

# Análise micológica de lingüiça de frango embalada em atmosfera modificada

## Micology analysis of chicken sausages under modified atmospheres packaging conditions

Lícia Cristina Miranda Malavota,\* Carlos A. Conte-Junior,\*\* Beatriz T. Macedo,\* Márcia M. Lopes,\* Valéria G. de Souza,\* Jussara Schwind Pedroso Stussi,\*\*\* Henrique Silva Pardi,\*\*\*\* Sérgio Borges Mano,\*\*\*\*

### Resumo

O presente estudo teve como objetivo analisar o crescimento de bolores e leveduras em lingüiça frescal de frango, de modo a ponderar possíveis riscos à saúde humana, e ainda avaliar o efeito das embalagens em atmosferas modificadas (EAM) neste produto, a fim de elucidar formas viáveis e eficazes de conservação deste tipo de alimento. As amostras de lingüiça de frango (60 unidades de 10,0 x 1,5cm), produzidas em laboratório, com formulação tradicional, foram embaladas em bolsas plásticas esterilizadas, com aproximadamente 1,5L das seguintes atmosferas: ar (100%), N<sub>2</sub> (100%), CO<sub>2</sub> (20, 40 e 80%, complementados com N<sub>2</sub>) e CO<sub>2</sub> (100%) e mantidas em temperatura de refrigeração (4±1°C). Durante 19 dias de armazenamento, realizou-se um acompanhamento periódico determinando o pH, as contagens de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (BHAM) e as contagens totais de bolores e leveduras. Para a determinação dos parâmetros do crescimento fúngico, foi utilizada a equação de Baranyi. As menores contagens foram obtidas nas lingüiças embaladas nas atmosferas contendo as maiores concentrações de CO<sub>2</sub> testadas (100% CO<sub>2</sub>, 80/20 CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> e 40/60 CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>) durante os 19 dias de duração do experimento, enquanto que as maiores concentrações encontradas tanto de BHAM quanto de bolores e leveduras foram nas amostras embaladas em ar, 100% N<sub>2</sub> ou 20/80 CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>. A partir dos resultados comprova-se que a EAM inibe o crescimento de bactérias e fungos.

*Palavras-chave:* lingüiça de frango, bolores e leveduras, embalagem em atmosfera modificada, prazo de vida comercial, embutidos.

### Abstract

The objective of the present research was to analyze the mould and the yeast growth on chicken sausage, so that to examine possible risks to the human health and evaluate the effects of modified atmosphere packaging (MAP) in this product, in order to elucidate practicable and potent ways for conservation of this food. Samples of chicken sausages (60 unities), measuring 10.0 cm in total width and 1.5cm in total length, were produced through traditional formularization at laboratory and were packed into sterile plastic bags, containing nearly 1.5L of the following atmospheres: air (100%), N<sub>2</sub> (100%), CO<sub>2</sub> (20, 40 and 80%, fulfilled with N<sub>2</sub>) and CO<sub>2</sub> (100%) and maintained at refrigeration (4±1°C). During nineteen days of the storage, a periodic monitoring was realized to establish the pH, to total aerobic mesophylls count and the mould and yeast total count. For the parameters determination of fungal growth was utilized by Baranyi's equation. The less fungal quantities were attained for sausages packaged at atmospheres with the greater tested CO<sub>2</sub> concentration (100% CO<sub>2</sub>, 80/20 CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> and 40/60 CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>) during 19 days of research, while the greater mesophylls bacteria counts and mould and yeast concentrations opposed, both one and the other, were on samples packaging at air, 100% N<sub>2</sub> and 20/80 CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>. Results confirm that MAP inhibits the fungal and bacteria growth.

*Keywords:* chicken sausage, moulds and yeasts, modified atmospheres packaging, shelf life, inlaid.

### Introdução

A carne de ave é considerada um produto de valiosas características nutricionais, além de não haver restrição religiosa ao seu consumo, oferecer uma diversidade de

produtos, subprodutos e derivados, possuir preços mais baixos no mercado, comparados com as demais carnes, e ainda oferecer flexibilidade e relativa facilidade para sua produção. Todas estas vantagens explicam o expressivo aumento do consumo deste tipo de alimento (Silva, 2001).

\* Estudante do Programa de Pós-Graduação em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense.

\*\* Acadêmico de Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense. mtaconte@vm.uff.br

\*\*\* Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto Biomédico, Universidade Federal Fluminense.

\*\*\*\* Departamento de Tecnologia dos Alimentos, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense.

Segundo a Associação Brasileira dos Exportadores de Frango (ABEF), a produção anual de carne de frango no Brasil gira em torno de 8,2 milhões de toneladas. A ABEF (2004) informa que o consumo de carne de frango no mundo aumentou significativamente (duas vezes e meia) de 1990 a 2000. Esta mudança nos hábitos dos consumidores foi responsável pelo incremento no desenvolvimento de novos produtos derivados de aves para diversificar o mercado, aumentando a variedade das formas de consumo das carnes de frango.

