

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

MÁRCIO FERNANDO DUCAT MOURA

AVALIAÇÃO DA VIDA DE PRATELEIRA DE PEITO DE
FRANGO SEM PELE SOB-REFRIGERAÇÃO.

JOÃO PESSOA - PB

2011

Márcio Fernando Ducat Moura

Avaliação da vida de prateleira de peito de frango
sem pele sob refrigeração.

João Pessoa - PB

2011

Márcio Fernando Ducat Moura

Avaliação da vida de prateleira de peito de frango
sem pele sob refrigeração.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba em cumprimento aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Eustáquio Resende Travassos

João Pessoa - PB

2011

M929a Moura, Márcio Fernando Ducat.

Avaliação da vida de prateleira de peito de frango sem pele
sob refrigeração / Márcio Fernando Ducat Moura.-- João
Pessoa, 2011.

61f. : il.

Orientador: Antônio Eustáquio Resende Travassos

Dissertação (Mestrado) – UFPB/CT

1. Tecnologia de Alimentos. 2. Peito de frango. 3. Vida de
prateleira. 4. Condições higiênico-sanitárias.

UFPB/BC

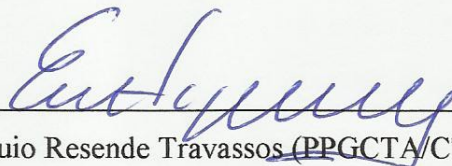
CDU: 664(043)

Márcio Fernando Ducat Moura

**AVALIAÇÃO DA VIDA DE PRATELEIRA DE PEITO DE FRANGO SEM PELE
SOB REFRIGERAÇÃO.**

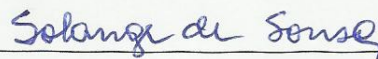
Aprovada em : 31 / 08 / 2011 .

BANCA EXAMINADORA



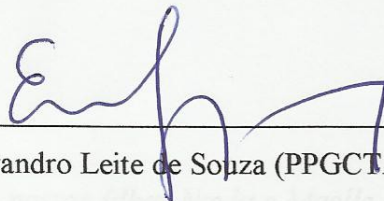
Prof. Dr. Antônio Eustáquio Resende Travassos (PPGCTA/CT/UFPB)

Coordenador da Banca Examinadora



Prof. Dra. Solange de Souza (DGTA/UFPB - Campus III)

Examinador externo



Prof. Dr. Evandro Leite de Souza (PPGCTA/CT/UFPB)

Examinador interno

A minha esposa – Danielle, as nossas filhas Nayla e Maelle que tanto nos alegraram em sua curta passagem por nossas vidas durante a realização deste mestrado.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À DEUS, por me dar a vida e permitir todas as coisas;

À minha esposa Danielle, pelo apoio, paciência e incentivo em todos os momentos;

Ao meus queridos irmãos Jefferson e Lourdes, pelo apoio, incentivo e dedicação;

Ao professor Dr. Antônio Eustáquio, pois sem sua colaboração e apoio não teria sido possível a conclusão deste trabalho.

Ao professor Hermano Toscano, quando Diretor Geral da AGEVISA-PB, ter permitido conciliar meu horário de trabalho com o das aulas.

Ao LACEN – Laboratório de Central de Saúde Pública, por ter sido o principal colaborador na realização das análises deste trabalho em especial a Walércia, pela grande ajuda na realização das análises.

A Alberto Molina, quando Diretor Geral da AGEVISA-PB, ter colaborado na logística das coletas das amostras.

Ao Professor Dr. Ricardo Targino Moreira, pela atenção, incentivo e grande contribuição na continuidade deste mestrado.

A Professora Dr^a. Neiva, pela colaboração e atenção em meu estágio a docência.

Ao Professor Dr. Walter Maia, pelo incentivo e colaboração na indicação de meu estágio a docência, força professor!

A todos que de forma direta ou indireta me ajudaram com a concretização de mais um sonho.

Muito Obrigado.

RESUMO

A vida de prateleira dos alimentos é o tempo estabelecido para que o alimento seja consumido com segurança quanto aos aspectos microbiológicos, físico-químicos e sensoriais, sendo fator determinante na logística de produção, comércio e consumo, sendo considerado no custo do produto, principalmente quando se trata de alimentos perecíveis, pois a presença e o crescimento de micro-organismos durante a produção até o consumo são inevitáveis e seu estudo é essencial para o desenvolvimento de tecnologias de conservação e determinante quanto ao risco em que os consumidores estão expostos. Neste trabalho foram simuladas as condições de tempo (quinze dias) e temperatura ($< 2,0^{\circ}\text{C}$) indicados pelo fabricante como vida de prateleira do produto analisado e realizadas as avaliações microbiológicas e físico-químicas durante os tempos de 0, 5, 10 e 15 dias para peito de frango sem pele, cru e sob-refrigeração ($1,4 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$). As amostras foram analisadas quanto a presença/ausência do microorganismo *Salmonella* spp., contagem de micro-organismos mesófilos, NMP - número mais provável para o grupo de coliformes, presença/ausência de *E. coli* e análise de pH. Em nenhuma das amostras foi detectada a presença de *Salmonella* spp., durante o tempo de estudo, porém, o tempo de 10 dias mostrou-se como limite para garantia da qualidade das amostras para o microorganismo Coliformes a 45°C , estando com 70% das amostras impróprias ao consumo humano e em desacordo com o que preceitua a legislação sanitária vigente. Foi possível constatar que a qualidade microbiológica da carne de frango apresentou falhas, como demonstrado pelo elevado número de bactérias aeróbias mesófilas, coliformes a 35°C e confirmação da presença de *E. coli* em 20% das amostras, podendo, portanto, ser um risco em potencial para ocorrência de Doenças Veiculadas por Alimentos - DVA.

Palavras-Chave: Peito de frango; vida de prateleira; condições higiênico-sanitárias;

ABSTRACT

The shelf life of foods is the time allowed for food to be consumed safely on the microbiological aspects, physicochemical and sensory characteristics, and is a determining factor in production logistics, trade and consumption, considered in the cost of the product, especially when it comes to perishable foods, for the presence and growth of micro-organisms during production to consumption are inevitable and their study is essential for the development of conservation technologies as well as determining with regard to the risk which consumers are exposed to. In this work we simulated the conditions of time (fifteen days) and temperature ($<2.0^{\circ}\text{C}$) as indicated by the manufacturer shelf life of the product analyzed and the evaluations performed microbiological and physico-chemical properties during times of 0, 5, 10 and 15 days for raw and under cooling ($1.4 \pm 0.6^{\circ}\text{C}$) chicken breast without skin. The samples were analyzed for the presence / absence of the microorganism *Salmonella* spp., quantification of mesophilic microorganisms, MPN- most probable number for the group of coliform bacteria, the presence / absence of the *Escherichia coli* and pH analysis. None of the samples showed the presence of *Salmonella* spp. during the study, however, 10 days time was the limit for guaranteeing the quality of the microorganism Fecal samples at 45°C , and 70% of samples unfit for human consumption and at odds with the precepts of sanitary legislation in force. It was found that the microbiological quality of chicken flesh had flaws, as demonstrated by the high number of mesophilic aerobic bacteria, coliforms at 35°C and the confirmed presence of *E. coli* in 20% of the samples, which may therefore be a potential risk for the occurrence of foodborne illnesses – DVA.

Key words: chicken breast, shelf life, hygienic and sanitary conditions.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resultado da temperatura das amostras de peito de frango sem pele armazenados sob refrigeração ao tempo de 15 dias. 40

Tabela 2 – Resultados das Análises microbiológicas (logaritmo na base 10) para coliformes, mesófilos e Salmonella em peito de frango sem pele armazenados sob refrigeração ao tempo de 15 dias. 42

Tabela 3 – Resultados do pH das amostras de peito de frango sem pele armazenados sob refrigeração ao tempo de 15 dias. 51

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Placa de EMB contendo colônias típicas de <i>Escherichia Coli</i>	36
Figura 2 – Teste de citrato para confirmação de <i>E. Coli</i>	37
Figura 3 - Resultado da temperatura das amostras de peito de frango sem pele armazenados sob refrigeração ao tempo de 15 dias	41
Figura 4 – Resultado do crescimento microbiano nas amostras de frango sem pele, armazenados durante 15 dias a $4,1 \pm 0,2$ °C.	43
Figura 5 – Crescimento dos aeróbios mesófilos viáveis de cada amostra	44
Figura 6 – Média de crescimento dos aeróbios mesófilos viáveis.	45
Figura 7 – Crescimento de Coliformes Totais em todas as amostras.	46
Figura 8 – Média de crescimento de Coliformes Totais.	47
Figura 9 – Média de crescimento de Coliformes a 45 °C.	48
Figura 10 – Crescimento de Coliformes a 45°C de todas as amostras.	49
Figura 11 – Crescimento dos valores da média dos pH das amostras.	52
Figura 12 – Crescimento dos valores pH em todas as amostras.	53

SUMÁRIO

	RESUMO	VII
	ABSTRAT	VIII
	LISTA DE TABELAS	IX
	LISTA DE ILUSTRAÇÕES	X
1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	Objetivos Geral	16
2.2	Objetivos Específicos	16
3	REVISÃO DE LITERATURA	17
3.1	Controle sanitário em abatedouros de aves.	17
3.2	Qualidade microbiológica da carne de frango	19
3.3	Micro-organismos indicadores da qualidade higiênico-sanitária de alimentos	21
3.3.1	Coliformes Totais	21
3.3.2	Coliformes termotolerantes e <i>E. coli</i>	21
3.3.3	Bactérias aeróbias mesófilas viáveis	23
3.3.4	<i>Salmonella</i> spp.	24
3.4	Competências de Fiscalização de Produtos de Origem Animal e Monitoramento de DDA.	25
3.5	Alterações e vida útil de carne de frango armazenado sob refrigeração	28
3.5.1	Alterações em carne de frango armazenado sob refrigeração	28
3.5.2	Alteração do pH na carne de frango <i>post mortem</i>	29
3.5.3	Vida útil de carne de frango sob refrigeração	30
4	MATERIAIS E MÉTODOS	32
4.1	Materiais	32
4.1.1	Caracterização da indústria processadora de frangos	32
4.1.2	Local de realização das análises	32
4.1.3	Amostragem e preparo das amostras	32
4.2	Métodos	33
4.2.1	Aferição de temperatura	33
4.2.2	Preparo das amostras	34
4.2.3	Preparo das diluições das amostras	34

4.2.4	Análises microbiológicas	34
4.2.4.1	Contagem Padrão de Micro-organismos Mesófilos Aeróbios viáveis em placa	35
4.2.4.2	Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais, Coliformes a 45 °C e confirmação de <i>E. coli</i> .	35
4.2.4.3	Confirmação de <i>Escherichia coli</i>	36
4.2.4.4	Deteção da presença/ausência de <i>Salmonella</i> spp.	37
4.2.5	Análises de pH	38
4.2.6	Análise estatística	39
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1	Controles de temperatura	40
5.2	Análises Microbiológicas	42
5.2.1	Micro-organismos aeróbios mesófilos viáveis.	43
5.2.2	Determinações do Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Totais, Coliformes a 45°C e <i>E. coli</i> .	45
5.2.2.1	Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Totais.	46
5.2.2.2	Número Mais Provável (NMP) de Coliformes a 45 °C.	47
5.2.2.3	Pesquisa de <i>E. coli</i> .	50
5.2.3	<i>Salmonella</i> spp.	50
5.3	Valores de pH	51
6	CONCLUSÃO.....	54
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

1. INTRODUÇÃO

O consumo da carne de frango no Brasil tem aumentado significativamente. Segundo as estatísticas da Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frangos (ABEF, 2011), o consumo brasileiro *per capita* de carne de frango em 1999 era de 29,1 kg/hab; em 2006 foi de 35,7 Kg/hab; e em 2010 de 44 Kg/hab.

Segundo a ABEF (2011), em 2010, o Brasil produziu 12,23 milhões de toneladas de carne de frango, com um crescimento de 11,4 % em relação a 2009, quando foram produzidas 10,98 milhões de toneladas. Este crescimento foi impulsionado principalmente pelo aumento de consumo e pela expansão de 5 % nas exportações. Este desempenho aproxima o Brasil da China, hoje o segundo maior produtor mundial, com 12,55 milhões de toneladas em 2010, e dos Estados Unidos, com 16,648 milhões de toneladas.

Conforme o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA (2011), até 2020, a expectativa é que a produção nacional de carnes bovina e de aves suprirá 44,5% do mercado mundial. Já a carne de frango terá 48,1% das exportações mundiais. Estimativas indicam que o Brasil pode manter posição de primeiro exportador mundial de carnes bovina e de frango (ABEF, 2011).

Considerando o grande consumo de carnes e a tendência mundial desse aumento, a qualidade desses produtos é extremamente importante, sendo uma preocupação dos órgãos de saúde pública, das indústrias alimentícias e dos próprios consumidores. As aves criadas para consumo humano podem ser hospedeiras naturais de diversos micro-organismos patogênicos, como *Salmonella spp.* e *Escherichia coli* (RALL *et al.*, 2009).

No Brasil, a subnotificação de casos de infecções por *Salmonella* representa um grave problema, visto que os números divulgados pelos órgãos de vigilância sanitária parecem não corresponder à realidade. Mesmo assim, as estimativas sobre a frequência de infecções por *Salmonella* permitem sugerir um coeficiente de casos de 145/100.000 habitantes, número muito superior ao encontrado em países como Portugal, Inglaterra e Alemanha (4,5; 28 e 93,3/100.000 habitantes, respectivamente) (RALL *et al.*, 2009).

A exemplo de outros países, no Brasil também existe um programa oficial que avalia a contaminação de carcaças de aves por *Salmonella spp.* denominado Programa de Redução de Patógenos – Monitoramento Microbiológico e Controle de *Salmonella spp.* em carcaças de frangos e perus (PRP), que foi instituído pela Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA), do

MAPA, instituído pela Instrução Normativa nº 70, de 06 de outubro de 2003 (BRASIL, 2003).

Corroborando com essas preocupações, pesquisadores têm demonstrado que mesmo frangos abatidos em estabelecimentos oficiais, fiscalizados pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF), do MAPA, têm apresentado taxas elevadas de contaminação por *Salmonella spp.*, variando de 7 a 50% (VEIGA, 2009).

Ressalta-se que, não só as carcaças podem estar contaminadas, mas também vísceras e outros cortes (moela, fígado, pescoço e pés) a elas incorporados e o líquido normalmente encontrado no produto, resultante especialmente da etapa de pré-resfriamento das aves durante o seu processamento industrial, podendo então veicular *Salmonella spp.* (BRASIL, 2003).

As análises microbiológicas realizadas na cadeia de produção de alimentos têm por objetivo minimizar a ocorrência de DTA's de origem microbiana e atestar a qualidade dos produtos comercializados (VEIGA, 2009).

O prolongamento da vida-útil de carcaças de frango é uma preocupação constante da indústria avícola. As alterações microbiológicas de carne de aves dependem da sua qualidade inicial e das condições de armazenamento, sendo sabido que o tempo de vida útil das carnes possui uma relação inversa com a contaminação inicial do produto (JAY, 2005).

Nos abatedouros, as carcaças de frango são geralmente resfriadas por imersão em água a no máximo 4 °C para retardar o crescimento microbiano (BRASIL, 1998). Apesar de reduzir o índice de crescimento, isso também pode gerar contaminação cruzada entre as carcaças, devido haver o contato entre aves sadias e aves contaminadas (MIYAGUSKU *et al.*, 2003).

Tendo em vista que indústrias avícolas comercializam diferentes tipos de cortes de frango sob refrigeração e estipulam prazos de validade iguais (12 dias), verificou-se, portanto, a necessidade de se avaliar a vida de prateleira do peito sem pele sob refrigeração nos aspectos microbiológicos e físico-químicos, comparando com o prazo estipulado pelo produtor, tendo em vista ser um produto amplamente consumido.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a vida de prateleira de peito de frango sem pele sob refrigeração, proveniente de uma empresa com Serviço de Inspeção Federal – SIF, e comercializado no município de João Pessoa-PB.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Monitorar as alterações nos valores de pH e alguns parâmetros microbiológicos em cortes de peito de frango sem pele refrigerado ao longo de quinze dias de armazenamento;
- Comparar o tempo de vida útil de corte de peito de frango sem pele armazenado sob refrigeração em relação ao prazo determinado pelo produtor.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 CONTROLE SANITÁRIO EM ABATEDOUROS DE AVES.

Os alimentos apresentam uma microbiota natural extremamente variável, independentemente de sua origem, concentrada principalmente na região superficial, embora possam eventualmente apresentar formas microbianas viáveis em regiões internas e profundas. Nas diversas etapas que levam à obtenção de produtos processados, os alimentos estão sujeitos a contaminação por diferentes micro-organismos, provenientes de manipulação inadequada, contato com equipamentos, superfícies e utensílios não corretamente sanificados, ou mesmo procedentes do ambiente (ROITMAN, 1998).

