

Avaliação da *shelf-life* de produtos à base de frango utilizados numa empresa de restauração

Pedro Miguel Martins Barraco

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Alimentar

Orientador: Professor Doutor Manuel José Pimenta Malfeito Ferreira

Coorientador: Francisco Guimarães da Costa Cunha Serra

Júri:

Presidente: Doutor Vítor Manuel Delgado Alves, Professor Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

Vogais: Doutor Manuel José Pimenta Malfeito Ferreira, Professor Auxiliar com Agregação do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

Doutora Maria Luísa Lopes de Castro e Brito, Professora Auxiliar com Agregação do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

Lisboa, 2019

AGRADECIMENTOS

Este projeto não era possível sem o contributo, ajuda e motivação de diversas pessoas. Um obrigado à Eng^a Carla Silva do Laboratório de Microbiologia do Instituto Superior de Agronomia por toda a sua disponibilidade e empenho neste projeto.

Um obrigado ao Prof. Manuel Malfeito Ferreira por me ter acolhido como aluno, e por toda a paciência, ensinamentos e ajuda nesta tese de mestrado.

Quero agradecer à Eng^a Susana Máximo Antunes pelo desafio demonstrado em estudar a verdadeira *shelf-life* dos três produtos à base de frango, evitando assim o desperdício alimentar.

Não posso deixar de agradecer à minha mãe e ao meu pai, que infelizmente não acompanhou de perto esta etapa, mas sem dúvida foram os meus pilares na realização do meu curso e todo o meu percurso pessoal.

Um obrigado à minha namorada Carolina, amigos e familiares próximos pelo apoio que sempre me deram ao longo desta etapa da vida.

Sem me esquecer da Dona Helena e Manuela do laboratório, e os estagiários Roxana e Pedro que me ajudaram nos momentos difíceis e em toda a logística que envolveu esta dissertação, o meu obrigado.

RESUMO

O presente trabalho teve como principal objetivo a avaliação da *shelf-life* de três produtos de frango processado e congelado - tiras, asas e pedaços de frango - comercializados por uma empresa de restauração. O estudo pretendeu avaliar os indicadores das fichas técnicas de cada produto, a evolução dos microrganismos em função da variação da temperatura de armazenamento e a susceptibilidade ao crescimento de microrganismos patogénicos. A conjugação destes resultados com uma análise sensorial permitiu avaliar o aumento da *shelf-life* inicial de 48 h após abertura da embalagem primária.

As análises microbiológicas aos mesófilos aeróbios totais mostraram que os produtos se mantiveram dentro das especificações, cujo o limite era 1×10^4 UFC/g, até 4 dias de incubação a 4 °C. As taxas de crescimento dos microrganismos totais em função de 3 temperaturas armazenamento (4, 12 e 25 °C), foram de $0,10 \text{ dia}^{-1} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$, nas tiras de frango; $0,14 \text{ dia}^{-1} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$, nas asas; e de $0,02 \text{ dia}^{-1} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ nos pedaços de frango.

O *challenge test* realizado nos três produtos de frango utilizou 4 microrganismos potencialmente patogénicos (*Salmonella typhimurium*, *Listeria innocua*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*) em função de três temperaturas de armazenamento (4, 8 e 12 °C). A estirpe de *L. innocua* foi o único microrganismo que apresentou crescimento em todos os produtos a 4°C, com taxas de $0,06 \text{ dia}^{-1}$ nos pedaços, $0,03 \text{ dia}^{-1}$ nas tiras e $0,17 \text{ dia}^{-1}$ nas asas de frango.

Por último, foi realizada uma avaliação sensorial de modo a perceber o impacto sensorial em cada produto com o possível aumento de *shelf-life* para 4 dias. Para tal foi realizado um teste de avaliação de atributos - cor, aparência, sabor e textura - com amostras de 2 a 4 dias de conservação. O painel de provadores preferiu as tiras de frango com 4 dias, e os pedaços e asas de frango com 3 dias de conservação. Em face da ausência de crescimento microbiano significativo durante o período em causa e à temperatura de 4°C, o factor limitante da *shelf-life* foi a apreciação sensorial dos produtos.

Em conclusão, a garantia de uma reduzida contaminação microbiana inicial dos produtos e a sua conservação a 4 °C, permitem avaliar o aumento da *shelf-life* de 2 para 4 dias nas tiras de frango e para 3 dias nos pedaços e asas de frango, com as consequentes vantagens em termos económicos e de aproveitamento dos produtos.

Palavras-chave: produtos de frango; *shelf-life*; mesófilos aeróbios totais, *challenge test*; avaliação sensorial.

ABSTRACT

The main objective of the present work was to evaluate the shelf-life of three processed chicken products - strips, wings and chicken sides - marketed by a catering company. The study aimed, in an initial phase, to evaluate all the indicators of the technical data sheets of each product, moving to a study of evolution of the mesophilic microorganisms throughout the storage time, in store conditions and then as a function of the variation of storage temperature. With these microbiological tests it was possible to evaluate the initial shelf-life of the three products, initially 48 hours after opening the primary packaging, and to study the possibility of increasing it.

The results of the microbiological tests showed that the products were kept within the specifications until 4 days of incubation at 4 °C. The growth rates of the products were determined as a function of 3 storage temperatures (4, 12 and 25°C), and a value of 0,10 day⁻¹°C⁻¹ was obtained in the chicken strips; in the wings 0,14 day⁻¹°C⁻¹ and in the sides 0,02 day⁻¹°C⁻¹.

A challenge test was performed on the three chicken products to analyze the behavior of four pathogenic microorganisms - *Salmonella typhimurium*, *Listeria innocua*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus* - in each product as a function of three storage temperatures (4, 8 and 12 ° C). The *L. innocua* strain was the only microorganism that showed growth in all products at 4°C, with rates of 0,06 day⁻¹ in sides, 0,03 day⁻¹ in strips and 0,17 day⁻¹ on chicken wings.

Finally, a sensorial test was performed, in order to perceive the sensorial impact in each product with the possible increase of shelf-life for 4 days. For this, an attribute evaluation test was performed - color, appearance, flavor and texture - with samples from 2 to 4 days of storage. The panel of tasters preferred the strips of chicken with 4 days, and the pieces and wings of chicken with 3 days of conservation.

In conclusion, the tests allowed to increase the shelf-life from 2 to 4 days in the strips of chicken and 3 days in the pieces and wings of chicken, with the consequent advantages in economic terms and of utilization of the products.

Keywords: chicken products; *shelf-life*; mesophilic microorganisms; challenge test; sensorial test

EXTENDED ABSTRACT

Chicken products are highly perishable products. Depending on the degree of processing following slaughter, their spoilage varies between 4 and 10 days under refrigeration (Marenzi, 1986). In the last decade, chicken-based meat products have become increasingly popular worldwide due to their high nutritional quality and low cost and are available as either fresh or precooked chicken and/or microbiological products, which after subsequent packaging are usually stored under refrigeration (Barbut, 2002). Additionally, frozen chicken-based meat products also available on the market include specialities such as: nuggets, meatballs, hamburgers and frankfurters (Patsias, *et al.* 2006).

Susceptibility of chicken meat and chicken-based meat products to microbial spoilage presents a potential health hazard, since poultry meat may harbor pathogenic microorganisms (Geornaras, *et al.*, 1998).

The two most important quality attributes for poultry meat are its appearance and texture, and the quality grade is a composite evaluation of factors that affect the meat palatability (tenderness, juiciness and flavour) (Livingston, *et al.*, 1981).

The shelf-life is the period of time that corresponds, in appropriate storage conditions, to a tolerable decrease in the quality of packaged food (UNI 10534, 1995). This definition, generally used to describe the durability of product, emphasizes the commercial significance of the term. In fact, the shelf life a product does not necessarily relate to its real life that ends with the loss of the hygienic and/or nutritional properties, but generally corresponds to the end of its marketability in terms of unacceptable worsening of its peculiar physical and sensory features (Piergiovanni & Limbo, 2010). The loss of these characteristics is sufficient to cause the product rejection by consumers and, consequently, the end of product marketability (Alemprese, *et al.*, 2017).

Shelf-life is an important part in food safety. Shelf-life determination is mainly based on microbiological tests with a preventive approach with the application of good hygiene and manufacturing practices and the HACCP system (Mendes, 2009).

A challenge test can be applied for determining and studying the growth of specific microorganisms, such as pathogens, which may contaminate the food due to lack of hygiene in production and handling. In this case, the selected microorganisms are inoculated and their development is monitored (Kilcast and Subramaniam, 2000).

Within this dissertation various microbiological tests were made in order to study the microbiota in three chicken products- wings; stripes and sides- the evolution of microbiota during the shelf life and the behavior of some pathogenic (*Salmonella typhimurium*, *Listeria innocua*, *E. coli*,

Staphylococcus aureus). The company requesting this study had defined 2 days of shelf life for each product after opening the primary packaging, so it was fundamental to study these products in order to maximize the shelf life and thus minimize the food waste and the economical loss for the product. company.

Sensorial tests were also performed to confirm the impact of a possible shelf-life increase of each product on the attributes- color, appearance, flavor and texture- and the panel preference as a function of the analyzed samples.

To determine the shelf-life of this chicken products, total mesophilic aerobic microbiota present was analyzed in each product stored in different temperatures. For a better analysis of the behavior of the aerobic mesophilic microorganisms the growth rates were determined. The growth rates of the products were determined as a function of 3 storage temperatures (4,12 and 25°C), and a value of 0,10 day⁻¹°C⁻¹ was obtained in the chicken strips; in the wings 0,14 day⁻¹°C⁻¹ and in the sides 0,02 day⁻¹°C⁻¹.

Regarding the challenge test at refrigeration temperatures of 4°C, in general the microorganisms in studies showed low growth rates, except for *Listeria*.

Interconnecting the results of all the microbiological tests as well as the results obtained in the sensorial test it is concluded that the chicken strips have a shelf life of 4 days, and the wings and chicken sides 3 days. Therefore this test allowed the company to achieve the intended objective, as well as minimize the economic losses with these products.

ÍNDICE GERAL

RESUMO.....	III
ABSTRACT.....	IV
1.INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Introdução Geral.....	1
1.1.1 Evolução dos hábitos alimentares.....	1
1.1.2 Sector da restauração em Portugal.....	5
1.5 Consumo de frango.....	5
1.6 Características da carne de frango.....	8
1.7 Microrganismos presentes na carne de frango.....	9
1.7.1 Mesófilos aeróbios totais.....	9
1.7.2 Bolores e leveduras.....	10
1.7.3 <i>Enterobacteriaceae</i>	10
1.7.4 <i>Salmonella spp.</i>	10
1.7.5. <i>Staphylococcus aureus</i>	11
1.7.6 <i>Listeria monocytogenes</i>	12
1.7.7 <i>Escherichia coli</i>	12
1.7.8 <i>Clostridium spp.</i>	13
1.8 Ciclo de crescimento microbiano.....	13
1.9 Conservação da carne.....	14
1.9.1 Conservação pelo frio.....	15
1.10 Estudos de shelf life.....	15
1.10.1 Conceito de shelf life.....	15
1.10.2 Fatores que influenciam a shelf life.....	17
1.10.3 Técnicas Determinação do prazo de validade.....	18
1.10.4 <i>Challenge Test</i>	20
1.11 Análise Sensorial.....	20

1.12 O papel dos consumidores	21
2. ENQUADRAMENTO E OBJETIVOS DO TRABALHO	22
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
3.1 Produtos analisados	23
3.2 Ensaio de acordo com fichas técnicas	24
3.2.1 Preparação das amostras	24
3.2.2 Quantificação de mesófilos.....	25
3.2.3 Determinação de bolores e leveduras.....	26
3.2.4 Determinação de <i>Escherichia coli</i>	26
3.2.5 Pesquisa de <i>Staphylococcus aureus</i>	27
3.2.6 Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	27
3.2.7 Determinação <i>Salmonella spp.</i>	28
3.2.8 Determinação de <i>Enterobacteriaceae</i>	29
3.2.9 Determinação de <i>Clostridium spp.</i>	29
3.3 <i>Challenge test</i>	30
3.3.1 Colheita de amostras.....	30
3.3.2 Microrganismos e preparação do inóculo.....	30
3.3.3 Preparação da amostra	31
3.3.4 <i>Staphylococcus aureus</i>	31
3.3.5 <i>Listeria innocua</i>	31
3.3.6 <i>Escherichia coli</i>	32
3.3.7 <i>Salmonella typhimurium</i>	32
3.4. Avaliação Sensorial	33
3.5. Tratamento de resultados.....	34
4. RESULTADOS	35
4.1 Avaliação dos indicadores microbiológicos nas amostras de produtos de frango processados	35
4.2 Evolução dos mesófilos totais ao longo do tempo de armazenagem em loja	36

4.3 Evolução dos mesófilos aeróbios totais em situação de abuso de temperatura	36
4.4 Evolução dos mesófilos aeróbios totais em função da temperatura de armazenagem	37
4.4.2 Asas de frango	38
4.4.3 Pedacos de frango	40
4.4.5 Taxa crescimento dos aeróbios totais em função da temperatura	41
4.4.6. Evolução crescimento de mesófilos <i>versus</i> taxa de crescimento	43
4.5 Crescimento de bactérias patogénicas em amostras de frango processado- <i>Challenge Test</i>	44
4.5.1 Contagem de inóculos	44
4.5.2 <i>Salmonella</i>	44
4.5.3 <i>Listeria</i>	46
4.5.4 <i>Staphylococcus</i>	47
4.5.5 <i>E. coli</i>	48
4.6 Avaliação Sensorial	49
5. Discussão de resultados	51
6. CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS	54
6. BIBLIOGRAFIA	56
7. ANEXOS	65
Anexo 7. 1. Formulação Produtos à base de frango	65
Anexo 7.2. Valores da Regressão Linear na evolução dos mesófilos aeróbios em tiras de frango	66
Anexo 7.3. Valores da Regressão Linear na evolução dos mesófilos aeróbios em asas de frango	67
Anexo 7.4. Valores da Regressão Linear na evolução dos mesófilos aeróbios em pedacos de frango	68
Anexo 7.5. Resultados análise sensorial em tiras de frango	69
Anexo 7.6. Resultados análise sensorial em asas de frango	71
Anexo 7.7. Resultados análise sensorial em pedacos de frango	73

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Tendências de consumo de carne (FAO, 2015).	4
Figura 1.2. Disponibilidades diárias per capita de carne (INE, 2017).	6
Figura 1.3. Disponibilidades de carne por origem (INE, 2017).	6
Figura 1.4. Produção nacional de carnes <i>versus</i> importações (INE, 2017).	7
Figura 1.5. Disponibilidades de carne por origem e por espécie (INE, 2017).	7
Figura 1.6. Disponibilidades de carne para consumo por espécie (INE, 2017).	8
Figura 1.7. Ciclo de crescimento microbiano (ResearchGate, 2018).	14
Figura 1.8. Limitações ao prazo de validade baseadas no processo de produtos e características da formulação (adaptado de Betts, 2006).	17
Figura 2.1. Produtos de frango analisados (Domino's Pizza, 2018).	23
Figura 3.1. Embalagem dos produtos de frango processado.	24
Figura 3.2. Recolha de amostras em loja.	25
Figura 3.3. Preparação das diluições (Marta, 2014).	26
Figura 3.4. Colónia de mesófilos em PCA.	26
Figura 3.5. Resultado positivo em meio de ECC Agar (Biokar, 2018).	27
Figura 3.6. Resultado positivo em meio de BPA (Biokar, 2018).	28
Figura 3.7. Resultado positivo em meio de ALOA (Biokar, 2018).	29
Figura 3.8. Resultado positivo em meio de VRBGA (Biokar, 2018).	30
Figura 3.9. Resultado positivo em meio de TSC (Biokar, 2018).	31
Figura 3.10. Resultado positivo em meio de PAB (Biokar, 2018).	33
Figura 3.11. Resultado positivo em meio de XLD Agar (Biokar, 2018).	34
Figura 3.12. Teste de Análise Sensorial em tiras de frango.	34

Figura 3.13. Organização do Teste de Análise Sensorial.	35
Figura 4.1. Evolução dos mesófilos aeróbios em amostras de tiras de frango ao longo do tempo em função da temperatura de incubação (□, 4°C; ○, 12°C; Δ, 25°C).	39
Figura 4.2. Evolução dos mesófilos aeróbios em amostras de asas de frango processado ao longo do tempo em função da temperatura de incubação (□, 4°C; ○, 12°C; Δ, 25°C).	40
Figura 4.3. Evolução dos mesófilos aeróbios em amostras de pedaços de frango processado ao longo do tempo em função da temperatura de incubação (□, 4°C ; ○, 12°C; Δ, 25°C).	42
Figura 4.4. Taxa de crescimento mesófilos aeróbios totais em função de 3 temperaturas de incubação (□, tiras de frango; ○, asas de frango; Δ, pedaços de frango).	43
Figura 4.5. Taxa de crescimento mesófilos aeróbios totais em função de 2 temperaturas de incubação (□, tiras de frango; ○, asas de frango; Δ, pedaços de frango).	44
Figura 4.6. Crescimento de <i>Salmonella</i> em amostras de frango processado ao longo do tempo em função da temperatura de incubação (□, 4°C ; ○, 8°C; Δ, 12 °C).	46
Figura 4.7. Crescimento de <i>Listeria</i> em amostras de frango processado ao longo do tempo em função da temperatura de incubação (□, 4°C ; ○, 8°C; Δ, 12 °C).	47
Figura 4.8. Taxa de crescimento <i>Listeria</i> em função de 3 temperaturas de incubação (□, pedaços de frango; ○, tiras de frango; Δ, asas de frango).	48
Figura 4.9. Crescimento de <i>Staphylococcus</i> em amostras de frango processado ao longo do tempo em função da temperatura de incubação (□, 4°C ; ○, 8°C; Δ, 12 °C).	49
Figura 4.10. Crescimento de <i>E. coli</i> em amostras de frango processado ao longo do tempo em função da temperatura de incubação (□, 4°C ; ○, 8°C; Δ, 12 °C).	50
Figura 4.11. Teste de atributos em tiras de frango.	51
Figura 4.12 Teste de atributos em asas de frango.	51
Figura 4.13. Teste de atributos em pedaços de frango.	52
Figura 4.14. Teste de preferências em produtos de frango processado.	52

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1.1 Valores nutricionais do frango cru com pele (Adaptado de INSA,2018).	8
Tabela 1.2. Mecanismos de deterioração em alimentos.	18
Tabela 3.1. Calendário de Ensaio.	25
Tabela 4.1. Quantificação dos indicadores microbiológicos em tiras de frango processado. ...	36
Tabela 4.2. Quantificação dos indicadores microbiológicos em pedaços de frango processado. ...	36
Tabela 4.3. Quantificação dos indicadores microbiológicos em asas de frango processado. ...	37
Tabela 4.4. Contagens de mesófilos aeróbios totais (UFC/g) ao longo do tempo nas amostras de frango processado conservadas a 4°C.	37
Tabela 4.5. Evolução dos mesófilos aeróbios totais (UFC/g) em situação de abuso de temperatura (25° C).	38
Tabela 4.6. Taxa de crescimento (dia ⁻¹) dos mesófilos aeróbios em amostras de tiras de frango processado ao longo do tempo em função da temperatura de incubação. ..	39
Tabela 4.7. Taxa de crescimento (dia ⁻¹) dos mesófilos aeróbios em amostras de asas de frango processado ao longo do tempo em função da temperatura de incubação.	41
Tabela 4.8. Taxa de crescimento (dia ⁻¹) dos mesófilos aeróbios em amostras de pedaços de frango processado ao longo do tempo em função da temperatura de incubação. ..	42
Tabela 4.9. Taxa de crescimento dos mesófilos aeróbios em função de 3 temperaturas de incubação em frango processado.	44
Tabela 4.13. Taxa de crescimento dos mesófilos aeróbios em função de 2 temperaturas de incubação em frango processado.	44
Tabela 4.14. Aumento de 1 log UFC/g.	45
Tabela 4.15. Concentrações bacterianas no <i>Challenge Test</i> (UFC/g).	45

Tabela 4.16. Taxa de crescimento (dia^{-1}) da <i>Salmonella</i> em amostras de frango processado ao longo do tempo em função da temperatura de incubação.	47
Tabela 4.17. Taxa de crescimento da <i>Listeria</i> em amostras de frango processado ao longo do tempo em função da temperatura de incubação.	48
Tabela 4.18. Taxa de crescimento da <i>Listeria</i> em função de 3 temperaturas de incubação em frango processado.	48
Tabela 4.19. Taxa de crescimento (dia^{-1}) da <i>Staphylococcus</i> em amostras de frango processado ao longo do tempo em função da temperatura de incubação.	49
Tabela 4.20. Taxa de crescimento (dia^{-1}) da <i>E. coli</i> em amostras de frango processado ao longo do tempo em função da temperatura de incubação.	50
Tabela 7.1 Formulação dos produtos à base de frango.	66
Tabela 7.2. Valores da Regressão Linear na evolução dos mesófilos aeróbios em amostras de tiras de frango ao longo do tempo em função da temperatura de incubação (4°C ; 12°C ; 25°C).	67
Tabela 7.3. Valores da Regressão Linear na evolução dos mesófilos aeróbios em amostras de tiras de frango ao longo do tempo em função da temperatura de incubação (4°C ; 12°C). ...	67
Tabela 7.4. Valores da Regressão na evolução dos mesófilos aeróbios em amostras de asas de frango ao longo do tempo em função da temperatura de incubação (4°C ; 12°C ; 25°C). ...	67
Tabela 7.5. Valores da Regressão na evolução dos mesófilos aeróbios em amostras de asas de frango ao longo do tempo em função da temperatura de incubação (4°C ; 12°C).	68
Tabela 7.6. Valores da Regressão Linear na evolução dos mesófilos aeróbios em amostras de pedaços de frango ao longo do tempo em função da temperatura de incubação (4°C ; 12°C ; 25°C).	68
Tabela 7.7. Valores da Regressão Linear na evolução dos mesófilos aeróbios em amostras de pedaços de frango ao longo do tempo em função da temperatura de incubação (4°C ; 12°C).	69
Tabela 7.8. Resultados do atributo cor no teste de análise sensorial em tiras de frango. ...	70

Tabela 7.9. Resultados do atributo aparência no teste de análise sensorial em tiras de frango. ... 70	
Tabela 7.10. Resultados do atributo textura no teste de análise sensorial em tiras de frango. ... 70	
Tabela 7.11. Resultados do atributo sabor no teste de análise sensorial em tiras de frango. ... 71	
Tabela 7.12. Resultados do atributo cor no teste de análise sensorial em asas de frango. ... 71	
Tabela 7.13. Resultados do atributo aparência no teste de análise sensorial em asas de frango. 72	
Tabela 7.14. Resultados do atributo textura no teste de análise sensorial em asas de frango. ... 72	
Tabela 7.15. Resultados do atributo sabor no teste de análise sensorial em asas de frango. ... 72	
Tabela 7.16. Resultados do atributo cor no teste de análise sensorial em pedaços de frango. ... 73	
Tabela 7.17. Resultados do atributo aparência no teste de análise sensorial em pedaços de frango. 73	
Tabela 7.18. Resultados do atributo textura no teste de análise sensorial em pedaços de frango. 74	
Tabela 7.2. Resultados do atributo sabor no teste de análise sensorial em pedaços de frango. ... 75	

1. INTRODUÇÃO

1.1 Introdução Geral

Cerca de um terço dos alimentos produzidos globalmente para consumo humano são desperdiçados, traduzindo-se num total de 1,3 biliões de toneladas por ano (FAO,2011).

