mecânico de moagem e separação dos ossos, carcaças ou partes de carcaças de animais de açougue (aves, bovinos, suínos), destinado a elaboração de produtos cárneos específicos que tenham sido aprovados para o consumo humano pelo Serviço de Inspeção Federal, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), não sendo permitida a utilização de cabeças, pés e patas (BRASIL, 2000).

As salsichas Viena e Frankfurt não deveram conter CMS, os demais tipos poderão conter de 40% (Salsicha tipo Viena e tipo Frankfurt) a 60% (Salsicha), desta mencionada da matéria-prima, a qual pode ser controlada com base na análise de cálcio, a qual tem presença máxima permitida diferente para cada tipo de salsicha (BRASIL, 2000).

Miúdos comestíveis: O emprego de miúdos e vísceras comestíveis (coração, língua, rins, estômagos, pele, tendões, medula e miolos), fica limitado no percentual de 10%, utilizados de forma isolada ou combinada, exceto nas Salsichas Viena e Frankfurt (BRASIL, 2000).

3.4 INGREDIENTES NÃO CÁRNEOS

Nos embutidos são adicionados uma variedade de produtos não cárneos, que geralmente são denominados como ligadores ou enchedores. São adicionados na fórmula por várias razões: melhorar a estabilidade da emulsão, aumentar a

capacidade de ligar água, melhorar o sabor e aroma, melhorar as características de corte, melhorar o rendimento durante a cocção e reduzir os custos de formulação.

Gelo ou água: A função da água ou o gelo adicionado na produção de derivados cárneos é colaborar na extração das proteínas do interior da carne para a superfície, solubilizando-as, e é também dispersar uniformemente os ingredientes e aditivos na massa cárnea (OLIVO, 2006).

O sal é um ingrediente muito importante, pois é um conservante natural, além de ser um agente de sabor, que reforça e valoriza o sabor das demais especiarias e ingredientes, também tem importância na redução de atividade de água, que conseqüentemente dificulta a multiplicação de micro-organismos. As proteínas miofibrilares são solúveis em solução salina e é extremamente importante na fabricação de embutidos, sua solubilidade em sal permite sua extração formando uma solução de proteína e preparando-as para o completo encapsulamento das gotículas de gordura, atuando assim como agente emulsificante e geleificantes na produção desses produtos (OLIVO, 2006).

O açúcar amacia o produto, neutralizando o severo endurecimento pelo sal.

As proteínas mais utilizadas são as de soja, do soro de leite, amidos ou féculas. A adição destes ingredientes visa obter algumas propriedades como: aumentar o teor de proteína e estabilidade de emulsão, melhorar a capacidade de retenção de água e gordura, reduzir o encolhimento durante o cozimento, melhorar a fatiabilidade, reduzir os custos de formulação, melhorar o rendimento. O índice de uso destas substâncias em produtos cárneos é controlado pela legislação (OLIVO, 2006).

3.4.1 ADITIVOS

Segundo a portaria Nº 540, da Agência Nacional da Vigilância Sanitária da ANVISA (BRASIL, 1997), a definição de aditivo é “qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos sem propósito de nutrir, como objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais durante a fabricação, processamento, preparação, tratamento, embalagem, acondicionamento, armazenagem, transporte ou manipulação do alimento. Ao agregar-se poderá resultar em que o próprio aditivo ou seus derivados se convertam em um componente de tal alimento. Esta definição não inclui os contaminantes ou

substâncias nutritivas que sejam incorporadas ao alimento para manter ou melhorar suas propriedades nutricionais”. Cada país possui a sua própria legislação sobre aditivos nos alimentos. No Brasil, o que regulamenta a atribuição de função de aditivos e seus limites máximos é a portaria Nº 1004 (BRASIL, 1998).

Os aditivos possuem diversas funções, conforme descrito abaixo:

Cura: A cura corresponde à combinação de sal de cozinha ao nitrato e nitrito. Funciona como conservadores e fornece a coloração vermelha ao produto cárneo. Na carne existe uma substância chamada mioglobina, responsável pela sua coloração vermelha. Quando a mioglobina se combina com os derivados do nitrito forma-se outro componente, o nitroso-mioglobina, que é estável durante o cozimento, salga e ao oxigênio do ar (BATTISTELLA, 2008).

Antioxidantes: São substâncias utilizadas para combater e retardar as alterações oxidativas nos produtos cárneos sendo oxidação lipídica ou oxidação de cor, consideradas reações de ordem físico-química, também pode ser potencializadas por ação microbiológica. Porém, o uso de aditivos especiais pode inibir esta oxidação, (Ácido ascórbico INS 300, Eritorbato de Sódio INS 316), (OLIVO, 2006).

Estabilizantes: Os estabilizantes são importantes ingredientes para a garantia da estabilidade dos produtos cárneos, contribuindo para evitar a exsudação de água, gordura e gel, bem como, para obtenção de rendimento e de textura final desejado para cada tipo de produto. Os fosfatos são estabilizantes mais utilizados, nas formulações são capazes de reter água e gordura, melhorando o rendimento sem prejudicar a suculência e textura do produto final (OLIVO, 2006).

Realçadores de Sabor: O glutamato está presente em todas as proteínas e é liberado pelo processo natural que acontece na fase de maturação da carne após o abate. É o agente responsável pelo sabor específico da carne. Como aditivo sua função é melhorar ou acentuar o sabor do produto.

Condimentos naturais: As salsichas ainda podem conter uma proporção característica de condimentos aromáticos como cominho, coentro, alcarávia, gengibre, macis, baunilha, cebola, alho, pimenta-da-Jamaica, páprica doce e ervas como manjerona, orégano ou salsa. A utilização de pimenta-do-reino também é comum. Na filosofia dos salsicheiros alemães, onde teve origem a salsicha, os condimentos devem refinar o sabor e o aroma da salsicha, mas não podem sobrepor ou mascarar o aroma da matéria prima. Os condimentos são aplicados nas etapas

finais da preparação da massa, para evitar uma possível perda de aroma (BATTISTELLA, 2008).

Corantes: Segundo Olivo (2006), os corantes são utilizados para melhorar e atribuir cor aos alimentos, garantindo maior estabilidade de cor e deixando o produto final mais atrativo. O corante natural de urucum é muito utilizado na produção de salsicha, a sua extração é dirigida no sentido de obter o máximo de rendimento em carotenóides da cor vermelha.