A alimentação dentro de padrões higiênicos satisfatórios é uma das condições essenciais para a promoção e a manutenção da saúde, sendo que a deficiência nesse controle é um dos fatores responsáveis pela ocorrência de casos/surtos de doenças veiculadas por alimentos (OLIVEIRA *et al.*, 2003). Para se fazer uma avaliação adequada da qualidade higiênico-sanitária dos alimentos é necessária uma investigação microbiológica, a qual, normalmente é cara e dispendiosa. Dessa forma, comumente faz-se uso de micro-organismos ou de grupos de micro-organismos indicadores, oriundos do solo, da água, do trato intestinal do homem e dos animais, tal como os do grupo coliformes (FRANCO e LANDGRAF, 2005).

O grupo dos coliformes é subdividido em dois grupos: os coliformes totais (coliformes a 35 °C, oriundos do trato gastrointestinal e do ambiente, usados como indicadores da qualidade higiênica dos alimentos) e os coliformes a 45 °C (provenientes de contaminação fecal e usados como indicadores da qualidade sanitária dos alimentos). Neste último grupo, há uma alta proporção de *E. coli*, um dos principais micro-organismos responsáveis por surtos de toxinfecção alimentar (FRANCO e LANDGRAF, 2005; OLIVEIRA *et al.*, 2003).

A ocorrência de elevado número de coliformes a 45 °C em alimentos crus ou processados pode ser indicativa da presença de micro-organismos de origem entérica e de que, portanto, o alimento entrou em contato direto ou indiretamente com matéria fecal (BARBOSA *et al.*, 2003). Dessa forma, a análise de coliformes a 45 °C, em especial *E. coli*, é bastante importante, pois esta bactéria, além de ser indicador de contaminação fecal recente, é responsável por várias doenças em humanos, veiculadas por alimentos (ORMENESE *et al.*, 1999).

Alimentos contaminados por patógenos podem causar morbidade e mortalidade em todo o mundo e, devido à grande escala de produção, qualquer falha no controle da higiene pode afetar grande número de pessoas. Dessa forma, a análise de micro-organismos indicadores da qualidade higiênico-sanitária dos alimentos pode fornecer informações importantes sobre a provável presença de patógenos (RALL *et al.*, 2001).

A presença de bactérias nos alimentos, além de favorecer a deterioração e/ou redução da vida útil desses produtos, possibilita a veiculação de patógenos, acarretando potenciais riscos à saúde do consumidor. Assim, a higiene correta dos alimentos é necessária para garantir a segurança e a sua salubridade em todos os estágios de sua elaboração, até o produto final, minimizando a preocupação com a saúde pública (CARVALHO *et al.*, 2005).

Entre os alimentos que freqüentemente estão relacionados a surtos de doenças veiculadas por alimentos, destaca-se a carne de aves, que teve seu consumo aumentado nos últimos anos, quer em decorrência da elevação do preço de outras fontes protéicas de origem animal, quer em consequência da alteração de hábitos alimentares da população (VALERIANO *et al.*, 2003).

As aves constituem-se no maior e mais importante foco de contaminação no abate por possuir uma microbiota diversificada que inclui micro-organismos de importância em saúde pública. O controle da matéria-prima, da sanidade animal e das condições ambientais no processo assume papel relevante e incontestável na qualidade do processo de obtenção das carcaças abatidas (DELAZARI, 2003).

Segundo Silva (1998), como as condições higiênico-sanitárias no abate são algumas vezes precárias, sendo a higienização destes locais e manipulação os fatores mais importantes para o controle da contaminação da carne fresca, verifica-se a presença de micro-organismos patogênicos, o que constitui um sério risco para a saúde do consumidor.

A sanitização de carcaças pode ser incluída como operação de rotina no processo de abate de aves no sentido de eliminar ou reduzir a incidência de contaminantes microbiológicos de modo que a utilização de ácidos orgânicos, como o láctico e acético vem sendo objeto de interesse na redução da carga bacteriana da carne fresca (SILVA, 1998).

Para reduzir as taxas de contaminação os programas de jejum antes do abate são bastante eficazes, eles têm por objetivo melhorar o rendimento da carcaça e reduzir a contaminação fecal da carne, principalmente na etapa de evisceração (BAIÃO *et al.*, 1992).

Como as aves chegam aos abatedouros com bactérias firmemente aderidas ou incrustadas na pele, não sendo facilmente removidas através de sucessivas lavagens, algumas medidas devem ser adotadas para evitar que a água do tanque de escaldamento atue

disseminando bactérias da pele para outras partes da carcaça. Alterações no sistema de escaldagem podem ser introduzidas para melhorar a qualidade bacteriológica das carcaças, tais como pulverização das carcaças antes e após a escaldagem ou escaldagem em sistema contra corrente (ALMEIDA; SILVA, 1992).

As aves destinadas ao congelamento devem ser escaldadas a temperaturas entre 60 e 65 °C, enquanto que aquelas destinadas à comercialização sob refrigeração devem ser escaldadas a temperaturas mais baixas, na faixa de 50 a 55 °C. O controle de temperatura da escaldagem se constitui em uma das medidas de segurança mais importantes na minimização da microflora superficial das aves. Na operação de pendura das aves, processo que inicia o abate, há necessidade de um sistema de exaustão com remoção constante do ar e diminuição da poeira. Este procedimento de controle diminui a contaminação ambiental que é prejudicial tanto para os trabalhadores quanto para os produtos processados (DELAZARI, 2003).

A literatura que enfoca o processamento de frangos de corte aponta a importância das tecnopatias causadoras de contusões e fraturas nos membros das aves decorrentes de procedimentos inadequados de apanha, carregamento, descarregamento e transporte. Estes danos físicos repercutem sobre a qualidade do produto, na medida em que podem contaminar as carcaças. Assim, devem ser redobrados os cuidados no setor de corte e desossa para evitar a comercialização de partes de carcaça lesionadas e às vezes contaminadas (COSTA; COSTA, 2001). Medidas como lavagem final das carcaças reduzem as contagens microbianas total e patogênica em frangos eviscerados e quando feita com água sob pressão se reduz a contagem de aeróbios totais, influenciando no prazo de vida de prateleira (ALMEIDA; SILVA, 1992).

Portanto, as realizações de todas as operações de garantia da qualidade geral das carcaças, desde o abate do frango até sua exposição no comércio são fundamentais para obtenção de uma carga microbiana reduzida, maior prazo da vida de prateleira e consequentemente, um produto próprio para o consumo humano.

3.2 QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA CARNE DE FRANGO

A qualidade microbiológica da carne de frango é fundamental para a saúde pública, pois esta carne deve apresentar uma carga bacteriana livre de patógenos e quantidades de coliformes a 45 °C abaixo do valor regulamentado por norma sanitária. Alguns micro-organismos presentes em carne de frango podem ocasionar toxinfecções alimentares,

especialmente os pertencentes aos gêneros *Salmonella*. A contagem padrão de bactérias mesófilas é usada como indicador da qualidade higiênica dos alimentos e o índice de coliformes totais avalia as condições higiênicas, sendo os coliformes fecais, empregado como indicador de contaminação fecal (CARDOSO *et al.*, 2005).

A qualidade higiênico-sanitária de carnes de frango sempre foi alvo de preocupação e destaque pela possibilidade de veiculação de micro-organismos patogênicos (NASCIMENTO; NASCIMENTO, 2000). Os micro-organismos mais comuns em carne de frango são as bactérias mesófilas e psicrófilas, que são introduzidas principalmente durante o processamento (CANSIAN *et al.*, 2005).

A carne de frango, devido à sua composição química e ao seu grande conteúdo de água, constitui excelente substrato para o desenvolvimento de uma grande variedade de micro-organismos. Os micro-organismos dos produtos de origem animal procedem de sua microbiota superficial, de suas vias respiratórias e do tubo gastrintestinal. Sua contaminação superficial ocorre durante o abate e em operações posteriores. A superfície da carcaça pode contaminar-se facilmente a partir de diversas fontes, entre as quais destaca-se a pele do animal que, além de sua microbiota característica, contém grande número de espécies de micro-organismos procedentes das fezes, do solo, da água, da ração, etc. A contaminação de carcaças de frango tem importantes implicações para a segurança e o tempo de vida útil do produto (FRAZIER; WESTHOFF, 2000; ORDÓÑEZ-PEREDA *et al.*, 2005).

Em frangos processados, a presença de níveis elevados de micro-organismos aeróbios mesófilos e de bactérias do grupo coliforme indica tratamento inadequado e/ou, contaminação pós-processamento, ocorrida, principalmente, pelo contato do produto acabado com matérias-primas e equipamentos sujos ou falta de higiene na manipulação. (RASZL *et al.*, 2001). Na avaliação da qualidade de aves, os indicadores microbiológicos vêm sendo empregados principalmente na análise do produto final, mas também vêm sendo recomendados para o processo de abate (CARVALHO *et al.*, 2002; CARDOSO *et al.*, 2005).

Corroborando, em seus estudos sobre os micro-organismos em carne de frango, Silva (1998) explica que o mecanismo de contaminação da carcaça de aves durante o processamento, envolve inicialmente a retenção das bactérias numa camada líquida sobre a pele. Este mesmo autor afirma que as aves chegam ao abatedouro com bactérias firmemente aderidas ou incrustadas na pele, que não podem ser removidas apenas pela lavagem.

Conforme Russel *et al.* (1995) *apud* Isolan (2007), em suas pesquisas sobre variações de temperatura na conservação de carcaça de frango, a queda de vida de prateleira da carcaça de frango é geralmente uma consequência da falha na manutenção da temperatura do produto.

3.3 MICRO-ORGANISMOS INDICADORES DA QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA DE ALIMENTOS

3.3.1 Coliformes Totais

Este grupo é composto por bactérias da família Enterobacteriaceae, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, quando incubados a 35–37 °C, por 48h. São bacilos Gram-negativos e não formadores de esporos, crescendo em sais biliares. Fazem parte desse grupo, predominantemente, bactérias pertencentes aos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*. Destes, apenas a *Escherichia coli* tem como habitat primário o trato intestinal do homem e animais. Os demais, além de encontrados nas fezes, também estão presentes em outros ambientes como vegetais e solo, onde persistem por tempo superior ao de bactérias patogênicas de origem intestinal como *Salmonella* e *Shigella*. Consequentemente, a presença de coliformes totais no alimento não indica, necessariamente, contaminação fecal recente ou ocorrência de enteropatógenos (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

Nas operações de abate de aves, o maior perigo é a contaminação das carcaças com micro-organismos de origem fecal, por ser considerada como indicadora de contaminação por fezes, no qual apresentam-se cerca de 20 espécies, dentre as quais encontram-se tanto bactérias originárias do trato intestinal de humanos quanto de outros animais de sangue quente e da possibilidade da presença de bactérias patogênicas (FLORENTINO *et al.*, 1997).

Os micro-organismos causadores de doenças alimentares podem ser transmitidos pelos dedos de manipuladores de alimentos com hábitos de higiene insatisfatórios, por insetos voadores ou rasteiros e também pela água (JAY, 2005).

3.3.2 Coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*

As bactérias pertencentes a este grupo correspondem aos coliformes totais, na forma de bastonetes curtos, Gram-negativos, não esporogênicos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, que apresentam a capacidade de continuar fermentando lactose com produção de gás, em 24

horas, quando incubadas à temperatura de 44–45,5 °C. Nessas condições, ao redor de 90% das culturas de *E. coli* são positivas, sendo membro do grupo das bactérias coliformes fecais. A definição tem como princípio indicar apenas os coliformes originários do trato intestinal (SILVA *et al.*, 2001; FRANCO; LANDGRAF, 2005).

Atualmente reconhece-se que o grupo dos coliformes abrange pelo menos três gêneros, *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, sendo as cepas de *Enterobacter* e *Klebsiella* de origem não fecal (SILVA *et al.*, 2001). Para confirmação de coliformes fecais, segundo Forsythe (2002), utiliza-se o caldo EC (*E. coli*), no período de incubação de 48 horas e temperatura de 45,5 °C.

A pesquisa de coliformes termotolerantes ou de *E.coli* nos alimentos fornece, com maior segurança, informações sobre as condições higiênicas dos produtos e melhores indicações de eventual presença de enteropatógenos (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

Dentre as bactérias de *habitat* originalmente fecal, a *E. coli* é a mais conhecida e a mais facilmente diferenciada dos gêneros não entéricos. Embora também possa ser introduzida nos alimentos a partir de fontes não fecais, é o melhor indicador de contaminação fecal conhecido até o momento, principalmente, pela sua relação com a presença de outros enteropatógenos, como *Salmonella* spp. (JAY, 2005).

E. coli, como a maioria das enterobactérias, é um microrganismo mesófilo típico capaz de se desenvolver entre 7 e 46 °C, sendo 37 °C sua temperatura ótima para crescimento e produção de enterotoxinas, embora algumas cepas possam multiplicar-se a temperaturas de refrigeração (em torno de 4 °C). São destruídas a 60 °C em poucos segundos, mas algumas cepas resistem por vários meses a temperaturas de refrigeração e até mesmo de congelamento (GERMANO; GERMANO, 2001).

Esta bactéria produz enterotoxinas e/ou outros fatores de virulência, incluindo fatores invasivos e de colonização que causam doenças diarréicas. Algumas cepas de *E. coli*, têm habilidade de causar distúrbio gastrintestinal, urinário e/ou ao sistema nervoso central. Cepas diarréicas de *E. coli* podem ser divididas em diferentes categorias patogênicas (KORNACKI; JOHNSON, 2001).

A bactéria é encontrada na água, no solo, nas plantas e nos alimentos, principalmente nos produtos de origem animal e nos manipulados. A sobrevivência deste micro-organismo em baixas temperaturas depende do substrato (ICMSF, 1998).

E. coli é habitante normal e constante do trato digestivo das aves. Esta bactéria pode contaminar as carcaças durante o abate e ser encontrada em amostras no ponto de

venda, em produtos embalados (ZAGANINI, 2004).

A presença desses micro-organismos indica processamento inadequado da matéria-prima e/ou de recontaminação por material fecal (GILL *et al.*, 1988).

Os doentes eliminam as bactérias em grandes quantidades pelas fezes, contaminando facilmente suas mãos e vestes, propiciando a contaminação dos alimentos. Esta infecção ocorre mais comumente nos locais em que às condições de saneamento básico são precárias e quando as boas práticas de fabricação não são implementadas no âmbito da indústria e do comércio de alimentos, bem como no âmbito das unidades de alimentação e nutrição industriais e comerciais, onde a possibilidade de contaminação fecal é uma constante (PARDI *et al.*, 2001).

Para prevenir a infecção por esta bactéria devem-se cozinhar alimentos adequadamente, pois estes organismos são muito sensíveis ao calor, alcançando-se uma temperatura mínima de cozimento de 71,1 °C, ou a temperatura interna de 68,3 °C por pelo menos 15 segundos (CDC, 2000).

3.3.3 Bactérias aeróbias mesófilas viáveis

Embora sejam considerados micro-organismos de origem não fecal, as bactérias aeróbias mesófilas são completamente indesejáveis nos alimentos, sobretudo nos minimamente processados, por provocarem a deterioração dos mesmos, gerando características sensoriais indesejáveis, e reduzirem sua vida útil. Além disto, sua presença se configura em risco sanitário. A contagem elevada desse grupo de bactérias em alimentos perecíveis pode indicar abuso durante o armazenamento em relação ao binômio tempo/temperatura e, como todas as bactérias patogênicas de origem alimentar são mesófilas, pode também indicar risco à saúde (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

As bactérias aeróbias mesófilas não são usadas na avaliação dos riscos de toxinfecções alimentares, porém constituem um dos mais seguros grupos de indicadores de qualidade microbiológica. Um número elevado de bactérias na contagem total em placa pode ser indicativo de sanitização deficiente, ou problemas no processo e/ou ingredientes. A contagem microbiana no produto final reflete a qualidade da matéria-prima, a eficácia de métodos de limpeza e desinfecção na indústria de processamento, tipo de manipulação, tempo e temperatura usados durante a produção, transporte e/ou estocagem do alimento. Pode ser

utilizada para a detecção dos pontos de contaminação durante o processamento, fornece noção sobre alterações incipientes do alimento, sua aceitabilidade e para estimar o tempo de vida útil do produto (MORTON, 2001; SANT'ANA *et al.*, 2002; JAY, 2005).

A melhor maneira de se avaliar a segurança do alimento envolve a contagem do número de bactérias presentes na amostra. A contagem total em placas (CTP) foi criada para essa finalidade, sendo o método mais usado, mundialmente, para determinar a qualidade sanitária de produtos alimentares (UCDAVIS, 1987).