No futuro espera-se um aumento do desperdício alimentar em virtude das preferências dos consumidores por alimentos mais perecíveis e por refeições que requerem reduzido tempo de preparação e confeção (Lundqvist *et al.*, 2008). No entanto, o desafio no futuro estará focado em garantir a conveniência, *packaging*, *shelf-life*, e diminuir o desperdício alimentar para cada alimento (Verghese *et al.*, 2013).

O desperdício alimentar não é só um problema ético e económico, mas também ambiental devido à limitação de recursos naturais (Stancu *et al.*, 2016). A extensão da shelf life dos produtos é um objetivo generalizado de maneira a corresponder à maior procura de alimentos prontos a consumir, aumentando economicamente e preservando a sustentabilidade ambiental do processamento alimentar ao longo da cadeia de abastecimento. De facto, uma maior *shelf life* reduz o desperdício alimentar, bem como o impacto ambiental e ambiental da distribuição alimentar (Spada *et al.*, 2018).

A extensão da *shelf-life* pode ser alcançada atuando a vários níveis: na formulação do produto, condições de processamento, características e funcionalidades da embalagem, e também nas condições de armazenamento durante a distribuição ou no local de venda (Nicolì, 2012).

De maneira a minimizar o desperdício alimentar, é comum o recurso a técnicas de preservação (Zhang *et al.*, 2015). Neste contexto, a utilização de processos térmicos e não térmicos ou novas formas de *packaging* de modo a prevenir o desperdício alimentar e manter a sustentabilidade do sistema alimentar têm sido alvo de estudo (Conte *et al.*, 2015; Williams and Wikstrom, 2011).

1.1.1 Evolução dos hábitos alimentares

Na sociedade da plena e baixa idade média existiam outros ofícios ligados à alimentação tais como: forneiros, moleiros, padeiros e salsicheiros. Os taberneiros foram dos ofícios que conseguiram sobreviver durante séculos às mudanças que aconteceram na sociedade europeia. Estes durante anos continuaram a oferecer aos mercadores, aos camponeses da diocese, aos familiares e servos dos grandes, aos clérigos pobres da Igreja com que se dessedentaram e satisfizeram a sua fome num espaço de encontro e convívio à mesa. Embora servisse sobretudo vinho, *cervoise* (cerveja gaulesa) ou hidromel, o taberneiro, fornecia

igualmente pão e queijo e pratos confeccionados à sua responsabilidade. Os forneiros revelaram-se indispensáveis quando ocorreu o desenvolvimento das cidades. Estes eram responsáveis por cozer pães que lhes eram trazidos em forma de massa e administrar a sua distribuição à entrada e saída do forno. Já os moleiros eram responsáveis pela moagem dos grãos (Flandrin & Montanari, 2001).

A partir da primeira metade do século XIV assistiu-se ao nascimento de novos ofícios da alimentação – novos ofícios que não dão, contudo, origem a novos produtos. Este alargamento do leque das profissões relacionadas com a alimentação deve-se a várias causas. A mais evidente é a tendência generalizada para uma especialização cada vez maior que implica que todos os ofícios de todos os setores (Jacob, 2004).

Houve uma grande evolução na panificação, destacando-se a melhoria da qualidade do pão em função do público consumidor. A qualidade média destinava-se a uma clientela mais alargada, com especial destaque para os pães trigueiros, pães escuros ou pães de rolão. Quanto ao pão integral, era habitualmente consumido pelos mais pobres (Flandrin & Montanari, 2001).

Os profissionais da alimentação tinham, na sua grande maioria, um lugar económico medíocre. Desde a idade média que todos os ofícios da alimentação eram continuamente vigiados pelas autoridades locais. A sua função era assegurar a todos os habitantes tivessem uma alimentação “boa e leal” e proporcionar-lha em quantidade suficiente (Proença, 2018).

Entre os séculos XVI e XVIII o “serviço à francesa” assumiu a sua forma clássica: sopas, entradas e prato a seguir à sopa no primeiro serviço; assado acompanhado de saladas e eventualmente por fim, a sobremesa ou fruta rematava a refeição. Já as classes mais pobres, como os camponeses continuavam a morrer à fome, e existem poucos relatos sobre a sua alimentação (Jordan, 1985).

A revolução industrial afetou a história da alimentação. Produtos como farinhas, açúcar e vinagre que eram fabricados por métodos artesanais, passando nesta fase a serem produzidos em grandes fábricas. Nesta fase apareceram produtos inovadores como o leite em pó (Moreira, 2005).

Ao longo dos tempos as preferências dos consumidores foi mudando. A expansão do café foi considerável em todo o mundo, incluindo em Inglaterra, onde por tradição se bebia chá. A cerveja é cada vez mais consumida nos países que tradicionalmente consumiam vinho, sidra ou hidromel. As antigas diferenças de comportamento chegam mesmo a inverter-se: os Alemães, que antigamente eram extraordinários consumidores de carne, estão atualmente mais virados do que os Franceses para o vegetarianismo (Flandrin & Montanari, 2001).

Contudo, a presença do *fast-food* generalizou-se no mercado mundial, em grande parte pelo sucesso da insígnia McDonald's. Este tipo de alimentação modificou os hábitos de alimentação dos habitantes onde a empresa se instalou, em grande parte devido à capacidade de adaptação que a McDonald's teve em cada mercado. Esta cadeia norte-americana oferece uma opção diversificada em cada país, comercializando menus amplamente conhecidos como o *Big Mac* e os *nuggets*, e outros exclusivos a esse mercado (Schlosser, 2012).

Durante as últimas décadas, a produção e o consumo alimentar tem mudado rapidamente. A FAO estima que *per capita* a capacidade calórica disponível era de 2196 kcal/dia em 1961 aumentou para 2870 kcal/dia em 2011 (FAO, 2015).

Na sociedade atual, altamente urbanizada, os alimentos são, na maioria das vezes, produzidos a grande distância do local onde irão ser consumidos e mesmo os alimentos perecíveis, até há pouco tempo disponíveis apenas na sua época, são exigidos pelo consumidor durante todo o ano (Labuza, 2000).

O consumidor atual é mais sofisticado e procura, cada vez mais, alimentos sensorialmente apelativos, que sejam fáceis de preparar e usar, nutricionalmente superiores e de longa duração. Simultaneamente, também são procurados alimentos com menos aditivos e conservantes e minimamente processados. Estas exigências do consumidor, aparentemente incompatíveis, requerem uma intensa otimização do processo produtivo e uma abordagem inovadora (Labuza, 2000).

O setor das frutas e vegetais está a crescer a nível global. A principal razão para o crescimento deste setor é o aumento de consumidores interessados em alimentos prontos a consumir, e o crescimento pela procura de alimentos com elevado grau de segurança alimentar (James *et al.*, 2010).

O consumo de carne e produtos cárneos tende a diminuir em países desenvolvidos, mas aumentará em países em desenvolvimento (Vranken *et al.*, 2014). A procura de carne e produtos cárneos aumentará ao longo dos anos (Figura 1.1) em virtude do aumento populacional em países em desenvolvimento, invertendo assim a tendência dos países desenvolvidos (Meade & Rosen, 2013). Esta diminuição, prevista, de consumo em economias desenvolvidas deve-se às crises de segurança alimentar recentemente sentidas neste sector, a associação da carne a problemas de saúde, problemas de sustentabilidade ambiental deste setor e a falta de qualidade de matéria-prima (Hocquette *et al.*, 2013).

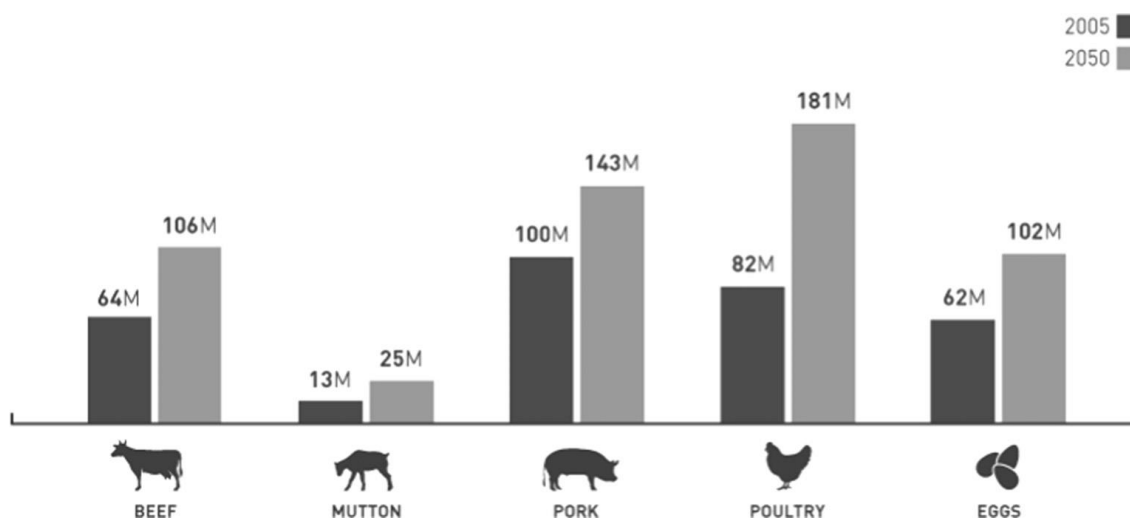


Figura 1.1. Tendências de consumo de carne (FAO,2015).

Relativamente ao consumo de peixe aumentou nas últimas 5 décadas, de 30 milhões de toneladas em 1960 para 130 milhões de toneladas em 2012 (FAO,2014). Este aumento exponencial de consumo deste tipo de matérias primas tem sido conduzido pela combinação de diversos fatores como o aumento da população mundial, mudança de hábitos de consumo, bem como o aumento de produção de aquacultura. Embora o consumo tenha aumentado ao longo destes anos, desde a década de 90 que o stock de recursos marinhos diminui (FAO, 2014).

O consumidor procura também cada vez mais uma alimentação funcional. Os alimentos funcionais são alimentos que contribuem para uma melhoria da saúde do consumidor, diminuindo os efeitos de doenças e promovem uma melhoria da qualidade de vida (Griffiths *et al.*, 2009). A procura constante por uma saúde melhor, faz estimar que o mercado dos alimentos funcionais seja avaliado em 300 biliões de dólares em 2020. A divulgação destes produtos por médicos, dietistas, e mesmo *influencers* fazem com que o consumidor procure cada vez mais este tipo de alimentos, levando à constante inovação do mercado (Santeramo *et al.*, 2018).

Com a constante inovação do mercado alimentar, em virtude da procura cada vez mais exigente pelo consumidor é necessário regular e proteger o comprador de fraudes e produtos potencialmente perigosos (Santeramo *et al.*, 2018).

A indústria alimentar tem um desafio diário, não só no que toca à produção, mas também à sustentabilidade de toda a cadeia alimentar. A indústria alimentar deve minimizar o seu

impacto ambiental, apostar na sustentabilidade do sector promovendo a economia circular e reduzir o desperdício (Santeramo *et al.*, 2018).

1.1.2 Sector da restauração em Portugal

De acordo com o Instituto Nacional de Estatística em 2016 (INE, 2018), na categoria de Restaurantes (inclui atividades de restauração em meios móveis), Fornecimento de refeições para eventos e outras atividades de serviço de refeições e nos Estabelecimentos de bebidas, havia um total de 91.318 empresas em Portugal.

Embora o sucesso a nível nacional dos restaurantes que servem comida tipicamente portuguesa, as cadeias de *fast food* são o filão da restauração. Estes tipos de cadeias têm presença massiva nos espaços de grande consumo, sobretudo em centros comerciais e centros urbanos, sustentadas por uma política de comunicação e qualidade. O aumento de área de restauração em centros comerciais- que hoje ocupa em projetos novos ou remodelados 20% no total- está a ser motivado pelo grande crescimento neste setor (Global Food & Beverage Market, 2017).

O volume de negócios do setor da restauração aumentou 2,2% em termos homólogos para 3.730 milhões de euros em 2016, confirmando a tendência de crescimento iniciada em 2014. Entre 2009 e 2013 o mercado português perdeu cerca de 30% do seu valor, devido ao corte substância do gasto das famílias e empresas e à forte concorrência em preços existentes no setor. Contudo, a partir de 2014 a tendência inverteu-se, tendo o valor de mercado registado taxas de variação positivas. O segmento da comida rápida foi o que evidenciou o desempenho mais favorável, em virtude aos seus preços competitivos e às mudanças de hábitos alimentares da população. Em 2016 as vendas deste tipo de estabelecimentos registaram um crescimento de 7,6% para 780 milhões de euros (Jornal de Negócios, 2018).

1.5 Consumo de frango

De acordo com a Balança Alimentar Portuguesa, entre 2012 e 2016, cada residente em território nacional tinha, em média, disponível para consumo 213,3 g/hab/dia (77,8 kg/hab/ano) de carne. Neste período, as quantidades totais de carne disponíveis para consumo aumentaram a um ritmo médio anual de 1,6%, atingindo 80,4 kg/hab/ano (220,3 g/hab/dia) em 2016, o que representa um acréscimo de 4,8 kg de carne por habitante (+13,2 g/hab/dia) (INE, 2017).

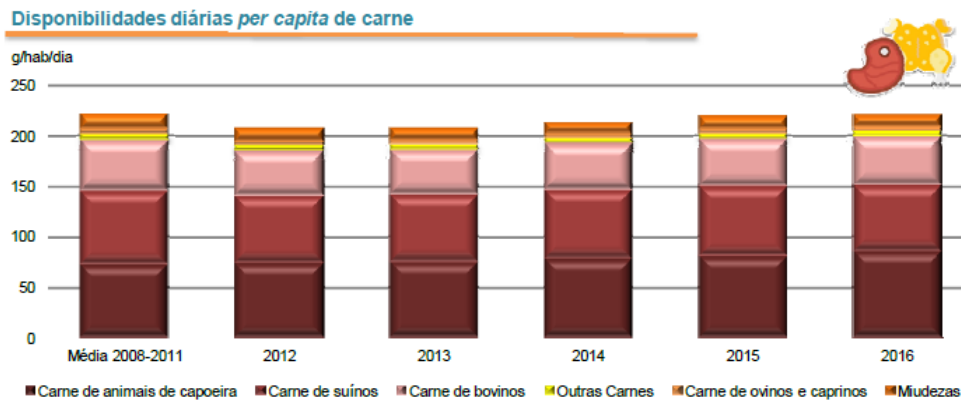


Figura 1.2. Disponibilidades diárias per capita de carne (INE, 2017).

Cerca de 71% da carne disponível para consumo, entre 2012 e 2016, proveio da produção nacional e 29% das importações de carne. Em 2012, ano em que o consumo aparente foi o mais baixo do período em análise, aumentou a importância das disponibilidades de carne provenientes da produção nacional (73,1% que compara com 72,3%, média do período de 2008-2011), em resultado do maior decréscimo das importações face ao decréscimo da produção nacional nesse ano (-2,2% versus -0,5% comparativamente a 2011). Após 2012, o consumo aparente aumentou gradualmente, numa primeira fase (2012 a 2014), suportado pelas importações (INE, 2017)

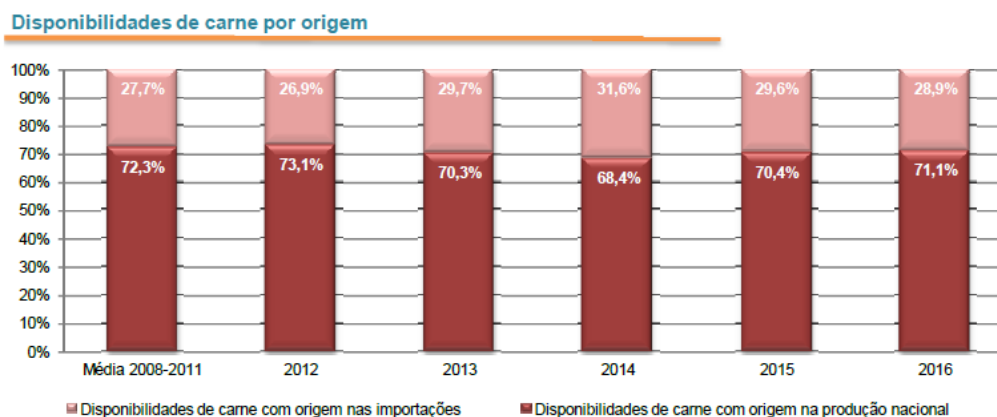


Figura 1.3. Disponibilidades de carne por origem (INE, 2017).

A análise à proveniência das disponibilidades alimentares por tipo de carne revela uma perda de importância, generalizada a todas as espécies, do peso da produção nacional no período 2012-2016, face ao período 2008-2011. A dependência do exterior variou no quinquénio 2012-2016 entre um mínimo de 17,9% para os animais de capoeira e um máximo de 52,7% para a

carne de bovino. O maior aumento estrutural das disponibilidades de carne com origem em carne com origem nas importações ocorreu na carne de animais de capoeira, com um acréscimo de 5,1 pontos percentuais, entre os períodos em comparação, ainda que as importações deste tipo de carne sejam as menos representativas (INE,2017).

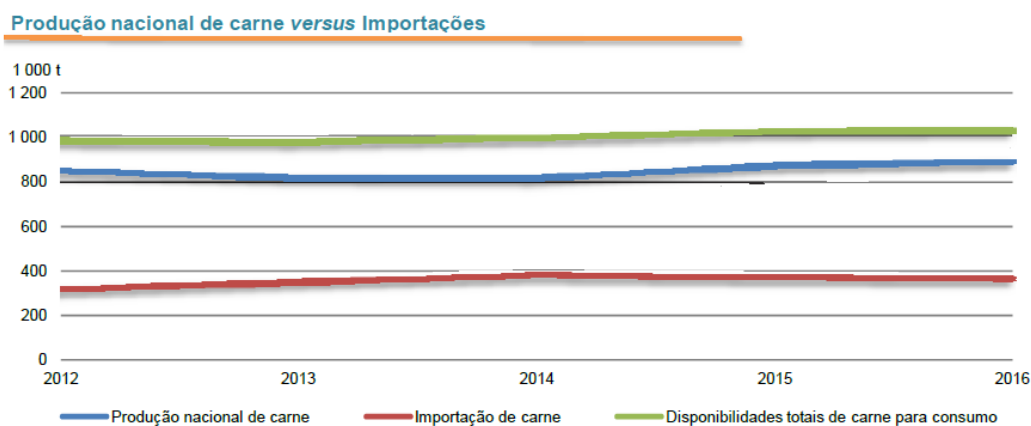


Figura 1.4. Produção nacional de carnes versus importações (INE, 2017).

Entre os dois períodos em análise realça-se o facto da carne de animais de capoeira ter passado da segunda mais importante, com 32,6% das disponibilidades médias em 2008-2011, para primeiro lugar no quinquénio 2012-2016, 36,7%, ultrapassando as disponibilidades de carne de suíno que neste período representaram 31,5% das disponibilidades médias totais (INE,2017)

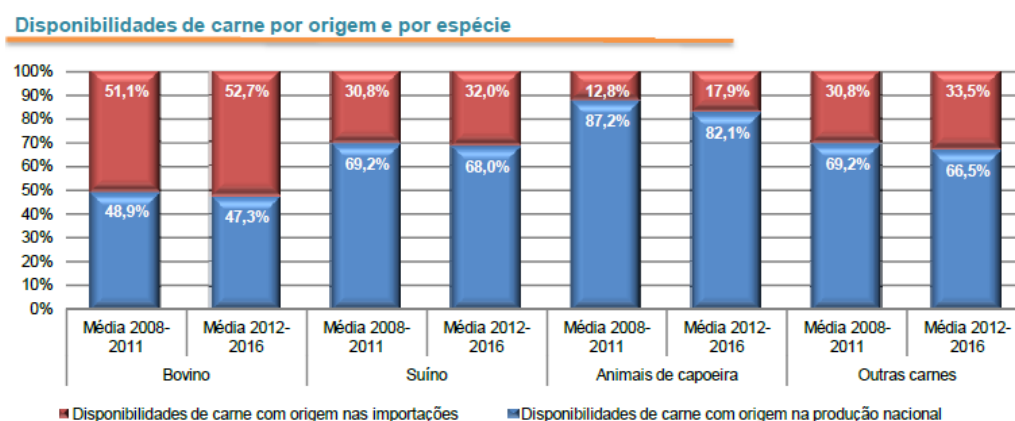


Figura 1.5. Disponibilidades de carne por origem e por espécie (INE, 2017).

No período de 2012 e 2016 verificou-se um aumento sustentado das disponibilidades de carne de animais de capoeira (+16,1%), assim como das disponibilidades da carne de bovino (+8,6%). As disponibilidades de carne de animais de capoeira fixaram-se em 2016 em 85,2 g/hab/dia (31,1 kg/hab/ano), o que se traduziu em mais 11,8 g/hab/dia face a 2012, equivalente a mais 4,3 kg/hab/ano (INE, 2017).

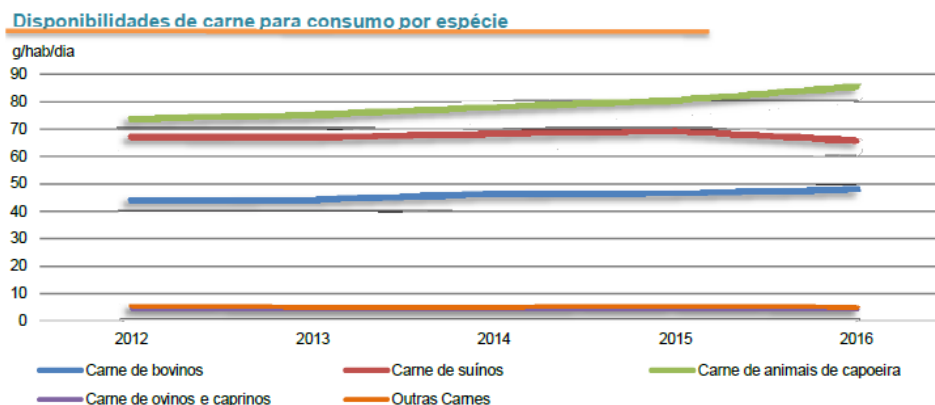


Figura 1.6. Disponibilidades de carne para consumo por espécie (INE, 2017).

1.6 Características da carne de frango

A qualidade da carne de frango é normalmente resultado de uma combinação de fatores como o aspeto visual, cheiro, firmeza, suculência, tenrura e *flavour* (Corroul, 2018). A mioglobina presente na carne de frango é responsável pelo transporte de oxigénio e também pela cor (Livingston *et al.*, 1981). Quanto maior o tamanho, atividade muscular do animal, maior o teor de mioglobina e mais escura é a carne. Outros fatores que interferem na coloração da carne são a idade, sexo e alimentação do animal (Demeyer *et al.*, 2008).

A carne de frango consiste num conjunto de uma pequena quantidade de gordura e numa grande quantidade de proteínas de alta qualidade que contêm alguns aminoácidos essenciais como o triptofano, lisina e treonina. Por isso, o consumo de carne de frango é recomendado em vez de carnes vermelhas, pois estas últimas apresentam maior quantidade de ácidos gordos saturados (De Marchi *et al.*, 2012). Comparando a carne de frango com outro tipo de carnes de talho, esta apresenta-se mais tenra, mais suculenta, com menos gordura saturada e pigmentos, logo menos vermelha (Cepero, 2002). As características nutricionais do frango crú estão descritas na Tabela 1.1.

