



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

JÉSSICA IGNÁCIO PINTO

**FATORES RELACIONADOS COM A FORMAÇÃO DE  
CRISTAIS DE GELO NA CARNE DE FRANGO E SUAS  
CONSEQUÊNCIAS**

---

Londrina  
2016

JÉSSICA IGNÁCIO PINTO

**FATORES RELACIONADOS COM A FORMAÇÃO DE  
CRISTAIS DE GELO NA CARNE DE FRANGO E SUAS  
CONSEQUÊNCIAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Oba.

Londrina  
2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

PINTO, Jéssica Ignácio.

Fatores relacionados com a formação de cristais de gelo na carne de frango e suas consequências / Jéssica Ignácio Pinto. - Londrina, 2016.  
55 f. : il.

Orientador: Alexandre Oba.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2016.

Inclui bibliografia.

1. armazenamento - Teses. 2. aves - Teses. 3. congelamento - Teses. 4. Manejo pré-abate - Teses. I. Oba, Alexandre. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

JÉSSICA IGNÁCIO PINTO

**FATORES RELACIONADOS COM A FORMAÇÃO DE CRISTAIS DE  
GELO NA CARNE DE FRANGO E SUAS CONSEQUÊNCIAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Oba  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

---

Prof. Dr. Caio Abércio da Silva  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

---

Prof. Dra. Adriana L. S. Russo  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 29 de fevereiro de 2016.

*Dedico...*

*Aos meus pais.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por sempre estar me vigiando e concedendo sua benção.

Aos meus pais que me apoiaram em um momento difícil em que saí do mercado de trabalho para me dedicar novamente aos estudos.

À minha irmã, minha melhor amiga e companheira em todos os momentos.

Aos novos amigos que fiz em Londrina e me ajudaram a superar as dificuldades durante este processo.

Ao meu namorado, que me incentiva a ser uma pessoa melhor a cada dia e me apoia em todas as minhas decisões.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e à Universidade Estadual de Londrina, por me concederem esta oportunidade.

Agradeço em especial ao meu orientador Alexandre Oba que aceitou me orientar, mesmo sabendo que seria um desafio novo e diferente para ele.

Agradeço com muito carinho ao grupo GENAPET que conduziu juntamente comigo meu experimento, pois se não fossem eles, seria impossível estar aqui hoje.

Aos laboratórios de microbiologia, em especial a Professora Renata e sua orientada de doutorado Paula, pela ajuda e dedicação durante todo período de coletas e análises, e ao LANA, por ceder seu espaço e equipamentos para realização do projeto.

Agradeço imensamente a empresa Jaguafrangos, e em especial ao Felipe Lopes, Gerente de Qualidade e Produção, que aceitou abrir as portas da empresa e me ajudou compartilhando sua experiência e informações técnicas de grande valia.

PINTO, Jéssica Ignácio. **Fatores relacionados com a formação de cristais de gelo na carne de frango e suas consequências.** 2016. 55f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2016.

## RESUMO

O Brasil é o segundo maior produtor de frangos e o principal exportador mundial, mostrando assim a capacidade produtiva e qualitativa. Para tal, o processo de congelamento das carnes é de suma importância para o setor avícola, pois permite preservar os alimentos por longos períodos. Porém, este processamento deve ser adequado, visto que pode ocorrer alterações químicas e físicas, que comprometem a qualidade final do produto, como a formação de cristais de gelo. Assim, objetivou-se com este trabalho identificar os fatores que influenciam na formação de cristais de gelo superficial no peito de frangos durante o processo de abate e determinar as alterações físico-químicas e microbiológicas das carnes após o congelamento. Foram avaliados fatores que podem influenciar na formação de cristais de gelo superficial, como; idade e peso ao abate, tempo de jejum, contaminações geradas no primeiro ponto crítico de controle biológico (PCC 1b), tempo e temperatura de pré-chiller, temperatura do chiller, temperatura da carne na esteira da sala de cortes e tempo de túnel de congelamento. Em seguida foram coletadas 50 amostras de peito sem osso, sem pele e sem sassami com presença de cristais de gelo superficial e 50 amostras com ausência de cristais de gelo superficial, que foram correlacionados às informações coletadas das planilhas de monitoramento, com a finalidade de rastrear se houve influência de pré-abate e processamento nesta formação. Além disto, as amostras coletadas foram submetidas à análise microbiológica para isolamento de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e aeróbio mesófilo e a análises físico-químicas como; perda por gotejamento, proteína do exsudato, valor do pH, cor, capacidade de retenção de água, perda por cocção, força de cisalhamento e oxidação lipídica. Os resultados obtidos mostraram que a maior temperatura do peito de frango na sala de cortes proporcionou maior incidência de formação de cristais de gelo superficial na carne. Foi observado também que não houve diferença significativa para as carnes dos diferentes tratamentos quanto as análises físico-químicas, porém as carnes que apresentaram formação de cristal de gelo superficial tenderam a reduzir a contagem de *Staphylococcus aureus*. Concluiu-se que a formação de cristais de gelo superficial é influenciada pela temperatura da carne na sala de cortes e que esta característica do produto congelado promove uma tendência em reduzir a presença de *Staphylococcus aureus*, sem alterar a qualidade de carne.

**Palavras-chave:** armazenamento, aves, congelamento, manejo pré-abate, processamento

PINTO, Jéssica Ignácio. **Factors related to ice crystal formation on poultry meat and their consequences.** 2016. 55p. Dissertation (Master's Degree in Animal Science) – State University of Londrina, Londrina, 2016.

#### ABSTRACT

Brazil is the second biggest producer and the first one on export chicken meat, showing the power of production and quality. To this end, the meat freezing process is very important for the chicken sector, as this process allows preserving food for long periods. However, this process must be suitable, since during this occurs chemical and physical changes that can compromise the final quality, as ice crystal formation. This work aims to identify the factors that influence the surface ice crystals formation in the chicken breast during slaughter process and determine the physical, chemical and microbiological changes that meat suffer after freezing. Was valued factors that can influence the formation of those crystals, such as; age and weight at slaughter, fasting time, contamination generated in the first critical point of biological control (PCC 1b), pre-chiller time and temperature, chiller temperature, the meat temperature in the room on the wake of cuts and long freezing tunnel. Then were collected 50 breast samples without bone, skin and sassami with surface ice crystals formation and 50 samples without surface ice crystals formation, which were correlated to information gathered from monitoring spreadsheets, for the purpose of tracking whether there influence pre-slaughter and processing. In addition, the samples were submitted to microbiological analyses as *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and mesophyll aerobic and physical chemistry analyses as; drip loss, drip protein, pH, color, water-holding capacity, cooking loss, shear force and oxidation. The results show that the highest temperature of the chicken breast at room cuts provided higher incidence on surface ice crystals formation on the meat. It also observed that there is no significant difference in physical-chemical analyzes, on the other hand, meat with surface ice crystals formation tended to reduce the amount of *Staphylococcus aureus*. It concluded that the surface ice crystal formation were influenced by temperature of the chicken breast at room cuts and this type of freezing products tended to reduce the *Staphylococcus aureus* presence, without influence the poultry meat quality.

**Key words:** birds, freezing, management pré slaughter, processing, storage

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 -** Morfologia de um cristal de gelo: três eixos A crescendo em um plano basal, e um eixo C, crescendo em um plano prismático..... 14
- Figura 2 -** Curva de resfriamento da água..... 14
- Figura 3 -** Formatos de cristais de gelo que podem ser encontrados durante a cristalização: (A) Formação celular, (B1 e B2) Dendritos irregulares, (C) Hexágonos regulares, (D) Unidades esféricas ..... 17

## LISTA DE TABELAS

### ARTIGO A

- Tabela 1 -** Avaliação da influência de variáveis de pré-abate como; idade das aves, tempo de jejum e peso das aves; e processamento frigorífico como; contaminação PCC 1b, temperatura pré-chiller, temperatura chiller 1 e temperatura chiller 2, tempo pré-chiller, temperatura carne sala de cortes, temperatura da carne na saída do túnel de congelamento (Temperatura carne saída TRV), tempo túnel congelamento e influência da carne PSE na formação de cristais de gelo superficial em carne de frango ..... 47
- Tabela 2 -** Contagem microbiológica de bactérias aeróbio mesófilo, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* em amostras de peito de frango com a presença ou a ausência de formação de cristais de gelo superficial ..... 50
- Tabela 3 -** Valores das médias encontradas nas variáveis perda por gotejamento (%), proteína do exsudato (mg/mL), pH, Cor (L\*, a\*, b\*), capacidade de retenção de água (%), perda por cocção (%), força de cisalhamento (kgf) e oxidação lipídica (TBARs – mg MDA/kg de carne) para peitos de frangos com a presença de cristais e a ausência de cristais de gelo superficial ..... 51

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABPA	Associação Brasileira de Proteína Animal
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APPCC	Análise de Perigo e Pontos Críticos de Controle
CRA	Capacidade de Retenção de Água
DFD	<i>Dark, Firm, Dry</i>
FC	Força de Cisalhamento
LANA	Laboratório de Nutrição e Alimentação Animal
MAPA	Ministério da Agricultura e Abastecimento
MDA	Malonaldeído
PCC 1b	1º Ponto Crítico de Controle Biológico
PIB	Produto Interno Bruto
PPC	Perda por Cocção
PSE	<i>Pale, Soft, Exsudative</i>
TBA	Ácido Tiobarbitúrico
TBARs	Substâncias reativas no ácido 2-tiobarbitúrico
UEL	Universidade Estadual de Londrina
UFC	Unidade Formadora de Colônia

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>13</b>
2.1	PROCESSO DE CRISTALIZAÇÃO .....	13
2.2	SUPERCHILLING, SUPER RESFRIAMENTO OU RESFRIAMENTO SÓLIDO .....	17
2.3	CONGELAMENTO .....	18
2.4	IDADE E PESO AO ABATE .....	19
2.5	MANEJO PRÉ-ABATE .....	20
2.5.1	Tempo de jejum no pré-abate .....	20
2.5.2	Anomalia pse e dfd na carne de frango .....	22
2.6	PROCESSO DE ABATE .....	22
2.6.1	Evisceração .....	22
2.6.2	Sistema de pré-resfriamento .....	23
2.6.3	Sala de cortes .....	25
2.6.4	Túnel de congelamento.....	26
2.7	MICROBIOLOGIA .....	26
2.8	QUALIDADE DA CARNE.....	29
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>31</b>
3.1.	OBJETIVO GERAL .....	31
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICO .....	31
<b>4</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>32</b>
<b>5</b>	<b>ARTIGO A – FATORES RELACIONADOS COM A FORMAÇÃO DE CRISTAIS DE GELO NA CARNE DE FRANGO E SUAS CONSEQUÊNCIAS .....</b>	<b>38</b>
	<b>RESUMO .....</b>	<b>39</b>
	<b>ABSTRACT .....</b>	<b>40</b>
	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>41</b>
	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>42</b>
	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>46</b>

<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>52</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>52</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>55</b>

## 1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a avicultura emprega mais de 3,6 milhões de pessoas, direta e indiretamente, e responde por quase 1,5% do Produto Interno Bruto (PIB) (ABPA, 2015). Em 2015 a produção de frango superou 13,1 milhões de toneladas, tornando-se o segundo maior produtor mundial, superando a China (ABPA, 2016a).

De acordo com a Associação Brasileira de Proteína Animal, com relação às exportações, o Brasil mantém desde 2004 a posição de maior exportador mundial, tendo terminado 2015 com a marca de 4,3 milhões de toneladas embarcadas para mais de 150 países (considerando todos os produtos, entre frangos inteiros, cortes, salgados, processados e embutidos), mostrando assim sua capacidade produtiva e qualitativa (ABPA, 2016b).

A proteína da carne de frango vem ganhando cada vez mais espaço no mercado interno e externo e há a necessidade de um controle rigoroso em todas as etapas da cadeia, desde a criação do frango de corte até o armazenamento, expedição e transporte do produto final.

A carne de frango está sujeita a muitas variações de qualidade, sejam elas ligadas ao estresse (BARBUT, 1998; OLIVO; SHIMOKOMAKI, 2002) e/ou às condições de processamento e armazenamento empregadas (OLIVO; SHIMOKOMAKI, 2006).

Quando se trata de processo frigorífico, a etapa de congelamento das carnes é de suma importância para o setor, pois este processo permite preservar os alimentos por longos períodos. Porém, este processamento deve ser adequado, visto que podem ocorrer alterações químicas e físicas comprometendo a qualidade final do produto.

Uma alteração considerada relevante para a indústria de carnes é a formação de cristais de gelo superficial, que pode estar correlacionada a alterações na qualidade da carne, bem como repúdio por parte dos consumidores, que ao encontrarem produtos com esta característica nas gôndolas dos pontos de venda final, se recusam a levá-lo.

Esta formação de cristais pode ocorrer durante o processamento frigorífico, onde carnes submetidas a temperaturas muito baixas ( $< -18\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) apresentam quase 100% de sua água livre transformada em gelo, pequenos cristais (ROÇA, 2000) e/ou cristais de gelo superficial, ou ainda, estar associada à variações de temperaturas durante a passagem da carne em túneis de congelamento, armazenamento em câmaras frigoríficas, transporte logístico, armazenamento e exposição em pontos de venda final, levando a um descongelamento e

recongelamento desta água livre, acarretando na formação de grandes cristais de gelo e/ou cristais de gelo superficial.

Tem sido observado que as empresas avícolas têm apresentado grandes prejuízos econômicos, em virtude da formação de cristais de gelo nos cortes cárneos. Esta característica é vista como preocupante, pois a formação de cristais de gelo irregulares pode ser correlacionada à injúria das fibras e demais estruturas da carne, possibilitando assim a migração de sua umidade natural, quando do descongelamento, afetando negativamente a qualidade físico-química da carne.