A CTP pode ser usada para verificar as condições microbiológicas das carcaças na indústria receptora para identificação (rastreadabilidade) de fornecedores que estejam enviando carcaças com nível excessivamente alto de contaminação. Também pode ser usada para avaliar as condições sanitárias de equipamentos e utensílios durante o processamento e monitorar as condições de higiene (MORTON, 2001).

O método da Contagem Total de Aeróbios Mesófilos em Placas tem sido utilizado como um dos indicadores microbiológicos para avaliar a qualidade de alimentos com base em sua condição sanitária. A contagem da população microbiana capaz de crescer como colônias visíveis sob as condições testadas laboratorialmente é estimada em Unidades Formadoras de Colônias por grama ou mililitro de alimento (UFC/g ou UFC/mL). Dependendo da situação, a CTP pode constituir ferramenta valiosa para avaliar a qualidade higiênico-sanitária dos alimentos (NASCIMENTO *et al.*, 2005).

3.3.4 *Salmonella* spp.

Conforme Bersot (2006), Trabalhos realizados no Brasil e em vários países, permitem indicar que *Salmonella* spp. é um dos principais micro-organismos identificados nas etapas do abate de aves, mesmo nos estabelecimentos inspecionados pelo SIF/MAPA.

Na América Latina, *Salmonella* foi a segunda causa de doenças bacterianas veiculadas por alimentos no período de 1995 a 1998. Dos surtos causados por bactérias, *Salmonella* spp. foi responsável por 324 (33,4%), ficando atrás apenas de *Staphylococcus* sp. que foi o agente causal de 342 surtos (35,2%) (OPS/OMS, 1999).

O gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae*, apresentando-se na forma de bacilo Gram-negativo, aeróbio e anaeróbio facultativo (MURASE *et al.*, 2000). A dose infectante para que bactérias desse gênero possam causar infecção em humanos é da ordem de

15 a 20 células, embora seja preciso considerar a idade e o grau de tolerância do hospedeiro. Acredita-se que uma única célula poderia causar a manifestação clínica da infecção (AHMED *et al.*, 2000).

A contaminação de alimentos por *Salmonella* é muito complexa. Pode ser de origem animal (portadores) e os veículos mais comuns são as carnes de aves, ovos, leite e derivados contaminados ou por meio de equipamentos e superfícies, manipuladores, roedores, insetos ou até mesmo a contaminação cruzada com alimentos de origem vegetal (PICCOLO *et al.*, 1992; BARROS *et al.*, 2002).

Tem sido relatado que algumas espécies de *Salmonella* são capazes de aderir-se firmemente à fibras de colágeno da superfície externa da pele do frango, após a imersão em água, sendo que a adesão não depende de fimbrias, ocorrendo apenas pelo contato da célula microbiana com a pele do frango, no contato com a água. Alguns micro-organismos como *singapore* e não flageladas como *typhimurium*, também têm a capacidade de aderir às carcaças, confirmando dessa maneira que a adesão desses agentes é independente da presença de flagelos (SILVA, 1998).

Bactérias do gênero *Salmonella* fazem parte da microbiota de aves. A incidência e a quantidade desses micro-organismos, presentes na carne variam de acordo com as condições de manejo durante a criação e com os cuidados higiênicos nas operações de abate dos animais. As *Salmonellas* são as principais responsáveis pelas toxinfecções alimentares (BOURGEOIS *et al.*, 1994). Essa contaminação pode ocorrer tanto por contato entre aves isentas e aves contaminadas, como por contaminação cruzada durante o processo de abate e subsequente preparação das carcaças (DRUBI, 2005).

3.4 COMPETÊNCIAS DE FISCALIZAÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL E MONITORAMENTO DE DDA.

Segundo Brasil (1950), a inspeção técnica higiênico-sanitária dos produtos de origem animal, está subordinado ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA, através do Serviço de Inspeção Federal - SIF, podendo também ser exercida pelos estados e municípios, desde que tenham serviços próprios organizados.

A Lei Federal nº 1.283 (BRASIL, 1950) estabelece a obrigatoriedade da fiscalização sob o ponto de vista industrial e sanitário de todos os produtos de origem animal, comestíveis

e não comestíveis, preparados, transformados, manipulados, recebidos, acondicionados e depositados em trânsito. A inspeção a que ficam sujeitos estes produtos é privativa da Divisão da Inspeção de Produtos de Origem Animal - DIPOA.

Conforme a referida lei, nos estabelecimentos industriais com instalações adequadas para abate de animais e nos entrepostos de recebimento e distribuição de produtos de origem animal, a fiscalização é privativa do Ministério da Agricultura. Já nas casas atacadistas e nos estabelecimentos varejistas, a competência de fiscalização destas atividades é dos órgãos da saúde pública dos Estados, dos Territórios e do Distrito Federal, podendo o DIPOA executá-la em caráter suplementar.

No que tange a atividade de produção de aves abatidas, esta compreende as etapas de recebimento dos animais vivos e as operações de insensibilização, pendura, sangria, escaldagem, depenagem, evisceração, resfriamento, acondicionamento e embalagem, e pertence às indústrias de produtos de origem animal devidamente instaladas, equipadas, fiscalizadas e registradas pelos órgãos da Agricultura (BRASIL, 1950).

Na Resolução nº 13, de 02 de Janeiro de 2001 da ANVISA/Ministério da Saúde (BRASIL, 2001), são estabelecidos instruções de uso, preparo e conservação na rotulagem de carne de aves e seus miúdos crus, resfriados ou congelados, dispostos a auxiliar consumidores no controle do risco associado ao consumo destes alimentos nos quais o micro-organismo *Salmonella* spp. possa estar presente.

Por diversos motivos, a Vigilância Sanitária tem interesse nas Doenças Veiculadas por Alimentos (DVAs), entre eles diferentes micro-organismos envolvidos e toxinas pré formadas, períodos de incubação variáveis, quadros clínicos diferenciados, consequências e sequelas às vezes graves, podendo até mesmo levar a óbitos os pacientes acometidos, etc (FRANCO e LANDGRAF, 1996; GERMANO e GERMANO, 2001).

A Vigilância Sanitária deve ser acionada para realizar a investigação de um surto de DVA com os objetivos de identificar o alimento responsável, o agente etiológico envolvido, os fatores que determinaram o aparecimento do surto e o quadro clínico predominante (GERMANO e GERMANO, 2001). Estima-se que a incidência de doenças microbianas de origem alimentar seja elevada, todavia como a notificação não é obrigatória, há comprometimento das estatísticas dos Serviços de Saúde (FRANCO, LANDGRAF, 1996; OMBUI *et al.*, 2001).

Monitoração das Doenças Diarréicas – MDDA na Paraíba.

Monitorização das Doenças Diarréicas – MDDA é um programa do Ministério da Saúde, que por intermédio das unidades de saúde municipais, notifica os casos de doenças diarréicas ocorridos por município, comunicando a vigilância epidemiológica os casos de surtos alimentares para serem investigados, o qual informa a vigilância sanitária, para que sejam tomadas as devidas medidas cabíveis nas falhas ocorridas nos processos de fabricação e/ou manipulação de alimentos, bem como, orientar aos consumidores sobre os riscos em alimentos a que estão expostos.

Em 2004, foram notificados ao Ministério da Saúde pelo sistema de vigilância da MDDA, 2.395.485 casos de diarreia sendo distribuídos os casos por região de procedência: 321.141 no Norte; 995.055 no Nordeste; 212.328 no Sul; 586.191 no Sudeste; e 279.770 no Centro-Oeste. Nesse mesmo ano, foram investigados 76,3% dos surtos notificados pela MDDA no país (CVE, 2006).

Em 2001, existiam 431 unidades de saúde com MDDA implantado na Paraíba, e em 2006 passou para 889. Todos os municípios da Paraíba têm pelo menos uma unidade de saúde realizando o monitoramento. Há necessidade de entendimento quanto à diferença de conceituação entre a unidade que atende e a unidade de saúde que monitora e unidade com MDDA implantado. O objetivo da Secretaria de Estado da Saúde – SES/PB é que 100% das Unidades de Saúde passem a notificar casos, coletar, analisar e divulgar os dados analisados em sua área adstrita de saúde (CVE, 2006).

No período de 2001 a 2006 foi notificado a SES/PB um total de 510.747 casos de Doenças Diarréicas, portanto uma média de 85.124 casos por ano. Entre o ano de 2004 e o mesmo período de 2005 houve um acréscimo de 17.668 casos, representando 18%, passando de 98.271 para 115.939 casos notificados.

Quanto à incidência por Diarreia na Paraíba, observa-se que 20 (8,9%) dos municípios apresentam alto risco (incidência acima de 601/10.000 hab.) e 126 (56,5%) dos municípios apresentam médio risco (incidência entre 201 e 600/10.000 hab.) e apenas 77 (34,5%) dos municípios apresentaram baixo risco (incidência abaixo de 200/10.000 hab.) (CVE, 2006).

Os dados apontaram para um discreto aumento nas internações hospitalares em decorrência de Salmoneloses, Shigeloses, Amebíase, Diarréias e Gastroenterites de origem infecciosa presumível. Em 2001 o número de casos passou de 11.531 (40,48%) para 11.343 (43,3%) em 2005, representando um acréscimo de 0,56% em relação ao ano de 2004 (CVE, 2006).

3.5 ALTERAÇÕES E VIDA ÚTIL DE CARNE DE FRANGO ARMAZENADO SOB REFRIGERAÇÃO

3.5.1 Alterações em carne de frango armazenado sob refrigeração

O metabolismo e proliferação dos diversos micro-organismos durante o resfriamento e congelamento da carne, como de frango, são muito variáveis. Do ponto de vista sanitário, vale dizer que, salvo alguma exceção (*Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophyla* e *Clostridium botulinum* tipo E), os micro-organismos patogênicos, como salmonelas, estafilococos, etc., não devem proliferar-se em temperatura inferior a 5 °C. Portanto, se a conservação é feita a menos de 5 °C, a carne é um alimento bastante seguro, muito mais quando se define que, para ser consumida, ela quase sempre é submetida a tratamento térmico culinário (ORDÓÑEZ-PEREDA *et al.*, 2005).

Estudos revelam mais de 25 gêneros de bactérias na microbiota de carne de aves *in natura*. Contudo, quase todos os pesquisadores concordam que, quando essas carnes passam por deterioração a baixa temperatura, os principais micro-organismos envolvidos na deterioração pertencem ao gênero *Pseudomonas*. Em um estudo com quase 6000 isolados provenientes de carcaças de frango, foram encontrados 30,5% de *Pseudomonas*, 22,7% de *Acinetobacter*, 13,9% de *Flavobacterium* e 12,7% de *Corynebacterium*; já leveduras, Enterobacteriaceae e outros micro-organismos, foram encontrados em menor número (JAY, 2005).

A alteração da carne refrigerada em aerobiose é um fenômeno superficial e transcorre com o aparecimento de odores anômalos, normalmente desagradáveis, quando a taxa bacteriana alcança um valor de 5×10^7 UFC/cm², aproximadamente, e com o aparecimento de substâncias viscosas (polissacarídeos sintetizados pelas bactérias), quando essa taxa ultrapassa o nível de 10^8 UFC/cm². Esses valores são os que geralmente se admitem para definir uma carne alterada, isto é, quando são detectadas as mudanças sensoriais devido aos metabólitos resultantes do crescimento microbiano. Também se observa um aumento de pH até aproximadamente 7,5 e portanto, a alteração da carne de aves se parece muito com de outras espécies (ORDÓÑEZ-PEREDA *et al.*, 2005).

Quando as carcaças se mantêm em temperaturas de refrigeração, a maior parte do crescimento microbiano tem lugar na pele e com menor intensidade na superfície interna da

cavidade visceral. Assim, os tecidos que se encontram logo abaixo da pele se mantêm praticamente livres de bactérias por algum tempo. Contudo, gradualmente as bactérias começam a penetrar nos tecidos mais profundos, aumentando a hidratação das proteínas do músculo. Ainda não se sabe se a autólise tem um papel fundamental na deterioração dos tecidos internos das aves (JAY, 2005).

Segundo Sarantópoulos et al. (1998), a vida de prateleira de carne de aves resfriadas de 0 a 4 °C tem sido estabelecida entre oito e dez dias, embora o odor pútrido apareça em menos de sete dias, mesmo em boas condições de refrigeração. Isso se deve principalmente pela dificuldade de comercialização do produto em torno de 0 °C e da alta contaminação inicial.

3.5.2 Alteração do pH na carne de frango *post mortem*.

O músculo de frango vivo possui valor de pH ligeiramente superior ao ponto neutro (pH=7,2). Após o abate, o processo bioquímico da carne continua transformando o glicogênio do músculo em ácido lático sob ação de várias enzimas. Esse processo chama-se glicólise anaeróbia. Após 24 horas se o valor do pH estiver superior a 6,2 denomina-se carne DFD (*Dry, Firm and Dark*), caracterizando-se por uma grande capacidade de retenção de água, cor escura, aspecto firme e seco, com período curto de conservação. Se o pH atingir rapidamente valor inferior a 5,8 em um período menor que 4 horas, trata-se tipicamente de uma carne PSE (*Pale, Soft and Exsudative*) que se caracteriza por apresentar propriedades sensoriais indesejáveis, com baixa capacidade de retenção de água, cor pálida e aspecto flácido (SOUZA, 2005).

O pH é fator determinante na qualidade da carne de frango, pois as propriedades sensoriais da carne são, primeiramente, relacionados com as reações glicolíticas *post-mortem*, que afetam o pH da carne. Geralmente a carne de peito de frangos de corte apresenta um pH final entre 5,7 e 5,96 (MENDES *et al.*, 2003).

O desequilíbrio fisiológico causado por altas temperaturas e umidade relativa do ar no momento do abate tem efeito direto sobre as reservas de glicogênio muscular, responsáveis pelo desenvolvimento das reações bioquímicas *post mortem*, possuindo implicação direta e

decisiva nos aspectos econômicos dos produtos (PETRACCI *et al.*, 2001; BIANCHI *et al.*, 2005).

A Diminuição da quantidade das reservas de glicogênio muscular enquanto o animal encontra-se ainda vivo faz com que não haja acúmulo de ácido láctico no músculo *post mortem*, constituindo-se então, em um meio propício para o crescimento de micro-organismos indesejáveis, reduzindo a vida útil do alimento. Assim sendo, o pH final da carne permanecerá elevado, ficando bastante acima do ponto isoelétrico das principais proteínas musculares (actina, pI = 4,7; miosina, pI = 5,4) (BERG, 2001).

A queda de pH *post mortem* altera a composição celular e extracelular das miofibrilas, reduzindo a capacidade de reter água nas proteínas musculares, um das principais características de rendimento e maciez do produto. Isso é uma consequência da desnaturação protéica, especialmente da miosina. Uma vez desnaturada, a proteína perde suas características físico-químicas e, conseqüentemente, a eficiência de ligação com as moléculas de água torna-se bastante prejudicada (OFFER; KNIGHT, 1988).

3.5.3 Vida útil de carne de frango sob refrigeração

A vida útil é um conceito utilizado para descrever a durabilidade de um produto. A vida útil de um produto está exclusivamente relacionada a uma determinada situação ambiental. Não se deve falar em vida útil sem especificar em quais circunstâncias foi avaliada ou medida, em quais condições de armazenamento, de transporte e de distribuição, qual clima, temperatura e umidade, em qual estação do ano, entre outras (BERND *et al.*, 2003). Assim, vida útil é o período de tempo que corresponde, em condições definidas, a uma tolerável diminuição da qualidade de um produto alimentício embalado (OLIVEIRA; BARUFFALDI, 1998).

O *Institute of Food Technology* (IFT) define a vida útil como o período entre a fabricação de um produto alimentício e sua compra no varejo, durante o qual o mesmo apresenta qualidade satisfatória (ECKERLEC *et al.*, 1984). A vida útil é o tempo requerido para que o produto estocado sob condições específicas alcance seu ponto final. O ponto final é determinado quando o produto apresenta o critério pré-determinado pelos dados de testes de aceitabilidade, descritivo, discriminativo, microbiológico e/ou físico-químico (ASTM, 1993).

Na determinação da vida útil de produtos cárneos, é comum o estudo de parâmetros microbiológicos, químicos e sensoriais. A condição microbiológica do alimento determinará a sua salubridade e qualidade de conservação (EBURNE; PRENTICE, 1996).

O tempo de conservação da carcaça de frango depende da temperatura e das condições microbiológicas da carne. A temperatura da ave viva é de cerca de 41 °C. Assim, pouco calor é perdido durante o processo de abate. No resfriamento, as carcaças são imersas em tanques contendo água em fluxo contra corrente, com objetivo de lavar e resfriar as carcaças. As operações de resfriamento envolvem o *pré chiller* e *chiller*. Conforme o Centro de Tecnologia da Carne (1995), as carcaças de frango devem ser resfriadas rapidamente para diminuir o crescimento de micro-organismos deterioradores e prevenir a multiplicação dos micro-organismos patogênicos.