Acidulantes e Aromatizantes: Os acidulantes são substâncias utilizadas para modificar o pH dos produtos, realçarem o sabor ácidos dos alimentos, podendo agir como acelerador de cura, antioxidantes e como conservantes, por apresentarem ação antibacteriana. Os aromatizantes são substâncias que intensificam o sabor e aroma nos alimentos (OLIVO, 2006).

3.5 PADRÃO MICROBIOLÓGICO PARA SALSICHA

Segundo a Resolução – RDC Nº 12 de 02 de janeiro de 2001 a caracterização dos microrganismos e/ou suas toxinas consideradas de interesse sanitário exigidos para este tipo de produto seguem na tabela abaixo:

Tabela 2: Padrão microbiológico para salsicha

<i>Micro-organismo</i>	<i>Tolerância Máxima (UFC/g)</i>
Coliformes a 45°C/g	100
Estaf. coag.positiva/g	100
C. sulfito redutor a 46°C/Com	100
Salmonella sp/25g	Ausente

Fonte: RDC nº 12 de 02/01/2001

3.6 DESCRIÇÃO DA PRODUÇÃO

Preparo das Carnes: As carnes utilizadas na fabricação da salsicha devem estar congeladas, de forma a facilitar o controle da temperatura no cutter, durante o processo de trituração. O bloco de carne congelada deve ser cortado com o uso do *quebrador de blocos* ou *serra-fitas* até se obter pedaços de carne adequados para serem moídos, normalmente em discos com furos de 12 mm (BATTISTELLA, 2008).



Fonte: (LEÃO, MENIN, 2012)

Figura 1: Produção de Salsichas: Preparo das Carnes

Pesagem dos condimentos e aditivos: Nesta etapa, é realizada a pesagem dos aditivos e condimentos que serão utilizados no processo. A pesagem incorreta dos aditivos representa um perigo de contaminação química, principalmente no caso de conservadores (nitrito e nitrato) que requer controle rígido, devido à sua toxicidade. As dosagens de aditivos utilizadas devem estar claramente especificadas na formulação e sua quantidade dentro do permitido pela legislação, (GUERREIRO, 2006).



Fonte: (LEÃO, MENIN, 2012)

Figura 2: Sala de pesagem e dosagem de ingredientes

Emulsificação da massa: Além de triturar as carnes, tem como objetivo a extração das proteínas miofibrilares (actina, miosina), que possuem a capacidade de

estabilizar a emulsão. Para isto deve ser seguida uma seqüência de adição de ingredientes ao cutter ou emulsificador. (BATTISTELLA, 2008).



Fonte: (LEÃO, MENIN, 2012)

Figura 3: Produção de Massas: Matéria-prima com ingredientes prontos para realizar a emulsão

Embutimento: No processo de embutimento, podem ser utilizadas tripas naturais de carneiro, ou artificiais de celulose, de calibre de 22 milímetros. Torcer a tripa em forma de gomos de 9 a 12 cm de comprimento (equipamento mecânico de torção). Colocar os gomos em varas e estas em gaiolas para serem transportadas para as estufas de cozimento (GUERREIRO, 2006).



Fonte: (LEÃO, MENIN, 2012)

Figura 4: Produção de Salsichas: Massa pronta para embutir

Cozimento e Resfriamento: O objetivo dessa etapa do processo é cozinhar a massa, dando características de paladar adequado (cor, sabor e consistência), além de estabilizar a mistura e melhorar a conservação. O resfriamento é feito através de

chuveiros ou jatos de água em temperatura ambiente. Deve-se sempre utilizar água potável e tratada, para evitar contaminação do produto (BATTISTELLA, 2008).



Fonte: (LEÃO, MENIN, 2012)

Figura 5: Produção de Salsicha: Entrada e saída das salsichas nas estufas de cozimento.

Depelagem e tingimento: A casca é retirada automaticamente tomando cuidado com ajuste das lâminas que corta a tripa. O corte deve ser preciso, evitando cortes no produto. Algumas vezes, dependendo do mercado a ser atingida, a coloração da salsicha deve ser bem avermelhada e, devido à restrição na quantidade de sais de cura a serem utilizados, tipo de matéria-prima utilizada, esta cor não é atingida plenamente. Neste caso, utiliza-se o processo de tingimento a frio. O tingimento é feito em tanques próprios para este fim. Após a imersão no tanque de tingimento, com temperatura entre 70 e 75°C, as salsichas passam por outro tanque ácido (acético ou fosfórico) para neutralizar o pH, o corante utilizado para o tingimento é o corante de urucum é responsável pela coloração alaranjado-vermelha proveniente do pigmento bixina (GUERREIRO, 2006).



Fonte: (LEÃO, MENIN, 2012)

Figura 6: Produção de Salsichas: Salsichas na sala de depelagem e tingimento.

Embalagem: As salsichas são normalmente embaladas à vácuo, a estrutura da embalagem utilizada pode ser: Nylon/Polietileno. Após a embalagem à vácuo, são colocadas em caixas de papelão e armazenadas em câmara fria (GUERREIRO, 2006).



Fonte: (LEÃO, MENIN, 2012)

Figura 7: Salsichas nas esteiras para o setor de embalagem

3.7 DEFEITOS DE QUALIDADE

Relacionam-se a seguir, algumas das principais alterações indesejáveis observadas em produtos emulsionados e suas prováveis causas.

Maciez excessiva: Presença insuficiente de tecido conjuntivo na matéria-prima, excesso de batimento no *cutter*, facas sem afiação adequada.

Dureza excessiva: Teor muito elevado de carnes magras ou tecido conjuntivo, adição insuficiente de água (gelo), excesso de vácuo.

Depósitos de gelatina ou gordura: Teor muito baixo de carne magra adicionada, baixos teores de sal ou fosfatos adicionados, tempo muito longo de cominuição no *cutter*, facas sem amolação adequada ou tempo de espera para batimento muito longo, embutimento inadequado, tratamento térmico excessivo.