Tabela 3.1 Valores nutricionais do frango cru com pele (Adaptado de INSA,2018).

Valores por 100g de parte edível		
Nome	Valor	Unidade
Valor Energético		
Energia	201	kcal
Energia	836	kJ
Macroconstituintes		
Lípidos	13,6	g
Ácidos gordos saturados	3,2	g
Ácidos gordos monoinsaturados	4,5	g
Ácidos gordos polinsaturados	2,8	g
Hidratos de carbono	0	g
Fibra alimentar	0	g
Proteínas	19,6	g

O odor da carne depende de inúmeros fatores. Esses fatores incluem o método de produção, processamento, raça, idade, alimentação do animal, valor de pH, presença de aminoácidos livres, condições de armazenamento (Jayasena *et al.*,2013; Pettersen, *et al.*, 2004) e dos tipos de microrganismos que crescem na superfície da carne (Franke *et al.*, 2017).

1.7 Microrganismos presentes na carne de frango

A carne fresca de frango é um produto bastante perecível, devido à sua composição biológica, pelo que o aumento do consumo deste tipo de produto leva a preocupações de segurança alimentar, *shelf life*, qualidade e defeitos sensoriais (Geomaras *et al.*, 1998).

As espécies de microrganismos presentes na carne são influenciadas pela espécie animal, o seu estado hígido, o manuseio em vida, as práticas de abate, a sanificação do espaço e do pessoal, o tipo de embalagem e o tempo e temperatura de armazenamento (Mcmillan,2008).

1.7.1 Mesófilos aeróbios totais

Os microrganismos mais pesquisados nos alimentos são a microbiota mesófila aeróbia, que fornecem a indicação da carga microbiana do alimento (Lacasse, 1995). Os mesófilos são o principal indicador de higiene geral porque exigem as mesmas condições de crescimento do que a maioria das espécies patogênicas. Uma contagem elevada de mesófilos aeróbios

remete para uma possível presença significativa de espécies patogénicas no alimento (Correia, 2015).

A contagem de microrganismos totais a 30°C permite estimar a totalidade dos microrganismos aeróbios ou aeróbios facultativos presentes num alimento, sem, contudo, especificar a que grupos mais restritos pertencem, nomeadamente as bactérias ácido-láticas, *Enterobacteriaceae*, psicotróficos, bolores e leveduras, entre outros (Mossel *et al.*, 1995).

1.7.2 Bolores e leveduras

Os fungos são microrganismos eucariotas, heterotróficos, que se dividem em bolores e leveduras, com interesse não só do ponto de vista da deterioração dos alimentos, mas também pelas utilizações industriais em que participam como agentes fermentativos (Moss, 2000).

A grande dispersão dos bolores e leveduras no ambiente justifica as suas frequentes presenças como contaminantes nos produtos alimentares, visto que estes, em virtude da sua composição, constituem um excelente meio para a fixação e reprodução de grande número de espécies fúngicas, cuja proliferação ocorre com facilidade por serem mais tolerantes a fatores extremos que limitam o desenvolvimento bacteriano, como baixos valores de A_w , pH e temperatura (Ross & Nichols, 2000).

1.7.3 *Enterobacteriaceae*

As bactérias da família *Enterobacteriaceae* podem encontrar-se em água, solo, nos intestinos dos animais, nas fezes humanas, entre outras fontes (Harrigan, 1998). Os membros desta família têm a forma de bastonete, são Gram negativas, com catálase positiva e oxidase negativa, podendo ser móveis por flagelos peritriquiais ou não apresentarem mobilidade, são anaeróbios facultativos e fermentam a glucose com produção de gás (Harrigan, 1998).

A família *Enterobacteriaceae* inclui um total de 29 géneros, dos quais *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Kluyvera*, *Proteus*, *Providencia*, *Serratia* entre outros que estão associados à deterioração da carne (García-López *et al.*, 1998).

1.7.4 *Salmonella spp.*

A *Salmonella* é uma bactéria Gram-negativa que pertence à família *Enterobacteriaceae*. As células têm a forma de bastonetes (bacilos) imóveis ou móveis por flagelos. Conhecem-se

mais de 2300 serótipos de *Salmonella* e esta diferenciação tem sido extremamente importante no controlo dos surtos (ASAE, 2018).

A *Salmonella* spp. pode crescer a temperaturas entre 5° e 47°C, sendo a sua temperatura ótima de crescimento de crescimento cerca de 37°C, sendo estas sensíveis ao calor e destruídas a temperaturas de pasteurização (Adams & Moss, 2000).

A atividade da água mínima para o crescimento de *Salmonella* é cerca de 0,93, mas sobrevivem bem em alimentos secos. O pH mínimo para o seu crescimento varia entre 4,05 e 9,3 sendo o pH ótimo de crescimento perto de 7 (Adam & Moss,2000).

1.7.5. *Staphylococcus aureus*

A *Staphylococcus aureus* é uma bactéria Gram-positiva. As células têm forma de cocos, apresentam-se frequentemente agrupados em cacho e são imóveis. Em condições favoráveis produzem toxinas- enterotoxina- hidrossolúveis e termorresistentes à pasteurização (Quali.pt, 2018).

A bactéria consegue crescer em ambientes com temperaturas entre 7 e 46°C, sendo a temperatura ótima de crescimento (temperatura à qual a taxa específica de crescimento é máxima) entre 35 e 37°C, e a produção de enterotoxina ocorre a temperaturas entre 10 e 45°C. *S. aureus* é resistente a ciclos de congelação/descongelação e sobrevive durante períodos alargados em alimentos armazenados a temperaturas inferiores a -20°C. Relativamente ao pH, a bactéria consegue crescer em valores de 4,5 a 9,3, contudo a produção de enterotoxinas ocorre entre um intervalo de pH de 5,2 e 9. *S. aureus* é reconhecida pela sua osmotolerância o que lhe permite crescer em ambientes com uma aW superior a 0,86 e com uma concentração de NaCl entre 5 e 7% (Quali.pt, 2018).

A contaminação dos alimentos por *Staphylococcus aureus* pode acontecer por via manual, pois esta bactéria habita na pele e cavidades nasais. A bactéria não é termorresistente, porém a sua toxina é, pelo que quando ingerida desencadeia um quadro de intoxicação estafilocócica. O período de incubação varia de uma a seis horas, sendo os principais sintomas: náusea, vômito, diarreia e caibras (Tortora *et al.*, 2012).

Staphylococcosis é uma doença problemática nas aves, pois as diferentes espécies de *Staphylococcus* contribuem para uma variedade de problemas de antemortem (Sams, 2001).

Um dos métodos mais apropriados para a contagem de *Staphylococcus aureus* é por plaqueamento direto em meio de *Baird-Parker* (BP).

1.7.6 *Listeria monocytogenes*

L. monocytogenes é uma bactéria gram-positiva pertencente à família *Listeriaceae*, que cresce na presença ou ausência de oxigénio (anaeróbia facultativa), catalase positiva e que se desenvolve intracelularmente. Possui a forma de pequenos bastonetes, não forma esporos e possui flagelos peritricos (Iranzo, et al., 2015). A bactéria consegue-se desenvolver em ambientes com temperaturas de 0,4 a 45°C, sobrevive por longos períodos em alimentos congelados e consegue-se multiplicar a temperaturas de refrigeração, no entanto a sua temperatura ótima de crescimento varia entre os 30 e 37°C (Di Ciccio, Meloni & Ianieri, 2015). Esta bactéria consegue crescer em ambientes com valores de pH entre 4,3 e 9,4, e apresenta uma taxa específica de crescimento máxima a valores de pH entre 6 e 8. O limite mínimo de aw que permite o seu desenvolvimento é de 0,92, e sobrevive na presença de concentrações de NaCl superiores a 10% (ASAE,2018)

L. monocytogenes é um microrganismo ubiqüitário e amplamente distribuído no ambiente. Os produtos alimentares e o Homem são também reservatórios de *L. monocytogenes*. Ao longo das últimas décadas *L. monocytogenes* tem sido isolada de uma grande variedade de ambientes, como campos de cultivo, águas residuais, pântanos, canais de rega, efluentes, animais e fezes humanas (Alvarez-Ordóñez, 2015). De um modo geral a *L. monocytogenes* multiplica-se em ambientes com elevada humidade, e onde existam resíduos de alimentos (Orsi, den Bakker & Wiedmann, 2011).

A presença de *Listeria* é avaliada de forma comum com recurso ao meio *Palcam Agar Base*, no qual se desenvolvem colónias de coloração verde azeitona com formação de um halo preto (Pereira, 2009).

1.7.7 *Escherichia coli*

E. coli é um microrganismo constantemente monitorizado nas instalações de abate de aves, pois esta é um indicador indireto de contaminação fecal (Sams, 2001). As bactérias do género *E. coli* são Gram-negativas e pertencem à família *Enterobacteriaceae*. As células têm a forma de bastonetes (bacilos) e podem ser imóveis ou móveis por flagelos (ASAE,2018)

É um microrganismo mesófilo capaz de se desenvolver de 7 a 50°C, com uma temperatura ótima de 37°C. Não é resistente a temperaturas altas, mas pode sobreviver a baixas temperaturas de refrigeração ou congelação durante longos períodos. O pH ótimo é o neutro, mas pode desenvolver-se em ambientes ácidos abaixo de 4,4. O valor mínimo de aW é 0,95. Existem várias categorias de *E. coli*, com propriedades distintas e que causam sintomas diferentes quando são ingeridos alimentos contaminados (Adam & Moss, 2008).

Para avaliar a presença de *E. coli* utiliza-se o meio cromogénico ECC Agar, pois é seletivo para uma variedade de *E. coli* e outros coliformes presentes em géneros alimentícios

1.7.8 *Clostridium* spp.

Existem mais de 200 espécies de *Clostridium* spp., sendo que 30 delas estão associadas a doenças humanas (Antimicrobe, 2018). *Clostridium* spp. é uma bactéria Gram-positiva, em forma de bastonetes, produtora de esporos e consequentemente, altamente resistente. Muitas espécies de *Clostridium* spp. produzem toxinas, como é o caso do *C. perfringens*, que pode provocar gangrena gasosa e a intoxicação alimentar no ser humano e a enterite necrótica em aves, e do *C. botulinum*, que é responsável pelo botulismo em humanos e animais (Durre, 2005).

1.8 Ciclo de crescimento microbiano

O ciclo de crescimento microbiano é composto por seis fases (Figura 1.7):

1. Fase *Lag*: Os microrganismos não estão a multiplicar-se, mas a sintetizar as enzimas apropriadas para o ambiente.
2. Fase de Aceleração: Os microrganismos estão a multiplicar-se.
3. Fase Exponencial: A população está a duplicar-se. Utilizam-se valores logarítmicos para facilitar a interpretação de resultados.
4. Fase de Desaceleração: Grande parte dos microrganismos deixa de multiplicar-se.
5. Fase Estacionária: A taxa de crescimento é igual à de morte. A morte dos microrganismos é causada pelo esgotamento de nutrientes, pela acumulação de produtos tóxicos, e outras mudanças no meio como a variação de pH.
6. Fase de Morte: O número de microrganismos a morrer é superior à taxa de crescimento. (Forsythe, 2000)

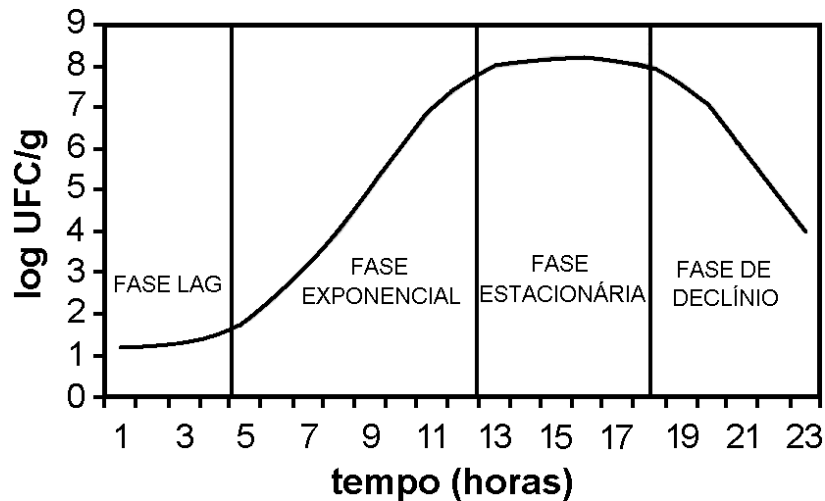


Figura 1.7. Ciclo de crescimento microbiano (Ross & Nichols, 2000).

No microbiota da carne, os mesófilos são os microrganismos de maior importância. Com temperaturas ótimas de 37°C, são de origem humana ou animal e contêm patogênicos comuns, como *Salmonella* e *Staphylococcus aureus*. Como regra, os mesófilos, a temperaturas de refrigeração, têm taxas de crescimentos baixas, logo, a deterioração é menor (Adam & Moss, 2008).

1.9 Conservação da carne

Para poder ampliar a vida útil dos alimentos, é necessário lutar contra os agentes de alteração. Este é, portanto, o primeiro objetivo da Tecnologia de Alimentos: a conservação de alimentos (Ordóñez *et al.*, 2005). As alterações microbianas e químicas são as alterações que devem ser evitadas. Para isso, é necessário manter condições assépticas, remover microrganismos por lavagem e/ou destruí-los por tratamentos térmicos, reduzir a atividade microbiana por diminuição da temperatura, reduzir o teor de água, utilizar conservantes, evitar os danos físicos, e também a decomposição química devido à atividade enzimática (Ribeiro, 1997).

Os processos responsáveis pelas alterações de origem físico-química são as reações de oxidação que causam aromas característicos e indesejáveis, assim como alterações de cor (Sahidi, 2002).

Os agentes de alteração ou deterioração da carne, em particular, podem ser de origem físico-química, como oxidações lipídicas e desnaturação proteica, ou microbiológica. Estes agentes podem resultar em diminuição da qualidade sensorial, como perdas de *flavour* e textura, e em reduções no valor nutritivo, diminuindo assim o valor comercial (Ribeiro, 1997).

A carne e os produtos cárneos são alimentos perecíveis, portanto, para a sua conservação, é necessário o uso de algum método complementar de conservação. A aplicação de baixas

temperaturas (refrigeração e congelação) têm-se usado tradicionalmente, mas é recomendável standardizar os tipos de conservação por frio, os tempos, temperaturas e condições pós-tratamento para preservar as características organoléticas e sensoriais do produto (Agrosmartcoop, 2018).

Por outro lado, o tratamento de congelação (temperaturas inferiores a -18°C) garante a inibição do crescimento microbiano, mas não as reações alteradoras, como a oxidação, que se veem retardadas, o que se repercute na qualidade final do produto. Estas reações produzem a rancidez e a alteração sensorial do produto, o que representa um problema para os consumidores, bem como para o sector da indústria cárnea em geral. Outro parâmetro que se vê afetado no processo de congelação e descongelação da carne são as perdas de água, o que se traduz em alterações na textura da carne que dão origem a uma perda de qualidade para o consumidor e perdas de peso das peças e no rendimento que afetam o sector da indústria cárnica. Portanto, estabelecer um método adequado de refrigeração e congelação será benéfico para manter a qualidade inicial da carne e garantir a qualidade final do produto (Agrosmartcoop, 2018).

1.9.1 Conservação pelo frio

O emprego de baixas temperaturas é um dos métodos mais antigo para conservar os alimentos. Embora a refrigeração e o congelação se basearem na redução da temperatura dos alimentos para prolongar o período de conservação, há grandes diferenças entre ambos.

Entende-se por refrigeração a redução e a manutenção da temperatura dos alimentos acima do seu ponto de congelação, sendo mais usuais as temperaturas compreendidas entre -1°C e 8°C . Assim, a refrigeração implica apenas a mudança no calor sensível do produto. Já a congelação supõe a redução da temperatura do alimento, abaixo do seu ponto de congelação, considerando-se que na maioria dos alimentos, a congelação inicia-se a temperaturas inferiores a 0°C . Para a conservação a longo prazo, os alimentos são congelados e mantidos a -18°C . A congelação implica eliminar o calor sensível do alimento, bem como o calor latente associado à mudança de fase correspondente à mudança da água do estado líquido para sólido (Ordoñez *et al.*, 2005)

1.10 Estudos de shelf life

1.10.1 Conceito de shelf life

De acordo com o Regulamento (CE) nº 2073/2005, os géneros alimentícios não devem conter microrganismos, nem as suas toxinas e metabolitos, em quantidades que representem um

risco inaceitável para a saúde humana. Desta maneira a vida útil dos produtos alimentares constitui uma parte integrante da segurança alimentar (Mendes, 2009).

Os consumidores são cada vez mais exigentes em termos alimentares e esperam que a qualidade dos produtos seja mantida desde o ato da compra até ao ato de consumo (Pereira, 2009).

A shelf life de um produto alimentar é um conceito que resulta da interação entre ciência, economia, regulamentação e a conveniência do consumidor (Ferreira, 2018).

Segundo o *Institute of Food Safety and Technology*, a vida útil de um produto é o período durante o qual um alimento, quando armazenado nas condições recomendadas é:

- Seguro;
- Garante as características sensoriais, químicas, físicas e microbiológicas desejáveis;
- Mantém o seu valor nutricional.

Todos os produtos alimentares vão perdendo qualidade ao longo do tempo, por isso é tão importante avaliar, testar, estabelecer e estudar o tempo de vida útil para cada alimento (Hough, 2006).

No estudo de vida útil de um alimento, além de análises microbiológicas, deverá ser também desenvolvida uma monitorização das características sensoriais do alimento. De facto, um alimento pode ser microbiologicamente seguro após algum tempo de armazenamento e ser rejeitado devido a alterações das suas propriedades sensoriais e nutricionais (Hough, 2006).

A indústria alimentar teve a necessidade de estabelecer critérios de forma a determinar o limite para o prazo de validade, que se baseiam em critérios microbiológicos (microrganismos de deterioração e patogénicos), químicos, físico-químicos e sensoriais (Kilcast e Subramaniam, 2000), pelo que é muito importante definir quais os atributos que limitam o prazo de validade (Betts, 2006) (Figura 1.8).

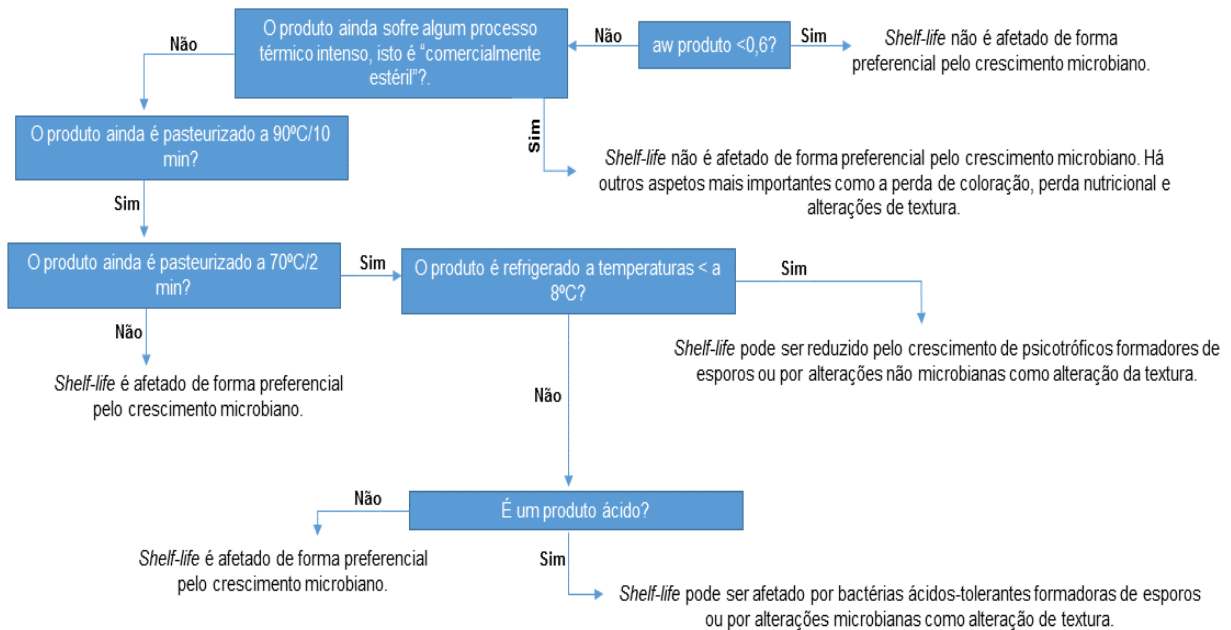


Figura 1.8. Limitações ao prazo de validade baseadas no processo de produtos e características da formulação (adaptado de Betts, 2006).

1.10.2 Fatores que influenciam a shelf life

Há diversos fatores intrínsecos e extrínsecos que influenciam a shelf life de um alimento. Os intrínsecos são as propriedades do produto final, como a atividade da água (aW), pH, potencial redox (Eh), teor nutricional, microrganismos presentes e uso de conservantes na formulação. Os fatores extrínsecos são aqueles aos quais o produto alimentar é submetido em toda a cadeia alimentar, como perfis variados de tempo/temperatura, exposição à luz, contaminação microbiana, composição da atmosfera da embalagem, tratamentos térmicos efetuados e manuseamento pelos consumidores (IFST, 1993).

Com o aumento da concorrência na indústria alimentar é fundamental para o produtor assegurar que o seu produto seja comercializado com o máximo de qualidade durante o seu período de *shelf life* definido (Man, 2000). Assim, todos os fatores anteriormente mencionados podem interagir entre si, provocando alterações no produto sendo importante investigar a probabilidade de acontecerem (FIB, 2011). A Tabela 1.2 relaciona diversos tipos de alimento com as deteriorações que limitam a *shelf-life*.

Tabela 1.2. Mecanismos de deterioração em alimentos (FIB, 2011).

Alimento	Mecanismo de deterioração	Alteração
----------	---------------------------	-----------

Carne	Oxidação	Perda de cor
	Crescimento microbiano	Rancidez Perda de <i>flavour</i>
Fruta	Quebra enzimática	Perda de estrutura
	Crescimento de fungos	Bolor visível
	Perda de humidade	Aparência seca
	Oxidação	Escurecimento
Peixe	Crescimento microbiano	Perda de <i>flavour</i>
	Reações químicas	Alterações de aparência
Queijo	Oxidação	Rancidez
	Cristalização da lactose	Textura arenosa
	Crescimento microbiano	Bolor visível

1.10.3 Técnicas Determinação do prazo de validade

Os estudos de vida útil podem ser realizados através de testes diretos ou indiretos (Costa & Kristbergsson, 2009). Os testes diretos são a forma mais comum de determinação da vida útil e baseiam-se no armazenamento dos produtos em condições semelhantes às da realidade (Man, 2002). Durante este período são observadas as alterações sofridas pelo alimento e determina-se o tempo que decorre até ao limite que o torna impróprio para o consumo (Corradini & Peleg, 2007).