Em pesquisa realizada por Miyagusku *et al.* (2003), amostras controle de filé de peito de frango, embalado com filmes e refrigerado a 4 °C, apresentaram desenvolvimento acentuado de todos os grupos de micro-organismos avaliados, chegando ao final da vida útil no 5º dia de armazenamento, com contagens microbiológicas elevadas e características sensoriais inaceitáveis. Resultado semelhante foi verificado por Mantilla *et al.* (2009), onde as amostras embaladas com ar (sem vácuo) apresentaram um aumento rápido do desenvolvimento de bactérias viáveis, alcançando uma população total e inaceitável de 8 log UFC/g, depois de quatro a cinco dias de estocagem a 4 °C.

Em estudo realizado por Montañez (2005), **apesar** das carcaças de frango sob refrigeração serem processadas em empresa com SIF/MAPA, o resultado do produto no décimo segundo dia já se encontrava imprópria para o consumo, mesmo sendo produzido em condições higiênico-sanitárias adequadas, pois, os distribuidores e comerciantes possuem um papel muito importante na preservação e controle desses produtos.

A vida útil da carne refrigerada em aerobiose não é muito longa, não mais que uma ou duas semanas, e depende, fundamentalmente da população microbiana original e de diversos fatores, como a temperatura de armazenamento, o pH, a tensão de oxigênio e o potencial redox, podendo as bactérias mesófilas se proliferar à temperatura de refrigeração (ORDÓÑEZ-PEREDA *et al.*, 2005).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

4.1.1 Caracterização da indústria processadora de frangos

A pesquisa foi realizada em produto oriundo de um abatedouro de aves que possui instalação para o abate, manipulação e conservação de carne de aves e é inspecionada pelo Serviço de Inspeção Federal do Ministério da Agricultura (SIF/MAPA). O volume de abate é de 50.000 frangos por dia, sendo destes, produzido um lote de 1000 bandejas/dia, com 700g em cada bandeja, totalizando 7000 Kg de peito de frango sem pele/dia. Os produtos são comercializados a nível nacional e internacional.

4.1.2 Local de realização das análises

As amostras foram analisadas no laboratório de bromatologia, inserido no Laboratório Central de Saúde Pública– LACEN-PB, em parceria firmada com a Universidade Federal da Paraíba – UFPB e a Agência Estadual de Vigilância Sanitária da Paraíba – AGEVISA-PB.

O LACEN-PB é o laboratório oficial do Estado da Paraíba e é dotado de todos os equipamentos necessários à realização de análises microbiológicas e físico-químicas em alimentos, utilizadas para emissão de laudos oficiais para ações de fiscalização em vigilância sanitária e de investigação de surtos pela vigilância epidemiológica.

4.1.3 Amostragem e preparo das amostras

O tamanho da amostra foi de 10 (dez) unidades de bandejas de peito de frango sem pele, totalizando 7,0 Kg, de um mesmo lote de fabricação, tendo, portanto, as mesmas

características de origem e produção. A bandeja era de isopor e o produto revestido por filme plástico/rótulo (filme plástico de Polietileno de Baixa Densidade Linear - PEBDL), sem condições especiais de atmosfera ou pressão. A data de validade e temperatura de conservação indicada na embalagem do produto eram de 12 dias e 2 °C, respectivamente.

A coleta foi realizada em um supermercado da capital, no momento do abastecimento do supermercado, no período da manhã, previamente informado pelo produtor, sendo este lote fabricado na madrugada do dia da coleta e de início das análises, considerado o dia 0 (zero).

As amostras foram acondicionadas em caixa plástica térmica e mantidas em temperatura de refrigeração inferior a 2,0 °C, medido com termômetro digital com infravermelho, utilizando-se gelo em escama e encaminhadas imediatamente ao laboratório. As amostras foram armazenadas no laboratório, em refrigerador doméstico, exclusivo para acomodação dessas amostras, mantido fechado para melhor controle, evitando flutuações de temperatura. A distância percorrida com as amostras foi de aproximadamente 10 Km, levando um tempo de aproximadamente 20 minutos no percurso entre supermercado e laboratório.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Aferição de Temperatura

As temperaturas das amostras foram monitoradas no momento da aquisição e durante o acondicionamento em refrigerador doméstico para a realização das análises.

Na aquisição, as temperaturas foram medidas na superfície da embalagem (filme plástico de Polietileno de Baixa Densidade Linear - PEBDL) diretamente em contato com o músculo peitoral superficial, com uso de termômetro digital com infravermelho, de marca Thermo Hunter (modelo PT-2LD) e no acondicionamento foram aferidas as temperaturas do refrigerador diariamente, com uso de termoregistrador de marca Thermo-Hygrometer (modelo 303C).

4.2.2 Preparo das amostras

Após acondicionamento das amostras no laboratório, cada embalagem foi aberta, uma a uma de forma asséptica e o peito de frango sem pele dividido em quatro partes iguais (pesado em balança analítica) com uso de faca esterilizada. As partes de cada amostra foram esfregadas entre si por 30 segundos, para melhor uniformidade da contaminação inicial do produto. Três partes de cada amostra foram acondicionadas separadamente em sacos plásticos de marca Labplas (modelo TWIRL'EM), estéreis até a abertura através do destaque da parte superior "*Tear off Top*", com fecho de arame para fechamento, e identificadas, para repetição das análises nos 5º, 10º e 15º dias e, uma parte foi encaminhada para início imediato das análises, referente ao tempo zero.

4.2.3 Preparo das diluições das amostras

No momento das análises os sacos estéreis contendo um quarto de amostra do produto, foram abertos de forma asséptica, retirando-se 25 g da amostra e colocando-a em um frasco de erlenmeyer estéril. Dentro deste, foi adicionado 225 mL de água peptonada tamponada esterilizada (BPW – Merck) e homogeneizado por 30 segundos no aparelho Stomacher Lab Blender 400, em velocidade média. A partir da diluição inicial (10^{-1}), foi preparada uma série de diluições decimais até 10^{-3} , utilizando-se tubos de ensaio com 9 ml de solução salina a 1%, esterilizada.

4.2.4 Análises microbiológicas

As análises foram realizadas segundo a metodologia da American Public Health Association - APHA (2001) e os resultados, comparados com os padrões microbiológicos da Comissão da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 12 (BRASIL, 2001) que estabelece para carnes resfriadas ou congeladas "*in natura*" de aves (carcaças inteiras, fracionadas ou cortes) como único parâmetro microbiológico o número de coliformes termotolerantes, sendo este estipulado para amostra representativa.

As análises microbiológicas e de pH foram iniciadas no mesmo dia da coleta das amostras – tempo zero, sendo cada parte das amostras, repetidas às análises nos 5º, 10º e 15º dias posteriores. Um período de 5 (cinco) dias entre as 4 (quatro) análises realizadas em cada amostra, teve como objetivo projetar os valores (em logaritmos) em gráfico, verificando o comportamento do crescimento microbiano.

4.2.4.1 - Contagem Padrão de Micro-organismos Mesófilos Aeróbios Viáveis em Placa

Foi realizada empregando-se a técnica de semeadura em profundidade (pour-plate). Desta forma, 1 mL de cada diluição foi depositada em uma placa de Petri em triplicata. Em seguida, foram adicionados 15-20 mL de Ágar para Contagem Padrão – PCA (Difco), fundido e resfriado em temperatura próxima de 45 °C. Após a homogeneização e solidificação do ágar, as placas foram incubadas em posição invertida a 35°C/24-48 horas em estufa, controlador microprocessado - modelo CLT (FANEM). A contagem das Unidades Formadoras de Colônia (UFC) foi realizada com o auxílio de um contador de colônia, tipo Quebec, em placas contendo entre 25 e 250 UFC. Para o resultado final, o número de UFC/g foi multiplicado pelo fator inverso de diluição da respectiva placa de contagem e o resultado expresso em UFC/g (MORTON, 2001).

4.2.4.2 - Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais, Coliformes a 45 °C e confirmação de Escherichia coli.

Esta determinação foi realizada empregando-se a técnica dos tubos múltiplos (KORNACKI e JOHNSON, 2001). Para a prova presuntiva foram inoculadas diluições em volumes de 1 mL, em uma série de três tubos por diluição, contendo 10 mL de caldo Lauril Sulfato Triptose – LST (HIMEDIA) de um tubo de Durham invertido. Os tubos foram incubados a 35°C/ 24-48 horas em estufa. Os tubos que apresentaram produção de gás e/ou, turvos, foram considerados positivos. A seguir, três alçadas de cada tubo positivo foram colocadas em tubos de ensaio contendo 10 mL de caldo lactose bile verde brilhante - CLBVB (HIMEDIA) para a confirmação da presença de coliformes totais (CT) e outras três alçadas

foram colocadas em tubos de ensaio com 5 mL de caldo (EC) para a confirmação de coliformes termotolerantes. Todos os tubos de CLBVB e de EC continham tubos de Durham invertidos. Os tubos contendo o caldo CLBVB foi incubado a 35°C/48 horas e o caldo EC, a 45°C/24 horas em estufas (modelo CLT – FANEM) reguladas nas temperaturas de estudo. Após o período de incubação foi realizada a leitura pela observação da presença de gás e/ou turvação no tubo de Durham invertido. Posteriormente, utilizando-se a tabela do Número Mais Provável, foram calculados os NMP de coliformes totais e termotolerantes por grama de amostra analisada.

4.2.4.3 Confirmação de *Escherichia coli*

A partir dos tubos contendo caldo EC que apresentaram resultados positivos (produção de gás e/ou turvação) foi semeada uma alçada do tubo em placas de ágar eosina-azul de metileno – EMB (HIMEDIA) sendo incubadas a 35°C por 24 horas em estufa. Após a incubação, para os resultados positivos foi observado o crescimento de colônias características (cor negra, chata, seca e com brilho metálico), conforme Figura 1.



Figura 1 – Placa de EMB contendo colônias típicas de *E.Coli*.

Para confirmação de *E. coli*, transferiu-se duas colônias típicas para tubos de Ágar Padrão para Contagem – PCA (DIFCO) inclinados e incubados a 35°C por 24 horas em estufa modelo CLT (FANEM). A partir das culturas puras em PCA, fez-se o Teste de Citrato e de INVIC. Para o teste de Citrato, fez-se estrias leves de cultura para a rampa dos tubos de Ágar Citrato Simmons (HIMEDIA) e incubou-se a 35 °C / 48 horas em estufa. A confirmação foi observada com a viragem alcalina, alterando a cor do meio verde para azul (teste positivo), conforme visualizado na Figura 2.



Figura 2 – Teste de citrato para confirmação de *E.Coli*

Para o teste de INVIC, a confirmação foi realizada por prova bioquímica composta da prova do Indol. A análise consiste em transferir uma alçada do ágar nutriente para um tubo contendo triptona para Indol (CTI) e incubar a 35 °C / 24 horas. Após a incubação, adicionou-se lentamente pelas paredes do tubo 0,2 - 0,3 mL do reagente de indol. O aparecimento de um anel vermelho vivo na superfície do líquido representa que o teste é positivo para a formação de indol a partir de triptona.

4.2.4.4 - Detecção da presença/ausência de *Salmonella* spp.

Para a detecção da presença de *Salmonella*, 25 g de cada amostra foram obtidas de

maneira asséptica e colocadas em Erlenmeyer estéril contendo 225 mL de água peptonada tamponada estéril (BPW - MERCK). Em seguida, o mesmo foi colocado em Stomacher (Lab Blender 400) por 30 segundos para completa homogeneização da amostra. O volume foi transferido para um Erlenmeyer estéril e incubado a 35 °C/18-20 horas. Após este período, 1 mL foi semeado em 10 mL de caldo Selenito-Cistina – SC (DIFCO), seguindo-se de incubação a 35 °C/18-24 horas em estufa. Outra alíquota de 0,1 mL foi transferida para 10 mL de caldo Rapaport-Vassiliadis – RV (HIMEDIA), sendo incubado a 43 °C/18-24 horas em estufa. Em seguida, uma alçada de cada tubo foi semeada em placas contendo ágar Xilose-Lisina-Desoxicolato – XLD (HIMEDIA) e de Ágar Entérico de Hectoen – HE (HIMEDIA), incubados a 35°C/ 48 horas em estufa.

Após o período de incubação, as colônias características de *Salmonella* no plaqueamento seletivo de cada uma das placas, 3 a 5 colônias com características indicativas do gênero *Salmonella*, foram repicadas com auxílio de uma alça estéril descartável e realizado estrias nos tubos inclinados contendo ágar Tríplice Açúcar Ferro – TSI (Difco) e Ágar Lisina Ferro – LIA (Difco). A reação em TSI característico de *Salmonella* apresenta base amarela com produção de gás ou não, evidenciada pela presença de bolhas e ápice vermelho. O meio pode se apresentar enegrecido devido à produção de gás sulfídrico (H₂S). Já o meio LIA, que detecta a capacidade da bactéria descarboxilar a lisina, fermentar a glicose e produzir H₂S, apresenta ápice de cor púrpura, sem alteração da cor do meio, com ou sem produção de H₂S (escurecimento do meio).

Após os resultados obtidos nos dois testes, os isolados que apresentaram reações características de *Salmonella* spp. foram submetidos à identificação bioquímica com os seguintes testes: produção de urease, motilidade em meio Sulphide Indol Motility – SIM (Merck), produção de H₂S, utilização de citrato, produção de indol, fermentação do malonato e produção de fenilalanina. Os isolados que apresentaram resultado característico para *Salmonella* spp. nos testes bioquímicos foram avaliados por teste sorológico, com antisoro polivalente “O” (Difco) e reação de Voges-Proskauer, com caldo Vermelho de Metila - Voges-Proskauer (Difco).

4.2.5 Análises de pH

Foi determinado o pH das amostras, fundamentado na medida da concentração de íons hidrogênio na amostra, utilizando-se o método potenciométrico descrito no Manual do LANARA (BRASIL, 1981).

Aferiu-se inicialmente o pHmetro Digital PG2000 (Gehaka) utilizando uma solução tampão pH 4 e 7 a 20 °C e posteriormente, homogeneizou-se 50 g do músculo de frango em 20 mL de água destilada, introduzindo-se o eletrodo do pHmetro e realizando-se a leitura.

As análises foram realizadas em duplicata e obtidas às médias aritméticas e, na ocorrência de divergência, realizava-se uma terceira medição. As análises foram realizadas de acordo com o preconizado pela legislação vigente (BRASIL, 1981).

4.2.6 Análise estatística.

Todos os resultados de contagem bacteriana foram transformados em logaritmos para a análise estatística, sendo comparados os valores de contagem bacteriana ao passar do tempo. Foi realizada análise de regressão pelo Microsoft Excel, versão Starter 2010, para ajuste dos pontos da curva a linha de tendência.

Para determinação do tamanho da amostra, coletaram-se 10 amostras de um lote de 1000 unidades considerando o cálculo de tamanho de amostra proposto por Sampaio (1998) de acordo com a equação abaixo:

$$\text{onde, } \bar{X} = \Delta \quad \bar{X} \pm \frac{ts}{\sqrt{r}}$$

Considerando:

$\bar{\Delta} = 5$ (5% da média produzida); $\check{X} = 1\%$ do desvio da média = 10;

t = 2 (valor tabelado, dependendo do tamanho da amostra, variando de 1 a 2,262);

r = 10 (tamanho da amostra); S = 15% (Coeficiente do desvio padrão).

Os dados foram utilizados aplicando-se o intervalo de confiança da média, sendo utilizada uma estimativa de desvio padrão da variável resposta.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CONTROLE DE TEMPERATURA

Neste estudo foi monitorada a temperatura das amostras de peito de frango sem pele desde a saída do caminhão no abastecimento do supermercado, recém-recebido do abatedouro até o 15º dia após armazenamento, uma vez ao dia antes da realização das análises, registrando-se a menor e maior temperatura alcançada, medidas na superfície da embalagem diretamente em contato com o músculo peitoral superficial, mantendo-se a temperatura entre a mínima de 0,8 °C e a máxima temperatura de 2,0 °C ($1,4 \pm 0,6$ °C), como se observa na Tabela 1, não havendo grandes flutuações de temperatura nas amostras analisadas (Figura 3).

Tabela 1 – Resultado da temperatura das amostras de peito de frango sem pele armazenados sob refrigeração ao tempo de 15 dias.

