

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DOS ALIMENTOS**

**PASTEURIZAÇÃO DE SALSICHAS COM
ULTRASSOM E MICRO-ONDAS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Cristine Rampelotto

**Santa Maria, RS, Brasil
2012**

PASTEURIZAÇÃO DE SALSICHAS COM ULTRASSOM E MICRO-ONDAS

Cristine Rampelotto

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Área de Concentração em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos.**

Orientador: Prof. Nelcindo Nascimento Terra
Co-orientador: Prof. Alexandre José Cichoski

Santa Maria, RS, Brasil
2012

Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**PASTEURIZAÇÃO DE SALSICHAS COM ULTRASSOM E MICRO-
ONDAS**

elaborada por
Cristine Rampelotto

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Comissão Examinadora

Nelcindo Nascimento Terra, Dr.
(Presidente/ Orientador)

Érico Marlon de Moraes Flores, Dr. (UFSM)

Paulo Cezar Bastianello Campagnol, Dr. (IFTM)

Santa Maria, 12 de abril de 2012.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a minha família que é a responsável pela pessoa que sou hoje e que sempre me incentivou a seguir em frente. Agradeço a paciência que tiveram nos momentos de “turbulência” e por sempre demonstrarem que acreditam em mim.

A Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos por possibilitar a formação profissional e promover o incentivo à pesquisa.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Nelcindo Terra, pela oportunidade de ingressar no mestrado.

Ao meu co-orientador, Prof. Alexandre Cichoski agradeço pelo tempo dedicado na minha orientação e por me guiar pelo caminho mais correto.

As estagiárias Marianna Stefanello e Eloísa Moura, meus braços direito e esquerdo, que executaram as análises com responsabilidade e dedicação.

Aos alunos da graduação em tecnologia de alimentos Matheus Oliveira, Suzane Carvalho e Raquel Vendruscolo pela participação na construção deste trabalho.

Aos professores Roger Wagner e Juliano Barin pela constante colaboração.

Ao professor Érico Marlon de Moraes Flores e a toda a equipe do Laboratório de Análises Químicas Industriais e Ambientais - UFSM, por ceder os equipamentos necessários para a execução do trabalho e pela excelente receptividade.

A todo pessoal do laboratório de microbiologia, com principal atenção à Liana Inês Guidolin Milani e Ana Paula de Souza Rezer por se disporem a compartilhar seu conhecimento.

A prof^a Maria da Graça Callegaro pela oportunidade de realizar a docência orientada.

A Capes pelo auxílio financeiro.

A todos os servidores e professores do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos.

A todos que de uma maneira ou de outra fizeram parte dessa caminhada.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos
Universidade Federal de Santa Maria

PASTEURIZAÇÃO DE SALSICHAS COM ULTRASSOM E MICRO-ONDAS

AUTORA: CRISTINE RAMPELOTTO.
ORIENTADOR: NELCINDO NASCIMENTO TERRA.
CO-ORIENTADOR: ALEXANDRE JOSÉ CICHOSKI.
Data e Local da Defesa: Santa Maria, 12 de abril de 2012.

Este trabalho buscou desenvolver novas metodologias para a pasteurização de salsichas com o uso de ultrassom e micro-ondas com o objetivo de reduzir a carga bacteriana com mais eficiência energética e com baixo impacto sobre as características do produto. Para a pasteurização com micro-ondas as salsichas foram divididas aleatoriamente em 22 grupos, dos quais um foi o controle, que não recebeu nenhum tratamento, e os demais receberam tratamentos em micro-ondas em diferentes condições, variando tempo e potência. O efeito das micro-ondas foi avaliado em salsichas tratadas com e sem banho-maria, na presença e na ausência de embalagem. Salsichas tratadas com micro-ondas fora da embalagem em condições que não as alteraram visualmente apresentaram redução de bactérias lácticas e mesófilas estatisticamente significativa, porém em taxa pouco expressiva para a utilização prática. Quando foram tratadas embaladas, foi observado que a embalagem comumente utilizada em salsichas tem pouca resistência para a pasteurização em micro-ondas, sendo observados rompimentos em alguns casos. Foi necessário utilizar banho-maria para preservar e manter a integridade das embalagens. Os dados obtidos sobre a pasteurização de salsicha com micro-ondas sugerem que é necessário o desenvolvimento de embalagens adequadas e a adaptação dos equipamentos para um aquecimento mais uniforme e controlado. Para a pasteurização com ultrassom analisou-se a efetividade das frequências de 25 kHz e 130 kHz na redução de bactérias lácticas e mesófilas e o efeito das frequências sobre a cor, oxidação lipídica e pH. Avaliou-se também o potencial bactericida do ultrassom de 25 kHz frente às bactérias patogênicas *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus* e o efeito do armazenamento sobre os aspectos microbiológicos, oxidação lipídica, cor, pH e textura das salsichas pasteurizadas com ultrassom. A frequência de 25 kHz, foi a mais eficiente na redução de bactérias lácticas e mesófilas sem alterar cor e pH, além de produzir menor oxidação lipídica. O ultrassom teve efeito sobre a destruição de *Bacillus cereus* e, aparentemente, não afetou as células de *Staphylococcus aureus*. Nas condições de armazenamento avaliadas, o ultrassom promoveu inibição do crescimento de bactérias lácticas, mesófilas e psicrotólicas e menor oxidação lipídica até 60 dias de armazenagem, apresentando pouca alteração de cor e pH sem afetar a textura.

Palavras-chave: salsicha, pasteurização, microbiologia, TBARS.

ABSTRACT

Master Dissertation
Graduate Program in Food Science and Technology
Federal University of Santa Maria

SAUSAGE PASTEURIZATION WITH THE USE OF ULTRASOUND AND MICROWAVE

AUTHOR: CRISTINE RAMPELOTTO.
ADVISOR: NELCINDO NASCIMENTO TERRA.
CO-ADVISOR: ALEXANDRE JOSÉ CICHOSKI.
Date and Defense place: Santa Maria, april 12, 2012.

This study aimed to develop new methods for pasteurization of sausages with the use of ultrasound and microwaves in order to reduce the bacterial load with more energy efficient and low impact on the characteristics of the product. For pasteurization with microwave oven, sausages were divided into 22 groups, of which one was the control that not received treatment, and the others received treatment in a microwave in different conditions, varying the time and power. The effect of the microwave treated sausage was evaluated with and without a water bath, in the presence or absence of packaging. Sausages treated with microwave unwrapped in conditions that do not change visually, reduced mesophilic and acid lactic bacteria statistically significant, but at a rate not significant for practical use. When treated were packaged, it was observed that the packaging commonly used in sausage has little resistance to microwave pasteurization, and breaks observed in some cases. It was necessary to use a water bath to maintain maintain package integrity. The data obtained on the sausage pasteurization with microwave suggest that are required the development of suitable packaging and adapting the machine to produce more uniform heating and controlled. For pasteurization with ultrasound were analyzed the effectiveness of the frequencies of 25 kHz and 130 kHz in the reduction of mesophilic bacteria and acid lactic bacteria and the effect of frequency on color, lipid oxidation and pH. We evaluated the potential bactericidal effect of ultrasound of 25 kHz on pathogenic bacteria *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* and the effect of storage on the microbiological aspects, lipid oxidation, color, pH and texture of pasteurized sausages with ultrasound. The frequency of 25 kHz, was more effective in reducing mesophilic bacteria and acid lactic bacteria and not changing color and pH, as well as producing lower lipid oxidation. The ultrasound effect was observed on the destruction of *Bacillus cereus* and apparently did not affect the cells of *Staphylococcus aureus*. For the avaluated storage conditions, ultrasound promoted inhibition of acid lactic, psychrotrophic and mesophilic bacteria and lower lipid oxidation up to 60 days of storage, with minimal color and pH change, without affecting the texture.

Keywords: cooked sausage, pasteurization, microbiology, TBARS.

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 - Temperaturas máximas e mínimas de salsichas pasteurizadas em micro-ondas em número de 24, nas bordas de dois pratos esterilizados sobrepostos, utilizando sistema de absorção de excesso de radiação através da circulação de água.....	33
Tabela 4.1 - Fatores de domínio experimental utilizados para determinação das condições de tempo e temperatura ideais.	42
Tabela 4.2 - Valores de luminosidade (L*), vermelho (a*) e amarelo (b*) em salsichas logo após tratamento com diferentes frequências de ultrassom (25 kHz e 135 kHz) e temperaturas de banho-maria (20°C e 60°C) durante 10 minutos.	51
Tabela 4.3 - Análise de variância (ANOVA) da interação entre tempo e temperatura para bactérias mesófilas.....	54
Tabela 4.4 - Análise de variância (ANOVA) da interação entre tempo e temperatura para bactérias lácticas.....	54
Tabela 4.5 – Temperaturas máximas atingidas por salsichas submetidas à imersão em banho a 75°C por 10 min com e sem a aplicação de ultrassom de 25 kHz de frequência.....	56
Tabela 4.6 - Número inicial de colônias de bactérias mesófilas, lácticas e psicrotrófica das salsichas utilizadas no Experimento II antes da pasteurização.....	59
Tabela 4.7 - textura de salsichas pasteurizadas por 10 min em banho a 75°C com e sem ultrassom e da forma similar a industrial, armazenadas a 15°C com foto-período de 12h, armazenadas por 60 dias.....	69

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 2.1 - Fluxograma da produção de salsichas	14
Figura 2.2 – Mecanismos de inativação de micro-organismos por ultrassom	22
Figura 3.1 – Fluxograma dos tratamentos nos quais as salsichas foram submetidas a pasteurização em micro-ondas.....	27
Figura 3.3 - disposição das embalagens dentro do forno de micro-ondas para os tratamentos em banho-maria.	28
Figura 3.2 - Salsichas sem embalagem dispostas em 2 pratos sobrepostos (A) e salsichas embaladas em pares (B).....	28
Figura 3.4 - Bactérias mesófilas e lácticas em salsichas pasteurizadas em micro-ondas sem a presença de embalagem.	31
Figura 3.5 - Número de bactérias mesófilas e lácticas de salsichas pasteurizadas em micro-ondas em número de 24, nas bordas de dois pratos esterilizados sobrepostos, utilizando sistema de absorção de excesso de radiação através da circulação de água.....	32
Figura 3.6 - - Número de bactérias mesófilas e lácticas de salsichas pasteurizadas em micro-ondas, embaladas a vácuo, duas por embalagem, dispostas na borda do prato do aparelho, pré-aquecidas e embaladas á vácuo, em número de 5 por embalagem (300g) mergulhadas em 800ml de água.....	34
Figura 3.7 - Embalagem rompida devido à formação de vapor contendo as salsichas dos tratamentos T12 e T13.....	35
Figura 3.8 - Número de bactérias mesófilas e lácticas de salsichas pasteurizadas em micro-ondas, embaladas á vácuo, em número de 5 por embalagem, dispostas 2 embalagem de aproximadamente 300 g cada, mergulhadas recipiente com 800 ml de água, sem sistema de água circulante no interior do forno.	36
Figura 3.9 - Número de bactérias mesófilas e lácticas de salsichas pasteurizadas em micro-ondas, embaladas á vácuo, em número de 5 por embalagem, dispostas 2 embalagem de aproximadamente 300 g cada, mergulhadas recipiente com 800 ml de água, sem sistema de água circulante no interior do forno e resfriadas em <i>freezer</i> ou salmoura.	37
Figura 4.1 – Banhos de ultrassom utilizados nos experimentos. A) Vista geral do banho ultrassônico. B) Vista do painel de controle do banho ultrassônico.....	40

- Figura 4.2**– Embalagem contendo as salsichas e o corante safranina em propanol, com a finalidade de avaliar a integridade da embalagem, fechamento a vácuo (A) e o efeito do ultrassom durante e após tratamento (B).40
- Figura 4.3**– Posição da embalagem contendo as salsicha dentro do banho de ultrassom (A), e sentido das ondas de ultrassom dentro do banho (B).41
- Figura 4.4**- Número de colônias de bactérias mesófilas e bactérias lácticas em salsichas, logo após tratamento com diferentes frequências de ultrassom (25 kHz e 135 kHz) e temperaturas de banho-maria (20°C e 60°C) durante 10 minutos dentro do banho de ultrassom.46
- Figura 4.5**- Valores de pH em salsichas logo após tratamento com diferentes frequências de ultrassom (25 kHz e 135 kHz) e temperaturas de banho-maria (20°C e 60°C) durante 10 minutos.47
- Figura 4.6**- Valores de TBARS (mg/kg de amostra) em salsichas logo após tratamento com diferentes frequências de ultrassom (25 kHz e 135 kHz) e temperaturas de banho-maria (20°C e 60°C) durante 10 minutos.49
- Figura 4.7**- Número de colônias de *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus*, em salsichas logo depois de submetidas ao tratamento térmico tradicional, e em banho a 60°C e 75°C com e sem a utilização de ultrassom.52
- Figura 4.8**– Curva de nível da interação entre tempo e temperatura na redução de bactérias mesófilas (A) e bactérias lácticas (B) por meio da utilização de banho de ultrassom de 25 kHz de frequência..... 53
- Figura 4.9**– Imagens térmicas das salsichas submetidas a banho-maria a 75°C por 10 min sem ultrassom (A, B) e com ultrassom de 25 kHz (C, D).56
- Figura 4.10**– Número de colônias das bactérias mesófilas, lácticas e psicrotófica nas salsichas pasteurizadas por 10 min em banho a 75 °C com ultrassom (US) e sem ultrassom (SUS), e da forma similar a industrial (TI), armazenadas a 15 °C com foto-período de 12 h, durante 60 dias.....59
- Figura 4.11**– Valores de oxidação lipídica obtidos pelo método de TBARS de salsichas pasteurizadas por 10 min em banho a 75°C com ultrassom (US) e sem ultrassom (SUS) e da forma similar a industrial (TI), armazenadas a 15°C com foto-período de 12h durante 60 dias.63
- Figura 4.12**- Parâmetros de cor no interior e na superfície de salsichas pasteurizadas por 10 min em banho a 75°C com e sem ultrassom e da forma similar a industrial, armazenadas a 15°C com foto-período de 12h.66

Figura 4.13- pH de salsichas pasteurizadas por 10 min em banho a 75 °C com e sem ultrassom e da forma similar a industrial, armazenadas a 15 °C com foto-período de 12 h, armazenadas por 60 dias.....67

SUMÁRIO

Resumo	4
Abstract	5
Lista de tabelas	6
Lista de ilustrações	7
1 Introdução	11
2 Revisão bibliográfica	13
2.1 Característica e produção de salsicha	13
2.2 Aspectos microbiológicos	15
2.3 Oxidação lipídica	16
2.4 Cor.....	17
2.5 Micro-ondas	18
2.6 Ultrassom	20
3 Pasteurização de salsichas com micro-ondas	26
3.1 Materiais e métodos	26
3.2 Resultados e discussão	30
4 Pasteurização de salsichas com ultrassom	39
4.1 Experimento I.....	39
4.2 Experimento II	57
5 Conclusões	70
6 Referências	72
Apêndice A	80

1. INTRODUÇÃO

Muitos produtos cárneos apresentam altos teores de água e proteínas e pH próximo a neutralidade, o que fornece boas condições para o desenvolvimento de micro-organismos. A multiplicação e desenvolvimento de microrganismos e condições que possibilitem a produção de toxinas são fatores que influenciam diretamente a qualidade e segurança dos produtos alimentícios.

As salsichas são produtos que sofrem vários processos de manipulação e entram em contato com diversos meios e superfícies durante a fabricação. Além disso, tradicionalmente, passam pela retirada da tripa após o cozimento, mais um fator que contribui com a vulnerabilidade e contaminação microbiana (TERRA, 1998).

Dentro da indústria da carne, a garantia da segurança e da qualidade são de extrema importância. A indústria desenvolve novas tecnologias para a fabricação de produtos de maior qualidade para diversos mercados cada vez mais competitivos. Por isso os novos sistemas devem ser projetados para permitir garantias aos processos e procedimentos a serem implementados. As abordagens tradicionais de segurança e qualidade da carne dependem fortemente de inspeção regulatória e de regimes de amostragem. No entanto, estes sistemas não podem garantir a proteção total do consumidor, pois é impraticável por várias razões econômicas e logísticas (ARMITAGE, 1997).

Devido aos impactos econômicos, de qualidade e aos relacionados com a saúde dos consumidores, causados pela contaminação microbiana dos alimentos, existe o interesse de se eliminar ou reduzir ao máximo a flora microbiana dos produtos com o mínimo de alteração das características organolépticas. Para tanto surgem, habitualmente novas tecnologias que visam à descontaminação de alimentos bem como a eficiência na utilização de recursos como água e energia para que as novas tecnologias implementadas reflitam na redução do custo de produção.

No Brasil o setor industrial corresponde ao maior consumidor final de energia elétrica, sendo responsável por quase metade do valor total de energia elétrica utilizada no país. Dentro do setor industrial, o segmento de alimentos e bebidas é o segundo maior consumidor de energia por fontes primárias (MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA, 2007). De uma maneira genérica, pode-se dizer que a indústria utiliza água para diversos fins tais como consumo humano, matéria prima, uso como fluido auxiliar na preparação de suspensões e soluções químicas, uso para geração de energia e uso como fluido de aquecimento e/ou

resfriamento. Portanto, é preciso implantar medidas para a otimização do consumo e redução de perdas e desperdícios, além de programas de conscientização e treinamento (CIRRA, s.a.).

De modo geral, para as empresas do ramo de abate e processamento de carne um produto de qualidade é aquele que atende às especificações técnicas e legislativas de consumo. Os principais fatores críticos apontados para a qualidade são a questão do resfriamento (temperatura), a conservação, o processamento e a matéria-prima. As empresas procuram controlar todo o seu processo produtivo, além de selecionar os melhores fornecedores, visando à qualidade final do seu produto. Para as empresas de processamento, a melhoria e o desenvolvimento de novos produtos estão intimamente relacionados ao desenvolvimento de tecnologias de conservação das características organolépticas e nutricionais do produto (TOLEDO, BATALHA e AMARAL, 2000).

Existem inúmeros métodos utilizados para a conservação de alimentos, sendo o uso de calor um dos mais comuns. A pasteurização é um tratamento térmico que age na conservação baseado em um binômio tempo-temperatura requerido para inativar os micro-organismos patogênicos e deteriorantes mais termorresistentes que varia de acordo com as características físico-químicas e microbiológicas do alimento (AZEREDO, 2004).

As micro-ondas são promotoras de aquecimento rápido de materiais por meio do alinhamento de moléculas polares com o seu campo elétrico (CARVALHO, 2005). Esta propriedade das micro-ondas as torna uma opção para agilizar os processos de tratamento térmico, uma vez que reduz o tempo necessário para que os alimentos atinjam a temperatura ideal pra redução ou eliminação de micro-organismos.

O ultrassom são ondas mecânicas responsáveis por um fenômeno conhecido com cavitação acústica, o qual produz bolhas de gás em soluções que, ao implodirem, geram súbito aumento de pressão e temperaturas muito altas (SUSLICK, 1990). A cavitação ultrassônica é responsável pela inativação de micro-organismos e, portanto, é uma tecnologia que pode ser utilizada como concomitantemente com o tratamento térmico para aumentar a eficiência e/ou reduzir o tempo de processamento.

Sendo assim, o objetivo deste estudo foi desenvolver novas metodologias para a pasteurização de salsichas visando à redução da carga microbiana com maior eficiência energética do processo e com baixo impacto sobre as características físico-químicas e organolépticas do produto.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Características e produção de salsicha

Segundo o Ministério de Agricultura e Abastecimento (MAPA) salsicha é definida como um produto cárneo industrializado, cozido, obtido da emulsão de carne de uma ou mais espécies de animais de açougue, adicionados de ingredientes, embutido e submetido a um processo térmico adequado. Este produto ainda pode sofrer processos opcionais de tingimento, depelação, defumação e utilização de molhos e recheios (BRASIL, 2000).

A salsicha caracteriza-se por apresentar massa fina e alto grau de divisão de seus constituintes. Os processos de emulsão, cura, e o cozimento refletem profundamente na qualidade e na conservabilidade das salsichas (TERRA, 1998).

Os ingredientes obrigatórios para a elaboração da salsicha são; a carne que pode ser de diferentes animais de açougue e sal. Miúdos e vísceras comestíveis, gordura, água, proteína animal ou vegetal, agentes de liga podem ser utilizados, e mais os aditivos intencionais, como os açúcares, aromas e condimentos (BRASIL, 2000).

O nitrato e o nitrito, também conhecidos como sais de cura, são aditivos intencionais. A legislação permite no máximo de 0,03g/100g para o nitrato e de 0,015g/100g para o nitrito (BRASIL, 2006). Estes sais são responsáveis pela estabilização da cor, desenvolvimento de aroma característico e retardamento da rancificação, além de possuírem atividade antimicrobiana, inibindo o crescimento de microrganismos anaeróbios, em especial o *Clostridium botulinum* (ORDÓÑEZ et al, 2005).

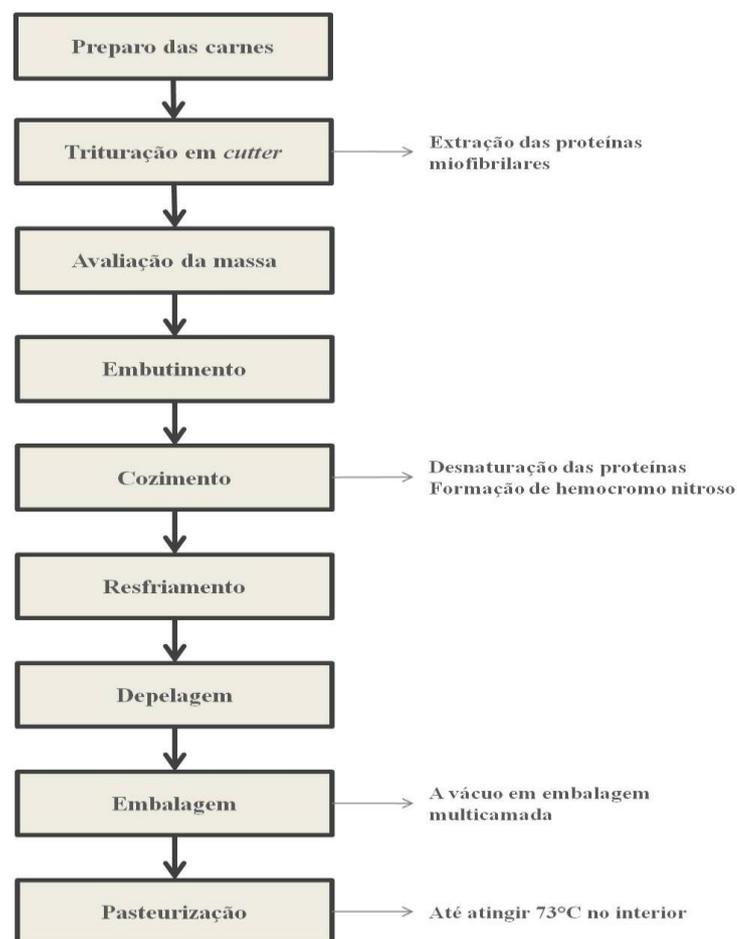
O processo de fabricação de salsicha (Figura 2.1) inicia pelo refino das carnes magras em um *cutter* com a adição da metade da quantidade de gelo e de sal. A solução salina extrai completamente as proteínas miofibrilares, actina e miosina, preparando-as para o encapsulamento das gotículas de gordura. A seguir, adiciona-se a gordura, a fim de formar a emulsão cárnea, e os demais ingredientes. A emulsão é estabilizada pelas proteínas solúveis da carne que foram extraídas no *cutter*, que recobrem integralmente as gotículas de gordura, evitando a coalescência das mesmas (TERRA, 1998).

A emulsão cárnea é um sistema bifásico que consiste em partículas de gordura (fase sólida) suspensas em uma matriz de proteínas solúveis em sal e água (fase líquida). Dispersas na fase líquida também estão algumas proteínas insolúveis, tecido conectivo e partículas de carne (RUST, 1994). Por isso é importante controlar a temperatura de trabalho no *cutter* para

que não ocorra aquecimento da massa, o que leva a desnaturação proteica e consequente instabilidade da emulsão (TERRA, 1998)

Concluída a emulsificação, a massa é embutida em tripas de celulose e dividida em gomos, e passa-se para o cozimento. Nessa etapa, o calor ao desnaturar as proteínas, irá transformá-las em alvéolos contendo gotículas de gordura; além de refletir na cor, aroma, sabor e textura do produto e reduzir drasticamente a flora microbiana (TERRA, 1998).

Figura 2.1 - Fluxograma da produção de salsichas



Imediatamente após o cozimento, as salsichas são submetidas a um resfriamento com água potável fria até que se atinja 16°C no seu interior. Depois do resfriamento ocorre retirada da tripa de celulose, com uma máquina equipada com lâmina cortante. A seguir as salsichas

podem passar pelo processo de tingimento ou então podem ser embaladas na cor natural (TERRA, 2006).

Embalagens plásticas multicamadas com média ou baixa taxa de permeabilidade ao oxigênio são utilizadas. Os principais polímeros que compõe as embalagens que são empregadas na venda das salsichas, são polietileno, polipropileno, poliamida, copolímero de etileno e álcool vinílico, poli(tereftalato de etileno), poli(naftalato de etileno), poli(cloreto de vinilideno) e adesivo (CRIPPA, 2006).

Após a embalagem acontece a pasteurização. Os pacotes são levados para tanques de água quente e são pasteurizados por imersão. O processo dura o tempo necessário para que seja atingida a temperatura de 73°C no interior dos pacotes. Em seguida, os pacotes são resfriados e levados a refrigeração (PACHECO, 2006).

2.2. Aspectos microbiológicos

As carnes são os mais perecíveis de todos os alimentos importantes. As carnes contêm uma abundância de todos os nutrientes requeridos para o crescimento de bactérias, leveduras e mofos e uma adequada quantidade de constituintes em forma disponível (JAY, 2005).

Como na maioria dos alimentos as carnes e produtos cárneos contêm uma flora deteriorante e podem apresentar algumas espécies de microorganismos patógenos. A microbiota da salsicha apresenta microorganismos gram-positivos como *Micrococcus*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* e leveduras (JAY, 2005). Também ocorre, em embutidos cárneos, a presença de patógenos como *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e outros (BARBUTI e PAROLARI, 2002).

Em salsichas vendidas a granel a presença de micro-organismos patogênicos é superior do que no produto embalado a vácuo, porém também há ocorrência de patógenos neste tipo de embalagens. *Staphylococcus* spp. coagulase positiva e coliformes termotolerantes são os micro-organismos patogênicos de maior ocorrência em salsichas do tipo *hot dog*, enquanto a *Salmonella* é pouco observada (MARTINS et al, 2008).

A presença de patógenos evidencia a necessidade de se investir em técnicas de descontaminação para garantir a segurança do alimento. Também há o interesse em reduzir ou eliminar os micro-organismos deteriorantes para aumentar a durabilidade do produto.

Nas salsichas é comum que ocorram alguns defeitos causados pela proliferação microbiana. O estufamento da embalagem plástica, que ocorre com frequência, se deve a produção de gás resultante da multiplicação de bactérias heterofermentativas aderidas à

superfície da salsicha. A formação de limosidade também é comum nesse tipo de produto e é originada, comumente, por bactérias lácticas. As bactérias lácticas estão presentes em quase todo tipo de produto cárneo fresco ou curado. Esses micro-organismos crescem também em temperaturas de refrigeração e por não serem patogênicas estão fora da imposição de análise na legislação vigente, sendo considerados como os principais deteriorantes das salsichas (BATTISTELLA, 2008).

As bactérias lácticas podem estar presentes em produtos com ou sem sinais visíveis de deterioração. *Lactobacillus* homofermentativos e *Leuconostocs* estão presentes em mais de 90% de amostras de salsichas deterioradas, sendo as responsáveis pelo estufamento de embalagens e formação de exudatos. Enterobactérias, leveduras, *Staphylococcus* e *Enterococcus* são comumente encontrados em amostra de salsichas, porém em pequena quantidade. (VON HOLY, CLOETEL e HOLZAPFELT, 1991).

2.3. Oxidação lipídica

A oxidação lipídica e as alterações da cor são atributos importantes que podem estar relacionados à degradação e deterioração de produtos cárneos e que influenciam diretamente os aspectos sensoriais, a qualidade nutricional e a aceitação pelo consumidor.

A oxidação lipídica é um fenômeno espontâneo e inevitável, com uma implicação direta no valor comercial quer dos corpos graxos, quer de todos os produtos que a partir deles são formulados. A oxidação lipídica está na origem do desenvolvimento do ranço e da produção de compostos responsáveis por *off flavors* (SILVA et al., 1999).

O rompimento da integralidade das membranas musculares pela desossa mecânica, moagem, reestruturação ou cozimento alteram os compartimentos celulares com a liberação de ferro da mioglobina e de outras proteínas. A interação deste e de outros agentes pró-oxidantes com os ácidos graxos polinsaturados resulta na geração de radicais livres e na propagação de reações oxidativas (OLIVO, 2006).

A auto-oxidação dos lipídios insaturados é uma reação de radicais livres em cadeia, iniciada com sua formação a partir de um ácido graxo insaturado componente da fração lipídica do alimento. Os primeiros produtos isoláveis da oxidação são os hidroperóxidos. Estes sofrem reações produzindo novos compostos que são responsáveis pela produção de um odor indesejável (REGINATO-D'ARCE, 2006).

Para analisar a peroxidação lipídica tem-se utilizado o teste de substâncias reativas com ácido tiobarbitúrico (TBARS). O TBARS mede a formação de malondialdeído (MDA),

um produto da lipoperoxidação provocada principalmente por radicais livres hidroxila, que são formados principalmente a partir de peróxido de hidrogênio catalisado pela reação ferro-Fenton ou pela reação Haber-Weiss (KEHRER, 2000).

Em amostras cárneas, a oxidação da gordura, é influenciada por muitos elementos, tais como, a parte da carcaça, forma e tempo de armazenamento. Valor de pH, ácidos graxos livres e índice de peróxido também são afetados pelo tempo de armazenamento prolongado. Valores de TBARS se mostram superiores em carnes armazenadas embaladas com presença de ar em relação aquelas embaladas a vácuo. O tempo de armazenamento prolongado é outro fator que está relacionado com alta oxidação das gorduras (OZKECECI et al., 2007).

2.4. Cor

A mioglobina é o principal pigmento responsável pela coloração de carnes. É uma proteína hidrossolúvel que possui um anel heme com um átomo de ferro central que pode formar seis ligações. As ligações presentes e a valência do ferro ditam a cor da carne. As quatro formas químicas principais da mioglobina em carnes frescas são desoximioglobina, carboximioglobina, metamioglobina e oximioglobina (MANCINI e HUNT, 2005).

Produtos cárneos curados e cozidos apresentam um pigmento róseo, mais estável do que aqueles presentes em carnes *in natura*, conhecido como nitrosohemocromo. Quando adicionado nas carnes o nitrato é reduzido a nitrito, pela ação de enzimas bacterianas, este é transformado em óxido nitroso (NO) e ácido nitroso (HNO²). O óxido nitroso se combina com o íon Fe²⁺ da mioglobina formando a nitrosomioglobina, que ao sofrer aquecimento se transforma em nitrosohemocromo (PARDI et al., 2001).

Pode existir uma interdependência entre a oxidação lipídica e a alteração dos pigmentos da carne. A oxidação do pigmento pode catalisar a oxidação lipídica, a qual também pode ser induzida por outros componentes que possuam ferro e pelo ferro livre. Os radicais livres produzidos durante a oxidação lipídica podem oxidar o átomo de ferro e desnaturar a molécula de mioglobina (OLIVO, 2006.).

É muito utilizado para avaliação objetiva da cor de alimentos, incluindo carnes e derivados, o sistema CIELab, desenvolvido pela comissão internacional de iluminação. Este sistema avalia a luminosidade (L*), variando de zero (preto) a 100 (branco) e os valores de a* (variação entre o vermelho e o verde) e b* (variação entre amarelo e azul). O valor de a* é muito importante na análise de produtos cárneos, pois está relacionada com o estado do

pigmento cárneo (CHAVASCO, LIZASO e BERIAIN, 1996) e com a aceitabilidade sensorial.

2.5. Micro-ondas

As micro-ondas na frequência usada nos fornos comerciais são absorvidas pelas moléculas de água, açúcares e gorduras contidas nos alimentos. Essas moléculas polares são capazes de se alinhar com o campo elétrico da radiação, que muda rapidamente de acordo com a frequência da radiação. Cada molécula procura acompanhar essa mudança e arrasta as moléculas vizinhas, que se opõem ao alinhamento. Isso gera um aquecimento do meio diretamente do interior do alimento (CARVALHO, 2005).

As micro-ondas, além de ocasionarem aquecimento, apresentam efeitos não térmicos nas membranas celulares por meio da movimentação de íons ou moléculas carregadas através destas membranas (BARNES e HU, 1977). As teorias da eletroporação e acoplamento magnético são alguns dos efeitos não térmicos estudados.

A eletroporação ocorre quando um potencial elétrico atravessa a membrana do microorganismo, provocando a formação de poros que resultam em vazamento do conteúdo celular. A ruptura das membranas está relacionada com a queda de tensão através de uma membrana resultando na ruptura da membrana celular. O acoplamento do campo magnético provoca uma ruptura nos componentes internos da célula, o que leva à lise celular permitindo que as bactérias sejam destruídas à temperaturas mais baixas do que no uso de calor sozinho (LAKINS et al., 2008).

O efeito das micro-ondas sobre os microrganismos vem sendo estudado há muito tempo e com diversos objetivos de uso. Goldblith e Wang (1967), comparando tratamento térmico convencional e com energia de micro-ondas na inativação de esporos de *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis*, observaram inativação idêntica para os dois tratamentos e concluíram que o efeito das micro-ondas sobre os esporos é puramente térmico. Jeng et al. (1987) encontraram resultado semelhante sobre esporos de *Bacillus subtilis* quando compararam a esterilização de frascos de vidro em estufa de convecção de ar e em forno de micro-ondas. Observaram também apenas um efeito térmico das micro-ondas, porém notou-se que a esterilização por micro-ondas é um processo mais rápido do que o convencional. Araújo e Chavasco (1998) verificaram que o tempo de 10 min é suficiente para esterilizar tubos de Durhan.

Métodos de descontaminação são de grande relevância, principalmente no setor de alimentos, já que estes influenciam diretamente a segurança e a qualidade dos produtos alimentícios. Técnicas de pasteurização com utilização de micro-ondas tem sido estudadas em diversos tipos de alimentos tais como suco de maçã (CAÑUMIR et al., 2002), leite fluido (CLARE et al., 2005) ovos com casca (SIVARAMAKRISHNAN, 2007; LAKINS et al., 2008) e salsichas embaladas (HUANG e SITES, 2007).

Existem, atualmente, alguns estudos que avaliam os efeitos da utilização de micro-ondas em produtos cárneos, tanto para o cozimento quanto com o objetivo de descontaminação.

Em almôndegas cozidas por três diferentes métodos, observou-se que o cozimento por micro-ondas proporcionou menor contagem total de bactérias em relação aos outros métodos e ao controle, além de ter sido o único método a eliminar totalmente *Staphylococcus aureus* (YILMAZ et al., 2005).

No músculo *Latissimus dorsi* de suínos tratados com diferentes métodos de cocção, verificou-se que o cozimento por micro-ondas ocasionou formação de TBARS um pouco menor em comparação aos processos de fritura e assamento em forno convencional. Porém, como os processos de oxidação durante o cozimento são mais afetados por um longo tempo e temperatura mais baixa do que por um curto tempo e temperatura mais elevada e por as amostras cozidas em micro-ondas apresentarem níveis relativamente elevados de compostos de oxidação, apesar da baixa temperatura e curto tempo, sugere-se que exista algum tipo de interação entre as micro-ondas e a gordura da carne que causa a oxidação de ácidos graxos poliinsaturados (BRONCANO et al., 2009).

Em hambúrgueres de carne suína com diferentes teores de sal e gordura cozidos em micro-ondas convencional observou-se que as formulações que não receberam adição de sal resultaram em um aquecimento mais uniforme e as formulações com alto teor de gordura sofreram maior perda de peso pelo cozimento e encolhimento. Todas as formulações, apesar das variações de distribuição do aquecimento mostraram superaquecimento das bordas em relação as regiões mais centrais (JEONG et al., 2007).

Microscopia eletrônica de varredura no músculo semi-membranous caprino mostrou que aquecimento por micro-ondas convencional e industrial causa retração e colapso no músculo, trazendo mais danos a estrutura muscular do que o assamento em forno convencional. O aquecimento em micro-ondas industrial aumenta ainda mais os danos e causa granulação e separação de algumas partes da fibra muscular. Estas alterações podem afetar a extensibilidade e maciez do músculo (YARMAND e HOMAYOUNI, 2010).

Em salsichas pasteurizadas acondicionadas em embalagem plástica, utilizando-se imersão em água quente e micro-ondas com controle automático de aquecimento a taxa de inativação de *Listeria monocytogenes* foi aparentemente maior em micro-ondas que a taxa de inativação observado durante o aquecimento por imersão em condições comparáveis, onde a temperatura do banho de água era igual a do aquecimento por micro-ondas. Porém o processo por micro-ondas causou deformação do produto em questão (HUANG e SITES, 2007).

2.6. Ultrassom

Atualmente busca-se o desenvolvimento de tecnologias para conservação de alimentos que assegurem a preservação sem uso de conservantes artificiais, mantendo as características organolépticas e com baixo consumo de energia. O processo com ultrassom é uma dessas tecnologias.

A utilização de ultrassom para limpeza e desinfecção de superfícies e objetos já é uma prática bem difundida. Os equipamentos mais comumente usados para estas práticas são banhos e sondas ultrassônicas, que transformam energia elétrica em energia mecânica, a energia ultrassônica.

Nos laboratórios de análise química, o ultrassom é comumente empregado para a limpeza de materiais e preparo de amostras. Para esses fins, normalmente são empregados banhos de ultrassom, que podem ser caracterizados como vasos metálicos, no fundo dos quais são acoplados transdutores piezelétricos que oscilam em determinada frequência (KORN, ANDRADE e BORGES, 2003).

As ondas de ultrassom são capazes de gerar cavitação acústica, que pode ser caracterizada como a formação, crescimento e implosão de bolhas de gás em uma solução (NASCENTES et al., 2001). Em meios não elásticos, como as soluções aquosas, compressão e rarefação são responsáveis pela formação de bolhas e colapso violento. As bolhas de cavitação produzidas por rarefação implodem durante a compressão resultando na produção de intensas ondas de choque (STANGA, 2010).

As bolhas geradas pela cavitação têm uma maior área de superfície durante o ciclo de expansão, o que aumenta a difusão do gás, fazendo com que surja uma bolha de expansão. Chega um ponto onde a energia ultra-sônica não é suficiente para manter a fase de vapor na bolha, então colapso é rápido. As moléculas colidem violentamente criando ondas de choque. Estas ondas criam regiões de alta temperatura e alta pressão. As mudanças de pressão resultantes dessas implosões são o principal efeito bactericida do ultra-som. As zonas quentes

podem eliminar algumas bactérias, mas são muito localizadas e não afetam uma área grande o suficiente para serem responsáveis pelo efeito bactericida (PIYASENA, 2003).

Além do processo mecânico da cavitação a sonicação pode gerar efeitos químicos através da geração de espécies reativas. O fenômeno envolvido na cisão homolítica de ligações O-H é denominado de sonólise da água, o qual leva à produção direta dos radicais livres $H\bullet$ e $HO\bullet$ no meio que ocorrem por meio de cisão das ligações H-O nas moléculas de água e produção de peróxido de hidrogênio no meio irradiado (KORN, ANDRADE e BORGES, 2003).

O processo de cavitação e as temperaturas geradas no colapso são fortemente dependentes da pressão de vapor do solvente. Assim, moléculas de solventes com altas pressões de vapor (moléculas de água) podem penetrar nas cavidades e, no momento do colapso, sofrerem sonólise, resultando na formação de novos produtos (H_2 e H_2O_2) (BORGES e KORN, 2002).

Dependendo do processo que está sendo considerado, os efeitos químicos da cavitação acústica podem ser vantajosos ou desvantajosos. Quando o radical hidroxil ($OH\bullet$) é produzido, por exemplo, pode afetar a qualidade de algumas substâncias alimentares, mas também pode melhorar a funcionalidade de alguns ingredientes.

Ashokkumar et al. (2008) observaram que há influência da frequência do ultra-som no rendimento da produção de radicais livres. Na frequência de 20 kHz o $OH\bullet$ gerado é mínimo. Com aumento da frequência para 358 kHz é observada uma maior geração de $OH\bullet$. No entanto quando a frequência passa a 1062kHz há uma diminuição do rendimento de $OH\bullet$. A 20 kHz as bolhas de cavitação são transitórias, enquanto bolhas estáveis são geradas a frequências mais altas. Com a cavitação estável e aumento no número de bolhas ativas é esperado que haja maior rendimento de $OH\bullet$ gerado com o aumento da frequência. Porém a redução de $OH\bullet$ na frequência de 1062 kHz pode ser devido ao tempo relativamente menos disponível na fase de expansão da bolha. Em frequências altas o ciclo acústico é muito curto, o que restringe a formação de vapor de água que evapora na bolha durante a expansão. A redução da quantidade de vapor durante o colapso reduz a geração de $OH\bullet$.

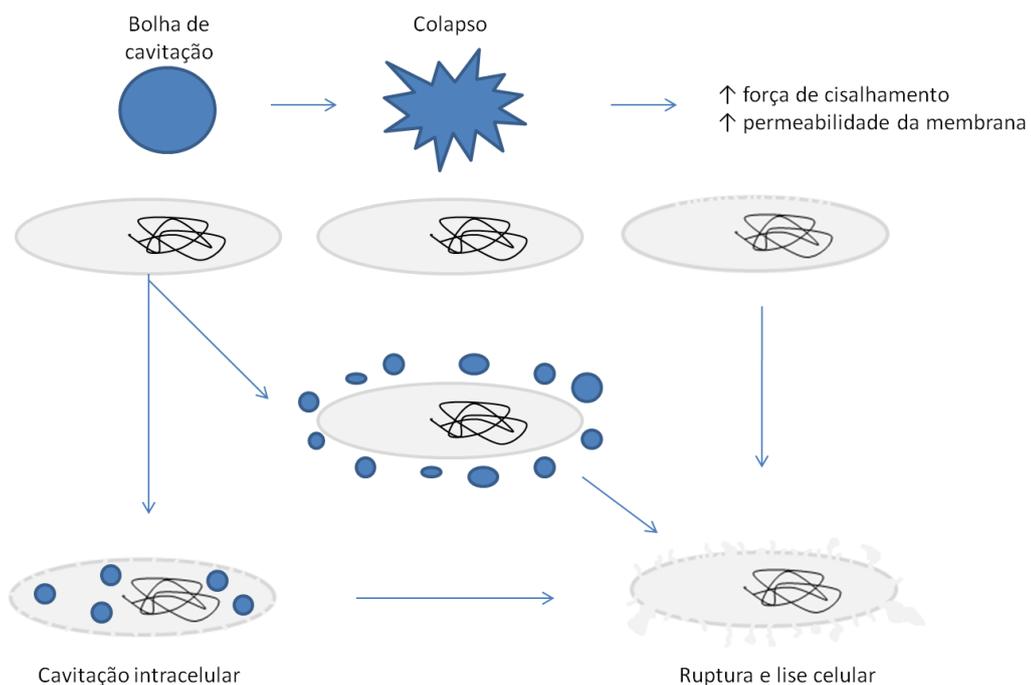
2.6.1. Mecanismos de inativação de micro-organismos

A inativação de micro-organismos através da utilização de ultrassom (Figura 2) se deve principalmente à ocorrência da cavitação acústica. As bolhas de cavitação instáveis, cheias de gás ou vapor, implodem gerando altas temperaturas e altas pressões locais que

podem desintegrar células e desnaturar enzimas. A implosão das bolhas também produz força de cisalhamento e jatos de líquido com energia suficiente para danificar paredes e membranas celulares. A cavitação estável, que gera bolhas de oscilação regular para muitos ciclos acústicos, induz a formação de uma micro-rede no líquido ao redor das células e causa estresse na espécie microbiológica. O efeito da inativação do ultrassom também tem sido atribuído à geração de cavitação intracelular que provoca choques mecânicos capazes de lesar componentes celulares estruturais até o ponto da lise celular (CHEMAT, HUMA e KHAN, 2011).

O mecanismo de ruptura das células está relacionado com a força de cisalhamento desenvolvida por vórtices dissipativas viscosas decorrentes de ondas de choque produzidas pela implosão de bolhas de cavitação. Quando a força de cisalhamento é desenvolvida por vórtices maiores do que as células, há mais propensão a mover as células ao invés de rompê-las, enquanto vórtices menores do que as células são capazes de tensão de cisalhamento disruptiva. Assim, células maiores são mais passíveis a ruptura do que células menores (GECIOVA, BURY e JELEN, 2002).

Figura 2.2 – Mecanismos de inativação de micro-organismos por ultrassom



A composição da membrana também tem influência sobre a cinética de inativação dos micro-organismos. Bactérias gram-positivas demonstram ser mais resistentes às ondas ultrassônicas do que as gram-negativas. Os organismos gram-positivos possuem uma camada de peptidoglicano espessa e mais firmemente aderida do que os gram-negativos. Já, esses apresentam uma camada de lipopolissacarídeo que os protege contra alguns tipos de ataques químicos e preserva a integridade estrutural. A menor resistência dos gram-negativos indica que o alvo do ultrassom pode ser o lipopolissacarídeo ou alguma estrutura no interior da membrana (DRAKOPOULOU et al., 2009).

2.6.2. Aplicação em alimentos

Existem vários estudos que demonstram a potencialidade da aplicação de ultrassom com diversos fins na área de tecnologia de alimentos. Na indústria de alimentos a tecnologia de ultrassom vem sendo utilizada com inúmeras finalidades tais como extrações, filtração, emulsificação, redução da carga microbiana, entre outras.

Para a filtração de líquidos o ultrassom tem sido utilizado na limpeza de membranas filtrantes, aumentando a durabilidade das membranas e a eficiência da filtração (LU, DU e LIPSCOMB, 2009; SMYTHE, WAKEMAN, 2000).

Também é muito usado no processamento de laticínios para promover melhor homogeneização e acelerar a fermentação. Estudos têm demonstrado que a sonicação de leite de vaca fresco a 20 kHz resulta em uma redução no tamanho dos glóbulos de gordura além de manter as partículas de gordura mais uniformemente distribuídas em comparação com o método convencional (VILLAMIEL e JONG 2000).

Ultra-som de 40, 60 e 100 kHz. em iogurte inoculado aumenta a velocidade de acidificação sem eliminar o *starter*. Em frequências de 50, 60 e 100 kHz ocorre um aumento pronunciado da viscosidade tanto em inoculados antes ou após a sonicação (WU, HULBERT e MOUNT, 2001).

Outro campo bastante explorado é o de extração de compostos vegetais assistida por ultra-som que surge no cenário atual como uma tecnologia limpa por utilizar menos solvente e energia do que as técnicas tradicionais. É utilizada na extração de diversas substâncias como compostos fenólicos (CHEN et al., 2007; HERRERA e CASTRO, 2005), óleos essenciais (PORTO, DECORT e KIKIC, 2009), compostos aromáticos (CALDEIRA et al., 2004), carotenóides (LIANGFU e ZELONG, 2008), entre outros.

Tem crescido o interesse no estudo da aplicação de ultrassom em alimentos em processos que visam eliminar ou reduzir a carga microbiana dos produtos. As ondas ultrassônicas, dependendo da intensidade, podem romper células, desnaturar enzimas e modificar o metabolismo celular. Em combinação com aquecimento e/ ou altas pressões, a sonicação pode acelerar os processos de esterilização e pasteurização e reduzir o consumo de energia dos procedimentos tradicionais (CHEMAT, HUMA e KHAN, 2011).

Na esterelização e pasteurização de alimentos o ultra-som vem sendo utilizado principalmente em líquidos como sucos. Porém, parece ter efeito bactericida limitado quando utilizado como único meio de eliminação. Quando a aplicação de ultra-som é combinada com alta temperatura (termo-sonicação), alta pressão (mano-sonicação) ou outras tecnologias não térmicas, o efeito sobre a morte microbiana é potencializado.

Em suco de laranja tratado em banho de ultra-som de 30 kHz a 55°C, foi percebida uma redução de *Staphilococcus aureus* de 1,8 e 3,3 ciclos logarítmicos após 10 min e 20 min de tratamento, respectivamente. Quando o tratamento com US por 10 min foi combinado com tecnologia de campo elétrico pulsado (40kV/150µs) a redução passou de 1,8 para 6,8 ciclos log, além de ocasionar menores perdas nutricionais do que o tratamento comercial (WALKING-RIBEIRO, 2009).

Já em modelos de suco de laranja e de suco de maçã o uso de uma sonda ultrasônica de amplitude 37,5 µm com frequência de 20kHz, resultou em eficaz eliminação de *Escherichia coli*. Para isto foi utilizada temperatura constante de 30°C com aplicação ultrasônica pulsada de 5 em 5 s por 15min (PATIL et al., 2009).

Ultra-som com frequência de 20 kHz mostrou ser eficiente na redução de leveduras em suco de tomate, porém altera a cor e o teor de ácido ascórbico (ADEKUNTE et al., 2010). A tecnologia de manotermosonicação, também utilizando frequência de 20kHz, afeta negativamente a qualidade sensorial de suco de maçã e cranberry, além de resultar em um produto com menor teor de anti-oxidantes em comparação ao pasteurizado tradicionalmente (CARMINITI et al., 2011).

Para a eliminação de esporos de *Bacillus subtilis* em suspensão aquosa, foi observado que a letalidade do efeito mecânico da termo-sonicação (20 kHz, 70°C) é substancialmente aumentada quando combinada com alta pressão (300-500 kPa) (RASO, 1998). Enquanto o uso de ultra-som combinado com alta pressão hidrostática em ovos líquidos resultou em pequena inativação de *E. Coli* (*gran negativa*), porém não obteve nenhum efeito na inativação de *Listeria seeligeri* (LEE, HEINZ e KNORR, 2003).

2.6.3. Ultra-som em tecnologia de carnes

Não há relatos, no processamento de derivados de carne, da utilização de ultra-som com a finalidade de pasteurizar ou reduzir a carga microbiana deste tipo de produto. A aplicação de ultra-som em carnes tem sido relatada com o objetivo principal de tenderização.

O ultra-som pode provocar alterações nas propriedades físicas e químicas da carne e seus derivados, e é uma alternativa aos meios químicos ou térmicos de processamento. O ultra-som tem capacidade de induzir a ruptura da membrana celular o que poderia aumentar a maciez da carne seja diretamente, através do enfraquecimento físico da estrutura muscular, ou indiretamente pela ativação da proteólise ou pela liberação de catepsinas dos lisossomos e/ou de estoques intracelulares de íons Ca^{++} que atuam na ativação das calpaínas (DOLATOWSKI, STADNIK e STASIAK, 2007).

3. PASTEURIZAÇÃO DE SALSICHAS COM A UTILIZAÇÃO DE MICRO-ONDAS

3.1. Materiais e métodos

3.1.1. Amostras

Pacotes de 4 kg de salsichas do tipo *hot dog* foram adquiridos no comércio de Santa Maria-RS, observando-se o prazo de validade e o lote. As salsichas foram divididas aleatoriamente em 22 grupos, dos quais um foi o controle, que não recebeu nenhum tratamento, e os demais receberam tratamentos em micro-ondas em diferentes condições, variando tempo e potência. O efeito das micro-ondas foi avaliado em salsichas tratadas com e sem banho-maria, e na presença e na ausência de embalagem.

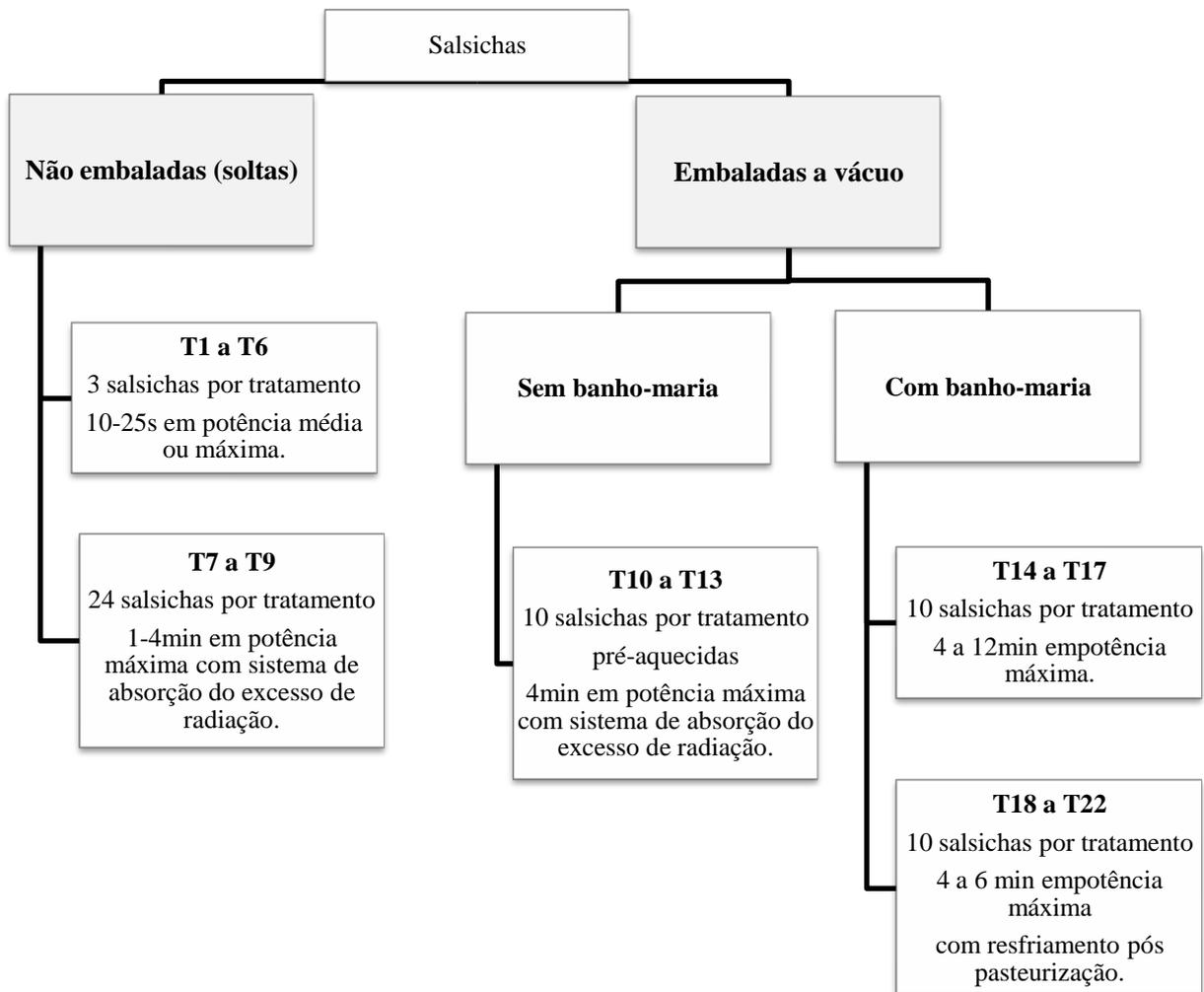
3.1.2. Embalagens

Foram utilizadas embalagens pré-formatadas de material com baixa permeabilidade ao oxigênio com dimensões de aproximadamente 19 x 16 cm. Para o selamento a vácuo foi utilizada embaladora à vácuo de mesa Selovac® com vácuo e solda na posição 5.

3.1.3. Tratamentos

Para o tratamento com micro-ondas foi utilizado um forno de micro-ondas doméstico Brastemp® (BMK38ABBNA) com capacidade de 38L, potência nominal de 950 W e real de 680 W, conversão de 71,6% e frequência de 2450 MHz.

Figura 3.1 – Fluxograma dos tratamentos nos quais as salsichas foram submetidas a pasteurização em micro-ondas.



Os tratamentos estão esquematicamente descritos na figura 3.1. Inicialmente as salsichas foram tratadas sem banho-maria, e foram submetidas às micro-ondas em recipiente de porcelana previamente esterilizado (não embaladas), em número de três por tratamento, localizadas no centro do prato do aparelho durante tempo de 10, 15, 20 e 25 s, em potências alta e média e correspondem aos Tratamentos de 1 ao 6 (T1 – T6). Num segundo momento também sem embalagem, 24 salsichas foram dispostas nas bordas de dois pratos esterilizados sobrepostos (Figura 3.2 A) no interior de um forno de micro-ondas adaptado com sistema de absorção de excesso de radiação através da circulação de água em seu interior em fluxo de $700 \text{ mL}/\text{min}^{-1}$ (BIZZI et al., 2011). As condições de tempo utilizadas variaram de 1 a 4min, em potência alta, e correspondem aos Tratamentos 7 ao 9 (T7- T9).

Figura 3.2 - Salsichas sem embalagem dispostas em 2 pratos sobrepostos (A) e salsichas embaladas em pares (B).



Num terceiro momento as salsichas foram embaladas a vácuo, duas por embalagem (Figura 3.2 B) e foram dispostas na borda do prato do aparelho em número de 10. Cada embalagem estava em uma temperatura inicial de 18°C (temperatura ambiente), 30°C, 40°C ou 60°C, considerando que, após o cozimento, as salsichas não atingem temperatura de refrigeração até a pasteurização, e foram tratadas com micro-ondas durante 4 minutos em potência alta com circulação de água em fluxo de 700 mL/min⁻¹, e correspondem aos Tratamentos 10 ao 13 (T10 – T13).

Figura 3.3 - disposição das embalagens dentro do forno de micro-ondas para os tratamentos em banho-maria.



Para os tratamentos em banho-maria em micro-ondas, as salsichas foram embaladas á vácuo, em número de 5 por embalagem e, em forno de micro-ondas convencional, foram dispostas 2 embalagem de aproximadamente 300 g cada, mergulhadas em 800 ml de água por tratamento, em recipiente próprio para uso em micro-ondas (Figura 3.3), sem sistema de água circulante dentro do forno, pois a água utilizada para o banho-maria cumpriria o mesmo

papel. Foram avaliadas potências máxima, média e baixa, nos tempos de 4 min a 12 min, que correspondem aos Tratamentos 14 ao 17. (T14 – T17). A última etapa procedeu-se de maneira semelhante à descrita anterior, mas foram empregados os tempos de 5 minutos em potência alta e 6 minutos em potência alta, combinados com 2 tipos de resfriamento pós pasteurização, sendo o resfriamento em freezer a -18°C e em salmoura a 2% ($-1,5^{\circ}\text{C}$) durante o tempo necessário para o produto atingir 7°C no interior que correspondem aos tratamentos 18 ao 21 (T18 – T21).

3.1.4. Análises microbiológicas

As análises foram realizadas após a saída do forno micro-ondas para os tratamentos T1 ao T6, os demais foram analisados após 24 h de armazenamento em refrigeração a 2°C e então porções de 25 g da amostra foram pesadas assepticamente e homogeneizadas com 225 mL de água peptonada em *bagmixer* por 60 s. Foi realizada a contagem padrão de bactérias aeróbias mesófilas em meio Plate Count Agar (PCA), incubado a $30-32^{\circ}\text{C}$ por 48 h e a contagem de bactérias lácticas em meio MRS com sobre-camada de ágar base, incubados a 37°C por 72 h. A contagem foi realizada em contador de colônias em placas contendo de 25 a 250 colônias e os resultados foram expressos em \log_{10} de UFC/g.

3.1.5. Temperatura

A temperatura interna das salsichas atingida após o tratamento foi determinada com termômetro de mercúrio com intervalo de temperatura de -10 a 150°C e precisão de $0,1^{\circ}\text{C}$.

3.1.6. Análise estatística

Inicialmente foram obtidas estatísticas descritivas simples (média, desvio-padrão) dos dados obtidos. Para a comparação de médias entre grupos foi utilizada análise de variância (ANOVA) e o Post Hoc Test de Tukey para comparações múltiplas. O nível de significância adotado é de $p < 0,05$ com intervalo de confiança de 95% e os dados foram analisados com o auxílio do programa SAS.

3.2. Resultados e discussão

Nas figuras 3.4 a 3.9 estão os resultados da contagem de bactérias lácticas e mesófilas dos tratamentos com micro-ondas e seus respectivos controles. Na Figura 3.4 é possível notar que a maioria das salsichas tratadas sem embalagem e sem imersão em água em condições de tempo e potência que não geraram grande alteração no aspecto visual (10-25s em potências alta e média) apresentou uma pequena redução na contagem de micro-organismos mesófilos e bactérias lácticas.

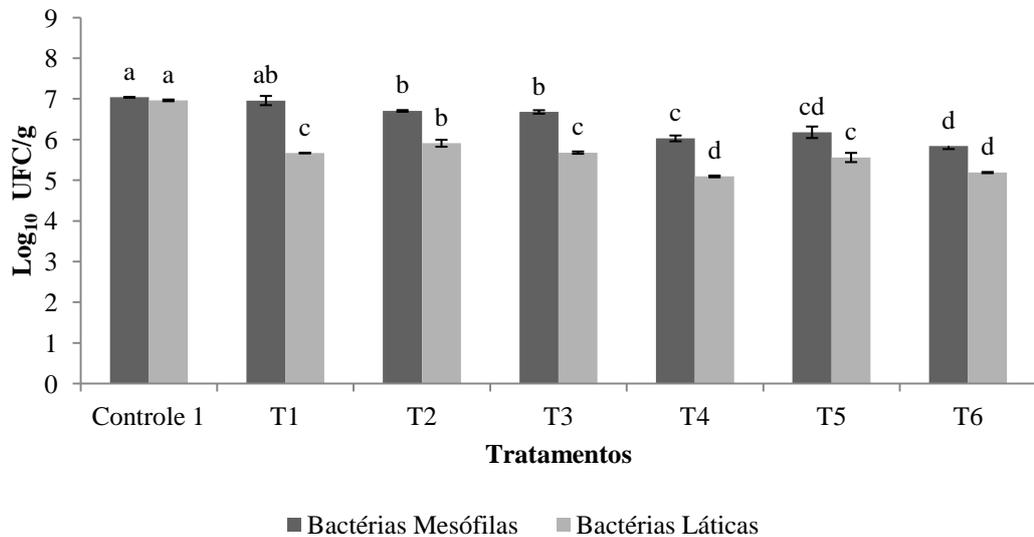
O tratamento T1, o qual permaneceu menor tempo no micro-ondas (10 s em potência alta) não diferiu do controle em relação ao número de bactérias mesófilas, porém, o número de bactérias lácticas reduziu significativamente ($p < 0,05$) em relação ao controle e ao T2 que foi tratado por 15 s, também em potência alta.

Os tratamentos que apresentaram os melhores efeitos na redução das bactérias lácticas e mesófilas foram T4, T5 e T6, sendo o T6 o tratamento com maior redução do número tanto de bactérias lácticas como de mesófilas. T2 e T3 foram ambos tratados por 15 s, mas T3, tratado em temperatura média, apresentou número de bactérias significativamente mais baixo ($p > 0,05$) do que T2 que foi tratado em potência alta.

Apesar de os tratamentos T1 a T6 terem apresentado redução de bactérias com significância estatística, os resultados não são satisfatórias para a aplicação em escala industrial, pois a redução não chegou a 2 ciclos log em nenhum dos tratamentos. A variação de potência entre média e máxima parece não ter afetado a redução de bactérias nas condições experimentais utilizadas.

Neste primeiro momento não foram coletados dados de temperatura, pois buscou-se apenas verificar os efeitos sobre bactérias lácticas e mesófilas de tratamentos que não afetassem visualmente as salsichas, sem considerar outras variáveis. Sendo que desta maneira não é possível correlacionar os aspectos microbiológicos com as com o aquecimento gerado pelo tratamento.

Figura 3.4 - Bactérias mesófilas e lácticas em salsichas pasteurizadas em micro-ondas sem a presença de embalagem.



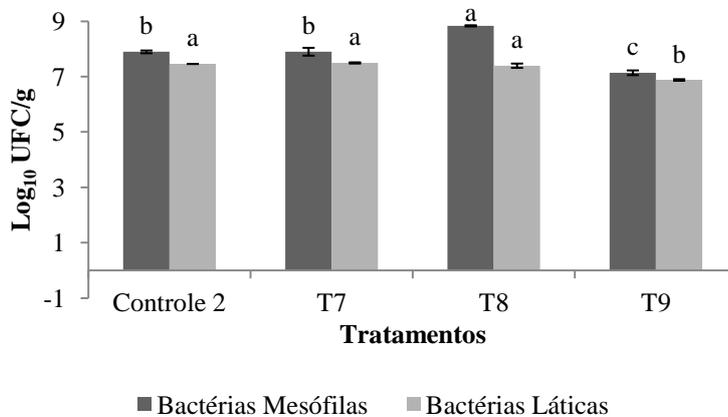
Controle: sem exposição a microondas; **T1:** tratamento com microondas durante 10 segundos em potência alta; **T2:** tratamento com microondas durante 15 segundos em potência alta; **T3:** tratamento com microondas durante 15 segundos em potência média; **T4:** tratamento com microondas durante 20 segundos em potência alta; **T5:** tratamento com microondas durante 20 segundos em potência média; **T6:** tratamento com microondas durante 25 segundos em potência média.

Letras distintas representam diferença estatística ($p < 0,05$) entre os tratamentos para o mesmo grupo de bactérias.

Em segundo momento, em salsichas tratadas em dois pratos sobrepostos no interior do micro-ondas (Figura 3.2 A), as análises de bactérias lácticas e mesófilas (Figura 3.5) também apresentaram resultados pouco expressivos. Como os tratamentos T7 a T9 foram dispostos em pratos com diferentes alturas foram coletados dados de temperatura de oito pontos distintos por tratamento (4 pontos no prato superior e 4 no prato inferior). A variação de temperatura encontra-se na Tabela 3.1.

O tratamento T7 não apresentou diferença significativa em relação ao controle, enquanto o T8 apresentou número de bactérias mesófilas superior ao do controle e dos demais tratamentos. T9 apresentou a maior redução em relação aos dois grupos de bactérias diferindo do controle e dos demais tratamentos.

Figura 3.5 - Número de bactérias mesófilas e lácticas de salsichas pasteurizadas em micro-ondas em número de 24, nas bordas de dois pratos esterilizados sobrepostos, utilizando sistema de absorção de excesso de radiação através da circulação de água.



Controle: sem exposição a micro-ondas; **T7-** tratamento com micro-ondas durante 1 minuto em potência alta; **T8:** tratamento com micro-ondas durante 2 minutos em potência alta; **T9:** tratamento com micro-ondas durante 4 minutos em potência alta. Letras distintas representam diferença estatística ($p < 0,05$) entre os tratamentos para o mesmo grupo de bactérias.

O T8 possivelmente apresentou aumento de bactérias mesófilas em relação ao controle por não atingir uma temperatura letal e não sofrer resfriamento rápido após o tratamento. Para facilitar o resfriamento após a pasteurização seria necessário que as salsichas estivessem protegidas de nova contaminação por meio de uma embalagem.

Para uma efetiva esterilização sem alteração da aparência do alimento seria necessário que a superfície da salsicha não ressecasse antes de todo o material ter atingido uma temperatura letal. As micro-ondas não geram um aquecimento uniforme, como pode ser visto na tabela 3.1. O T9 foi o tratamento que obteve a maior redução de bactérias lácticas e mesófilas, possivelmente por atingir temperatura mais alta que T7 e T8, porém apresentou a maior variação entre temperatura máxima e mínima (12 °C).

O aquecimento gerado por micro-ondas não é uniforme, como observado na Tabela 3.1 a variação de temperatura gerada em um mesmo material pode ser bem vultosa. Em materiais fluídos, por exemplo, o aquecimento é maior na superfície da matéria irradiada e diminui gradativamente do topo para o interior do material (ANANTHESWARAN e LIU, 1994).

A não uniformidade do aquecimento gerado por micro-ondas pode ser afetada pelas propriedades dielétricas e dimensão do material, e/ ou da distribuição não uniforme do campo eletromagnético na cavidade do forno (LI, WANG e KUDRA, 2011). A utilização de micro-

ondas pulsado e placas de cerâmica como suporte são exemplos de procedimentos que otimizam o aquecimento reduzindo a formação de pontos quentes em carne suína (BASAK e RAO, 2010). Componentes presentes no material a ser irradiado também influenciam o padrão de aquecimento. O sal, um ingrediente comum em muitos alimentos, inclusive nas salsichas é um elemento que quando incorporado a um produto, pode aumentar o tempo necessário para o cozimento e diminuir a uniformidade do aquecimento (JEONG, et al., 2007).

Nos fornos de micro-ondas domésticos a distribuição das ondas no interior é bastante desigual. No modelo de forno utilizado neste experimento Bizzi et al. (2011) verificaram que o aquecimento, ou seja a incidência do campo eletromagnético, é maior nas bordas do prato e reduz em direção ao centro do mesmo.

O aquecimento por micro-ondas gera gradientes de temperatura, de concentração de umidade com mesma direção, o que promove remoção da água sem formação de crosta (LI, WANG e KUDRA, 2011). O que é uma excelente característica para uso na secagem de materiais, mas não é de interesse quando resulta em redução de peso do produto. Por isso, pasteurizar salsichas sem proteção da superfície, fora da embalagem não se mostra uma boa alternativa. Também há outra desvantagem na ausência de embalagem, que é a susceptibilidade a nova contaminação após o processo de esterilização. Por esses motivos passou-se a pasteurizar as salsichas embaladas.

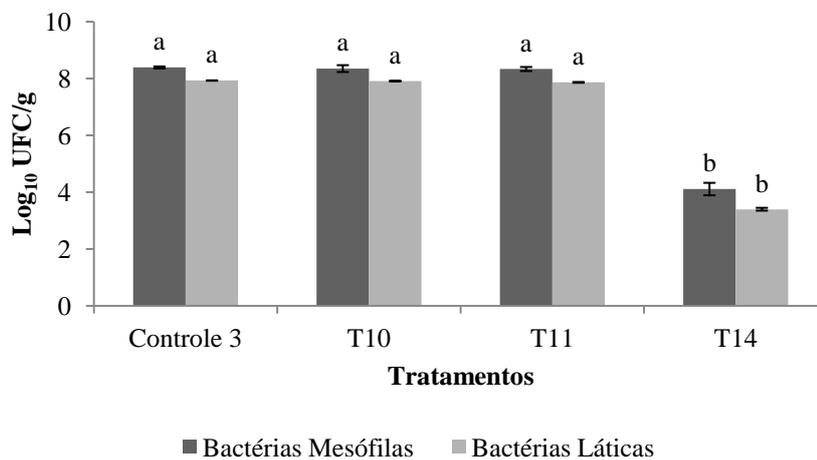
Tabela 3.1 - Temperaturas máximas e mínimas de salsichas pasteurizadas em micro-ondas em número de 24, nas bordas de dois pratos esterilizados sobrepostos, utilizando sistema de absorção de excesso de radiação através da circulação de água.

Tratamento	Temperatura (°C)	
	Mínima	Máxima
T7	34	40
T8	36	42
T9	44	56

T7- tratamento com micro-ondas durante 1 minuto em potência alta; **T8**: tratamento com micro-ondas durante 2 minutos em potência alta; **T9**: tratamento com micro-ondas durante 4 minutos em potência alta.

Dos tratamentos processados embalados em pares e pré-aquecidos (Figura 3.6) apenas T10 e T11 foram analisados, pois T12 e T13 tiveram a embalagem rompida antes de concluído o tempo de processamento (Figura 3.7). As salsichas T10 e T11 não apresentaram redução significativa de bactérias lácticas e mesófilas e atingiram temperaturas médias de 46 e 52 °C respectivamente. Temperaturas estas relativamente baixas já que a temperatura utilizada para pasteurização comercial rápida é de 72-75 °C (EVANGELISTA, 2001).

Figura 3.6 - - Número de bactérias mesófilas e lácticas de salsichas pasteurizadas em micro-ondas, embaladas a vácuo, duas por embalagem, dispostas na borda do prato do aparelho, pré-aquecidas e embaladas á vácuo, em número de 5 por embalagem (300g) mergulhadas em 800ml de água.



Controle: sem exposição a micro-ondas; **T10:** tratamento com micro-ondas durante 4 minutos em potência alta, temperatura inicial de 18°C; **T11:** tratamento com micro-ondas durante 4 minutos em potência alta, temperatura inicial de 30 °C; **T14:** tratamento em banho-maria no micro-ondas durante 12 minutos em potência alta. Letras distintas representam diferença estatística ($p < 0,05$) entre os tratamentos para o mesmo grupo de bactérias.

As embalagens plásticas quando utilizadas em forno de micro-ondas podem sofrer mudanças na estrutura cristalina, apresentar furos e rachaduras e demonstrar redução da resistência a impacto. O aquecimento em micro-ondas também acarreta em migração de substâncias da embalagem para o alimento, sendo algumas dessas substâncias produzidas durante o tratamento com micro-ondas e o teor e quantidade de substâncias migrantes, altamente dependentes da temperatura atingida pelo material (GUILARD, IGLESIAS e GONTARD, 2010).

Figura 3.7 - Embalagem rompida devido à formação de vapor contendo as salsichas dos tratamentos T12 e T13



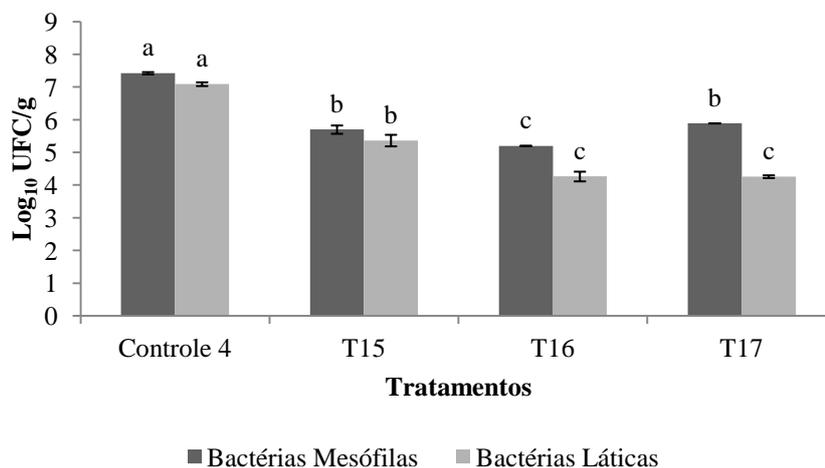
As embalagens atualmente usadas no mercado brasileiro para o envase a vácuo produtos cárneos são produzidas, de uma combinação de polietileno que confere estrutura e barreira contra vapor e/ou copolímero de cloreto de vinila e cloreto de vinilideno (PVDC), politereftalato de etileno (PET), poliamida (PA) ou álcool de vinil etileno (EVOH) para servir de barreira à permeação ao oxigênio. As embalagens para salsicha são termoformadas, ou seja, o material tem capacidade de estiramento e conseqüentemente sofre redução da espessura (OLIVEIRA et al., 2006).

O rompimento da embalagem indica que a mesma não apresenta resistência suficiente para suportar o vapor formado no seu interior. Para a pasteurização em micro-ondas é necessário o desenvolvimento de recipiente adequado, com resistência ao calor e ao vapor.

O PET, um dos materiais mais utilizados nas embalagens de salsicha, é resistente ao calor e não produz quantidade significativa de oligômeros a temperaturas inferiores a 150 °C (FREIRE, REYES e CASTLE, 1998), mas não apresenta flexibilidade. Já a poliamida, também presente nas embalagens, pode resultar em migração de compostos potencialmente nocivos a saúde para os alimentos em diversas situações de processamento ou aquecimento (FELIX et al., 2008).

Com o objetivo de proteger a embalagem e de absorver o excesso de radiação foi utilizada a imersão em água. Destes o mais eficiente foi o tratamento de 12 min com pausas de 5s na emissão das micro-ondas (T14 - figura 3.6), que resultou em um percentual de redução de 51,07% para bactérias mesófilas e de 56,81% para bactérias lácticas. Nessas condições foi possível controlar o aquecimento e principalmente a formação de vapor, permitindo que as salsichas atingissem temperaturas entre 68-71 °C sem o rompimento da embalagem. Este dado indica que para a pasteurização em micro-ondas de salsichas embaladas, seja executada por tempo efetivo é necessário que haja controle do aquecimento. A utilização de controle automático de aquecimento através de infravermelho é uma metodologia que possibilitaria a redução de micro-organismos em salsichas embaladas de maneira linear com o aumento da temperatura, como o constatado por Huang e Sites (2007) em que o tratamento por micro-ondas com controle de temperatura foi mais eficiente do que a imersão em água quente causando, porém uma deformação do produto.

Figura 3.8 - Número de bactérias mesófilas e lácticas de salsichas pasteurizadas em micro-ondas, embaladas á vácuo, em número de 5 por embalagem, dispostas 2 embalagem de aproximadamente 300 g cada, mergulhadas recipiente com 800 ml de água, sem sistema de água circulante no interior do forno.



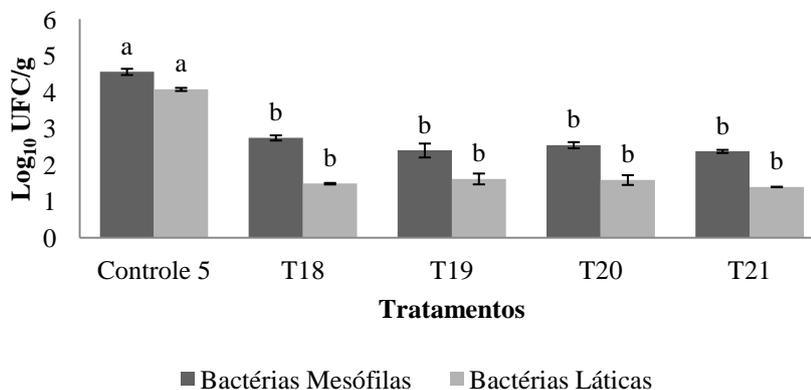
Controle: sem exposição a microondas; **T15:** tratamento com micro-ondas em banho-maria durante 4 minutos em potência alta, embaladas 5 por pacote; **T16:** tratamento com micro-ondas em banho-maria durante 5 minutos em potência alta, embaladas 5 por pacote; **T17:** tratamento com micro-ondas em banho-maria durante 6 minutos em potência alta, embaladas 5 por pacote.

Letras distintas representam diferença estatística ($p < 0,05$) entre os tratamentos para o mesmo grupo de bactérias.

Os demais tratamentos em banho-maria em potência alta (T15-T17 – Figura 3.8) demonstraram uma redução de bactérias mesófilas e lácticas pequena, porém significativa em relação ao controle. Observa-se que o T17, tratado durante 6 min, resultou em menor redução de bactérias mesófilas do que o T16, tratado por 5min. Seria esperado resultado inverso, porém, não foi procedido resfriamento rápido após o tratamento. T17 foi irradiado por mais tempo e, portanto atingiu temperatura média maior (65 °C) que a de T16 (60 °C) e de T15 (49 °C), ficando mais tempo em temperatura crítica para o crescimento microbiano antes de atingir a temperatura de refrigeração.

Como se pressupôs que salsichas que atingiram temperatura interna maior apresentavam maior número de bactérias por ficarem por um período mais longo numa zona de temperatura ótima para o crescimento bacteriano, foi analisado o efeito de dois tipos de resfriamento pós-tratamento: resfriamento por imersão em salmoura a 2% (-1,5 °C) e resfriamento em *freezer* a -18 °C (Figura 3.9).

Figura 3.9- Número de bactérias mesófilas e lácticas de salsichas pasteurizadas em micro-ondas, embaladas á vácuo, em número de 5 por embalagem, dispostas 2 embalagem de aproximadamente 300 g cada, mergulhadas recipiente com 800 ml de água, sem sistema de água circulante no interior do forno e resfriadas em *freezer* ou salmoura.



Controle: sem exposição a micro-ondas; **T18:** tratamento com micro-ondas em banho-maria durante 5 minutos em potência alta, embaladas, resfriamento em *freezer*; **T19:** tratamento com micro-ondas em banho-maria durante 5 minutos em potência alta, embaladas, resfriamento em salmoura; **T20:** tratamento com micro-ondas em banho-maria durante 6 minutos em potência alta, embaladas, resfriamento em *freezer*; **T21:** tratamento com micro-ondas em banho-maria durante 6 minutos em potência alta, embaladas, resfriamento em salmoura. Letras distintas representam diferença estatística ($p < 0,05$) entre os tratamentos para o mesmo grupo de bactérias.

O resfriamento com salmoura a $-1,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ mostrou-se mais rápido do que em *freezer* a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Para T18 e T19, que atingiram a média de 50°C no interior o tempo necessário para se atingir $7\text{ }^{\circ}\text{C}$ foi de 15 min em salmoura e de 66 min em *freezer*. Já para T20 e T21 que atingiram a média de $61\text{ }^{\circ}\text{C}$ no interior o tempo aumentou para 18 min para o resfriamento em salmoura e para 75 min para o resfriamento em *freezer*. O resfriamento em salmoura se mostrou a melhor opção de resfriamento, pois concede mais agilidade ao processo.

Os tipos de resfriamento utilizados não diferiram em relação à redução de bactérias (Figura 3.9), mas, possivelmente, evitaram a proliferação acelerada que pode ser ocasionada por longo tempo de permanência em temperaturas moderadas. Assim mantiveram a redução de aproximadamente 3 ciclos logaritmos gerada pelo tratamento com micro-ondas. A redução de bactérias apresentada pelos tratamentos T18 a T21 ainda não é o ideal para a pasteurização, mas indica que com as adaptações dos métodos e equipamentos é possível chegar a resultados mais satisfatórios para aplicação industrial da pasteurização por micro-ondas.

4. PASTEURIZAÇÃO DE SALSICHAS COM ULTRASSOM

4.1. Experimento I

4.1.1. Materiais e Métodos

4.1.1.1. Amostras

Pacotes de 5 kg de salsichas do tipo *hot dog* tingidas com urucum com 30 dias de fabricação, foram adquiridos no comércio de Santa Maria-RS, observando-se o lote. Estes foram transportados em maleta térmica até a Universidade Federal de Santa Maria, e mantidos a 5°C até a realização dos tratamentos propostos.

4.1.1.2. Embalagens de estudo

Para cada tratamento 5 salsichas foram colocadas dentro de uma embalagem pré-formatada de material com baixa permeabilidade ao oxigênio e dimensões de aproximadamente 19x16 cm. Para o selamento foi utilizada embaladora a vácuo de mesa Selovac® com vácuo e solda na posição 5. A integridade da embalagem foi testada com uma solução de safranina em isopropanol para verificar a integridade geral da embalagem e da solda por meio de averiguação da presença de furos ou fendas (Figura 4.2 A). A mesma solução foi utilizada para avaliar a resistência da embalagem ao ultrassom, funcionando como indicador de rompimento (Figura 4.2 B).

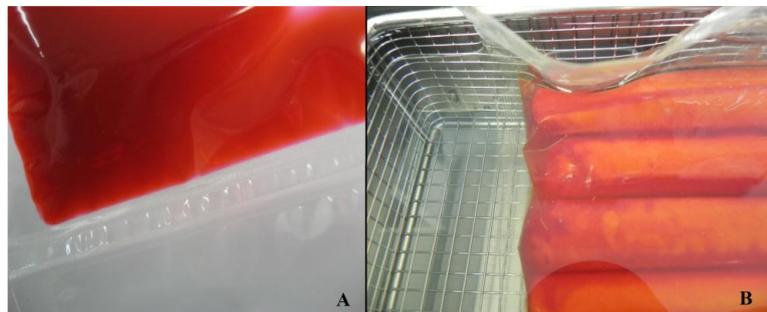
4.1.1.3. Banhos ultrassônicos

Foram utilizados dois banhos ultrassônicos Elma® (Figura 4.1) modelos TI-H-5 com frequências de 25 e 45 kHz e TI-H-10 com frequências de 35 e 130 kHz com capacidade de tanque de 3,5L⁻¹ e 8,6 L⁻¹, respectivamente e voltagem de trabalho de 200 W.

Figura 4.1– Banhos de ultrassom utilizados nos experimentos. A) Vista geral do banho ultrassônico. B) Vista do painel de controle do banho ultrassônico.



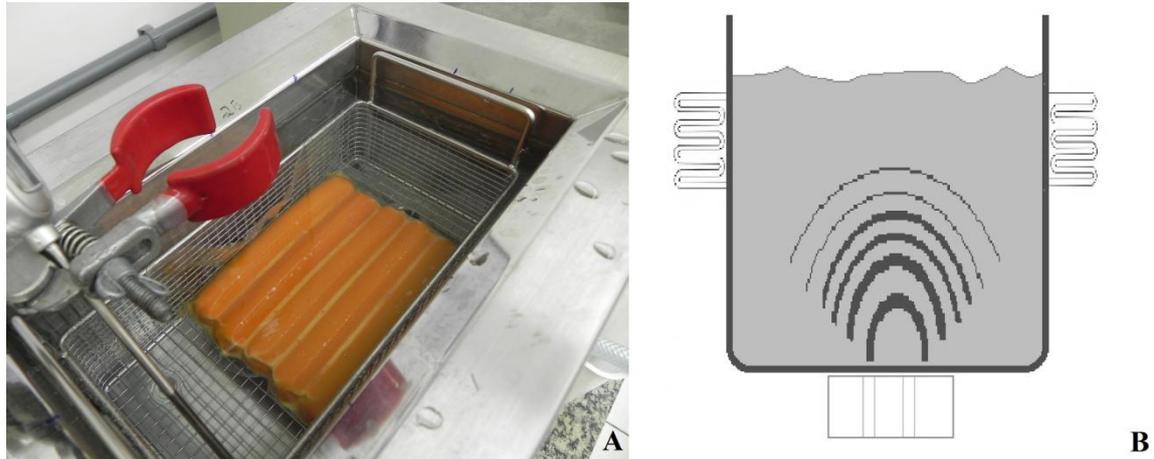
Figura 4.2– Embalagem contendo as salsichas e o corante safranina em propanol, com a finalidade de avaliar a integridade da embalagem, fechamento a vácuo (A) e o efeito do ultrassom durante e após tratamento (B).



4.1.1.4. Aplicação de ultrassom

Para proceder aos tratamentos as embalagens foram centralizadas dentro do tanque de água dos banhos ultrassônicos (Figura 4.3 A). As salsichas foram sonicadas metade do tempo com uma face para baixo e ao outra metade do tempo com a outra face para baixo, pois a geração das ondas acústicas se dá na parte inferior do tanque do banho (Figura 4.3 B).

Figura 4.3– Posição da embalagem contendo as salsicha dentro do banho de ultrassom (A), e sentido das ondas de ultrassom dentro do banho (B).



4.1.1.5. Investigação preliminar do efeito de diferentes frequências e temperaturas

Foram examinados parâmetros de temperatura e de frequência de ultrassom. As frequências analisadas foram 130 kHz (T130/20 e T130/60) e 25 kHz (T25/20 e T25/60) nas temperaturas de 20 ± 2 °C e 60 ± 2 °C, durante 10 min. Foram avaliados os efeitos sobre a cor da superfície, pH da superfície e interior, oxidação lipídica, bactérias mesófilas e bactérias lácticas.

4.1.1.6. Delineamento experimental

Um delineamento experimental do tipo composto central rotacional (fatorial 22) com pontos axiais foi desenvolvido para determinação das condições de tempo e temperatura ideais.

Os fatores temperatura do banho e tempo de pasteurização (variáveis independentes) foram estudados em diferentes níveis, os demais parâmetros foram fixados, como bactérias mesófilas, bactérias lácticas, TBARS, cor (L^* , a^* e b^*) e pH. Nos experimentos foram estudadas as faixas de temperatura de 40 a 80°C e de tempo de 2 a 12 minutos. Na Tabela 4.1, encontra-se a matriz completa do planejamento com os níveis codificados e os correspondentes valores reais empregados.

Tabela 4.1 - Fatores de domínio experimental utilizados para determinação das condições de tempo e temperatura ideais.

Fator	Níveis experimentais				
	$-\alpha^a$	-1	0	1	α^a
Tempo (min)	2	3,47	7	10,53	12
Temperatura (°C)	40	45	60	74	80

^a $\alpha = 1,414$

A resposta do delineamento foi analisada pela técnica Metodologia de Superfície de Resposta (RSM). Foram obtidos os dados experimentais, onde cada experimento foi analisado. O delineamento foi constituído de 12 experimentos, dos quais quatro foram replicadas do ponto central.

4.1.1.7. Investigação da frequência de 25 kHz nas temperaturas de 60°C e 75°C sobre *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*

Foi analisado o efeito dos tratamentos com ultrassom sobre as bactérias patogênicas *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus* inoculadas nas salsichas. O inócuo foi preparado a partir de cepas congeladas reativadas em caldo BHI por 72 h a temperatura de 37 °C. A concentração de células foi ajustada utilizando-se o tubo 0,5 da escala nefolométrica de Mc Farland. Após o ajuste, 1 ml do inócuo foi adicionado em cada embalagem de salsicha e então foi realizado o fechamento a vácuo. Realizaram-se cinco tratamentos, sendo um similar ao industrial (TI), no qual as salsichas ficaram em banho-maria até atingir 73 °C no interior (16 min para atingir 73 °C, e permaneceu por 1 min nessa temperatura) dois tratamentos com ultrassom sendo um a 60 °C e o outro a 75 °C (US60 e US75) em 25 kHz de frequência durante 10 minutos. Utilizou-se essa frequência e esse tempo, uma vez que nos testes preliminares demonstraram maior eficácia na redução do número de colônias de bactérias, e seus tratamentos equivalentes sem a utilização de ultrassom nas mesmas temperaturas e tempos (SUS60 e SUS75).

4.1.1.8. Análises microbiológicas

Porções de 25 g da amostra foram pesadas assepticamente e homogeneizadas com 225 mL de água peptonada em *bagmixer* por 60 s. Foi realizada a contagem padrão de bactérias aeróbias mesófilas em meio Plate Count Agar (PCA), incubado a 30-32 °C por 48 h e a contagem de bactérias lácticas em meio MRS com sobre camada de ágar base, incubados a 37 °C por 72 h. A contagem de *S. aureus* foi realizada em ágar Baird Parker incubado a 35-37 °C durante 48 h. Posteriormente foram contadas colônias típicas e atípicas. Para a confirmação foi realizada coloração de Gram e também foram selecionadas cinco colônias típicas de cada placa para teste da coagulase em tubo. A análise de *B. cereus* foi feita em ágar *Bacillus cereus* base suplementado com polimixina B e emulsão de gema de ovo. Foi realizada a contagem de colônias típicas azuis. A contagem foi realizada em contador de colônias em e os resultados foram expressos em \log_{10} UFC/g⁻¹.

4.1.1.9. pH

A determinação do pH foi realizada homogeneizando-se 10 g de amostra com 100 ml de água destilada. O homogeneizado foi submetido aos eletrodos do pHmetro Digimed[®] DM-22, até sua estabilização, quando foi procedida a leitura do pH. A análise foi realizada em triplicata.

4.1.1.10. Oxidação lipídica

A oxidação lipídica foi determinada pelo método substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS), adaptando-se metodologia proposta por RAHARJO et al., (1992). Uma alíquota de 10 g da amostra foi fracionada em pedaços pequenos e a ela foram adicionados 1 ml de butil hidroxitolueno (BHT) 0,15%, 4 ml de sulfanilamida 0,5% e 36 ml de ácido tricloroacético (TCA) 5%. Estes foram homogeneizados por um minuto. Após, a solução foi centrifugada por 10 min a 3000 rpm e filtrada em papel filtro qualitativo em balão volumétrico. O volume obtido foi aferido até 50 ml com TCA 5%. Do balão foram retiradas alíquotas de 2 ml da solução filtrada e transferidas para tubos de ensaio com a adição de 2 ml de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,08 M. Os tubos de ensaio foram aquecidos em banho-maria a 40 °C por 80 min (WANG et al., 2002) e após arrefecerem foi realizada leitura em espectrofotômetro a 532 nm. Os valores de TBARS foram expressos em mg de

malondialdeído por kg de amostra e para determinar o fator de conversão foi realizada uma curva com o padrão TEP (1, 1, 3, 3- tetraethoxypropano), seguindo as mesmas condições de análise das amostras.

Como as salsichas produzidas no país podem conter até 2% de amido e até 7% de açúcares totais no produto integral (BRASIL, 2000), e como pode ocorrer a reação do TBA com as açúcares em temperaturas acima de 40°C (WANG et al., 2003), neste estudo, empregou-se na determinação a temperatura de 40°C durante 80 minutos, visando evitar a reação entre TBA e açúcares.

4.1.1.11. Avaliação objetiva da cor

A avaliação da cor foi realizada pelo sistema CIELab utilizando um colorímetro Minolta Meter CR-310 operando com fonte de luz D65 e ângulo de observação de 10°. O instrumento foi calibrado utilizando como referência a cerâmica branca. Os valores de cor foram expressos como luminosidade (L^*), direção para o vermelho (a^*) e direção para o amarelo (b^*). Foram coletados dados de 5 pontos distintos na superfície e 5 pontos distintos no interior da amostra fatiada e posteriormente calculou-se a média dos valores.

4.1.1.12. Imagens térmicas

Foi realizada análise da temperatura interna e externa dos experimentos com e sem o emprego do ultrassom a 75 °C por 10 min, utilizando-se uma câmera termográfica de infravermelho Flir série A com emissividade ajustada para 0,95. As imagens obtidas foram analisadas com o FLIR Research IR Professional Analyzing Software e comparadas qualitativa e quantitativamente.

4.1.1.13. Análise estatística

Inicialmente, foram obtidas estatísticas descritivas simples dos dados obtidos (média e desvio-padrão). Para a comparação de médias entre grupos foi utilizada análise de variância (ANOVA) e o Post Hoc Test Tukey para comparações múltiplas. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$ com intervalo de confiança de 95% e os dados foram analisados com o auxílio do programa SAS.

4.1.2. Resultados e discussão

4.1.2.1. Investigação preliminar do efeito de diferentes frequências e temperaturas na pasteurização das salsichas

Nessa investigação preliminar foram utilizadas as frequências de 130 kHz e 25 kHz nas temperaturas de 20 ± 2 °C e 60 ± 2 °C durante 10 minutos.

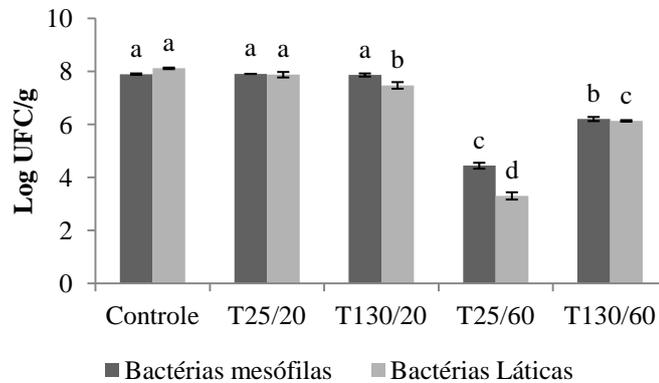
4.1.2.1.1. Análises microbiológicas

O resultado da análise de bactérias mesófilas e lácticas em salsichas tratadas nas frequências de 25 e 130 kHz em temperaturas de 20 e 60 °C pode ser visto na Figura 4.4.

Observou-se uma redução no número de colônias de aproximadamente 3,45 ciclos log das bactérias mesófilas e de 4,8 ciclos log das bactérias lácticas, em relação ao controle, para o T25/60 (Figura 4.4). No T130/60 também ocorreu redução em ambos os grupos de bactérias avaliadas, mas essa não chegou a atingir 3 ciclos log. No T135/20 ocorreu uma pequena redução no número de colônias nas bactérias lácticas somente. Com esses resultados conclui-se que a temperatura de 60°C apresentou efeito importante na redução do número de colônias das bactérias, e que a frequência de 25 kHz, apresentou efeito bactericida melhor do que a frequência de 130 kHz.

Na literatura científica temos que o ultrassom pode agir na desinfecção desestruturando aglomerados de células bacterianas ou atuando diretamente na destruição destas. Que altas frequências de ultrassom (512 kHz) são eficazes para desfazer os aglomerados, porém tem pouca ação sobre a destruição de células individuais. Enquanto que baixas frequências (20-38 kHz) promoveriam maior taxa de morte bacteriana (JOYCE et al., 2003). Valero et al. (2007) verificaram, em suco de laranja, que a frequência de 23 kHz (300 W) de ultrassom promoveu maior redução no número de colônias de bactérias mesófilas do que a frequência de 500 kHz (240 W). Os autores mencionaram que esse fato seria devido à frequência de 23 kHz gerar temperatura final mais elevada após o tratamento.

Figura 4.4- Número de colônias de bactérias mesófilas e bactérias lácticas em salsichas, logo após tratamento com diferentes frequências de ultrassom (25 kHz e 135 kHz) e temperaturas de banho-maria (20°C e 60°C) durante 10 minutos dentro do banho de ultrassom.



Controle: não sofreu tratamento térmico e/ou de ultrassom; **T25/20:** tratamento em banho de ultrassom a 20°C em frequência de 25 kHz por 10min; **T130/20:** tratamento em banho de ultrassom a 20°C em frequência de 130 kHz por 10min; **T25/60:** tratamento em banho de ultrassom a 60°C em frequência de 25 kHz por 10min; **T130/60:** tratamento em banho de ultrassom a 60°C em frequência de 130 kHz por 10min. Letras distintas representam diferença estatística ($p < 0,05$) entre os tratamentos para o mesmo grupo de bactérias.

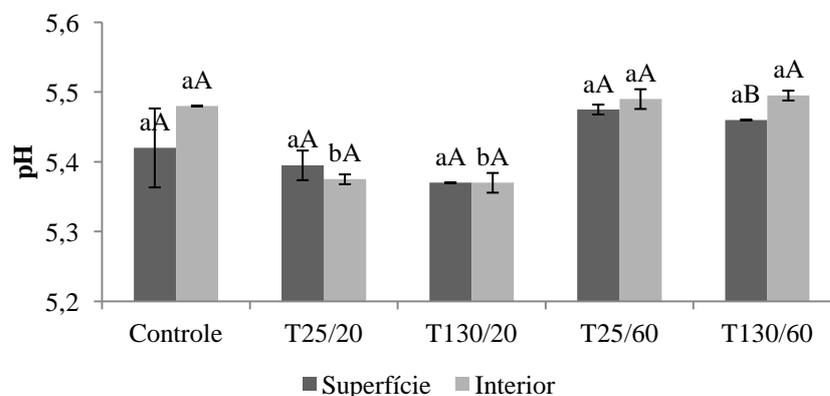
Mason et al. (2011) observaram que frequências entre 20 kHz e 45 kHz apresentaram maior efeito de cavitação ultrassônica em células, do que frequências acima de 100 kHz. O efeito de cavitação ultrassônica promove rompimento na membrana celular das células, promovendo assim a sua morte.

O resultados obtidos vão ao encontro do que é relatado na literatura, pois frequências baixas de ultrassom têm sido utilizadas com objetivo de pasteurização em diversos estudos. Nesse sentido Raso et al., (1998) utilizaram a combinação de ultrassom (20 kHz) com alta pressão (0 – 600 kPa) nas temperaturas entre 55 °C e 90 °C (termossonicação). Observaram que na frequência de 20 kHz aplicada com sonda ultrassônica, na pressão de 500 kPa e na temperatura de 70 °C ocorreu redução de 99% de esporos de *Bacillus subtilis* na suspensão em caldo de enriquecido. A inativação de *E. coli* em água e em modelo simulado de suco, foi eficiente quando da aplicação através de sonda da frequência de 24kHz tanto a 27 °C como a 70 °C (SALLEH-MACK e ROBERTS, 2007; MUÑOZ et al., 2011). Ocorreu redução no número de colônias de *Listeria monocytogens* e de *Salmonella typhimurium* em alface, quando submetidas durante 5 minutos a frequência de 40 kHz combinada com a presença de ácidos orgânicos na água do banho. Quando da utilização de solução de ácido cítrico a 2%, a redução foi de 3,18 log₁₀ UFC/g para *Salmonella* (SAGONG et al., 2011).

4.1.2.1.2. Análises de pH

Na figura 4.5 são apresentados os valores de pH em salsichas logo após o tratamento com diferentes frequências de ultrassom e temperaturas de banho-maria durante 10 minutos. Os valores de pH do controle e dos quatro tratamentos encontra-se abaixo dos valores encontrados em salsichas na literatura, uma vez que Gokoglu et al. (2010) e Mercadante et al. (2010), encontraram em salsichas embaladas a vácuo valores de pH 6,47 e 6,70 respectivamente. O pH de 5,5, apresentado pelo T130/60, foi o mais próximo ao observado em salsichas produzidas com carne exclusivamente bovina e soro de leite, que foi de 5,7 (YETIM et al., 2006), porém esse valor ainda foi superior aos encontrados no presente estudo. O grande número de colônias de bactérias lácticas (Figura 4.4) presente no produto, possivelmente, tenha influenciado nesses valores baixos de pH encontrados nas salsichas.

Figura 4.5- Valores de pH em salsichas logo após tratamento com diferentes frequências de ultrassom (25 kHz e 135 kHz) e temperaturas de banho-maria (20°C e 60°C) durante 10 minutos.



Controle: não sofreu tratamento térmico e/ou de ultrassom; **T25/20:** tratamento em banho de ultrassom a 20°C em frequência de 25kHz por 10min; **T130/20:** tratamento em banho de ultrassom a 20°C em frequência de 130kHz por 10min; **T25/60:** tratamento em banho de ultrassom a 60°C em frequência de 25kHz por 10min; **T130/60:** tratamento em banho de ultrassom a 60°C em frequência de 130kHz por 10min. Letras minúsculas distintas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos e letras maiúsculas distintas representam diferença significativa entre interior e superfície do mesmo tratamento.

Os valores de pH de T25/20 e T130/20 apresentaram pequena redução em relação ao controle e aos demais tratamentos, porém esta só foi significativa ($p < 0,5$) na parte interna das

salsichas e não diferiu do pH da porção externa dos mesmos tratamentos. Possivelmente o ultrassom nas frequências utilizadas promoveu o abaixamento do pH quando não associados a alta temperatura (60°C). A pequena redução do pH de T25/20 e T130/20 pode ter refletido na cor (Tabela 4.2) das salsichas, aumentando a luminosidade.

O T130/60 não apresentou diferença de pH em relação ao controle, mas o valor pH da superfície foi significativamente menor em relação ao valor do seu interior.

O tratamento T25/60 não apresentou alteração significativa do pH em relação ao controle. Controle e T25/60 apresentaram média de pH entre interior e superfície de 5,45 e 5,49, respectivamente, demonstrando os valores mais próximos aos encontrados na literatura (YETIM et al., 2006; FERREIRA et al., 2003).

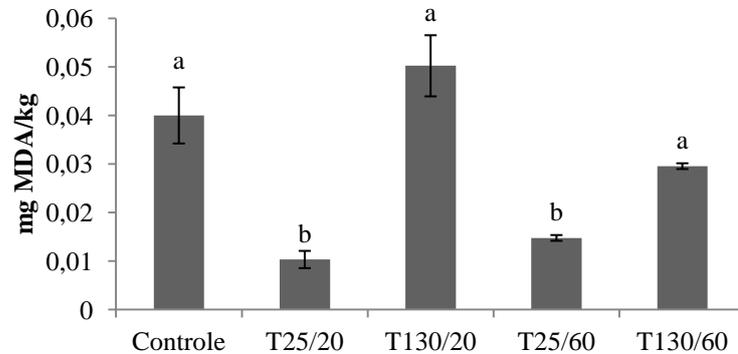
4.1.2.1.3. Análise de oxidação das gorduras (TBARS)

Os valores de TBARS nas salsichas tratadas com frequências de 25kHz e 130kHz, nas temperaturas de 20°C e 60°C encontram-se na Figura 4.6.

Os valores de TBARS nas salsichas tratadas com a frequência de 25kHz, nas temperaturas de 20°C e 60°C, foram menores e diferiram significativamente ($p < 0,05$) dos valores dos demais tratamentos e do controle, porém não diferiram entre si (Figura 4.6). Os tratamentos T130/20 e T130/60 não diferiram entre si e do controle.

O valor de TBARS encontrado no presente estudo em todos os tratamentos e no controle foi menor do que o encontrado na literatura (Figura 4.6). Salsichas com eritorbato de sódio ou com a adição de diferentes pigmentos (urucum, zeaxantina, licopeno e β -caroteno), cozidas até temperatura de 72-74°C no interior e embaladas a vácuo apresentaram valores de 0,29 mg MDA/kg logo após a fabricação, e até 0,34 mg MDA/kg após 45 dias de armazenamento (MERCADANTE et al., 2010). Já em salsichas com substituição parcial da gordura animal por óleo de girassol o valor da análise de TBARS foi de 0,25 a 0,45 mg MDA/kg para o produto armazenado a 4°C por seis semanas (FERREIRA et al., 2006). Os valores encontrados neste estudo foram de no máximo 0,05 mg MDA/kg para o tratamento T130/20 e no mínimo de 0,01 mg MDA/kg para o T25/20.

Figura 4.6- Valores de TBARS (mg/kg de amostra) em salsichas logo após tratamento com diferentes frequências de ultrassom (25 kHz e 135 kHz) e temperaturas de banho-maria (20°C e 60°C) durante 10 minutos.



Controle: não sofreu tratamento térmico e/ou de ultrassom; **T25/20:** tratamento em banho de ultrassom a 20°C em frequência de 25 kHz por 10min; **T130/20:** tratamento em banho de ultrassom a 20°C em frequência de 130 kHz por 10min; **T25/60:** tratamento em banho de ultrassom a 60°C em frequência de 25 kHz por 10min; **T130/60:** tratamento em banho de ultrassom a 60°C em frequência de 130 kHz por 10min. Letras minúsculas distintas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos e letras maiúsculas distintas representam diferença significativa entre interior e superfície do mesmo tratamento.

Chemat et al. (2004) constataram em óleo de girassol tratados com ultrassom nas frequências entre 20 a 45 kHz (baixa frequência) a 60 °C, a ocorrência de *off-flavours* e aumento no teor de ácidos graxos livres e de dienos conjugados. Ashokkumar et al. (2008) sugeriram que a cavitação acústica produzida em frequências de ultrassom a partir de 20 kHz, seria responsável pela geração de radicais livres e conseqüentemente a oxidação lipídica. Mas observaram mínima formação do radical $\cdot\text{OH}$, e também mínima redução na quantidade do antioxidante utilizado a frequência de 20 kHz, enquanto que na frequência média de 358kHz e na alta de 1062 kHz, ocorreram maior produção do radical e diminuição na quantidade do agente antioxidante. Mason et al. (2011) observaram maior formação de grupos hidroxilas e carbonilas em frequências de 583 kHz, 863 kHz e 1142 kHz do que nas frequências de 20 kHz e 40 kHz.

Fundamentados nesses dados da literatura podemos relatar que a produção de radicais livres na frequência de 25 kHz deve ter sido mínima, mas que por algum outro mecanismo oxidativo deve ter ocorrido degradação da gordura, porém os produtos da oxidação não foram detectados. Já na frequência de 130 kHz pode ter ocorrido maior formação de espécies oxidantes, mas em quantidade insuficiente para repercutirem de imediato na oxidação lipídica, sendo necessário maior tempo de armazenamento das salsichas, para que ocorresse a propagação da oxidação e a formação de TBARS.

Por outro lado as ondas ultrassônicas (>20000 kHz) podem afetar a estrutura de várias substâncias. No interior da bolha de cavitação, moléculas voláteis e hidrofóbicas podem sofrer pirólise devido às altas temperaturas atingidas dentro da cavidade (JOSEPH et al., 2009). Em água, a frequência de 200 kHz promove degradação de aldeídos como o formaldeído e, principalmente, o benzaldeído, possivelmente por possuir característica hidrofóbica (SEKIGUCHI, SASKI E SAKAMOTO, 2011). Estes dados da literatura demonstram que é possível que o ultrassom tenha algum efeito também sobre a estrutura do malonaldeído. Nos tratamentos a 130 kHz (20 °C e 60 °C) não foram percebidas reduções significativas de TBARS em relação ao controle, mesmo assim observou-se uma menor quantidade de MDA em T130/60, o que pode indicar que a associação da frequência de 130 kHz com a temperatura de 60°C contribua com a degradação de MDA (Figura 4.6). Como a frequência de 25 kHz apresentou menores valores de TBARS, isto pode indicar que em frequências baixas os aldeídos poderiam reagir também. Estudos sobre o efeito de ultrassom de baixa frequência sobre aldeídos não foram encontrados.

Apesar de T130/20 e T130/60 não diferirem significativamente entre si e em relação ao controle, observa-se que T130/20 apresentou o maior valor de oxidação entre os tratamentos, enquanto o tratamento em mesma frequência e em temperatura superior apresentou valor de oxidação menor do que a do controle (Figura 4.6). Aparentemente a temperatura de 60°C não promoveu maior oxidação nas gorduras, o que não era esperado, pois o aumento de temperatura aumenta a velocidade da reação. A temperatura elevada pode ter contribuído para uma maior taxa de degradação do malonaldeído por pirólise.

Nesse estudo também deve ser considerado que açúcares, nitrito, proteínas e outros aldeídos podem interferir na detecção do malonaldeído (MDA) pelo método de TBARS. Alguns interferentes podem superestimar o valor de MDA, enquanto outros podem reduzir sua detecção (OSAWA, FELÍCIO e GONÇALVES, 2005). A frequência de 25 kHz nas temperaturas 20°C e 60°C pode ter ocasionado a formação de algum composto que torne o MDA indisponível para reagir com o ácido tio barbitúrico (TBA), ou pode ter formando outros compostos aldeídicos que não reagem com o TBA. Como a salsicha é uma matriz complexa são necessários mais estudos sobre a interação de cada componente químico do produto com o ultrassom, não apenas para compreender sua interferência na oxidação das gorduras, mas também para averiguar a possível formação de produtos tóxicos.

4.1.2.1.4. Análise objetiva da cor

Na Tabela 4.2 são apresentados os valores de luminosidade (L^*), cor vermelha (a^*) e cor amarela (b^*) em salsichas logo após o tratamento com diferentes frequências de ultrassom e temperaturas de banho-maria durante 10 minutos.

Apenas o parâmetro luminosidade (L^*) foi afetado, sendo observado aumento em T25/20, T130/20 e T25/60 (Tabela 3.2).

T130/60 apresentou valor de L^* significativamente mais alto do que os outros tratamentos com ultrassom. O vermelho (a^*) e o amarelo (b^*) não variaram significativamente, porém a^* apresentou os maiores valores entre os tratamentos, e b^* os valores menores, indicando que a frequência de 130 kHz combinada com a temperatura de 60°C pode conceder mais vivacidade a cor do produto (Tabela 4.2).

Tabela 4.2 - Valores de luminosidade (L^*), vermelho (a^*) e amarelo (b^*) em salsichas logo após tratamento com diferentes frequências de ultrassom (25 kHz e 135 kHz) e temperaturas de banho-maria (20°C e 60°C) durante 10 minutos.

Tratamento	Cor		
	L^*	a^*	b^*
Controle	46,70 ^{bc} ± 1,21	24,84 ^a ± 3,07	34,50 ^a ± 4,38
T25/20	48,48 ^a ± 0,57	24,72 ^a ± 1,70	36,74 ^a ± 2,96
T130/20	48,28 ^a ± 0,72	24,94 ^a ± 1,17	38,15 ^a ± 2,30
T25/60	47,76 ^{ab} ± 0,55	24,32 ^a ± 1,39	36,51 ^a ± 2,43
T130/60	45,29 ^c ± 0,68	25,39 ^a ± 2,54	34,26 ^a ± 3,66

Controle: salsichas embaladas a vácuo sem pasteurização; **T25/20:** salsichas em banho de ultrassom por 10min a 20°C com frequência de 25 kHz; **T130/20:** em banho de ultrassom por 10min a 20°C com frequência de 130 kHz; **T25/60:** salsichas em banho de ultrassom por 10min a 60°C com frequência de 25 kHz; **T130/60:** salsichas em banho de ultrassom por 10min a 60°C com frequência de 130 kHz.

Letras distintas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos.

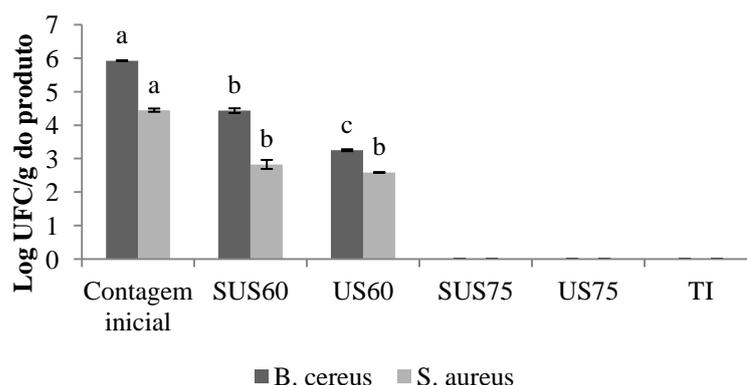
Devido à significativa redução no número de bactérias mesófilas e lácticas e nos valores de TBARS, além do baixo impacto em relação à cor e ao pH nas salsichas tratadas com 25 kHz de frequência, decidiu-se dar seguimento ao experimento utilizando apenas a frequência de 25 kHz.

3.2.2 Análise das bactérias patogênicas em salsichas tratadas com 25 kHz de frequência em temperaturas de 60°C e 75°C

Na Figura 4.7 encontra-se o número de colônias de *Bacillus cereus* e de *Staphylococcus aureus* em salsichas tratadas com (US) e sem (SUS) ultrassom por 10min em temperaturas de 60°C e 75°C, e pelo tratamento convencional similar ao utilizado na indústria (TI). O tratamento com ultrassom (25 kHz), mais o tratamento sem ultrassom ambos a 75°C na água do banho-maria durante 10 min, e o tratamento industrial tradicionalmente empregado, eliminaram os dois tipos de bactérias patogênicas inoculadas. O tratamento com ultrassom em frequência de 25 kHz na temperatura de 60 °C promoveu redução significativa ($p<0,05$) apenas no número de colônias de *B. cereus* em comparação ao tratamento a 60 °C sem emprego de ultrassom (Figura 4.7). O fato de o ultrassom não ter demonstrado ação significativa na redução do número de colônias de *S. aureus* estaria relacionada com a sua forma de coco, que é mais resistente aos efeitos da cavitação acústica do que a forma de bacilo, devido a sua menor área (CHEMAT, HUMA e KHAN, 2011).

Ambas as bactérias patogênicas avaliadas nesse trabalho são gram-positivas, logo são mais resistentes ao efeito bactericida do ultrassom, decorrente que a camada de peptidoglicano na membrana ser mais espessa que nas gram-negativas (DRAKOPOULOU et al., 2009).

Figura 4.7- Número de colônias de *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus*, em salsichas logo depois de submetidas ao tratamento térmico tradicional, e em banho a 60°C e 75°C com e sem a utilização de ultrassom.



Controle: salsichas inoculadas com *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus* sem tratamento térmico ou com ultrassom; **SUS60:** tratamento em banho termostático a 60°C por 10 min; **US60:** tratamento em banho de ultrassom de 25 kHz a 60°C por 10min; **SUS75:** tratamento em banho termostático a 75°C por 10 min; **US75:** tratamento em banho de ultrassom de 25 kHz a 75°C por 10min.

Letras minúsculas representam diferença estatística ($p<0,05$) entre os tratamentos para cada grupo de bactérias.

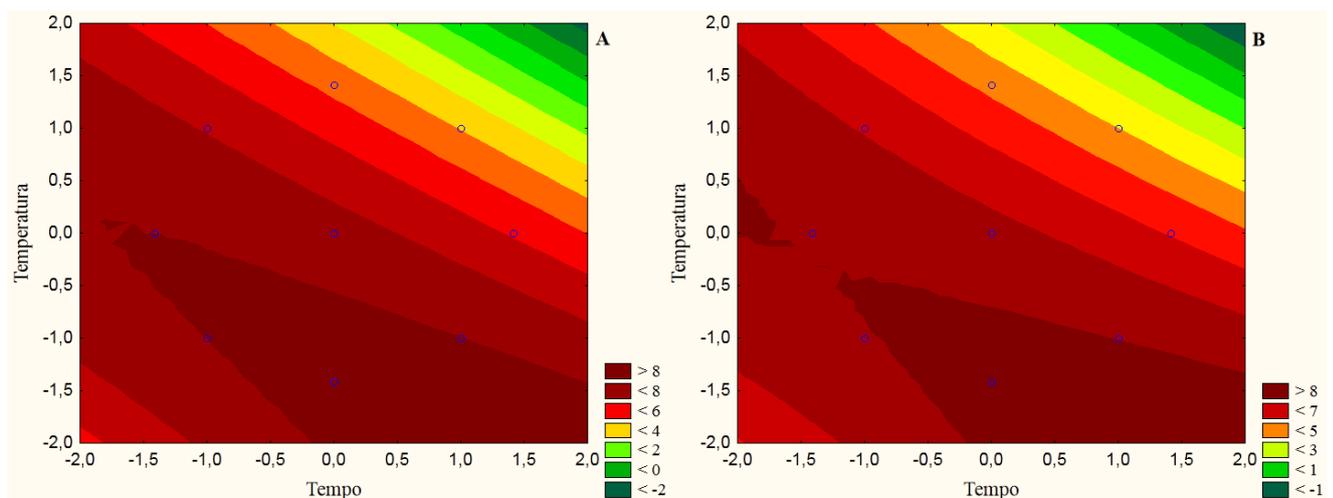
4.1.2.2. Delineamento experimental

Dos parâmetros analisados apenas bactérias mesófilas e bactérias lácticas apresentaram resultados significativos. TBARS, cor e pH não apresentaram linearidade com a interação tempo e temperatura.

Por meio da análise de variância (ANOVA) foi possível determinar os termos significativos para bactérias mesófilas (Tabela 4.3) e lácticas (Tabela 4.4): tempo linear e quadrático, temperatura linear e quadrática e a interação entre tempo linear e temperatura linear. Apenas foi detectada falta de ajuste para o parâmetro bactérias mesófilas, porém está bem próxima de não ser significativa ($p=0,04$). Esta falta de ajuste pode ter sido ocasionada pela boa repetibilidade do ponto central o que levou uma previsão de erro muito pequena. Apesar da falta de ajuste coeficiente de determinação (R^2) indica confiabilidade na resposta do modelo.

A curva de nível (Figura 4.8) mostra que, que a redução tanto das bactérias mesófilas como das bactérias lácticas aumenta com o incremento de temperatura e de tempo. As condições que demonstraram maior eficiência na destruição das bactérias em estudo foram a de temperatura de 74°C combinada com o tempo de 10,53 min.

Figura 4.8– Curva de nível da interação entre tempo e temperatura na redução de bactérias mesófilas (A) e bactérias lácticas (B) por meio da utilização de banho de ultrassom de 25 kHz de frequência.



A curva de nível (Figura 4.8) mostra que, que a redução tanto das bactérias mesófilas como das bactérias lácticas aumenta com o incremento de temperatura e de tempo. As

condições que demonstraram maior eficiência na destruição das bactérias em estudo foram a de temperatura de 74°C combinada com o tempo de 10,53 min.

Tabela 4.3 - Análise de variância (ANOVA) da interação entre tempo e temperatura para bactérias mesófilas.

Fator	SS	df	MS	F	p
Tempo linear (L1)	4,17	1	4,17	345,98	0,00
Tempo quadrático	0,23	1	0,23	19,08	0,02
Temperatura linear (L2)	12,61	1	12,61	1047,28	0,00
Temperatura quadrática	1,14	1	1,14	94,37	0,00
L1 por L2	2,15	1	2,15	178,34	0,00
Falta de ajuste	0,38	3	0,13	10,61	0,04
Erro puro	0,04	3	0,01		
SS total	20,55	11			
R²	0,98				

Tabela 4.4 - Análise de variância (ANOVA) da interação entre tempo e temperatura para bactérias lácticas.

Fator	SS	df	MS	F	p
Tempo linear (L1)	4,44	1	4,44	534,69	0,00
Tempo quadrático	0,32	1	0,32	38,18	0,03
Temperatura linear (L2)	13,26	1	13,26	1595,68	0,00
Temperatura quadrática	1,23	1	1,23	148,21	0,01
L1 por L2	2,23	1	2,23	267,84	0,00
Falta de ajuste	0,46	3	0,15	18,56	0,05
Erro puro	0,02	2	0,01		
SS total	21,70	10			
R²	0,98				

Baseando-se nos resultados obtidos por meio do delineamento experimental, que demonstrou tendência de maior efeito de redução no número de bactérias lácticas e mesófilas com o aumento de temperatura e de tempo e que apresentou como valores ótimos tempo de 10,53 min e temperatura de 74 °C (Figura 4.8 A e B), para as demais análises (imagens térmicas e experimento II) adotou-se o tempo de aplicação de ultrassom (25 kHz) de 10 min a temperatura do banho de 75 °C. Também, procurou-se não exceder o tempo de 10 min visando conceder mais agilidade ao processo de pasteurização. Temperaturas mais altas não

puderam ser utilizadas, pois o banho ultrassônico não era capaz de manter estáveis temperaturas acima de 75 °C, além de que temperaturas mais altas poderiam representar maior gasto energético.

4.1.2.3. Imagens térmicas das salsichas submetidas ao tratamento com ultrassom a 25 kHz e sem ultrassom a 75 °C durante 10 minutos dentro do banho-maria.

Na Figura 4.9 encontram-se as imagens térmicas das salsichas submetidas ao banho-maria a 75°C por 10 min sem ultrassom (A, B) e com ultrassom de 25 kHz (C, D). As temperaturas máximas e mínimas que as salsichas atingiram durante a aplicação dos tratamentos encontram-se na tabela 4.5.

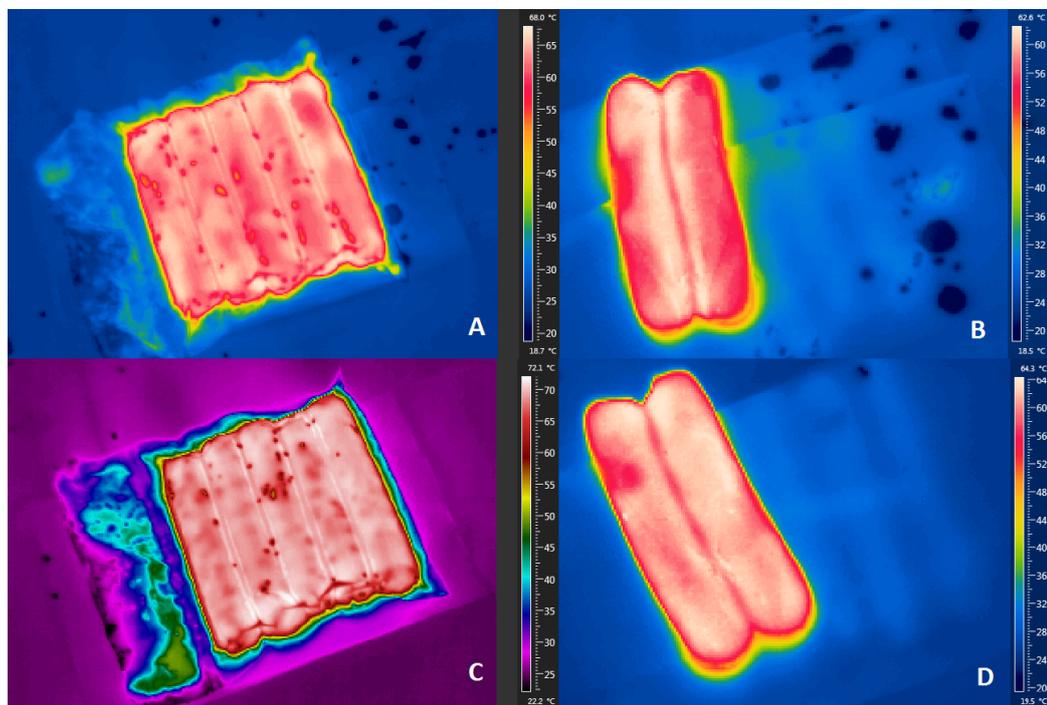
Entre o interior e a superfície das salsichas sonicadas é percebido um menor gradiente de temperatura. Observa-se na figura 4.8 que o aquecimento gerado pelo banho com ultrassom proporcionou uniformidade nas temperaturas atingidas na superfície e na parte interna das salsichas, tanto quando nas ainda embaladas (C), como na salsicha cortada ao meio na forma longitudinal (D), fato esse que não ocorreu nas salsichas que não foram submetidas ao ultrassom (A e B). Essa uniformidade na distribuição da temperatura nas salsichas submetidas ao ultrassom pode ser observada pela homogeneidade da cor clara apresentada em toda a superfície das salsichas. Esses dados térmicos demonstrados nas salsichas submetidas à frequência de 25 kHzs (Figura 4.9), vai ao encontro do que Pohlman et al. (1997), descreveram quando cozinham carne bovina embalada a vácuo imersa em água utilizando ultrassom na frequência de 20 kHz, que o emprego do ultrassom reduziu pela metade o tempo de cozimento e ocorreu uma melhora na eficiência energética, quando comparado ao cozimento tradicional empregado.

Por meio das imagens térmicas (Figura 4.9), é possível notar um importante incremento e distribuição homogênea de temperatura tanto na parte interna como na externa, ocasionada pelo ultrassom nas salsichas. Para a cinética de destruição dos micro-organismos a variação de apenas 1°C pode ser muito expressiva. Para a redução de *Bacillus cereus* em carne de porco, por exemplo, o aumento de temperatura de 50°C para 55°C, resulta em uma redução de mais de 80% do tempo necessário para a eliminação de 6 ciclos log da bactéria (BYRNE, DUNNE e BOLTON, 2006). Neste experimento, o emprego do ultrassom, foi capaz de elevar em 3,9 °C a temperatura na parte externa, e de 2,5°C na parte interna.

Outro dado importante a ser abordado é que a temperatura interna das salsichas submetidas ao ultrassom de 25 kHz não atingiu em seu interior a temperatura considerada

efetiva para pasteurização comercial rápida que é de 72-75°C (EVANGELISTA, 2001) e, mesmo assim, ao se analisar os aspectos microbiológicos durante 60 dias de armazenamento a 15°C (Figura 4.10 do experimento II), foi possível notar que o número de colônias de bactérias lácticas e psicrotróficas foi menor em relação ao do tratamento que atingiu 73°C em seu interior (Tratamento industrial utilizado).

Figura 4.9– Imagens térmicas das salsichas submetidas a banho-maria a 75°C por 10 min sem ultrassom (A, B) e com ultrassom de 25 kHz (C, D).



A: Imagem térmica externa de salsichas tratadas em banho-maria a 75°C por 10 min não irradiadas com ultrassom; B: Imagem térmica interna de salsicha tratadas em banho-maria a 75°C por 10 min não irradiada com ultrassom; C: Imagem térmica externa de salsichas tratadas em banho-maria a 75°C por 10 min e irradiadas com ultrassom; D: Imagem térmica interna de salsicha tratadas em banho-maria a 75°C por 10 min irradiada com ultrassom.

Tabela 4.5– Temperaturas máximas atingidas por salsichas submetidas à imersão em banho a 75°C por 10 min com e sem a aplicação de ultrassom de 25 kHz de frequência.

Temperaturas máximas com aplicação de ultrassom (°C)		Temperaturas máximas sem aplicação de ultrassom (°C)	
Interna	Externa	Interna	Externa
65,1	72,4	63	68,5

4.2. Experimento II

O experimento II visou analisar o efeito as condições de armazenamento na vida útil das salsichas pasteurizadas com ou sem emprego de ultrassom. Para tanto foram realizados três tratamentos, sendo o primeiro similar ao industrial (TI), no qual as salsichas ficaram em banho-maria durante 17 min até atingir 73 °C no interior, o segundo em banho de ultrassom na frequência de 25 kHz durante 10min (US) a 75 °C e o terceiro em banho-maria durante 10 min a 75 °C, porém sem a utilização de ultrassom (SUS). Os resultados microbiológicos e físico-químicos foram acompanhados ao longo do tempo em condições de armazenamento de 15 °C com foto período de 12 h durante 60 dias.

4.2.1. Materiais e métodos

4.2.1.1. Amostras

Pacotes de 5 kg de salsichas do tipo *hot dog* tingidas com urucum com 10 dias de fabricação, foram adquiridos no comércio de Santa Maria-RS, e foram transportados em maleta térmica até a Universidade Federal de Santa Maria, e mantidos a 5°C até a realização dos tratamentos propostos.

4.2.1.2. Procedimentos de embalagem e aplicação de ultrassom

O tipo de embalagem e o selamento das mesmas e os banhos de ultrassom e a maneira de aplicação foram os mesmos descritos nos itens 4.1.1.2. a 4.1.1.4 do Experimento I.

4.2.1.3. Análises microbiológicas

Foram realizadas análises de bactérias aeróbias mesófilas e bactérias lácticas conforme descrito no item 4.1.1.8. do Experimento I. Também foi realizada contagem de bactérias psicotróficas, realizando-se semeadura em superfície de meio PCA e incubação a 5 °C por 10 dias. Coleta de amostra e contagem das colônias também seguiram os procedimentos descritos no item 4.1.1.8. do Experimento I

4.2.1.4. Oxidação lipídica, avaliação objetiva da cor e pH

A determinação de pH, oxidação lipídica e a avaliação objetiva da cor foram realizadas seguindo as metodologias descritas nos itens 4.1.1.9, 4.1.1.10 e 4.1.1.11 do Experimento I, respectivamente.

4.2.1.5. Análise de textura

Para análise do perfil de textura (TPA) foi utilizado um texturômetro TA-XT-plus Texture Analyzer e o software Texture Expert (Stable Microsystems Ltd., Surrey, Inglaterra). As amostras, com dimensões de 2,5 cm de diâmetro e 1 cm de altura, sofreram compressão de 50% da altura original com uma *probe* cilíndrica de alumínio com 45mm de diâmetro. Os resultados de dureza, coesividade, elasticidade e mastigabilidade foram obtidos através de uma curva força x tempo. A análise foi realizada em triplicata com nove repetições de cada tratamento.

4.2.1.6. Análise estatística

Inicialmente, foram obtidas estatísticas descritivas simples dos dados obtidos (média e desvio-padrão). Para a comparação de médias entre grupos foi utilizada análise de variância (ANOVA) e o Post Hoc Test Tukey para comparações múltiplas. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$ com intervalo de confiança de 95% e os dados foram analisados com o auxílio do programa SAS.

4.2.2. Resultados e discussão

4.2.2.1. Aspectos microbiológicos

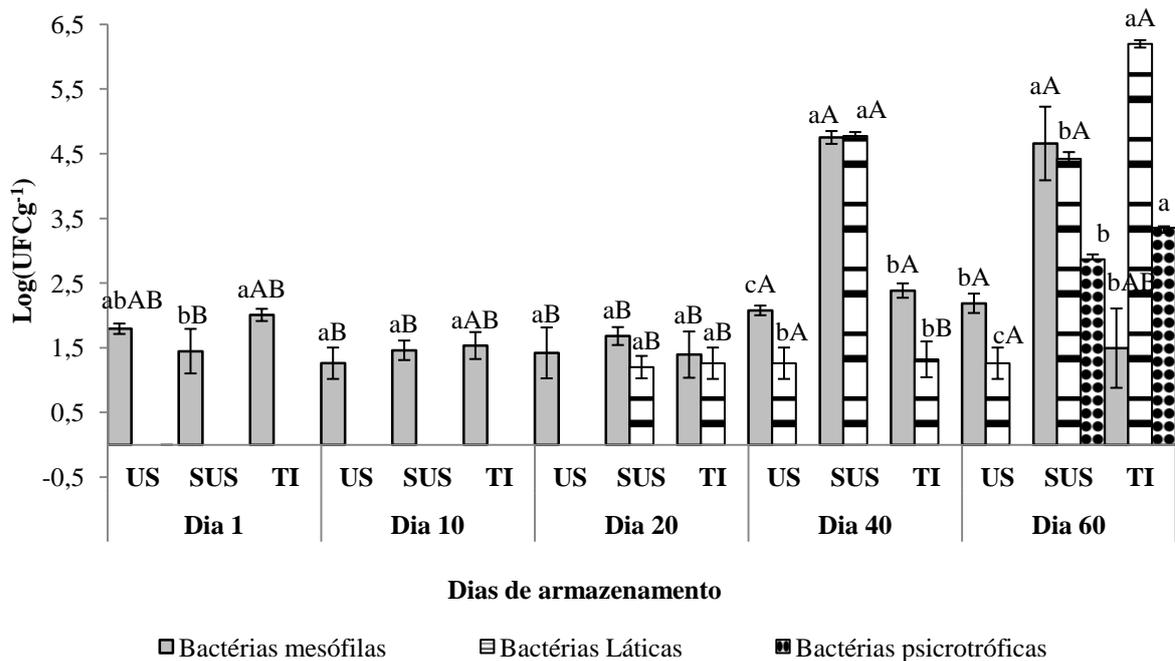
Na Tabela 4.6 estão os resultados da contagem de bactérias mesófilas, lácticas e psicotróficas das salsichas utilizadas no Experimento II antes de se proceder a pasteurização.

Tabela 4.6 - Número inicial de colônias de bactérias mesófilas, lácticas e psicotrófica das salsichas utilizadas no Experimento II antes da pasteurização.

Bactérias mesófilas Log (UFCg ⁻¹)	Bactérias lácticas Log (UFCg ⁻¹)	Bactérias psicotróficas Log (UFCg ⁻¹)
3,83	1,85	zero

Na figura 4.10 são apresentados o número de colônias de bactérias mesófilas, psicotróficas e lácticas em salsichas submetidas à pasteurização em banho de ultrassom a 25 kHz a 75°C por 10min (US), em banho sem ultrassom a 75°C por 10 min (SUS) e durante 17 min (TI) e seus comportamentos durante período de armazenamento de 60 dias a 15°C.

Figura 4.10– Número de colônias das bactérias mesófilas, lácticas e psicotrófica nas salsichas pasteurizadas por 10 min em banho a 75 °C com ultrassom (US) e sem ultrassom (SUS), e da forma similar a industrial (TI), armazenadas a 15 °C com foto-período de 12 h, durante 60 dias.



US: salsichas em banho de ultrassom por 10min a 75°C; SUS: salsichas em banho-maria por 10 min a 75°C sem utilização de ultrassom; TI: salsichas em banho-maria até atingir 73°C no interior (17min). Letras minúsculas distintas representam diferença estatística (p<0,05) entre os tratamentos dentro do mesmo período de armazenamento e letras maiúsculas distintas representam diferença estatística entre os dias de armazenamento para cada tratamento.

O número de colônias de bactérias mesófilas no 1º dia de armazenamento foi menor no tratamento SUS, mas diferiu significativamente (p<0,05) somente do tratamento TI (Figura

4.10). No 10º dia e no 20º dia de armazenamento o número de colônias de bactérias mesófilas presentes nos três tratamentos (US, SUS e TI) não aumentou muito em relação ao 1º dia e também não diferiu significativamente. No 40º dia de armazenamento o número de bactérias mesófilas aumentou bastante no tratamento SUS que se diferenciou significativamente ($p < 0,05$) dos tratamentos US e TI (Figura 4.10), assim como o tratamento US e TI se diferenciaram significativamente (Figura 4.10). No 60º dia os tratamentos US e TI apresentaram número de colônias de bactérias mesófilas estatisticamente iguais, enquanto que o tratamento SUS apresentou o maior número de colônias.

Em relação ao número de colônias de bactérias mesófilas, no tratamento US observou-se que nos 20 primeiros dias de armazenamento, que o mesmo permaneceu praticamente constante. No 40º dia houve um aumento em relação aos 20 primeiros dias, porém não diferiu do número inicial. No 60º dia o número de bactérias mesófilas não diferiu do número de bactérias encontrado no 1º e no 40º dia. Para o tratamento SUS o número de bactérias mesófilas foi igual nos 20 primeiros dias e no 40º dia ocorreu um aumento substancial que se manteve até o 60º dia, o qual diferiu significativamente do 1º, 10º e 20º dia de armazenamento.

O tratamento TI apresentou número igual de bactérias mesófilas no 1º e no 10º dia de armazenamento. No 20º dia apresentou o menor número de bactérias mesófilas de todo o período de armazenamento, enquanto que no 40º dia ocorreu o maior número, que diferiu significativamente ($p < 0,05$) do 20º dia. Ao final do período de armazenamento o número de bactérias mesófilas no tratamento TI não diferiu significativamente ($p < 0,05$) de nenhum dos outros dias de análise.

Em relação ao número de bactérias lácticas (Figura 4.10) observou-se que no 20º dia de armazenamento os tratamentos SUS e TI não diferiram significativamente ($p < 0,05$). No tratamento US somente no 40º dia de armazenamento ocorreu desenvolvimento de bactérias lácticas (Figura 4.10). Informação essa muito importante, pois os produtos cárneos embalados a vácuo se alteram devido a presença elevada de bactérias lácticas. Também no 40º dia de armazenamento o tratamento SUS, apresentou número de bactérias lácticas significativamente ($p < 0,05$) superior aos demais tratamentos, enquanto que o tratamento US apresentou o menor número de bactérias (Figura 4.10).

No final do período de armazenamento (60 dias), o tratamento TI apresentou número de bactérias lácticas superior aos dos tratamentos US e SUS, o qual diferiu significativamente de ambos ($p < 0,05$), e o tratamento SUS apresentou número de bactérias lácticas significativamente superior ao do tratamento US. Importante destacar mais uma vez o efeito

positivo do ultrassom na frequência de 25 kHz frente as bactérias, quando as salsichas foram armazenadas a 15 °C, informação essa importante para industria produtora desse tipo de produto.

No tratamento US a presença de bactérias lácticas ocorreu somente no 40° e no 60° dia de armazenamento, mas não ocorreu diferença significativa entre estes tempos. Para o tratamento SUS, a presença bactérias lácticas foi detectada a partir do 20° dia, a qual foi significativamente ($p < 0,05$) inferior ao número encontrado no 40° e 60° dia, os quais não diferiram significativamente entre si. Para o tratamento industrial (TI) o aparecimento de bactérias lácticas também aconteceu a partir do 20° dia de armazenamento, mas esse número de bactérias não diferiu estatisticamente do 40° dia, mas ambos diferiram significativamente do número de bactérias lácticas detectados no 60° dia (Figura 4.10).

Em relação ao número de colônias das bactérias psicrotróficas (Figura 4.10), observou-se que apenas no 60° dia de armazenamento os tratamentos SUS e TI apresentaram. O número de bactérias psicrotróficas do tratamento TI foi maior e diferiu significativamente ($p < 0,05$) do número de bactérias psicrotróficas do tratamento SUS. Importante salientar que no tratamento com ultrassom (US), não ocorreu desenvolvimento de bactérias psicrotróficas durante todo o período de armazenamento estudado. No 60° dia de armazenamento foi observado estufamento da embalagem e limosidade no tratamento TI. O estufamento da embalagem estaria relacionado com o grande número de bactérias lácticas, enquanto que a limosidade estaria relacionada ao grande numero de bactérias psicrotróficas. Acontecimentos esses que não ocorreram com as embalagens que faziam parte do tratamento com ultrassom (US). A redução no número das bactérias mesófilas no tratamento TI no 40° ao 60° dia de armazenamento, pode estar relacionada com o efeito inibitório da redução do pH gerado pelo grande número de bactérias produtoras de ácido láctico.

Observou-se que o número inicial de bactérias mesófilas foi similar para os três tratamentos, sendo que o tratamento SUS apresentou o menor número de colônias no 1° dia, e que com o passar do tempo, surgiram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos, principalmente em relação aos diferentes grupos de bactérias. Durante o período de armazenamento o ultrassom promoveu inibição do desenvolvimento das bactérias mesófilas, lácticas e psicrotróficas. Nas condições de armazenamento de 15°C e 12 horas de foto período, a frequência de 25 kHz de ultrassom retardou o surgimento de bactérias lácticas e impediu o desenvolvimento de psicrotróficas, além de manter o mesmo número de bactérias mesófilas durante todo o armazenamento.

Como visto nas imagens térmicas (Figura 4.9), o ultrassom promoveu aquecimento mais uniforme nas salsichas e o valor da temperatura alcançada foi superior (Figura 4.9 C,D) ao do tratamento sem ultrassom (Figura 4.9, A,B). Este fato possivelmente contribuiu na redução do número de bactérias de maneira integral no produto. Nos demais tratamentos pode ter ocorrido a formação de diminutos pontos frios que possibilitaram a sobrevivência de maior número de bactérias e posteriormente proliferaram (Figura 4.10).

4.2.2.2. Oxidação lipídica

Até os 10 primeiros dias de armazenamento não houve diferença significativa nos valores de TBARS entre os tratamentos (Figura 4.11). No 20º dia o valor de TBARS no tratamento TI aumentou e foi maior do que o do tratamento US, ocorrendo diferença significativa ($p < 0,05$) (Figura 4.11). Porém, no 40º dia de armazenamento o tratamento TI apresentou menor valor de TBARS em relação aos tratamentos US e SUS diferindo significativamente ($p < 0,05$) dos mesmos (Figura 4.11). Ao final do tempo de armazenamento (60º dia) todos os tratamentos diferiram significativamente ($p < 0,05$) entre si, e o tratamento US apresentou o menor valor de oxidação lipídica e tratamento TI a maior.

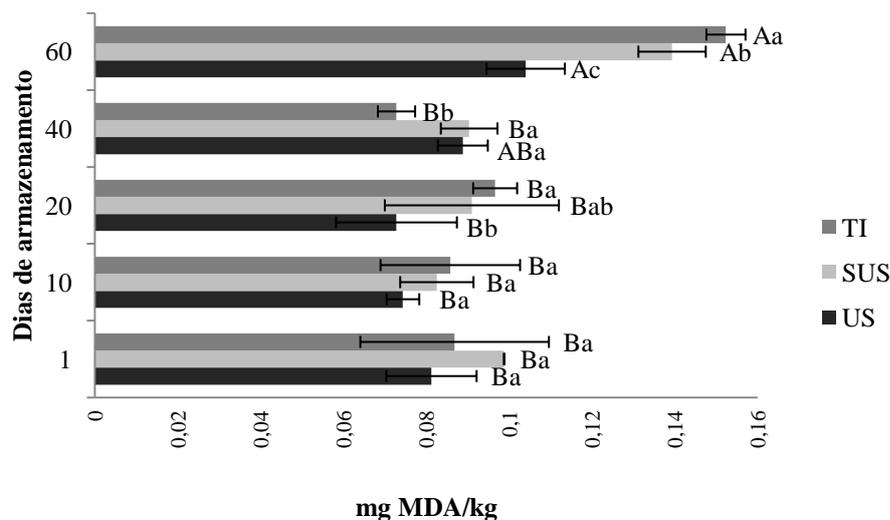
Entre os dias de armazenamento houve aumento significativo da oxidação lipídica para TI e SUS apenas do 40º para o 60º dia, enquanto US apresentou aumento significativo da oxidação do 20º para o 60º dia. A heterogeneidade da massa das salsichas pode ter sido a responsável pelas variações de TBARS entre os tratamentos nos demais dias de análise.

Gokoglu et al. (2010) verificaram que salsichas empacotadas a vácuo durante 28 dias de armazenamento a 4°C demonstraram um pequeno e não significativo aumento nos valores de TBARS. O fato de as salsichas do presente experimento terem sido armazenadas na ausência de oxigênio contribuiu para que a oxidação lipídica também ocorresse de forma branda.

O número superior de bactérias lácticas e psicrotróficas encontradas em SUS e TI pode ter contribuído com a maior oxidação lipídica. Algumas espécies bacterianas presentes em derivados de carne podem afetar diretamente o mecanismo de oxidação das gorduras e provocar um aumento substancial de TBARS (CIROLINI et al., 2010). *Pseudomonas aeruginosa*, importante representante do grupo das psicrotróficas, é uma conhecida produtora de enzima com ação lipolítica (OGINO et al., 2004). Como apenas nos tratamentos SUS e TI

ocorreu o desenvolvimento de bactérias psicrotólicas, e em maior número no TI é possível relacionar a maior oxidação lipídica com a presença de bactérias psicrotólicas.

Figura 4.11– Valores de oxidação lipídica obtidos pelo método de TBARS de salsichas pasteurizadas por 10 min em banho a 75°C com ultrassom (US) e sem ultrassom (SUS) e da forma similar a industrial (TI), armazenadas a 15°C com foto-período de 12h durante 60 dias.



US: salsichas em banho de ultrassom por 10min a 75°C; **SUS:** salsichas em banho-maria por 10 min a 75°C sem utilização de ultrassom; **TI:** salsichas em banho-maria até atingir 73°C no interior (17min). Letras minúsculas representam diferença estatística ($p < 0,05$) entre os tratamentos dentro do mesmo período de armazenamento e letras maiúsculas representam diferença estatística entre os dias de armazenamento para cada tratamento.

Bacillus sp, também apresentam atividade enzimática lipolítica (RUIZ, PASTOR e DIAZ, 2003) e, uma grande parcela das bactérias produtoras de ácido lático pertence a espécie *Bacillus* (HAMMES, BANTLEON e MIN, 1990). Isto indica que o número de bactérias lácticas presente no produto pode influenciar diretamente a oxidação lipídica.

Outras bactérias, tais como *Staphylococcus xylosum*, *Staphylococcus carnosus* e *Micrococcus varians*, são exemplos de micro-organismos com capacidade lipolítica presentes em produtos cárneos que se adaptam a condições de pH levemente ácidas e que, apesar de produzirem algumas características desejáveis como o aroma em salames, também provocam maior formação de TBARS (KENNEALLY, LEUSCHNER e ARENDT, 1998).

Vários outros fatores como exposição à luz, enzimas, presença de metais catalisadores e a alta temperatura de processamento podem afetar a velocidade da oxidação lipídica. Temperaturas elevadas aceleram a degradação das gorduras e os processos oxidativos

(MARQUES, VALENTE e ROSA, 2009). Desta maneira, o menor desenvolvimento de MDA em US e SUS em comparação ao TI também pode ser explicado pelo menor tempo de imersão em banho a alta temperatura a que estes foram submetidos.

4.2.2.3. Avaliação objetiva da cor

Na Figura 4.12 e tabela em anexo (Apêndice A) estão os resultados de cor (L^* a^* b^*) para os tratamentos US, SUS e TI, durante 60 dias de armazenamento. A cor do interior e da superfície não foram comparadas, pois as salsichas eram tingidas com urucum.

O comportamento da cor foi semelhante para os três tratamentos. A cor no interior das salsichas foi relativamente estável em relação a cor externa. TI apresentou menor L^* nos primeiros 10 dias, chegou aos 60 dias com maior L^* possivelmente devido ao grande número de bactérias lácticas que reduziram o pH e produziram limosidade. US apresentou pequena redução de L^* ao longo do tempo. Até os 40 dias de armazenamento US apresentou maior L^* entre os tratamentos.

US apresentou a^* interno inicial significativamente menor do que SUS e TI, mas ao final do armazenamento não houve diferença significativa entre os tratamentos, nem entre a^* inicial e a^* final. Ocorreu um pequeno aumento de b^* interno durante o armazenamento em todos os tratamentos, mas só foi significativo para TI.

Em experimento com salsichas com extrato de levedura ou proteína texturizada de soja como fonte proteica não cárnea, Yamada et al. (2010) observaram que a cor interna de foi de L^* de 61 a 61,8, a^* de 11,7 a 13,1 e b^* de 10,7 a 11,6. No presente estudo a luminosidade interna das salsichas foi inferior (50,248 a 52,9) e os valores de a^* (19,96 a 21,36) e b^* (17,2 a 18,28) superiores, o que demonstra cores mais acentuadas.

A cor interna se manteve mais estável, com pouca variação, apenas ocorreu um sutil aumento da luminosidade interna a partir do dia 40. O aumento da luminosidade em carne de gado sonicada está relacionado com a degradação da cor e perda de vivacidade ao longo do período de armazenamento (POHLMAN, DIKEMAN e ZAYAS, 1997).

A cor externa, como pode ser observado na figura 11, foi mais afetada pelo armazenamento. L^* foi o parâmetro que menos sofreu alteração. Ao final do armazenamento ocorreu um leve aumento de L^* de, em relação ao dia 1, nos tratamentos US e SUS. O armazenamento proporcionou uma substancial redução do parâmetro a^* externo, mais pronunciada a partir do dia 40. No dia 40, US apresentava menor a^* e TI o maior a^* , mas aos 60 dias, esse parâmetro foi estatisticamente igual para todos os tratamentos. Em relação ao b^*

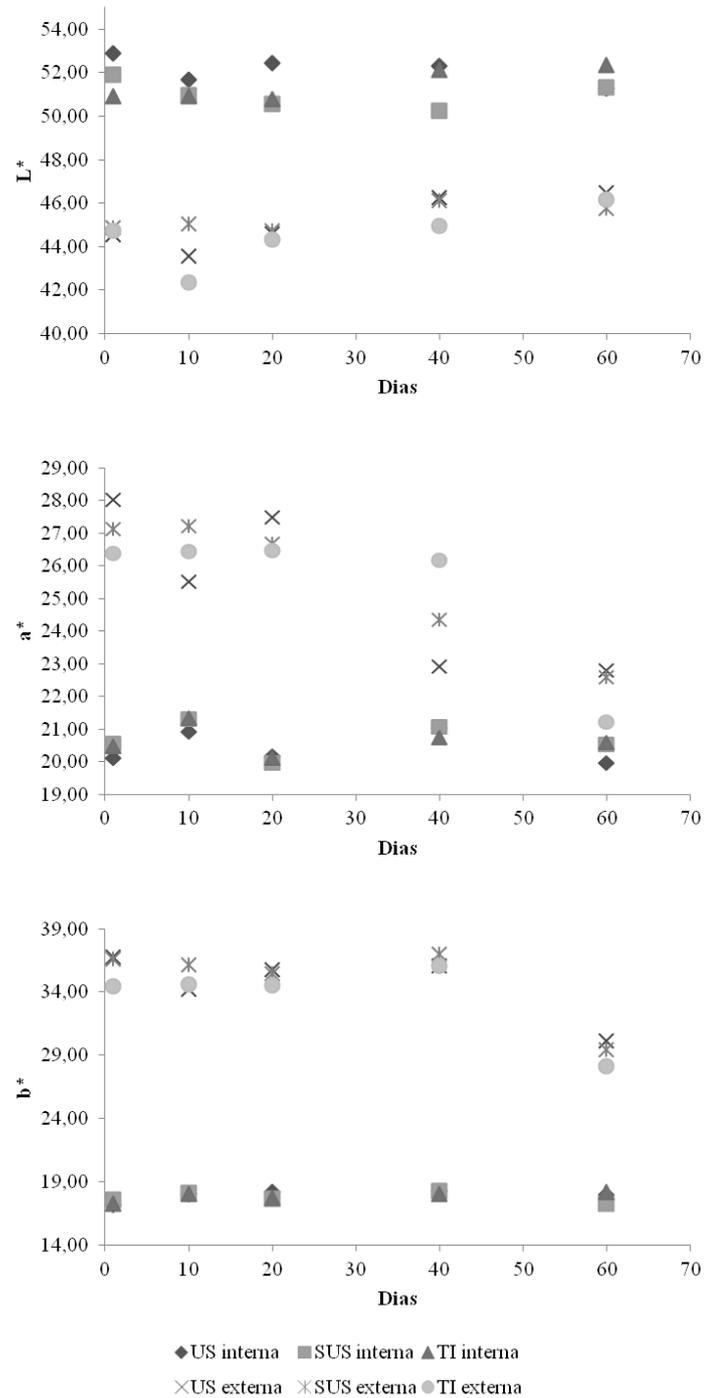
externo, houve uma variação pequena do dia 1 ao 40, mas todos os tratamentos sofreram redução significativa ao final do armazenamento.

O valor inicial de L^* (51,31) encontrados por Gokuglu et al. (2010) em salsichas embaladas a vácuo sem tingimento foram bem próximos aos encontrados neste estudo para a porção interna das salsichas. Já o valor inicial de a^* (25,21) foi superior e o de b^* (13,97) inferior aos encontrados neste estudo. Porém, ao longo do período de 28 dias de armazenamento a 4°C a luminosidade aumentou substancialmente do 21º ao 28º dia. Já o vermelho apresentou uma queda ao 7º dia que se manteve até o 21º dia, mas no final do armazenamento voltou a apresentar o mesmo valor inicial. O amarelo apresentou grande aumento a partir do dia 21.

Mercadante et al. (2010) verificaram que salsichas tingidas com urucum, embaladas á vácuo após 45 dias de armazenamento a 4°C, mostram redução significativa de a^* e elevação de b^* em sua superfície. Neste estudo também foi observada redução de a^* a partir do 40º dia e o parâmetro b^* chegou ao fim do armazenamento com significativa redução nos três tratamentos, porém, aos 40 dias demonstrou um leve aumento.

Salsichas são produtos cozidos curados e apresentam um pigmento róseo conhecido como nitroso-hemocromo. Este é um pigmento estável, porém também é susceptível à oxidação por agentes oxidantes e pela exposição à luz e oxigênio. No interior dos produtos ocorre a perda lenta de coloração rósea, porém na superfície a reação de foto-oxidação é mais pronunciada e mais veloz (FARIA et al., 2001). A isso pode ser atribuída à redução do parâmetro de coloração vermelha (a^*) na superfície de todos os tratamentos ao longo do tempo.

Figura 4.12- Parâmetros de cor no interior e na superfície de salsichas pasteurizadas por 10 min em banho a 75°C com e sem ultrassom e da forma similar a industrial, armazenadas a 15°C com foto-período de 12h.

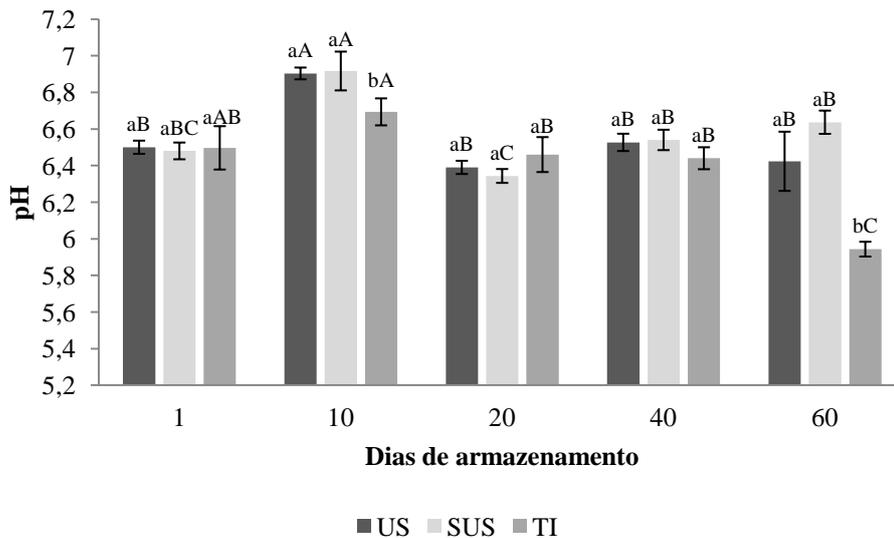


US: salsichas em banho de ultrassom por 10min a 75°C; **SUS:** salsichas em banho-maria por 10 min a 75°C sem utilização de ultrassom; **TI:** salsichas em banho-maria até atingir 73°C no interior (17min).

4.2.2.4. pH

Os resultados de pH durante o armazenamento de 60 dias para os tratamentos US, SUS e TI estão expressos na Figura 4.13. Houve uma pequena variação do pH durante os dias de armazenamento, mantendo-se em uma média de 6,5. Aos 10 dias de armazenamento ocorreu uma alcalinização significativa de US e SUS, porém aos 20 dias o pH reduziu novamente. De modo geral não houve diferença entre os tratamentos, apenas aos 20 e 60 dias foi possível notar uma queda significativa do pH do TI. O que era esperado ao 60 dias devido há grande proliferação de bactérias lácticas heterofermentativas. O pH inicial diferiu significativamente do pH final apenas para TI, que se apresentou mais baixo no 60º dia.

Figura 4.13- pH de salsichas pasteurizadas por 10 min em banho a 75 °C com e sem ultrassom e da forma similar a industrial, armazenadas a 15 °C com foto-período de 12 h, armazenadas por 60 dias.



US: salsichas em banho de ultrassom por 10min a 75 °C; **SUS:** salsichas em banho-maria por 10 min a 75 °C sem utilização de ultrassom; **TI:** salsichas em banho-maria até atingir 73 °C no interior (17 min).

Letras minúsculas representam diferença estatística ($p < 0,05$) entre os tratamentos dentro do mesmo período de armazenamento e letras maiúsculas representam diferença estatística entre os dias de armazenamento para cada tratamento.

O pH inicial dos três tratamentos atingiu a média de 6,49, próximo ao valor de 6,32 encontrado por Ferreira et al. (2003) em salsichas com óleo de girassol armazenadas a 12°C. Os autores também observaram que durante o armazenamento por seis semanas a 12°C

ocorreu acentuada queda do pH das salsichas e atribuíram a acidificação ao desenvolvimento de bactérias ácido-láticas, concordando com o que foi observado neste estudo no tratamento TI.

Mercadante et al. (2009) encontraram valores de pH entre 6,5 e 6,8 em salsichas com diferentes pigmentos embaladas a vácuo. Porém, o período de 45 dias de armazenamento a 4°C repercutiu pouco sobre o pH. O pH apresentado é semelhante ao do presente estudo e demonstrou comportamento parecido com o de US e SUS em relação ao armazenamento.

4.2.2.5. Textura

Os valores de dureza, elasticidade, coesividade e mastigabilidade encontram-se na Tabela 4.7. Em relação à textura apenas foi observada redução significativa de dureza e mastigabilidade finais do tratamento TI (Tabela 4.7).

O ultrassom é utilizado em carnes com o objetivo de tenderização, pois pode provocar alterações nas propriedades físicas e químicas da carne e seus derivados, tem capacidade de provocar a ruptura da membrana celular e pode induzir a ativação da proteólise (DOLATOWSKI, STADNIK e STASIAK, 2007). Porém, neste estudo não foi observado indicativo de que o ultrassom atue no amaciamento de salsichas, o que é um ponto positivo, pois o amaciamento de um produto cárneo de massa fina produziria prejuízo no aspecto sensorial.

Nos músculos *Semitendinosus* e *Longissimus* bovinos ultrassom de 24 kHz aplicado pós *rigor mortis* reduziu a força de cisalhamento e a dureza da carne sem afetar a cor e as perdas por gotejamento e cozimento (JAYASOORIYA et al., 2007). Já em frequência de 2,6 MHz o ultrassom induziu a um alongamento do sarcômero e ao enfraquecimento da linha Z logo após a aplicação em músculo *Semimembranosus* bovino no período pré *rigor mortis*. Porém, quando aplicado *post-rigor*, não ocasionou nenhuma alteração estrutural no músculo. A estabilidade do colágeno não foi afetada (GOT et al., 1999).

Possivelmente o amaciamento ocorre, na carne *in natura*, por meio da degradação da estrutura sarcoplasmática, afetando a linha Z e as ligações actina x miosina. Em um produto processado de massa fina como a salsicha a estrutura sarcoplasmática já está extinta e, portanto, não há como o ultrassom atuar no amaciamento por este mecanismo.

A textura de salsichas é normalmente afetada quando ocorre modificação da sua formulação como a adição de proteínas ou substituição de gorduras. Yetim et al. (2006) observaram que a substituição do gelo por soro de leite gelado altera significativamente a

dureza, a elasticidade e a mastigabilidade de salsichas. Pereira et al. (2011) verificaram que a adição de carne mecanicamente separada diminui a coesividade, enquanto a adição de fibras de colágeno aumenta a dureza. A substituição total ou parcial da gordura animal por proteínas do soro do leite e goma xantana também altera a textura, aumentando a força de cisalhamento e, conseqüentemente reduzindo a maciez (FIGUEIREDO et al., 2002).

Como neste estudo a formulação das salsichas é a mesma para todos os tratamentos é justificável que haja diferença significativa nos parâmetros de textura apenas nas determinações finais de dureza e mastigabilidade em TI, tratamento que sofreu maior aquecimento, menor pH final e grande número de bactérias lácticas que estariam atuando na degradação da estrutura das salsichas.

Tabela 4.7- textura de salsichas pasteurizadas por 10 min em banho a 75°C com e sem ultrassom e da forma similar a industrial, armazenadas a 15°C com foto-período de 12h, armazenadas por 60 dias.

Tratamento	Dureza (N)	Elasticidade (cm)	Coesividade (adimensional)	Mastigabilidade (N • cm)
US inicial	56,67 ^a ±2,65	0,92 ^a ±0,01	0,75 ^a ±0,01	38,77 ^a ±2,49
SUS inicial	53,47 ^a ±4,07	0,92 ^a ±0,02	0,76 ^a ±0,02	37,84 ^a ±3,29
TI inicial	55,35 ^a ±3,10	0,93 ^a ±0,05	0,76 ^a ±0,02	37,50 ^a ±2,66
US final	54,23 ^a ± 5,00	0,92 ^a ± 0,03	0,76 ^a ± 0,01	37,50 ^a ± 2,24
SUS final	53,47 ^a ± 3,51	0,91 ^a ± 0,05	0,75 ^a ± 0,01	36,89 ^a ± 2,86
TI final	47,99 ^b ± 3,81	0,90 ^a ± 0,04	0,75 ^a ± 0,02	31,58 ^b ± 2,68

TI: salsichas em banho-maria até atingir 73°C no interior (17min); US: salsichas em banho de ultrassom por 10min a 75°C; SUS: salsichas em banho-maria por 10 min a 75°C sem utilização de ultrassom. Letras distintas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos.

5. CONCLUSÕES

- Salsichas tratadas com micro-ondas fora da embalagem em condições que não as altere visualmente apresentam redução de bactérias lácticas e mesófilas estatisticamente significativa, porém em taxa pouco expressiva para a utilização prática.

- O aquecimento gerado por micro-ondas é pouco uniforme e depende da região do forno onde se localiza o material.

- As embalagens atualmente utilizadas em salsichas parecem ser pouco adequadas para o uso em micro-ondas e têm pouca resistência a formação de vapor interna.

- O resfriamento pós-pasteurização é importante para evitar a permanência das salsichas em uma temperatura ótima para o desenvolvimento de bactérias e sua consequente proliferação.

- Para melhorar a eficiência da pasteurização de salsichas em micro-ondas são necessários o desenvolvimento de embalagens adequadas e a adaptação do equipamento para que produza aquecimento mais uniforme e controlado.

- O ultrassom na frequência de 25 kHz, combinado com temperatura de 60°C promove significativa redução de bactérias lácticas e mesófilas sem repercutir na cor e no pH das salsichas, além de produzir menor oxidação lipídica.

- A frequência de 25 kHz tem efeito sobre a destruição de *Bacillus cereus* e, aparentemente, não afeta as células de *Staphylococcus aureus* em salsichas.

- Quanto maior o tempo e/ou a temperatura de tratamento das salsichas com ultrassom, mais eficiente é a destruição de bactérias lácticas e mesófilas.

- O ultrassom na frequência de 25 kHz produz aquecimento mais uniforme das salsichas.

- Nas condições de armazenamento avaliadas, o ultrassom promoveu inibição do crescimento de bactérias lácticas, mesófilas e psicrótróficas e menor oxidação lipídica até 60 dias de armazenagem, apresentando pouca alteração de cor e pH sem afetar a textura.

- **Perspectiva para trabalhos futuros**

- Desenvolvimento e adaptação de equipamento que permita o controle da temperatura na pasteurização com micro-ondas.

- Adaptação de embalagens para pasteurização de salsichas em micro-ondas.
- Análise dos efeitos físico-químicos das micro-ondas sobre as salsichas.
- Investigação de outras frequências de ultrassom e de faixas de temperatura na pasteurização de salsichas.
- Análise mais detalhada do efeito do ultrassom sobre os lipídios e sobre a formação de malonaldeído.
- Análise da interação do ultrassom com os demais constituintes da salsicha como, proteínas, carboidratos, sais, entre outros.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEKUNTE, A.O. et al. Effect of sonication on colour, ascorbic acid and yeast inactivation in tomato juice. **Food Chemistry**, v.122, p. 500–50, 2010.

ANANTHESWARAN, R.C.; LIU, L. Effect of electrical shielding on time-temperature distribution and flow profiles in water in a cylindrical container during microwave heating. **Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy**, v. 29, n.4, p. 220-230, 1994.

ARAÚJO, V.G; CHAVASCO, J.K.. Avaliação da esterilização de tubos de vidro em forno de microondas. **Revista da Universidade de Alfenas**, n.4, p. 25-26, 1998.

ARMITAGE, N.H. Use of predictive microbiology in meat hygiene regulatory activity. **International Journal of Food Microbiology**, v. 36, n. 2–3, p. 103-109, may 1997.

ASHOKKUMAR, M. et al. Modification of food ingredients by ultrasound to improve functionality: A preliminary study on a model system. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 9, p. 155-160, 2008.

AZEREDO, H.M.C.. **Fundamentos de estabilidade de alimentos**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 195 p, 2004.

BARBUTI, S.; PAROLARI, G. Validation of manufacturing process to control pathogenic bacteria in typical dry fermented products. **Meat Science**, v. 62, p. 323-329, 2002.

BARNES, F.S.; HU, C.J.. Model for some nonthermal effects of radio and microwave fields on biological membranes. **IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques**, v. 25, n. 9, p. 742-746, set. 1977.

BASAK, T.; RAO, B. Theoretical analysis on pulsed microwave heating of pork meat supported on ceramic plate. **Meat Science**, v. 86, p. 780–793, 2010.

BATTISTELLA, P. M. D. **Análise de Sobrevivência Aplicada à Estimativa da Vida de Prateleira de Salsichas**. 2008. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

BIZZI, C.A. et al. a fast microwave-assisted procedure for loss on drying determination in saccharides. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 22, n. 2, p. 376-381, 2011.

BORGES, S.S.; KORN, M. Geração sonoquímica de oxidantes em solução aquosa saturada de tetracloreto de carbono, **Quim. Nova**, v. 25, n. 4, p. 558-562, 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 4, de 31 de março de 2000. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Lingüiça e de Salsicha. **Diário Oficial da União**, Brasília 05/04/2000, Seção 1, p. 6-10, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 51, de 29 de dezembro de 2006. “Adota o Regulamento Técnico de Atribuição de Aditivos, e seus

Limites das seguintes Categorias de Alimentos 8: Carne e Produtos Cárneos”. **Diário Oficial da União**, Brasília, 04/01/2007, Seção 1, p. 14, 2006.

BRONCANO, J.M.; PETRÓN, M.J.; PARRA, V.; TIMÓN, M.L.. Effect of different cooking methods on lipid oxidation and formation of free cholesterol oxidation products (COPs) in Latissimus dorsi muscle of Iberian pigs. **Meat Science**, v. 83, n. 3, p. 431-437nov. 2009.

BYRNE, B; DUNNE, G; BOLTON, D.J. Thermal inactivation of *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens* vegetative cells and spores in pork luncheon roll. **Food Microbiology**, v. 23, p. 803–808, 2006.

CALDEIRA, I. et al. Improved method for extraction of aroma compounds in aged brandies and aqueous alcoholic wood extracts using ultrasound. **Analytica Chimica Acta**, v. 513, p. 125–134, 2004.

CAÑUMIR, J.A.; CELIS, J.E.; BRUIJN, J.; VIDAL, L.V.. Pasteurisation of apple juice by using microwaves. **LWT – Food Science and Technology**, v. 35, n. 5, p. 389-392, ago. 2002.

CARMINITI, I.M. et al. Impact of selected combinations of non-thermal processing technologies on the quality of an apple and cranberry juice blend. **Food Chemistry**, v. 124, p. 1387–1392, 2011.

CARVALHO, R.P. **Microondas: temas atuais de física**. São Paulo: Editora Livraria da Física: Sociedade Brasileira de Física, 2005, 66 pg..

CASTILLO, C.C.. **Qualidade da carne**. São Paulo: Livraria Varela, 2006, 240p.

CHASCO, J.; LIZASO, G.; BERIAIN, J.M. Cured Colour Development during Sausage Processing. **Meat Science**, v. 44, n. 3, p. 203-211, 1996.

CHEMAT, F. et al. Deterioration of edible oils during food processing by ultrasound. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 11, p. 13–15, 2004.

CHEMAT, F.; HUMA, Z.e.; KHAN, M.K. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, p. 813–835, 2011.

CHEN, F. et al. Optimization of ultraso und-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanin s in extract using high-perfo rmance liquid chromatography–mass spectrometry. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.14, p. 767–778, 2007.

CIROLINI, A. et al. Salame tipo italiano elaborado com culturas starters nativas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 30, p. 171-179, mai 2010.

CIRRA. Centro Internacional de Referência em Reúso de Água. Fundação Centro Tecnológico de Hidráulica. **Manual de Conservação e Reúso de Água Para a Indústria**. Federação e Centro das Indústrias do Estado de São Paulo.

CLARE, D. A.; BANG, W. S.; CARTWRIGHT, G.; DRAKE, M. A.; CORONEL, P.; SIMUNOVIC, J. Comparison of sensory, microbiological, and biochemical parameters of

microwave versus indirect UHT fluid skim milk during storage. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 12, p. 4172-4182, dez. 2005.

CRIPPA, A. **Estudo do desempenho de filmes multicamadas em embalagens termoformadas**. 2006. 136 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

DOLATOWSKI, Z.J.; STADNIK, J.; STASIAK, D. Applications of ultrasound in food technology. **Acta Sci. Pol., Technol. Aliment**, v. 6, n. 3, p. 89-99, 2007.

DRAKOPOULOU, S. et al. Ultrasound-induced inactivation of gram-negative and gram-positive bacteria in secondary treated municipal wastewater. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 16, p. 629-634, 2009.

EVANGELISTA, J. Tecnologia de alimentos. São Paulo: Atheneu, 2001. p.285-429.

FARIA, J. A. F., FELÍCIO, P. E., NEVES, M. A., ROMANO, M. A. Formação e estabilidade da cor de produtos cárneos curados: revisão. **Revista TeC Carnes**, v.3, n.2, p.16-22, 2001.

FÉLIX, J.S. et al. Embalagens plásticas contendo poliamida 6 para produtos cárneos e queijos: migração de caprolactana e efeito da radiação. Uma revisão. **Alim. Nutri.**, v. 19, n. 3, p. 361-370, Araraquara, jul/set, 2008.

FERREIRA, M.F. et al. Avaliação físico-química de salsichas tipo viena com substituição de gordura animal por óleo de girassol. **Braz. J. Food Technol.**, v.6, n.1, p.1-7, jan./jun., 2003.

FIGUEIREDO, V.O. et al. Influência dos substitutos de gordura animal sobre a qualidade da salsicha tipo Viena. **Braz. J. Food Technol.**, v. 5, p. 11-17, 2002.

FREIRE, M.T.A.; REYES, F.G.R; CASTLE, L. Estabilidade térmica de embalagens de poli(tereftalato de etileno (PET): Determinação de oligômeros. **Polímeros: Ciência e tecnologia**, jan/mar, 1998.

GECIOVA, J.; BURY, D.; JELEN, P. Methods for disruption of microbial cells for potential use in the dairy industry Fa review. **International Dairy Journal**, v. 12, p. 541-553, 2002.

GOKOGLU, N. et al. The effect of modified atmosphere packaging on the quality and shelf life of frankfurter type-sausages. **Journal of Food Quality**, v. 33, p. 367-380, 2010.

GOLDBLITH, S.A.; WANG, D.I.C.. Effect of microwaves on escherichia coli and bacillus subtilis. **American Society for Microbiology**, v.15, n.6, p. 1371-1375, nov., 1967.

GOT, F. et al. Effects of high-intensity high-frequency ultrasound on ageing rate, ultrastructure and some physico-chemical properties of beef. **Meat Science**, v. 51, p. 35-42, 1999.

GUILLARD, V.; IGLESIAS, M.M.; GONTARD, N. Effect of novel food processing methods on packaging: structure, composition, and migration properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 50, p. 969-988, 2010.

HAMMES, W.P.; BANFLEON, A.; MIN, S. Lactic acid bacteria in meat fermentation. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 87, p. 165-174, 1990.

HERRERA, M.C.; CASTRO, M.D. L. Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from strawberries prior to liquid chromatographic separation and photodiode array ultraviolet detection. *Journal of Chromatography*, v. 1100, p. 1–7, 2005.

HUANG, L.; SITES, J.. Automatic control of a microwave heating process for in-package pasteurization of beef frankfurters. **Journal of food engineering**, v. 80, n. 1, p. 226-233, maio 2007.

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

JAYASOORIYA, S.D. et al. Effect of high power ultrasound and ageing on the physical properties of bovine *Semitendinosus* and *Longissimus* muscles. **Meat Science**, v. 75, p. 628–639, 2007.

JENG, D.K.H.; KACZMAREK, K.A.; WOODWORTH, A.G.; BALASKY, G.. Mechanism of microwave sterilization in the dry state. **American Society for Microbiology**, v.53, n. 9, p. 2133-2137, set., 1987.

JEONG, J.Y. et al. Variability in temperature distribution and cooking properties of ground pork patties containing different fat level and with/without salt cooked by microwave energy. **Meat Science**, v. 75, n. 3, p. 415-422, mar. 2007.

JOSEPH, C.G. et al. Sonophotocatalysis in advanced oxidation process: A short review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 16, p. 583–589, 2009.

JOYCE, E. et al. The development and evaluation of ultrasound for the treatment of bacterial suspensions. A study of frequency , power and sonication time on cultured *Bacillus* species. *Ultrasonics Sonochemistry* , v.10, p. 315–318, 2003.

KEHRER, J.P.. The haber-weiss reaction and mechanism in and toxicity. **Toxicology**, v. 149, p. 43-50, 2000.

KENNEALLY, P.M.; LEUSCHNER, R.G.; ARENDT, E.K. Evaluation of the lipolytic activity of starter cultures for meat fermentation purposes. **Journal of Applied Microbiology**, v. 84, p. 839–846, 1998.

KORN, M.; ANDRADE, M.V.A.S.; BORGES, S.S. Procedimentos analíticos assistidos por ultrassom. **Revista Analytica**, n. 3, p. 34-39, fev 2003.

LANKINS, D. G. et al. Reduction of *salmonella* enteritidis in shell eggs using directional microwave technology. **Poultry Science**, v. 87, n.5, p. 985-991, maio 2008.

LEE, D.U.; HEINZ, V.; KNORR, D. Effects of combination treatments of nisin and high-intensity ultrasound with high pressure on the microbial inactivation in liquid whole egg. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 4, p. 387–393, 2003.

- LI, Z.Y.; WANG, R.F.; KUDRA, T. Uniformity issue in microwave drying. **Drying technology**, v. 29, p. 652-660, 2011.
- LIANGFU, Z.; ZELONG, L. Optimization and comparison of ultrasound/microwave assisted extraction (UMAE) and ultrasonic assisted extraction (UAE) of lycopene from tomatoes, **Ultrason. Sonochem.** v. 15, p. 731–737, 2008.
- LU, J.; DU, X.; LIPSCOMB, G. Cleaning Membranes with Focused UltrasoundvBeams for Drinking Water Treatment. **International Ultrasonics Symposium Proceedings**, p. 1195-1198, 200.
- MANCINI, R.A.; HUNT, M.C. Current research in meat color. **Meat Science**, v. 71, p. 100–121, 2005.
- MARCHESE, C.M.; CICHOSKI², A.J.; ZANOELO, E.F.; DARIVA, C.. Influência das condições de armazenamento sobre os pigmentos cárneos e a cor do salame italiano fatiado. **Ciência e tecnologia de alimentos**, v. 26, n. 3, p. 697-704, jul.-set. 2006.
- MARQUES, A.C.; VALENTE, T.B.; ROSA, C.S. Formação de toxinas durante o processamento de alimentos e as possíveis conseqüências para o organismo humano. **Rev. Nutr., Campinas**, v. 22, n. 2, p. 283-293, mar./abr., 2009.
- MARTINS et al. Avaliação do perfil bacteriológico de salsichas tipo “hot dog” comercializadas em embalagens a vácuo e a granel em supermercados dos municípios Rio de Janeiro e Niterói, RJ/Brasil. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 67, n. 3, p. 215-220, 2008.
- MASON, T.J. et al. New evidence for the inverse dependence of mechanical and chemical effects on the frequency of ultrasound. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, p. 226–230, 2011.
- MERCADANTE, A.Z. et al. Effect of natural pigments on the oxidative stability of sausages stored under refrigeration. **Meat Science**, v. 84, p. 718–726, 2010.
- MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA (MME). **Balço Energético Nacional 2007: Ano base 2006 – BEN, 2007**. Brasília, DF, 2007, 192p.
- MUÑOZ, A. et al. Effects on Escherichia coli inactivation and quality attributes in apple juice treated by combinations of pulsed light and thermosonication. **Food Research International**, 2011.
- NASCENTES, C.C. et al. Use of ultrasonic baths for analytical applications: A new approach for optimization conditions. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 12, n. 1, p. 57-63, 2001.
- OGINO, H. et al. Cloning, expression and characterization of a lipase gene (lip3) from Pseudomonas aeruginosa LST-03. **Mol Gen Genomics**, v. 271, n. 189–196, 2004.
- OLIVEIRA, L.M. et al. Embalagens termoformadas e termoprocessáveis para produtos cárneos processados. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 16, n. 3, p. 202-210, 2006.
- OLIVO, R. Alterações oxidativas em produtos cárneos. In OLIVO, R. **O mundo do frango: cadeia produtiva da carne de frango**. Criciúma, SC: Ed. Do Autor, 2006. Cap. 44, p. 533-542.

ORDÓÑEZ et al. **Tecnologia de alimentos**: Alimentos de origem animal. v. 2. Porto Alegre: Artmed, 2005, 279 p.

OSAWA, C.C.; FLÍCIO, P.E.; GONÇALVES, L.A.G. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. *Química Nova*, v. 28, n. 4, p. 655-663, 2005.

OZKECECI, R.B. et al. The effect of carcass part and packaging method on the storage stability of mechanically deboned chicken meat. **Journal of Muscle Foods**, v. 19, n. 3, p. 288-301, jul. 2008.

PACHECO, J. W. F. **Guia Técnico Ambiental de Frigoríficos** - Industrialização de Carnes (bovino e suíno) - Série P+L. CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, 2006.

PARDI, M. C.; SANTOS, I. F.; SOUZA, E. R.; PARDI, H. S. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. 2. ed. Goiânia: UFG, 2001. v. 2, 519 p.

PATIL, S. et al. The effects of acid adaptation on Escherichia coli inactivation using power ultrasound. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 10, p. 486–490, 2009.

PEREIRA, A.G.T. et al. Effects of the addition of mechanically deboned poultry meat and collagen fibers on quality characteristics of frankfurter-type sausages. **Meat Science**, v. 89, p. 519-525, 2011.

PIYASENA, P.; MOHAREB, E.; MCKELLAR, R.C. Inactivation of microbes using ultrasound: a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 87, p. 207– 216, 2003.

POHLMAN, S.W. et al. Effects of ultrasound and convection cooking to different end point temperatures on cooking characteristics, shear force and sensory properties, composition, and microscopic morphology of beef longissimus and pectoralis muscles. **J. Anim. Sci.**, v.75, p. 386-401, 1997.

PORTO, C.; DECORTI, D.; KIKIC, I. Flavour compounds of *Lavandula angustifolia* L. to use in food manufacturing: Comparison of three different extraction methods. **Food Chemistry**, v. 112, p. 1072–1078, 2009.

RAHARJO, S.; SOFOS, N. J.; SCHMIDT, R. G. Improved speed, specificity, and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid-C₁₈ method for measuring lipid peroxidation in beef. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 11, p. 2182–2185, 1992.

RASO, J. et al. Inactivation of *Bacillus subtilis* spores by combining ultrasonic waves under pressure and mild heat treatment. **Journal of Applied Microbiology**, v. 85, p. 849–854, 1998.

- REGINATO-D'ARCE, M.A.B.. Deterioração de lipídios-Ranço. In: OETTERER, M.. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. Barueri: Manole, 2006. Cap. 6, p. 243-295.
- RUIZ, C; PASTOR, F.I.J.; DIAZ, P. Isolation and characterization of *Bacillus* sp. BP-6 LipA, a ubiquitous lipase among mesophilic *Bacillus* species. **Letters in Applied Microbiology**, v. 37, p. 354–359, 2003.
- RUST, R.E.. Productos embutidos. In: PRICE, J.F.; SCHWEIGERT, B.N.. **Ciencia de la carne y de los productos carnicos**. 2 ed. Zaragoza, España: Acribia, 1994. Cap. 13, p. 415-440.
- SAGONG, H.G. et al. Combined effect of ultrasound and organic acids to reduce *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* on organic fresh lettuce. **International Journal of Food Microbiology**, v. 145, p. 287–292, 2011.
- SALLEH-MACK, S.Z.; ROBERTS, J.S. Ultrasound pasteurization: The effects of temperature, soluble solids, organic acids and pH on the inactivation of *Escherichia coli* ATCC 25922. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 14, p. 323–329, 2007.
- SEKIGUCHI, K.; SASAKI, C.; SAKAMOTO, K. Synergistic effects of high-frequency ultrasound on photocatalytic degradation of aldehydes and their intermediates using TiO₂ suspension in water. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, p. 158–163, 2011.
- SILVA F.A.M.; BORGES, M.F.M.; FERREIRA, M.A.. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 94-103, jan.-fev., 1999.
- SIVARAMAKRISHNAN, S.R.. **Microwave Pasteurization of Shell Eggs - A Prelude**. 2007. 77 f. Thesis (Master of science) - McGill University, Ste Anne de Bellevue, Quebec, Canada, 2007.
- STANGA, M. Sanitation: Cleaning and disinfection in the food industry. Weinheim: ed. Wiley-VCH, 2010.
- SUSLICK, K.S.. Sonochemistry. **Science**, v. 247, p. 1439–1445, mar, 1990.
- TERRA, N. N. **Apontamentos de tecnologia de carnes**. São Leopoldo: Ed. UNISINOS, 1998. 216 p.
- TERRA, N. N.; BRUM, M. A. R. Carnes e seus derivados. **Técnicas de controle de qualidade**. São Paulo: Livraria Nobel. 1988, 121p.
- TERRA, N.N. Salsichas. In: OLIVO, R. **O mundo do frango: cadeia produtiva da carne de frango**. Criciúma, SC: Ed. Do Autor, 2006. Cap. 32, p. 415-424.
- TOLEDO, J.C.; BATALHA, M.O.; AMARAL, D.C.. Qualidade na indústria agroalimentar: situação atual e perspectivas. **Rev. adm. Empres**, v. 40, n. 2, p. 90-101, 2000.

VALERO, M. et al. Effects of ultrasonic treatments in orange juice processing. **Journal of Food Engineering**, v. 80, p. 509–516, 2007.

VILLAMIEL, M.; JONG P. Influence of high-intensity ultrasound and heat treatment in continuous flow on fat, proteins and native enzymes of milk. **Ag Food Chem**, v. 8, p. 472–478, 2000b.

VON HOLY, A; CLOETEL, T.E.; HOLZAPFELT, W.H. Quantification and characterization of microbial populations associated with spoiled, vacuum-packed Vienna sausages. **Food Microbiology**, v. 8, p. 95-104, 1991.

WALKLING-RIBEIRO, M et al. The Impact of thermosonication and pulsed electric fields on *Staphylococcus aureus* inactivation and selected quality parameters in orange juice. **Food Bioprocess Technol**, v. 2, n. 422–430, 2009.

WANG, B. et al. Modified extraction method for determining 2-thiobarbituric acid values in meat with increased specificity and simplicity. **Food Chemistry and Toxicology**, v. 67, n. 8, p. 2833-2836, 2002.

WU, H.; HULBERT, G.J.; MOUNT, J.R. Effects of ultrasound on milk homogenization and fermentation with yogurt starter. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 1, p. 211-218, 2001.

YAMADA, E.A. et al. Utilização de extrato de levedura (*Saccharomyces* sp.) de destilaria de álcool em salsicha. **Braz. J. Food Technol.**, Campinas, v. 13, n. 3, p. 197-204, jul./set. 2010.

YARMAND, M.S.; HOMAYOUNI, A..Quality and microstructural changes in goat meat during heat treatment. **Meat Science**, v. 86, n. 2, p. 451-455, out, 2010.

YETIM, H. et al. Using fluid whey in comminuted meat products: effects on textural properties of frankfurter-type sausages. **Journal of Muscle Foods**, v. 17, p. 354–366, 2006.

YILMAZ, I.; ARICI, M.; GÜMÜS, T. Changes of microbiological quality in meatballs after heat treatment. **European Food Research and Technology**, v. 221, n. 3-4, p. 281-283, ago. 2005.

APÊNDICE A - Parâmetros de cor no interior e na superfície das salsichas avaliadas no Experimento II.

Tabela – Parâmetros de cor no interior e na superfície de salsichas pasteurizadas por 10 min em banho a 75°C com e sem ultrassom e da forma similar a industrial, armazenadas a 15°C com foto-período de 12h.

Tratamento	Dias de armazenamento				
	1	10	20	40	60
L* interna					
US	52,91±0,18 ^{aA}	51,67±0,38 ^{aB}	52,44±0,25 ^{aAB}	52,30±0,36 ^{aAB}	51,29±1,26 ^{aB}
SUS	51,9±0,28 ^{bA}	50,95±0,55 ^{bABC}	50,54±0,19 ^{bBC}	50,25±0,97 ^{bC}	51,3±0,40 ^{aAB}
TI	50,91±0,26 ^{cB}	50,90±0,32 ^{abB}	50,79±0,44 ^{bB}	52,13±0,57 ^{aA}	52,34±0,34 ^{aA}
L* externa					
US	44,57±0,29 ^{aB}	43,56±0,51 ^{aC}	44,58±0,32 ^{abB}	46,27±0,35 ^{aA}	46,48±0,88 ^{aA}
SUS	44,88±0,21 ^{aB}	45,03±0,40 ^{aAB}	44,73±0,20 ^{aB}	46,13±0,88 ^{aA}	45,74±0,90 ^{aAB}
TI	44,73±0,23 ^{aA}	42,36±0,68 ^{aA}	44,33±0,06 ^{bA}	44,97±0,18 ^{bA}	46,18±0,91 ^{aA}
a* interna					
US	20,11±0,24 ^{bB}	20,92±0,58 ^{aA}	20,17±0,41 ^{aB}	21,04±0,13 ^{abA}	19,96±0,51 ^{aB}
SUS	20,56±0,24 ^{aBC}	21,31±0,41 ^{aA}	19,97±0,16 ^{aD}	21,09±0,14 ^{aAB}	20,53±0,36 ^{aC}
TI	20,47±0,27 ^{abBC}	21,36±0,21 ^{aA}	20,12±0,28 ^{aC}	20,74±0,27 ^{bB}	20,60±0,48 ^{aBC}
a* externa					
US	28,04±0,26 ^{aA}	25,52±0,39 ^{cB}	27,51±0,24 ^{aA}	22,94±0,10 ^{cC}	22,81±0,82 ^{aC}
SUS	27,15±0,23 ^{bA}	27,22±0,39 ^{aA}	26,69±0,22 ^{bA}	24,37±0,60 ^{bB}	22,59±1,04 ^{aC}
TI	26,38±0,42 ^{cA}	26,47±0,23 ^{bA}	26,50±0,25 ^{bA}	26,20±0,23 ^{aA}	21,24±1,57 ^{aB}
b* interna					
US	17,20±0,20 ^{aB}	18,00±0,43 ^{aAB}	18,15±0,57 ^{aA}	18,28±0,15 ^{aA}	17,94±0,68 ^{abAB}
SUS	17,55±0,26 ^{aBC}	18,09±0,46 ^{aAB}	17,65±0,23 ^{aBC}	18,27±0,32 ^{aA}	17,21±0,28 ^{bC}
TI	17,29±0,22 ^{aB}	17,99±0,22 ^{aA}	17,68±0,37 ^{aAB}	18,02±0,30 ^{aA}	18,14±0,47 ^{aA}

b* externa					
US	36,76±0,65 ^{aA}	34,19±0,62 ^{bB}	35,76±0,24 ^{aA}	36,06±0,36 ^{aA}	30,13±1,54 ^{aC}
SUS	36,64±0,57 ^{aA}	36,11±0,34 ^{aA}	35,42±0,95 ^{aA}	37,00±1,18 ^{aA}	29,45±1,68 ^{aB}
TI	34,43±0,48 ^{bB}	34,58±0,47 ^{bAB}	34,52±1,01 ^{aB}	36,05±0,19 ^{aA}	28,12±1,29 ^{aC}

US: salsichas em banho de ultrassom por 10min a 75°C; **SUS:** salsichas em banho-maria por 10 min a 75°C sem utilização de ultrassom; **TI:** salsichas em banho-maria até atingir 73°C no interior (17min).

Letras minúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos dentro do mesmo período de armazenamento e letras maiúsculas representam diferença estatística entre os dias de armazenamento para cada tratamento.