A elaboração dos embutidos, antes tomada como uma arte, hoje é uma ciência altamente sofisticada. Segundo Rust (1994), pode-se citar a carne de ave como uma fonte importante de matéria-prima para embutidos. Atualmente, todos os grandes fabricantes de produtos de salsicharia possuem, no mínimo, um embutido de frango em sua linha de produção (Madava e Hoogenkamp, 1999).

A lingüiça é um dos produtos cárneos mais fabricados no Brasil. Isto pode ser explicado, em parte, pelo fato de que sua preparação não exige alta tecnologia, faz uso de poucos equipamentos e de baixo custo (Hooffmann et al., 1996; Terra, 1998). Entende-se por lingüiça o produto cárneo industrializado, obtido de carnes de animais de açougue, adicionados ou não de tecidos adiposos, ingredientes, embutidos em envoltório (natural ou artificial) e submetido ao processo tecnológico adequado, em que sua classificação varia com a tecnologia de fabricação. Assim, o produto será designado de lingüiça, seguido de denominação ou expressões que o caracterizem, como, por exemplo, lingüiça toscana, lingüiça de pernil, paio etc. (Brasil, 1952).

A embalagem em atmosfera modificada (EAM) constitui um meio de oferecer aos consumidores produtos “frescos” e com prazo de vida comercial mais longo (Sarantópoulos et al., 1998). O aumento da vida útil dos alimentos está relacionado com a diminuição do crescimento microbiano e o retardo da deterioração enzimática (Haasum e Nielsen, 1998; Conte-Júnior et al., 2006), e ainda, com a redução do pH intracelular e a interferência com o metabolismo celular, por difusão de ácido carbônico através da membrana microbiana (Wole, 1980; Dixon e Kell, 1989; Hoogerwerf et al., 2002). Além disso, esta tecnologia busca praticidade e conveniência necessárias à vida moderna, podendo ser utilizada pela indústria agrícola como ferramenta eficaz no lançamento de produtos alimentícios (Fernando et al., 1995).

Em se tratando de embutidos, a busca do aumento da vida útil torna-se necessária, pois se trata de um produto obtido através da moagem da matéria-prima, e que, por esta razão, tem exposta uma maior superfície de contato, ficando, então, mais susceptível à contaminação e ao crescimento de microrganismos (Proudlove, 1996; Rust, 1994).

Os bolores comumente encontrados como microbiota de alimentos são microrganismos exigentes em relação às condições favoráveis de crescimento (Smith et al., 1988). Embora atualmente não existam padrões estabelecidos para contagem de bolores em alimentos segundo o Ministério da Saúde (Brasil, 2001), alguns destes microrganismos são potentes produtores de micotoxinas de grande destaque em saúde pública, visto que são substâncias que podem ser extremamente nocivas à saúde humana e também de animais. Muitas dessas toxinas são produzidas pouco tempo depois

do desenvolvimento do bolor e causam desde lesões em órgãos do corpo até a morte (Steyn, 1998).

Segundo Ellis et al. (1993), a EAM, juntamente com atividade de água, pH e temperatura de estocagem dos produtos, exercem um efeito inibitório no crescimento de fungos produtores de micotoxinas, como o *Aspergillus flavus*.

O objetivo do experimento foi avaliar, a partir do estudo das curvas de crescimento, o comportamento de bolores e leveduras quando presentes em lingüiça frescal de frango, embalada em atmosfera modificada com diferentes concentrações de gases: 100% CO<sub>2</sub>, 100% N<sub>2</sub>, 20/80 CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>, 40/60 CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>, 80/20 CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> e ar, e ainda, analisar o comportamento das BHAM no produto, nestas mesmas condições de embalagem.

## Material e métodos

As amostras de lingüiça frescal de frango foram elaboradas no Laboratório de Tecnologia de Carnes da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense. A formulação da lingüiça compreendeu: 85,5% de filé de frango, 10% de toucinho, 1,5% de sal, 0,25% de alho, 0,20% de pimenta branca, e 3% de água destilada esterilizada. Processaram-se, ao todo, 2,5kg de lingüiça frescal de frango.

O filé de frango congelado foi moído juntamente com o toucinho em moedor de carne, da marca C.A.F., com disco de 1mm de diâmetro. Misturaram-se todos os ingredientes até formar uma mistura homogênea. Esta foi colocada numa embutideira, da marca Picelli, com embutidor de 1mm de diâmetro. Para realizar este processo utilizou-se tripa artificial de colágeno Coria FSC 21x40. Depois de embutida, a lingüiça foi engomada, somando um total de aproximadamente 90 gomos de cerca de 10cm de comprimento.