TEMPO	MÍNIMA	MÁXIMA	MÉDIA	DIFERENÇA
Dia 0	1,6	2,0	1,8	0,4
Dia 1	1,4	2,0	1,7	0,6
Dia 2	1,1	1,9	1,5	0,8
Dia 3	0,9	1,8	1,4	0,9
Dia 4	0,8	1,9	1,4	1,1
Dia 5	0,9	1,9	1,4	1,0
Dia 6	0,8	1,9	1,4	1,1
Dia 7	1,0	2,0	1,5	1,0
Dia 8	0,8	1,9	1,4	1,1
Dia 9	0,9	2,0	1,5	1,1
Dia 10	1,0	2,0	1,5	1,0
Dia 11	0,9	1,9	1,4	1,0
Dia 12	0,8	1,9	1,4	1,1
Dia 13	0,9	2,0	1,5	1,1
Dia 14	0,8	1,9	1,4	1,1
Dia 15	0,8	1,9	1,4	1,1
MÉDIA GERAL	1,0	1,9	1,4	1,0

Varição da temperatura:

Mínima = 0,8 °C

Máxima = 2,0 °C

Média das temperaturas:

} $1,4 \pm 0,6$ °C

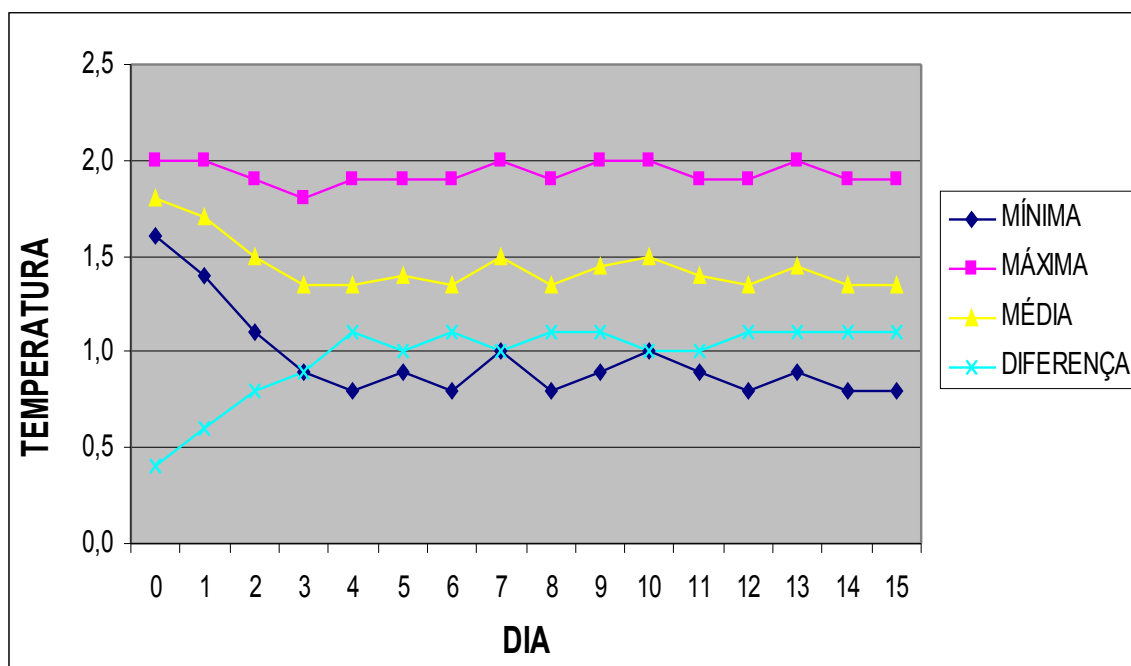


Figura 3 - Resultado da média das temperaturas das amostras de peito de frango sem pele armazenados sob refrigeração ao tempo de 15 dias.

As médias das amostras apresentaram resultados semelhantes (Figura 3) durante o período armazenado, devido à acomodação que permitia a circulação do ar frio de forma homogênea, objetivando respeitar a temperatura indicada pelo fabricante, cuja embalagem recomendava armazenagem de até 2 °C, tendo sido cumprido tal objetivo durante o período deste estudo.

Consta na Portaria nº 210 (BRASIL, 1998) do Ministério da Agricultura que a temperatura das carcaças no final do beneficiamento deve ser igual ou inferior a 7 °C, tolerando-se a temperatura de 10 °C para as carcaças destinadas ao congelamento imediato. No transporte é permitido a elevação da temperatura de até 2 °C, ou seja, 9 °C no produto refrigerado. Para o processo de manutenção da refrigeração e conservação, a temperatura indicada é de 0 °C a 4 °C para os produtos de aves (carcaças, cortes ou recortes, miúdos e/ ou derivados), com tolerância de 1 °C medido na parte interna do mesmo.

5.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Na Tabela 2, observam-se os resultados de crescimento quantitativo dos micro-organismos analisados para o período estudado, com exceção da *Salmonella*, que esteve ausente em todas as amostras nos quatro períodos de tempo analisados.

Tabela 2 - Resultados das Análises microbiológicas (logaritmo na base 10) para coliformes, mesófilos e *Salmonella* em peito de frango sem pele armazenados sob refrigeração ao tempo de 15 dias.

Dia 0												
ANÁLISES		AMOSTRAS										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	MÉDIA
Coliformes Totais (NMP/g)		2,48	2,48	1,32	2,38	1,97	1,97	2,59	2,38	2,38	2,48	2,24
Coliformes a 45°C (NMP/g)		1,97	2,38	1,3	0,36	1,63	1,3	2,38	0,36	1,63	2,38	1,57
<i>E. Coli</i> (NMP/g)		NEG	POS	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	POS	-
Mesófilos UFC/g		2,51	2,72	2,49	1,3	2,58	2,4	2,68	1,32	2,69	2,79	2,35
<i>SALMONELLA</i> (em 25g)		AUS	AUS	AUS	AUS	AUS	AUS	AUS	AUS	AUS	AUS	-
Dia 5												
ANÁLISES		AMOSTRAS										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	MÉDIA
Coliformes Totais (NMP/g)		3,18	3,38	2,38	3,18	2,38	2,38	4,04	2,59	3,18	4,04	3,07
Coliformes a 45°C (NMP/g)		2,59	3,18	2,3	1,3	2,3	1,63	3,18	1,63	2,59	3,66	2,44
<i>E. Coli</i> (NMP/g)		NEG	POS	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	POS	-
Mesófilos UFC/g		3,18	3,38	2,85	2,38	2,91	2,77	3,5	2,77	3,3	4,3	3,13
<i>SALMONELLA</i> (em 25g)		AUS	AUS	AUS	AUS	AUS	AUS	AUS	AUS	AUS	AUS	-
Dia 10												
ANÁLISES		AMOSTRAS										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	MÉDIA
Coliformes Totais (NMP/g)		4,38	4,38	3,66	4,04	4,38	4,04	4,38	4,38	4,38	4,38	4,24
Coliformes a 45°C (NMP/g)		4,04	4,38	4,04	3,66	4,04	3,18	4,38	3,66	4,04	4,38	3,98
<i>E. Coli</i> (NMP/g)		NEG	POS	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	POS	-
Mesófilos UFC/g		4,48	4,45	4,34	3,04	4,43	4,3	5,51	3,51	4,59	5,57	4,42
<i>SALMONELLA</i> (em 25g)		AUS	AUS	AUS	AUS	AUS	AUS	AUS	AUS	AUS	AUS	-
Dia 15												
ANÁLISES		AMOSTRAS										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	MÉDIA
Coliformes Totais (NMP/g)		4,38	4,38	4,38	4,38	4,38	4,38	4,38	4,38	4,38	4,38	4,38
Coliformes a 45°C (NMP/g)		4,38	4,38	4,38	4,38	4,38	4,38	4,38	4,38	4,38	4,38	4,38
<i>E. Coli</i> (NMP/g)		NEG	POS	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	POS	-
Mesófilos UFC/g		6,67	6,79	6,68	6,58	6,79	6,62	7,3	6,83	7,91	7,87	7,00
<i>SALMONELLA</i> (em 25g)		AUS	AUS	AUS	AUS	AUS	AUS	AUS	AUS	AUS	AUS	-

*AUS = Ausente / PRE= Presente.

POS = Positivo / NEG = Negativo.

Conforme tabela de NMP, na diluição de 10^{-3} , o número de colônias quando os três tubos possuem resultados positivos é de ≥ 24000 NMP/g que em logaritmo é $\geq 4,38$ log NMP/g, sendo este o número máximo de colônias de micro-organismos encontrados neste estudo, conforme Tabela 2, e principalmente encontrado no 15º dia.

Na comparação da evolução média dos micro-organismos analisados (Figura 4), observa-se um comportamento tipicamente exponencial entre as bactérias até o dia 10º e linear entre o dia 10º e dia 15º, isso, devido à tabela de NMP limitar o número de colônias máximo em $\geq 4,38$ log/g, fazendo com que os resultados finais convirjam para um mesmo ponto.

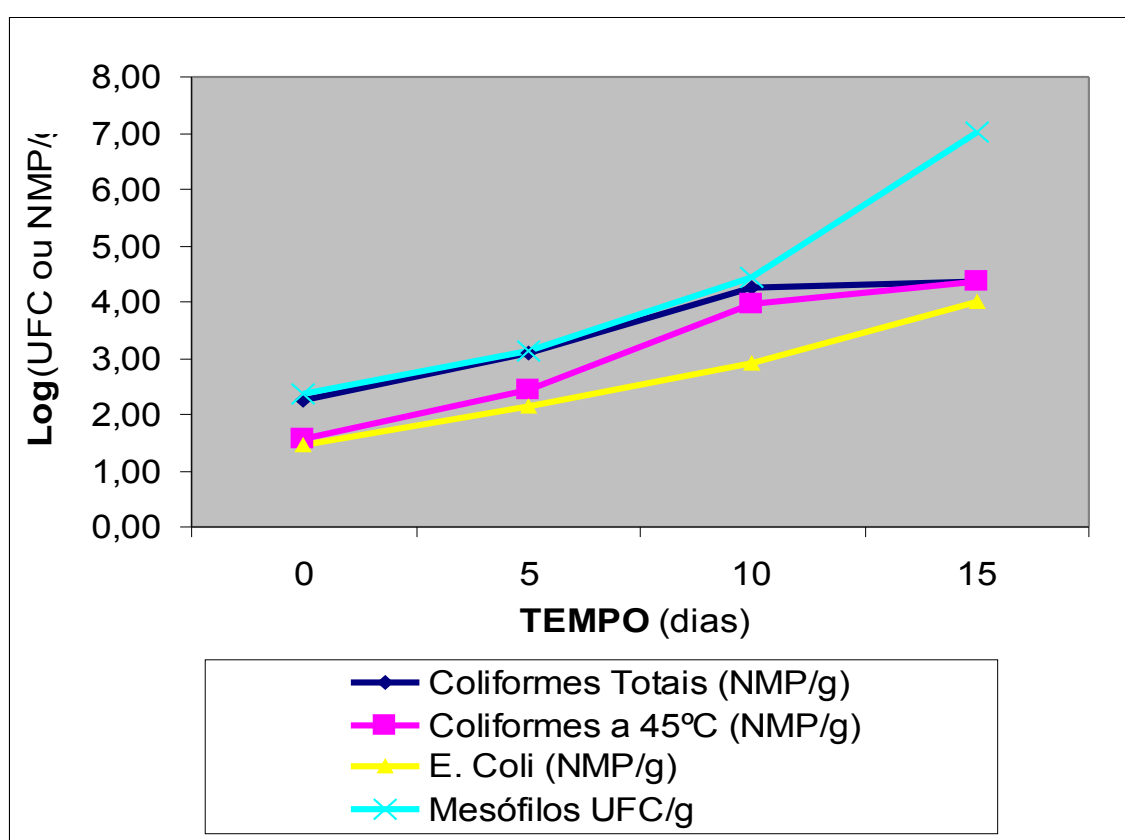


Figura 4 - Resultado do crescimento microbiano nas amostras de frango sem pele, armazenados durante 15 dias a $1,4 \pm 0,6$ °C.

5.2.1 Micro-organismos aeróbios mesófilos viáveis.

Neste estudo demonstrou-se que a quantidade média encontrada de aeróbios mesófilos viáveis em peito de frango sem pele, no período de 15 dias, variou entre 2,4 - 7,0 \log_{10} UFC/g. Mesmo não havendo uma legislação específica e obrigatória para a

quantificação destes micro-organismos, observou-se no presente estudo que a qualidade da carne encontra-se satisfatória, pois todas as amostras analisadas no tempo zero apresentaram populações de micro-organismos aeróbios mesófilos viáveis inferiores a $5 \log_{10}$ UFC/g, que conforme Gill *et al* (1998) é o valor necessário para causar o início da deterioração. Verifica-se na Figura 5, que valores acima de $5 \log_{10}$ UFC/g só são alcançados após o 10º dia.

De acordo com Gill *et al.*(1998), níveis de contaminação até $5 \log_{10}$ UFC/g em carnes podem indicar condições higiênicas adequadas de abate, e contagens acima podem indicar condições inadequadas. Roça e Serrano (1995), avaliando carcaças bovinas, encontraram como necessário para causar o início da deterioração do produto a contagem mínima de micro-organismos mesófilos de $6 \log_{10}$ UFC/g.

Em frangos resfriados, a contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos viáveis indica as condições de higiene no seu processamento, pois estes micro-organismos são aqueles que vêm aderidos às penas, pele, pés e cloaca. Durante o abate das aves juntam-se a esses micro-organismos àqueles presentes no sistema digestivo, quando o processo tecnológico não é realizado adequadamente (RITTER e BERGMANN, 2003).

Nas Figuras 5 e 6 demonstram-se graficamente o comportamento geral e médio desse grupo ao longo do tempo, nas amostras analisadas.

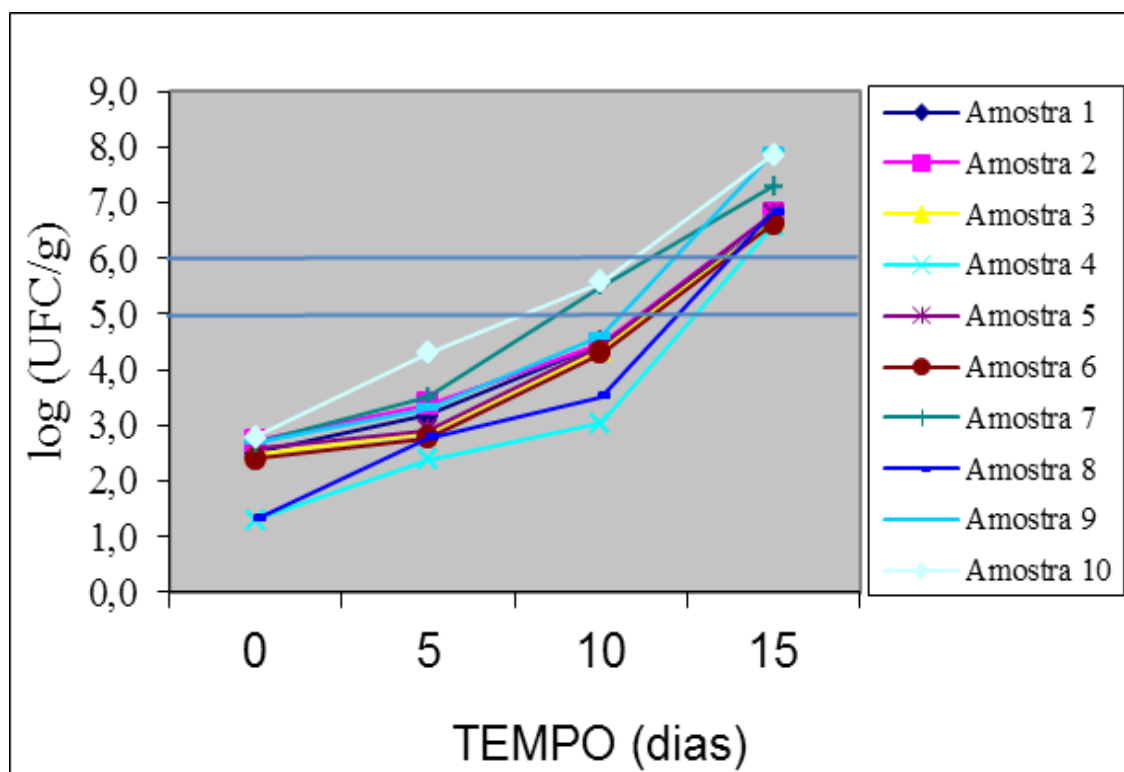


Figura 5 – Crescimento dos aeróbios mesófilos viáveis em cada amostra.