No entanto, uma determinação exaustiva da vida útil raramente é possível pois algumas condições durante a distribuição e, sobretudo, condições resultantes das movimentações do consumidor são difíceis de replicar, pelo que, por vezes, os estudos são feitos em condições fixas de armazenamento. Por outro lado, também é discutível a simulação de condições extremas, já que estas são naturalmente imprevisíveis e, em teoria, podem ter infinitas combinações e alterações. Na verdade, um estudo de vida útil não consegue ser concebido de forma a cobrir todas as eventualidades (Man, 2002).

Para além destes testes diretos, a determinação da vida útil de um alimento pode seguir outros métodos indiretos, incluindo o cálculo com base em dados publicados, o uso de tempos de distribuição conhecidos para produtos similares já colocados no mercado ou até a utilização

das reclamações do consumidor como base para determinar a ocorrência de problemas. Estes métodos têm várias contra-indicações, incluindo o facto de, normalmente, os dados de análise de vida útil serem sigilosos, não existirem produtos iguais no mercado ou não existir qualquer informação/reclamação do consumidor sobre o produto em causa (Corradini & Peleg., 2007).

Hoje em dia, os fabricantes de produtos alimentares enfrentam uma grande pressão para desenvolver novos produtos em pouco tempo. Para muitos destes produtos é esperada uma vida útil de várias semanas ou meses, enquanto o tempo para testar o produto é reduzido a dias ou semanas (Hough,2006). Como resposta a estes factos têm vindo a utilizar-se testes de aceleração de vida útil, os quais se baseiam no armazenamento em condições excessivas, como temperaturas elevadas, aumentando assim a rapidez de determinação, ao mesmo tempo que é reduzido o tempo necessário para efetuar os testes. A principal desvantagem destes testes consiste na possibilidade de a estimativa de vida útil não ser correta (Costa & Kristbergsson, 2009).

Existem ainda outros métodos que podem ser utilizados para a determinação da vida útil. A microbiologia preditiva é uma área relativamente recente da investigação científica que se baseia na utilização de modelos matemáticos derivados de estudos quantitativos e permite prever o tipo, o teor e a evolução dos microrganismos potencialmente presentes em dado produto alimentar armazenado sob condições conhecidas (Nakashima *et al.*, 2000).

Os modelos matemáticos preditivos são úteis na fase inicial de desenvolvimento do produto para fornecer uma estimativa da vida útil (FSAI, 2011). De entre os benefícios da utilização da microbiologia preditiva destacam-se o auxílio na explicação do comportamento microbiano; a contribuição para o desenvolvimento dos produtos; a contribuição para a definição de prazos de validade por meio de estimativas de crescimento de microrganismos provavelmente presentes e ainda serem úteis no controlo de qualidade (Singh & Cadwallader, 2002). De qualquer modo, antes de utilizar estes modelos é necessário validá-los, em comparação com os dados sobre a sobrevivência e o crescimento em de microrganismos em produtos alimentares reais (Mendes, 2012).

Em relação à duração, o estudo de vida útil de um produto deve prolongar-se até à data limite pretendida. Durante este período devem-se realizar testes microbiológicos e, se decorrido esse tempo, os critérios ainda estiverem aceitáveis, a determinação deve continuar até que os valores obtidos na análise deixem de ser aceitáveis. O número de amostras a testar deve ser calculado com base na experiência obtida com alimentos semelhantes e através do conhecimento das propriedades intrínsecas e extrínsecas do produto alimentar. A natureza dos alimentos pode em grande medida, determinar a frequência de amostragem. Os produtos

alimentares altamente perecíveis podem exigir testes com intervalos diários, enquanto alimentos menos perecíveis podem exigir testes semanais (FSAI,2011).

Salienta-se ainda que é recomendável que ao período de vida útil determinado se acrescente uma margem de segurança, o que significa que, a vida útil de um produto alimentar será reduzida para um intervalo menor. A vida útil definida para o produto deverá ser razoável e não a ideal e as variações possíveis das características intrínsecas e extrínsecas, eventuais variações de produção, armazenamento, distribuição e utilização do produto devem ser tidas em consideração quando se aplica a margem de segurança (FSAI, 2011).

1.10.4 Challenge Test

O *challenge test* é usado para avaliar se o produto em condições de armazenamento ideais, pode-se controlar o crescimento de patogénicos, caso estes estejam presentes, durante a sua *shelf life*.

O procedimento envolve a inoculação do produto com uma concentração relevante de microrganismos, e a incubação do produto sob condições controladas de maneira a avaliar o risco da segurança alimentar ou estabilidade do mesmo (NZFSA, 2005). O *challenge test* pode ser aplicado quer a produtos novos quer a produtos já existentes, de forma a determinar a segurança do produto, determinar o potencial de deterioração do produto e avaliação de novas formulações (Betts, 2006).

A sobrevivência e o crescimento da maioria dos microrganismos são direta ou indiretamente influenciados pelas características intrínsecas e extrínsecas dos produtos alimentares. Assim, a vida útil dos produtos alimentares também é significativamente influenciada por estas características (FSAI,2011).

1.11 Avaliação Sensorial

A avaliação sensorial é primordial na determinação da vida útil de vários géneros alimentícios (Henriques, 2008).

Segundo o projeto de Norma Portuguesa 4263 (1994), podemos definir Análise Sensorial ou Exame Organolético como o “exame das características organoléticas de um produto pelos órgãos dos sentidos”, sendo, organolética definida como a qualificar “uma propriedade de um produto perceptível pelos órgãos dos sentidos”.

A Análise Sensorial permite determinar diferenças caracterizando e medindo atributos sensoriais dos produtos ou, determinar se as diferenças nos produtos são detetadas e aceites ou não pelo consumidor (Granato *et al.*, 2014). O estudo sensorial da evolução do *flavour* é uma informação fundamental, pelo que os resultados obtidos providenciam conhecimentos na qualidade e características do produto, bem como no desenvolvimento de novos produtos, estudo de preferências do consumidor e controlo de qualidade (Peing, *et al.*, 2018). Dos diversos estudos de análise sensorial estes podem ser classificados em: 1) Estudo de *flavour*, de um modo geral está relacionado com a determinação dos compostos químicos associados ao sabor e odores percebidos pelo consumidor; 2) Perfil sensorial, onde se determina características sensoriais como a doçura, mastigabilidade comparando com outros atributos; 3) testes hedónicos, em que a preferência e aceitabilidade do produto pelo consumidor é determinada (Piggot, *et al.*, 1998).

1.12 O papel dos consumidores

As autoridades nacionais são responsáveis pela fiscalização, avaliação e comunicação de risco na cadeia alimentar, cabendo às empresas a implementação das exigências regulamentares que garantam a segurança sanitária dos alimentos. Porém o consumidor é também um agente ativo da segurança dos alimentos que prepara, devendo deixar de imputar toda a responsabilidade aos outros intervenientes. A responsabilidade para a segurança sanitária dos alimentos é, portanto, partilhada (Novais, 2006; Afonso, 2008).

A partir do momento em que os géneros alimentícios são vendidos aos consumidores, existe uma combinação de variáveis a nível do armazenamento, manipulação e uso que estão fora do controlo do operador alimentar. A longo prazo, a educação dos consumidores através de instruções claras em rótulo e folhetos informativos de como o produto deve ser manuseado, armazenado e utilizado, proporcionará uma ferramenta fundamental na gestão do prazo de vida útil. De facto, a comunicação de quaisquer precauções especiais ou das condições de uso é um requisito de rotulagem. A vida útil de um produto é, portanto, um requisito importante e de interesse a qualquer nível da cadeia alimentar, inclusivamente aos consumidores, o último elo. O papel dos consumidores, nesse sentido, deve ser o de ler e respeitar instruções de uso e armazenagem recomendadas em rótulo e, não sujeitar os produtos a abusos de temperatura, principalmente nos meses mais quentes, assegurando assim a preservação da validade dos produtos alimentares a serem consumidos (Man, 2002).

2. ENQUADRAMENTO E OBJETIVOS DO TRABALHO

O trabalho desenvolvido teve como objetivo o estudo da *shelf life* de 3 produtos de frango-asas, tiras e pedaços (Figura 15) com diferentes formulações (Anexo 7.1), à venda numa cadeia de restaurantes. Devido à falta de informação relevante nas fichas técnicas de cada produto sobre a *shelf-life* após descongelação, apenas tendo em conta diretrizes internas da empresa estipulando uma *shelf-life* de 2 dias para utilização de cada produto, quando este é conservado a uma temperatura de refrigeração de 4°C. O presente trabalho permitiu o estudo a nível microbiológico e sensorial das alterações ao longo do tempo, e deste modo determinar a *shelf life* ideal de cada produto, tendo em conta um intervalo de segurança.

Durante a dissertação, a nível microbiológico foram realizados ensaios de maneira a estudar os seguintes aspetos:

- Análises microbiológicas de acordo com cada ficha técnica;
- Estudo evolutivo do comportamento dos mesófilos aeróbios ao longo do tempo;
- Comportamento de algumas bactérias potencialmente patogénicas (*Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* e *Staphylococcus aureus*) em cada produto com recurso a um *challenge test*.



Figura 2.1. Produtos de frango analisados (Domino's Pizza, 2018).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Produtos analisados

Os produtos em estudo estavam armazenados num armazém central a temperatura de congelação, -18°C , e colocados 24h em cais de expedição a temperatura de refrigeração de 4°C antes de serem expedidos para cada loja.

Os três produtos de frango processado chegam a cada loja refrigerados em embalagens de polietileno de alta densidade de 2,5 kg separadamente (Figura 3.1). Em loja, um operador prepara os produtos de frango em papel vegetal, colocando-os em doses vendáveis. Após essa preparação o operador coloca os produtos em caixas próprias dentro da câmara de refrigeração, onde permanecem a uma temperatura controlada de 4°C durante um período máximo de 2 dias após preparação. Sempre que surge um pedido, as doses já preparadas são colocadas num forno durante 8 minutos a 220°C .



Figura 3.1. Embalagem dos produtos de frango processado.

As amostras recolhidas em loja, obedeceram à NP 1828:1982, respetiva à colheita e envio de amostras para análise microbiológica. Os produtos foram sempre recolhidos quando ocorria receção de mercadoria na loja.

As embalagens dos produtos a analisar foram abertas em ambiente refrigerado, e era escolhida aleatoriamente uma amostra representativa. Os produtos eram colocados em sacos para recolha de amostras e conservados em caixa térmica até ao Laboratório de Microbiologia do Instituto Superior de Agronomia onde eram conservadas em frigoríficos a temperatura controlada em função da temperatura de ensaio.



Figura 3.2. Caixa de transporte das amostras recolhidas em loja.

Os ensaios com as amostras de produtos de frango processado foram realizados de acordo com a Tabela 3.1.

Tabela 3.1. Calendário de Ensaios.

Ensaios	Nº 1	Nº 2	Nº 3	Nº 4	Nº 5	Nº 6	Nº 7	Nº 8
Avaliação dos indicadores nas amostras de produtos de frango processado	■							
Evolução dos mesófilos ao longo do tempo de armazenagem em loja		■	■					
Evolução dos mesófilos aeróbios em situação de abuso de temperatura				■				
Evolução dos mesófilos em função da temperatura					■	■		
<i>Challenge Test</i>							■	
Avaliação Sensorial								■

3.2 Ensaios de acordo com fichas técnicas

3.2.1 Preparação das amostras

As amostras foram retiradas dos sacos de colheita de forma asséptica dentro da câmara de fluxo laminar. Para cada tipo de produto, cortaram-se 10 g de amostra para um saco *BagFilter* (Interscience, França) estéril e juntaram-se 90 mL de Triptona Sal (TS). Para a preparação do diluente TS foram dissolvidas 9,5 g de Triptona Sal (HIMEDIA Laboratories., Mumbai, India) num litro de água destilada. O diluente foi autoclavado durante 15 minutos a 121°C, sendo conservado à temperatura ambiente até à sua utilização. De seguida cada saco foi agitado no *Mastigator* (Seward, Inglaterra) durante 30 segundos. Após a agitação no *Mastigator* foram efetuadas diluições decimais, com o diluente TS de acordo com a Norma ISSO 6887-1 (1999) representado na Figura 3.3.

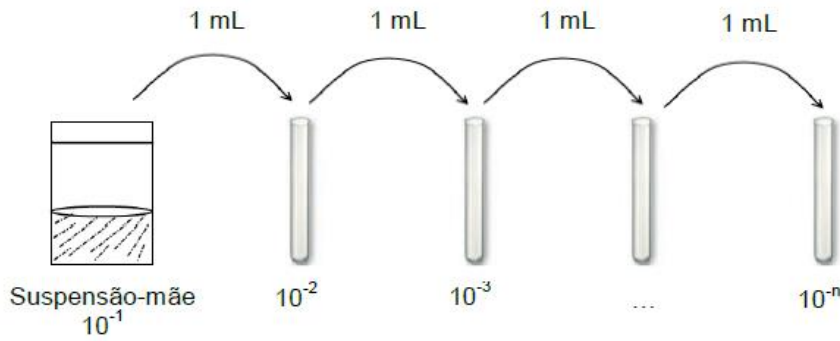


Figura 3.3. Preparação das diluições.

3.2.2 Quantificação de mesófilos

A quantificação de mesófilos foi efetuada de acordo com a ISO 4833:2003 tendo sido realizada com o meio *Plate Count Agar* (PCA). Na preparação do meio PCA foram dissolvidas 20,5 g de meio desidratado (Biokar Diagnostics, Beauvais, França) num litro de água destilada. O meio foi esterilizado no autoclave durante 15 minutos a 121°C, e colocado num banho termostático a 50°C. De seguida era distribuído uniformemente nas placas de Petri após a colocação do inóculo, sendo o procedimento realizado em duplicado. A inoculação foi realizada por incorporação de 1 mL de amostra. As colónias totais de mesófilos foram contadas ao fim de 3 dias a 30°C ± 1 °C, e os resultados expressos em UFC/g.

As colónias específicas apresentam uma coloração branca, tal como descrito na figura 3.4.

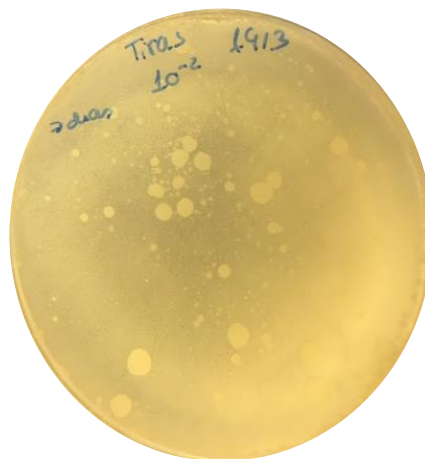


Figura 3.4. Colónias de mesófilos em PCA.

3.1.3 Determinação de bolores e leveduras

A determinação de bolores e leveduras foi realizada de acordo com a NF ISO 21527-1. Esta determinação apenas foi realizada nos pedaços de frango. A contagem foi realizada em meio de *Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol Agar* (DRBC). Para a preparação do meio DRBC dissolveu-se 30 g de meio desidratado (Biokar Diagnostics, Beauvais, França) num litro de água destilada. O meio foi lentamente aquecido, com uma agitação constante até se dissolver por completo. O meio foi esterilizado no autoclave a 121°C durante 15 minutos, e de seguida colocado em banho termostatizado a 50°C. O meio foi de seguida colocado em placas de Petri, deixando-se secar em câmara de fluxo laminar durante 15 minutos. A inoculação foi feita por espalhamento de 0,1 mL de amostra, em duplicado. As colónias de bolores e leveduras foram contadas ao fim de 5 dias a 25 °C e os resultados expressos em UFC/g.

3.1.4 Determinação de *Escherichia coli*

A determinação da *E. coli* foi realizada nos pedaços de frango, tiras de frango e asas de acordo com a norma ISO 16649-2:2001. A contagem foi realizada em meio de ECC Agar (Biokar Diagnostics, Beauvais, França). Para a preparação do meio ECC foram dissolvidas 40,8g de meio desidratado num litro de água destilada. O meio foi esterilizado no autoclave durante 15 minutos a 121°C, e posteriormente colocado em meio termostatizado a 50°C. O meio foi distribuído por placas de Petri, deixando-se secar em câmara de fluxo laminar durante 45 minutos. A inoculação foi feita por espalhamento de 0,1 mL de amostra, e em duplicado. As colónias de *E. coli* foram contadas ao fim de 24 horas a 44°C±1°C, e os resultados expressos em log UFC/g. . Um resultado positivo em meio de ECC agar traduz-se em colónias azuis (Figura 3.5).



Figura 3.5. Resultado positivo em meio ECC Agar (Biokar, 2018).

3.1.5 Pesquisa de *Staphylococcus aureus*

A determinação da *S. aureus* foi realizada nos pedaços de frango, tiras de frango e asas de acordo com a norma ISO/FDIS 6889-2:1998. A contagem foi realizada em meio de *Baird Parker Agar* (BPA) (Biokar Diagnostics, Beauvais, França). Para a preparação do meio BPA foram dissolvidas 68,9 g de meio desidratado em 950 mL de água destilada. O meio foi esterilizado no autoclave durante 15 minutos a 121°C, e de seguida colocado num banho termostatizado a 50°C. Foi adicionado um suplemento de ovo (emulsão estéril de gema de ovo com telurito 50 mL da Biokar Diagnostics, Beauvais, França) e distribuído em placas de Petri, deixando-se secar em câmara de fluxo laminar durante 45 minutos. A inoculação foi feita por espalhamento de 0,1 mL de amostra. As colónias de *Staphylococcus aureus* foram contadas ao fim de 48 horas a 37°C, e os resultados expressos em UFC/g.

Um resultado positivo em meio de BPA traduz-se num desenvolvimento de colónias características de cor preta e com formação de halos (Pereira, 2009) como exemplificado na Figura 3.6.



Figura 3.6. Resultado positivo em meio BPA (Biokar, 2018).

3.1.6 Pesquisa de *Listeria monocytogenes*

A pesquisa de *L. monocytogenes* foi realizada nos pedaços de frango e tiras de frango de acordo com a norma ISO 11290-1:2005. Foi utilizado o método de pesquisa, pelo que foram retirados 25 g de cada produto, aos quais se adicionaram 225 mL de *Half Fraser Broth* (meio de enriquecimento) e 5 mL de suplemento seletivo (Biokar Diagnostics, Beauvais, França). Para a preparação do meio de enriquecimento dissolveram-se 55 g de meio desidratado num litro de água destilada, e esterilizado em autoclave a 121 °C durante 15 minutos. As amostras com meio de enriquecimento foram colocadas em estufa de 30 °C ± 1 °C durante 24 horas. Após 24 horas, foi retirado 0,1 mL de cada amostra e colocado em tubos com 10 mL meio de *Fraser* (Biokar Diagnostics, Beauvais, França) e suplemento e incubados a 37 °C ± 1 °C durante 24 horas. No fim desse período de incubação inoculou-se por riscado 1 mL de amostra

em placas com meio de ALOA (Gélose Listeria selon Ottaviani et Agosti), e conservadas a 37 °C ± 1 °C durante 24 horas. Um resultado positivo em meio de ALOA traduz-se em colónias esverdeadas com halo, como na figura 3.7.

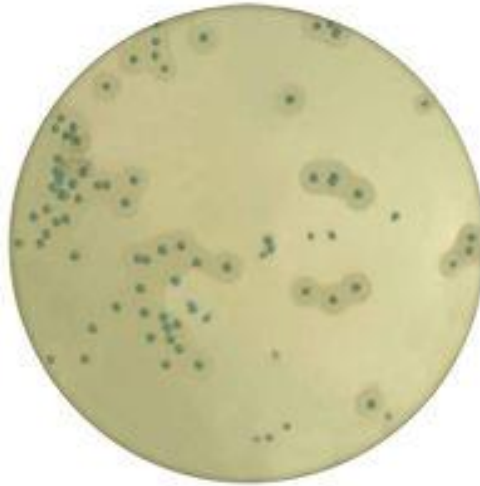


Figura 3.7. Resultado positivo em meio ALOA (Biokar, 2018).

3.1.7 Determinação *Salmonella* spp.

A determinação de *Salmonella* spp. foi realizada nos pedaços de frango, tiras de frango e asas, de acordo com a norma ISO 6579:2002. Foi utilizado o método de pesquisa, pelo que foram retirados 25 g de cada produto, aos quais se adicionaram 225 mL de água peptonada tamponada (meio de enriquecimento). Para a preparação do meio de enriquecimento dissolveram-se 25,5 g de meio desidratado (Biokar Diagnostics, Beauvais, França) num litro de água destilada, e esterilizado na autoclave a 121 °C durante 15 minutos. As amostras com meio de enriquecimento foram colocadas em estufa de 37 °C ± 1 °C durante 24 horas. Após as 24 horas foi retirado 0,1 mL de amostra e colocado em tubo com meio de enriquecimento Muller-Kauffmann Tetrathionate Novobiocin Broth (MKTT) (Biokar Diagnostics, Beauvais, França) e 1 mL de amostra colocado em tubo com meio de enriquecimento Rappaport-Vassiliadis (RAP), e incubados a 37 °C ± 1 °C durante 24 h. Para a preparação do meio de MKTT foram dissolvidos 89,4 g do preparado num litro de água destilada, e aquecido até ao ponto de ebulição, e conservado à temperatura ambiente, e adicionou-se uma solução de iodo e verde brilhante. Para a preparação do meio de RAP (Biokar Diagnostics, Beauvais, França) foram dissolvidos 26,6 g do preparado num litro de água destilada, e autoclavado a 121°C durante 20 minutos. Findas as 24h foi retirado 0,1 mL de cada tubo e fez-se inoculação por riscado em duas placas de petri, uma com meio sólido de XLD Agar, e outra com meio sólido de VBM. As placas foram incubadas a 37°C±1°C durante 24 horas. Findas as 24 horas repetiu-

se o processo, onde se retirou com uma ança parte da matéria microbiana e espalhou-se por em placas de XLD Agar e VBM.

3.1.8 Determinação de *Enterobacteriaceae*

A determinação de *Enterobacteriaceae* foi realizada em todos os produtos de acordo com a norma ISO 21528-2 (2002). A contagem foi realizada em meio de *Violet Red Bile Glucose Agar* (VRBGA) (Biokar Diagnostics, Beauvais, França). Para a preparação do meio de VRBGA foram dissolvidas 39,5 g de meio desidratado em 1 litro de água destilada. Esta preparação foi lentamente aquecida até ao ponto de ebulição, sob constante agitação. A preparação foi mantida em banho termostatizado a 50°C, e até ser distribuído pelas placas de Petri. A inoculação foi feita por incorporação de 1 mL de amostra, após a solidificação do meio as placas eram cobertas com mais uma camada de agar. As colónias de *Enterobacteriaceae* foram contadas ao fim de 24 horas a 37°C±1°C.

As colónias características em meio de VRBGA são rosa, como descritas na Figura 3.8.



Figura 3.8. Resultado positivo em meio de VRBGA (BIOKAR, 2018)

3.1.9 Determinação de *Clostridium spp.*

A determinação de *Clostridium spp.* foi realizada em pedaços de frango de acordo com a norma ISO 7937:2004. A contagem foi realizada em meio de *Tryptone-Sulfite-Cycloserine* (TSC) (Biokar Diagnostics, Beauvais, França). Para a preparação do meio de TSC foi dissolvido 42g de meio desidratado num litro de água destilada. O meio foi lentamente aquecido até ao ponto de ebulição, sobre constante agitação. O meio foi esterilizado no autoclave durante 15 minutos a 121°C, e de seguida colocado em banho termostatizado a 60°C até ser distribuído em placas de Petri inoculadas. A inoculação de 1 mL de amostra foi feita por incorporação, e as colónias de *Clostridium spp.* contadas ao fim de 24 horas a 37 °C ± 1 °C.

Em meio de Tryptone-Sulfite-Cycloserine (TSC), as colônias características têm uma coloração preta, tal como representado na Figura 3.9.



Figura 3.9. Resultado positivo em meio de TSC (BIOKAR,2018).

3.2 Challenge test

Realizou-se um *challenge test* nos três produtos à base de frango com o objetivo de estudar o crescimento/sobrevivência de diferentes microrganismos patogênicos ao longo do tempo (até 9 dias após a receção) às temperaturas de 4, 8 e 12 °C.

3.2.1 Colheita de amostras

As amostras utilizadas no *challenge test* foram colocadas em sacos BagLight (Interscience, França), recolhidas de forma asséptica e transportadas em mala térmica para o laboratório de Microbiologia do Instituto Superior de Agronomia. As amostras foram conservadas em câmaras refrigeradas a 4°, 8 e 12°C. Os ensaios com as amostras de produtos de frango foram realizados no dia 0, 2, 5, 7 e 9. No dia 0 os ensaios foram realizados imediatamente após a inoculação com os microrganismos.

3.2.2 Microrganismos e preparação do inóculo

Os microrganismos utilizados no *challenge test* foram: *Staphylococcus aureus* (ISA 3966); *Escherichia coli* (ISA 3967), *Listeria innocua* (ISA 3008) e *Salmonella typhimurium* (ISA 3969). Estes microrganismos foram riscados em placas de Gelose Tryptone-Caseine Soja (TSA) (Biokar Diagnostics, Beauvais, França), e incubados a 36°C durante 24 horas.

Para a preparação do meio de TSA foram dissolvidos 30 g de TSA para 1 litro de água destilada. O meio foi esterilizado no autoclave durante 15 minutos a 121 °C, e de seguida colocado num banho termostaticado a 50 °C. O meio foi distribuído em placas de Petri, onde

ficaram a secar em câmara de fluxo laminar durante 15 minutos, e posteriormente conservadas a 4°C.

Findas as 24 horas de incubação, cada estirpe foi colocada em meio de TSB, Trypto-Casein Soy Broth (Biokar Diagnostics, Beauvais, França). Este meio foi preparado de acordo com as instruções fornecidas na embalagem, dissolvendo 30 g de TSB em 1L de água destilada, e foi autoclavado durante 20 minutos a 121°C. O meio foi distribuído em 4 balões de Erlenmeyer, cada um com 300 mL. Assim, foi retirado com uma ança descartável uma porção de cada estirpe e inoculada no meio líquido de TSB. O meio de TSB com cada estirpe foi incubado durante 24 horas a 37°C±1°C.

De modo a confirmar a carga microbiana inicial em cada meio TSB, foram realizadas contagens em duplicado em meio de TSA. De modo agilizar o processo de preparação de amostras para o *challenge test*, juntaram-se os 4 balões de *Erlenmeyer* num único *cocktail*. As amostras foram mergulhadas no *cocktail* e conservadas novamente em sacos nas temperaturas anteriormente indicadas.

3.2.3 Preparação da amostra

Cada saco de amostra tinha 10 g de produto. Foram adicionados 90 mL de TS e de seguida eram agitados no *Mastigator*. As amostras padrão (sem inóculo) foram trabalhadas na câmara de fluxo horizontal, enquanto as amostras inoculadas com os microrganismos patogénicos foram trabalhadas na câmara de fluxo vertical de modo a proteger o operador.

3.2.4 *Staphylococcus aureus*

A contagem de *S. aureus* foi realizada em meio de *Baird-Parker Agar* (BPA). Para a preparação do meio BPA foram dissolvidas 68,9g de meio desidratado (Biokar Diagnostics, Beauvais, França) em 950 mL de água destilada. O meio foi esterilizado no autoclave durante 15 minutos a 121°C, e de seguida colocado num banho termostaticado a 50°C. Foi adicionado um suplemento de ovo (emulsão estéril de gema de ovo com telurito 50 mL da Biokar Diagnostics, Beauvais, França) e distribuído em placas de Petri, deixando-se secar em câmara de fluxo laminar durante 45 minutos. A inoculação foi feita por espalhamento de 0,1 mL de amostra. As colónias de *Staphylococcus aureus* foram contadas ao fim de 48 horas a 37°C±1°C, e os resultados expressos em UFC/g.

3.2.5 *Listeria innocua*

A contagem de *Listeria innocua* foi realizada com meio de *Palcam Agar Base* (PAB). Para a preparação do meio PAB foram dissolvidas 68,9g de meio desidratado (Biokar Diagnostics, Beauvais, França) num litro de água destilada. O meio foi esterilizado no autoclave durante 15 minutos a 121°C, e posteriormente colocado em meio termostaticado a 50°C. De seguida

foi adicionado ao meio 2 mL um suplemento seletivo (Biokar Diagnostics, Beauvais, França), e distribuído por placas de Petri, deixando-se secar em câmara de fluxo laminar durante 45 minutos. A inoculação foi feita por espalhamento de 0,1 mL de amostra. As colónias de *L. innocua* foram contadas ao fim de 24 horas a $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$, e os resultados expressos em UFC/g. Um resultado positivo *Palcam Agar Base*, desenvolve-se colónias de coloração verde azeitona com um halo preto (Pereira, 2009), como na figura 3.10.



Figura 3.10. Resultado positivo em meio PAB (Biokar, 2018).

3.2.6 *Escherichia coli*

A contagem de *E.coli* foi realizada com meio de ECC Agar. Para a preparação do meio ECC foram dissolvidas 40,8g de meio desidratado (Biokar Diagnostics, Beauvais, França) num litro de água destilada. O meio foi autoclavado durante 20 minutos a 121°C , e posteriormente colocado em meio termostaticado a 60°C . O meio foi distribuído por placas de Petri, deixando-se secar em câmara de fluxo laminar durante 45 minutos. A inoculação foi feita por espalhamento de 0,1 mL de amostra. As colónias de *E. coli* foram contadas ao fim de 24 horas a $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$, e os resultados expressos em UFC/g.

3.2.7 *Salmonella typhimurium*

A contagem de *Salmonella typhimurium* foi realizada com meio de XLD Agar. Para a preparação do meio XLD foram dissolvidas 52,9g de meio desidratado (Biokar Diagnostics, Beauvais, França) num litro de água destilada. O meio foi autoclavado durante 20 minutos a 121°C , e posteriormente colocado em meio termostaticado a 50°C . O meio foi distribuído por placas de Petri, deixando-se secar em câmara de fluxo laminar durante 45 minutos. A

inoculação foi feita por espalhamento de 0,1 mL de amostra. As colónias de *S.typhimurium* foram contadas ao fim de 24 horas a $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$, e os resultados expressos em UFC/g.

Um resultado positivo em meio de XLD Agar traduz-se em colónias pretas, como na figura 3.11.



Figura 3.11. Resultado positivo em meio XLD Agar (Biokar, 2018).

3.3. Avaliação Sensorial

A avaliação sensorial foi realizada após conclusão dos ensaios laboratoriais de modo a verificar a variabilidade sensorial dos atributos em cada produto bem como a preferência do painel em função do tempo de conservação dos produtos. O primeiro teste a realizar foi um duplo teste triangular segundo a ISO 4120, onde os produtos foram organizados em pratos com três amostras, como na figura 3.12.

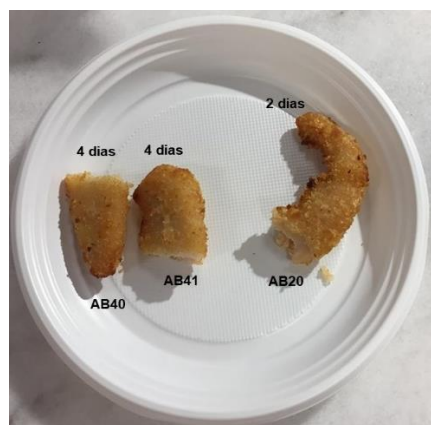


Figura 3.12. Teste de Avaliação Sensorial em tiras de frango.

Para cada produto havia dois pratos (Figura 3.13), sendo que no primeiro prato o painel comparava duas amostras com 4 dias de conservação *versus* uma amostra com 2 dias de conservação, e de seguida um prato com duas amostras com 3 dias de conservação *versus*

uma amostra com 2 dias de conservação. Os atributos avaliados em cada amostra foram: cor, aparência, textura e sabor. Após avaliarem os atributos das 6 amostras foi realizado um teste de preferência, onde o provador elegeu a sua amostra favorita.

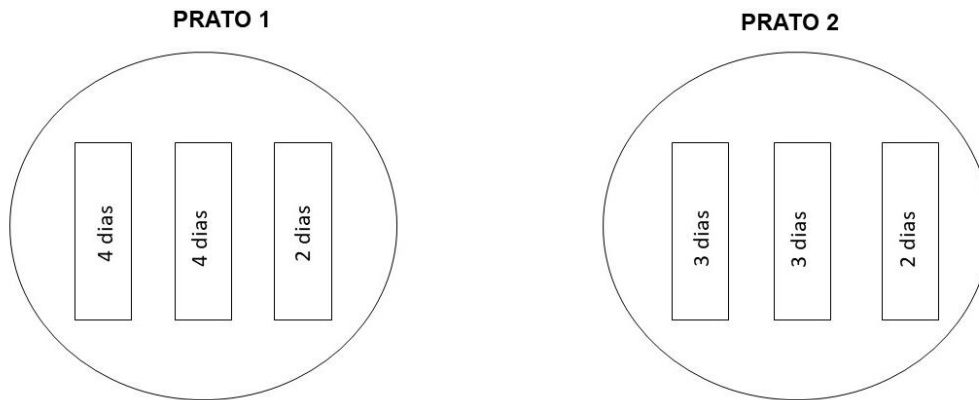


Figura 3.13. Organização Teste de Avaliação Sensorial.

3.4 Tratamento de resultados

Para o tratamento de resultados dos testes microbiológicos utilizou-se o programa Origin 6.0. Neste programa foram realizados todos os gráficos da dissertação bem como obtidas todas as regressões lineares que permitiram calcular as taxas de crescimento de cada microrganismo em função da temperatura de ensaio (Anexo 7.2 a 7.7). Os gráficos relativamente aos ensaios microbiológicos apresentam no eixo das ordenadas uma escala logarítmica. De modo a analisar os resultados da análise sensorial utilizou-se o programa também o programa Origin 6.0 onde se recorreu a uma ANOVA a dois fatores sem interação.

O cálculo da taxa de crescimento foi obtido por regressão linear ($y = ax + b$), escolhendo dois pontos que melhor exemplifiquem o crescimento microbiano, correspondendo ao parâmetro a . O cálculo do incremento correspondeu ao número de dias no qual ocorreu um aumento de 1 log UFC/g nas contagens microbianas.

4. RESULTADOS

4.1 Avaliação dos indicadores microbiológicos nas amostras de produtos de frango processados

Os diferentes produtos de frango foram analisados em relação aos principais indicadores microbiológicos usualmente usados para avaliar a qualidade e segurança microbiológica dos alimentos. Os resultados estão apresentados nas tabelas 4.1 a 4.3, em conjunto com as especificações do produtor, mostrando que todas as amostras possuíam valores de contaminação inferiores às especificações. Os ensaios foram realizados em duplicado, sendo apresentada a média de cada ensaio.

Tabela 4.1. Quantificação dos indicadores microbiológicos em tiras de frango processado.

Parâmetros	Especificação	Resultados
Mesófilos aeróbios totais	10 000 UFC/g	<10 UFC/g
Enterobacteriácias	30 UFC/g	<30 UFC/g
Coliformes totais	100 UFC/g	<10 UFC/g
<i>Staphylococcus</i> Coagulase Positivo	30 UFC/g	<30 UFC/g
<i>Escherichia coli</i>	10 UFC/g	<10 UFC/g
<i>Salmonella spp.</i>	Ausência/25g	Ausência/25g
<i>Listeria monocytogenes</i>	<10 UFC/25g	<10 UFC/25g

Tabela 4.2. Quantificação dos indicadores microbiológicos em pedaços de frango processado.

Parâmetros	Especificação	Resultados
Mesófilos aeróbios totais	10 000 UFC/g	<10 UFC/g
Coliformes e <i>E. coli</i>	10 UFC/g	<10 UFC/g
<i>Staphylococcus</i> Coagulase Positivo	10 UFC/g	<10 UFC/g
<i>Clostridium spp.</i> (esporos e formas vegetativas)	10 UFC/g	<10 UFC/g
<i>Salmonella spp.</i>	Ausência/25g	Ausência/25g
<i>Listeria monocytogenes</i>	Ausência/25g	Ausência/25g
<i>Enterococcus</i>	--	<10 UFC/g
Bolores e Leveduras	100 UFC/g	<10 UFC/g

Tabela 4.3. Quantificação dos indicadores microbiológicos em asas de frango processado.

Parâmetros	Especificação	Resultados
<i>Escherichia coli</i>	10 UFC/g	<10 UFC/g
<i>Stapylococcus</i> Coagulase Positivo	100 UFC/g	<10 UFC/g
<i>Salmonella spp.</i>	Ausência/25g	Ausência/25g
<i>Enterococcus</i>	--	<10 UFC/g

4.2 Evolução dos mesófilos totais ao longo do tempo de armazenagem em loja

Em face da ausência de microrganismos patogénicos nas amostras analisadas, a avaliação do efeito do tempo de armazenagem nas populações microbianas foi apenas realizada em relação aos mesófilos aeróbios totais. Os resultados obtidos em duplicado estão apresentados na Tabela 4.4, demonstrando que durante o período de 2 dias o crescimento foi reduzido ou inexistente, tendo em conta que as análises foram feitas em amostras diferentes em cada dia. Desta forma, o limite de 2 dias para a utilização dos produtos de frango considerado pela empresa é apropriado no que respeita à prevenção da proliferação microbiana nos produtos.

Tabela 4.4. Contagens de mesófilos aeróbios totais (UFC/g) ao longo do tempo nas amostras de frango processado conservadas a 4°C.

Amostras	Tempo (dias)		
	0	1	2
Tiras de frango	0	50	30
	5	20	50
Pedaços de frango	0	15	90
	50	5	0
Asas de frango	0	0	5
	0	280	265

4.3 Evolução dos mesófilos aeróbios totais em situação de abuso de temperatura

Os resultados anteriores não mostraram um crescimento significativo nas condições de conservação dos produtos usadas nas lojas. De forma a avaliar a capacidade de crescimentos dos contaminantes em condições não limitantes pela temperatura, as amostras de produtos de frango foram conservadas a 25°C. Os resultados apresentados na Tabela 4.5 mostraram um elevado crescimento microbiano, demonstrando a inexistência de agentes antimicrobianos que pudessem inibir a proliferação esmo em condições de abuso de temperatura. Todas as

amostras deram resultados incontáveis, tendo os valores ultrapassado as especificações das respetivas fichas técnicas.

Tabela 4.5. Evolução dos mesófilos aeróbios totais (UFC/g) em situação de abuso de temperatura (25° C).

Amostras	Dia 7	Dia 8	Dia 9
Tiras de Frango	>3,00E6	>3,00E6	>3,00E6
Pedaços de Frango	>3,00E6	>3,00E6	>3,00E6
Asas de Frango	>3,00E6	>3,00E6	>3,00E6

4.4 Evolução dos mesófilos aeróbios totais em função da temperatura de armazenagem

De modo a estudar detalhadamente a evolução do crescimento dos mesófilos aeróbios totais ao longo do tempo e de que modo estes influenciam a *shelf-life* do produto realizou-se o ensaio em cada produto de frango processado durante 10 dias, em duas semanas distintas (ensaio A e B).

4.4.1. Tiras de frango

Quanto às tiras de frango processado, os produtos oriundos de lotes diferentes apresentaram evoluções diferentes dos mesófilos aeróbios nas duas semanas de ensaio, a temperaturas similares (Figura 4.1). De acordo com a tabela 4.6, a taxa de crescimento dos mesófilos aeróbios totais no ensaio A foi 0,37 dia⁻¹, 0,92 dia⁻¹ e 2,53 dia⁻¹ a 4,12 e 25°C respetivamente. Já no ensaio B a taxa de crescimento dos mesófilos aeróbios totais foi 1,26 dia⁻¹ e 1,79 dia⁻¹, a 4 e 12°C respetivamente. A diferença das taxas de crescimento dos mesófilos aeróbios totais em tiras de frango de processado pode ser explicada pela diferença de lotes dos produtos em análise, bem como uma maior contaminação inicial dos produtos no ensaio B. A 4 °C, temperatura utilizada em cenário de loja, as tiras de frango processado revelaram um baixo crescimento microbiano, especialmente até ao dia 3 em ambos os ensaios. No ensaio A, após o terceiro dia existiu um ligeiro crescimento microbiano, sendo que até ao décimo dia de ensaio nunca se atingiu o valor limite na ficha técnica de 10⁴ UFC/g. Contudo no ensaio B, ocorreu um crescimento microbiano significativo entre o dia 5 e 7, sendo que neste último dia o valor limite da ficha técnica foi ultrapassado.

A uma temperatura de 12°C no ensaio A, as tiras de frango revelaram um baixo crescimento microbiano até ao 3º dia, iniciando-se a fase exponencial até ao fim do ensaio. Como é

observável na figura 4.1 em virtude de uma maior taxa de crescimento no ensaio B, no quinto dia de ensaio foi ultrapassado o limite da ficha técnica.

Quanto à temperatura de 25°C no ensaio A, ocorreu um crescimento exponencial nos primeiros 3 dias de ensaio, onde se atingiu uma concentração de 10⁷ UFC/g.

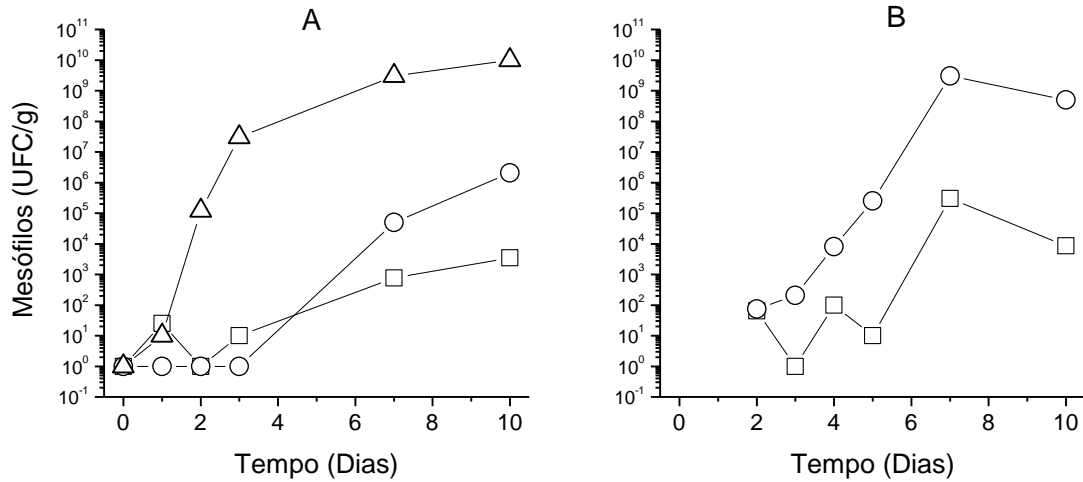


Figura 4.1. Evolução dos mesófilos aeróbios em amostras de tiras de frango ao longo do tempo em função da temperatura de incubação (□, 4°C; ○, 12°C; △, 25°C).

Tabela 4.6. Taxa de crescimento (dia⁻¹) dos mesófilos aeróbios em amostras de tiras de frango processado ao longo do tempo em função da temperatura de incubação.

Ensaio	Temperatura (°C)	Taxa de crescimento
A	4	0,37
	12	0,92
	25	2,53
B	4	1,26
	12	1,79

4.4.2 Asas de frango

No caso das asas de frango processado, as taxas de crescimentos dos mesófilos aeróbios totais também apresentaram diferenças entre os ensaios A e B (Figura 4.2). De acordo com a tabela 4.7, no ensaio A as asas de frango apresentaram taxas de crescimento de 0,89 dia⁻¹, 1,33 dia⁻¹ e 3,74 dia⁻¹ a 4, 12 e 25°C respetivamente. Já no ensaio B as taxas de crescimento

foram de $2,07 \text{ dia}^{-1}$ e $1,41 \text{ dia}^{-1}$ a 4 e 12°C respetivamente. Uma maior taxa de crescimento no ensaio B pode ter resultado de uma maior contaminação inicial do produto. Já a menor taxa de crescimento a 12°C em relação a 4°C resulta da diminuição da concentração microbiana entre o dia 4 e 5 de ensaio.

A 4°C , no ensaio A, não existiu desenvolvimento de mesófilos aeróbios totais até ao dia 2, estando assim definida a fase *lag*. A partir do dia 3, ocorreu o crescimento exponencial dos mesófilos aeróbios totais até ao dia 7. Entre o dia 7 e 10 ocorreu uma diminuição da concentração de mesófilos aeróbios totais. Já no ensaio B, onde a concentração inicial de acordo com a figura 4.2 era de 10^2 UFC/g aumentou até 10^3 UFC/g entre o dia 2 e 5. Ocorreu de seguida um aumento exponencial até ao dia 7, seguindo-se uma diminuição dessa mesma concentração até dia 10.

No ensaio A, à temperatura de 12°C , o crescimento exponencial inicia-se no dia 1 até ao dia 7. À semelhança da temperatura de 4°C , nos últimos 3 dias de ensaio existiu diminuição da concentração de microrganismos podendo ter sido a morte microbiana uma das causas. No ensaio B, atinge-se uma concentração de 10^7 UFC/g ao 4º dia, contudo ocorre uma diminuição da concentração no 5º dia, voltando de seguida a acontecer um aumento terminando o ensaio com uma concentração de 10^{10} UFC/g .

Como expetável a 25°C a concentração microbiana aumentou exponencialmente até dia 3, onde se atinge uma concentração de 10^7 UFC/g , havendo de seguida uma desaceleração da taxa de crescimento.

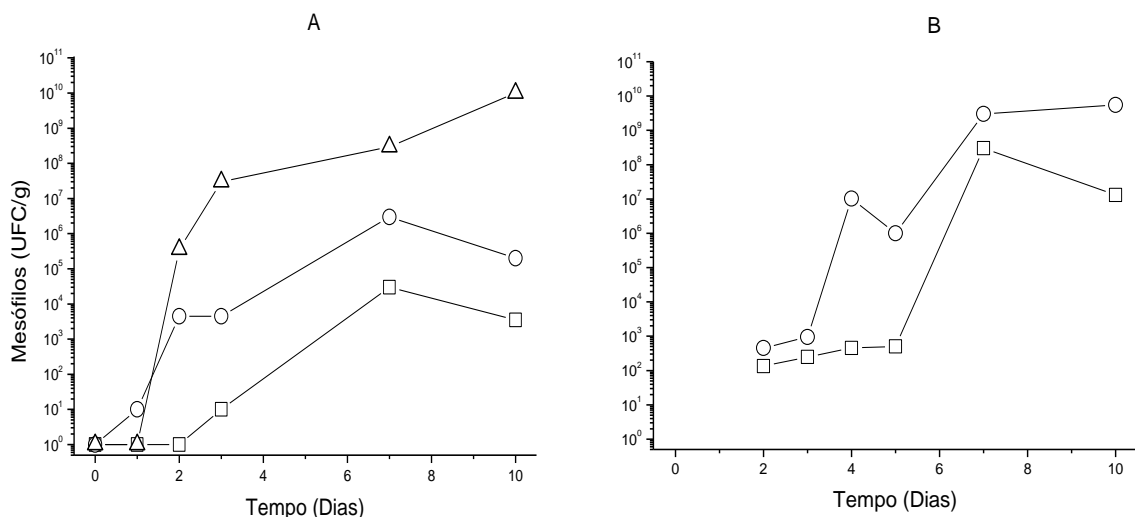


Figura 4.2. Evolução dos mesófilos aeróbios em amostras de asas de frango processado ao longo do tempo em função da temperatura de incubação (\square , 4°C ; \circ , 12°C ; Δ , 25°C).

Tabela 4.7. Taxa de crescimento (dia^{-1}) dos mesófilos aeróbios em amostras de asas de frango processado ao longo do tempo em função da temperatura de incubação.

Ensaio	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Taxa de crescimento
A	4	0,89
	12	1,33
	25	3,74
B	4	2,07
	12	1,41

4.4.3 Pedacos de frango

Nos pedaços de frango, também existiram diferenças entre o ensaio A e B (Figura 4.3). De acordo com a tabela 4.8, no ensaio A os pedaços de frango revelaram uma taxa de crescimento dos mesófilos aeróbios totais de $0,75 \text{ dia}^{-1}$, $0,93 \text{ dia}^{-1}$ e $1,18 \text{ dia}^{-1}$ a $4, 12$ e 25°C respetivamente. Já no ensaio B, só foi possível determinar a taxa de crescimento dos mesófilos a 12°C , com um valor de $0,45 \text{ dia}^{-1}$.

A 4°C no ensaio A o crescimento microbiano em pedaços de frango é pouco relevante nos primeiros 3 dias de ensaio, ocorrendo assim a fase *lag*. A fase exponencial ocorre entre o dia 3 e dia 7, sendo que perto do dia 6 o produto ultrapassa o limite de 10^4 UFC/g estipulado na ficha técnica. Entre o dia 7 e 10 ocorre uma estabilização desse crescimento. Contudo no ensaio B, não existiu qualquer desenvolvimento microbiano entre o dia 2 e 5, ocorrendo uma diminuição da concentração até ao final do ensaio.

No ensaio A, a 12°C , existe um ligeiro crescimento microbiano nos primeiros 3 dias de ensaio, decorrendo a fase exponencial entre o dia 3 e 7. No 7° dia existe um ligeiro decréscimo da concentração microbiana fruto da morte celular. Já no ensaio B, a 12°C entre o dia 2 e 3 ocorre a fase *lag*, sendo que a partir desse dia inicia-se a fase exponencial até ao dia 10. O decréscimo de concentração entre o dia 4 e 5 é irrelevante.

Como expectável, a 25°C , a fase de crescimento exponencial inicia-se logo no dia 1 perdurando até ao dia 7, dia em que ocorre uma diminuição desse crescimento.

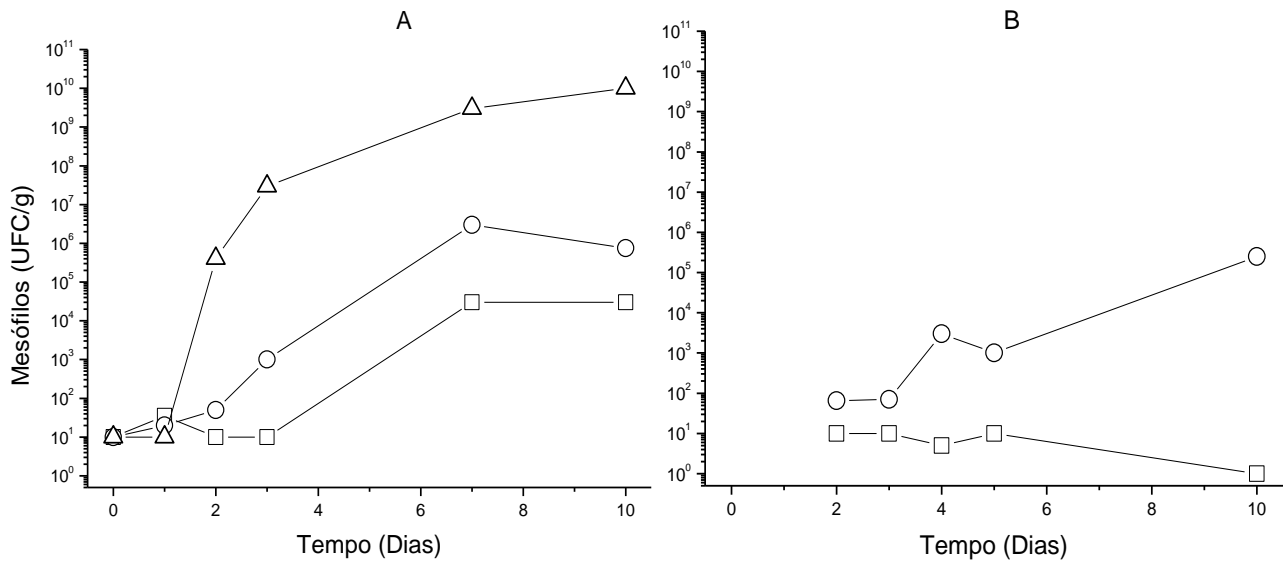


Figura 4.3. Evolução dos mesófilos aeróbios em amostras de pedaços de frango processado ao longo do tempo em função da temperatura de incubação (□, 4°C ; ○, 12°C; Δ, 25°C).

Tabela 4.8. Taxa de crescimento (dia^{-1}) dos mesófilos aeróbios em amostras de pedaços de frango processado ao longo do tempo em função da temperatura de incubação.

Ensaio	Temperatura (°C)	Taxa de crescimento
A	4	0,75
	12	0,93
	25	1,18
B	4	--
	12	0,45

4.4.5 Taxa crescimento dos aeróbios totais em função da temperatura

A análise das taxas de crescimento dos aeróbios totais em função da temperatura de incubação das amostras é fundamental para perceber a evolução deste tipo de microrganismos.

Na semana A de ensaios, através da figura 4.4 e tabela 4.9 é perceptível que as asas de frango foram o produto que revelaram um maior aumento da taxa de crescimento de mesófilos em

função da temperatura de incubação, sendo que os pedaços de frango revelam um menor aumento da taxa de crescimento de mesófilos em função da temperatura de incubação..

Porém na semana B de ensaios, pela figura 4.5 e tabela 4.10 não existe variação relevante da taxa de crescimento em função da temperatura entre os diferentes tipos de produtos.

As diferenças analisadas entre produtos, e mesmo entre ensaios devem-se a diversos fatores. As diferenças entre produtos advêm principalmente das suas diferentes formulações (Anexo 7.1), e também a contaminação inicial entre cada amostras.

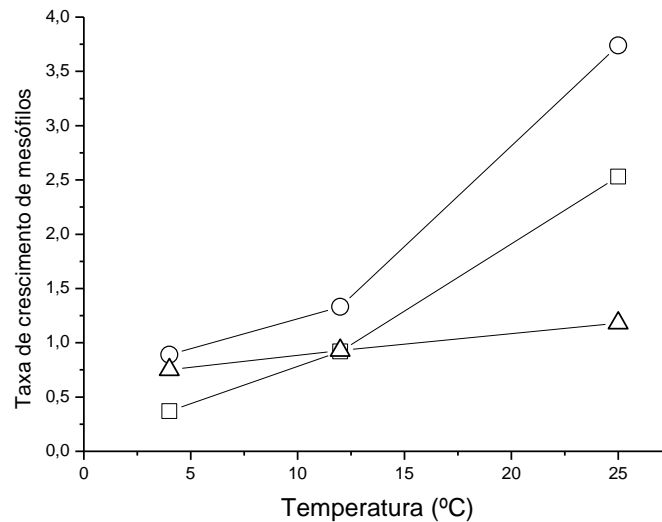


Figura 4.4. Crescimento mesófilos aeróbios totais em função de 3 temperaturas de incubação (□, tiras de frango; ○, asas de frango; △, pedaços de frango).

Tabela 4.9. Taxa de crescimento dos mesófilos aeróbios em função da temperatura de incubação em frango processado.

Tiras de frango	0,10 dia ⁻¹ °C ⁻¹
Asas de frango	0,14 dia ⁻¹ °C ⁻¹
Pedaços de frango	0,02 dia ⁻¹ °C ⁻¹

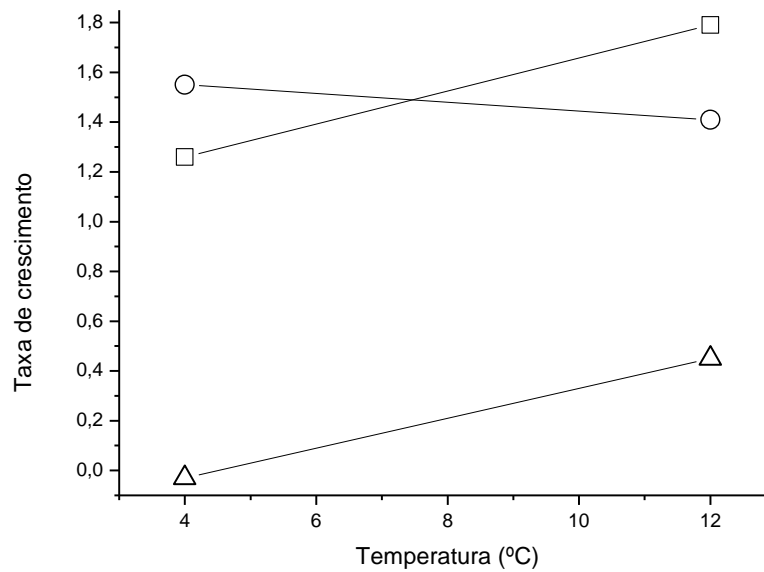


Figura 4.5. Taxa de crescimento mesófilos aeróbios totais em função de 2 temperaturas de incubação (□, tiras de frango; ○, asas de frango; △, pedaços de frango).

Tabela 4.10. Taxa de crescimento dos mesófilos aeróbios em função de 2 temperaturas de incubação em frango processado.

Tiras de frango	0,06 dia ⁻¹ °C ⁻¹
Asas de frango	--
Pedaços de frango	0,06 dia ⁻¹ °C ⁻¹

4.4.6. Evolução crescimento de mesófilos *versus* taxa de crescimento

Ao invertermos a taxa de crescimento podemos concluir ao fim de quantos dias ocorrerá um aumento de 1 logarítmico da concentração microbiana. Este estudo é crucial pois permite determinar rapidamente em função da temperatura de armazenamento do produto ao fim de quantos dias é que é atingido o limite estabelecido em ficha técnica. Na tabela 4.11 foram consideradas apenas as taxas de crescimento determinadas na semana A. Deste modo, a uma temperatura de refrigeração de 4 dias, as tiras de frango foram o produto que revelaram um maior espaçamento temporal para o aumento de 1 logarítmico da concentração microbiana. Já as asas de frango revelaram ser o produto mais propício ao desenvolvimento microbiano, sendo que ao fim de 4,5 dias o limite estipulado em ficha técnica para o parâmetro mesófilos aeróbios é ultrapassado. Mais uma vez os fatores formulação contaminação inicial, e dias selecionados para o cálculo da taxa de crescimento foram os principais influenciadores destes resultados.

Tabela 4.11. Aumento de 1 log UFC/g.

	Temperatura (°C)	Taxa de crescimento (dia ⁻¹)	Aumento de 1 log UFC/g (dias)	Limite da ficha técnica ultrapassado (dias)
Tiras de frango	4	0,37	2,70	10,8
	12	0,92	1,80	4,3
	25	2,53	0,39	1,6
Asas de frango	4	0,89	1,12	4,5
	12	1,33	0,75	3
	25	3,74	0,27	1,1
Pedacos de frango	4	0,75	1,33	5,3
	12	0,93	1,07	4,3
	25	1,18	0,84	3,4

4.5 Crescimento de bactérias patogénicas em amostras de frango processado-*Challenge Test*

4.5.1 Contagem de inóculos

As concentrações (UFC/g) de cada estirpe utilizada no *Challenge Test* encontram-se na tabela 4.12. A mistura bacteriana resultou da junção dos 4 *erlenmeyers*, cada um com a sua estirpe, num único *erlenmeyer*. A mistura bacteriana estava com uma concentração superior a 10⁸ UFC/g.

Tabela 4.12. Concentrações bacterianas no *Challenge Test* (UFC/g).

<i>Salmonella</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Listeria innocua</i>	<i>E.coli</i>	Mistura Bacteriana
8,73E8	1,10E9	5,58E8	4,38E8	4,95E8

4.5.2 *Salmonella*

Relativamente à *Salmonella* (Figura 4.6), as maiores taxas de crescimento verificaram-se a uma temperatura de incubação de 12°C em todos os produtos de frango processado (Tabela 4.13). A temperaturas de refrigeração de 4°C, a *Salmonella* revelou uma pequena taxa de crescimento de 0,11 dia⁻¹ nos pedaços de frango, e nos outros produtos não foi possível

determinar uma taxa de crescimento plausível. Assim, a uma baixa temperatura de conservação do produto a *Salmonella* não revela capacidade de se desenvolver.

A 8°C apenas foi possível determinar a taxa de crescimento da *Salmonella* em asas de frango obtendo-se um valor de 0,03 dia⁻¹. Comparativamente a uma temperatura inferior, de 4°C, este valor não parece admissível, contudo pela figura 4.6 é perceptível, nomeadamente em asas de frango, que existe uma grande diminuição da concentração de *Salmonella* entre o dia 5 e 9, o que será responsável por esta baixa taxa de crescimento.

A 12°C a *Salmonella* revelou taxas de crescimento de 0,23 dia⁻¹ em todos os produtos, onde se atingiram concentrações iguais a 10¹⁰ em tiras e asas de frango, e 10⁹ em pedaços de frango, sendo que de um modo generalizado as concentrações microbianas foram crescendo ao longo do período de teste.

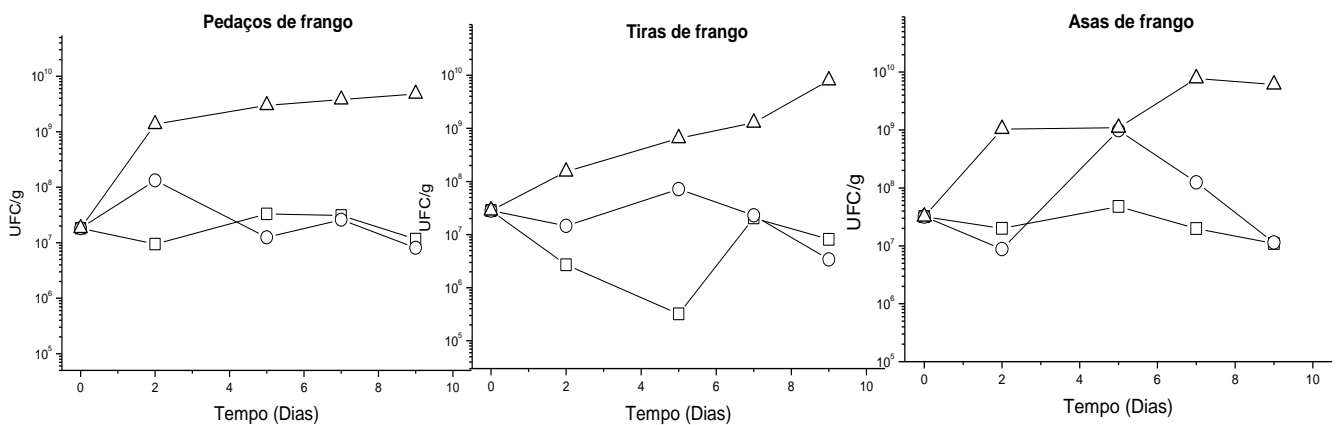


Figura 4.6. Crescimento de *Salmonella* em amostras de frango processado ao longo do tempo em função da temperatura de incubação (□, 4°C ; ○, 8°C; Δ, 12 °C).

Tabela 4.13. Taxa de crescimento (dia⁻¹) da *Salmonella* em amostras de frango processado ao longo do tempo em função da temperatura de incubação.

Amostras	Temperatura (°C)		
	4	8	12
Pedaços de frango	0,11	--	0,23
Tiras de frango	--	--	0,23
Asas de frango	--	0,03	0,23

4.5.3 *Listeria*

Em todos os produtos a *Listeria* (figura 4.7) teve a capacidade de se multiplicar a temperaturas de refrigeração de 4°C, de acordo com a tabela 4.14. Das 3 amostras estudadas, as asas de frango foram o produto que permitiram um maior desenvolvimento deste microrganismo a menor temperatura, contudo os pedaços de frango foram o produto que permitiram um maior desenvolvimento da *Listeria* a temperaturas de incubação superiores.

De acordo com a figura 4.7 em todos os produtos a uma temperatura de 4°C existe um aumento da concentração de *Listeria* ao longo dos dias, embora menos relevante em comparação às outras temperaturas. A 8°C esse aumento é mais evidente, onde durante o ensaio todos os produtos atingem uma concentração superior a 10⁹ UFC/g. A 12°C é onde se obtêm as maiores taxas de crescimento, e maiores concentrações de *Listeria*, especialmente nas asas de frango onde se ultrapassa a concentração de 10¹⁰ UFC/g.

Comparando as taxas de crescimento em função da temperatura de incubação, figura 4.8 e tabela 4.15, os pedaços de frango foram o produto que mais favoreceu o desenvolvimento deste patogénico, com um resultado de 0,05 dia⁻¹ °C⁻¹, sendo as tiras de frango o produto onde este microrganismo menos se desenvolveu em função da temperatura de ensaio, com um valor de 0,02 dia⁻¹ °C⁻¹.

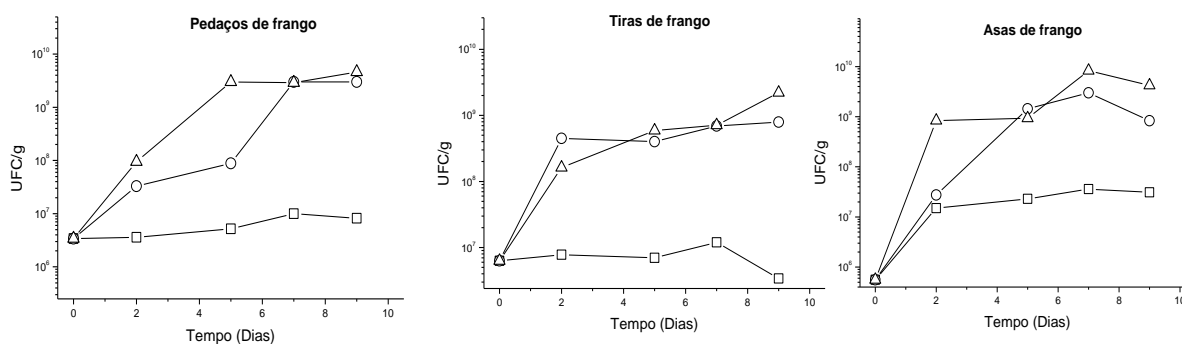


Figura 4.7. Crescimento de *Listeria* em amostras de frango processado ao longo do tempo em função da temperatura de incubação (□, 4°C ; ○, 8°C; Δ, 12°C).

Tabela 4.14. Taxa de crescimento (dia⁻¹) da *Listeria* em amostras de frango processado ao longo do tempo em função da temperatura de incubação.

Amostras	Temperatura (°C)		
	4	8	12°C
Pedaços de frango	0,06	0,37	0,43
Tiras de frango	0,03	0,19	0,25

Asas de frango 0,17 0,37 0,38

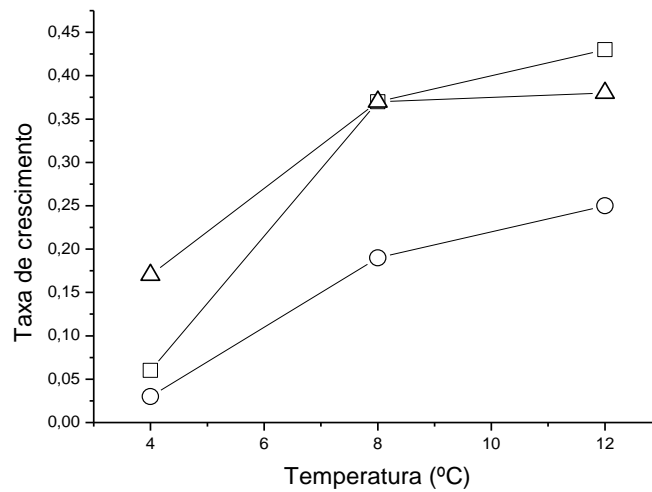


Figura 4.8. Taxa de crescimento *Listeria* em função de 3 temperaturas de incubação (□, pedaços de frango; ○, tiras de frango; △, asas de frango).

Tabela 4.15. Taxa de crescimento da *Listeria* em função da temperatura de incubação em frango processado.

Pedaços de frango	0,05 dia ⁻¹ °C ⁻¹
Tiras de frango	0,02 dia ⁻¹ °C ⁻¹
Asas de frango	0,03 dia ⁻¹ °C ⁻¹

4.5.4 *Staphylococcus*

Relativamente ao *challenge test* com *Staphylococcus*, figura 4.9, esta bactéria não teve qualquer desenvolvimento a uma temperatura de refrigeração de 4°C em todos os produtos. Como é perceptível existe uma diminuição da concentração de deste patogénico ao longo do ensaio a 4°C. Já a 8°C existe um aumento da concentração de *Staphylococcus* ao longo do tempo sendo mais evidente nas asas, onde a fase exponencial de crescimento ocorre entre o dia 2 e 7 atingindo-se uma concentração de 10⁹ UFC/g.

Pela tabela 4.16, existe um aumento da taxa de crescimento em função da temperatura, e como expetável esta é maior a temperaturas de incubação superiores. As asas de frango foram o produto que apresentaram maior taxa de crescimento de *Staphylococcus* de 0,21 dia⁻¹ e 0,29 dia⁻¹, a 8 e 12°C respetivamente.

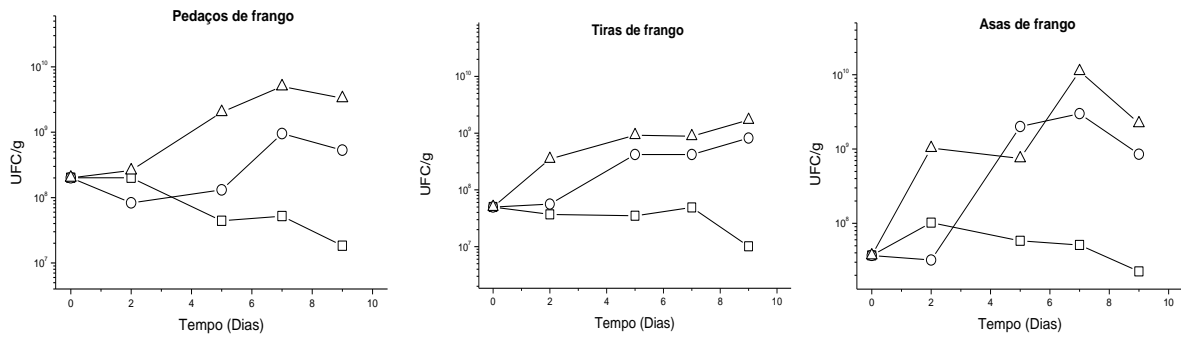


Figura 4.9. Crescimento de *Staphylococcus* em amostras de frango processado ao longo do tempo em função da temperatura de incubação (□, 4°C ; ○, 8°C; Δ, 12 °C).

Tabela 4.16. Taxa de crescimento (dia⁻¹) da *Staphylococcus* em amostras de frango processado ao longo do tempo em função da temperatura de incubação.

Amostras	Temperatura (°C)		
	4	8	12
Pedaços de frango	--	0,20	0,26
Tiras de frango	--	0,14	0,15
Asas de frango	--	0,21	0,29

4.5.5 *E. coli*

O comportamento da *E. coli*, figura 4.10, no *challenge test* foi ligeiramente diferente em relação às outras estirpes em estudo. A *E. coli* revelou baixas taxas de crescimento ou mesmo inexistentes a temperaturas de refrigeração. A 8°C a *E. coli* também não revelou capacidade de se desenvolver. Já a 12°C, onde as outras estirpes apresentaram taxas de crescimento consideráveis, a *E. coli* apresenta taxas de crescimento baixas.

Pela tabela 4.17, as taxas de crescimento de *E. coli* obtidas não são relevantes, pelo que se pode afirmar que a estirpe em estudo não revela capacidade de desenvolver às temperaturas estudadas.

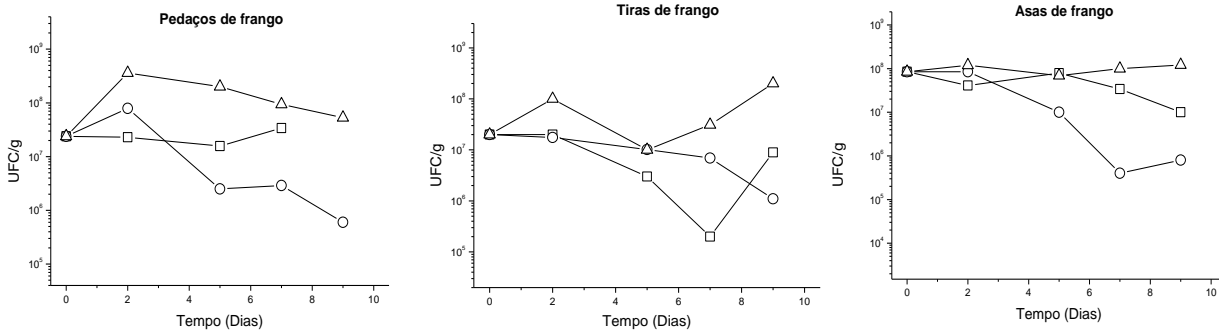


Figura 4.10. Crescimento de *E. coli* em amostras de frango processado ao longo do tempo em função da temperatura de incubação (□, 4°C ; ○, 8°C; Δ, 12 °C).

Tabela 4.17. Taxa de crescimento (log UFC dia⁻¹) da *E. coli* em amostras de frango processado ao longo do tempo em função da temperatura de incubação.

Amostras	Temperatura (°C)		
	4	8	12°C
Pedaços de frango	0,01	--	--
Tiras de frango	--	--	0,05
Asas de frango	--	--	0,008

4.6 Avaliação Sensorial

A avaliação sensorial dos produtos foi realizada por 13 pessoas em número variável de acordo com a disponibilidade para cada ensaio e a tolerância ao sabor a picante dos pedaços de frango. No teste de atributos em tiras, asas e pedaços de frango (figura 4.11, 4.12 e 4.13), atendendo ao nível de significância de 0,05, as médias de cor, aparência, textura e sabor não foram significativamente diferentes ao longo do tempo de conservação dos produtos. De um modo geral, o painel não notou diferenças significativas nos atributos avaliados nos três produtos.

Após a realização dos testes de atributos foi pedido a cada participante para escolherem a sua amostra preferida. O painel preferiu as amostras de Tiras de Frango conservadas durante 4 dias, e as amostras de Asas de Frango e Pedaços de Frango conservadas durante 3 dias (Figura 4.14). O número de provadores variou de acordo com o produto em análise, sendo que relativamente às tiras de frango o painel foi composto por 10 provadores, nas asas de frango 13 provadores e nos pedaços de frango 9 provadores. Esta diferença entre o número de provadores em cada tipo de produto pode ser explicada pela aceitabilidade do produto pelo painel, onde houve provadores que se recusaram a consumir alguns dos produtos por não serem apreciadores dos mesmos, ou pela falta de tempo para consumirem e analisarem todos

os produtos visto que o ensaio sensorial foi realizado em horário laboral. Além do mais as asas de frango são o produto comercialmente mais aceite pelos consumidores, facto que se verificou neste teste. O número de provadores foi menor nos pedaços de frango pois estes são picantes o que levou à recusa de vários intervenientes do painel. A preferência pelas tiras de frango conservadas durante 4 dias deve-se ao facto no teste de atributos o painel deu as notas mais altas em todos os atributos em comparação com os outros produtos.

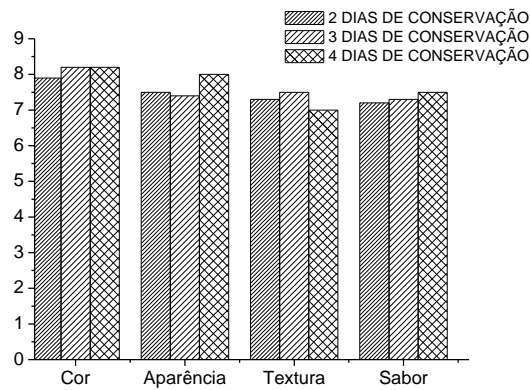


Figura 4.11. Teste de atributos em tiras de frango.

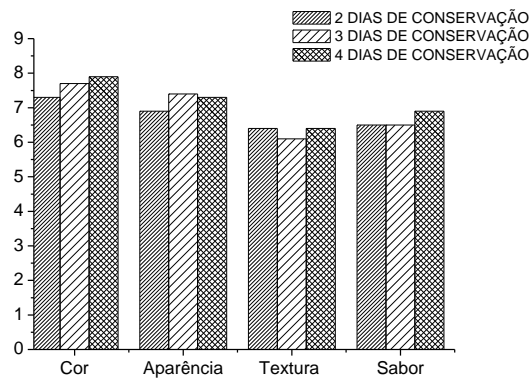


Figura 4.12 Teste de atributos em asas de frango.

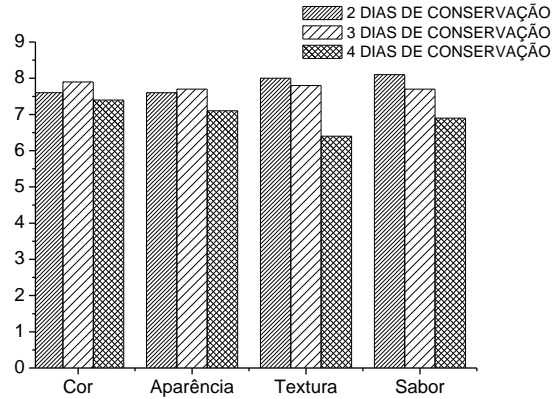


Figura 4.13. Teste de atributos em pedaços de frango.

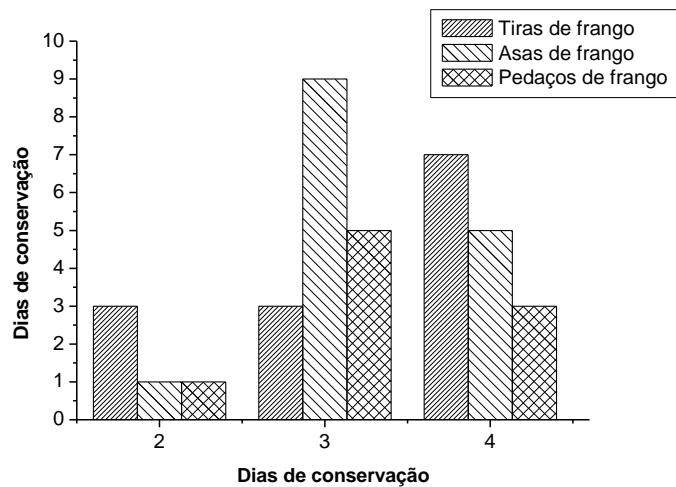


Figura 4.14. Teste de preferências em produtos de frango processado.

5. Discussão de resultados

A vida de prateleira dos produtos de frango depende principalmente da contaminação das carcaças no final do processamento, bem como a temperatura de armazenamento do produto (Mead, 1974). Shahrezaee *et al.* (2018) estudaram a *shelf life* de *nuggets* de frango. Das amostras em teste, o controlo apresentou uma contaminação inicial de mesófilos totais de $7,9 \times 10^5$ UFC/g, aumentando para $7,9 \times 10^7$ UFC/g em 6 dias à temperatura de refrigeração de 4°C. Em comparação com os resultados obtidos nesta dissertação nos diversos ensaios onde se contabilizaram os mesófilos totais nos diferentes produtos de frango existiu uma grande heterogeneidade entre resultados realizados à mesma temperatura, pois os lotes em análise foram diferentes. Contudo pode ter havido uma maior contaminação inicial entre diferentes amostras, facto que contribuiu para a heterogeneidade

de resultados. Durante a avaliação dos indicadores nas amostras de produtos não existiu qualquer crescimento significativo deste tipo de microrganismos a temperatura de refrigeração durante os 3 dias de ensaio. Por isso os resultados obtidos neste primeiro ensaio da dissertação não são comparáveis com os de Shahrezaee *et al.* (2018).

Já durante o ensaio que se focou na evolução dos mesófilos ao longo do tempo de armazenagem em loja, o crescimento microbiano foi pouco relativo na maioria dos produtos de frango, exceto nas asas de frango onde se atingiu uma contagem de 265 UFC/g no Dia 2 de conservação. Mesmo assim, este valor é bastante inferior ao valor obtido por Shahrezaee *et al.* (2018).

No estudo da evolução dos mesófilos aeróbios totais em função da temperatura de armazenagem, as asas apresentaram a maior taxa de crescimento à temperatura de refrigeração de 4°C durante a primeira semana de ensaio, apresentando um valor de 0,89 log UFC dia⁻¹, culminando num valor de 3,0x10⁴ UFC/g ao fim de 7 dias de conservação. Estes valores não estão enquadrados em Cardoso *et al.* (2005), onde em carcaças de frango foram encontrados um valor mínimo de 4x10² e 80x10² UFC/g de valor máximo durante 7 dias.

Durante o ensaio da evolução dos mesófilos totais em função da temperatura de armazenagem verificou-se mais uma vez uma larga heterogeneidade de resultados. A heterogeneidade dos resultados é refletida na diferença de taxas de crescimento obtidas nos mesmos produtos às mesmas temperaturas em ensaios diferentes entre as duas semanas de ensaio, A e B, respetivamente. Na semana B neste mesmo ensaio ao fim de 7 dias a uma temperatura de 4°C, as tiras e as asas apresentaram uma contagem final superior em relação à semana A.

De um modo geral, e baseado na Semana A de ensaios, as tiras de frango a uma temperatura de refrigeração de 4°C, até ao dia 5 de conservação revelaram um baixo crescimento microbiano, e mantiveram a concentração de mesófilos aeróbios totais abaixo do limite da ficha técnica, sendo este limite ultrapassado no dia 10 de conservação. Os pedaços de frangos apresentam um comportamento similar, sendo o limite da ficha técnica ultrapassado no dia 6 de conservação também. Já asas de frango o limite da ficha técnica foi ultrapassado no dia 5 de conservação.

Contudo é verificável que taxa de crescimento dos mesófilos aeróbios totais nos pedaços de frango processado é menor em relação aos outros produtos, devido à formulação deste produto, pois contém vinagre de malte, e este produto apresenta propriedades antimicrobianas (Budak *et al.*, 2014). Deste modo a formulação de cada produto (Anexo 7.1) é um dos fatores que influenciam a shelf life final do produto. A presença de bactérias em produtos cárneos além de favorecer a deterioração e/ou redução da vida útil desses produtos,

possibilita a veiculação de patogénicos podendo trazer riscos de saúde para o consumidor. É fundamental garantir as condições de higiene e segurança alimentar de maneira a minimizar problemas de saúde pública (Cortez, 2003).

Cardoso *et al.* (2005) descreveram que a maioria dos microrganismos que se encontram nas aves são aeróbios mesófilos, e poucos se conseguem desenvolver a temperaturas inferiores a 7°C. A contagem deste tipo de microrganismos tem sido utilizada como indicador da qualidade higiénica dos alimentos e, quando presentes em grande concentração, indicam falhas de produção. O *challenge test* realizado permitiu prever o comportamento de diversos microrganismos patogénicos nos três produtos de frango, e deste modo equacionar ações corretivas ao produto caso seja detetada uma fonte de contaminação durante o processo produtivo.

A presença de *Salmonella spp* em carne de aves é esperada em função da complexidade de seu controle na produção, assim como, devido às precárias condições higiênico-sanitárias durante o abate e comercialização (Souza, 2014). Neste trabalho, o baixo desenvolvimento da *Salmonella* no *challenge test*, onde a temperaturas de refrigeração não houve desenvolvimento deste microrganismo, exceto em pedaços de frango, embora o valor obtido não seja significativo.

Relativamente à *Listeria monocytogenes* como esta sobrevive por longos períodos em alimentos congelados e consegue multiplicar-se a temperaturas de refrigeração (Di Ciccio, Meloni & Ianieri, 2015) durante o *challenge test*, os diferentes produtos revelaram uma taxa de crescimento desta bactéria positiva nas três temperaturas de ensaio. Destaque para as asas de frango, onde se manifestaram as maiores taxas de crescimento, pois a *L. monocytogenes* tolera concentrações de sal superior a 10% (Ferreira, 2018), ingrediente presente na formulação deste produto. É bastante comum encontrar-se *Listeria* em produtos de frango, pois no estudo de Araújo *et al.* (2002), em 10 amostras de fiambre de peito de peru fatiado, foi detetada *L. monocytogenes* em 60% das amostras.

Quanto à *E. coli*, Brizio *et al.* (2013), no seu ensaio em pés de frango refrigerados teve um valor médio de $1,5 \times 10^2$ UFC/g. Durante a avaliação dos indicadores nas amostras de produtos de frango processado, as amostras analisadas tiveram resultados abaixo do valor médio anteriormente mencionado. As temperaturas do ensaio no *challenge test* não permitiram o desenvolvimento da *E. coli*, pois esta apresenta uma temperatura ótima de multiplicação entre os 35 e 40°C (ASAE, 2018).

De um modo geral, relativamente a *Staphylococcus coagulase positiva*, todos os produtos apresentaram uma concentração inferior a <10 UFC/g. Embora esta bactéria seja resistente a ciclos de congelação/descongelação e sobrevive durante períodos em alimentos

conservados a -20°C (ASAE, 2018), os produtos em análise foram submetidos a uma pré-fritura antes de serem ultracongelados, fator decisivo para os resultados obtidos. O crescimento de *Staphylococcus* foi verificado a temperaturas superiores a 8°C durante o *challenge test* sendo que a maior taxa de crescimento foi verificada nas asas de frango, pois esta bactéria consegue desenvolver-se a temperaturas superiores a 7°C (Jablonski & Bohach, 1997).

Em relação ao ensaio de análise sensorial realizado não foi possível realizar qualquer tipo de comparação com dados da literatura. Tendo em conta os resultados, a aceitação pelos consumidores das tiras de frango com maior tempo de *shelf-life* pode ser resultado da impercetibilidade pelos consumidores de diferenças sensoriais entre as amostras analisadas, pois visualmente não foram registadas grandes diferenças. Já nas asas e pedaços, o aspeto do produto era influenciado negativamente ao longo do tempo, e pode ter ocorrido alguma acidificação do produto o que se traduziu numa *shelf-life* de 3 dias pretendida pelo painel.

6. CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS

No presente trabalho, todas as amostras obtiveram contagens de mesófilos totais abaixo dos limites da ficha técnica de cada produto. Relativamente aos ensaios da evolução dos mesófilos aeróbios totais em função da temperatura de armazenagem houve uma grande heterogeneidade entre os resultados obtidos para cada produto.

Os resultados revelaram que o crescimento microbiano não foi um factor determinante da *shelf-life* quando se respeitaram as temperaturas de refrigeração. O fator decisivo para a escolha da data limite de consumo prendeu-se com o teste de preferências. Assim sendo, as tiras de frango apresentaram uma *shelf-life* de 4 dias, enquanto as asas e pedaços de frango apresentam uma *shelf-life* de 3 dias. Este aumento de *shelf life* em todos os produtos contribuirá para uma redução do desperdício alimentar em cada loja, diminuindo assim as quebras monetárias e contribuindo assim para uma melhor logística de produto.

A cadeia de frio desde o local de produção até cada loja é fundamental para assegurar a segurança alimentar e qualidade de cada tipo de produto. Acima de tudo, manter o produto em condições de congelação até chegar à loja. Em loja o produto deve ser sempre conservado em condições similares às implementadas atualmente, evitando sempre a exposição dos produtos a temperaturas elevadas durante períodos de tempo, como por exemplo a colocação dos produtos junto ao forno sem o objetivo de serem cozinhados. De modo a garantir que não existe qualquer quebra da cadeia de frio, a empresa pode apostar em embalagens inteligentes, que revelam alterações na temperatura durante o transporte do produto que

possam pôr em risco a segurança alimentar do produto. A implementação de um sistema de controlo de temperaturas durante toda a cadeia de frio, especialmente ao nível das câmaras de refrigeração em cada loja seria extremamente útil para garantir que não houve alterações de temperatura dentro da câmara de refrigeração. Este sistema de controlo devia estar interligado entre o departamento de qualidade da empresa e cada loja permitindo verificar o histórico de temperaturas registado em cada câmara de refrigeração permitindo uma atuação rápida evitando assim problemas de qualidade e segurança alimentar a nível dos produtos de frango. É de elevada importância a manutenção da temperatura de refrigeração de 4°C na câmara de maneira a garantir a *shelf life* proposta para cada produto. Porém é necessária a formação dos operadores para a correta manipulação dos alimentos, de modo a evitar contaminações cruzadas.

A empresa deve realizar análises periódicas aos seus produtos de frango processado devido à heterogeneidade de resultados obtidos. Estas análises devem abranger tanto o estudo dos microrganismos descritos em cada ficha técnica, bem como a evolução dos mesófilos aeróbios totais ao longo do tempo. Deste modo a empresa pode auditar o seu fornecedor deste tipo de produtos garantido a segurança alimentar e também a qualidade dos mesmos.

Numa perspetiva de futuro, é aconselhável que sejam utilizadas diferentes estirpes ao nível do *challenge test* com o objetivo de avaliar o comportamento destas ao longo de um período de tempo em cada produto, e o seu impacto na *shelf life* dos mesmos.

Quanto à análise sensorial, num próximo teste deve-se utilizar um painel mais alargado de modo a garantir a veracidade das características apreciadas e estudadas estão de acordo com as preferências do consumidor deste tipo de produtos. Assim um estudo da análise de consumidor seria útil de modo a avaliar de um modo generalizado as preferências e opiniões sobre cada tipo de produto contribuindo assim, para uma melhoria do produto oferecido ao cliente.

De um modo generalizado, esta dissertação permitirá à empresa geração de valor, contribuir para uma economia circular e melhorar a aceitabilidade do produto pelo consumidor.

6. BIBLIOGRAFIA

Adams, M.; Moss M. – Food Microbiology. 3^a ed. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2008. 463 p.

Afonso, A. (2006). Metodologia HACCP. Revista de Segurança e Qualidade Alimentar, nº 1, 12-15.

Agrosmartcoop. Métodos de conservação por frio de carne e produtos cárneos. 2018. Disponível em: <http://www.agrosmartcoop.eu/pt-pt/2017/05/29/2-12-metodos-de-conservacao-por-frio-de-carne-e-produtos-carneos-tipologia-1/>. Consultado a 25 de Agosto de 2018.

Alvarez-Ordóñez, A., Leong, D., Hickey, B., Beaufort, A. & Jordan, K. (2015). The challenge of challenge testing to monitor *Listeria monocytogenes* growth on ready-to eat foods in Europe by following the European Commission 2014 Technical Guidance document. Food Research International, 75, 233–243.

Antimicrobe. *Staphylococcus aureus*, 2018. <http://www.antimicrobe.org/b90.asp>. Consultado a 5 de Maio de 2018.

Argyri, A. A., Papadopoulou, O. S., Nisiotou, A., Tassou, C. C., & Chorianopoulos, N. (2018). Effect of high pressure processing on the survival of *Salmonella* Enteritidis and shelf-life of chicken fillets. Food Microbiology, 70, 55–64.

ASAE, *E. coli*, 2018. Disponível em: <http://www.asae.gov.pt/?cn=541054135465AAAAAAAAAAAAA>. Consultado a 15 de Julho de 2018.

ASAE, *Salmonella*, 2018. Disponível em: <http://www.asae.gov.pt/?cn=541054135462AAAAAAAAAAAAA>. Consultado a 12 de Agosto de 2018.

Barbut, S., 2002. Poultry Products Processing. An Industry Guide. CRC Press, London.

Barbut, S., 2002. Poultry Products Processing. An Industry Guide. CRC Press, London.

Betts, G. 2006. Determining the stability and shelf-life of foods in Food spoilage microorganisms. Blackburn, W. (Eds.). Woodhead Publishing Limited, Cambridge, Inglaterra. 119-146pp

Biokar. Microorganism. 2018 Disponível em http://www.solabia.com/Divisao_9/BIOKAR-Diagnostics.html . Acesso a 19 de Setembro de 2018.

Brizio, A. P. D. R., De Salles, B. P., & Prentice, C. (2013). Avaliação microbiológica de pés de frango destinados ao consumo humano. *Semina: Ciências Agrárias*, 34(6), 2847–2852.

Budak, N. H., Aykin, E., Seydim, A. C., Greene, A. K., & Guzel-Seydim, Z. B. (2014). Functional Properties of Vinegar. *Journal of Food Science*, 79(5).

Cardoso, A. L. S. P. et al. 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, 2005.

Cepero, R. (2002). Producción de carne de pollo. *Real Escuela de Avicultura*, 19, 445-497.

Conte, A., Cappelletti, G.M., Nicoletti, G.M., Russo, C., Del Nobile, M.A., 2015. Environmental implications of food loss probability in packaging design. *Food Res. Int.* 78, 11e17.

Corradini, M.G. & Peleg, M. (2007). Shelf-life estimation from accelerated storage data. *Trends in Food Science & Technology*, 18, 37–47.

Correia, J. L. (2015). Avaliação microbiológica de refeições servidas em Cantina Universitária. Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Cortez, A. L. L. Indicadores de qualidade higiênico-sanitária em linguiça frescal comercializada no município de Jaboticabal-SP. 2003. 42p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2003.

Costa, R. & Kristbergsson, K. (2009). Predictive and Risk Assessment. Disponível em <http://books.google.pt/books?id=J11jIU0S5PYC&printsec=frontcover> &source=gbs_v2_summary_r&cad=0. Consultado em 11 de Junho de 2018.

Courrol, L. C., & Samad, R. E. (2018). Determination of chicken meat contamination by porphyrin fluorescence. *Journal of Luminescence*. Elsevier B.V.

Cushman & Wakefield, 2018. Disponível em: <http://www.cushmanwakefield.pt/pt/news/2017/06/shifting-consumer-habits-behind-growth-in-global-eating-out-market/>. Consultado a 9 de agosto de 2018.

D.J. Livingston, W.D. Brown, THE CHEMISTRY OF MYOGLOBIN AND ITS REACTIONS, *Food Technology*, 35 (1981) 244-252.

De Marchi, M., Riovanto, R., Penasa, M., & Cassandro, M. (2012). At-line prediction of fatty acid profile in chicken breast using near infrared reflectance spectroscopy. *Meat Science*, 90(3), 653–657.

Demeyer, D.; Honikel, K.; De Smet, S. A challenge for the meat processing industry. *Meat Science*, v. 80, n. 4, p. 953-959 , 2008.

Di Ciccio, P., Meloni, D. & Ianieri, A. (2015). *Listeria monocytogenes: Growth in biofilms and in the food industry*. In: T. Viccaro (Ed.), *Listeria monocytogenes: Incidence, Growth Behavior and Control*. New York, USA: Nova Science Publishers, Inc., pp. 37-57.

Domino's Pizza, Sides, 2018. Disponível em <https://www.dominos.com.au/menu-side>. Consultado a 1 de Setembro de 2018.

Durre, P. *Handbook on Clostridia*. Taylor & Francis, 2005, 903p.

FAO (2014). *The state of world fisheries and aquaculture. Opportunities and challenges*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations

FAO (2015). *Statistical pocketbook. World food and agriculture*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

FAO, 2011. *Global Food Losses and Food Wastedextent, Causes and Prevention*. UN FAO, Rome.

Ferreira, J.- *Listeria monocytogenes em salda de frango pronta a consumir: Estudo da vida útil utilizando um challenge test*. Universidade Lisboa. Faculdade de Medicina Veterinária. 2018. 79 p.

FIB. *Shelf Life – Uma Pequena Introdução*. Food Ingredients Brasil, nº 18, 2011, 67-73 p.

FLANDRIN, Jean-Louis; MONTANARI, Massimo. *História da Alimentação II- Da Idade Média aos tempos atuais*. 4 ed. Terramar, 2001

FLorêncio, L.; Marta, L. – *Projecto Controlo da Qualidade de Leitão Assado de Negrais, Comercializado em Grandes Superfícies*. Lisboa: Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica - Escola de Tecnologia e Gestão Industrial, 2005. 88 p. Trabalho de final de curso em especialização em Qualidade Alimentar.

Forsythe, S., J.- *Microbiologia da Segurança Alimentar*. 5ed. Artmed Editora. 2002

Franke, C., Höll, L., Langowski, H. C., Petermeier, H., & Vogel, R. F. (2017). Sensory evaluation of chicken breast packed in two different modified atmospheres. *Food Packaging and Shelf Life*, 13(July), 66–75. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2017.07.005>

FSAI (2011). Guidance note n^o18 – validation of product shelf-life (revision I). Ed. Food Safety Authority of Ireland, Dublin, Ireland. pp-50.

García-López, M.L., Prieto, M. e Otero, A. 1998. The physiological attributes of Gram-negative bacteria associated with spoilage of meat and meat products in the microbiology of meat and poultry. Davies, A. e Board, R. (eds). Black Academic & Professional, London, UK. Pp. 1-34.

Geomaras, I., de Jesus, A., van Zyl, E., von Holy, A., 1998. Bacterial populations associated with the dirty area of the South African poultry abattoir. *J. Food Prot.* 61, 700–703.

Geomaras, I., de Jesus, A., van Zyl, E., von Holy, A., 1998. Bacterial populations associated with the dirty area of the South African poultry abattoir. *J. Food Prot.* 61, 700–703.

Granato, D., de Araújo Calado, V. M., & Jarvis, B. (2014). Observations on the use of statistical methods in food science and technology. *Food Research International*, 55, 137–149.

Griffiths, J. C., Abernethy, D. R., Schuber, S., & Williams, R. L. (2009). Functional food ingredient quality: Opportunities to improve public health by compendial standardization. *Journal of Functional Foods*, 1(1), 128–130.

Harrigan, W.- *Laboratory Methods in Food Microbiology*. 3 ed. Academic Press. 1998. 532p.

Hocquette, J.-F., Mainsant, P., Daudin, J.-D., Cassar-Malek, I., Rémond, D., Doreau, M., ...Picard, B. (2013). La viande du future serat-elle produite in vitro? *INRA Productions Animales*, 26, 363–374.

Hough G. (2006). Sensory shelf-life testing. *Food Quality and Preference*, 17, pp. 640-645.

IFST – Shelf life of Foods – Guidelines for its determination and prediction. 1^a ed. London: Institute of Food Science & Technology (UK), 1993. 78 p.

IFST – Shelf life of Foods – Guidelines for its determination and prediction. 1^a ed. London: Institute of Food Science & Technology (UK), 1993. 78 p.

INE, 2018. Disponível em: https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0006569&contexto=bd&selTab=tab2. Consultado a 9 de Agosto de 2018.

INE. (2017). Statistics Portugal - Balança Alimentar Portuguesa 2012-2016. Retrieved from www.ine.pt

Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA). Frango crú. 2018. Disponível em <http://www2.insa.pt/sites/INSA/Portugues/AreasCientificas/AlimentNutricao/AplicacoesOnline/TabelaAlimentos/PesquisaOnline/Paginas/DetalheAlimento.aspx?ID=IS011>. Acesso a 8 de Abril de 2018.

Iranzo, E., Navarro, R., Gascó J., Cartón, F., & Cucart, A. (2015). *Listeria monocytogenes* nas indústrias das carnes. (1ª edição). Gandia, Betelgeux, S.L.

ISO 21528-2. 2002. Microbiology of food and feeding stuffs- Horizontal method for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae. Part 2: Colony-count method.

Jablonski L M, Bohach G A (1997) *Staphylococcus aureus*. Food Microbiology – Fundamentals and Frontiers. Microbiological Specifications of Food Pathogens. Washington, A S M Press: 353-375.

Jacob, Eduard. Seis Mil anos de pão. 1ed. Nova Alexandria, 2004

James, J. B., Ngarmsak, T., & Rolle, R. S. (2010). Processing of fresh-cut tropical fruits and vegetables: A technical guide. RAP Publication (FAO) eng no. 2010/16.

Jayasena, D. D., Ahn, D. U., Nam, K. C., & Jo, C. (2013). Flavour chemistry of chicken meat: A review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 26, 732–742.

Jordan, W.B. (ed), *Spanish Still Life*, Fort Worth, 1985

Jornal de Negócios. Notícia Restauração faturou 3700 milhões em 2016. 2017. Disponível em: <https://www.jornaldenegocios.pt/empresas/turismo---lazer/detalhe/restauracao-faturou-3700-milhoes-em-2016>. Consultado a 8 de Agosto de 2018.

Kilcast, D.; Subramain, P. – Introduction. In: KILCAST, D.; SUBRAMANIAM, P. – *The stability and shelf-life of food*. 1ª ed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2000. Cap. 1, 1-22 p.

Labuza, T. (2000). The search for shelf life – An update on continued efforts in understanding practical strategies for determining and testing the shelf life of food products. *Food Testing Analysis*, 5, pp.1-21.

Lacasse, D. *Introdução à Microbiologia Alimentar*. Lisboa: Ciência e Técnica – Instituto Piaget, 1995.

Lundqvist, J., de Fraiture, C., Molden, D., 2008. Saving water: from field to fork curbing losses and wastage in the food chain. In: SIWI Policy Brief. Stockholm, Sweden: SIWI.

M. De Marchi, R. Riovanto, M. Penasa, M. Cassandro At-line prediction of fatty acid profile in chicken breast using near infrared reflectance spectroscopy Meat Science, 90 (3) (2012), pp. 653–657

Man, D. (2002). Food industry briefing series: shelf life. Ed. Blackwell Science, Oxford, UK. pp-34

Man. C.M.D. 2000. Determining shelf life in Food labelling. Blanchfield, J.R (eds). Woodhead Publishing Limited, Cambridge, Inglaterra. Pp. 237-253

Marenzi, C., 1986. Proper meat storage prevents spoilage. Poultry-Misset 6, 12–15.

Mcmillin, K. W. (2008). Where is MAP Going? A review and future potential of modified atmosphere packaging for meat. Meat Science, 80, 43–65.

Mead, G. C. Bacteriological control in the processing of poultry. Veterinary Record, v. 95, p. 569-572, 1974.

Meade, B., & Rosen, S. (2013). International Food Security Assessment, 2013–2023, GFA-24, U.S. Department of Agriculture. Economic Research Service, June 2013.

Mendes, P. – Determinação da vida útil de 2 grupos de alimentos prontos a comer comercializados em estabelecimentos take away. Faculdade de Medicina Veterinária. Lisboa.2009

Moreira, Pedro – Obesidade, muito peso, várias medidas, Ambar, 2005.

Moss, M. (2000) - Spoilage problems. Problems caused by Fungi. In: Robinson, R., Batt, C. & Patel, P. Encyclopedia of food microbiology. Bath: Academic Press

Mossel, D., Corry, J., Struijk, C. & Baird, R. (1995). Essentials of the microbiology of foods: a textbook for advanced studies. England: John Wiley and Sons Ltd

Nakashima, S.M.K., André, C.D.S. & Franco, B.D.G.M. (2000). Revisão: Aspectos de Microbiologia Preditiva. Brazilian Journal of Food Technology, 3, 41-51.

Nicoli, M. C. (2012). Shelf life assessment of food. Boca Raton: CRC Press.

Novais, M. R. (2006). Noções gerais de higiene e segurança alimentar - boas práticas e pré-requisitos HACCP. Revista de Segurança e Qualidade Alimentar, nº 1, 10-11.

NZFSA- A Guide to Calculating Shelf Life of Foods. New Zealand: New Zealand Food Safety Authority (NZ), 2005. 7 p.

Orsi, R. H., Wiedmann, M. (2016). Characteristics and distribution of *Listeria* spp., including *Listeria* species newly described since 2009. Applied Microbiology and Biotechnology, 100:5273–5287.

Patsias, A., Chouliara, I., Paleologos, E.K., Savvaidis, I.N., Kontominas, M.G., 2005. Relation of biogenic amines to microbial and sensory changes of precooked chicken meat stored aerobically and under modified atmosphere packaging at 41C. J. Food Protec., accepted.

Pereira, M.- Estudo do prazo de validade em carne fresca de coelho. Dissertação em Engenharia Alimentar- Tecnologia dos Pr odutos Animais. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa. 2009

Pettersen, M. K., Nissen, H., Eie, T., & Nilsson, A. (2004). Effect of packaging materials and storage conditions on bacterial growth, off-odour: pH and colour in chicken breast fillets. Packaging Technology and Science, 17, 165–174.

Piergiovanni, L., & Limbo, S. (2010). Food packaging. Materiali, tecnologie e qualità degli alimenti. Milano: Springer.

Piggott, J. R., Simpson, S. J., & Williams, S. A. R. (1998). Sensory analysis. International Journal of Food Science & Technology, 33(1), 7–12.

Proença, C. Alimentação e globalização: algumas reflexões. Disponível em: <http://cienciaecultura.bvs.br/pdf/cic/v62n4/a14v6n4.pdf>. Acesso em 10 de Abril de 2018.

Quali.pt. Staphylococcus aureus, 2018. Disponível em: <https://www.quali.pt/microbiologia/482-staphylococcus-aureus>. Consultado a 12 de Julho de 2018.

Ross, T. & Nichols, D. (2000). Ecology of bacteria and fungi in foods. Influence of temperature. In: Robinson, R.; Batt, C. & Patel, P. Encyclopedia of food microbiology. Bath: Academic Press

Sams. Alan. 2001. Poultry Meat Processing. CRC Press, Florida, Estado Unidos da América

Santeramo, F. G., Carlucci, D., De Devitiis, B., Seccia, A., Stasi, A., Viscecchia, R., & Nardone, G. (2018). Emerging trends in European food, diets and food industry. *Food Research International*, 104(April 2017), 39–47.

Schlosser, Eric – O império do fast-food, Lisboa, Quetzal Editores, 2002

Shahrezaee, M., & Soleimani-zad, S. (2018). *LWT - Food Science and Technology* Use of Aloe vera gel powder to enhance the shelf life of chicken nugget during refrigeration storage, 95(April)

Singh, T.C. & Cadwallader, K.R. (2002). The Shelf Life of Foods: An Overview. In *Freshness and Shelf Life of Foods*, pp. 1-20. Washington, D.C.: American Chemical Society. Souza, G. C., Gonsalves, H. R. D. O., Gonsalves, H. E. de O., & Coêlho, J. L. de S. (2014). Característica microbiológica da carne de frango. *Agropecuária Científica No SemiÁrido*, 10(2), 12–17.

Spada, A., Conte, A., & Del Nobile, M. A. (2018). The influence of shelf life on food waste: A model-based approach by empirical market evidence. *Journal of Cleaner Production*, 172, 3410–3414.

Stancu, V., Haugaard, P., Lahteenmaki, L., 2016. Determinants of consumer food waste behaviour: two routes to food waste. *Appetite* 96, 7e17.

Tortora GJ, Funke BR, Case CL. *Microbiologia*. 10ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2012. 706-721p.

UNI 10534 (1995). Condizionamento alimentare - Linee guida per il confezionamento in atmosfera modificata. Roma: Ente Nazionale Italiano di Unificazione.

Vergheze, K., Lewis, H., Lockrey, S., Williams, H., 2013. Final Report: the Role of Packaging in Minimising Food Waste in the Supply Chain of the Future. RMIT University, Melbourne.

Vranken, L., Avermaete, T., Petalios, D., & Mathijs, E. (2014). Curbing global meat consumption: Emerging evidence of a second nutrition transition. *Environmental Science & Policy*, 39, 95–106.

Williams, H., Wikstrom, F., Otterbring, T., Lofgren, M., Gustavsson, A., 2012. Reasons for household food waste with special attention to packaging. *J. Clean. Prod.* 24, 141e148.

Yu, P., Low, M. Y., & Zhou, W. (2018). Design of experiments and regression modelling in food flavour and sensory analysis: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 71(January 2017), 202–215.

Zhang, H., Hortal, M., Dobson, A., 2015. The effect of active packaging on minimising food losses: life cycle assessment (LCA) of essential oil component enabled packaging for fresh beef. *Packag. Technol. Sci.* 28, 761e774

7. ANEXOS

Anexo 7. 1. Formulação Produtos à base de frango

Tabela 4 Formulação dos produtos à base de frango

Tiras de Frango	Peito de frango (61%); farinha de trigo, óleo de palma, amido de tapioca modificado, amido de batata, sal, dextrose, fermento, glúten de trigo, leite em pó, farinha de mostarda.
Asas de frango	Asas de frango (81%), óleo de girassol, farinha de arroz, amido de milho, tapioca modificada, amido, dextrina de tapioca, estabilizadores: E451, E452, E401, E341; sal, açúcar mascavado, xarope de glucose, leite em pó desnatado, corante: E150a; aromas, especiarias, ervas aromáticas, aipo.
Pedaços de Frango	Peito de frango (58%), farinha de trigo, farinha de milho, farinha de soja, amido de trigo, amido de tapioca modificado, água, óleo de soja, glúten, sal, pimenta, paprica, caramelo, açúcar, fermento, extrato vinagre de malte, aroma de leite, especiarias.

Anexo 7.2. Valores da Regressão Linear na evolução dos mesófilos aeróbios em tiras de frango

Tabela 7.2. Valores da Regressão Linear na evolução dos mesófilos aeróbios em amostras de tiras de frango ao longo do tempo em função da temperatura de incubação (4°C ; 12°C; 25°C).

Temperatura	Dias selecionados		y= A+ Bx		Erro	R ²	Desvio Padrão
4°C	[3;10]	A	0,015		0,51	0,982	0,35
		B	0,37		0,07		
12°C	[3;10]	A	-2,44		1,30	0,981	0,88
		B	0,92		0,18		
25°C	[1;3]	A	-0,51		1,14	0,943	0,21
		B	2,53		0,48		

Tabela 7.3. Valores da Regressão Linear na evolução dos mesófilos aeróbios em amostras de tiras de frango ao longo do tempo em função da temperatura de incubação (4°C ;12°C).

Temperatura	Dias selecionados		y= A+ Bx		Erro	R ²	Desvio Padrão
4°C	[3;7]	A	-3,892		2,066	0,907	1,22
		B	1,26		0,415		
12°C	[3;7]	A	-3,250		0,483	0,997	0,28
		B	1,79		0,097		

Anexo 7.3. Valores da Regressão Linear na evolução dos mesófilos aeróbios em asas de frango

Tabela 7.4. Valores da Regressão na evolução dos mesófilos aeróbios em amostras de asas de frango ao longo do tempo em função da temperatura de incubação (4°C ;12°C; 25°C).

Temperatura	Dias selecionados		$y= A+ Bx$	Erro	R ²	Desvio Padrão
4°C	[2;7]	A	-1,726	0,098	0,999	0,08
		B	0,89	0,022		
12°C	[1;3]	A	-0,116	1,65	0,866	1,08
		B	1,33	0,77		
25°C	[1;3]	A	-3,132	2,27	0,963	1,48
		B	3,74	1,05		

Tabela 7.5. Valores da Regressão na evolução dos mesófilos aeróbios em amostras de asas de frango ao longo do tempo em função da temperatura de incubação (4°C ;12°C).

Temperatura	Dias selecionados		$y= A+ Bx$	Erro	R ²	Desvio Padrão
4°C	[4;7]	A	-6,46	2,682	0,894	1,51
		B	2,07	0,539		
12°C	[3;7]	A	-0,339	2,458	0,896	1,46
		B	1,41	0,494		

Anexo 7.4. Valores da Regressão Linear na evolução dos mesófilos aeróbios em pedaços de frango

Tabela 7.6. Valores da Regressão Linear na evolução dos mesófilos aeróbios em amostras de pedaços de frango ao longo do tempo em função da temperatura de incubação (4°C;12°C;25°C).

Temperatura	Dias selecionados	y= A+ Bx		Erro	R ²	Desvio Padrão
4°C	[2;7]	A	-0,821	0,652	0,982	0,05
		B	0,75	0,143		
12°C	[2;7]	A	0,002	0,324	0,997	0,26
		B	0,93	0,071		
25°C	[1;7]	A	2,061	2,01	0,854	2,31
		B	1,18	0,51		

Tabela 7.8. Valores da Regressão Linear na evolução dos mesófilos aeróbios em amostras de pedaços de frango ao longo do tempo em função da temperatura de incubação (4°C;12°C).

Temperatura	Dias selecionados	y= A+ Bx		Erro	R ²	Desvio Padrão
4°C	[2;5]	A	1,030	0,293	0,258	0,18
		B	-0,03	0,079		
12°C	[2;10]	A	0,943	0,954	0,954	0,50
		B	0,45	0,08		

Anexo 7.5. Resultados análise sensorial em tiras de frango

Tabela 5 Resultados do atributo cor no teste de análise sensorial em tiras de frango.

	Média	Variância
Cor 4 Dias de Conservação	8,15385	2,18269
Cor 3 Dias de Conservação	8,23077	2,02564
Cor 2 Dias de Conservação	7,88462	1,67308
F	0,21907	
p	0,80433	

Tabela 7.10. Resultados do atributo aparência no teste de análise sensorial em tiras de frango.

	Média	Variância
Aparência 4 Dias de Conservação	8	1,83333
Aparência 3 Dias de Conservação	7,38462	1,71474
Aparência 2 Dias de Conservação	7,53846	1,8109
F	0,74641	
p	0,48126	

Tabela 7.11. Resultados do atributo textura no teste de análise sensorial em tiras de frango.

	Média	Variância
Textura 4 Dias de Conservação	7,03846	3,6859
Textura 3 Dias de Conservação	7,53846	0,72756

Textura 2 Dias de Conservação	7,07692	1,95192
F	0,47432	
p	0,62614	

Tabela 7.12. Resultados do atributo sabor no teste de análise sensorial em tiras de frango.

	Média	Variância
Sabor 4 Dias de Conservação	7,53846	3,64423
Sabor 3 Dias de Conservação	7,26923	0,90064
Sabor 2 Dias de Conservação	7,15385	3,05769
F	0,19983	
p	0,81977	

Anexo 7.6. Resultados análise sensorial em asas de frango

Tabela 7.13. Resultados do atributo cor no teste de análise sensorial em asas de frango.

	Média	Variância
Cor 4 Dias de Conservação	7,875	3,77841
Cor 3 Dias de Conservação	7,66667	2,33333
Cor 2 Dias de Conservação	7,29167	5,24811
F	0,27693	
p	0,75986	

Tabela 7.14. Resultados do atributo aparência no teste de análise sensorial em asas de frango.

	Média	Variância
Aparência 4 Dias de Conservação	7,3333	2,4697
Aparência 3 Dias de Conservação	7,41667	2,35606
Aparência 2 Dias de Conservação	6,91667	4,53788
F	0,27589	
p	0,76063	

Tabela 7.15. Resultados do atributo textura no teste de análise sensorial em asas de frango.

	Média	Variância
Textura 4 Dias de Conservação	6,41667	2,76515

Textura 3 Dias de Conservação	6,08333	4,99242
Textura 2 Dias de Conservação	6,375	3,00568
F	0,11033	
<i>p</i>	0,89587	

Tabela 7.16. Resultados do atributo sabor no teste de análise sensorial em asas de frango.

	Média	Variância
Sabor 4 Dias de Conservação	6,91667	2,17424
Sabor 3 Dias de Conservação	6,45833	5,61174
Sabor 2 Dias de Conservação	6,54167	3,97538
F	0,18245	
<i>p</i>	0,83406	

Anexo 7.7. Resultados análise sensorial em pedaços de frango

Tabela 7.17. Resultados do atributo cor no teste de análise sensorial em pedaços de frango.

	Média	Variância
Cor 4 Dias de Conservação	7,4444	5,34028
Cor 3 Dias de Conservação	7,9444	5,09028
Cor 2 Dias de Conservação	7,6111	6,04861
F		0,10619
p		0,89967

Tabela 7.18. Resultados do atributo aparência no teste de análise sensorial em pedaços de frango.

	Média	Variância
Aparência 4 Dias de Conservação	7,11111	3,17361
Aparência 3 Dias de Conservação	7,72222	4,38194
Aparência 2 Dias de Conservação	7,61111	3,79861
F		0,25199
p		0,77928

Tabela 7.19. Resultados do atributo textura no teste de análise sensorial em pedaços de frango.

	Média	Variância
Textura 4 Dias de Conservação	6,4444	2,46528

Textura 3 Dias de Conservação	7,8333	2,625
Textura 2 Dias de Conservação	8	1,875
F	2,82752	
p	0,07895	

Tabela 7.20. Resultados do atributo sabor no teste de análise sensorial em pedaços de frango.

	Média	Variância
Sabor 4 Dias de Conservação	6,88889	3,04861
Sabor 3 Dias de Conservação	7,7222	3,06944
Sabor 2 Dias de Conservação	8,05556	1,09028
F		1,3526
p		0,27758