Além disso, a presença de cristais de gelo superficial tornou-se um fator importante para frigoríficos e pontos finais de venda (supermercados e açougues), pois produtos com esta característica não são aceitos pelas empresas que os comercializam, sendo o principal motivo apontado para tal ocorrência a contaminação microbiológica das carnes, pois consideram que a formação de cristais de gelo superficial é decorrente unicamente do processo de descongelamento e recongelamento da carne, excluindo a possível variável água livre que tornaria a formação destes cristais, um processo natural da frigorificação.

Sendo assim, objetivou-se investigar dentro da cadeia frigorífica de aves os motivos que levam à formação de cristais de gelo superficial e as possíveis influências deste processo na contaminação microbiológica e na qualidade da carne de frangos.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

Parte dos fatores que influenciam a qualidade da carne pode ser controlado nas diferentes etapas do processo produtivo. Enquanto que a composição da carne é estabelecida durante a vida do animal, outras características de qualidade são afetadas tanto antes, como durante e após o abate. Fatores como idade, sexo, nutrição, localização e funcionamento do músculo, apanha dos animais, transporte, temperatura ambiente, tempo de jejum e outros podem, reconhecidamente, afetar a composição da carcaça dos animais e a qualidade de carne. Entretanto, o comprometimento da qualidade pode também ser decorrente do uso de diferentes tecnologias de abate e pós abate, como tempo de resfriamento, tempo e temperatura de maturação, estimulação elétrica, entre outros (KAUFFMAN; MARSH, 1987).

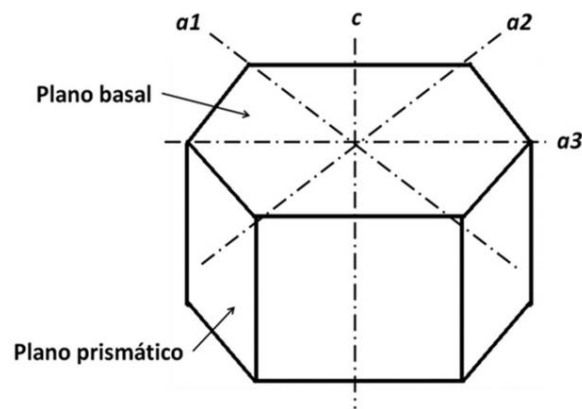
O processo de resfriamento tem um papel importante para manter a qualidade do produto final, visto que ele será responsável pela diminuição ou paralisação das reações físico-químicas e microbiológicas.

No caso da carne congelada, a atividade microbiana é paralisada e a enzimática, bem como a velocidade de reações químicas, são substancialmente reduzidas. O congelamento é um excelente método de conservação da carne, porque ocorrem alterações menores do que qualquer outro método de conservação de alimentos (ROÇA, 2000), pois a água que antes estava disponível para estas reações, passa a estar congelada na forma de cristais de gelo.

### 2.1 PROCESSO DE CRISTALIZAÇÃO

Em um sistema com energia reduzida, no caso de rebaixamento de temperaturas, cada molécula de água forma quatro ligações de hidrogênio com moléculas mais próximas, em um arranjo de conformação tetraédrica. Sem energia para romper essas ligações, a água assume sua forma sólida. A forma hexagonal do cristal de gelo é a única estável à pressão atmosférica normal e às temperaturas entre 0 e -60 °C. Nessa forma os cristais de gelo possuem três eixos *a*, crescendo em um plano basal, e outro eixo *c*, crescendo em um plano prismático, perpendicular ao plano basal (Figura 1) (GRIFFITH; EWART, 1995).

**Figura 1** Morfologia de um cristal de gelo: três eixos a, crescendo em um plano basal, e um eixo c, crescendo em um plano prismático.



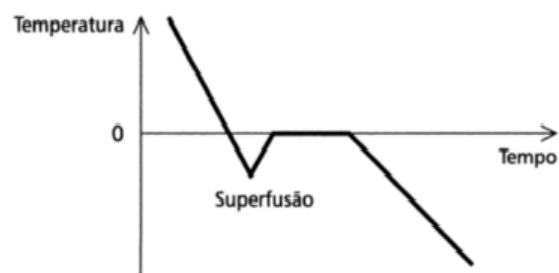
Fonte: PROVESI; AMANTE, 2015.

Os dois planos possuem taxas de crescimento distintas, sendo que as do plano prismático acontecem de forma muito mais rápida do que as do plano basal. A temperatura é um fator chave na velocidade e na forma de crescimento dos cristais de gelo, tanto que, em temperaturas logo abaixo de  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  os cristais têm uma morfologia circular, como discos, e em temperaturas ainda menores, como  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ , eles possuem uma forma mais irregular, como agulhas (HASSAS ROUDSARI; GOFF, 2012).

É interessante observar que, embora se considere  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  como o ponto de congelamento da água, isso não quer dizer que ao atingir essa temperatura a água, necessariamente, iniciará o processo de solidificação.

Quando a água está em repouso a temperatura continua a diminuir abaixo do ponto de congelamento, mantendo-se no estado líquido. No decorrer do tempo, ou com a movimentação, inicia-se o congelamento e a temperatura retorna a  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Este ponto denomina-se superfusão (Figura 2) (OETTERER et al., 2006).

**Figura 2** Curva de resfriamento da água.



Fonte: OETTERER et al., 2006.

No processo de congelamento da água ocorre a diminuição gradual de sua temperatura até 0 °C, correspondente à retirada do calor sensível; nesta fase, a água continua no estado líquido. Na sequência do processo é atingido um patamar em que a temperatura se mantém constante enquanto ocorre a cristalização da água. A permanência da temperatura a 0 °C deve-se à dissipação de calor latente de fusão ou de congelamento. Após essa fase, quando toda a água se encontra no estado sólido, tem-se nova queda de temperatura (OETTERER et al., 2006).

Quando a água ou qualquer outro líquido é resfriado os movimentos das moléculas diminuem, mas a solução pode permanecer na fase líquida mesmo com a temperatura inferior ao ponto de congelamento. Esse estado é conhecido como sobrearrefecimento ou no termo utilizado na língua inglesa, *supercooling state* (GOFF, 2005). Isso é possível porque a formação do gelo ou cristalização ocorre em duas etapas.

A etapa inicial é a nucleação, que consiste na combinação de moléculas em uma partícula ordenada de dimensão suficiente, servindo como local de crescimento do cristal (NEVES FILHO, 2000), na qual ocorre a formação de um pequeno cristal de gelo inicial que, como o nome da etapa já sugere, servirá como um núcleo para a propagação do cristal, que é a segunda etapa do processo. Sendo assim, a passagem das moléculas de água de um arranjo aleatório para o estado sólido ordenado leva o nome de cristalização, processo que consiste de uma nucleação e crescimento de cristais.

Como a nucleação não é uma etapa energeticamente favorável, o processo não se inicia de modo espontâneo na faixa de temperatura logo abaixo a 0 °C. O mais comum é a ocorrência de uma nucleação heterogênea, com a presença de uma molécula externa servindo como núcleo. A nucleação homogênea, de forma espontânea, ocorre somente em baixas temperaturas, como no caso da água ultrapura. Após a formação do núcleo inicial, o crescimento do cristal de gelo ocorre espontaneamente em temperaturas pouco abaixo de 0 °C (WHATEN; JIA, 2005).

Se o calor for removido de uma forma mais rápida, há formação de um maior número de núcleos, mais estáveis, o que reflete em um número maior de cristais com tamanho reduzido. Uma taxa mais lenta de retirada de calor leva à formação de um menor número de cristais, mas com maior tamanho (GOFF, 2005).

Em uma fase posterior, após a formação dos cristais, é possível ainda a ocorrência do processo de recristalização, que corresponde à reestruturação dos cristais de gelo nas variações de temperatura na faixa abaixo de zero, levando sempre à formação de cristais maiores (GRIFFITH; EWART, 1995; CRUZ et al., 2009). Diversos mecanismos são

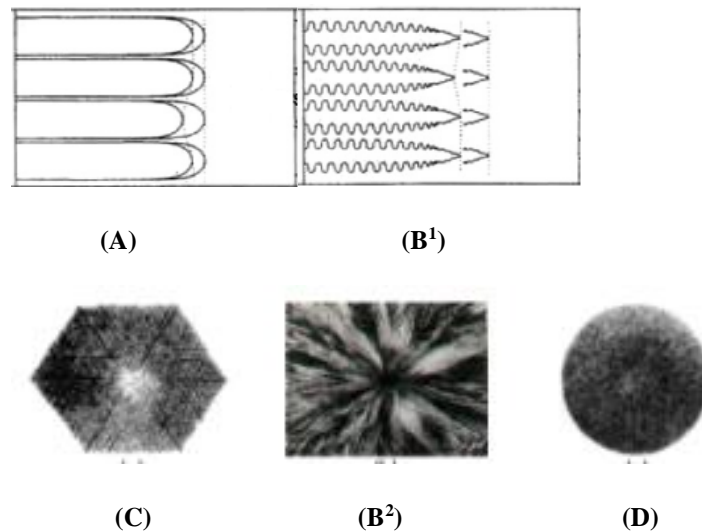
propostos para o processo de recristalização, como a conversão de cristais de superfície irregular nos de superfície lisa, mais estáveis; ou a fusão entre dois cristais vizinhos, resultando em outros maiores; ou, ainda, um processo de migração de moléculas de água entre cristais, formando-os em tamanho maior às custas da redução ou desaparecimento dos menores. Nesse caso, a variação de temperatura leva à fusão parcial de cristais pequenos, mais instáveis devido à sua alta energia de superfície, e as moléculas de água livres tendem a se depositar nos cristais grandes, aumentando seu tamanho. Todos esses mecanismos acontecem de forma simultânea e em diferentes graus no sistema, diminuindo o número de cristais, mas aumentando o tamanho médio (HASSAS ROUDSARI; GOFF, 2012).

Levando esse cenário para a água presente em organelas, células ou tecidos, quanto maior o cristal de gelo formado, maior a possibilidade de dano físico às membranas biológicas. Por isso o processo de recristalização é sempre uma preocupação, em áreas que veem no congelamento uma alternativa de método de conservação (PROVESI; AMANTE, 2015).

Com relação à forma dos cristais durante o processo de congelamento, estas são estabelecidas durante a fase de cristalização que se encontra entre  $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ , sendo conhecida como *freezing time*. É neste intervalo de temperatura que características como tamanho, morfologia e localização destes cristais de gelo são estabelecidas, dependendo do tempo que esta carne leva para passar por este intervalo de temperatura (LI; SUN, 2002). Dentre estas formas de cristais de gelo, pode-se considerar principalmente quatro tipos; celular, dendrítica, hexágonos regulares e unidades esféricas (Figura 3), dependendo do meio onde são formados, da taxa de congelamento e da concentração de um soluto em solução.

Formas celulares apresentam este crescimento devido à proximidade dos cristais, impossibilitando que os solutos presentes cristalizem junto a estes, formando cristais regulares (WANG et al., 2011). Cristais hexagonais regulares são formados por moléculas de água em períodos longos no congelamento da água pura. Os dendritos recebem esta forma irregular pois as moléculas de água cristalizam junto ao sólido, nos quais várias colunas são formadas a partir do centro de cristalização (COLLA; PRENTICE-HERNÁNDEZ, 2003). Caso haja um espaçamento entre os dendritos, pode haver um desenvolvimento de pontas através da solidificação da água livre ou divisão de cristais (WANG et al., 2011). Já as unidades esféricas são formadas em altas taxas de congelamento e há uma formação muito grande de lanças a partir do centro, não se observando a formação das colunas (COLLA; PRENTICE-HERNÁNDEZ, 2003).

**Figura 3** Formatos de cristais de gelo que podem ser encontrados durante a cristalização: (A) Formação celular, (B<sup>1</sup> e B<sup>2</sup>) Dendritos irregulares, (C) Hexágonos regulares, (D) Unidades esféricas.



Fonte: Adaptado de HUNT; LU, 1996; COLLA; PRENTICE-HERNÁNDEZ, 2003.

## 2.2 SUPERCHILLING, SUPER RESFRIAMENTO OU RESFRIAMENTO SÓLIDO

Entre os métodos de conservação de alimentos encontra-se o super-resfriamento, que consiste em uma cristalização parcial onde a carne é submetida a temperaturas entre  $-1\text{ °C}$  e  $-4\text{ °C}$  (GALLART-JORNET et al, 2007). Este tipo de cristalização irá definir a qualidade do congelamento. Neste processo são definidos dois estágios que consistem em: 1) baixar a temperatura próxima ao ponto inicial de congelamento; 2) remover o calor latente da cristalização, passar para 5 a 30% de água congelada (KAALE et al., 2011).

O gelo formado sobre a superfície irá absorver o calor do interior e irá eventualmente alcançar o equilíbrio. O super-resfriamento proporciona ao alimento uma formação de gelo na parte interna, não havendo necessidade de manter a formação de gelo externo, ao redor do produto.

Geralmente o super-resfriamento é classificado entre o congelemanto e a refrigeração, onde a temperatura encontra-se abaixo do ponto de congelamento. Os pontos de congelamento da maioria dos alimentos são entre  $-0,5\text{ °C}$  e  $-2,8\text{ °C}$  (DUUN; RUSTAD, 2007). Ando et al. (2004) definiram resfriamento sólido como a zona de temperatura abaixo de  $0\text{ °C}$ , mas onde os cristais de gelo não são formados. Beaufort et al (2009) definiram resfriamento sólido como uma tecnologia onde o alimento é armazenado logo abaixo da temperatura inicial de congelamento.

Neste sentido, carnes que alcancem temperaturas próximas a este intervalo terão menor perda de água por exsudação (temperaturas próximas a 0 °C), diminuindo a chance de formação de cristais de gelo superficial. Além disso, esta temperatura mais baixa pode diminuir a degradação de nucleotídeos causada por enzimas autolíticas (DUNN, 2008), através da diminuição da atividade microbiana.

A contagem microbiológica, quando baixa durante o processo de abate de carne de frango, provavelmente se manterá baixa mesmo que haja uma variação na temperatura durante o armazenamento e comercialização destas carnes. Caso haja formação de cristais de gelo superficial, esta característica estará diretamente ligada ao processo de frigorificação, excluindo a afirmação de comerciantes de que todas as carnes que apresentam formação de cristais de gelo superficial estão contaminadas.

### 2.3 CONGELAMENTO

O congelamento é o método de preservação da carne baseada no fato de que as temperaturas baixas destroem alguns microrganismos e impedem o crescimento de outros, permitindo, desta forma, a obtenção de um produto de qualidade, mesmo depois de um longo período de armazenamento (MONTEIRO FILHO et al., 2002).

O congelamento rápido é um processo no qual a temperatura do produto cai rapidamente para -4 °C em pouco tempo, resultando na formação de cristais de gelo de tamanho pequeno, tanto no interior das células como nos espaços intercelulares, promovendo danos menores aos produtos, quando comparado ao processo convencional de congelamento, onde os alimentos são colocados à temperatura entre 0 °C e -4 °C. Neste caso, o líquido existente no alimento resfria e congela lentamente, formando grandes cristais, que causam maiores danos aos alimentos (MONTEIRO FILHO et al., 2002).

Os alimentos congelam-se dentro de uma grande variação de temperaturas, dependendo da concentração de sais e água em suspensão coloidal na célula. A velocidade de congelamento dependerá da quantidade de água livre presente dentro da célula, que congelará de acordo com a quantidade de sais dissolvidos nesta. Na carne à -1 °C, tem-se cerca de 20% de água transformada em gelo, enquanto à -10 °C, aproximadamente 90%, e à -18 °C, quase 100% (ROÇA, 2000).

De modo geral, os produtos cárneos congelados possuem, como parâmetro de qualidade, o grau de desnaturação proteica que ocorre durante o armazenamento. A

desnaturação de proteínas ocorre devido às condições do congelamento e descongelamento e às oscilações da temperatura de armazenamento. Com a desnaturação as proteínas perdem a capacidade de reter água, o que irá alterar a textura da carne após o descongelamento e suas propriedades funcionais (ARDITO, 1994). Além da desnaturação de proteínas, pode ocorrer nos produtos cárneos congelados, desidratação da superfície e oxidação de gordura e alterações na cor (SARANTOPOULOS et al., 2001).

A desnaturação resultante de cristais intercelulares é provavelmente maior que aqueles cristais intracelulares. Há alguns indícios que a osmose pode acompanhar os passos iniciais do congelamento das células, causando uma desnaturação dos componentes celulares, antes que o equilíbrio osmótico seja alcançado no ponto de congelamento. Quando a água sai da célula certa quantidade de proteínas solúveis em água, peptídeos, aminoácidos, ácido láctico, purinas, vitaminas e sais estarão presentes no suco exsudato durante o descongelamento (ROÇA, 2000), fato este que poderia influenciar na qualidade da carne.

#### 2.4 IDADE E PESO AO ABATE

A idade e peso ao abate estão diretamente ligados, pois é provável que aves mais velhas apresentem um maior peso ao serem abatidas. Com isso, pode-se dizer que nas aves maiores seria menos provável que houvesse a formação de grandes cristais de gelo, pois uma vez que a carne fosse congelada, seria mais difícil que esta sofresse com a variação de temperatura, mantendo a temperatura de congelamento no interior.

Com relação à qualidade de carne, Mendes et al. (2003) observaram que o pH final da carne do peito não é influenciado pela linhagem das aves, mas que a idade destas influencia no pH. Aves mais velhas podem apresentar um pH mais alto, pois estas tendem a ser mais pesadas, dificultando a dissipação de calor, resultando em um maior gasto de glicogênio muscular *ante mortem* a fim de estabilizar sua temperatura. Este gasto impede a formação de ácido láctico no *post mortem*, diminuindo a velocidade na queda do pH (GUARNIERI et al., 2002).

Em contrapartida, aves mais novas tipo griller, por exemplo, tendem a apresentar um pH mais baixo pois estas aves tendem a ser mais estressadas, resultando em uma reserva de glicogênio com acúmulo de ácido láctico nos músculos (SCHAEFER et al., 1997). Estas carnes que apresentam um pH baixo, próximo ao ponto isoelétrico das proteínas miofibrilares (pH 5,2-5,3), possuem proteínas com cargas positivas e negativas em igual quantidade, apresentam uma aproximação máxima dos filamentos grossos e finos, fazendo

com que o espaço entre eles diminua ou mesmo desapareça, impossibilitando a ligação destas moléculas com a água, reduzindo sua estabilidade e a capacidade de retenção de água, aumentando a chance de formar cristais de gelo superficial.

A correlação positiva entre a idade das aves e a temperatura das carcaças, imediatamente antes do pré-resfriamento, revelou que quanto menor a idade, menor a temperatura das carcaças destas aves. Tal fato pode ser explicado pela maior superfície de contato em relação ao peso das aves mais novas e menores, trocando mais calor com o meio, durante os procedimentos de abate, tendendo a baixar sua temperatura (NICOLAU, 2012). Esta menor temperatura proporciona um meio impróprio para que haja crescimento de microrganismos indesejáveis, indicativo de rejeição de carnes com formação de cristais de gelo superficial. Além disso, a temperatura no centro do peito é mais baixa, quando comparada a aves maiores, agilizando o processo de congelamento.

## 2.5 MANEJO PRÉ-ABATE

As alterações nos parâmetros de qualidade nos animais de mesma linhagem, idade e sexo, são atribuídas ao estresse pré-abate, que desencadeia transtornos fisiológicos que podem causar alterações bioquímicas anômalas durante a transformação do músculo em carne e, com isso, afetar a estrutura miofibrilar (FLETCHER, 1991).

### 2.5.1 Tempo de jejum no pré-abate

A correta manipulação das aves nas horas que precedem o abate é indispensável para obtenção de produtos de qualidade (OLIVO et al., 2001).

Como consequência da morte da ave, três fontes de energia para o músculo são utilizadas; ATP, creatina fosfato e o glicogênio. O último, em maior quantidade disponível, é a principal fonte de energia para a glicólise. Com a interrupção do aporte de oxigênio, a síntese de ATP se realiza exclusivamente por via anaeróbica. Nestas condições o ácido pirúvico é reduzido a ácido láctico, que irá fornecer reabilitação para a creatina-fosfato, porém como não há mais fluxo sanguíneo este ácido láctico se acumula no músculo. Conseqüentemente há um declínio no pH ligado à quantidade de glicogênio presente no músculo no momento do abate. Há um aumento progressivo na velocidade da glicólise até atingir o pH, que corresponde ao momento em que as membranas perdem a resistência. Neste

momento, o músculo perde sua capacidade de contração e há livre passagem de íons pelas membranas. Disto resulta uma rápida equalização do pH em todo tecido. Deste ponto em diante a glicólise vai diminuindo até que as reservas de glicogênio estejam esgotadas ou até que o pH seja tão baixo ao ponto de inibir completamente as enzimas glicolíticas.

Com isso, as técnicas de manejo utilizadas no pré-abate devem ser padronizadas, a fim de diminuir o impacto sobre as aves e conseqüentemente sobre a transformação do músculo em carne.

Com relação ao tempo de jejum adotados nas diferentes granjas em todo o país, a restrição de alimento varia entre 6 e 12 horas, e a restrição hídrica ocorre a partir do momento da apanha e durante o descanso no abatedouro (MOREIRA, 2005). Ainda segundo o mesmo autor, o jejum tem por objetivo reduzir a contaminação de carcaças durante o processamento, já o descanso, visa repor as reservas de glicogênio nas aves que sofreram estresse.

Segundo Mendes (2012), com relação ao tempo de passagem da ingesta, após haver ingerido alimento, a ave terá o papo duro e meia hora após, quando já tiver bebido água, o papo estará macio. Cerca de duas horas e meia após, todo o alimento terá passado para o proventrículo, e três a quatro horas depois de comer o papo estará praticamente vazio à palpação ou somente com um pouco de água.

O efeito de diferentes tempos de jejum sobre a qualidade da carne foi avaliado por Komiyama et al. (2005), constatando que em tempos muito curtos de jejum (até 4 horas), há diminuição no pH devido à grande quantidade de glicogênio muscular, pois não há um tempo de descanso necessário para repor esta reserva (CARDOSO et al., 2008).

Tempos de jejum longos podem gerar estresse na ave por longos períodos, levando ao esgotamento das reservas de glicogênio muscular e a baixa produção de ácido láctico na glicólise anaeróbica (FORREST et al., 1979; PRÄNDAL et al, 1994) e o pH que deveria cair, mantém-se acima de 6,0.

Isso prova que se houver controle sobre o tempo de jejum, estabelecendo tempos entre os limites propostos pela indústria, não haverá extensão da glicólise no *post mortem*, decréscimo no pH ou diminuição da capacidade de retenção de água (CRA). Deve-se considerar que uma menor CRA pode promover uma maior perda de água, o que poderia aumentar a probabilidade de carnes desenvolverem cristais de gelo superficial.

### 2.5.2 Anomalia PSE e DFD na carne de frango

Dentre as alterações na qualidade de carne, tem-se dado muita importância ao PSE (do inglês *pale, soft, exudative*: pálida, flácida, exsudativa) e ao DFD (do inglês *dark, firm, dry*: escura, firme e seca), que são anomalias decorrentes de alterações químicas e físicas na carne. O PSE é causado pelo estresse *ante mortem*, o que provoca a necessidade de uma maior produção de energia pela via glicolítica anaeróbica, com a consequente produção de ácido láctico (OLIVO, 2006), onde a palidez está diretamente relacionada com a desnaturação protéica, causada pelo baixo pH (SWATLAND, 1993). Esta característica poderia levar a uma possível formação de cristais de gelo superficial através da exsudação da água livre presente na carne.

Já a carne DFD é causada por um estresse prolongado, exercícios físicos, exaustão durante o transporte, falta de alimentação, comportamento agressivo ou medo, ocorrências que causam depleção do glicogênio. A falta de glicogênio muscular, no momento da morte do animal, impedirá a formação quantitativa proporcional de ácido láctico. Por conseguinte, o declínio do pH e a velocidade de instalação do *rigor mortis*, dar-se-ão de forma mais lenta do que o normal. O pH final da carne permanecerá relativamente elevado, em geral maior do que 6,0 ou até próximo aos valores fisiológicos (MILLER, 2002). Esta característica dificilmente levaria à formação de cristais de gelo superficial, visto que a água livre presente neste tipo de carne encontra-se em menor quantidade, em maior volume a água se mantém ligada, permanecendo dentro das fibras musculares.

## 2.6 PROCESSO DE ABATE

### 2.6.1 Evisceração

A etapa de evisceração é de suma importância, pois influenciará diretamente na presença ou ausência de contaminação nas carcaças, uma vez que no momento da eventração e evisceração, conhecido como o primeiro ponto crítico de controle de risco biológico (PCC 1b) no abatedouro, onde a carcaça será exposta aos contaminantes internos, há grande chance de resultar em contaminação gastrointestinal e/ou biliar. Nesta etapa há inspeção visual de 100% das carcaças, onde àquelas que apresentam qualquer tipo de contaminação perceptível durante a avaliação visual, é retirada da linha de abate e direcionada

a linha de corte parcial. Os locais contaminados por ração, fezes (contaminação gastrointestinal) e/ou bile (contaminação biliar) são retirados e descartados, e a carcaça, agora livre de contaminações visuais, retorna a linha de abate e segue para o sistema de pré-resfriamento.

Embora a maioria dos organismos envolvidos na contaminação da carcaça, não apresentem importância do ponto de vista de saúde pública, alguns deles são potencialmente patogênicos (MEAD, 1989; HAFEZ, 1999), como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e aeróbios mesófilos constituídas por gêneros *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium* e *Streptococcus*.

O êxito de uma evisceração eficiente está diretamente ligado ao tempo de jejum imposto à ave, visto que animais com curto período de jejum apresentam maior quantidade de ingesta no trato digestivo, que será mais facilmente rompido, proporcionando assim a contaminação da carcaça.

Macari et al. (1994) citam o efeito de uma maior idade das aves sobre um maior tempo de trânsito. Esse maior tempo de trânsito está relacionado com o aumento do sistema digestório em função do envelhecimento das aves e ainda com o melhor funcionamento do ceco. Portanto, quanto mais velha a ave, maior será o sistema digestório e maior será o tempo de trânsito da ingesta, assim o alimento levará mais tempo para ser excretado, podendo resultar em um maior número de carcaças contaminadas durante o abate.

Considerando ainda o tempo de trânsito de ingesta, Duke et al. (1968) observaram que 75% é excretado em até 12 horas. Entretanto, a parte do alimento presente nos cecos, cerca de 10 a 12%, requer até 72 horas para ser excretado.

Portanto, caso haja a retirada de 100% das aves que apresentam contaminações gastrointestinal ou biliar na carcaça, a contagem microbiológica provavelmente se manterá baixa mesmo que haja uma variação na temperatura durante o armazenamento e comercialização destas carnes. Caso haja formação de cristais de gelo superficial, esta característica estará diretamente ligada ao processo de frigorificação, excluindo a afirmação de comerciantes de que todas as carnes que apresentam formação de cristais de gelo superficial estão contaminadas.

#### 2.6.2 Sistema de pré-resfriamento

O sistema de resfriamento consiste em tanques de aço inoxidável de rosca sem fim com a finalidade de mover as carcaças pelo tanque, no sentido contrário do

abastecimento de água gelada. Este processo é utilizado com a finalidade de reduzir a temperatura das carcaças e, segundo Karolyi et al. (2003), é eficaz também para reduzir a contaminação bacteriana das carcaças.

Esse processo é uma exigência de legislações nacionais e internacionais a fim de garantir a preservação da qualidade dos produtos cárneos, uma vez sob baixas temperaturas as velocidades das reações bioquímicas e microbiológicas são mais lentas, mantendo a vida útil dos produtos e estendendo o período de estocagem (CARCIOFI; LAURINDO; 2010; DINÇER, 1997).

O resfriamento das carcaças de frangos é uma das etapas mais importantes no processamento da carne, pois a redução da temperatura, além de reduzir o crescimento microbiano, influencia nos principais indicadores de qualidade da carne, tais como sabor, aparência e textura (SAVELL et al., 2005).

O pré-chiller é responsável pelo resfriamento inicial da carcaça que, de acordo com a Portaria 210, é o processo de rebaixamento da temperatura das carcaças de aves imediatamente após as etapas de evisceração e lavagem, realizado por sistema de imersão em água gelada e/ou água e gelo ou passagem por túnel de resfriamento, obedecidos os respectivos critérios técnicos específicos (BRASIL, 1998).

O chiller é responsável pelo resfriamento da carcaça, que de acordo com a Portaria 210, é o processo de refrigeração e manutenção da temperatura entre 0 a 4 °C dos produtos de aves (carcaças, cortes ou recortes, miúdos e/ou derivados), com tolerância de 1 °C medidos na intimidade dos mesmos (BRASIL, 1998).

Ainda, de acordo com a Portaria 210, alguns itens devem ser atendidos como:

- A água de renovação do sistema de pré-resfriamento por imersão poderá ser hiperclorada, permitindo-se no máximo 5 ppm de cloro livre;

- A temperatura da água residente, medida nos pontos de entrada e saída das carcaças do sistema de pré-resfriamento por imersão, não deve ser superior a 16 °C e 4 °C, respectivamente, no primeiro e último estágio, observando-se o tempo máximo de permanência das carcaças de trinta minutos no pré-chiller (não há tempo de permanência mínima ou máxima para o chiller);

- A renovação de água ou água gelada dos resfriadores contínuos tipo rosca sem fim, durante os trabalhos, deverá ser constante e em sentido contrário à movimentação das carcaças (contracorrente), na proporção mínima de 1,5 litros por carcaça no primeiro estágio e 1,0 litro no último estágio;

- Cada tanque do sistema de pré-resfriadores contínuos por imersão deve ser completamente esvaziado, limpo e desinfetado no final de cada período de trabalho 8 horas ou, quando se fizer necessário, a juízo da Inspeção Federal;

- A temperatura das carcaças no final do processo de pré-resfriamento, deverá ser igual ou inferior a 7 °C. Tolera-se a temperatura de 10 °C para as carcaças destinadas ao congelamento imediato;

O controle do uso contínuo da quantidade adequada do fluxo de água, temperatura, nível de cloro, tempo de permanência da carcaça e a quantidade inicial de bactérias, fornece uma melhora na condição bacteriológica final da carcaça (NORTHCUTT et al., 2006).

Tendo em vista que o presente trabalho tem como objetivo averiguar a presença de cristais de gelo superficial relacionando à presença ou à ausência de contaminação microbiológica e qualidade físico-química da carne, é de suma importância que todos os itens supracitados estejam dentro da legislação vigente, para que o sistema de resfriamento não interfira diretamente na contaminação das carcaças. É também nesta etapa do processo que pode ocorrer o resfriamento sólido da água livre na carne, reduzindo a chance da formação de grandes cristais de gelo, quando submetidas ao congelamento em túnel.

### 2.6.3 Sala de cortes

Nesta etapa do processamento da carne de frango a carcaça é submetida a diferentes cortes, quando não embalada inteira. No caso de fracionamento, a carcaça pode passar por máquinas de corte ou por colaboradores que manipulam esta e separam diferentes cortes, como coxa e sobrecoxa, peito, asa e etc. Quanto maior for o tempo de manipulação destes cortes, maior será a temperatura final. Outro ponto que pode influenciar é a manipulação pelos colaboradores, podendo também influenciar na temperatura da carne e na contaminação microbiológica das mesmas através da transferência de microrganismos das mãos para o alimento, ocorrendo falha do Manual de Boas Práticas de Manipulação. Assim, quanto maior a temperatura e o tempo que estas carnes permanecem na sala de cortes, poder-se-á elevar a temperatura dos cortes e conseqüentemente influenciar no processo de congelamento, podendo levar à formação dos cristais de gelo superficial.

#### 2.6.4 Túnel de congelamento

A temperatura e a velocidade do resfriamento são fatores que influenciam a qualidade de carne, visto que as velocidades das reações bioquímicas são reduzidas sob baixas temperaturas. A qualidade da carne é dependente da temperatura do tecido muscular e da velocidade de resfriamento após o abate, sendo que as velocidades das reações bioquímicas são reduzidas sob baixas temperaturas e o resfriamento rápido imediatamente após o abate leva à redução na velocidade do processo de *rigor mortis*, pois retarda o decréscimo do pH, fator este importante para a manutenção da qualidade da carne. Considera-se um resfriamento rápido àquele que possui uma taxa de congelamento  $>1$  °C/minuto, portanto o correto seria que a água livre presente na carne passa-se para o estado sólido entre 20 e 30 minutos (WEINLING, 1984).

No processo de congelamento as carcaças e cortes são expostos a baixas temperaturas através de um túnel de congelamento, fazendo com que os mesmos congelem o mais breve possível. Durante o processo de congelamento, a água da solução é transformada em cristais de gelo, maiores ou menores, dependendo da velocidade do processo térmico (ROBERTSON, 1992).

Os processos de conservação através do congelamento podem alterar fisicamente as carnes promovendo alterações nos vários componentes, entretanto, o congelamento prolonga seu tempo de conservação pela diminuição ou paralisação de deterioração causada por microrganismos, enzimas ou agentes químicos, além disso, o congelamento é um dos melhores métodos para manter a cor, o aroma e a aparência dos alimentos (BEN, 1999).

Para isso, os produtos depois de embalados, irão para o túnel de congelamento, onde serão monitorados a temperatura do túnel que deve estar  $-18$  °C ou mais frio, (BRASIL, 1952), além da temperatura do produto na saída, para avaliar se estão conforme a legislação vigente, devendo estar  $-12$  °C para congelados destinados a mercado interno e  $-18$  °C para congelados destinados a mercado externo (BRASIL, 1998).

### 2.7 MICROBIOLOGIA

Considerando os altos índices produtivos e o aumento na quantidade de aves abatidas, sua qualidade microbiológica e o estudo da incidência de microrganismos potencialmente patogênicos vêm sendo colocado em pauta com mais frequência, devido à

importância na saúde pública. A carne de frango deve apresentar uma carga bacteriana baixa e a pesquisa de bactérias e/ ou indicadores de condições higiênico-sanitárias auxiliam na verificação da qualidade (SILVA et al., 2003).

A ave chega ao abatedouro com uma contaminação microbiana própria, que pode ser modificada ou aumentada durante as diferentes etapas do processamento e obtenção da carne. A biota contaminante se restringe principalmente à superfície e à pele, pois as mesmas são contaminadas pela água, pelo processamento e pelo manuseio das aves. Em geral, a biota reflete os microrganismos do abate e de etapas do processamento, com uma predominância de bactérias Gram-negativas (JAY, 2005).

A carne é um alimento altamente perecível sendo de fácil deterioração e contaminação, tanto com microrganismos patogênicos de origem entérica ou ambiental, como microrganismos responsáveis pela decomposição. Estes últimos são a causa mais frequente da sua alteração, a que se seguem as enzimas autolíticas naturalmente presentes na carne. A carne de aves, principalmente a de frango, está relacionada à transmissão dos mais variados microrganismos patogênicos para o homem, sendo responsável pela incidência de doenças transmitidas por alimentos (DTAs). Os microrganismos de maior importância em produtos cárneos são: *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophila*, *Shigella spp.*, *Streptococcus spp.*, *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus* (MORENO, 2006).

A flora microbiana das aves é bastante complexa e muitos outros microorganismos, além do *Campylobacter*, podem estar presentes. Dentre estes, pode-se citar *Salmonella sp.*, *Listeria sp.*, *Escherichia coli*, *Clostridium sp.*, *Staphylococcus aureus* e outros microrganismos indicadores de higiene, como o grupo coliformes totais e termotolerantes e as bactérias aeróbias mesófilas (FORSYTHE, 2002).

O *Staphylococcus aureus* é a principal espécie do grupo de *Staphylococcus* coagulase positiva. É uma bactéria patogênica que causa doença de perigo moderado, com sintomas autolimitados e sem ameaça de morte ou sequelas, mas que causa severos desconfortos que são decorrentes da ingestão de suas toxinas. Os sintomas são evidenciados pela ingestão de uma dose de toxina menor que 1mg no alimento contaminado (SILVA et al., 2007). *S.aureus* não é resistente ao calor, sendo facilmente destruído na pasteurização ou na cocção de alimentos, diferentemente de suas toxinas, que resistem ao tratamento térmico e às enzimas proteolíticas (CDC, 2006). Porém é uma bactéria que resiste a temperaturas baixas até 7 °C, faixa esta, praticada no processamento da carne em uma planta frigorífica.

Os principais reservatórios do *S. aureus* compreendem animais de sangue quente e seres humanos, sendo os manipuladores de alimentos a fonte mais frequente de contaminação. A carne de frango representa uma fonte significativa de contaminação devido ao seu alto teor proteico, alta disponibilidade de água e pH próximo à neutralidade (PEPE et al., 2006).

As bactérias aeróbias mesófilas são constituídas de espécies da família *Enterobacteriaceae*, dos gêneros *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Streptococcus*, dentre outros. Porém, não diferencia tipos de bactéria, nem mede todas as populações bacterianas, mas sim aquelas que crescem na presença de oxigênio e em faixas de temperatura compreendidas entre 20 °C e 45 °C (SILVA et al., 2007).

O grupo dos coliformes totais é um subgrupo da família *Enterobacteriaceae* que inclui 44 gêneros e 176 espécies. Pertencem a este grupo bactérias originárias do trato gastrointestinal de humanos e de animais de sangue quente (*Escherichia*), além de bactérias não entéricas (*Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia* e *Klebsiella*, entre outras). Destacam-se neste grupo, os coliformes termotolerantes, popularmente conhecidos como coliformes fecais, que crescem preferencialmente em temperaturas próximas a 45 °C +/- 0,5 °C (APHA, 2001).

A contagem de coliformes totais e termotolerantes é utilizada para avaliar as condições higiênico-sanitárias do produto, pois quando em alto número indica contaminação durante o processamento, limpeza e sanificação inadequada ou tratamento térmico insuficiente. A enumeração de termotolerantes é também empregada como indicador de contaminação fecal, visto que a população deste grupo é constituída de alta proporção de *Escherichia coli* (CARDOSO et al., 2005).

As aves têm um papel especialmente importante, pois podem ser portadoras assintomáticas, excretando continuamente estas bactérias pelas fezes, podendo causar contaminações cruzadas de grande importância nos abatedouros (COLLES et al., 2008; VAN GERWE et al., 2005).

A Resolução RDC nº 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, estabelece a tolerância máxima permitida para coliformes termotolerantes e *E.coli* em carcaças inteiras, fracionadas ou em cortes de até 10<sup>4</sup> UFC/g. Porém, a respectiva legislação não estabelece parâmetros para contagem padrão em placas de microrganismos aeróbios mesófilos, *S. aureus* e coliformes termotolerantes em frangos (BRASIL, 2001).

Os padrões internos dos abatedouros consideram aceitáveis amostras que apresentem contagens inferiores a 10<sup>2</sup> UFC/g para *Staphylococcus* coagulase-positiva e inferiores a 10<sup>5</sup> UFC/g de bactérias aeróbias mesófilas (BRASIL, 1992).

Desta forma, as operações de abate, a conservação e a manipulação da carne de aves até o consumidor devem ser efetuadas de modo que se limite a contaminação por microrganismos e se iniba ou reduza a sua multiplicação e a ação das enzimas autolíticas (BERRANG et al., 2000).

## 2.8 QUALIDADE DA CARNE

Segundo Bliska (2000), um produto de qualidade é composto por um conjunto de atributos que satisfaçam o consumidor ou até mesmo que superem suas expectativas iniciais. Uma maneira de se avaliar a qualidade da carne é através de estudos de suas propriedades, como pH, capacidade de retenção de água, maciez e cor da carne (MENDES et al., 2003).

A água é o maior constituinte da carne, sendo que no tecido magro representa de 70-75% do peso. Quando a umidade é perdida, o rendimento, a maciez, a textura, o sabor e os valores nutricionais são afetados negativamente.

Para determinar a quantidade de água resultante do descongelamento de carcaças congeladas, o MAPA instituiu, pela Portaria nº 210, o Método da Perda por Gotejamento (*Dripping test*). Se a quantidade de água resultante, expressa em percentagem do peso da carcaça, com todos os miúdos e partes comestíveis na embalagem, ultrapassar o valor limite de 6%, considera-se que houve excesso de água absorvida durante o pré-resfriamento por imersão em água (BRASIL, 1998). Esta variável é de grande importância neste estudo, pois caso haja absorções acima do limite imposto na legislação, pode desencadear formação de cristal de gelo superficial.

Com isso, a capacidade que a carne tem em reter água (CRA), isto é, manter a água ligada, está diretamente relacionada com o aspecto da carne antes do cozimento, com o seu comportamento durante a cocção e a palatabilidade do produto (MENDES, 2001). A maior capacidade de reter a água leva à melhor suculência e à menor perda de umidade e peso durante a estocagem, características consideradas relevantes para o consumidor. A variável CRA pode estar diretamente ligada à formação de cristal de gelo, uma vez que, se este valor for alto, a probabilidade de formar cristais é menor, visto que a carne reteu mais água. O mesmo acontece com o pH, onde valores mais elevados terão maior retenção de água (OSÓRIO et al., 2009), diminuindo as chances de formação de cristais de gelo superficial, pois terão menos água exsudada para cristalizar no meio externo.

A CRA está inversamente ligada ao parâmetro luminosidade (valor  $L^*$ ), pois quanto menor for a CRA mais água haverá fora das células e a estrutura protéica se manterá extremamente fechada, provocando a reflexão da luz incidente, o que gerará um valor de  $L^*$  mais alto (SANFELICE et al., 2010). Com isso, quando se tem valores de  $L^*$  altos haverá maior probabilidade de formação de cristais de gelo superficial.

A capacidade da carne em reter a própria água contida em sua estrutura durante o cozimento é a definição de perda de peso no cozimento. A umidade natural da carne contribui para a sua textura, suculência, maciez, sabor e palatabilidade. As perdas no cozimento podem alterar a sua qualidade sensorial, proporcionando uma carne dura, seca e fibrosa, alterando suas características sensoriais. Valores altos durante a perda por cocção podem ter sido um indicativo de que a carne tenha desenvolvido cristais de gelo superficial no momento do congelamento.

A textura da carne afeta sua firmeza e mastigabilidade, podendo ser medida pela força de cisalhamento (MURAKAMI, 2009). Portanto, carnes com valores altos de força de cisalhamento poderiam ser indicativos de que houve baixa capacidade de retenção de água e maior chance de desenvolver cristais de gelo superficial.

Caso haja desvios na quantidade de água presente no alimento e uma armazenagem inadequada, é provável que ocorra a oxidação de lipídeos presente na carne.

A rancidez oxidativa ocorre em lipídios, principalmente em ácidos graxos insaturados, que podem sofrer oxidação formando aldeídos, cetonas, ácidos, álcoois e hidrocarbonetos. Sabe-se que diversos fatores estão associados à ocorrência da oxidação lipídica em carnes, como presença de oxigênio, exposição a luz, temperatura elevada, pH, atividade de água, radiações, quantidade de mioglobina, estado químico do ferro e outros (PEREIRA et al., 2006). Assim, o processo de congelamento pode levar ao rompimento das membranas celulares, proporcionando caminhos que facilitem o processo de oxidação da carne.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Identificar os fatores que influenciam na formação de cristais de gelo superficial em peitos de frango e determinar as alterações físico-químicas e microbiológicas das carnes após congelamento.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar quais fatores do pré-abate, processamento e armazenamento podem influenciar na formação de cristais de gelo no peito de frango;
- Determinar as alterações físico-químicas que as carnes de peito sofrem com a formação dos cristais de gelo;
- Determinar se a formação de cristais de gelo superficial em peito de frango está diretamente ligada a contaminação microbiológica.

#### 4 REFERÊNCIAS

ABPA - Associação Brasileira de Proteína Animal. **A avicultura Brasileira – História da avicultura no Brasil.**

Disponível em:

[http://www.ubabef.com.br/a\\_avicultura\\_brasileira/historia\\_da\\_avicultura\\_no\\_brasil](http://www.ubabef.com.br/a_avicultura_brasileira/historia_da_avicultura_no_brasil) Acesso em: 06 de abril de 2015.

ABPA (a) - Associação Brasileira de Proteína Animal. **Carne de frango:** Exportações de dezembro crescem 14,3% e registram segundo melhor desempenho da história. 2015.

Disponível em:

<http://abpa-br.com.br/noticia/artigos/todas/carne-de-frango-exportacoes-de-dezembro-crescem-143-e-registram-segundo-melhor-desempenho-da-historia-1511>. Acesso em: 12/01/2016.

ABPA (b) – Com 4,3 milhões de toneladas, exportação de frango é recorde em 2015. **Globo Rural.**

Disponível em:

<http://g1.globo.com/economia/agronegocios/noticia/2016/01/com-43-milhoes-de-texportacao-de-frango-e-recorde-em-2015-diz-abpa.html>

ANDO, M.; NAKAMURA, H.; HARADA, R.; YAMANE, A. Effect of super chilling storage on maintenance of freshness of kuruma prawn. **Journal of Food Science and Technology Research**, v.10, n.1, p.25–31, 2004.

APHA – American Public Health Association. **Compendium of methods of the microbiological examination of foods**, v.4, 2001.

ARDITO, E. F. G.; ALVES, R. M. V. Embalagens para alimentos congelados. **Coletânea do Instituto Tecnológico de Alimentos**, v.24, n.1, p.11-28, 1994.

BARBUT, S. Estimating the magnitude of the PSE problem in poultry. **Journal of Muscle Food**, v.9, p.35-49, 1998.

BEAUFORT, A.; CARDINAL, M.; LE-BAIL, A.; MIDELET-BOURDIN, G. The effects of superchilled storage at -2 °C on the microbiological and organoleptic properties of cold smoked salmon before retail display. **International Journal of Refrigeration**, v.32, n.7, p.1850–1857, 2009.

BEN, A. M. Effect of freezing and microbial growth en myoglobin derivates of beef. **Food Chemistry**, v.147, n.10, p.4093, 1999.

BERRANG, M. E.; DICKENS, J. A.; MUSGROVE, M. T. Effects of hot water application after defeathering on the levels of campylobacter, coliform bacteria and Escherichia coli on broiler carcasses. **Poultry Science**, v. 79, p. 1689-1693, 2000.

BLISKA, F. M. M. Qualidade na cadeia produtiva da carne bovina: elaboração e implementação de um sistema de controle. **Boletim de Conexão Industrial do Centro de**

**Tecnologia de Carnes do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v. 9-10, p. 12-16, 1999-2000.

BRASIL – Anvisa. Resolução RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **D.O.U. – Diário Oficial da União, Poder Executivo**. Brasília, 10 jan. 2001. p.13, ANEXO I.

BRASIL – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **RIISPOA** – Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal de 29 de março de 1952.

BRASIL - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Defesa Animal. Manual de métodos microbiológicos para alimentos. Coordenação Geral de Laboratório Animal. **D.O.U – Diário Oficial da União**. Brasília, 1992, 2ª Revisão. p.136.

BRASIL – Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria nº210 de 10 de novembro de 1998. Aprovar o regulamento técnico da inspeção tecnológica e higiênico-sanitária de carne de aves. **D.O.U – Diário Oficial da União**. Brasília, 26 nov. 1998, seção 1, p.226.

CARCIOFI, B. A.; LAURINDO, J. B. Experimental results and modeling of poultry carcass cooling by water immersion. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30, n.2, p.447 - 453. 2010.

CARDOSO, A. L. S. P. et al. Pesquisa de Salmonella spp, coliformes totais, coliformes fecais, mesófilos, em carcaças e cortes de frango. **Revista Higiene Alimentar**, v.19, n.128, p. 144-150, 2005.

CARDOSO, T. A. B. et al. **Efeito do tempo de jejum pré-abate na qualidade da carne de frangos**, 2008.

CDC – Centers for disease control and prevention. **Staphylococcal Food Poisoning**, 2006. Disponível em: <[http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/staphylococcus\\_food\\_g.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/staphylococcus_food_g.htm)>. Acesso em: 30 dez. 2015.

COLLA, L. M.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. Congelamento e descongelamento – sua influência sobre os alimentos. **Vetor**, v.13, p.53-66, 2003.

COLLES, F. M. et al. Campylobacter infection of broiler chickens in a free-range-environment. **Environmental Microbiology**, v.10, n.8, p.2042-2050, ago. 2008.

CRUZ, R. M. S.; VIEIRA, M. C.; SILVA, C. L. M. The response of watercress (*Nasturtium officinale*) to vacuum impregnation: effect of an antifreeze protein type I. **Journal of Food Engineering**, v.95, n. 2, p. 339-345, 2009.

DINÇER, I. **Heat Transfer in Food Cooling Applications**, n.2, 1997.

DUKE, G. E.; PETRIDES, G. A.; RINGER, R. K. Chromium-51 in feed metabolizability and passage rate studies with the ring-necked pheasant. **Poultry Science**, v.48, p.1356-1362,

1968. Citado por: MENDES, AA. Jejum Pré-abate em Frangos de Corte. **Revista Brasileira Ciencia Avicícola**, v.3, n.3, 2001.

DUUN, A. S. **Superchilling of muscle food storage stability and quality aspects of salmon (Salmo salar)**, cod (Gadus morhua) and pork, Doctoral theses. Dep. Biotechnology, NTNU, 2008.

DUUN, A. S.; RUSTAD, T. Quality changes during superchilled storage of cod (Gadus morhua) fillets. **Food Chemistry**, v.105, n.3, p.1067–1107, 2007.

FLETCHER, D. L. **Ante mortem factors related to meat quality**. In: European symposium on the quality of poultry meat, 10<sup>th</sup> Doorwerth, Proceedings... Beekbergen: Spelderholt Centre for Poultry Research and information Services, p.9-11, 1991.

FORREST, J.C.; et al. **Fundamentos de ciencia de la carne**. Traduzido por BERNABÉ SANZ PÉREZ; Tradução de: Principles of meat Science. Zaragoza: Acribia, p.364, 1979.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Artmed, 2002.

GALLART-JORNET, L. et al. Effect of superchilled storage on the freshness and salting behavior of Atlantic salmon (Salmo salar) fillets. **Food Chemistry**, v.103, n.4, p.1268–1281, 2007.

GOFF, H. D. Food at subzero temperatures. In: DUTCHER, J. R.; MARANGONI, A. G. **Soft materials structure and dynamics**, p. 229-320, 2005.

GRIFFITH, M.; EWART, K. V. Antifreeze proteins and their potential use in frozen foods. **Biotechnology Advances**, v.13, n.3, p.375-402, 1995.

GUARNIERI, P. D. et al. Bem estar animal e qualidade da carne. Uma exigencia dos consumidores. **Revista Nacional da Carne**, v.26, p.36-44, 2002.

HAFEZ, H. M. Poultry meat and food safety: pre - and post-harvest approaches to reduce foodborne pathogens. **World's Poultry Science Journal**, v.55, n.3, p.269-280, 1999.

HASSAS ROUDSARI, M.; GOFF, D. Ice structuring proteins from plants: mechanism of action and food application. **Food Research International**, v.46, n.1, p.425-436, 2012.

HUNT, J. D.; LU, S. Z. Numerical modeling of cellular/dendritic array growth: spacing and structure predictions. **Metallurgical and Materials Transactions A**, v.27, n.3, p.611-623, 1996.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. Artmed, n.2, 2005.

KAALE, L. D.; EIKEVIK, T. M.; RUSTAD, T.; KOLSAKER, K. Superchilling of food, a review. **Journal Food Engenier**, v.107, p.141-146, 2011.

KAUFFMAN, R. G.; MARSH, B. B. Quality characteristics of muscle as a food in: The science of meat and meat products. Price, J.F.and Schweigert, B.S. (eds.). **Food & Nutrition Press**, 1987.

- KAROLYI, L. G. et al. Bacterial population in counter flow and parallel flow water chilling of poultry meat. **European Food Research and Technology**, v.217, p.412-415, 2003.
- KOMIYAMA, C. M. et al. **Efeito do tempo de jejum e do banho de aspersão sobre as características de qualidade de carne de frangos de corte**. In: Conferência 53 APINCO 2005 de Ciência e Tecnologia Avícola, 2005, Facta, p.173-173, 2005.
- LI, B.; SUN, D. W. Effect of power ultrasound on freezing rate during immersion freezing of potatoes. **Journal of Food Engineering**, v.55, p.277-282, 2002.
- MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. FUNEP- UNESP, 296p. 1994.
- MEAD, G. C. Hygiene Problems and Control of Process Contamination. Mead GC. **Processing of Poultry**. New York. Elsevier Applied Science. p.360-368, 1989.
- MENDES, A. A. Jejum pré-abate em frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.3, n.3, p.54-59, 2001.
- MENDES, A. A.; MOREIRA, J.; GARCIA, R. G. Qualidade da carne de peito de frango de corte. **Revista Nacional da Carne**, n.317 p.138-144, 2003.
- MENDES, A. A. **Jejum pré abate em frangos de corte**. Disponível em: <http://pt.engormix.com/MA-avicultura/administracao/artigos/jejum-pre-abate-frangos-t1148/124-p0.htm> . Publicado em: 24/07/2012. Acesso em: 07 de abril de 2015.
- MILLER, R. K. **Factors affecting the quality of raw material**. In: KEERY, J.; KERRY, J.; LEDWARD, D., eds. *Meat processing: improving quality*, p.27-63, 2002.
- MONTEIRO FILHO, A. F.; BRAGA, M. E. D.; MATA, M. E. R. M. C. Congelamento de carne suína a temperaturas criogênicas: alterações de algumas características físico-químicas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.4, n.1, p.51-62, 2002.
- MORENO, B. **Higiene e inspección de carne**. I. Espanha: Ediciones Diaz de Santos, 2006.
- MURAKAMI, K. T. T. **Óleo de linhaça como principal fonte lipídica na dieta de frangos de corte**. 2009. 64f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária, 2009.
- NEVES FILHO, L. C. **Alimentos e refrigeração**. UNICAMP-IFEA. p.385, 2000.
- NICOLAU, J. P. **Variáveis envolvidas nas etapas de insensibilização e pré-resfriamento no abate de frangos**. Araçatuba – SP. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária, 2012.
- NORTHCUTT, J. K. et al. Broiler carcass bacterial counts after immersion chilling using either a low or high volume of water. **Poultry Science**, v.85, p.1802-1806, 2006.

- OETTERER, M.; D'ARCE, M. A. A. R.; SPOTO, M. **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Capítulo X – Processamento mínimo e congelamento. p.457-458, 2006.
- OLIVO, R.; GUARNIERI, P. D.; SHIMOKOMAKI, M. Fatores que influenciam na cor de filés de peito de frango. **Revista Nacional da Carne**, v. 25, n. 289, p. 44-49, 2001.
- OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. **Carnes: No caminho da pesquisa**, n.2, p.155, 2002.
- OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. Carne PSE em aves. In: SHIMOKOMAKI, et al. **Atualidades em Ciência e Tecnologia de Carnes**, p. 95-104, cap.9, 2006.
- OLIVO, R. **O mundo do frango**, p.680, 2006.
- OSÓRIO, J. C. S.; OSÓRIO, M. T. M.; SAÑUDO, C. Características sensoriais da carne ovina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.292-300, 2009.
- PEPE, O. et al. Staphylococcus aureus and Staphylococcal Enterotoxin A in Breaded Chicken Products: Detection and Behavior during the Cooking Process. **Applied and Environmental Microbiology**, v.72, n.11, p.7057-7062, 2006.
- PEREIRA, A. V. et al. Estudo de estabilidade sob armazenamento da carne de ema (*Rhea americana*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 283-289, 2006.
- PRÄNDAL, O., et al. **Tecnología e higiene de la carne**. Tradução de ESCOBAR, J.E. Zaragoza: Acribia, Tradução de: Fleisch. Technologie und Hygiene der Gewinnung und Verarbeitung, p.854, 1994.
- PROVESI, J. G.; AMANTE, E. R. Proteínas anticongelantes – uma tecnologia emergente para o congelamento de alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.18, n.1, p.2-13, 2015.
- ROBERTSON, G. L. **Food packaging: Principles and Practice**, p.676, 1992.
- ROÇA, R. O. **Tecnologia da carne e produtos derivados**. Faculdade de Ciências Agronômicas, UNESP, p.202, 2000.
- SANFELICE, C. et al. Avaliação do efeito do tempo de desossa sobre a qualidade da carne de peito de matrizes pesadas de descarte. **Acta Scientiarum Animal Sciences Maringá**, v.32, n.1, p.85-92, 2010.
- SARANTOPOULUS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; CANAVESI, E. **Requisitos de conservação de alimentos em embalagens flexíveis**. CETEA/ITAL, p.213, 2001.
- SAVELL, J. W.; MUELLER, S. L.; BAIRD, B. E. The chilling of carcasses. **Meat Science**, v.70, p. 449 – 459, 2005.
- SCHAEFER, A. L.; JONES, S. D. M.; STANLEY, R. W. The use of electrolyte solutions for reducing transport stress. **Journal Animal Science**, v.75, p.258-265, 1997.

SILVA, M. P.; GALLO, C. R. Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos com a utilização de metodologias convencionais e do sistema Simplate. **Higiene alimentar**, v.17, n.107, p.75-85, 2003.

SILVA, N. et al. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**, n.3, 2007.

SWATLAND, H. J. Explaining the P in PSE. **Meat Focus International**, v.2, n.8, p.362-367, 1993.

VAN GERWE, T. J. W. M. et al. Quantifying Transmission of Campylobacter spp. among Broilers. **Applied and Environmental Microbiology**, v.71, n.10, p.5765-5770, 2005.

WANG, Z. et al. Quantitative investigation of cellular growth in directional solidification by phase-field simulation. **Physical Review E**, v.84 n.4, 2011.

WHATEN, B.; JIA, Z. Controlling the freezing process with antifreeze proteins. In: SUN, D. Emerging technologies for food processing. **Elsevier Academic Press**, cap.25, p.653-673, 2005.

WEINLING, H. **Tecnología práctica de la carne**. Acribia, 1984.

**5 ARTIGO A**

**FATORES RELACIONADOS COM A FORMAÇÃO DE CRISTAIS DE GELO NA  
CARNE DE FRANGO E SUAS CONSEQUÊNCIAS**

## RESUMO

A conservação da carne por congelamento tem sido recomendada, pela grande capacidade de manter as características químicas, sensoriais e nutritivas da carne o mais próximo possível das características iniciais. Neste estágio de temperatura há formação de cristais de gelo que podem ser de tamanhos e formas diferentes, causando ou não, danos à estrutura do tecido. Com isso, objetivou-se determinar os fatores que influenciam na formação de cristais de gelo superficial na carne do peito de frangos e avaliar as características físico-químicas e microbiológicas destas. Foram coletadas em diferentes dias, 50 amostras de peito sem osso, pele e sassami com formação de cristais de gelo superficial e 50 com ausência de cristais de gelo superficial e informações dos fatores pré-abate e do processamento. As amostras foram analisadas quanto a presença das bactérias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e aeróbios mesófilos e às análises físico-químicas como; perda por gotejamento, proteína do exsudato, pH, cor, capacidade de retenção de água, perda por cocção, força de cisalhamento e oxidação lipídica. Os resultados obtidos mostraram que a cada 1 °C elevado na temperatura do peito de frango na sala de cortes pode proporcionar 88% a mais de chances na formação de cristais de gelo na superfície da carne, e que esta característica tendeu a reduzir a contagem de *Staphylococcus aureus*. Quanto às análises físico-químicas, não houve diferença entre os tratamentos presença e ausência de cristais de gelo superficial. Concluiu-se que a formação de cristais de gelo superficial é influenciada pela temperatura da sala de cortes e que esta característica do produto congelado promove uma tendência em reduzir a presença de *Staphylococcus aureus*, sem alterar a qualidade de carne.

**Palavras-chave:** físico-química, microbiologia, congelamento, processo

## ABSTRACT

The freezing conservation in meat recommended as has capacity as large as keep chemical characteristics, organoleptic and nutritional of meat as close as possible the initial characteristics. On this temperature stage can be found ice crystals formation in different sizes, that could cause damage on tissues or not. The objective of this study was to determine the factors that influence the surface ice crystals formation in chicken breast fillet and evaluate physical-chemical and microbiological characteristics. Were collected in different days, 50 breast samples without bone, skin and sassami with surface ice crystals formation and 50 samples without surface ice crystals formation and the information from company monitoring spreadsheets process belong collected samples. At laboratory, collected samples submitted to microbiological analysis to isolate *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and mesophyll aerobic and submitted to physical-chemical analysis as; drip loss, drip protein, pH, color, water-holding capacity, cooking loss, shear force and oxidation. The results show that each 1 °C high in temperature of the chicken breast at room cuts provided 88% more chance of meat surface ice crystals formation, and this type of formation tended to decrease the amount of *Staphylococcus aureus*. As to physical-chemical analyses, there were no difference between both treatments. It concluded that the surface ice crystal formation were influenced by temperature of the chicken breast at room cuts and this type of freezing products tended to reduce the *Staphylococcus aureus* presence, without influence the poultry meat quality.

**Key words:** freezing, microbiology, physical chemical, process

## INTRODUÇÃO

A conservação de carnes por resfriamento ou congelamento é um dos métodos mais eficazes na manutenção de suas características iniciais. O congelamento consiste em três fases principais; baixar a temperatura da carne próximo ao seu ponto de congelamento (estágio de refrigeração), remoção do calor latente da cristalização (estágio de transição de fase) e baixar a temperatura da carne ao ponto de armazenamento final (estágio de congelamento final) (KIANI; SUN, 2011).

É durante este processo de transição da água do estado líquido para o estado sólido que ocorre a cristalização. Este fenômeno, além de dificultar a ação desfavorável de microrganismos, consegue manter as características químicas, físicas e nutritivas da carne, pois reduz a mobilidade molecular.

A formação de gelo durante o congelamento tem aspectos benéficos e prejudiciais. Os benéficos incluem o fortalecimento das estruturas e a remoção da água livre, com a redução da atividade de água de 0,99 para 0,60 em função unicamente da temperatura, independentemente da natureza e composição do alimento (VAN LAACK, 1994). Os efeitos prejudiciais incluem as consequências da formação destes cristais de gelo, como o rompimento das estruturas celulares por perfurações, a desidratação parcial do tecido em contato com o cristal de gelo e a concentração dos reagentes (ROBERTSON, 1992).

A formação dos cristais de gelo pode ocorrer de duas maneiras; através da formação de grandes cristais que são mais comumente encontrados no meio extracelular e na superfície da carne, resultado da exsudação e perda de líquidos por rompimento dos tecidos, causando danos à parede celular (YU et al., 2011); e de formação de pequenos cristais que são distribuídos uniformemente dentro e fora das células, o qual proporciona uma melhor qualidade à carne por provocar menos danos aos tecidos (SUN; ZHENG, 2006). Há ainda a formação de cristais de gelo superficial, onde é possível identificar visualmente aqueles que desenvolveram este tipo de formação, porém a relação entre este com o tamanho dos cristais ainda é uma incógnita.

No caso de formação de grandes cristais, estes ocorrem através de um congelamento lento, onde a água ainda em estado líquido se une a pequenos cristais de gelo já formados aumentando o diâmetro destes. Grandes cristais de gelo são, normalmente formados quando o congelamento no túnel não se faz de forma eficaz, portanto o congelamento acontece de forma lenta durante o armazenamento. Ou até mesmo quando há variação de temperatura durante o transporte, comercialização e armazenamento em freezer residencial.

No caso de formação de pequenos cristais de gelo estes ocorrem de forma rápida durante o túnel de congelamento e apresentam uma taxa de congelamento  $>1$  °C por minuto (WEINLING, 1984), para que isto ocorra, a água deve passar do estado líquido para o sólido entre 20 e 30 minutos.

A formação de cristais de gelo na superfície da carne tem levado grandes prejuízos a indústria avícola uma vez que consumidores não aceitam estas carnes alegando que apresentam menor qualidade e que foram submetidas a reprocessamento.

Assim objetivou-se com este trabalho, identificar os fatores que influenciam na formação de cristais de gelo superficial em peitos de frango e determinar as alterações físico-químicas e microbiológicas das carnes após congelamento.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido em uma planta frigorífica no Sul do Brasil, com capacidade de abate de 210.000 aves por dia e habilitada para exportação, com Serviço de Inspeção Federal.

Foram coletadas amostras de peito sem osso, pele e sassami (*Pectoralis major*) de 100 aves da linhagem Cobb, de 50 diferentes lotes, que receberam a mesma alimentação. As coletas foram divididas em duas semanas, com seis coletas, abrangendo abates em diferentes períodos do dia. O experimento foi dividido em duas etapas: 1) avaliação dos fatores pré-abate e de processamento que podem influenciar na formação de cristais de gelo superficial na carne do peito de frangos e 2) avaliação das características físico-químicas e microbiológicas de carnes de peito de frango com formação de cristais de gelo superficial.

Foram coletados pacotes de peito sem osso, pele e sassami na saída do túnel de congelamento, 50 com presença de cristais de gelo superficial e 50 com ausência de formação de cristais de gelo superficial, sendo esta avaliação feita de forma visual, onde a presença de formação de neve em cima das carnes foi considerado critério para classificação das amostras como presença de cristais de gelo superficial. Para ausentar a influência de fatores externos, ambas as amostras, com formação de cristais de gelo superficial e ausência de formação, foram coletadas de um mesmo lote. Este critério de seleção foi eleito pois era a maneira utilizada pelos pontos de venda final para aceitar ou rejeitar cortes de carne de frango no momento da entrega.

Para avaliação dos fatores de pré-abate e processamento das 100 amostras, foram realizadas coletas de informações das planilhas de monitoramento da empresa na planta

de abate, a partir das informações contidas nas embalagens primárias, como data e horário de embalagem, permitindo assim, que fosse feita uma rastreabilidade de todas as etapas anteriores.

Foram avaliados os seguintes parâmetros e suas variações: idade das aves, peso ao abate, tempo de jejum pré-abate, contaminação biliar e/ou gastrointestinal no PCC 1b (1º ponto crítico de controle biológico – inspeção visual de 100% das carcaças, onde àquelas que apresentam qualquer tipo de contaminação perceptível durante a avaliação visual, é retirada da linha de abate e direcionada a linha de corte parcial. Os locais contaminados por ração, fezes (contaminação gastrointestinal) e/ou bile (contaminação biliar) são retirados e descartados, e a carcaça, agora livre de contaminações visuais, retorna a linha de abate e segue para o sistema de pré-resfriamento), tempo de pré-chiller e temperatura de pré-chiller, temperatura de chiller 1 e chiller 2, temperatura da carne na esteira da sala de cortes, tempo de túnel de congelamento e temperatura da carne na saída do túnel.

Fatores como período de carência dos fármacos utilizados a campo, quantidade de cloro adicionada nos tanques de pré resfriamento (5ppm), volume de renovação de água nos tanques de pré resfriamento (2,5L/ave) foram os mesmos para todas as amostras e em conformidade com a legislação, não cabendo avaliação.

As 100 amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Nutrição e Alimentação Animal para a realização das análises físico-químicas, sendo inicialmente submetidas ao descongelamento por 48 horas a temperatura de 4 °C.

Posteriormente ao descongelamento, das 100 amostras, foram escolhidas aleatoriamente 20 amostras com cristais e 20 com ausência de cristais para a realização das análises microbiológicas.

#### *Análise microbiológica*

As 40 amostras enviadas ao Laboratório de microbiologia, após serem submetidas ao descongelamento por 48 horas em temperatura de 4 °C, foram abertas em capela e coletado 25 g de carne retirado da parte externa do *pectoralis major* e colocado em 225 mL de água peptonada tamponada na diluição de  $10^{-1}$ , a partir desta diluição foi realizada ainda a de  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ . Estas amostras foram analisadas quanto a presença de aeróbios mesófilos, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

Para determinar a presença de *Staphylococcus aureus* foram plaqueados 100 uL da diluição de  $10^{-1}$  e  $10^{-2}$  em ágar manitol com alça de Drigalski.

Para isolamento de *Escherichia coli* foram plaqueados 100 uL da diluição de  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  em ágar EMB (*eosin methylene blue*).

Para contagem de aeróbios mesófilos foram plaqueados 1 mL da diluição de  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ , através do método de *pour plate* em ágar PCA (*plate count agar*).

Os ágares foram vertidos em 50 °C na placa e colocado em estufa BOD por 24 horas a temperatura de  $37 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$ , após este procedimento as colônias de cada placa foram contadas.

Os métodos seguiram as normas da Instrução Normativa nº 62 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA (BRASIL, 2003), e a Resolução RDC nº 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2001).

### *Análises Físico-Químicas*

#### *Perda por gotejamento*

As amostras foram pesadas e colocadas em sacos de plástico a fim de não perder o líquido exsudado, em seguida foram acondicionadas em geladeira a 4 °C por 48 horas, seguindo o descrito por Berri et al. (2008). Logo após as amostras foram retiradas da geladeira, abriu-se a embalagem para coletar o exsudado, drenou-se o líquido e pesou-se peito e embalagem após descongelamento para cálculo da percentagem de líquido perdido =  $(M0 - M1) \times 100 / M0$  onde: M0 = peso do corte congelado; M1 = peso do corte descongelado. Para ter o peso inicial e final real do peito, pesou-se também a embalagem, a fim de descontar este valor do M0 e M1. O líquido exsudado foi coletado em pote estéril para posterior análise de proteína.

#### *Quantificação de proteína do exsudato*

A quantificação da proteína do líquido exsudado da perda por gotejamento foi através do método de Biureto (GORNALL et al., 1949). Foi utilizada uma curva padrão com BSA (albumina sérica bovina) nas concentrações de 2, 4, 6, 8 e 10 mg/mL, em triplicata a leitura foi realizada em espectro fotômetro a 540nm, e os resultados foram expressos em miligrama de proteína por mililitro de exsudato.

#### *Mensuração do pH e Cor*

Para mensuração do pH foi utilizado o potenciômetro “Testo 205”, através da inserção do eletrodo na parte crânio-ventral do *pectoralis major*. Para mensuração da cor

foi utilizado o colorímetro “Konica Minolta CR10” em três diferentes pontos da face ventral do *pectoralis major*. Os resultados foram expressos em L\* (luminosidade), a\* (componente vermelho-verde) e b\* (componente amarelo-azul), conforme o sistema classificação de cor CIELAB.

#### *Classificação de amostras PSE*

Foi considerado o fator carne PSE (carne com característica pálida, mole e exsudativa), onde as amostras que apresentavam características correspondentes a carnes PSE, tais como pH abaixo de 5,8 e cor (L\*) acima de 53,0 tiveram seus resultados compilados para análise estatística, a fim de avaliar se esta condição influenciaria na formação de cristais de gelo superficial.

#### *Capacidade de retenção de água*

Para quantificação da CRA foi utilizado a metodologia descrita por Hamm (1960). A determinação foi feita em duplicata, usando amostras da parte cranial do músculo *pectoralis major*. Foram cortadas amostras de carne de 2,0 g ( $\pm 0,10$ g) em cubo. Em seguida, as amostras foram colocadas entre dois papéis filtros e posteriormente colocadas entre duas placas de acrílico. Logo após foi colocado sob as amostras um peso de 10 kg por 5 minutos. Em seguida, as amostras foram pesadas e então a CRA foi determinada pela porcentagem de água exsudada por meio da equação:  $CRA = 100 - [(P_i - P_f / P_i) \times 100]$

Onde:  $P_i$  e  $P_f$  são os pesos iniciais e finais das amostras, respectivamente.

#### *Perda por cocção*

As perdas de água durante a cocção foram determinadas segundo Cason et al. (1997). As amostras de carne do peito foram pesadas, identificadas e embaladas em saquinhos plásticos, seladas e submetidas a cozimento em banho-maria a 85 °C por 30 minutos. Após este procedimento, as amostras foram retiradas do banho-maria, resfriadas em temperatura ambiente, desembaladas e pesadas novamente. A diferença entre o peso inicial e final das amostras em relação ao peso inicial, correspondeu às perdas durante a cocção.

#### *Força de cisalhamento*

Para avaliação da maciez foi utilizado o equipamento “CT3 Texture Analyzer –Brookfield”, acoplado à sonda Warner-Bratzler. Foram utilizadas as amostras de carne do peito cozidas usadas na análise de determinação de perdas por cocção, armazenadas

a 4 °C *overnight*, de tal forma que estas foram cortadas em tiras de 1,5 cm de largura, 1,0 cm de altura, sendo dispostas com as fibras orientadas no sentido perpendicular à lâmina, determinando-se a força máxima necessária para efetuar seu corte, conforme Lyon & Lyon (1996). Os resultados foram expressos em kgf (quilograma de força).

*Oxidação lipídica (TBARs – substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico)*

As amostras foram armazenadas em câmara fria por 90 dias a uma temperatura de -15 °C ± 5 °C. As mesmas foram descongeladas a 4 °C *overnight*.

A análise da oxidação lipídica foi realizada através do ácido 2-tiobarbitúrico (índice de TBARs). Foram pesados 10 g ± 0,1 g de amostra, a qual foi agitada em ultraturrax com 20 mL de ácido tricloroacético. O volume de 5 mL do filtrado desta mistura adicionado a 5 mL do ácido tiobarbitúrico, em triplicata, foram colocados em banho-maria a 85 °C por 35 minutos, resfriados, sendo a leitura feita em espectrofotômetro a 530 nm. O resultado foi expresso em miligramas de malonaldeído por quilograma de amostra (PIKUL et al., 1989).

*Análise estatística*

Os dados obtidos no pré-abate e processamento foram submetidos a regressão logística e a *odds ratios* (razão de chance). Já os dados obtidos referentes as análises físico-química da carne, foram submetidos à análise de variância e ao teste F ao nível de 5% de significância. As variáveis que não atenderam as premissas da análise de variância, normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias, mesmo quando submetida a transformação de dados, foram submetidas ao teste não paramétrico Mann-Whitney.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados das variáveis que podem influenciar a formação de cristais de gelo superficial na carne de peito de frangos estão apresentados na Tabela 1, onde se observa que a idade das aves (42 a 51 dias), tempo de jejum pré-abate (6 a 13 horas), peso das aves ao abate (2,66 a 3,16 kg), contaminação biliar e/ou gastrointestinal no PCC 1b (3 a 38 aves), temperatura de pré-chiller (2,7 a 7,8 °C), temperatura de chiller 1 (1,4 a 3,6 °C) e chiller 2 (1,1 a 2,9 °C), tempo de pré-chiller (23 a 28 minutos), temperatura da carne na saída do túnel de congelamento (-14,6 a -27,6 °C), tempo de retenção no túnel de congelamento (1.100 a 4.100 minutos) e carnes PSE (14 amostras com presença de cristais de gelo superficial e 7 amostras

com ausência de cristais de gelo superficial) não determinaram ( $p>0,05$ ) a formação de cristais de gelo superficial.

Já a temperatura das carnes na esteira da sala de cortes (2,9 a 7 °C), influenciou ( $p<0,05$ ) na formação de cristais de gelo superficial, sendo que a cada 1 °C de elevação da temperatura da carne aumenta 88% a chance de formação de cristais de gelo superficial (*odds ratio* = 1,88). O fator influenciou esta característica, pois quanto mais baixa se apresenta a temperatura da carne, mais rapidamente se iniciará o processo de congelamento e conseqüentemente a carne manterá a água dentro do próprio tecido, reduzindo assim as chances de formar cristais de gelo superficial. Apesar da obrigatoriedade de que a temperatura da carcaça na saída do chiller ser de até 7 °C, estabelecido pela Portaria 210 (BRASIL, 1998) a temperatura pode subir, uma vez que durante o processo de cortes pode haver paradas na máquina de corte, acúmulo de produto nas esteiras para embalagem, manipulação da carne para refil de restos de pele e ossos, ganhando calor e gerando um aumento de temperatura.

**Tabela 1.** Avaliação da influência de variáveis de pré-abate como; idade das aves, tempo de jejum e peso das aves; e processamento frigorífico, como; contaminação PCC 1b, temperatura pré-chiller, temperatura chiller 1 e temperatura chiller 2, tempo pré-chiller, temperatura carne sala de cortes, temperatura da carne na saída do túnel de congelamento (Temperatura carne saída TRV), tempo túnel congelamento e influência da carne PSE na formação de cristais de gelo superficial em carne de frango.

Variáveis	Razão de Chances (odds ratio)	Intervalo de Confiança (95%)		Valor de p
		Limite Inferior	Limite Superior	
Idade das aves	1,00	-0,38	0,379	0,99
Tempo de Jejum	1,00	-0,003	0,355	0,99
Peso das aves	1,69	-5,28	0,643	0,86
Contaminação	0,97	-0,13	0,628	0,50
Temperatura pré-chiller	0,95	-0,39	0,303	0,80
Temperatura chiller 1	3,53	-1,57	0,425	0,39
Temperatura chiller 2	0,24	-4,77	0,173	0,38
Tempo pré-chiller	1,22	-0,16	0,578	0,29
Temperatura carne sala de cortes	1,88	0,07	0,124	0,03
Temperatura carne saída TRV	1,06	-0,11	0,229	0,48
Tempo túnel congelamento	0,99	-0,001	0,468	0,48
Carne PSE*	0,89	-1,42	0,117	0,85

Fórmula da regressão logística:  $Y = - 7.322e+00 - 6.323e-01$  (temperatura de produtos na sala de cortes)

\*Carne PSE (pálida, flácida e exudativa) =  $pH < 5,8$  e luminosidade  $> 53,0$ .

Todos os dados coletados durante o estudo apresentaram-se dentro dos limites estabelecidos pela legislação, como a temperatura de pré-chiller (até 16 °C na entrada do tanque), temperatura de chiller (até 4 °C na saída do tanque), tempo de pré-chiller (até 30 minutos), temperatura da carne na sala de cortes (até 7 °C) e temperatura da carne na saída do túnel de congelamento (-12 °C ou mais frio), eliminando-se, assim, a possibilidade de formação de cristais de gelo superficial por negligência de etapas do processo de abate de frangos.

Muitos fatores que influenciam a qualidade de carne podem ser controlados nas diversas etapas de sua produção, enquanto que a composição da carne é estabelecida durante a vida do animal. Outras características de qualidade são afetadas tanto com o animal vivo, como durante ou após o abate. Assim, alterações da qualidade da carne podem ser influenciadas por intermédio de diferentes tecnologias de abate e pós-abate, como tempo de resfriamento, tempo e temperatura de maturação e estimulação elétrica (MENDES; KOMIYAMA, 2011).

Um dos fatores mais importantes para a influência de formação de cristais de gelo são as variáveis tempo e temperatura de retenção no túnel de congelamento, pois é nesta etapa que haverá a primeira transformação de água líquida em sólida. Nos resultados obtidos destas variáveis, não foram observadas diferenças que influenciaram na formação de cristais de gelo superficial.

O congelamento rápido empregado pelo estabelecimento onde foram realizadas as coletas utilizava uma temperatura de túnel de congelamento de -40 °C, proporcionando uma temperatura ideal para comercialização de -12 °C (ou mais frio) entre 20 a 30 minutos. Esta taxa de congelamento está de acordo com Weinling (1984), que relata uma taxa de congelamento adequada quando a temperatura cai mais de 1 °C por minuto.

Este congelamento rápido promove uma redução brusca da temperatura, levando o processo a se completar em alguns minutos. Nesse tipo de congelamento praticamente não ocorrem alterações na qualidade do alimento, pois é formado um número grande de pequenos cristais de gelo, intracelulares, que não alteram de maneira significativa a textura do produto (POTTER, 1995).

A variável “carnes PSE” foi avaliada, pois relaciona-se a desnaturação protéica, o que levaria a uma maior quantidade de água para os espaços extracelulares, favorecendo a formação dos cristais de gelo superficial. Além disto, a carne PSE representa o principal problema de qualidade na indústria de carne, devido às suas características como; baixa capacidade de retenção de água, textura flácida e cor pálida, que levam às elevadas

perdas de água durante o processamento. A carne PSE é indesejável tanto para os consumidores, como para a indústria de processamento. A principal causa do desenvolvimento desta anomalia é um consumo acelerado do glicogênio após o abate, que leva um valor de pH muscular baixo, geralmente inferior a 5,8, enquanto a temperatura do músculo ainda está próxima do estado fisiológico ( $>38$  °C), acarretando um processo de desnaturação protéica comprometendo as propriedades funcionais da carne (D'SOUZA et al., 1998). Apesar da desnaturação protéica proporcionar maior quantidade de água na superfície da carne, fato este que poderia levar a formação de cristais de gelo superficial, não foi observado efeito desta característica.

Nas análises microbiológicas (Tabela 2) não foi encontrada *Escherichia coli* no isolamento em placa das amostras de peito de frango. Por outro lado, o *Staphylococcus aureus* e bactérias aeróbias mesófilas foram isolados em ambos os tratamentos. Isto ocorreu porque microrganismos gram negativos como a *Escherichia coli* são mais sensíveis ao processo de congelamento do que as bactérias gram positivas (SPECK; RAY, 1977). Assim, o processo de congelamento pode ter contribuído para a eliminação desta bactéria.

Para o *Staphylococcus aureus*, bactéria gram positiva, houve uma tendência de diminuição deste microrganismo nas carnes com presença de cristais de gelo superficial. Já para aeróbios mesófilos não foi observada diferença entre carnes com a presença ou a ausência de cristais de gelo superficial.

Esta redução de *Staphylococcus aureus* nas carnes com cristais de gelo superficial pode ter sido em função de que o congelamento com a formação destes cristais de gelo pode dificultar a recuperação da bactéria, devido a inibição de reações enzimáticas pela queda da temperatura, ou pelo fato de que os cristais de gelo promovem rompimento da estrutura celular, matando esta bactéria (MAZIERO; OLIVEIRA, 2010). Outros fatores que podem contribuir envolvem a; desidratação da célula devido à transformação da água livre em cristais de gelo, aumento da viscosidade do material celular como consequência direta da concentração da água na forma de cristais de gelo e mudanças na concentração de eletrólitos celulares, como consequência da concentração da água na forma de cristais de gelo (JAY, 2000).

Estes resultados contradizem o que ocorre na prática, onde empresas atacadistas e varejistas se negam a receber produtos com a presença de cristais de gelo superficial, alegando que estas apresentam contaminação microbiológica.

**Tabela 2.** Contagem microbiológica de bactérias aeróbio mesófilo, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* em amostras de peito de frango com a presença ou a ausência de formação de cristais de gelo superficial

Variáveis	Presença de cristais superficial	Ausência de cristais superficial	Valor de p	CV (%)
Aeróbio mesófilo (UFC/g)	0,12x10 <sup>5</sup>	0,13x10 <sup>5</sup>	0,89	14,6
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)	0,26x10 <sup>3</sup>	0,55x10 <sup>3</sup>	0,075	66,69
<i>Escherichia coli</i> (UFC/g)	0	0	--	0

Submetidos ao teste não paramétrico de Mann-Whitney.  
UFC/g – Unidade formadora de colônia/grama

Os resultados encontrados em ambos os tratamentos apresentaram valores de acordo com os limites estabelecidos pela Instrução Normativa nº 62 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003) e a Resolução RDC nº 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001) onde toleram 10<sup>5</sup> UFC/g para aeróbios mesófilos e 10<sup>2</sup> UFC/g para *Staphylococcus aureus*, sendo um indicativo de que há controle das boas práticas de fabricação e manipulação de alimentos quanto a higiene de manipuladores de alimentos e higienização e sanitização em todo processo.

Os resultados apresentados na Tabela 3 mostram que não houve diferença ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos sob a presença ou ausência de cristais de gelo superficial para as variáveis perda por gotejamento, proteína do exsudato, pH, cor ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ), capacidade de retenção de água, perda por cocção, força de cisalhamento e oxidação lipídica. Portanto, a formação de cristais de gelo superficial na carne de frango não foi um fator diferencial nas propriedades físico-químicas da carne.

**Tabela 3.** Valores das médias encontradas nas variáveis perda por gotejamento (%), proteína do exsudato (mg/mL), pH, Cor (L\*, a\* b\*), capacidade de retenção de água (%), perda por cocção (%), força de cisalhamento (kgf) e oxidação lipídica (TBARs - mg MDA/kg de carne) para peitos de frangos com a presença de cristais e a ausência de cristais de gelo superficial

<b>Variável</b>	<b>Presença de cristais superficial</b>	<b>Ausência de cristais superficial</b>	<b>Valor de p</b>	<b>CV(%)</b>
Perda por gotejamento (%)	4,61	4,49	0,79	48,02
Proteína do exsudato (mg/mL)	85,39	91,32	0,24	28,18
pH <sup>1</sup>	5,79	5,81	0,56	2,79
Cor (L*)	51,29	51,18	0,87	6,50
Cor (a*) <sup>1</sup>	5,07	5,29	0,83	97,53
Cor (b*)	11,83	12,25	0,46	23,22
Capacidade de retenção de água (%)	61,97	62,30	0,67	6,03
Perda por cocção (%)	27,07	26,57	0,47	12,92
Força de cisalhamento (kgf)	2,76	2,79	0,90	40,95
Oxidação lipídica (mg MDA/kg)	0,74	0,70	0,29	11,32

As variáveis foram submetidas à análise de variância e ao teste F ao nível de 5% de significância.

<sup>1</sup> submetidos ao teste não paramétrico Mann-Whitney.

O congelamento e a formação de cristais de gelo podem resultar na desnaturação da proteína, causado pelo aumento na força iônica intracelular seguida da migração de água para os espaços extracelulares. Porém, este mecanismo vem sendo refutado por vários autores (AÑÓN; CAVELO, 1980; MIETSCH et al., 1994; NGAPO et al., 1999), onde sugerem que a desnaturação protéica não contribui significativamente para a perda da qualidade, corroborando com o resultado deste trabalho, onde a formação de cristais de gelo superficial não influenciou na perda por gotejamento. Pode-se, portanto, atribuir que a formação deste tipo de cristal de gelo é apenas superficial e não influencia a estrutura das fibras musculares.

Quanto a concentração de proteína, resultados similares para carnes consideradas normais, através da análise de pH e cor L\* foram encontrados por Barbut et al. (2005), onde através do método utilizado por Gordon & Barbut (1992), determinaram a concentração de proteína de cortes do peito de frango. Os resultados de proteína do exsudato confirmam que o processo de formação de cristais de gelo na superfície da carne não promove lesões nas fibras musculares, visto que não houve diferença nos resultados de análise de proteínas do exsudato. Caso houvesse lesões nas fibras musculares, haveria maior concentração de proteínas no exsudato.

Considerando os resultados obtidos por Bianchi et al. (2005), que compararam amostras de peito de frangos para a variável cor ( $L^*$ ), Garcia et al. (2010), para as variáveis pH e CRA; e Oliveira et al. (2015), para as variáveis pH, cor ( $L^*$ ), CRA e PPC, conclui-se que os resultados encontrados para carnes consideradas normais se aproximam aos obtidos neste trabalho, confirmando a teoria de que a formação de cristal de gelo superficial não influencia a qualidade da carne.

Estas variáveis poderiam influenciar a formação de cristais de gelo superficial, pois caso houvesse variação nos valores de pH (menores que 5,8) poderia ocorrer uma desnaturação de proteínas, rompendo as paredes celulares e aumentando a exsudação de líquidos para fora das células, diminuindo a capacidade de retenção de água na carne, aumentando os valores de  $L^*$  e de força de cisalhamento.

Quanto à oxidação lipídica observou-se que esta também não foi influenciada pela presença de cristais de gelo superficial na carne. Isto mostra que mesmo armazenadas durante 90 dias a  $-15 \pm 5$  °C, estas apresentaram aptas para o consumo, visto que, segundo Pereira et al. (2015), sabores indesejáveis são detectáveis pelos consumidores quando os resultados são maiores que 2 mg MDA/kg de carne. Neste trabalho foi observado valores de aproximadamente 0,7 mg MDA/kg de carne. Este resultado também serve para corroborar que estes cristais de gelo superficial não alteram a estrutura celular, visto que lesões celulares aumentariam a oxidação lipídica na carne.

## CONCLUSÕES

A formação de cristais de gelo superficial é influenciada pela temperatura da sala de cortes e que esta característica do produto congelado promove uma tendência em reduzir a presença de *Staphylococcus aureus*, sem alterar a qualidade de carne.

## REFERÊNCIAS

AÑÓN, M. C.; CAVELO, A. Freezing rate effects on the drip loss of frozen beef. **Meat Science**, v.4, p.1–14, 1980.

BAHUAUD, D. et al. Effects of  $-1.5$  °C superchilling on quality of Atlantic salmon (Salmon salar) prerigor fillets: cathepsin activity, muscle histology, texture and liquid leakage. **Food Chemistry**, v.111, p.329-339, 2008.

BARBUT, S.; ZHANG, L.; MARCONE, M. Effects of pale, normal, and dark chicken breast meat on microstructure, extractable proteins, and cooking of marinated fillets. **Poultry Science**, v.84, p.797-802, 2005.

BERRI, C.; BESNARD, J.; RELANDEAU, C. Increasing dietary lysine increases final pH and decreases drip loss of broiler breast meat. **Poultry Science**, v.87, p.480–484, 2008.

BIANCHI, M.; FLETCHER, D. L.; SMITH, D. P. Physical and functional properties of intact and ground pale broiler breast meat. **Poultry Science**, v.84, p.803–808, 2005.

BRASIL - Instrução Normativa n° 62, de 26 de agosto de 2003. Ministério da Agricultura e Abastecimento – Secretaria de Defesa Agropecuária – Oficializar os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **D.O.U. – Diário Oficial da União, Poder Executivo**. Brasília, 08 de dezembro de 1998.

BRASIL - Anvisa. Resolução RDC n°12, de 02 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **D.O.U. – Diário Oficial da União, Poder Executivo**. Brasília, 10 janeiro de 2001. ANEXO I. 13.

CASON, J. A.; LYON, C. E.; PAPA, C. M. Effect of muscle opposition during rigor on development in broiler breast meat tenderness. **Poultry Science**, v.76, p.725-787, 1997.

D'SOUZA, D. N. et al. The effect of handling preslaughter and carcass processing rate post-slaughter on pork quality. **Meat Science**, v.50 n.4, p.429-437, 1998.

GARCIA, R. G. et al. Incidence and physical properties of PSE chicken meat in a commercial processing plant. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.12, n.4, p.233-237, 2010.

GORDON, A.; BARBUT, S. Effect of chloride salts on protein extraction and interfacial protein film formation in meat batters. **Journal Science Food Agriculture**, v.58, p.227–238, 1992.

GORNALL, A.G.; BARDAWILL, C. J.; DAVID, M. M. **Determination of serum proteins by means of the biuret reaction**. Department of Pathological Chemistry – University of Toronto, Toronto, 1949.

HAMM, R. Biochemistry of meat hydration. Institut für Chemie und Physik, Bundesforschungsanstalt für Fleischwirtschaft, Kuimbach, Federal Republic of Germany. **Advances in Food Research**, v.10, p.355-463, 1960

JAY, J. M. Modern Food Microbiology. **Gaithersburg: Aspen Publishers**, p.679, 2000.

KAALE, L. D., et al. The effect of cooling rates on the ice crystal growth in air-packed salmon fillets during superchilling and superchilled storage. **International Journal of Refrigeration**, v.36, p.110-116, 2012.

KIANI, H.; SUN, D.W. Water crystallization and its importance to freezing of foods: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v.22, p.407-426, 2011.

- LYON, B. G.; LYON, C. E. Texture evaluation of cooked, diced broiler breast samples by sensory and mechanical methods. **Poultry Science**, v.75, p.812–816, 1996.
- MAZIERO, M. T.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Effect of refrigeration and frozen storage on the *Campylobacter jejuni* recovery from naturally contaminated broiler carcasses. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.41, n.1, p.501- 505, 2010.
- MENDES, A. A.; KOMIYAMA, C. M. Estratégias de manejo de frangos de corte visando qualidade de carcaça e carne. **Revista Brasileira de Zootecnia** (supl. especial), v.40, p.352-357, 2011.
- MIETSCH, F.; HALÁSZ, A.; FARKAS, J. Untersuchung über Änderungen von Fleischproteinen während der gefrierlagung (Study of changes in meat protein during frozen storage). **Die Nahrung**, v.38, p.47–52, 1994.
- NGAPO, T. M., et al. Freezing and thawing rate effects on drip loss from samples of pork. **Meat Science**, v.53, p.149–158, 1999.
- OLIVEIRA, F. R. et al. Jejum alimentar e qualidade da carne de frango de corte tipo caipira. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**, v.16, n.3, p.667-677, 2015.
- PEREIRA, A. F. B. et al. Oxidação lipídica em carnes. **Anais... VI CONCCEPAR: Congresso Científico da Região Centro-Occidental do Paraná. Faculdade Integrado de Campo Mourão**, 2015.
- PIKUL, J.; LESZCZYNSKI, D. E.; KUMMEROW, F. A. Evaluation of tree modified TBA methods for measuring lipid oxidation in chicken meat. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.37, p.1309-1313, 1989.
- POTTER, N. N. et al. **Food Science**. New York: Academic, v.5, p.713, 1995
- ROBERTSON, G. L. **Food packaging: Principles and Practice**. New York: Marcel Decker, p.676, 1992.
- SPECK, M.; RAY, B. Effects of freezing and storage on microorganisms in frozen foods: a review. **Journal of Food Protection**, v.40, p.333-336, 1977.
- SUN, D. W.; ZHENG, L. Innovations in freezing process. In D. W. Sun (Ed.), **Handbook of frozen food processing and packaging**. Boca Raton, Fla./London: CRC/Taylor & Francis, 2006.
- VAN LAAK, R. L. J. M. Spoilage and preservation of muscle foods. In: Kinsman, D. M., Kotula, A. W., & Breidenstein, B. C. **Muscle foods**. New York: Chapman and Hall, v.14, p.378-405, 1994.
- WEINLING, H. Tecnología práctica de la carne. **Zaragoza: Acribia**, 1984.
- YU, S. et al. Impacts of low and ultra-low temperature freezing on retrogradation properties of rice amylopectin during storage. **Food and Bioprocess Technology**, p.1-10, 2011.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Durante o período de coleta de amostras notou-se que aqueles pacotes que eram posicionados na parte superior da embalagem secundária formavam um maior número de cristais de gelo em sua superfície, provavelmente pelo fato de que estas carnes entravam em contato direto com o vento produzido pelo túnel de congelamento. Outra hipótese a ser considerada é que estas embalagens contém mais oxigênio e espaço livre. Considerando as embalagens que encontram-se na base da caixa, parte inferior, estas, apresentam menos espaço livre, pois a carne é espalhada de forma mais homogênea dentro da embalagem, diminuindo espaço livre (ar + umidade).

Após avaliação de todo o processo de pré abate e frigorificação, nota-se que os pontos finais de venda, cometem um erro ao alegar que a carne apresenta contaminação microbiológica e perda de qualidade, pelo simples fato de conterem uma formação de cristal de gelo superficial, onde a avaliação é meramente visual, pois se considerado uma planta frigorífica com um sistema de pré-resfriamento eficaz e um túnel de congelamento onde o mesmo é feito de forma rápida, a formação de cristais será de forma uniforme, de dentro para fora, e estes cristais de gelo serão provenientes do processo natural de transformação da água em estado líquido para estado sólido.

Haveria a possibilidade de encontrar uma maior contaminação microbiológica e uma possível perda na qualidade da carne, naquelas que foram descongeladas e recongeladas. Este processo causaria uma recristalização, onde a água presente nos tecidos voltaria para o estado líquido durante um período, seria novamente submetida a baixas temperaturas, congelando e formando grandes cristais.

Para avaliar este processo de recristalização seria necessário avaliar toda cadeia da carne, abrangendo, além do já avaliado neste estudo, etapas como armazenamento frigorífico, transporte logístico, armazenamento em centros de distribuição e por fim, armazenamento em câmaras frigoríficas no ponto de venda e exposição na área de venda em gôndolas refrigeradas. A partir disto, seria possível avaliar se a carne adquirida pelo consumidor final estaria com alta carga microbiana e se haveria alteração na qualidade da mesma.