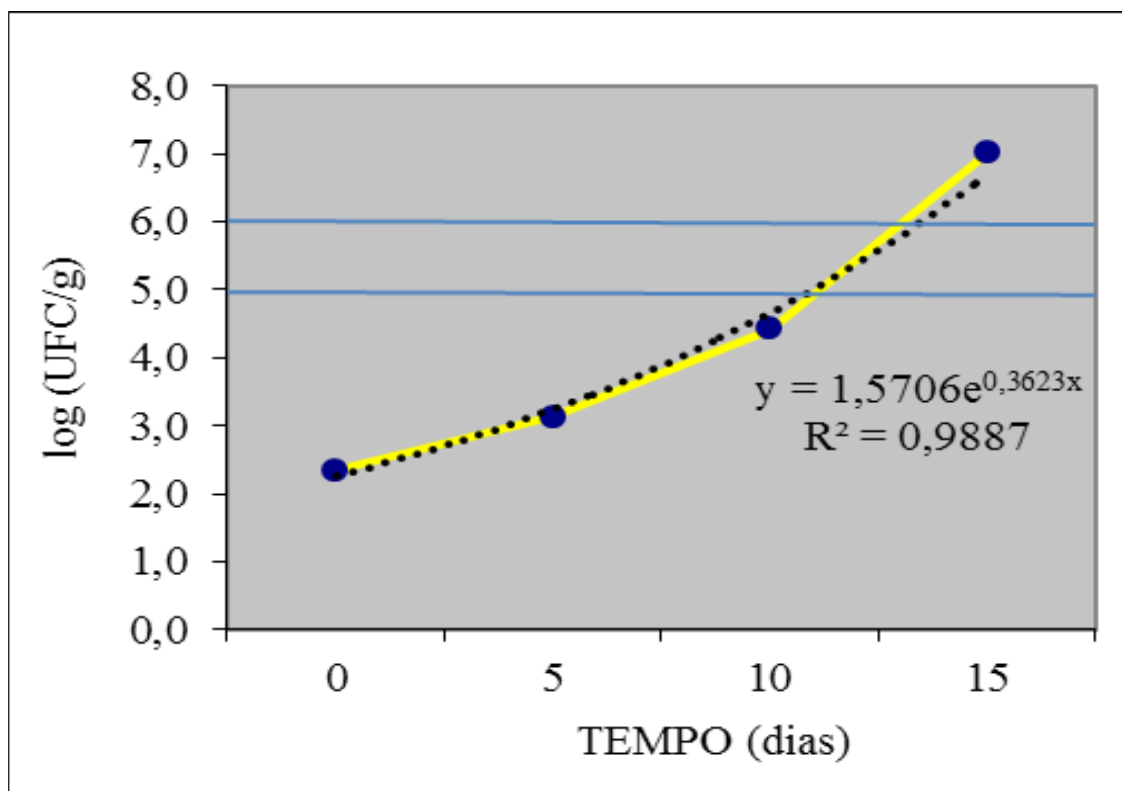


Figura 6 – Média de crescimento dos aeróbios mesófilos viáveis.

Se a fase lag ocorreu, foi até o 5º dia de armazenamento sob refrigeração, após este tempo, o nível de micro-organismos cresceu exponencialmente, não sendo verificada fase estacionária de crescimento microbiano no período deste estudo. As máximas contagens de aeróbios mesófilos viáveis foram atingidas no 15º dia de armazenamento, ultrapassando contagens de 7,0 log UFC/g e ultrapassando 5,0 log UFC/g após o 10º dia.

Pela análise do gráfico de crescimento de aeróbios mesófilos viáveis (Figura 6) verifica-se que as amostras se mantiveram abaixo de 5 log UFC/g até o 10º de armazenamento, sendo ultrapassado valores de 6,0 log UFC/g após a metade do tempo entre o 10º e 15º dia, coincidindo do produto está fora do prazo de validade estipulado pelo fabricante. As curvas sobrepostas (Figura 5) demonstram o comportamento semelhante das bactérias aeróbias mesófilos viáveis em todas as amostras.

5.2.2 Determinações do Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Totais, Coliformes a 45 °C e *Escherichia coli*.

5.2.2.1 Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Totais.

Conforme a Tabela 2, neste estudo foram obtidos resultados acima de 4,0 log NMP/g para coliformes totais em duas amostras no 5º dia, 9 amostras no 10º dia, sendo que 7 amostras atingiram o limite máximo de 4,38 log NMP/g (≥ 24000), sendo que no 15º dia, todas as 10 amostras atingiram esta contagem.

Apesar de não haver especificação legal para o quantitativo de coliformes totais permitido em carne de frango, números elevados de coliformes totais indicam contaminação pós-processamento, limpeza e sanificação deficientes, refrigeração inadequada ou multiplicação microbiana durante o processamento ou estocagem.

Nas Figuras 7 e 8 observa-se o comportamento geral e médio desse grupo de micro-organismos ao longo do tempo nas amostras analisadas, onde verificou-se que a média alcançou o limite de 4 log NMP/g entre o 5º e 10º dia, estando a interseção da curva entre o tempo equivalente de 7,5º e 10º dia.

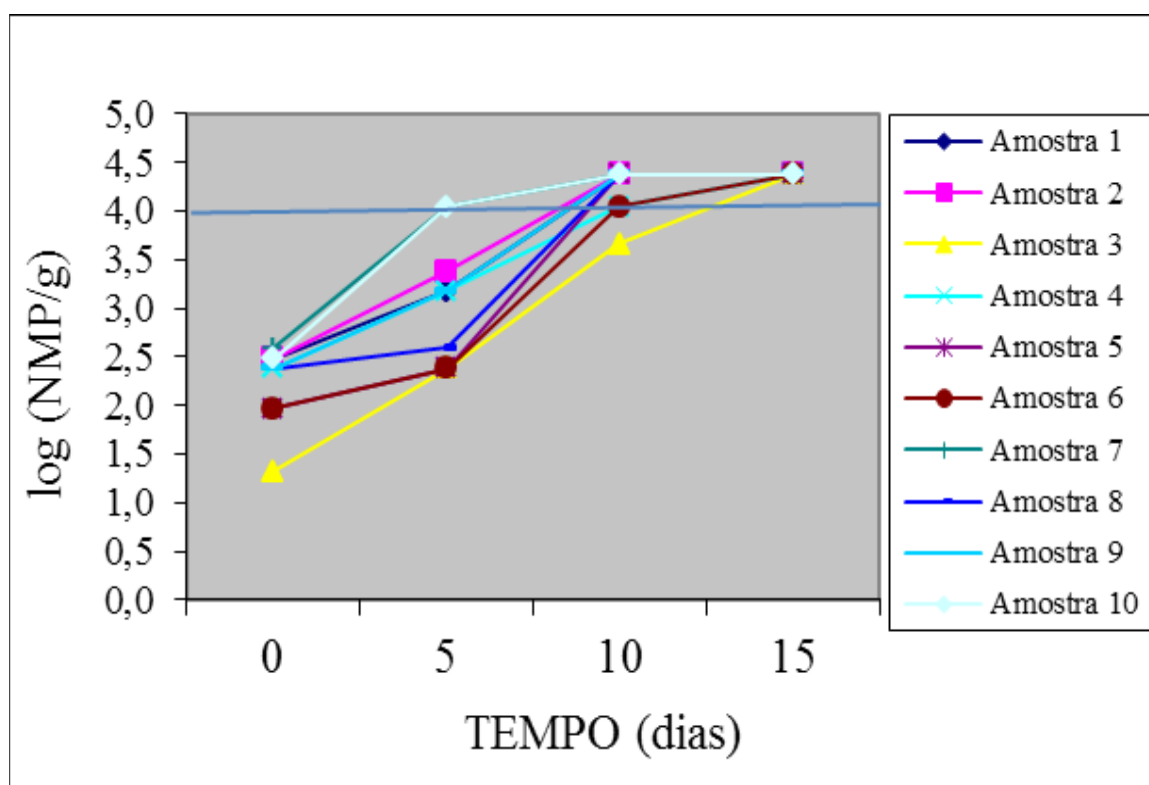


Figura 7 – Crescimento de coliformes totais em todas as amostras.

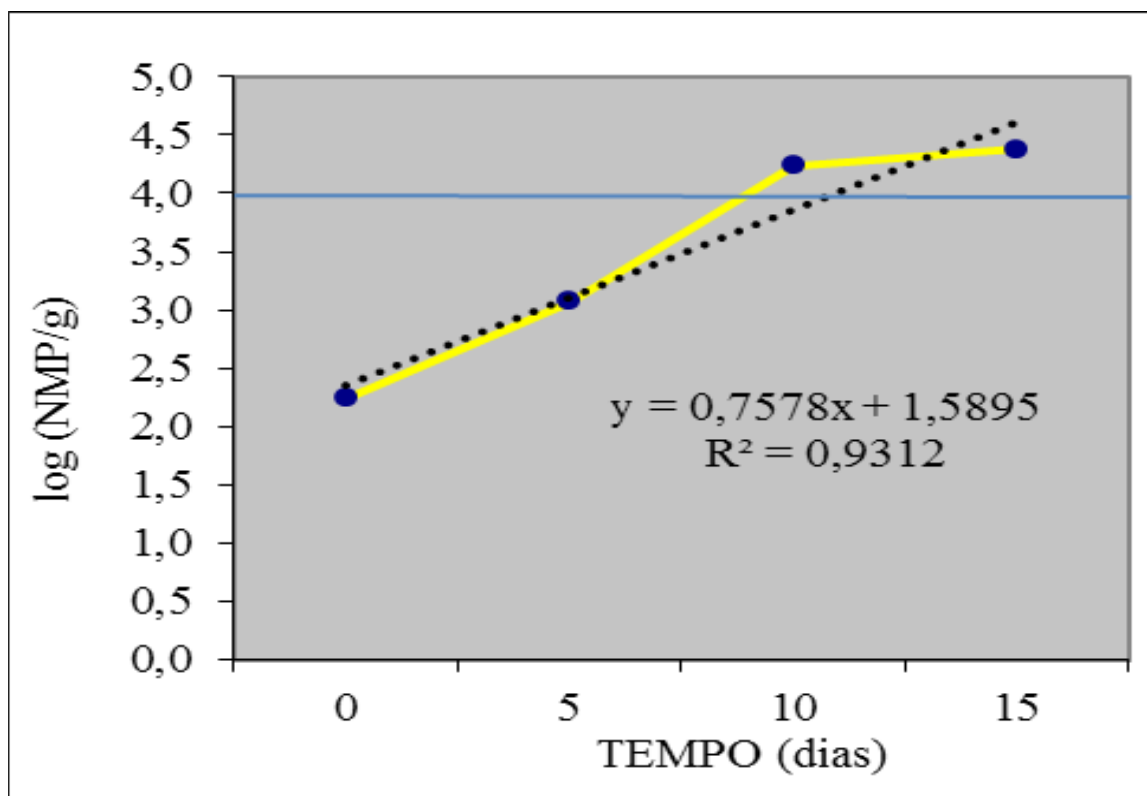


Figura 8 – Média de crescimento de coliformes totais.

O tempo de 7,5º dia é obtido através da média entre o 5º e 10º dia com intuito de verificar graficamente o tempo em que estes micro-organismos ultrapassam a quantidade de 4,0 log NMP/g.

Utilizando-se a equação da reta de tendência, obtida do valor médio de coliformes totais das amostras no gráfico (Figura 8), obtém-se o alcance de 4,0 log NMP/g no primeiro quadrante entre o 10º e 15º dia. Esta divergência com o resultado real é devido haver diferença entre os pontos da curva do gráfico e os pontos da reta de tendência, sendo visivelmente identificado principalmente no 10º dia. Portanto, o uso da equação da reta para avaliação de crescimento microbiano e vida de prateleira não é útil.

5.2.2.2 Número Mais Provável (NMP) de Coliformes a 45 °C.

Com base na curva obtida pelos valores médios dos coliformes a 45 Cº (Figura 9), o limite máximo permitido de 3,7 log NMP/g para amostra representativa, previsto na

Resolução RDC nº 12 (BRASIL, 2001) é alcançado no tempo entre o 5º e 10º Dia, estando à curva média próximo do 10º dia, com base na representação gráfica abaixo.

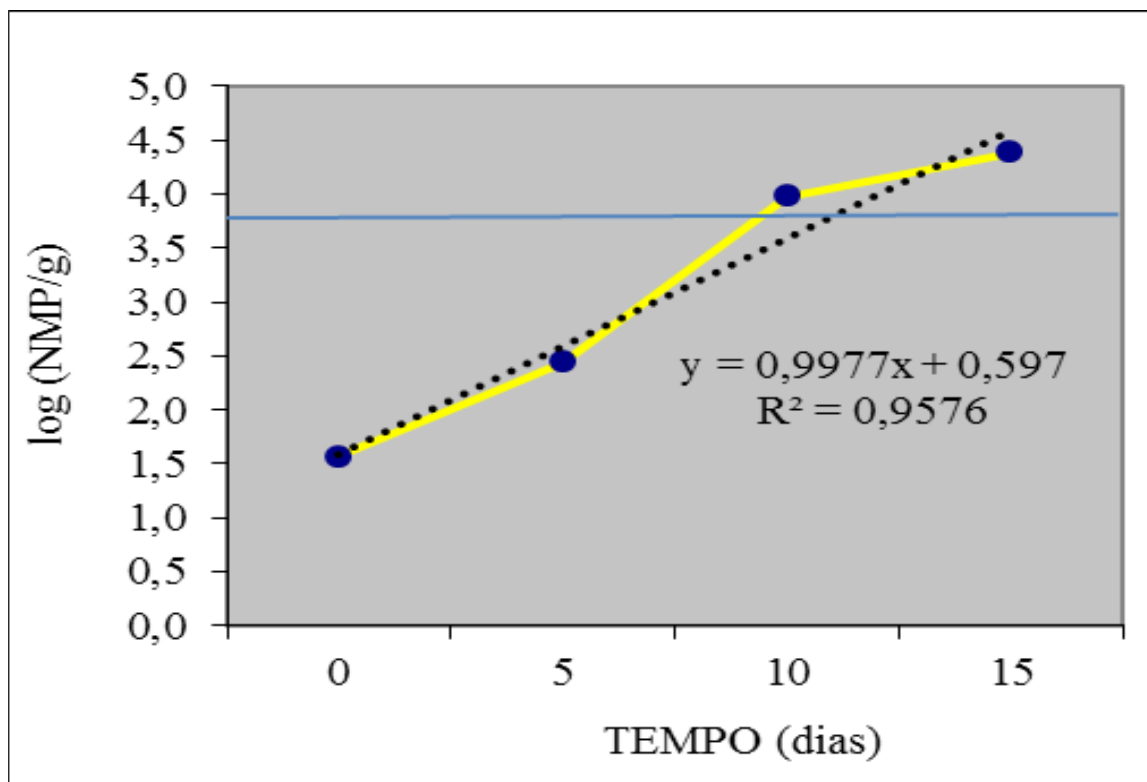


Figura 9 – Média de crescimento de Coliformes a 45 °C.

Conforme Sarantópoulos et al. (1998), a vida de prateleira de carne de aves resfriadas de 0 a 4°C tem sido estabelecida entre oito e dez dias, embora o odor pútrido apareça em menos de sete dias, mesmo em boas condições de refrigeração, fato observado no 10º dia de análise das amostras.

Observou-se na Tabela 2 (em anexo) para resultados individuais que no 10º dia 70% das amostras já estavam com resultados acima de 3,7 log NMP/g, sendo que destas, 3 amostras (30%) já tinham alcançado o valor máximo de 4,38 log NMP/g (≥ 24000) e conforme a Resolução nº12 (BRASIL, 2001), a tolerância para amostragem representativa é quando se obtém 60% das amostras com resultados acima de 3,7 log NMP/g, vejamos como cita a norma: “... para cada 5 unidades a serem colhidas aleatoriamente de mesmo lote e 3 apresentarem valores superiores a 3,7 log NMP/g, considera-se inaceitável...”, como demonstrado neste estudo, estando, portanto, no 10º dia impróprio para o consumo.

Observou-se que na maioria das curvas de crescimento de coliformes a 45 °C nas amostras (Figura 10), as contagens estão próximas ou acima de 3,7 log NMP/g no 10º dia, enquanto que no 15º dia há uma aparente redução no crescimento, fazendo com que a equação da reta de tendência obtenha um resultado diferente, divergindo do resultado encontrado quando se aplica a regra de amostragem da Resolução nº 12 (BRASIL, 2001) descrita acima.