Toda a produção foi dividida em seis lotes, com 15 gomos cada, aos quais foram embalados em 100% ar, 100% N<sub>2</sub>, 100% CO<sub>2</sub>, 20/80 CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>, 40/60 CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> e 80/20 CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>. Todos os gomos da amostra preparada foram estocados à temperatura de 4±1°C.

Após o embutimento, colheu-se uma amostra como representante da lingüiça de frango no dia zero para ser submetida à análise microbiológica e físico-química (aferição de pH).

Para a realização da contagem de BHAM, subamostras foram colocadas em embalagens plásticas esterilizadas, pesadas até que se obtivessem 10g, às quais acrescentaram-se asepticamente 90 mL de solução salina peptonada a 0,1%, e em seguida foram homogeneizadas em *stomacher* (Schiemann e Wauters, 1992), obtendo-se a diluição 10<sup>-1</sup> de cada uma das subamostras.

A partir da diluição 10<sup>-1</sup> pipetou-se asepticamente, com auxílio de pipeta automática regulada para 1000mL, com ponteiros esterilizadas, 1mL transferindo para um tubo contendo 9mL de solução salina peptonada a 0,1%, previamente esterilizada, constituindo a diluição 10<sup>-2</sup>. Da mesma maneira foram realizadas as diluições sucessivas.

De acordo com Vanderzant e Splittstoesser (1992), nesta técnica utiliza-se o *Pour Plate*, onde se pipeta, asepticamente, 1mL da diluição a ser pesquisada para uma placa de Petri

esterilizada e posteriormente adiciona-se o ágar padrão para contagem (APC), fundido e mantido a 45°C em banho-maria. Após a vazagem do meio de cultura na placa, homogeneizou-se o meio de cultura com a alíquota da diluição e após sua solidificação, as placas com amostras foram invertidas e incubadas em estufa a 35°C durante 24 a 48 horas. Foram realizadas contagens de BHAM em todas as amostras coletadas no dia zero.

Além disso, a contagem de BHAM foi realizada em todas as amostras coletadas durante os 19 dias do experimento.

Realizou-se também em todas as amostras o acompanhamento do comportamento do pH e do crescimento de bolores e leveduras através de contagem destes microrganismos no decorrer de, aproximadamente, 19 dias.

Para a realização da contagem de bolores e leveduras, as amostras foram semeadas, *Pour Plate*, em DG18 (10g de glicose, 5g de peptona, 1g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,5g de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 220g de glicerol, 15g de ágar, 0,2mg de dicloran e 100mg de clorafenicol em 1000mL de água destilada). Pipetou-se, assepticamente, 1mL da diluição a ser analisada para uma placa de Petri esterilizada e posteriormente adicionou-se o meio de cultura fundido e mantido a 45°C em banho-maria. Após a solidificação do meio de cultura, as placas cultivadas também foram invertidas e incubadas em estufa a 25°C durante cinco a sete dias (Ellis et al., 1993).

Na contagem, as unidades formadoras de colônia (UFC) com características de fungos produtores de micotoxinas foram escolhidas de cada placa das amostras processadas, e em seguida repicadas, individualmente, em tubos de ensaio contendo meio de Saboraud com clorafenicol a 0,01%. O repique era feito, assepticamente, através da retirada unitária de cada UFC na placa, com o auxílio de uma agulha de platina, flambada previamente na chama do bico de Bunsen. Os tubos então semeados, com uma UFC cada, foram incubados em estufa, a 25°C, durante cinco a sete dias. Após o tempo de incubação, esses tubos foram mantidos em geladeira para futura realização de provas de identificação das espécies.

Os dados obtidos, a partir das contagens realizadas, foram tratados estatisticamente. Para tal, utilizou-se a equação de Baranyi e Roberts (1994), determinando-se os parâmetros de crescimento (fase de latência, fase logarítmica e fase estacionária) dos resultados das contagens de bolores e leveduras.

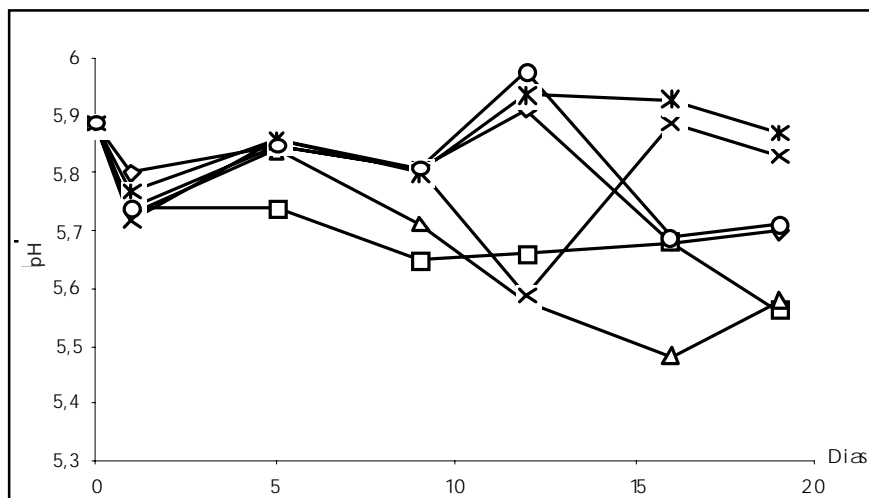
## Resultados e discussão

No dia 0, foi aferido o pH da matéria-prima íntegra, moída, e da mistura final, cujos resultados foram 5,83, 5,91 e 5,89, respectivamente. Também foram realizadas as contagens de bolores e leveduras destas amostras, obtendo-se resultados de menos de 30 UFC.g<sup>-1</sup> nas três amostras, indicando que o

alimento foi manipulado em condições higiênico-sanitárias satisfatórias, não apresentando contaminação excessiva.

Pôde-se observar a ocorrência de uma variação não significativa dos valores de pH aferidos das amostras, no dia zero, assim como uma baixa contagem de fungos, em função da baixa influência, até então, do binômio: tempo-temperatura (Franco e Landgraf, 1996).

Na Figura 1, pode-se observar os valores de pH obtidos nas amostras embaladas nas diferentes atmosferas modificadas a partir do dia 1 até o dia 19.

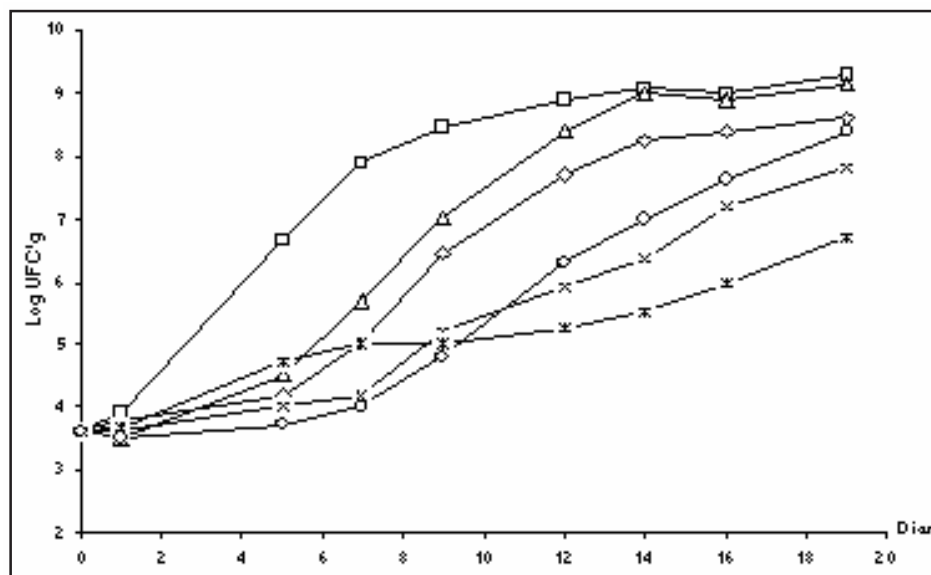


**Figura 1:** Valores de pH aferidos nas amostras embaladas em 100% ar (◇), e em EAM com 100% N<sub>2</sub> (□), 20/80 CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> (△), 40/60 CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> (×), 80/20 CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> (○), armazenadas em 4±1°C.

Em relação aos valores de pH obtidos das amostras embaladas em atmosferas modificadas ao longo dos dias de estocagem, foi observado que não houve variações significativas que se mantiveram inferiores a 0,4. Estes resultados estão de acordo com os encontrados em salmão (Fey e Regenstein, 1982; Lopéz-Gálvez et al., 1995), cordeiro (Sheridan et al., 1995; Doherty et al., 1996), carne bovina (Avery et al., 1995) e rã (Conte-Júnior et al., 2006), também embalados em atmosferas enriquecidas com CO<sub>2</sub>. Nesses experimentos, os autores também não observaram variações significativas dos valores de pH.

A contagem inicial (dia zero) de BHAM em placas com APC foi 4,4x10<sup>3</sup> UFC.g<sup>-1</sup>. Das seis atmosferas testadas, durante os 19 dias de estudo, as que apresentaram os maiores picos de concentração foram as embalagens com atmosfera composta de 20/80 CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> atingindo 7,5x10<sup>9</sup> UFC.g<sup>-1</sup>, no 19º dia, e de 100% N<sub>2</sub> atingindo 9,6x10<sup>9</sup> UFC.g<sup>-1</sup>, também no 19º dia.

Na Figura 2, podem-se observar as curvas de crescimento das BHAM, durante os 19 dias de estudo, nas amostras embaladas em 100% ar e nas outras cinco atmosferas testadas. Constata-se que, dentre as atmosferas estudadas, as que apresentaram o melhor comportamento das BHAM foram as compostas de 80/20 CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> e de 40/60 CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>, retardando o tempo de multiplicação e não atingindo contagens elevadas.



**Figura 2:** Curvas de crescimento das bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas nas amostras de lingüiça de frango embaladas em 100% ar ( $\diamond$ ), e em atmosfera modificada com 100%  $N_2$  ( $\square$ ), 20/80  $CO_2/N_2$  ( $\triangle$ ), 40/60  $CO_2/N_2$  ( $\times$ ), 80/20  $CO_2/N_2$  ( $\ast$ ), e 100%  $CO_2$  ( $\circ$ ), armazenadas em  $4\pm 1^\circ C$ .

Verifica-se, na Figura 2, que nas amostras embaladas em nitrogênio ( $N_2$ ), as BHAM iniciaram seu crescimento em torno do 1º dia. Nas amostras embaladas em 100% ar e em 20/80  $CO_2/N_2$ , essas mesmas bactérias aumentaram sua velocidade de crescimento a partir do 5º dia. Nas amostras embaladas em 40/60  $CO_2/N_2$  e em 100%  $CO_2$ , o mesmo ocorreu em torno do 7º dia. Já nas amostras embaladas em 80/20  $CO_2/N_2$ , verificou-se um discreto crescimento a partir do 1º dia, estabilizando-se no 5º dia e voltando a crescer em torno do 9º dia. A partir do 16º dia observou-se que as BHAM não apresentaram mais crescimento expressivo, estabilizando-se assim o seu crescimento em todas as amostras. O resultado obtido coincidiu com o descrito por Karkouri e Nychas (1994), onde, nas embalagens com 100%  $N_2$ , as bactérias citadas atingiram contagens altas mais rapidamente do que em 100% ar. No entanto, diferiram dos obtidos por Mano et al. (1999) em carne de peru, estocadas a  $7^\circ C$ , que obtiveram contagens mais altas nas embalagens com 100% ar.

Na Tabela 1, observa-se o comportamento das BHAM de acordo com os seguintes parâmetros: fase de latência, fase logarítmica e contagem na fase estacionária de crescimento. As BHAM das embalagens com atmosfera de 40/60  $CO_2/N_2$  e de 80/20  $CO_2/N_2$  foram as que apresentaram fases logarítmicas mais prolongadas, ou seja, com menores velocidades de multiplicação, atingindo também menores valores nas contagens nas fases estacionárias de crescimento.

**Tabela 1:** Parâmetros de crescimento (fase de latência, fase logarítmica e contagem na fase estacionária de crescimento) das bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas das amostras de lingüiça fresca de frango embaladas em diversas atmosferas e conservadas a  $4\pm 1^\circ C$ .

ATMOSFERAS	PARÂMETRO	UNIDADE
100% Ar	F.L.	4,3
	Log	13,7
	F.E.	8,7
100% $N_2$	F.L.	0,4
	Log	11,1
	F.E.	9,0
20/80 $CO_2/N_2$	F.L.	4,3
	Log.	6,6
	F.E.	9,0
40/60 $CO_2/N_2$	F.L.	4,6
	Log	22,9
	F.E.	8,2
80/20 $CO_2/N_2$	F.L.	0,0
	Log	44,7
	F.E.	7,4
100% $CO_2$	F.L.	6,2
	Log	16,0
	F.E.	8,5

F.L. – Fase de latência (dias).

Log – Fase logarítmica (horas).

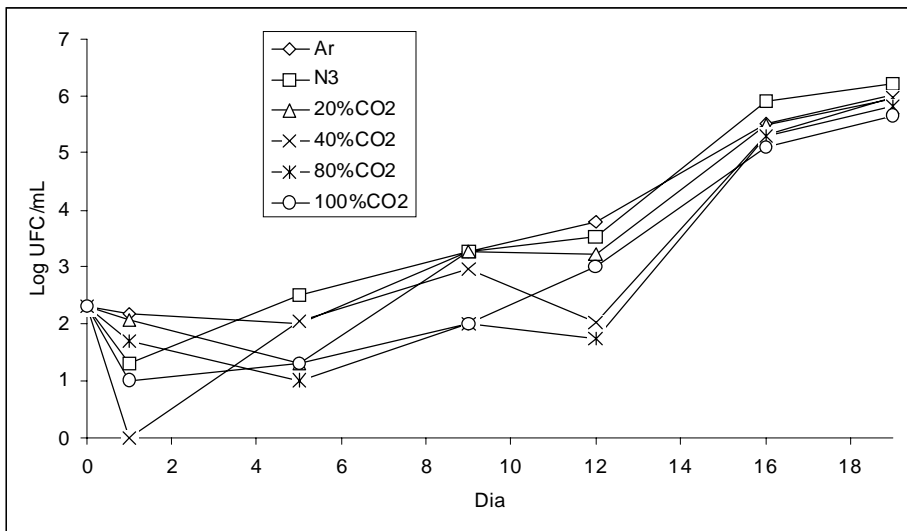
F.E. – Contagem na fase estacionária de crescimento ( $\log UFC.g^{-1}$ ).

Na Tabela 2 encontra-se a contagem de bolores e leveduras nas amostras embaladas nas diferentes atmosferas do dia 0 até o dia 19.

**Tabela 2:** Contagem média de UFC, em logaritmo na base 10, de bolores e leveduras nas amostras embaladas nas diferentes atmosferas do dia 0 até o dia 19 e conservadas a  $4 \pm 1^\circ\text{C}$ .

DIA	ATMOSFERAS					
	Ar (100%)	N <sub>2</sub> (100%)	20/80 CO <sub>2</sub> /N <sub>2</sub>	40/60 CO <sub>2</sub> /N <sub>2</sub>	80/20 CO <sub>2</sub> /N <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub> (100%)
0	2,3	2,3	2,3	2,3	2,3	2,3
1	2,2	1,3	2,1	0,0	1,7	1,0
5	2,0	2,5	1,3	2,0	1,0	1,3
9	3,3	3,3	3,3	3,0	2,0	2,0
12	3,8	3,5	3,2	2,0	1,7	3,0
16	5,5	5,9	5,5	5,3	5,3	5,1
19	6,0	6,2	6,0	6,0	5,8	5,6

Na Figura 3 encontram-se os valores das contagens obtidas nas análises micológicas das amostras embaladas nas diferentes atmosferas modificadas do dia 0 ao dia 19.



**Figura 3.** Curvas de crescimento de bolores e leveduras nas amostras de lingüiça de frango embaladas em 100% ar (—◇—), e em atmosfera modificada com 100%N<sub>2</sub> (—□—), 20/80 CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> (—△—), 40/60 CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> (—×—), 80/20 CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> (—\*—), e 100%CO<sub>2</sub> (—○—), armazenadas em  $4 \pm 1^\circ\text{C}$ .

No primeiro dia, os resultados obtidos das contagens de bolores e leveduras eram bem semelhantes, à exceção das amostras embaladas em 40/60 CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>, 80/20 CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>, nas quais não foi observado qualquer crescimento fúngico, devido ao efeito fungistático exercido pelas altas concentrações de CO<sub>2</sub> (Ellis et al., 1993). A alta concentração de CO<sub>2</sub>, que reduz o pH intracelular e interfere no metabolismo celular quanto à difusão de H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> através da membrana bacteriana (Dixon e Kell, 1989). Mano et al. (1999) também descreve a ocorrência de estresse exercido pela mistura de gases sobre o crescimento microbiano.

Ao quinto dia, as lingüiças embaladas em ar e N<sub>2</sub> foram consideradas inferiores em relação às demais, no que diz respeito à qualidade, por apresentarem maiores valores na avaliação micológica (Hooffmann et al., 1996).

A partir de então, até o décimo segundo dia, as lingüiças embaladas em atmosferas de 100% ar, 100% N<sub>2</sub>, 20/80% CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> obtiveram resultados parecidos e insatisfatórios, quanto ao tempo de vida útil destes produtos (Terra, 1998). Já aquelas que foram embaladas em atmosferas de 40/60% CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>, 80/20% CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> e 100% CO<sub>2</sub> obtiveram baixas contagens de bolores e leveduras, diferenciando-se das outras amostras (Hooffmann et al, 1996). Isto quer dizer que estas três últimas atmosferas citadas empregadas nas embalagens dos produtos em questão, demonstraram resultados satisfatórios (Ellis et al, 1993), pois, quando comparadas às demais, as contagens de fungos

foram menores, o que caracterizaria produtos de melhor qualidade, com o mesmo tempo decorrido após seus processamentos (Wolfe, 1980). Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Guynot et al. (2003) que determinaram o efeito antifúngico das diferentes concentrações de CO<sub>2</sub> em produtos de padaria em EAM.

No décimo nono dia, os comportamentos das amostras nas seis atmosferas testadas foram semelhantes (Tabela 2), obtendo-se aproximadamente uma mesma contagem de bolores e leveduras, que é considerada alta, embora, atualmente, não existam padrões estabelecidos para contagem de bolores e leveduras para alimentos (BRASIL, 2001). Isto é explicado porque a alta concentração destes microrganismos permite uma deterioração do produto mais acelerada, tornando-o impróprio para o consumo devido às alterações sensoriais do mesmo (Guynot et al., 2003).

## Conclusão

Segundo a avaliação dos resultados do experimento, a embalagem em atmosfera modificada inibiu o crescimento de bolores e leveduras, pelo menos nos primeiros 12 dias, devido, provavelmente, ao efeito fungistático do CO<sub>2</sub> (gás carbônico) sobre o desenvolvimento destes microrganismos.

As maiores concentrações de gás carbônico nas embalagens foram responsáveis pelos melhores resultados no aumento da vida útil, relacionado com o crescimento de bolores e leveduras. Ou seja, as amostras embaladas nas atmosferas

de 80/20 CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> e 100% CO<sub>2</sub>, após um mesmo intervalo de tempo decorrido, apresentavam cerca de 50% da contagem de fungos contaminantes das demais amostras.

A embalagem em atmosfera modificada é um método de conservação eficaz quanto ao aumento da vida útil da lingüiça frescal de frango. Quando observado isoladamente, este método pode não impedir o crescimento destes microrganismos, porém colabora, decididamente, para dificultar o desenvolvimento, inibir o crescimento e até mesmo diminuir o número destes.

## Agradecimentos

Ao apoio recebido do Departamento de Tecnologia dos Alimentos – MTA da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq – Brasil) pela bolsa de Iniciação Científica (PIBIC) concedida ao aluno Carlos Adam Conte Junior.

## Homenagem especial

À Profa. Ms. Jussara S. P. Stussi (*in memoriam*) do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFF, pela dedicação e apoio a este trabalho até os momentos finais de sua vida.

## Referências

ABEF, Associação Brasileira dos Exportadores de Frango. In: *Estatísticas*. Disponível na internet: <http://www.abef.com.br/estatisticas>. Capturado em 9 ago. 2004; 21:06:12. On-line.

AVERY, S. M.; ROGERS, A.R. e BELL, G. Continued inhibitory effect of carbon dioxide packaging on *Listeria monocytogenes* and other microorganisms on normal pH beef during abusive retail display. *International Journal of Food Science and Technology*, v.30, p. 725-735, 1995.

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

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). *RDC 12/01*. Brasília, DF, 2001.

BRASIL. Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952. Aprova o Novo Regulamento de Inspeção Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, v. 91, n. 155, 7 julho 1952. Seção 1.

CONTE-JÚNIOR, C. A.; FERNÁNDEZ, M. e MANO, S.B. Use of carbon dioxide to control the microbial spoilage of bullfrog (*Rana catesbeiana*) meat. In: Mendez-Vilas, A. *Modern Multidisciplinary Applied Microbiology: Exploiting Microbes and Their Interactions*. Hardcover. Ed. Wiley-VCH. 822 p., 2006.

DIXON, N.M. e KELL, D.B. (1989) A review: the inhibition by CO<sub>2</sub> of the growth and metabolism of microorganisms, citado por HOOGERWERF, S.W.; KETS, E.P.W. and DIJKSTERHUIS, J. *Letters in Applied Microbiology*, v. 35, p. 419-422, 2002.

DOHERTY, A.; SHERIDAN, J.J.; ALLEN, P.; MCDOWELL, D. A.; BLAIR, I. S. e HARRINGTON, D. Survival and growth of *Aeromonas hydrophyla* on modified atmosphere packaged normal and high pH lamb. *International Journal of Food Microbiology*, v. 28, p. 379-392, 1996.

ELLIS, W.O.; SMITH, J.P.; SIMPSON, B.K.; KHANIZADEH e OLDFHAM, J.H. Control of growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* under modified atmosphere packaging (MAP) conditions. *Food Microbiology*, v. 10, p.9-21, 1993.

Este experimento enfatiza a importância do uso da tecnologia de atmosferas modificadas na obtenção de um produto mais seguro microbiologicamente, e por consequência, de maior qualidade para o consumidor, e também mais econômico ao fabricante e ao comerciante de alimentos.

São necessários maiores estudos do comportamento de microrganismos de interesse em saúde pública, frente às diferentes misturas de gases utilizadas em embalagens para alimentos.

FERNANDO, G.D.G.; NYCHAS, G.J.E.; PECK, M.W. e ORDÓÑEZ, J.A. Growth/survival of psychrotrophic pathogens on meat packaged under modified atmospheres. *International Journal of Food Microbiology*, v. 28, p. 221-231, 1995.

FEY, M.S. e REGENSTEIN, J.M. Extending shelf-life of fresh, wet, red hake and salmon using CO<sub>2</sub>-O<sub>2</sub> modified atmosphere and potassium sorbate ice at 1°C. *Journal of Food Science*, v. 47, p. 1048-1054, 1982.

FRANCO, B.D.G.M. e LANDGRAF, M. *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: Atheneu, 1996.

GUYNOT, M.E.; MARÍN, S.; SANCHIS, V. e RAMOS, A.J. Modified Atmosphere Packaging for prevention of mold spoilage of bakery products with different pH and water activity levels. *Journal of Food Protection*, v. 66, n. 10, p. 1864-1872, 2003.

HAASUM, I. e NIELSEN P.V. Ecophysiological characterization of common food-borne fungi in relation to pH and water activity under various atmospheric compositions. *Journal Applied Microbiology*, v. 84, p. 451-460, 1998.

HOOFFMANN, F.L.; GARCIA-CRUZ, C. H.; GODOY, J. H. F. e VINTURIM, T. M. Análise microbiológica e sensorial de lingüiça de frango produzida artesanalmente. *B. CEPPA, Curitiba*, v. 14, n. 1, p. 49-58, 1996.

HOOGERWERF, S.W.; KETS, E.P.W. e DIJKSTERHUIS, J. High-oxygen and high-carbon dioxide containing atmospheres inhibit growth of food associated moulds. *Letters in Applied Microbiology*, v. 35, p. 419-422, 2002.

KAKOURI, A. e NYCHAS, G.J. Storage of poultry meat under modified atmospheres or vacuum packs: possible role of microbial metabolites as indicator of spoilage. *J. Appl. Bacteriol.*, v. 76, n. 2, p.163-172, 1994.

LÓPEZ-GÁLVEZ, D.; HOZ, L. e ORDÓÑEZ, J.A. Effect of carbon dioxide and oxygen enriched atmospheres on microbiological and chemical changes in refrigerated tuna (*Thunnus alalunga*) steaks. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 43, p. 483-490, 1995.

MADAVA, R. e HOOGENKAMP, H. The role of processed products in the poultry meat industry. In: RICHARDSON, I. R.; MEAD, G. G. *Poultry Meat Science*. CABI Publishing, p. 396-410, 1999.

MANO, S. B.; ORDÓÑEZ, J. A. e FERNANDO G. G. Aumento de la vida útil y microbiología de la carne de pavo envasada en atmósferas

- modificadas. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 6, n. 2, p. 55-65, 1999.
- PROUDLOVE, R. K. *Os alimentos em debate: uma visão equilibrada*. São Paulo: Livraria Varela, 1996.
- RUST, R.E. Productos embutidos. In: PRICE, J.F.; SCHWEIGERT, B. S. *Ciencia de la carne y de los productos carnicos*. Zaragoza: Editorial Acribia, v. 13, p. 415-439, 1994.
- SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; ALVES, R.M.V. e OLIVEIRA, L.M. *Embalagens com atmosfera modificada*. 2. ed. Campinas: CETEA/ITAL. 114 p., 1998.
- SCHIEMANN, A.D. e WAUTERS, G. Yersinia. In: VADERZANT, C.; SPLITTSTCESSER, D.F. *Compendium of methods of the microbiological examination of foods*. 3 ed. Washington: American Public Health Association, 1992.
- SHERIDAN, J.J.; DOHERTY, A.; ALLEN, P.; MCDOWELL, D.A.; BLAIR, Y. S. e HARRINGTON, D. Investigations on the growth of *Listeria monocytogenes* on lamb packaged under modified atmospheres. *Food Microbiology*. v. 12, p. 259-266, 1995.
- SILVA, J.C.T. In: *Carne de frango: aumenta a demanda mundial e a produção brasileira acompanha o crescimento*. Disponível no site: [www.aviculturaindustrial.com.br](http://www.aviculturaindustrial.com.br), 2001.
- SMITH, J.O.; KHANIZADEH, S.; VAN DE VOOT, F.R.; HARDIN, R.; OORAIKUL, B. e JACKSON, E.D. Use of response surface methodology in shelf life extension studies of a bakery products. *Food Microbiology*, v. 5, p. 163-176, 1988.
- STEYN, P.S. The biosynthesis of mycotoxins. *Revue Méd. Vét.*, v. 149, p. 469-478, 1998.
- TERRA, N. N. *Apontamentos de tecnologia de carnes*. São Leopoldo: Ed. UNISINOS, 1998.
- WOLFE, S.K. (1980) Use of CO and CO<sub>2</sub>-enriched atmospheres for meats, fish and produce, citado por HOOGERWERF, S.W.; KETS, E.P.W. and DIJKSTERHUIS, *Journal Letters in Applied Microbiology*, v. 35, p. 419-422, 2002.
- VANDERZANT, C. e SPLITTSTOESSER, D. F. *Compendium os methods for the microbiological examination of foods*. 3. ed. Washington: American Public Health Association, p. 75-95, 1992.