Depósitos de gelatina e gordura embaixo da tripa: Teor de carne magra muito baixo, pouco sal ou falta de fosfatos adicionados como coadjuvantes, tempo muito longo de cominuição no *cutter* ou facas não amoladas ou muito distantes da bacia, ocasionando stress na massa, embutimento com muitos bolsões de ar, ou pressão excessiva, ou ainda, um funil muito estreito.

Sabor: Quantidade de condimentos e especiarias inadequada, matérias-primas armazenadas por período muito longo (ranço) ou em embalagem inadequada, excesso de sal de cura ou falta de aceleradores de cura.

Coloração: Quando muito pálida: pouca carne magra, excesso de carne de aves, falta de sal de cura, tempo de cura insuficiente e temperatura de cocção muito baixa, quando está com pouca estabilidade: tempo muito longo de estocagem, carne DFD (pH muito alto), questões de higiene, pouco agente de cura adicionado, tempo muito longo de espera para o embutimento, temperatura muito elevada durante o resfriamento após cocção ou na estocagem refrigerada, limpeza e higiene dos equipamentos, quando aparecem zonas acinzentadas no centro do produto: tempo insuficiente de cura, temperatura muito baixa de cocção.

Rompimento da tripa: Teor muito elevado de tecido conjuntivo na formulação, tripa estocada inadequadamente, muita pressão no embutimento, temperatura de cocção muito elevada.

Palidez da superfície: Pouca adição de agente de cura, secagem ou avermelhamento inadequado.

Manchas verdes nos espaços com ar: Matéria-prima contaminada, excesso de ar na massa, dosagem insuficiente ou excessiva de sais de cura.

Granulação e salpicamento: Matéria-prima com teor de gordura muito elevado, muito tempo de cominuição no *cutter*, pouco tempo de estocagem (GUERREIRO, 2006).

3.8 ESTOCAGEM DE ALIMENTOS

Alimentos são naturalmente perecíveis. Numerosas mudanças ocorrem nos alimentos durante o processamento e a estocagem. É conhecido que as condições usadas para o processo e estocagem de alimentos podem influenciar adversamente nos atributos de qualidade dos alimentos. Durante a estocagem, um ou mais atributos de qualidade podem alcançar um estado indesejável. Neste instante, o alimento é considerado impróprio para o consumo e isto se diz ter alcançado o fim de sua vida de prateleira. Durante a estocagem e distribuição, os alimentos são expostos freqüentemente a condições ambientais, como temperatura, umidade, oxigênio e luz. Estas condições podem disparar muitos mecanismos de reações que podem ter ligações com a degradação de alimentos. Em consequência destes mecanismos, os alimentos podem ser alterados a tal extensão que poderão ser rejeitados pelo consumidor ou podem se tornar prejudiciais à pessoa que os consome, conforme exemplificado acima. A boa compreensão das diferentes reações que causam a deterioração do alimento é prioridade antes de desenvolver procedimentos específicos para a evolução da vida de prateleira do alimento (MAN E ADRIAN, 2000).

Segundo Freitas, Borges e Ho (2001), para que o alimento mantenha esta qualidade algumas características devem ser preservadas, tais como:

- Permanecer seguro para o consumo com características químicas, físicas e microbiológicas aceitáveis para o consumo regular do produto;
- Manter sua aparência, odor, textura e paladar;
- Venda: os produtos devem ser encaminhados até seu ponto de venda com um período de tempo, mais distante possível do fim de sua vida de prateleira para que ele possa ser estocado, se necessário, sem correr o risco de haver mudanças consideráveis em sua qualidade;
- Garantia da qualidade dos dados: o produto deve possuir um nível de qualidade aceitável pelo consumidor até seu último dia de vida de prateleira;
- Dados na embalagem: a embalagem deve conter todos os dados necessários para que o produto conserve suas características como: informações sobre como o produto deve ser armazenado e data de fabricação, lote, validade (F

Há alguns fatores, descritos abaixo, que devem ser considerados para mensurar quando um alimento inicia sua perda de qualidade:

- Crescimento microbiológico: o crescimento de algumas bactérias, bolor e leveduras em alimentos podem conduzir a uma deterioração precoce, além de causar uma intoxicação;
- Perda/Ganho de umidade: podem resultar na perda de nutrientes, escurecimento enzimático e rancificação. Alimentos secos podem ficar vulneráveis a contaminações microbianas se adquirirem umidade;
- Mudanças químicas: podem resultar na perda de odor e sabor, mudanças na cor, escurecimento enzimático e perda de nutrientes;
- Mudanças induzidas pela claridade: pode causar rancificação, perda vitamínica e enfraquecimento das cores naturais;
- Mudanças de temperatura: aumenta ou diminui a velocidade de outras formas de deterioração;
- Danos físicos: danos em alimentos embalados podem torná-lo vulnerável para deteriorações microbianas e não-microbianas como furos em embalagens plásticas, amassamento de latas, etc.;
- Outros: deterioração por roedores e insetos, alterações de aromas e odores de alimentos armazenados próximos a produtos com odor extremamente forte e produtos adulterados (FREITAS, BORGES E HO, 2001).

3.9 MANIPULAÇÃO DOS ALIMENTOS

Uma alimentação correta é o primeiro passo para garantir uma vida saudável. Atualmente, há grande preocupação do consumidor com a qualidade dos alimentos e os riscos que eles podem acarretar à saúde. Não basta apenas uma refeição aparentemente saudável e gostosa, mas também é preciso que ela seja segura do ponto de vista microbiológico, pois os alimentos destinados ao consumo humano estão expostos a um meio contaminado, podendo ter contaminação de origem ou em seu processamento por manipuladores (ANDREOTTI, 2003).

A manipulação deficiente dos alimentos nas cozinhas gera surtos de infecções e intoxicações de origem alimentar, os quais são difíceis de serem detectados por que os alimentos elaborados em um mesmo dia são consumidos em diferentes momentos e lugares. A temperatura é um fator de risco para a proliferação de micro-organismos. A conservação inadequada dos produtos como, por exemplo, a carne – que por si só já é um meio propício de proliferação,

juntamente com as condições de temperatura e o tempo de exposição, torna-se uma forma fácil para uma intoxicação alimentar (SANSANA, 2008).

A refrigeração, temperatura abaixo de 4°C, retarda o desenvolvimento das bactérias mais comumente responsável pela intoxicação por alimentos, já que elas não conseguem multiplicar-se nesta temperatura, mas o processo não elimina as bactérias. Os agentes de deterioração (bactérias, bolores e leveduras) têm comportamentos diversos com relação à temperatura: micro-organismos mesófilos agem entre 20°C e 45°C; algumas bactérias termófilas crescem entre 45°C e 70°C; e as psicrófilas têm ótimo desenvolvimento abaixo de 20°C e mesmo abaixo de 0°C (EVANGELISTA, 2008).

4 ALTERAÇÕES NOS ALIMENTOS DURANTE A ESTOCAGEM

As alterações nos alimentos durante a estocagem podem ser classificadas em: microbiológicas, químicas e físicas.

4.1 ALTERAÇÕES MICROBIOLÓGICAS

Centenas de gêneros e espécies de micro-organismos, provenientes do solo, da água, do ar, de utensílios, do trato intestinal do homem e de animais, dentre outros, podem contaminar os alimentos. Podem ser classificados em três categorias, sendo: micro-organismos *deteriorantes*, os quais promovem alterações químicas que comprometem a qualidade do alimento. A deterioração está, geralmente, associada a alterações sensoriais (aparência, que utilizam compostos do alimento como fonte de energia. Micro-organismos patogênicos promovem o desenvolvimento de infecções ou intoxicações no indivíduo que consumir o alimento contaminado. Por fim, há os que promovem reações químicas específicas que produzem alterações desejáveis em alimentos, modificando suas características sensoriais, como os utilizados na fabricação de queijos, vinhos e pães (FRANCO e LANGRAF, 2008).

Segundo Azeredo (2004), vários fatores afetam a capacidade de sobrevivência ou crescimento dos micro-organismos presentes em um alimento. Entre esses fatores existem os que se relacionam com as características do próprio alimento (fatores intrínsecos) como: atividade de água (A_w), pH, composição

química e potencial redox. Existem também aqueles fatores relacionados ao meio ambiente (fatores extrínsecos), que são: temperatura, umidade relativa (UR) e composição gasosa do ambiente.

4.2 ALTERAÇÕES QUÍMICAS

As alterações químicas indesejáveis em alimentos durante a estocagem englobam degradação de sabor, cor e textura; deterioração de propriedades funcionais de compostos, como perda de capacidade de retenção de água por aquecimento de proteínas; perda de valor nutricional; desenvolvimento de compostos tóxicos. A oxidação de lipídios é uma das alterações mais importantes em alimentos, comprometendo a qualidade a qualidade de carnes, entre outros tipos de alimentos (AZEREDO, 2004).

A oxidação é uma das principais causas de deterioração de alimentos. Os dois mecanismos principais de oxidação de lipídios são a auto-oxidação e a fotoxidação. A primeira ocorre em três etapas básicas, sendo: indução, propagação e terminação. Na indução, promovida pelos chamados iniciadores, como calor, luz, ocorre à quebra das ligações covalentes de ácidos graxos, resultando na formação de radicais livres (R^*). Na propagação, reações entre radicais R^* e o oxigênio (O_2), formam radicais peróxido (ROO^*), que seqüestram átomos de hidrogênio vizinhos a instaurações de outras moléculas, produzindo hidroperóxidos ($ROOH$) e novos radicais R^* , que por sua vez reagem com o O_2 , estabelecendo uma seqüência de reações em cadeia. Na etapa de terminação ocorre a formação de compostos não-radicaais, estáveis. Hidroperóxidos são degradados a aldeídos, cetonas e alcoóis, que como conseqüência causa uma alteração sensorial, que freqüentemente resulta em rejeição do produto (OETTERER ET AL; 2006).

A fotoxidação envolve a adição direta de oxigênio em seu estado singlete, altamente reativo, a molécula lipídica, não envolvendo a participação de radicais livres. Requer presença de O_2 , luz e compostos fotos sensibilizadores, como clorofila e compostos heme, que absorvem intensamente na região do visível do UV próximo (AZEREDO, 2004).

Alguns fatores afetam a taxa de oxidação dos alimentos ricos em lipídios, sendo eles: grau de instauração dos lipídios, teor de pró e antioxidantes, atividade de água (A_w), níveis de O_2 , radiações luminosas e temperatura.

4.3 ALTERAÇÕES FÍSICAS

São alterações encontradas em alimentos e produtos alimentícios, com destruição da sua qualidade.

Muitos fatores são responsáveis por estas alterações em alimentos, que ocorrem através de desidratações, de operações de manuseio, de queimaduras por exposição ao frio, de pressão e de condições inadequadas de transporte e armazenamento (EVANGELISTA, 2008).

5. MATERIAL E MÉTODOS

A avaliação e monitoramento do tempo de estocagem de salsicha embalada a vácuo foram realizados através de sucessivas análises físico-químicas, microbiológicas, após a embalagem e durante o período de 70 dias de armazenamento do produto em duas diferentes temperaturas.

A pesquisa foi elaborada com 21 amostras de salsichas coletadas imediatamente após a embalagem, sendo que 10 amostras foram para avaliação a 0°C e 10 para temperatura de 7°C e 1 amostra foi recolhida logo após a embalagem para ensaio inicial.

Cada amostra contemplou 1 pacote embalado à vácuo contendo aproximadamente 1kg de produto. A coleta foi realizada em 10 semanas subsequentes, sendo que a cada semana foram coletado 1 pacote para temperatura de 0°C e outro pacote para temperatura de 7°C, os 2 pacotes coletados semanalmente, foram destinados aos ensaios microbiológicos e físico-químicos. Os pacotes foram estocados de acordo com a faixa de temperatura para as análises de 0 °C, e 7°C em refrigerador com temperatura controlada. Com 1,7, 14, 21, 27, 35, 42, 49, 53, 63 e 70 dias foram realizados ensaios microbiológicos, físico-químicos nas duas temperaturas.

Na elaboração da salsicha foi utilizado carne mecanicamente separada de aves, carne de frango, carne suína, pele de frango, condimentos, sal, proteínas de soja, fécula e aditivos cárneos.

As amostras foram obtidas através de uma empresa de industrializados de frango localizado na cidade de Itapejara D' Oeste no sudoeste do Paraná, que custeou as análises microbiológicas e físico-químicas para o desenvolvimento do trabalho.

5.1 ENSAIOS LABORATORIAIS

5.1.1 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Para as análises de *coliformes* 45°C/g foi utilizado o meio de cultura Lauril Sulfato triptose (LST) para as inoculações da amostra em série de três tubos, contendo tubo de Durham invertido, que foram incubados a 35° C entre 24 e 48 horas. Nos tubos que apresentavam produção de gás e turvação, ou seja, dos considerados positivo foi retirado uma alçada de cada cultura para os tubos de Caldo Verde Brilhante Bile (VBB) e outra alçada para os tubos de Caldo *Escherichia coli* (EC). Os tubos (VB) foram incubados a 35°C em estufa entre 24 e 48 horas. Após as leituras foram feitos os cálculos do número de coliformes termotolerantes, utilizou-se a tabela de número mais provável (NMP) por grama de amostra (SILVA, 2007).

A quantidade de *Stafilococos aureus* coagulase positiva das amostras foi determinada em placas com Ágar Baird Parker (BP) suplementada com emulsão de gema de ovo e telúrito de potássio, depois incubadas por 48 horas a 35°C, depositando-se 0,1ml de cada diluição sobre superfície de Ágar e, com auxílio de uma alça de Drigalski, inóculo foi espalhado por toda a superfície do meio até a completa absorção. As placas foram incubadas a 35 - 37°C por 24 a 48 horas. Foram selecionadas as placas contendo as colônias típicas. A partir destas, selecionou-se três colônias típicas de cada placa, que foram inoculadas em tubos contendo 1 mL de Caldo infusão Cérebro Coração (BHI), os quais foram incubados a 35 - 37°C por 24 horas. A partir do subcultivo crescido em Caldo Infusão Cérebro Coração (BHI), foi realizado o teste coagulase positiva.

Para determinar a presença de *Salmonella spp*, o pré enriquecimento foi adicionado 25 gramas de amostra em 225 mL de Caldo Lactosado e incubado por 20 – 24 horas a 35°C. Da cultura pré enriquecida foi transferido 1 mL para tubos para tubos com 10 ml de Caldo Tetrionato (TT) e Caldo Selenito Cistina (SC), os

quais foram incubados por 24 horas a 35°C. Após estas culturas foram estriadas em placas com Ágar Xilose e Lisina Sesoxicolato (XLD) e Ágar Verde Brilhante (BG) e incubadas a 35°C por 24 horas para verificar o crescimento de colônias típicas de *Salmonella spp.* As colônias características de *Salmonella spp.* foram inoculadas em tubos com Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) e Ágar Ferro Lisina (LIA) (SILVA, 2007).

Para determinar a contagem de *Clostrídios sulfito redutores*, foram adicionado 25 g da amostra em 225 mL de Água Peptonada 0,1 % realizada a homogeneização da amostra, a partir da diluição inicial 10^{-1} realizou-se as diluições desejadas, a partir destas diluições, semearam-se alíquotas de 1 mL em placas estéreis e adicionou-se 15 mL de Ágar (TSC) em temperatura de 46 - 48°C e deixou solidificar em superfície plana, após a solidificação do Ágar incubou-se as placas em jarras de anaerobiose a 36°C por 18 – 24 horas. Selecionaram-se pelo menos cinco colônias típicas, preparou-se um esfregaço da cultura e submeteu-se a coloração de Gram (SILVA, 2007).

Para as análises de Bactérias Ácido Láticas, foram adicionado 25 g da amostra em 225 mL de Água Peptonada 0,1 % realizada a homogeneização da amostra, a partir da diluição inicial 10^{-1} realizou-se as diluições desejadas, a partir destas diluições semearam-se alíquotas de 1mL em placas estéreis contendo Ágar MRS. A incubação foi realizada em temperatura de 20°C por 5 dias em Anaerobiose. A confirmação do resultado selecionou-se pelo menos cinco colônias presentes na placa e realizado a cloração de gram e teste de catalase (SILVA, 2007).

5.1.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

A determinação de atividade de água (A_w) foi realizada utilizando o aparelho modelo Aqualab, conforme especificação de análise recomendado pelo fabricante.

As análises de pH foram realizadas de acordo com o método A.O.A.C (2000). Procedimento: Misturou-se 10 gramas da amostra homogeneizada com 90 mL de água destilada. Calibrou-se o pHmetro e após foi feito a leitura da amostra.

Para a análise de índice de peróxido cortou-se pedaços de 30 gramas da amostra e triturou-se em processador com 250 mL de clorofórmio por 2 a 3 minutos, filtrou-se imediatamente todo o conteúdo do processador em papel de filtro pregueado. Refiltrou-se em um papel filtro com uma pequena quantidade de sulfato

de sódio anidro, utilizando 100 mL de clorofórmio para lavar o recipiente, transferiu-se volumetricamente 25 mL do filtrado obtido para um erlenmeyer de 250 mL, adicionou-se 37 mL de ácido acético e 1 mL de solução saturada de iodeto de potássio, esperou-se 1 minuto agitando em ausência de luz, após adicionou-se 3 mL de água e titulou-se com solução de tiosulfato de sódio 0,01 N usando a solução de amido a 1 % como indicador. Para determinar a massa na alíquota pipetou-se 25 mL do extrato clorofórmico para uma cápsula previamente seca e tarada, evaporou-se o solvente em banho-maria a 60°C, secou-se o material em estufa a 105 °C por 30 minutos (AOAC, 1995)

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras foram avaliadas em períodos de tempo pré-determinados a fim de detectar os principais parâmetros microbiológicos, físico-químicos envolvidos no processo de deterioração no decorrer do tempo de estocagem.

6.1 PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS

De acordo com os resultados da tabela 03 e 04 observou-se que os micro-organismos descrito pela legislação brasileira RDC 12 (BRASIL, 2001), *Coliformes* a 45°C/g, *Estafilococos coagulase positiva*, *Salmonella spp* e *Clostridium sulfito redutor* apresentaram valores abaixo do padrão estabelecido que são de 100 ufc/g, e ausência de *Salmonella spp*.

Os resultados microbiológicos preconizados pela legislação mostraram que o processo térmico realizado no produto foi eficiente no ponto de vista de segurança alimentar não colocando em risco a saúde do consumidor.

Tabela 3: Resultados microbiológicos das amostras de salsicha estocadas a 0°C em diferentes períodos de tempo

Ensaio Microbiológico							
Tempo (Dias)	Amostra N°	Contagem de <i>Clostridium sulfito redutor</i> UFC/g	Contagem de <i>Coliformes</i> a 45°C/g UFC/g	Contagem de <i>Staphylococcus aureus</i> UFC/g	Pesquisa de <i>Salmonella spp</i> 25g	Contagem de Bactérias Lácticas UFC/g	
0	1	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausência	<1,0 x 10 ¹	
7	2	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausência	<1,0 x 10 ¹	
14	3	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausência	<1,0 x 10 ¹	
21	4	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausência	<1,0 x 10 ¹	
27	5	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausência	<1,0 x 10 ¹	
35	6	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausência	<1,0 x 10 ¹	
42	7	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausência	<1,0 x 10 ¹	
49	8	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausência	1,7 x 10 ³	
53	9	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausência	1,9 x 10 ⁴	
63	10	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausência	3,9 x 10 ⁴	
70	11	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausência	4,9 x 10 ⁴	

Além das bactérias analisadas de acordo com a legislação vigente, também foi avaliada a presença de bactérias ácido lácticas em ambas as temperaturas analisadas. Observou-se nas tabelas 03 e 04 que em ambas as temperaturas ocorreram uma proliferação considerável de bactérias ácido lácticas, a partir dos 49 dias de estocagem a 0° C e aos 21 dias sob temperatura de 7° C.

Tabela 4

Resultados microbiológicos das amostras de salsicha estocadas a 7°C em diferentes períodos de tempo.

Ensaio Microbiológicos						
Tempo (Dias)	Amostra N°	Contagem de <i>Clostridium sulfito redutor</i> (UFC/g)	Contagem de Coliformes a 45°C/g (UFC/g)	Contagem de <i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)	Pesquisa de <i>Salmonella spp</i> 25 g	Contagem de Bactérias Lácticas (UFC/g)
0	1	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausência	<1,0 x 10 ¹
7	2	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausência	<1,0 x 10 ¹
14	3	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausência	<1,0 x 10 ¹
21	4	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausência	1,1 x 10 ⁴
28	5	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausência	1,3 x 10 ⁴
35	6	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausência	1,9 x 10 ⁵
42	7	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausência	4,9 x 10 ⁵
49	8	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausência	2,4 x 10 ⁶
53	9	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausência	3,8 x 10 ⁶
63	10	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausência	2,4 x 10 ⁵
70	11	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10 ¹	Ausência	3,2 x 10 ⁶

Segundo Carmen (2006) o crescimento de bactérias lácticas em produtos dependeram da fermentação de carboidratos para seu desenvolvimento, a acidificação produzida inibi uma série de bactérias, inclusive patogênicas, como *Salmonella*, também as bactérias lácticas produzem bacteriocinas.



Fonte: (LEÃO, MENIN, 2012)

Figura 08: Salsicha no tempo zero dia de armazenamento

O aspecto visual da salsicha no tempo zero mostra um produto com uma aparência de coloração normal, já a viscosidade observada na figura 9 é oriunda da produção de ácido pelas bactérias lácticas, pois a viscosidade que ocorre na parte externa dos produtos é favorável em superfícies úmidas, ambiente característico dos pacotes de salsichas, a deterioração viscosa ocorre na parte externa dos envoltórios e apresenta inicialmente na forma de colônias discretas que mais tarde poderão se unir para formar uma camada cinza e viscosa e uniforme. Leveduras e bactérias lácticas dos gêneros *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Weissella* e *B. thermosphacta* produzem viscosidade e manchas verdes (JAY, 2005).



Fonte: (LEÃO, MENIN, 2012)

Figura 09: Salsicha a 7°C com 70 dias de armazenamento

A produção de H_2O_2 normalmente ocorre em salsichas causando manchas verdes, este defeito não foi observado durante todo o tempo de estocagem em ambas as temperaturas. Segundo Battistela (2008) geralmente aparece após a exposição ao oxigênio ou através da produção de H_2S , sendo que, este, normalmente não ocorre em pH abaixo de 6.

Podemos observar que a alta ligação entre as contagens microbiológicas de bactérias lácticas e a viscosidade seja favorável para o aumento de líquido no interior dos pacotes, quando o produto apresentou contagem superior a 10^6 ufc/g tornou-se uma aparência desagradável e perante a vista do consumidor um produto de rejeição de compra.

6.2 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

6.2.1 pH

O processo de deterioração de salsichas ocorre à acidificação pelo crescimento de bactérias ácido lácticas que resulta da utilização de lactose e outros açúcares pelos micro-organismos para a produção de ácido reduzindo o valor de pH.

Tabela 5

Resultados Físico-Químicos de pH das amostras de salsicha estocadas em diferentes períodos de tempo

pH			
Tempo (Dias)	Amostra N°	Temperatura 0°C	Temperatura 7°C
		<i>pH</i>	<i>pH</i>
0	1	6,41	6,41
7	2	6,50	6,47
14	3	6,42	6,38
21	4	6,81	6,04
27	5	6,51	5,49
35	6	6,45	5,04
42	7	6,32	5,02
49	8	6,44	4,94
53	9	6,48	5,21
63	10	6,28	5,10
70	11	5,46	4,90

A tabela 05 apresenta os resultados para o pH das temperaturas de 0°C e 7°C. Observa-se que o pH em temperatura de conservação à 0°C teve um decréscimo somente no final do tempo de estocagem, atingindo um pH final de 5,46, sendo que em temperaturas de 7°C o pH estava com valor de 5,49 chegando ao final de estocagem com 4,90.

Jay (2005) explica que algumas bactérias lácticas podem crescer em pH abaixo de 3,2 e outras acima de 9,6, mas a maioria numa faixa de 4,0 a 4,5 o que justifica um declínio de pH maior para a temperatura de conservação de 7° C em relação à temperatura de 0°C.

A acidificação ocorre devido ao crescimento de *Lactobacillus*, *Enterococcus* e micro-organismos relacionados, as fontes mais comuns desses micro-organismos em carnes processadas são os sólidos lácteos. A acidez resulta da utilização de lactose e outros açúcares pelos micro-organismos e também produção de ácido. De acordo com Borch et al (1996) e Metaxopoulos et al (2002) a produção de ácidos lácticos ou acéticos produzidos pelas bactérias lácticas justifica a queda no valor de pH observado nas amostras no decorrer do tempo de estocagem.

6.2.2 ATIVIDADE DE ÁGUA (A_w)

A atividade de água (A_w), o pH e a composição química do alimento são fatores que determinam o tipo de deterioração microbiana no produto. O limite máximo de água disponível para o desenvolvimento microbiano é condicionado pelo A_w do alimento, o teor de água é um fator muito importante no controle de taxa de deterioração (FELLOWS, 2006).

Segundo Cunha Neto et al. (2002), a maior A_w das salsichas “*hot dog*” tipo frango deriva da sua composição, onde a incorporação de carne mecanicamente separada e polifosfatos resultam num produto com maior suculência e maciez, e também com maior conteúdo de água tem tendência a favorecer o desenvolvimento microbiano.

Tabela 6- Resultados Físico-Químicos de Atividade de Água (A_w) das amostras de salsicha estocadas em diferentes períodos de tempo

Atividade de água (A_w)			
Tempo (Dias)	Amostra N°	Temperatura 0°C	Temperatura 7°C
		A_w	A_w
0	1	0,930	0,930
7	2	0,930	0,938
14	3	0,933	0,940
21	4	0,946	0,947
27	5	0,944	0,932
35	6	0,938	0,941
42	7	0,950	0,940
49	8	0,948	0,963
53	9	0,964	0,964
63	10	0,952	0,958
70	11	0,959	0,964

De acordo com a tabela 06 as variações de atividade de água foram de 0,93 a 0,95 para temperatura de 0°C e de 0,93 a 0,96 para 7°C. A maioria dos microorganismos incluindo as bactérias patogênicas se desenvolve rapidamente entre os níveis de A_w entre 0,99 e 0,98. A faixa de atividade de água entre 0,95 e 0,97 propicia condições do crescimento do *Clostridium botulinum* assuma a forma vegetativa e produtora de toxina (PARDI, 2007). Avaliando os resultados do tempo de armazenamento das duas temperaturas a salsicha demanda cuidados do ponto de vista higiênico sanitário, bem como a formulação deve empregar barreira com conservantes para garantir a inocuidade do produto

6.2.3 ÍNDICE DE PERÓXIDO (IP)

O índice de peróxido é um indicador muito sensível no estágio inicial de oxidação, e sua presença é indício de que a deterioração do sabor e odor, em função da estabilidade, está por acontecer. Quando sua concentração atinge certo nível, mudanças complexas ocorrem, formando compostos de baixo peso molecular, oriundos de sua degradação (ARAÚJO, 2008).

Tabela 7- Resultados Físico-Químicos de Índice de Peróxido das amostras de salsicha estocadas em diferentes períodos de tempo

Índice de Peróxido mEq KOH			
Tempo (Dias)	Amostra Nº	Temperatura 0°C	Temperatura 7°C
		Índice de Peróxido	Índice de Peróxido
0	1	0,71	0,71
7	2	0,71	0,82
14	3	0,60	0,63
21	4	0,60	2,78
27	5	0,71	2,74
35	6	0,81	2,74
42	7	1,24	1,15
49	8	1,91	3,07
53	9	2,74	2,33
63	10	2,33	4,38
70	11	1,24	4,39

As análises de Índice de peróxido apresentaram variações, em ambas as temperaturas avaliadas, observou-se que as condições de estocagem a 7°C os valores de IP foram maiores em relação à temperatura de 0°C.

Na formulação da salsicha a quantidade de CMS permitida pela legislação vigente é 60%, de acordo com o padrão de identidade e qualidade do CMS o padrão de IP não pode ultrapassar 1mEq KOH por Kg de gordura, este indicativo demonstra que na temperatura de 0 °C e 7°C os valores ultrapassaram 1mEq KOH favorecendo a oxidação lipídica.

Evangelista (2008) diz que a rancidez oxidativa é a matéria graxa por oxidação, intimamente ligada a presença de ácidos graxos insaturados, a tal ponto que nas mesmas condições de conservação e armazenamento, no produto com teor graxo, oxida-se em primeiro lugar a gordura de maior quantidade de ácidos graxos insaturados, em virtude das duplas ligações. A formação de compostos de odor e sabor desagradável é decorrente da oxidação de lipídeos nos alimentos podendo ocorrer por auto-oxidação, termoxidação e oxidação enzimática, sendo favorecido por vários fatores, entre eles, o primordial, que é a presença de oxigênio.

O contato do oxigênio com determinados produtos podem causar uma série de alterações indesejáveis, tais como: a rancificação de óleos e gorduras, atua no escurecimento enzimático, diminui o valor nutricional pela oxidação das vitaminas, proliferação de microorganismos que deterioram o alimento e oxidação de alguns pigmentos e compostos aromáticos, resultando em alterações de cor, aroma e sabor (SARANTÓPOULOS, 2002).

Em comparação com os autores descritos acima, evidencia-se que no final da estocagem uma parte do produto já havia perdido o vácuo, conseqüentemente aumentou a atividade de oxigênio e favoreceu a oxidação, odor e sabor fora dos padrões de qualidade inicial.

7. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos por estudo demonstraram que as duas temperaturas de armazenamento não apresentaram alterações microbiológicas segundo a legislação vigente.

A presença de bactérias ácido lácticas, nas duas temperaturas avaliadas apresentou diferenças durante período de estocagem, sendo que a temperatura de 7°C ocorreu uma proliferação a partir dos 49 dias de estocagem a 0° C e aos 21 dias sob temperatura de 7° C.

As análises de pH realizadas nas duas temperaturas apresentou variação de pH, a produção de ácido láctico ou acético produzidos pelas bactérias lácticas justifica a queda no valor de pH observado nas amostras no decorrer do tempo de estocagem.

As análises de atividade de água não apresentaram diferença durante o período de estocagem. Quanto às análises de índice de Peróxido apresentaram no final de tempo de estocagem valores acima de 1mEq KOH que favoreceu a oxidação, odor e sabor fora dos padrões de qualidade inicial.

Em 49 dias a temperatura de 7°C o produto apresentou contagem superior a 10^6 ufc/g, tornando-se um produto com coloração pálida, presença de limosidade e perda de vácuo, ficando fora dos padrões de qualidade inicial.

REFERÊNCIAS

- A.O.A.C. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis**, 2000.
- A.O.A.C. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis**, 1995.
- ANDREOTTI, Adriana; BALERONI, Flavia H.; PAROSCHI, Vanessa H. B.; PANZA, Sandra G. A. **Importância do treinamento para manipuladores de alimentos em relação à higiene pessoal**. Centro Universitário de Maringá – CESUMAR, vol.05 n.01, p.29-33, jan-jun. 2003.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. 2001. Resolução – RDC Nº 12 de 02 de janeiro de 2001. **Regulamento Técnico para Padrões Microbiológicos para Alimentos**. Brasília-DF.
- ARAÚJO, JÚLIO M. A. **Química de Alimentos**. 4ª Edição. Viçosa, MG: UFV, 2008.
- AZEREDO, Henriete M.C. **Fundamentos de Estabilidade de Alimentos**. 1ª Edição. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2004.
- BATTISTELLA, P. M. D. **Análise de Sobrevivência Aplicada à Estimativa da Vida de Prateleira de Salsichas**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos), Programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2008.
- BORCH, E.; KANT-MUERMANS, M. I.; Blixt, Y. 1996. **Bacterial Spoilage of Meat Products**. *International Journal Food Microbiology*. 33: 103-120.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO.; Instrução Normativa Nº 4, Anexo IV: **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Salsicha**, 31/03/2000.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO.; Instrução Normativa Nº 4, Anexo IV: **Regulamento Técnico para Fixação de**

Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada (CMS) de Aves, Bovinos e Suínos, 31/03/2000.

BRASIL, Portaria N° 1004, de 11 de dezembro de 1998. **Atribuição de Função de Aditivos e seus limites máximos de uso para a categoria 8 – carne e produtos cárneos**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, 1998

BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO.; Instrução Normativa N° 20, Anexo: **Métodos Analíticos Físico-Químicos para controle de produtos Cárneos e seus Ingredientes – Sal e Salmoura**, 21/07/1999.

CARMEN, J. **Qualidade da carne**. 1 ed. São Paulo: Livraria Varela, 2006.

CARVALHO, L. T.; **Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle na Linha de Produção de Salsichas**. *Revista Higiene Alimentar*. 20 (141): 36-44, 2006.

CUNHA NETO, A.; SILVA, C. G. M.; STAMFORD, T. L. **M.Staphylococcus em terotoxigênicos em alimentos in natura e processados no estado de Pernambuco**, Brasil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 22, n. 3, p. 263-271, set.-dez., 2002.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de Alimentos**. 2 ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2008.

FELLOWS, P.J. **Tecnologia de Processamento de Alimentos: princípios e prática**. Porto Alegre: Artmed, 2006.

FORSYTHE, STEPHEN J.; Department of Life Sciences, Nottingham Trent University, **Microbiologia da Segurança Alimentar**, pág. 117 à 118, ed. ARTMED, 2005.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.

FREITAS, M. A.; BORGES, W.; HO, L. L. A. 2001. **Statistical Model for Shelf Life Estimation Using Sensory Evaluation Scores**. *Relatório Técnico RTP-10/2001*. Universidade federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Exatas. Departamento de Estatística. Minas Gerais

GARCIA, R. W. D. Outubro/Dezembro 2006. **Reflexos da Globalização na Cultura Alimentar**: Considerações Sobre as Mudanças na Alimentação Urbana. Revista de Nutrição. 16 (4).

GUERREIRO, Lilian. **Dossiê Técnico: Produção de Salsicha**. Rio de Janeiro: Redetec, 2006.

JAY, J. M. 2005. Microbiologia de Alimentos. Editora Artmed. Sexta Edição. São Paulo-SP.

KORMIKIARIS, G. Alemães e Austríacos “Brigam” por Invenção do Hot Dog. Folha UOL Online. Disponível em: http://www1.folha.uol.com.br/folha/equilibrio/equi20000904_hotdoghist.shtml,

Acesso 20/03/2012.

MAN. C.M.D.; ADRIAN. **Shelf Life Evaluation of Foods**. USA: Aspen Publishers, 2000.

OETTERER, Marília; D'ARCE, Maria A.B.R.; SPOTO, Marta H.F. **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. São Paulo: Editora Manole Ltda, 2006.

OLIVEIRA, E. et al. 2000. **Determinações em Nutrientes Minerais em Alguns Produtos Carneos**. Revista Brazilian Journal of Food Technology. 3: 121-127.

OLIVO, RUBISON E COLABORADORES; **O Mundo do Frango**: Cadeia Produtiva da carne de Frango, pág. 415, Criciúma, 2006.

PARDI, M. C. **Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne**. 2. ed. Goiânia: Editora da UFG, 2007.

PRICE, J. F.; SCHWEIGERT, B. S. 1994. **Ciencia de la Carne y los Productos Cárnicos**. Editora: Acribia; 2ª Edição, Zaragoza (Espanña).

REIS, R. A. A.; SANTOS, W. L. M.; OLIVEIRA, A. L. 12/1999. **Identificação da Hidroxiprolina como Índice de Qualidade de Salsicha Comercializada em Belo Horizonte-MG**. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. 51 (6): 589-594.

SANSANA, Cellem D. **Segurança Alimentar Domiciliar: Conservação da Carne Mediante a Aplicação do Frio**, Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR - Ponta Grossa – Paraná VI Semana de Tecnologia em Alimentos, ISSN: 1981- 366X / v.02, n.39, BRASIL.2008.

SARANTÓPOULOS, C. **Embalagens Plásticas Flexíveis: Principais polímeros e avaliação de propriedades**. Campinas: CETEA/ITAL, 2002.

SILVA, Neusely da; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA. N. F. A. **Manual de Métodos de Análises Microbiológica de Alimentos**, São Paulo: Ed. Livraria Varela, 1997. p. 21-39.

CARMEN, J. **Qualidade da carne**. 1 ed. São Paulo: Livraria Varela, 2006.