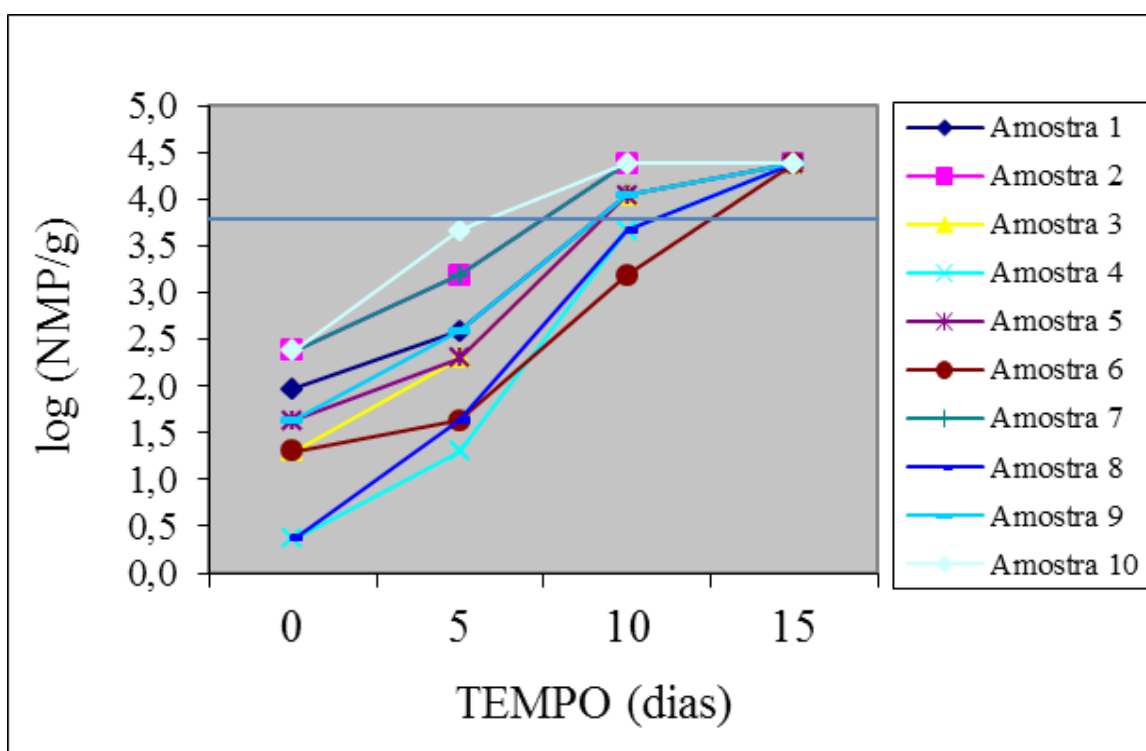


Figura 10 – Crescimento de Coliformes a 45°C de todas as amostras.

Essa diferença é devido ao último ponto (15º dia) se limitar ao valor de 4,38 log (≥ 24000) e todas as curvas tenderem para ele, fazendo com que os pontos não se ajustem à curva. Isso ocorre devido na tabela de Número Mais Provável para tubos múltiplos de 3 que apresentam formação de gás (3-3-3), obter esta referência, não sendo levado em conta valores acima, sendo assim, não estabelecidos os verdadeiros valores finais das bactérias tipo Coliformes a 45 °C e tornando a equação das médias, que deveria provavelmente adquirir características de equação exponencial, em característica de equação linear (Figura 9).

5.2.2.3 Pesquisa de *Escherichia coli*.

De acordo com os resultados da Tabela 2 (em anexo), todas as amostras obtiveram crescimento bacteriano no caldo EC durante o período de estudo e comportamentos distintos quanto aos testes bioquímicos realizados para confirmação da bactéria *E.coli*, sendo confirmado em 2 amostras resultados positivos e 8 amostras com resultados negativos.

No estudo realizado por Souza (2007), 80 amostras analisadas apresentaram 21,1% com resultados positivos para os testes bioquímicos de confirmação para *Escherichia coli* e 79 % com resultados negativos, encontrando-se dentro dos padrões para coliformes a 45°C, estando próximo dos resultados obtidos neste trabalho.

Conforme estudo realizado por Fortes (2008), a qual realizou análise do perfil bioquímico de 261 amostras de *E. coli* isoladas de materiais avícolas, concluiu-se que é possível relacionar o teste de Indol, que apresentaram resultados negativos, com o Índice de Patogenicidade das amostras.

5.2.3 *Salmonella* spp.

A presença de *Salmonella* spp. não foi detectada nas condições estudadas durante todo o período de estudo dos produtos analisados. Esse resultado pode ter ocorrido pelo fato de se tratar de peito sem pele, o qual sofre ação mecânica para sua retirada, além de uma etapa de higienização, corroborando com Silva (1998) nos estudos sobre micro-organismos em carne de frango, onde o mesmo explica que o mecanismo de contaminação da carcaça de aves durante o processamento, envolve inicialmente a retenção das bactérias numa camada líquida sobre a pele, para que essa camada de micro-organismos possa aderir-se convenientemente. Este mesmo autor afirma que as aves chegam ao abatedouro com bactérias firmemente aderidas ou incrustadas na pele, que não podem ser removidas apenas pela lavagem.

Apesar da RDC nº 12 da ANVISA (BRASIL, 2001) não preconizar esse micro-organismo para aves “*in natura*” refrigeradas, um pequeno número de aves infectadas pode contaminar toda a linha de abate, devido a falhas tecnológicas durante o processamento que levam à contaminação cruzada. A temperatura é o fator externo que mais afeta o crescimento microbiano, de modo que, quanto mais elevada for a temperatura, maior será a velocidade do crescimento.

Soultos *et al.* (2003) realizaram, na Irlanda, pesquisa de *Salmonella* spp. em 205 pacotes contendo retalhos de frango nos supermercados, onde foi detectada a presença de *Salmonella* spp. em apenas três amostras (1,5%), indicando que as medidas adotadas para reduzir a incidência de *Salmonella* em frangos obtiveram sucesso.

5.3 VALORES DE PH

Os valores médios de pH encontrados para todas amostras analisadas neste trabalho em cada dia de análise, foram parecidos. O resultado de pH $5,9 \pm 0,1$ (médio) no Tempo zero, foi semelhante aos resultados encontrados por Mendes *et al.* (2003) para carne de peito de frangos (pH entre 5,7 até 5,96).

Segundo Sousa (2005), Músculo de frango vivo possui valor do pH 7,2 e após o abate, a carne continua em processo bioquímico, no qual o condutor energético do músculo é transformado em ácido láctico, reduzindo assim, o valor do pH, fato verificado neste estudo.

Conforme a Tabela 3, os resultados de pH médio no dia “0”(zero) encontra-se próximo daqueles encontrados por Venturini *et al.* (2007) e Nunes (2003), os quais detectaram valores de $5,8 (\pm 0,2)$ e $5,9 (\pm 0,1)$, respectivamente para os mesmos produtos.

Tabela 3 – Resultados do pH das amostras de peito de frango sem pele armazenados sob refrigeração ao tempo de 15 dias.

AMOSTRAS	0 Dia	5º Dia	10º Dia	15º Dia
1	$5,9 \pm 0,1$	$6,2 \pm 0,1$	$6,5 \pm 0,2$	$6,9 \pm 0,1$
2	$5,9 \pm 0,1$	$6,2 \pm 0,1$	$6,6 \pm 0,2$	$6,8 \pm 0,2$
3	$6,0 \pm 0,1$	$6,2 \pm 0,2$	$6,6 \pm 0,1$	$6,9 \pm 0,1$
4	$5,9 \pm 0,2$	$6,1 \pm 0,1$	$6,6 \pm 0,1$	$6,9 \pm 0,1$
5	$6,0 \pm 0,2$	$6,2 \pm 0,1$	$6,6 \pm 0,1$	$6,9 \pm 0,1$
6	$5,9 \pm 0,1$	$6,3 \pm 0,2$	$6,7 \pm 0,2$	$6,9 \pm 0,1$
7	$5,9 \pm 0,1$	$6,2 \pm 0,1$	$6,5 \pm 0,1$	$6,8 \pm 0,2$
8	$5,9 \pm 0,2$	$6,1 \pm 0,2$	$6,6 \pm 0,1$	$6,9 \pm 0,1$
9	$5,9 \pm 0,1$	$6,2 \pm 0,1$	$6,6 \pm 0,1$	$6,9 \pm 0,1$
10	$5,9 \pm 0,1$	$6,2 \pm 0,1$	$6,6 \pm 0,1$	$6,9 \pm 0,1$
MÉDIA	$5,9 \pm 0,1$	$6,2 \pm 0,1$	$6,6 \pm 0,1$	$6,9 \pm 0,1$

Os valores médios encontrados mostram que o pH se elevou durante o período de realização do experimento, cujas amostras foram mantidas sob refrigeração. Na Figura 11 pode-se observar o comportamento do pH em relação ao período de armazenamento.

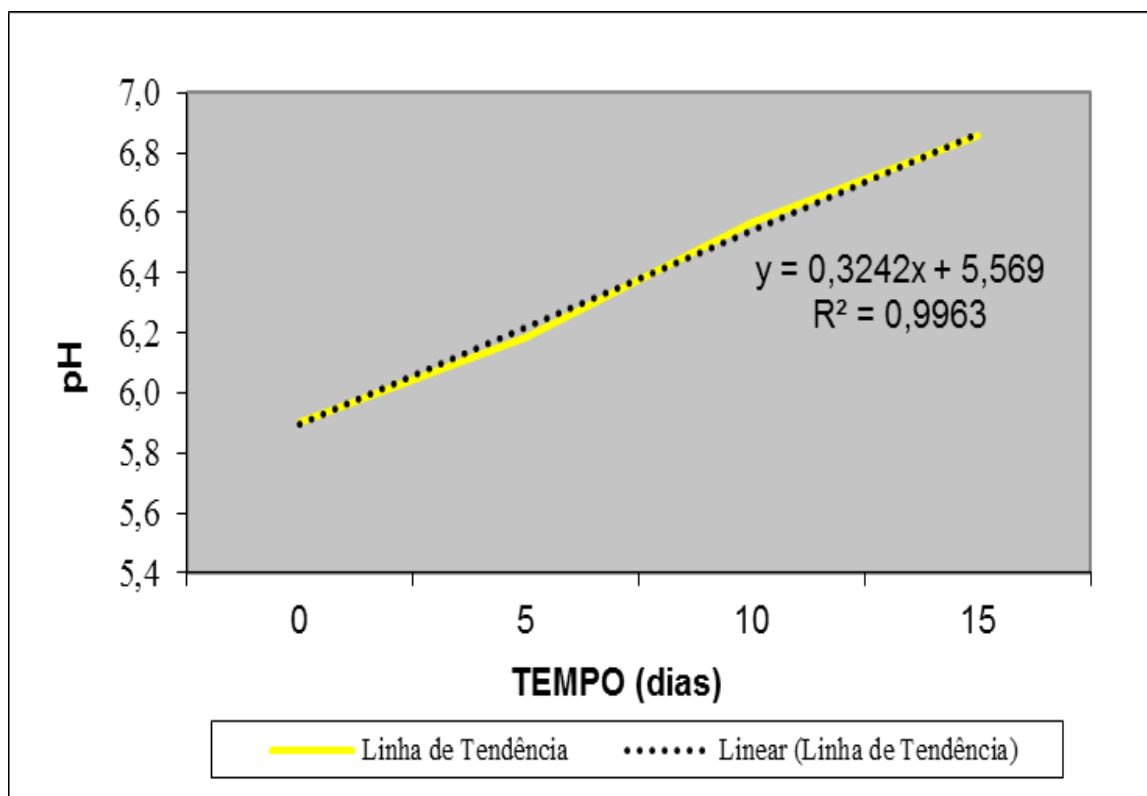


Figura 11 – Crescimento dos valores da média dos pH das amostras

A equação da reta da linha de tendência obtida das médias dos pH (Figura 11), demonstra a constância na elevação, estando os pontos médios dos valores de pH próximos da reta (com $R^2=0,9963$).

Na Figura 12, verifica-se que o comportamento da elevação do pH de todas as amostras foram semelhantes no tempo estudado.

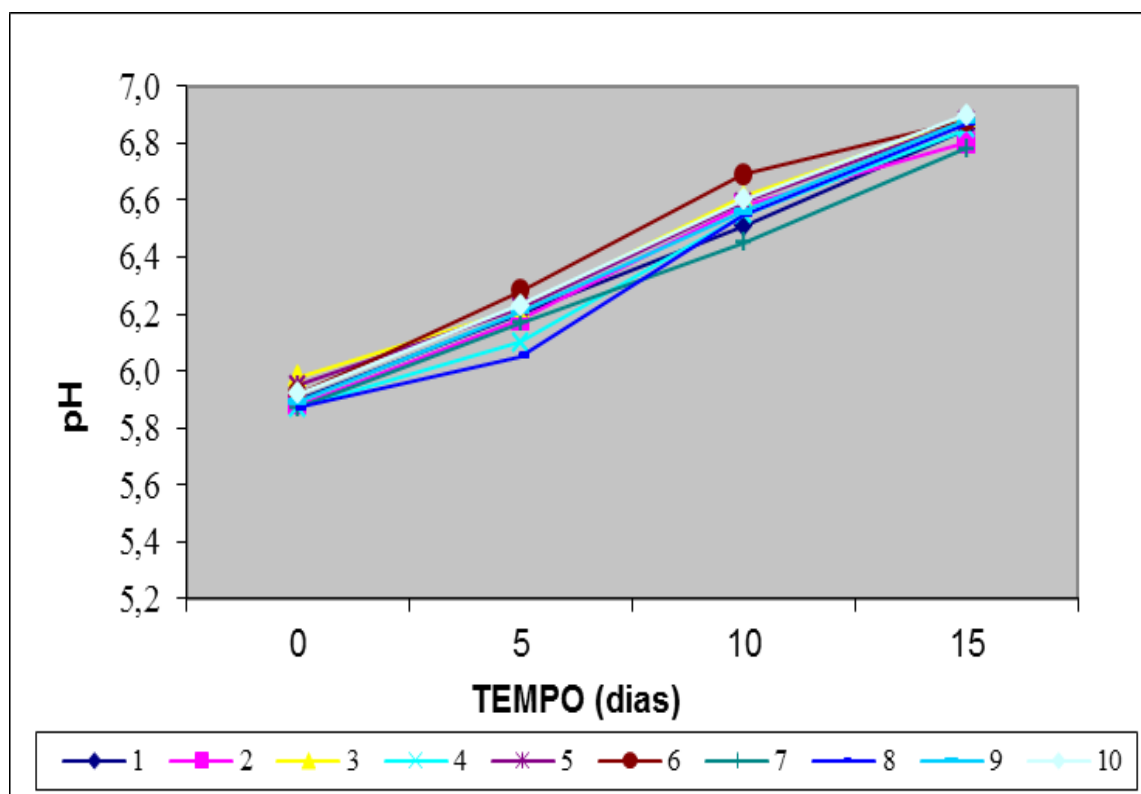


Figura 12 – Crescimento dos valores pH em todas as amostras

O valor de pH das amostras apesar de ter aumentado durante o intervalo de estudo, fato devido à formação de produtos alcalinos do metabolismo das bactérias em crescimento, só apresentou valores próximos da neutralidade já no fim das análises, sendo ponto positivo para o produto, demonstrando que a população microbiana não chegou ao fim da multiplicação (não ter saturado de micro-organismos) até o termino do prazo da validade e período de estudo, devido ainda ter substrato para o seu crescimento.

6. CONCLUSÃO

- Nesta pesquisa pode-se concluir que mesmo mantendo o controle de temperatura das amostras estudadas em $1,4 \pm 0,6$ °C durante os 15 dias de análises, o prazo de validade informado pelo fabricante não coincidiu com o analisado nesta pesquisa, encontrando-se as amostras impróprias para o consumo no 10º dia de armazenamento, conforme os resultados para bactérias do grupo coliformes a 45°C, preconizada pela RDC nº 12 da ANVISA (BRASIL, 2001).

- A vida útil que se concluiu, com base no gráfico de crescimento médio de coliformes a 45 °C, para esse lote estudado, são de aproximadamente oito dias;

- Apesar de se concluir que o prazo de vida útil deste produto pesquisado ser menor que o estipulado pelo fabricante, concluiu-se também que o lote está livre da bactéria patogênica *Salmonella* spp, conforme sua representatividade amostral.

- Foi possível constatar que a qualidade microbiológica da carne de frango apresentou falhas, como demonstrado pela presença de elevado número de bactérias aeróbias mesófilas, coliformes a 35°C e coliformes a 45 °C, podendo, portanto, ser um risco em potencial para ocorrência de Doenças Veiculadas por Alimentos - DVA. A implementação de um sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) no abatedouro, envolvendo todas as etapas do processamento, pode constituir uma medida eficaz para a melhoria da qualidade e segurança deste produto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEF, Estatísticas UBABEF 2010_FINAL, divulgado em 13 de Janeiro de 2011, São Paulo. Disponível em <http://www.abef.com.br>. Acessado em 23 de Março de 2011.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). Committee on microbiological methods for foods. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4 ed. Washington: APHA, 2001. 676 p.

ALMEIDA, P. F.; SILVA, E. N. Estudos sobre o controle e disseminação bacteriana em carcaças de frangos de abatedouros industriais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v. 44, n. 2, p. 105-120, 1992.

ASTM, Standards on Aquatic Toxicology and Hazard Evaluation. Sponsored by ASTM Committee E-47 on **Biological Effects and Environmental Fate**. ASTM Publication Code Number (PCN): 03-547093-16. 538p. 1993.

BAIÃO, N.C.; FERREIRA, M.O. O.; TEIXEIRA, A. A. Efeitos do tipo e período de jejum sobre a perda do peso vivo e rendimento de carcaça de frango de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v.44, n.3, p.205-213, 1992.

BARBOSA, M. B. C.; SANTOS, T. M.; SANTOS, W. L. M.; MARTINS, N. M.; MAURA, R. Avaliação da qualidade microbiológica de linguças frescas de carne suína no município de Sete Lagoas. **Revista Higiene Alimentar**. v. 17, n. 104/105, p. 20-21, jan/fev 2003.

BARROS, V. R. M.; PAIVA, P. C.; PANETTA, J. C. *Salmonella* spp.: sua transmissão através dos alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, v. 16, n. 91, p. 15-19, Mar/ 2002.

BERND, L.; BONACINA, M.; QUEIROZ, M. I.; NEVES, F. **Aumento da vida útil da salsicha ovina**. 2003. Projeto de Graduação (Engenharia de Alimentos) – Fundação Universidade do Rio Grande, Rio Grande do Sul - RS, p. 58, 2003.

BERG, E. P. **Influence of stress on composition and quality of meat poultry, and meat products**. 2001. Disponível em: <http://www.fass.org/fass01/pdfs/Berg.pdf>. Acessado em 08/06/2011.

BERSOT, L. S. Salmonella no Brasil: sua importância no abate de aves. **V Simpósio de sanidade Avícola da Universidade Federal de Santa Maria. Rio Grande do Sul**. Disponível em: <<http://www.cnpsa.embrapa.br>>. Acesso em: 03/06/2006.

BIANCHI, M. et al. Physical and functional properties of whole and ground pale broiler breast meat. **Poultry Science**, Ithaca, v. 84, p. 83-88, 2005.

BOURGEOIS, C. M.; MESCLE J. F.; ZUCCA, J. **Microbiología alimentaria**. Aspectos microbiológicos de la sanidad y calidad alimentaria, v. 1. Zaragoza: Acribia, 1994, 437 p.

BRASIL. Ministério da Saúde/AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). RESOLUÇÃO - **RDC Nº 12**, de 2 de Janeiro de 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal (LANARA). Métodos analíticos oficiais para o controle de Produtos de Origem Animal e seus ingredientes. II – Métodos físicos e químicos. Brasília, **MQT-022**, Cap. 5, p.1, 1981.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Instrução Normativa nº70**, de 06 de outubro de 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higienico Sanitária de Carnes de Aves**. Portaria nº 210, de 10 de Novembro de 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Lei nº 1.283 de 18 de dezembro de 1950. Dispõe sobre a inspeção industrial e sanitária dos produtos de origem animal. Brasília – DF.

CANSIAN, R. L.; FLORIANI, S. T. R.; VALDUGA, E. Microbiological analysis of critical points in the chicken industry. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, n. 3, p. 403-406, 2005.

CARDOSO, A. L. S. P.; CASTRO, A. G. M.; TESSARI, E. N. C.; BALDASSI, L.; PINHEIRO, E.S.. Pesquisa de *Salmonella* spp., coliformes totais, coliformes fecais, mesófilos, em carcaças e cortes de frango. **Revista Higiene Alimentar**, v. 19, n. 128, p. 144-150, Jan-Fev 2005.

CARVALHO, L.T.; Costa, P. S; Carvalho, A. L. T Análise de perigos e pontos críticos de controle na linha de produção de frango inteiro congelado. **Revista Higiene Alimentar**, v. 16, n. 95, p. 34-42, 2002.

CARVALHO, A. C. F. B.; CORTEZ, A. L. L.; SALOTTI, B. M.; BÜRGER, K. P.; VIDAL-MARTINS, A. M. C. Presença de micro-organismos mesófilos, psicrotróficos e coliformes em diferentes amostras de produtos avícolas. **Arquivos do Instituto Biológico**. São Paulo, v. 72, n. 3, p. 303-307, jul/set, 2005.

CENTRO DE TECNOLOGIA DA CARNE CTC/ITAL. **Industrialização de carne de frango**. Campinas, São Paulo: Centro de Tecnologia da Carne, p.80, 1995.

CDC - Centers for Disease Control. 2000. Campylobacter infections: General information and technical information. Division of Bacterial and Mycotic Diseases. Disponível em: www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/campylobacter_g.htm. Acesso em: Jun., 2011.

CVE – Coordenação de Vigilância Epidemiológica da Paraíba / Secretaria de Estado da Saúde da Paraíba. Boletim Epidemiológico: Doenças Diarréicas Agudas da Paraíba – 2001 a Jun/2006. Ano I, nº1, Out, 2006. Disponível em: http://www.saude.pb.gov.br/web_data/boletim_dda.pdf. Acesso em 19/06/2011.

COSTA, P. S.; COSTA, A S. Avaliação da eficiência da inspeção sanitária de frangos de corte frente às lesões provocadas por tecnopatias. **Revista Higiene Alimentar**. São Paulo, v. 15, n. 81, p. 56-58, maio 2001.

DELAZARI, I. Programas de segurança de alimentos na indústria de produtos avícolas. **Conferência Apinco 2003 de Ciência e Tecnologia Avícolas**, Campinas, Anais. Campinas, SP: FACTA, 2003, p. 123-126.

DRUBI, A. J. Estudo microbiológico de matérias-primas processadas de origem animal utilizadas na fabricação de alimentos na região de Ribeirão Preto/SP. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária). **Universidade Estadual Paulista**, Jaboticabal, SP, 2005, p 35.

EBURNE, R.C.; PRENTICE, G. Modified-atmosphere-packed ready-to-cook and ready-to eat meat products. In: MAN, C.M.D & JONES, A. A. **Shelf life evaluation of foods**. Suffolk: Chapman & Hall, p.156-178, 1996.

ECKERLE, J. R.; HARVEY, C. D.; CHEIN, T. Life cycle of canned tomato paste: correlation between sensory and instrumental testing methods. **Journal of Food Science**, v. 49, p. 1188-1193, 1984.

FLORENTINO, E. R.; LEITE, JR, A. F.; SÁ, S. N.; ARAÚJO, M. S. O.; MARTINS, R. S. Avaliação da qualidade microbiológica da carne moída comercializada em Campina Grande-PB. **Revista Higiene Alimentar**, v. 11, p. 47, jan/fev., 1997.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, p. 211 - 216, 2002. 424 p.

FORTES, F. B. B. **Perfil bioquímico de amostras de *Escherichia coli* isoladas de materiais avícolas no Estado do Rio Grande do Sul e sua relação com a patogenicidade**. Dissertação de Mestrado. UFRGS. Porto Alegre. 2008, p. 34, 40 e 44.

FRANCO, B. D. G. M; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005, 182 p.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. **Microbiología de los Alimentos**. 4. ed. Zaragoza: Acribia, 2000, 681 p.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. São Paulo: Editora Varela, 2001, p. 199-258.

GILL, C. O.; DAVIES, A.; BOARD, R. Microbiological contamination of meat during slaughter and butchering of cattle, sheep and pigs. **The Microbiology of Meat and Poultry**. London: Blackie Academic and Professional, p. 118-157, 1998.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS – ICMSF. **Microorganisms in food: Characteristics of microbial pathogens**. London: Blackie Academic & Professional, 1998, v. 5, 513 p.

ISOLAN, L. W. **Estudo da eficiência da etapa de pré-resfriamento por imersão em água no controle da qualidade microbiológica das carcaças de frango**. Porto alegre, UFRG, 2007, p. 28.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005, 711 p.

KORNACKI, J. L., JOHNSON, J. L. **Enterobacteriaceae, coliforms, and Escherichia coli as quality and safety indicators**. In: DOWNES FP, ITO, K. (Eds). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. Washington: APHA., p. 69-80, 2001.

MAPA. Ministério da Agricultura. **Exportações de carnes**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/>. Acessado em 23/03/2011.

MANTILLA, S. P. S.; SANTOS, E. B.; CONTE JÚNIOR, C. A.; MANO, S. B.; VITAL, H. C.; FRANCO, R. M. **Bactérias deteriorantes em filés de frango embalados em ar, vácuo e irradiados: parâmetros bacteriológicos de desenvolvimento e prazo comercial**. *www.agro.ufg.br/pat - Pesq. Agropecuária Tropical*, Goiânia, v. 39, n. 4, p. 271-277, out./dez. 2009;

MENDES, A. A.; MOREIRA, J.; GARCIA, R. G.. Qualidade da Carne de peito de Frango de Corte. **Revista Nacional da Carne**, v. 27, n. 317, 2003, p.138-144.

MIYAGUSKU, L.; CHEN, F.; LEITAO, M. F. F.; BAFFA, O. Avaliação microbiológica e sensorial da vida-útil de cortes de peito de frango irradiados. **Ciência Tecnologia de Alimentos**. vol. 23, p. 7-16, 2003.

MONTAÑEZ, N. R. A.. **Tiempo de vida util de pollo fresco almanacenado a temperatura de refrigeración**. Universidad de Puerto Rico Recinto Universitario de Mayaguez, 2005.

MORTON, R.D. Aerobic plate count. In: DOWNES, F.P.; ITO, K. (Eds). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. Washington: American Public Health Association (APHA), cap. 7, p. 63 - 67, 2001.

MURASE, T.; YAMADA, M.; MUTO, T.; MATSUSHIMA, A.; YAMAI, S. Fecal excretion of *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* following a foodborne outbreak. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 9, p. 3495-3497, 2000.

NASCIMENTO, M. G. F.; NASCIMENTO, E. R. **Importância da avaliação microbiológica na qualidade e segurança dos alimentos**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia (Embrapa- CNPAB. Documentos, 120), p. 11, Dez, 2000.

NASCIMENTO, M. G. F.; OLIVEIRA, C. Z. F.; NASCIMENTO, E. R.. Hambúrguer: Evolução comercial e Padrões microbiológicos. **BOLETIM CEPPA**, v. 23, n. 1, p. 59-74, 2005.

NUNES, T. P. **Efeito da pré-cura na estabilidade microbiológica da carne mecanicamente separada e elaboração de um produto reestruturado com filés de peito de galinhas de descarte**: 2003. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba-SP.

OFFER, G.; KNIGHT, P. The structural basis of water holding in meat. Part 2: drip losses. In: LAWRIE, R. **Developments in meat science-4**. London: Elsevier Applied Science, Chap.4, p.172-243, 1988.

OLIVEIRA, M. N.; BARUFALDI, R.. **Fundamentos de tecnologia de alimentos**. São Paulo: Ed. Atheneu, v. 3, 1998.

OLIVEIRA, A. M.; GONÇALVES, M. O.; SHINOHARA, N. K. S.; STAMFORD, T. L. M. Manipuladores de alimentos: um fator de risco. **Revista Higiene Alimentar**. v. 17, n. 114/115, p. 12-17, nov/dez 2003.

OMBUI, J. N.; KAGIKO, M. M.; ARIMI, S. M.. Foodborne diseases in Kenya. **East African Medical Journal**. v. 78, p. 40-44, 2001.

OPS/OMS. Organización Mundial de la Salud. Organización Panamericana de la Salud, Instituto Panamericano de Protection de Alimentos y Zoonosis, Inppaz. **Informe sobre el Sistema de Informacion Regional para la Vigilancia Epidemiologica de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos**. (SIRVE-ETA), 1999.

ORDÓÑEZ-PEREDA, J. A.; RODRIGUES, M. I. C.; ALVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. F.; PERALES, L. H.; CORTECERO, M. D. S. **Tecnologia de**

alimentos. v. 2 – Alimentos de origem animal. Trad. Fátima Murad. Porto Alegre: Artmed, 2005, 279 p.

ORMENESE, R. C. S. C. ; SILVEIRA, N. F. A. ; SILVA, N. *Escherichia coli* 0157:H7 em alimentos. **Boletim da SBCTA**, v. 33, p. 41-49, jan/jun 1999.

PARDI, M. C.; SANTOS, I. F.; SOUZA, E. R.; PARDI, H. S. **Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne**. 2 ed. Goiânia: editora UFG; 2001.

PETRACCI, M; FLETCHER, D. L.; NORTHCUTT, J. K. The effect of holding temperature on live shrink, processing yield, and breast meat quality of broiler chickens. **Poultry Science**, Ithaca, v. 80, p.670-675, 2001.

RALL, V. L M; MARTIN, J. G. P.; CANDEIAS, K. F. G.; SILVA, M. G.; RALL, R.; ARAÚJO JÚNIOR, J. P. Pesquisa de *Salmonella* e das condições sanitárias em frangos e lingüiças comercializados na cidade de Botucatu. UESP. Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 46, n. 3, p. 167-174, 2009;

RALL, V. L. M.; ARAGON, L. C.; BOMBO, A. J.; LOPES, T. F.; SILVA, M. G. Pesquisa de *Staphylococcus aureus* e de indicadores higiênico-sanitários em leite e derivados comercializados na cidade de Botucatu. **Resumos XXI Congresso Brasileiro de Microbiologia** . Foz do Iguaçu – PR. p. 411. 2001.

RASZL, S.M. BEJARANO, N.; CUELLAR, J.; ALMEIDA, C. R. **HACCP: instrumento essencial para a inocuidade de alimentos**. Instituto Pan-Americano de Proteção de Alimentos, p. 33, 2001.

ROÇA, R. O.; SERRANO, M. A. Abate de bovinos: alterações microbianas da carcaça. **Revista Higiene Alimentar**, v. 9, n. 35, p. 8-12, 1995.

RITTER, R.; BERGMANN, G. P. Eficácia do sistema de pré-resfriamento de frangos em tanques, sobre a redução da contaminação bacteriana de carcaças. **Higiene alimentar**, v. 17, n. 108, p. 97–104, 2003.

ROITMAN, I.; TRAVASSOS, L. R.; AZEVEDO, J. L. **Tratado de Microbiologia**. São Paulo: Manole; v. 1, 1988.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, p. 221, 1998.

SANT'ANA, A. S.; CONCEIÇÃO, C. ; AZEREDO, D. R. P. Comparação entre os métodos rápidos Simplate TPC-CI e Petrifilm AC e os métodos convencionais de contagem em placas, para a enumeração de aeróbios mesófilos em sorvetes. **Revista Higiene Alimentar**, v. 16, n. 95, p. 82 - 87, abr, 2002.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; ALVES, R. V. M; OLIVEIRA, L. M. Embalagens com atmosfera modificada. 2 ed. Campinas: CETEA/ITAL. 1998, 114p.

SILVA, J. A. Microrganismos Patogênicos em carne de frango. **Revista Higiene Alimentar**, v.12, n.58, p.9-14, Outubro 1998.

SILVA, P. H. F.; FERNANDES, E. N.; SILVA, P. H. F. Processamento de leite UHT/UAT: aspectos tecnológicos e de qualidade e Tendências e avanços do agronegócio do leite nas Américas: industrialização. 1. ed. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite; Porto Alegre: Associação Gaúcha de Laticinistas; Montevideu: Fepale, Cap. 8, p. 119 – 132, 2006.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2 ed. São Paulo: Varela, p. 317, 2001;

SOULTOS, N. KOIDIS, P.; MADDEN, R.H. Presence of *Listeria* and *Salmonella* spp. in retail chicken in Northern Ireland. **Letters in Applied Microbiology**. v. 37, p. 421-423, 2003.

SOUZA, H. B. A. Parâmetros físicos e sensoriais utilizados para avaliação de qualidade da carne de frango. **V Seminário Internacional de Aves e Suínos – AveSui, 25 a 27 de Abril de 2005**. p. 91-96. Florianópolis-SC. 2005

UBA – UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA. **Relatório anual 2009**. Disponível em: <<http://www.uba.org.br>>. Acesso em: 23 Março de 2011.

UCDAVIS. University of California. **Food Science and Technology 104L: Laboratory Syllabus**. Davis, p. 104, 1987.

VALERIANO, C.; SANTOS, H. P.; BEERLI, K. M. C.; PICCOLI-VALLE, R. H.; ALCANTARA, E. M. C.; MARQUES, S. C.; ARAUJO, R. Avaliação higiênico-sanitária de miúdos de frango comercializados na cidade de Lavras-MG. **Revista Higiene Alimentar**, v. 17, n. 104/105, p. 214-215, 2003.

VEIGA, M. M. L. ***Salmonella* spp. em carcaças e miúdos de frangos resfriados comercializados em Botucatu, São Paulo**. Dissertação (mestrado em medicina veterinária), 72 f., Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP, 2009.

VENTURINI, K. S.; SARCINELLI, M. F.; SILVA, L. C. **Características da carne de frango**. Boletim Técnico - PIE-UFES:01307 - Editado: 18.08.2007.

ZAGANINI, C. L. **Resistência a antimicrobianos em cepas de *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Enterococcus* spp. isolados de carcaças de frango**. 2004. Dissertação (mestrado em ciências) – Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP.