

UFRRJ

INSTITUTO DE TECNOLOGIA

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

DISSERTAÇÃO

**Avaliação Físico-Química, Microbiológica e Sensorial do Presunto
de Peru Submetido à Tecnologia de Alta Pressão Hidrostática**

Simone Pereira Mathias

**Trabalho experimental desenvolvido na
Embrapa Agroindústria de Alimentos**

2008



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA
E SENSORIAL DO PRESUNTO DE PERU SUBMETIDO À
TECNOLOGIA DE ALTA PRESSÃO HIDROSTÁTICA**

SIMONE PEREIRA MATHIAS

*Sob a Orientação do **Ph.D.**
Amauri Rosenthal*

*e Co-orientação da Professora **Dra.**
Arlene Gaspar*

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, no Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Tecnologia de Alimentos.

Seropédica, RJ.
Março 2008

664.07

M431a

T

Mathias, Simone Pereira, 1973-
Avaliação físico-química,
microbiológica e sensorial do
presunto de peru submetido à
tecnologia de alta pressão
hidrostática/Simone Pereira Mathias
- 2008.

81 f. : il.

Orientador: Amauri Rosenthal.
Dissertação (mestrado) -
Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, Instituto de
Tecnologia.

Bibliografia: f. 58-69

1. Alimento - Qualidade - Teses. 2.
Presunto - Microbiologia - Teses.
3. Alimento de origem animal -
Teses. 4. Alimento - Análise -
Teses. I. Rosenthal, Amauri, 1960-
. II. Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro. Instituto de
Tecnologia. III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS**

SIMONE PEREIRA MATHIAS

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Tecnologia de Alimentos.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 06/03/2008

Amauri Rosenthal. Ph.D., Embrapa/CTAA
Orientador

Arlene Gaspar. Prof^a. Dr^a., UFRRJ
Co-Orientadora

Renata Torrezan. Dr^a., Embrapa/CTAA
Membro externo

Regina Silva de Siqueira. Ph.D., Embrapa/CTAA
Membro externo

Rosires Deliza. Ph.D., Embrapa/CTAA
Membro interno

Dedico...

Com amor...

À minha irmã Selma que é parte fundamental em minha vida,

À minha mãe Doraíza (*in memoriam*),

Ao meu pai Victal por todo incentivo.

AGRADECIMENTOS

A Deus por guiar meus passos, me concedendo força, determinação, paciência e sabedoria para seguir adiante.

Aos meus familiares por todo amor, apoio e incentivo em minha vida e trajetória profissional, e em especial aos meus irmãos Selma e Marcos, que sempre estiveram presentes com uma palavra amiga, de paz, me mostrando o quanto é importante ter fé e o apoio da família em todos os momentos.

Ao meu querido companheiro Pedro Echeverria pelo amor, companheirismo, amizade, incentivo e apoio na reta final.

Ao meu orientador Amauri Rosenthal pela amizade, orientação e por me receber em seu projeto, depositando confiança em meu trabalho e me possibilitando um aprimoramento profissional, assim como pelos ensinamentos preciosos, confiança e incentivo.

A minha co-orientadora Arlene Gaspar pela orientação, confiança, amizade e pela oportunidade de crescimento profissional e enriquecedores ensinamentos.

A Rosires Deliza pela amizade, por ter acrescentado valiosos ensinamentos e pela ajuda e disposição a qualquer momento, sempre me recebendo com muito carinho e atenção, sua ajuda foi muito importante.

À grande amiga Adriana Paula Slongo, pelo companheirismo, amizade e por me receber desde o início, me ensinando os passos necessários para o desenvolvimento desse trabalho e me dando forças nos momentos mais difíceis. Sua ajuda foi fundamental, obrigada sempre!

Às grandes amigas Elga Batista da Silva, Kamila do Nascimento, Graziela Siqueira por todo apoio desde o início, que me ajudaram em todos os momentos, sempre com uma palavra de incentivo e à Alessandra da Silva Teixeira, que além de todo apoio, me auxiliou em parte das análises laboratoriais.

Aos estagiários e grandes amigos Luana Tashima e Henrique Muniz Bechara, pelo companheirismo, disposição e auxílio nos experimentos, foram fundamentais.

À amiga Lourdes Maria Masson, pelo grande apoio, ensinamentos e auxílio na parte estatística.

Aos técnicos Cláudio, Zé Carlos, Willian, e em especial à Aline Leandro por toda paciência e ajuda e ao Sérgio (Filé), uma pessoa iluminada que me trouxe vários conhecimentos e me ajudou muito desde o início.

Aos provadores (Aline Leandro, Sérgio, Zé Carlos, Sidney, Marianna, David e Priscila Leal) e consumidores por toda a disponibilidade e atenção nos testes de análise sensorial, pois representaram parte fundamental nesse estudo.

À Ângela Furtado pelo auxílio com reagentes e literatura, além da gentil ajuda prestada por seu estagiário.

Ao técnico do laboratório de físico-química da UFRRJ, Juarez Vicente, por toda ajuda, amizade, disponibilidade e atenção dispensadas nas análises.

A Gláucia Maria Falcão de Aragão, pelo auxílio na parte experimental e empréstimo de formas e embalagens.

Ao Márcio Aurélio Nicoli, pela atenção e doação dos aditivos utilizados na formulação do produto estudado no experimento.

A todos os pesquisadores, professores, funcionários, técnicos e amigos que estiveram presentes e me auxiliaram direta ou indiretamente em todo esse processo, acrescentando para minha formação profissional e de vida.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos e a FAPERJ pelo auxílio no projeto desenvolvido.

RESUMO

MATHIAS, Simone Pereira. **Avaliação Físico-Química, Microbiológica e Sensorial do Presunto de Peru Submetido a Tecnologia de Alta Pressão Hidrostática**. 2008. p.69. Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2008.

A alta pressão hidrostática (APH) consiste em uma tecnologia inovadora de processamento de alimentos com utilização de pressões elevadas (100 MPa a 900MPa), que possui vantagens em relação às tecnologias térmicas convencionais, mantendo as características sensoriais do alimento bem próximas do original e garantindo um alimento seguro do ponto de vista microbiológico, por prolongado período de vida útil. No presente estudo, foram utilizadas pressões de 200 a 400MPa, com tempo entre 5, 10 e 15 minutos à temperatura ambiente para presunto de peru. Foram realizadas as análises microbiológicas (*Salmonella spp*, *Staphylococcus* coagulase positiva, Coliformes a 45°C, Clostridium sulfito redutor a 46°C, bactérias ácido-láticas e contagem padrão em placas de anaeróbios psicotróficos estritos e facultativos), físico-químicas (pH, aw, umidade, proteína, cinzas, lipídeos), oxidação de lipídeos, análise instrumental de cor, eletroforese SDS-PAGE e análise sensorial. Dos resultados obtidos, pode-se observar que na condição 400-15 o presunto de peru teve aumento da vida útil de aproximadamente 45 dias, não foram observadas alterações de composição centesimal, pH e aw, também não foram verificadas alterações de oxidação de lipídeos (índice de peróxido e índice de TBA), apenas a oxidação de cor em pressões de 400MPa a 5 e 15 minutos puderam ser observadas. Não houve alteração em relação às proteínas actina e miosina, após tratamento. Sensorialmente, foi realizada uma análise descritiva quantitativa do produto, identificando-o, e no teste de preferência com escala hedônica de 9 pontos, o mesmo teve uma boa aceitação pelos consumidores. O tratamento a APH foi eficaz e passível de ser aplicado ao produto em questão e usado comercialmente.

Palavras-chave: Alta pressão hidrostática, presunto de peru, bactérias ácido-láticas, eletroforese SDS-PAGE, oxidação de lipídeos e cor, análise sensorial.

ABSTRACT

MATHIAS, Simone Pereira. **Evaluation Physical Chemistry, Microbiological and the Sensory of ham turkey Submitted Technology of the High Hydrostatic Pressure**. 2008. p. 69. Dissertation, Master in Science and Technology for Food. Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2008.

The high hydrostatic pressure (HHP) is a technology that has advantages over conventional relationship the technologies that use heat and works with high pressure (100 MPa to 900MPa), maintains the sensory characteristics of food and close to the original, ensures a food safe from microbiological point of view and with increasing lifetime. In this study, were used pressures of 200 to 400MPa, with time between 5, 10 and 15 minutes at room temperature for turkey ham. We performed the microbiological analyses (*Salmonella sp*, positive *Staphylococcus* coagulase, Coliforms to 45 ° C, reducing *Clostridium* sulphite and lactic-acid bacteria plating count standard of strict psychrotrophic and facultative anaerobes), physical-chemical (pH, aw, humidity, protein, ash, lipids and carbohydrates), lipids oxidation, color analysis of instrumental, SDS-PAGE electrophoresis and sensory analysis. From the results obtained, it can be observed that the condition 400-15 turkey ham was the increase of life in Approximately 45 days, no changes were observed in proximate composition, pH and a_w, and no were verified changes in oxidation of lipids (peroxide index and index of TBA), only the oxidation of color in the 400MPa pressures of 5 and 15 minutes could be observed. There were no changes for the proteins actin and myosin, after treatment. To sensory, an analysis was Performed Quantitative Descriptive of the product, identifying it, and the Test Preferably with a hedonic scale of 9 points, it was a good acceptance by consumers. The treatment was effective in the APH likely to be applied to the product in question and used commercially.

Keywords: High hydrostatic pressure, turkey ham, lactic-acid bacteria, SDS-PAGE electrophoresis, oxidation of lipids, sensory analysis.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Relação de países e produtos disponíveis no comércio mundial, tratados por APH. Fonte: SÁN MARTÍN et al. (2002)	16
Tabela 2. Pressão necessária para inativação de microrganismos. Fonte: CHIAVARO e BONARDI (1999)	17
Tabela 3. Comparação da resistência à alta pressão hidrostática entre microrganismos. Fonte: CAMPOS et al. (2003)	20
Tabela 4. Formulação do presunto de peru	31
Tabela 5. Médias dos resultados obtidos na pesquisa de Coliformes a 45°C, <i>Estafilococcus</i> coagulase positiva/g, <i>Clostridium</i> sulfito redutor a 46°C e <i>Salmonella spp</i> para as amostras de presunto de peru controle e pressurizadas em 75 dias a 8°C	41
Tabela 6. Resultados obtidos do crescimento de bactérias ácido-lácticas, nas amostras de presunto de peru controle com 45 dias e pressurizada com 80 dias de estocagem a 8°C, e da contagem padrão em placas de anaeróbios estritos e facultativos nas amostras controle e pressurizada em 75 dias e estocadas a 8°C.....	42
Tabela 7. Valores das médias e desvio padrão para atividade de água das amostras de presunto de peru controle e pressurizada	44
Tabela 8. Médias (%) e desvios padrões da composição físico-química das amostras de presunto de peru controle e pressurizada	44
Tabela 9. Médias e desvio padrão para o pH do presunto de peru controle e pressurizado, durante 90 dias de armazenamento	45
Tabela 10. Valores das médias e desvio padrão do índice de peróxido, em meq de peróxido/ 100g, para amostras de presunto de peru controle e pressurizada	45
Tabela 11. Valores das médias e desvio padrão de TBA em mg de malonaldeído/kg para amostras de presunto de peru pressurizada e controle ao longo de 90 dias	46
Tabela 12. Valores de massa molecular das cadeias polipeptídicas separadas por eletroforese SDS-PAGE, com indicação de suas presenças (+) e ausências (-), tomando como referência a amostra crua e amostra tratada termicamente	48
Tabela 13. Valores das médias de <i>p</i> do Teste de Dunnett para amostras de presunto de peru ao longo da vida útil	49
Tabela 14. Atributos sensoriais, definições e referências para presunto de peru	50

Tabela 15. Média* dos atributos sensoriais para o presunto de peru controle (1), pressurizado (2) e diferentes marcas comerciais (3, 4, 5 e 6) 50

Tabela 16. Médias* da preferência** das amostras de presunto e para os diferentes segmentos de consumidores 53

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama esquemático do equipamento de alta pressão hidrostática (BUZRUL et al. 2007)	13
Figura 2. Toailete da coxa de peru	31
Figura 3. “Cutter” com a carne de peru em pedaços	32
Figura 4. Autoclave (a); ELLAB (b); formas aço inox (c).	32
Figura 5. Presunto de peru embalado a vácuo antes da pressurização	33
Figura 6. Equipamento APH (<i>Stansted Fluid Power</i>)	33
Figura 7. Cilindro com amostra pressurizada	34
Figura 8. Amostras de presunto de peru pressurizadas	38
Figura 9. Ilustração do preparo das amostras para apresentação aos participantes do estudo	39
Figura 10. Escala hedônica estruturada de 9 pontos, exemplificando o atributo aparência	40
Figura 11. Contagem de bactérias ácido-lácticas nas amostras de presunto de peru controle e pressurizada a 400MPa a 15 minutos	42
Figura 12. Perfil eletroforético das proteínas extraídas de presunto de peru (2) cru; (3) controle (68 ⁰ C) e submetido a diferentes pressões e tempos: (4) 200 MPa, 5 5 min.; (5) 200 MPa, 15 min.; (6) 300 MPa, 10 min; (7) 400 MPa, 5 min., (8) 400 MPa, 5 15min. C marcadores de massa molecular estão nos poços 1 e 9, os valores estão em kDa	47
Figura 13. Análise dos Componentes Principais (ACP) dos produtos controle, pressurizado e os produtos comerciais 3, 4, 5 e 6	52
Figura 14. Dendrograma dos consumidores (n=84)	54
Figura 15. Mapa Interno da Preferência (MIP) mostrando a posição dos consumidores e a posição dos produtos no espaço definido pela primeira e segunda dimensão	54
Figura 16. Representação gráfica das dimensões 1 e 2 do Mapa Externo da Preferência: (a) segmento de consumidores e amostras; (b) atributos sensoriais	56

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
2.1. Objetivo geral	3
2.2. Objetivos específicos	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1. Tecnologia de fabricação do presunto	4
3.1.1. Definição	4
3.1.2. Composição	4
3.1.2.1. Ingredientes obrigatórios	4
3.1.2.1.1. Matéria-prima para presunto de peru (coxa e/ ou sobre-coxa)	4
3.1.2.1.2. Água	4
3.1.2.1.3. Sal (NaCl)	5
3.1.2.1.4. Nitrito e/ ou nitrato de sódio ou potássio (conservador)	6
3.1.2.2. Ingredientes opcionais	7
3.1.2.2.1. Açúcar	7
3.1.2.2.2. Condimentos	7
3.1.2.3. Ingredientes intencionais	7
3.1.2.3.1. Antioxidantes	7
3.1.2.3.2. Estabilizantes	8
3.1.3. Processamento	8
3.1.3.1. Convencional	8
3.1.3.2. Tipo “Cook-in” (película plástica)	9
3.1.4. Embalagens	10
3.2. Vida útil de produtos cárneos	11
3.3. Tecnologia de alta pressão hidrostática (APH)	12
3.3.1. Efeito da APH sobre microrganismos	16
3.3.2. Efeito da APH sobre características físico-químicas	20
3.3.2.1. pH	20
3.3.2.2. Lipídeos	21
3.3.2.3. Proteínas miofibrilares	22
3.3.3. Aplicação da APH a produtos cárneos	23
3.3.3.1. Carne refrigerada/ congelada	23
3.3.3.2. Carne mecanicamente separada (CMS)	23
3.3.3.3. Produtos de salsicharia	24
3.3.4. Efeito da APH sobre a cor de produtos cárneos	26
3.4. Análise sensorial	27
3.4.1. Análise Descritiva Quantitativa (ADQ)	28
3.4.2. Teste de Preferência	29
4. MATERIAL E MÉTODOS	31
4.1. Material	31
4.1.1. Matéria-prima	31
4.2. Métodos	31
4.3. Tratamento a alta pressão hidrostática	33
4.4. Planejamento experimental	34
4.5. Análises microbiológicas	35

4.5.1. Legislação da ANVISA – RDC ° 12	35
4.5.2. Vida útil	35
4.6. Análises físico-químicas	36
4.6.1. Atividade de água (aw)	36
4.6.2. Composição Centesimal	36
4.6.2.1. Cinzas	36
4.6.2.2. Lipídeos	36
4.6.2.3. Proteína	36
4.6.2.4. Umidade	36
4.6.3. pH (método do potenciômetro)	36
4.6.4. Oxidação de lipídeos	37
4.6.4.1. Índice de peróxido	37
4.6.4.2. Índice de TBA (ácido 2-tiobarbitúrico)	37
4.6.5. Eletroforese SDS-PAGE	37
4.7. Análise sensorial	38
4.7.1. Análise instrumental de cor	38
4.7.2. Análise Descritiva Quantitativa (ADQ)	38
4.7.3. Teste de Preferência	39
4.8. Análise estatística	40
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1. Análises microbiológicas	41
5.2. Análises físico-químicas	43
5.2.1. Atividade de água (aw)	43
5.2.2. Composição Centesimal	44
5.2.3. pH	44
5.2.4. Oxidação de lipídeos	45
5.2.5. Eletroforese SDS-PAGE	47
5.3. Análise sensorial	48
5.3.1. Análise Instrumental de Cor	48
5.3.2. Análise Descritiva Quantitativa (ADQ)	49
5.3.3. Teste de Preferência	53
6. CONCLUSÃO	57
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58

1. INTRODUÇÃO

Com o crescimento da população mundial, a globalização e o avanço tecnológico, o consumidor passa a exigir cada vez mais, alimentos que sejam de preparo e consumo facilitado, qualidade superior, com características de um produto mais próximo ao original e que não tragam riscos à saúde.

A economia brasileira apresenta um crescimento expressivo na área da agroindústria e as novas tecnologias são promissoras, principalmente por aumentarem a produtividade aliada à preocupação com a questão ambiental. O conhecimento técnico e científico é fundamental para que as empresas nacionais estejam preparadas para implantação dessas tecnologias e possam atuar em um mercado competitivo e obtendo sucesso.

A avicultura brasileira passa por um momento de grande expansão, tanto no mercado interno, quanto no externo e a expectativa segundo a UBA (União Brasileira de Avicultura) é que esse setor avícola aumente ainda mais a produção de aves no ano de 2008. A carne de peru vem apresentando uma crescente demanda nas exportações e no ranking mundial, o Brasil já é o terceiro maior exportador da ave, atrás apenas dos EUA e da União Européia.

Esta ave é tradicionalmente consumida na época natalina e apesar de ainda manter sua demanda sazonal, o peru e seus derivados (presunto de peru, “blanquet”, peito de peru defumado, cortes temperados) já aparecem com mais frequência nas gôndolas dos supermercados, principalmente pelo enfoque comercial da carne em questão ser mais saudável, com menor teor de gordura, o que atrai os consumidores preocupados com a saúde.

No Brasil, a criação de perus vem se tornando altamente especializada, o abate ocorre ao longo de todo ano e não concentrado nos últimos meses como era feito no passado, obrigando desta forma, os produtores e a indústria a buscarem novas tecnologias em manejo e sanidade.

O aumento crescente da demanda por produtos com alto valor nutricional e com características sensoriais ainda mais próximos do original tem levado à intensificação dos estudos para a busca de tecnologias alternativas. Dentre estas tecnologias, destacam-se o tratamento ôhmico, o processamento por campos eletromagnéticos, a tecnologia de ultrassom, a irradiação ionizante, a esterilização por membranas e, em especial, a tecnologia de alta pressão (ROSENHTAL & SILVA, 1997; SANGRONIS et al. 1997; BUTZ & TAUSCHER, 2002).

A tecnologia de alta pressão hidrostática (APH) é inovadora e engloba os requisitos de uma tecnologia sem danos ao meio ambiente. Trata-se de um tratamento não térmico e que utiliza pressões elevadas, na faixa de 100MPa a 900MPa, com opções de variação de tempo e temperatura o que garante uma flexibilidade de trabalho de acordo com o alimento utilizado. Possui grande vantagem de aumentar a vida útil, garantir um alimento seguro do ponto de vista microbiológico, além de manter as características sensoriais praticamente inalteradas.

O tratamento a altas pressões causa a injúria de microrganismos e a inativação de enzimas, deixando intactas outras moléculas, como a maioria das vitaminas e os compostos voláteis, que conferem sabor e aroma aos alimentos (SMELT, 1998).

Conseqüentemente, a partir das novas tecnologias surgem novos produtos, e o julgamento e a aceitação destes pelo consumidor é o que certamente vai determinar o sucesso ou fracasso comercial, representando, desse modo, a avaliação da tecnologia utilizada e o produto final obtido (ZIMMERMAM et al. 1994).

Os custos envolvidos na aquisição dos equipamentos e do processamento limitam o uso da tecnologia de APH. Avanços têm sido realizados no desenho e construção dos equipamentos para tornar os custos de processamento mais competitivos em relação à esterilização e ao congelamento.

Alguns produtos tratados pela alta pressão hidrostática já estão sendo comercializados na Alemanha, Espanha, Estados Unidos e Japão, e a tendência é que outros países venham a adquirir essa tecnologia que traz grandes vantagens para o processamento e conservação dos alimentos.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Formular e produzir presunto de peru seguindo as tecnologias pré-existentes, e submetê-lo ao tratamento com alta pressão hidrostática, visando o aumento da vida útil. Avaliar as características sensoriais, os parâmetros físico-químicos e microbiológicos.

2.2. Objetivos Específicos

1. Determinação da composição centesimal, pH, atividade de água (a_w) e oxidação de lipídeos (TBA e índice de peróxido), comparando o produto pressurizado com o não pressurizado (controle).
2. Estudo dos efeitos de diferentes pressões nas proteínas majoritárias de presunto de peru, avaliadas por eletroforese SDS-PAGE.
3. Efeito da APH na inativação e crescimento (contagem) de microrganismos patogênicos segundo o estabelecido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA.
4. Acompanhamento ao longo da vida de útil do produto das bactérias ácido-lácticas e Contagem Padrão em Placas de anaeróbios estritos e facultativos do presunto de peru submetido a APH na condição experimental conforme as análises previstas na legislação da ANVISA.
5. Estudo dos efeitos de diferentes pressões na Análise Instrumental de Cor do presunto de peru.
6. Desenvolver terminologia descritiva e quantificar as características do presunto de peru submetido a APH, e das principais marcas comerciais, através da Análise Descritiva Quantitativa (ADQ).
7. Avaliar a aceitação do presunto de peru submetido a APH, bem como das principais marcas comerciais disponíveis no mercado (Teste Sensorial de Preferência).

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Tecnologia de fabricação de presunto

3.1.1. Definição

Entende-se por “Presunto”, o produto cárneo industrializado obtido dos cortes do membro posterior do suíno, desossado ou não, e submetido ao processo térmico adequado. Quando o membro posterior utilizado não for o de suíno, o produto será denominado de Presunto, seguido do nome da espécie animal de procedência (BRASIL, 2000).

3.1.2. Composição

Os ingredientes obrigatórios na composição dos presuntos incluem: carne de pernil de suíno, ou cortes do membro posterior de outras espécies de animais de açougue, sal, nitrito e/ ou nitrato de sódio ou potássio em forma de salmoura. Dentre os ingredientes opcionais estão: proteínas de origem animal e/ ou vegetal, açúcares, condimentos, aromas e especiarias, aditivos intencionais. Permite-se a adição de proteínas não cárneas na forma agregada de 1,0% (máx.) em presunto tenro e de 2% (máx.) para outros presuntos (BRASIL, 2000).

Os aditivos e coadjuvantes tecnológicos de fabricação, com exceção dos condimentos e especiarias in natura, são previamente aprovados pelo órgão do Ministério da Saúde e, a seguir, registrados no Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde – INCQS, da Fundação Oswaldo Cruz, do Ministério da Saúde, ou no DIPOA/ MA (Departamento de Inspeção dos Produtos de Origem Animal do Ministério da Agricultura). O controle da mistura de aditivos é realizado pelas Secretarias de Saúde, nos produtos finais, por delegação do Ministério correspondente, e pelo DIPOA/ MA nos estabelecimentos sob sua jurisdição (PARDI et al.1996).

O Decreto nº. 55.871, referente às normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, estabelece que é tolerável o uso de aditivo, desde que seja indispensável à adequada tecnologia da fabricação, que tenha sido previamente registrado no órgão competente do Ministério da Saúde e que seja empregado na quantidade estritamente necessária à obtenção do efeito desejado, respeitando o limite máximo que vier a ser fixado (BRASIL, 1965).

3.1.2.1. Ingredientes obrigatórios

3.1.2.1.1. Matéria-prima para Presunto de peru (coxa e/ ou sobre-coxa de peru)

A coxa e sobre-coxa são oriundas de aves do gênero *Meleagridis*, que incluem os perus e perus maduros. Entende-se por carne de aves, a parte muscular comestível das aves abatidas, declaradas aptas à alimentação humana por inspeção veterinária oficial antes e depois do abate. Entende-se por corte a parte ou fração da carcaça, com limites previamente especificados pelo DIPOA, com osso ou sem osso, com pele ou sem pele, temperados ou não, sem mutilações ou dilacerações. (BRASIL, 1998).

3.1.2.1.2. Água

Geralmente é adicionado 30% de água ou gelo em relação ao total de carne. O teor de umidade do produto varia em função da quantidade de água adicionada durante o preparo do produto (PARDI et al. 1996).

No processo de elaboração de produtos cárneos, tanto as proteínas cárneas, como as não cárneas, devem ser extraídas e dispersadas para atuarem efetivamente como emulsificantes. A água serve para solubilizar as proteínas hidrossolúveis e atuar como constituinte de uma salmoura necessária para a solubilização das proteínas miofibrilares. Se não houver água suficiente, a capacidade de emulsificação das proteínas ficará comprometida. Assim, a água atua como a fase contínua de uma emulsão cárnea, na qual os emulsificantes estão dispersos (PARDI et al. 1996).

Nas fibras musculares estão localizadas as proteínas miofibrilares, actina e miosina, que são solúveis em meio contendo sal, o qual permite atingir-se a força iônica necessária para a sua solubilização. Durante este processo as proteínas são liberadas formando o gel. As proteínas sarcoplasmáticas solubilizam-se em água, sem necessidade de adição de sal, e permanecem solubilizadas mesmo após a adição deste. A quantidade de água adicionada definirá a capacidade de emulsificação. A água influencia na patabilidade dos produtos cárneos, contribuindo para sua textura e suculência (LEMOS, 2005, apud Slongo 2008).

3.1.2.1.3. Sal (NaCl)

O sal é uma das substâncias mais utilizadas na indústria cárnea, por sua capacidade saborizante e conservadora. O sal desempenha quatro funções principais em produtos cárneos: (1) dissolve-se na água para formar a salmoura, o qual retarda o crescimento microbiano (2) auxilia na solubilização das proteínas miofibrilares, (3) aumenta a capacidade de retenção de água e (4) contribui para o gosto característico básico (PEARSON & GILLET, 1999).

Em relação às propriedades tecnológicas, o sal influi sobre a capacidade de retenção de água das proteínas cárneas, especialmente as miofibrilares. Com a adição de sal, aumenta-se a força iônica do meio, permitindo que as proteínas miofibrilares absorvam a água e solubilizem-se. Portanto, o sal tem uma importância fundamental na solubilização das proteínas do interior do músculo para a superfície (LEMOS, 2005, apud Slongo, 2008).

O sal é usado em carnes preparadas por razões importantes de liga, *flavour* e preservação. Uma das funções do NaCl é extrair as proteínas miofibrilares. A extração e solubilização dessas proteínas musculares contribuem para a ligação da partícula da carne para a emulsificação da gordura e para o aumento da capacidade de retenção de água. Assim, ele reduz as perdas por cozimento e melhora a qualidade e textura do produto. Quando o produto é cozido, a gordura, a água e os outros constituintes são atraídos para dentro da matriz de proteína cárnea coagulada para formar produtos aceitáveis em relação a rendimento, maciez, umidade, textura e qualidade global (PARDI et al. 1996).

Boa parte do sal da dieta é proveniente dos alimentos processados, principalmente na forma de cloreto de sódio. Nesse o sal tem importância na solubilização das proteínas miofibrilares, alterando a textura, além de modificar o sabor e o aroma e aumentar o prazo de vida comercial (RUUSUNEN et al. 2005).

O sal desempenha diversos papéis importantes nos produtos cárneos e não pode ser removido sem critérios tecnológicos definidos. Um problema particular com produtos cárneos com baixo teor de sal é que não somente a percepção de salinidade, mas também a intensidade do sabor característico diminui, quando o sal é reduzido (RUUSUNEN & POULANNE, 2004).

Não se pode considerar que o efeito inibitório do cloreto de sódio frente aos microrganismos seja somente devido à diminuição da atividade de água. Ele apresenta um efeito inibitório também devido aos íons Na^+ . Com algumas exceções, microrganismos que são sensíveis a níveis reduzidos de atividade de água também são sensíveis à inibição por íons Na^+ (VARNAMM & SUTHERLAND, 1995). O sal, além disso, aporta um sabor salgado devido ao ânion Cl^- , enquanto que o cátion Na^+ tem um efeito forte sobre a capacidade de estimular os receptores. Através do aumento da força iônica, o sal aumenta a solubilidade das

proteínas musculares, favorecendo assim a manifestação das suas propriedades tecnológicas (poder emulsificante, ligante e outros) (GIRARD, 1991).

3.1.2.1.4. Nitrito e/ ou Nitrato de Sódio ou Potássio (Conservador)

Entende-se por conservadores as substâncias que são adicionadas aos alimentos com vista a impedir ou retardar a ação microbiana ou enzimática. Dispõem assim, de ação antimicrobiana, antimicótica e anti fermentativa, protegendo o alimento contra a degradação (PARDI et al. 1996).

Nitratos e nitritos são aditivos intencionais utilizados como conservantes em vários alimentos. Em produtos cárneos têm como finalidade inibir o crescimento de microrganismos patogênicos como o *Clostridium botulinum* e conferir aspectos sensoriais característicos às carnes curadas, além de retardar a oxidação lipídica (OKAFOR & OGBNNA, 2003).

O nitrato e o nitrito são componentes obrigatórios nos processos de cura de carnes processadas. São classificados como conservadores devido à ação sobre o *Clostridium botulinum* e conferem às carnes a coloração rosada característica dos produtos curados, devido à sua ação sobre a mioglobina (PARDI et al. 1996).

O art. 372 do Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA (BRASIL, 1997) prescreve “o emprego dos nitratos e nitritos” de sódio ou de potássio ou de qualquer combinação entre eles, só pode ser feito em quantidades tais que, no produto para consumo, o teor de nitrito não ultrapasse 200ppm”; e o art. 373 diz que os nitratos de sódio e potássio só podem ser empregados, isolada ou combinadamente, nas seguintes proporções máximas: a) 240g para cada 100L de salmoura; b) 60g para cada 10kg de carne, na cura a seco, de mistura com sal e c) 15g para cada 100kg de carne de carne picada ou triturada, de mistura com o sal.

As propriedades químicas do nitrito de sódio ou potássio são bem conhecidas e são oriundas do seu caráter oxi-redutor e de seu poder nitrosante. Em sistemas biológicos o ácido nitroso e o íon NO_2 são susceptíveis de participar de numerosas reações em função do pH, da temperatura e da presença de outras substâncias (GIRARD, 1991).

A etapa inicial da formação da cor em produtos curados é a oxidação pelo nitrito da mioglobina (vermelho púrpura) a metamioglobina e a redução simultânea do nitrito a óxido nítrico (NO). O óxido nítrico logo reage com a metamioglobina para formar um intermediário, a nitrosomioglobina (ARIMA & NETO, 1995).

A nitrosomioglobina de cor vermelho-róseo é o pigmento responsável pela coloração atrativa encontrada nos produtos cárneos curados não tratados pelo calor. Frente ao tratamento térmico, a cor é estabilizada pela desnaturação da porção protéica da mioglobina, resultando na formação de um composto altamente estável devido à formação de ligações covalentes denominado de nitrosohemocromo, de cor rosa (VARNAMM & SUTHERLAND, 1995). Este pigmento, apesar de termoestável, é susceptível às reações de oxidação, que resultam na formação de porfirinas verdes, amarelas ou sem cor.

A concentração de nitrito necessária para a ocorrência de diversos efeitos quando do seu emprego em produtos cárneos, varia entre 30 e 50ppm para o desenvolvimento de cor, entre 20 e 40ppm para o desenvolvimento de aroma, entre 80 e 150ppm para efeito conservador e entre 20 e 50ppm para efeito antioxidante (MÜLLER, 1991).

O nitrito é bastante estável em solução de cura à temperaturas inferiores a 5°C e pH maior que 6,0. A adição de 0,001% a 0,005% é o suficiente para conferir às carnes curadas a coloração rosa característica e, em níveis de 0,015% a 0,020% promove a inibição de do *Clostridium botulinum* (PARDI et al. 1996).

3.1.2.2. Ingredientes opcionais

3.1.2.2.1. Açúcar

Açúcar é a sacarose obtida a partir do caldo de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum L.*) ou (no caso da Europa e outros países) de beterraba (*Beta alba L.*). São também considerados açúcares os monossacarídeos e demais dissacarídeos, podendo se apresentar em diversas granulometrias e formas de apresentação (BRASIL, 2005).

Os açúcares mais usados na indústria de produtos cárneos são a sacarose, a lactose, glucose e derivados do amido, mais ou menos hidrolisados. (GIRARD, 1991).

Os açúcares porém, só funcionam como conservadores quando em grandes concentrações. Os açúcares empregados na cura de carne não dispõem de ação conservadora direta, embora favoreçam o processo de conservação ao serem transformados por fermentação em ácido láctico. Este passa a influir na diminuição do pH, tornando o meio desfavorável aos microrganismos proteolíticos (PARDI et al. 1996).

3.1.2.2.2. Condimentos

O RIISPOA, em seu artigo nº.785, define condimento como “o produto contendo substâncias aromáticas, sápidas, com ou sem valor alimentício, empregado com o fim temperar alimentos, dando-lhes aroma e sabor” (BRASIL, 1997)

Os condimentos são agrupados em duas classes: os potenciadores de sabores, que incluem o glutamato monossódico, hidrolisados de proteínas, aminoácidos, dipeptídeos, maltol e etimaltol e produtos de combinação. O outro grupo inclui os saborizantes que são substâncias que comunicam sabor à fumaça; essências de fumo, extratos de fumo e condimentos de fumo, além de outros como ácidos naturais presentes nos alimentos, açúcar e sal de cozinha (GERHARDT, 1980).

O ácido glutâmico (glutamato monossódico), mais largamente usado no Brasil está presente em numerosas proteínas, especialmente em vegetais como soja, resíduos de beterrada açucareira, a planta marinha denominada *Laminaria japonica*, o glúten do trigo e outros. O ácido glutâmico e seu sal monossódico modificam as propriedades sensoriais dos produtos a que são adicionados, em doses de 0,10 a 0,25%. Possui sabor salino, mascara certos sabores, como gosto cru, o sabor de terra ou o amargo e seu efeito para melhorar o sabor se manifesta quando unido ao cloreto de sódio (PARDI et al. 1996).

3.1.2.3. Ingredientes intencionais

3.1.2.3.1. Antioxidantes

O Decreto nº. 55.871/65 define antioxidante como “a substância que retarda o aparecimento de alteração oxidativa nos alimentos” (BRASIL, 1965).

As substâncias antioxidantes destinam-se exatamente a inibir o ranço oxidativo. Visando melhorar sua eficiência, são empregados os sinergistas, quando o efeito da combinação é maior que o relativo à ação de cada um dos componentes isoladamente. Contam-se como os sinergistas o ácido ascórbico (A.I), o ácido acético (A.II), o ácido fosfórico (A.III) e sais de EDTA (PARDI et al. 1996).

Os antioxidantes ascorbato de sódio, potássio ou cálcio e o eritorbato de sódio, quando adicionados em produtos cárneos são responsáveis pela aceleração da transformação do nitrito a óxido nitroso e também são estabilizadores da cor do composto formado após o

cozimento de presunto, o nitrosohemocromo. A adição de ácido ascórbico permite que o teor de nitrito seja reduzido para 1/3 sem que haja prejuízo da cor (BORENSTEIN, 1965).

3.1.2.3.2. Estabilizantes

O estabilizante é definido como substância que favorece e mantém as características físicas de emulsões e suspensões (BRASIL, 1965).

O polifosfato, de acordo com a FAO (1995) é considerado um aditivo intencional, classificado como estabilizante, cuja principal função é não permitir que ocorram modificações físicas e químicas no produto depois de pronto.

Os polifosfatos são substâncias que aumentam a capacidade de ligação da água em carnes cozidas. O mais comum é o tripolifosfato de sódio. A água fica imobilizada pela rede formada por proteínas e fosfatos. Essa rede é estabilizada pela rede de proteínas durante o tratamento térmico dos produtos (MARBA, 2004).

Tolera-se a adição de fosfato dissódico, hexameta-fosfato de sódio, pirofosfato de sódio e pirofosfato ácido de sódio às salmouras de cura destinadas a presuntos e paletas, no preparo de produtos enlatados apresetados de massa triturada, desde que tal uso não resulte mais de 0,5% (meio por cento) de fosfato adicionado ao produto final (BRASIL, 1952).

Os fosfatos e polifosfatos adicionados à carne e ou às massas de produtos cárneos embutidos possuem várias propriedades que são a ação coagulante e gelatinizante sobre as proteínas, ação dispersante e emulsionante sobre as gorduras e ação sequestrante de metais pesados. (PARDI et al. 1996).

Os polifosfatos possuem um papel fundamental, pois favorecem a ligação da água com as proteínas musculares. Essa ação possui repercussão em nível de rendimento e fabricação, da qualidade das emulsões, e das características organolépticas dos produtos. (GIRARD, 1991).

Os polifosfatos melhoram o poder de retenção de água da carne que se traduz em nível do produto, pela redução das perdas no cozimento, e conseqüentemente pela elevação do nível em rendimento de fabricação. (GIRARD, 1991).

São utilizados com a finalidade de aumentar a capacidade de retenção de água pela carne e diminuir a perda de umidade durante o cozimento, proporcionando melhor maciez e cor, preservando o sabor e evitando o ranço oxidativo através de seu efeito sequestrante, pois reagem com metais polivalentes, inativando e impedindo de participarem em reações de oxidação das gorduras. Na indústria de carnes, os fosfatos mais usados são os hipofosfatos, hexametafosfato e pirofosfato de sódio e potássio (PARDI et al.1996).

Os polifosfatos são compostos que pertencem ao grupo dos estabilizantes (INS). Nas indústrias de produtos cárneos, os polifosfatos são empregados como compostos sódicos ou potássicos de ácido pirofosfórico. Os polifosfatos quando combinados com outros compostos alcalinos, atuam sinergicamente, aumentando os rendimentos de produtos cárneos como presunto e de outros produtos cárneos. Parece que somente os polifosfatos alcalinos são eficazes para melhorar a retenção de salmoura e aumentar os rendimentos finais dos produtos cárneos curados (ORDÓNEZ et al. 2005).

3.1.3. Processamento

3.1.3.1. Convencional

Segundo Pardi et al. 1996, o processamento de presunto convencional envolve as seguintes operações: seleção, injeção arterial da salmoura ou desossa e injeção muscular por multiagulhas, cura por 48 horas em câmara fria a mais ou menos 4°C, enformagem, cozimento

a 80°C (cerca de 72°C internamente), resfriamento, acondicionamento em embalagem (envoltório fibroso, *cry-o-vac* e acondicionamento em filme plástico).

A operação de *tumbling* e massageamento, que passou a ser aplicada como regra na elaboração de produtos curados de suínos, segundo Addis e Shanus (1979), tem como vantagem a melhor penetração da salmoura, maior uniformidade da cor, aumento da liberação das fibras musculares solúveis no sal, o que resulta da melhoria da liga do produto, o rendimento mais uniforme e melhor fatiamento.

A tecnologia descrita por Silveira et al. 1989, consiste em separar o pernil da carcaça suína, os ossos, couro e o excesso de gordura e procede-se assim o retalhamento da peça. Cortar em cubos retirando toda a gordura. Usar o retalho magro para moer. Colocar todos os ingredientes no misturador e bater por 35 minutos. Acondicionar a massa em fôrmas recobertas por folhas plásticas, evitando a presença de bolhas de ar. Fechá-las sob pressão. O cozimento é feito em água a 80°C. O tempo de cozimento tem uma variação dependendo do tamanho da fôrma, pode-se calcular 75 minutos para cada quilo de presunto na fôrma, ou até atingir 70°C no centro do presunto. Após o cozimento, as fôrmas são retiradas do tanque e as tampas novamente prensadas. Resfria-se em água fria, seguindo para a geladeira. Após 18 horas, o presunto está pronto para ser retirado da fôrma. Manter sob refrigeração.

De acordo com Lawrie (1998), no processamento *cook-in* as carnes utilizadas na fabricação do presunto (pernil suíno) são preparadas os referidos aditivos e condimentos que serão utilizados na elaboração da salmoura são pesados e a diluídos em água. Posteriormente, as carnes injetadas são mantidas em cura nas câmaras de refrigeração durante 24 horas e após o tempo de descanso, as carnes são colocadas no “*tumbler*”, para o processo denominado tambleamento. O processamento térmico (cozimento) das peças é realizado em estufas com escalonamento de temperaturas, até o produto atingir uma temperatura de 68°C internamente. Em seguida, ainda nas formas, os presuntos são transferidos para câmaras de resfriamento por 24 horas, colocadas imediatamente em banho de gelo a 4°C. Os presuntos são armazenados em câmara de 0°C a 5°C, até a comercialização.

3.1.3.2. Tipo “Cook-in” (película plástica)

Ultimamente vem sendo utilizada uma nova técnica no fabrico de presunto cozido, conhecida como *cook-in* ou, ainda, na Europa, como *cook-in ham* ou *uncanny ham*. Sua produção obedece às linhas gerais de fabrico do presunto cozido convencional, dentro das seguintes etapas: *tumbling*, embalagem em filme plástico e enformagem a vácuo; cozimento (temperatura externa máxima de 75°C), resfriamento e desenformagem. No Brasil a prática já vem sendo adotada há algum tempo, com a utilização de películas de poliamida e de resinas isoméricas, com capacidade de amoldar-se à forma inicialmente e encolher-se durante o cozimento (PARDI et al. 1996).

Entre as tecnologias modernas aplicadas ao processamento de carnes, aquela correspondente ao cozimento do produto na embalagem termoformada (embalagem de consumo) causou um grande impacto na indústria da carne. Potencialmente útil para vários produtos cárneos, a tecnologia “*cook-in*”, desenvolvida no início da década de 80, tornou-se conhecida pela sua mais importante aplicação, que é a de fabricação de presunto cozido, produto de alto valor agregado e que sofreu uma marcante inovação tecnológica nos últimos anos (ARIMA & NETO, 1995).

O processo “*cook-in*” apresenta como principais vantagens maior coesão nas peças de carne, aumento no rendimento de presunto e, por ser cozido na própria embalagem de fabricação (filme plástico, termoformável, resistente ao calor) resulta em um produto com vida útil prolongada (MONTEIRO, 1999).

O resfriamento desempenha papel importante no processo *cook-in*. É imprescindível para a qualidade do produto que a redução da temperatura interna do mesmo seja rápida. Não se devem desenformar presuntos ainda quentes, pois apesar do resfriamento, a peça continua com elevada temperatura interna, o que pode prejudicar a estrutura do produto, principalmente a fatiabilidade e o aumento dos riscos de contaminação microbiana. (ARIMA & NETO, 1995).

Scheid (1986), tecendo considerações sobre a inovação, disse, que, inicialmente, a seleção e o tratamento do pernil devem prever um possível inchamento, a retenção de água e as aptidões para processamento do material injetado. O presunto deve ser contido exatamente no molde para cocção. Ressalta ainda que, a embalagem *cook-in* representava economia pela menor exigência de limpeza dos moldes de cocção e pela ausência de perdas no cozimento, a melhoria da qualidade em termos de coesão e aroma, além do acentuado desempenho na conservação e na apresentação comercial.

3.1.4. Embalagens

Os envoltórios artificiais, de uso mais corrente em embutidos também empregados em produtos curados, embutidos e mesmo em carnes frescas, são constituintes de celulose, de colágeno comestível, de colágeno não comestível e de plástico (PARDI et al. 1996).

A embalagem influencia na qualidade e durabilidade de carnes frescas e de produtos cárneos, pois altera o ambiente ao redor do produto, criando condições que retardam as reações de deterioração. A embalagem previne a evaporação da umidade do produto, evitando perdas de peso e alterações de aparência, textura e aroma. Desse modo, a embalagem torna-se uma das principais responsáveis para a manutenção da qualidade de carnes e derivados por longos períodos, além da qualidade inicial do produto e da temperatura de estocagem e comercialização (PARDI et al. 1996).

Carnes e aves frescas são produtos com alto valor agregado, que requerem sistemas de embalagem, distribuição e estocagem capazes de garantir que o produto chegue ao consumidor final sem significativa perda de qualidade. Nesses produtos a perda de qualidade ocorre, principalmente, devido ao crescimento microbiano, à descoloração, à rancificação e à desidratação superficial, sendo possível o prolongamento da vida útil pela proteção adequada contra fatores do meio ambiente, como oxigênio, luz, umidade e contaminação microbiológica. Nesse contexto, a embalagem, a qualidade inicial do produto e a temperatura de estocagem/comercialização assumem grande importância na manutenção da qualidade de carnes, aves e produtos derivados, por longos períodos (ROBERTSON, 1992).

A permeabilidade ao vapor d'água e aos gases, principalmente ao oxigênio, exerce grande influência. Se o envoltório é muito permeável ao oxigênio, produzem-se rapidamente fenômenos oxidativos na superfície da massa, causando, em consequência oxidação da gordura e transformação da nitrosomioglobina, assumindo o produto a coloração cinza e parda. (EFFENBERGER, 1980).

O PVDC é conhecido com o nome comercial de Cry-o-vac ou Saran, tendo sido a primeira partícula plástica a ser empregada como envoltório contráctil quando em presença de água quente, a uns 80°C. É amplamente usado como envoltório contráctil para frango congelado, presunto e uma série de embutidos. Dada a sua baixa permeabilidade aos gases, é também utilizado para o envasamento a vácuo de produtos destinados a uma armazenagem mais prolongada, como queijos e outros (PARDI et al. 1996).

3.2. Vida útil de produtos cárneos

A vida útil de carnes e produtos cárneos pode ser definida como o tempo de armazenamento até a deterioração. O ponto de deterioração pode ser definido por análises microbiológicas até níveis definidos como máximos ou por análise sensorial. A vida útil depende do número de tipos de microrganismos, na sua maioria bactérias, inicialmente presentes e seu subsequente crescimento. Durante a estocagem, fatores ambientais como: temperatura, atmosfera gasosa, pH e NaCl irão selecionar um grupo determinado de bactérias e afetar sua taxa de crescimento e atividade (BORCH et al. 1996).

Segundo Franco & Landgraf (2003) os microrganismos deteriorantes são aqueles que promovem reações químicas nos alimentos, alterando suas características sensoriais, como cor, odor, sabor e aspecto. Nesse caso, os microrganismos irão utilizar os alimentos como substrato para seu desenvolvimento e multiplicação, incluindo as bactérias ácido-láticas (Ex.: *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas sp*). Já os microrganismos patogênicos são aqueles que irão causar riscos à saúde, geralmente estão ligados a condições de higiene inadequadas e não causam alterações sensoriais nos alimentos.

Bredholt et al. (2001) relataram que as bactérias ácido-láticas são consideradas microrganismos não patogênicos, seguros para o consumo e que já estão sendo utilizados em alimentos há vários anos. Apesar disto, algumas espécies heterofermentativas como os *Lactobacillus viridescens* podem produzir peróxidos que reagem com os pigmentos da carne e causam o esverdeamento. Contagens microbianas máximas em carnes cruas embaladas atingem níveis de 10^7 a 10^8 UFC/cm², após um período de estocagem variando de 5 a 10 semanas em condições de embalagem a vácuo e armazenadas em baixas temperaturas de refrigeração.

Dentre os fatores extrínsecos ligados aos alimentos, os microrganismos mesófilos são aqueles que se desenvolvem em uma faixa de temperatura de 25 a 40°C (temperatura ótima de crescimento), tolerando temperatura mínima de 5 a 25°C e máxima entre 40 e 50°C, e inclui os microrganismos patogênicos. Já grande parte dos microrganismos deteriorantes são psicrófilos, com temperatura viável de crescimento variando de 0 a 20°C e temperatura ótima de crescimento é de 10 e 15°C, e para os psicrotróficos, onde a temperatura ótima de crescimento é de 0 a 7°C. (FRANCO & LANDGRAF, 2003)

A contagem bacteriana de mesófilos, inicialmente, em carnes e em produtos cárneos processados, está em aproximadamente 10^2 a 10^3 UFC/g, consistindo em uma variedade grande de espécies (BORCH et al. 1996).

Somente 10% das bactérias inicialmente presentes podem crescer em temperaturas de refrigeração. Quando produtos cárneos são estocados sob refrigeração e em condições de microaerofilia, como em embalagens a vácuo ou em embalagens com atmosfera modificada, as bactérias ácido-láticas é que irão predominar no produto deteriorado. Como estes produtos, são aquecidos a uma temperatura entre 65-75°C, a maioria das células vegetativas é morta e a recontaminação pós-processamento é que vai determinar a vida útil dos mesmos (VERMEIREN et al. 2004; BORCH et al. 1996).

Autores como Borch et al. (1996) e Samelis et al. (2000) afirmam que as bactérias ácido-láticas compõem o maior grupo de bactérias associado com a deterioração de carnes cozidas e produtos cárneos embalados a vácuo (presunto) e estocados em temperaturas de refrigeração. Outros autores afirmam ainda que estas bactérias fazem parte da microflora natural de muitos produtos cárneos armazenados em temperaturas de refrigeração (HUGAS, 1998; BREDHOLT et al. 2001; FRANZ & HOLY, 1996), e que, segundo Egan (1983), irão causar alterações sensoriais tais como odores, cor esverdeada e a formação de limo superficial.

Na determinação da vida útil de produtos cárneos é comum o estudo de parâmetros microbiológicos (contagem total, contagem de *Lactobacillus*, enterobactérias, bolores e leveduras), químicos (acidez, índice de oxidação) e sensoriais (aroma, sabor, textura e aparência). Os produtos devem ser analisados no dia em que foram processados e, pelo menos três vezes durante a vida de prateleira projetada (EBURNE & PRETICE, 1996).

De acordo com Cayré et al. (1999), a competitividade das bactérias ácido-lácticas com o restante da microflora dos produtos cárneos cozidos e curados que foram embalados a vácuo contribui para a extensão da vida de prateleira dos mesmos. Por seu crescimento lento, a alteração do produto é retardada em comparação àquela produzida em condições aeróbias.

Alguns produtos cárneos apresentam maior probabilidade de deterioração, pois não possuem barreiras, tais como cortes frios fatiados e acondicionados a vácuo, presunto cozido e produtos embutidos, contra o crescimento de bactérias deteriorantes, apesar da pasteurização e armazenamento à baixa temperatura, esses precisam ser rapidamente consumidos (KRÖCHEL, 1999). Os produtos fatiados, de modo geral, são altamente perecíveis, pois apresentam teores de sal entre 2 a 4%, pH maior que 6,0 e nitrito residual abaixo de 100ppm (HOLLEY, 1997).

A alta pressão hidrostática (APH) representa um atrativo nos processos não térmicos para o processamento de carnes, especialmente com relação à contaminação pós-processamento (GARRIGA et al. 2002). No entanto, há poucos estudos até o momento utilizando esta tecnologia no aumento da vida útil de presunto fatiado.

3.3. Tecnologia de Alta Pressão Hidrostática (APH)

A alta pressão hidrostática (APH), como método para processar e conservar alimentos, é conhecida desde o século XIX. Entretanto, estudos relacionados com essa tecnologia foram intensificados somente na década de 80 (COSTA, DELIZA & ROSENTHAL, 1999; ARROYO & PRÉSTMO, 1996).

O processamento a alta pressão consiste em submeter o produto a níveis de pressões hidrostáticas bastante elevados (50 a 1000 MPa), bem acima daqueles normalmente empregados nos tratamentos convencionais (ZIMMERMAN & BERGMAN, 1993). Para estudos experimentais, os parâmetros de processo utilizados variam de 100MPa a 900MPa, em temperatura ambiente ou próxima desta. Já pressões entre 300MPa e 700MPa são comercialmente mais usadas e economicamente viáveis (SAN MARTÍN et al. 2002).

Para compreender os efeitos da APH é necessário conhecer dois princípios básicos: o princípio de *Lé Châtelier* e o princípio da pressão isostática. O primeiro é aquele no qual, qualquer fenômeno, transição de fase, mudança de conformação molecular ou reação química vem acompanhado por uma redução de volume e é favorecida pelo aumento de pressão, e vice-versa. No caso de uma reação, a pressão alterará o equilíbrio na direção do sistema de menor volume (CHEFTEL, 1995).

O segundo indica que a pressão é transmitida de uma forma uniforme e quase instantânea, através da amostra que está sendo submetida a este processo (BARBOSA-CÁNOVAS e RODRÍGUEZ, 2002).

No processamento isostático, o produto é embalado em garrafa ou bolsa plástica e colocado no interior do vaso de pressão (ou recipiente) para ser processado. Esse vaso contém um meio que transfere a pressão ao produto, geralmente água (daí a denominação “alta pressão hidrostática”), ou mais eventualmente outro líquido (SANGRONIS et al. 1997).

Experimentos demonstraram que podem ser utilizadas para acondicionamento dos produtos processados por alta pressão qualquer embalagem com flexibilidade suficiente para compensar a compressão do ar dentro dela e a redução do volume do alimento

(aproximadamente 12% a 400 MPa, ou até 15% em pressões acima de 500 MPa) (FARKAS e HOOVER, 2000).

Existem três tipos de processos básicos de tratamento de APH, com ou sem variação de temperatura (SANGRONIS et al. 1997; MERTENS & DEPLACE, 1993):

- ✓ Processos em que se aplicam de 50-600MPa e baixas temperaturas, denominados de alta pressão isostática a frio. Técnicas essencialmente usadas na indústria de metal, cerâmica, carbono-grafite e plásticos, alcançando maior aplicação na indústria de alimentos;
- ✓ Processos nos quais a pressão é aplicada em combinação com temperaturas, que variam entre 25 e 200°C, denominados de pressão isostática em média temperatura;
- ✓ Pressões em que se aplicam pressões de 100-400MPa em combinação com temperaturas que podem chegar a 2.200°C, denominados de pressão isostática em alta temperatura, processo aplicado às indústrias de metais e cerâmicas.

Os primeiros equipamentos desenvolvidos para a indústria de cerâmica sofreram modificações a fim de se adequarem à indústria de alimentos. O tempo de processamento foi aumentado, passando de 10 segundos a 1 minuto, para 5 a 10 minutos em pressões superiores a 400MPa (SANGRONIS et al. 1997).

O sistema de APH consiste de vaso de pressão, gerador de pressão, fluido condutor de pressão, dispositivo de controle de temperatura e recipiente para condicionamento do produto (CALDERÓN-MIRANDA et al. 1998). O vaso de pressão, cerne do sistema, em muitos casos é um cilindro monolítico construído em aço inoxidável de alta resistência à tensão. Determina-se a pressão máxima desse vaso pela pressão máxima de trabalho, diâmetro do vaso e o número de ciclos para o qual foi projetado (MERTENS, 1995). A Figura 1 representa o diagrama esquemático do equipamento de alta pressão hidrostática, segundo o diagrama esquemático de Buzrul et al. 2007.

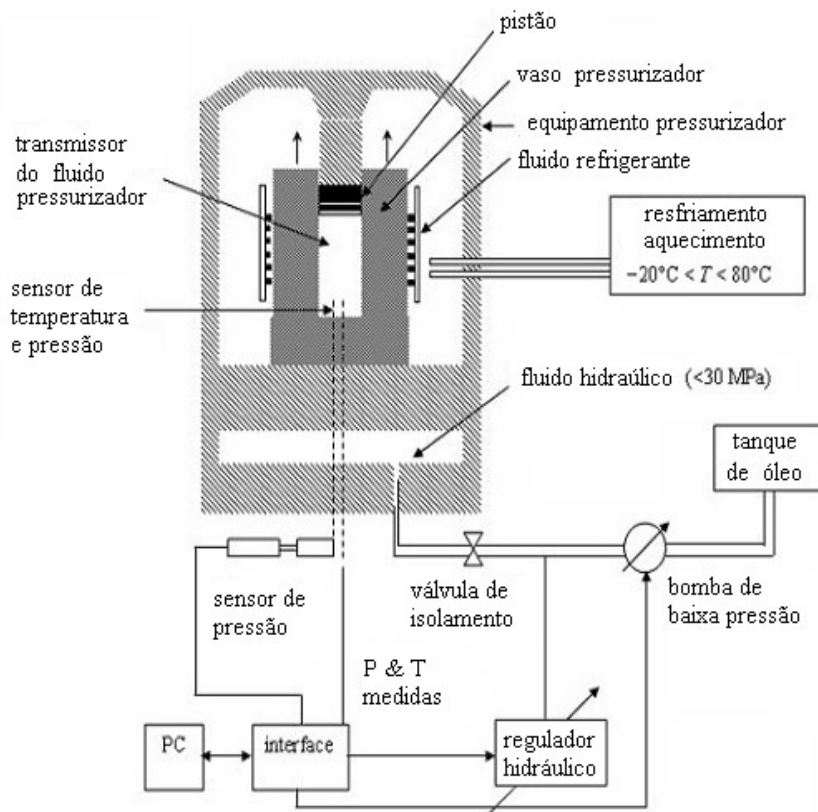


Figura 1. Diagrama esquemático do equipamento de alta pressão hidrostática (BUZRUL et al. 2007).

Antes da pressurização é necessário um tempo inicial, para que o equipamento atinja a pressão de trabalho (*come up time*). Em seguida, a pressão é mantida pelo tempo que foi programada e ao final do processo a pressão é equalizada à pressão ambiente, em apenas alguns segundos, a partir dos quais o alimento pode ser retirado (BARBOSA-CÁNOVAS & RODRÍGUEZ, 2002).

O alimento é acondicionado em embalagens flexíveis, inserido na câmara de pressão; a câmara é fechada e preenchida como meio de transmissão da pressão, eliminando todo o ar. O processo de pressurização é iniciado e ao final do ciclo a câmara é despressurizada (ZIMMERMAN & BERGMAN, 1993; FARKAS & HOOVER, 2000).

Produtos líquidos podem ser submetidos à pressão mediante sistema semicontínuo (fora da embalagem), constituído de três vasos de pressão e sistema de válvulas automáticas. Após o processamento, o produto é envasado assepticamente (CAMPOS et al. 2003).

Com a pressurização o alimento tem seu tamanho reduzido cerca de 15%, conforme já relatado, mas com a despressurização uma expansão equivalente ocorre. Por isso as embalagens utilizadas devem possuir capacidade de redução e da seguida expansão ao formato original, sem perda da integridade do material e da selagem utilizada (FARKAS & HOOVER, 2000).

O processamento utilizando o alimento embalado elimina qualquer risco de contaminação, com lubrificantes ou com qualquer outra parte mecânica do equipamento. Não é necessário a sanitização entre um produto e outro, eliminando qualquer possibilidade de contaminação do mesmo (CHEFTEL, 1995).

A energia mecânica de pressurização, dentro do recipiente, resulta em uma geração de calor moderada e temporária que é chamada de calor adiabático, onde a cada 100 MPa de pressão, a temperatura dentro do recipiente é aumentada de 3 a 6°C, dependendo do sistema, que pode variar conforme a natureza do produto, a temperatura do processo e a pressão aplicada (FARKAS & HOOVER, 2000; BUTZ & TAUSCHER, 2002; ANSTINE, 2003) Por exemplo, se o alimento contém uma quantidade significativa de gordura, o aumento da temperatura será maior.

A pressão protege o produto de danos excessivos de calor durante a pressurização. Fluidos típicos usados em recipientes de pressão para a esterilização de alimentos incluem, além da água, glicerol, álcool 70%, óleos comestíveis e emulsões aquosas de óleos comestíveis (MEYER et al. 2000).

Os primeiros estudos datam de 1899, quando Bert Hite (químico do *Agricultural Experiment Station, West Virginia, EUA*) observou que a vida útil do leite e de outros produtos poderia ser prolongada depois da pressurização (SAN MARTÍN et al. 2002). Hite mostrou que o leite cru poderia ser consumido em até quatro dias após o tratamento com 600MPa por 1 hora, à temperatura ambiente (FARKAS & HOOVER, 2000).

O grande interesse pelo processamento a alta pressão tem se desenvolvido desde 1985, quando seu potencial foi re-introduzido à indústria de alimentos. Isto aconteceu particularmente no Japão onde, em setembro de 1989, um consórcio japonês de 21 empresas foi formado com apoio financeiro do Ministério da Agricultura Japonês, originando a Associação Japonesa de Pesquisa e Desenvolvimento para Alta Pressão na Indústria de Alimentos. Em tentativas iniciais, obteve-se sucesso na adaptação da tecnologia da indústria cerâmica em aplicar altas pressões a uma gama de alimentos, como peixes e proteína do ovo (WILLIANS, 1994). Esses desenvolvimentos tecnológicos aumentaram as possibilidades de aplicação comercial na área alimentícia.

Uma grande variedade de produtos tratados por pressão foi elaborada no mercado japonês, incluindo preparados de frutas, bolinhos de arroz e lula crua. Desta forma, foi no século XX que se deu a introdução do tratamento de alta pressão no processamento de

alimentos em várias indústrias japonesas. As pressões envolvidas no processamento de alimentos são da ordem de 100 a 900 MPa, equivalente a 1000 a 9000 atmosferas (GRANT et al. 2000; SANGRONIS et al. 1997).

Em abril de 1990, o primeiro produto da alta pressão (uma geléia altamente ácida) foi apresentado para o mercado de varejo japonês por uma companhia chamada Meidi-ya e em 1991, sua produção foi estendida para incluir iogurtes, geléias de fruta, molhos de saladas, e molhos de frutas. Também em 1991, Pokka e Wakayama (ambos processadores japoneses de sucos de frutas) instalaram um sistema semi-contínuo de altas pressões para o tratamento de sucos cítricos, com taxa de produção de 6000 e 4000 litros por hora, respectivamente (WILLIAMS, 1994).

Os produtos alimentícios processados por alta pressão estão chegando aos mercados ao redor do mundo. A França foi o primeiro país na Comunidade Européia a ter estes produtos comercialmente disponíveis. Desde 1994, a *Ulti* tem usado o processo de alta pressão (400 MPa) para estender a vida útil de seus sucos cítricos frescos de 6 para 16 dias sob refrigeração. Isto reduziu problemas de logística de transporte, além de preservar o gosto e conteúdo de vitaminas do suco. Segundo relato de Donsí et al. (1996), o suco estabilizado pode ter uma vida-de-prateleira de pelo menos dois meses em condições refrigeradas (8°C), passando por análises microbiológicas periódicas. No momento do relato, a companhia *Ulti* possuía vários outros produtos em desenvolvimento, como patê de fígado, de pato e produtos de “*delicatessen*”. Antes que a comercialização seja definitivamente aprovada, deverão ser levadas em consideração análises físico-químicas, microbiológicas e de toxicidade.

Na Espanha o processamento a alta pressão está sendo aplicado a presunto fatiado e outros produtos cárneos. Estes são embalados em embalagens flexíveis que são usadas na unidade industrial de pasteurização a frio. São preservados o sabor e a textura de presunto fresco e a vida-de-prateleira é de 60 dias sob refrigeração (GRANT et al. 2000). O exemplo de uma companhia da Espanha que utiliza alta pressão é a *España S.A Company in Olot*.

San Martín et al. (2002) citaram que já está sendo comercializado na Espanha, presunto fatiado tratado sob alta pressão. Com o uso dessa tecnologia, a vida-de-prateleira do presunto pressurizado passou de 3 para 8 semanas.

Nos EUA, a primeira companhia a produzir alimentos processados sob alta pressão foi a *High Pressure Research*, localizado em Corvallis, Oregon. Sua pesquisa inclui ostras, salmão, iogurte, frutas e sucos de frutas com vida-de-prateleira de até 60 dias sob refrigeração. O guacamole processado por alta pressão, que é fabricado no México pela *Avomex* está disponível no mercado dos EUA (GRANT et al. 2000).

A esterilização a alta pressão pode também ser aplicada a pratos como macarrão, queijo, frango, “fettuccine” de salmão, “ravióli”, e “stroganoff de carne”, mantendo o sabor, textura e cor de alimento fresco (MEYER et al. 2000). Alguns exemplos de produtos tratados sob pressão comercialmente disponíveis estão citados na Tabela 1. (SÁN MARTÍN et al. 2002)

Os custos envolvidos na aquisição dos equipamentos e de processamento limitam o uso dessa tecnologia. Avanços têm sido realizados no desenho e construção desses equipamentos para tornar os custos de processamento mais competitivos em relação à esterilização e ao congelamento. Estima-se que, os custos para modificar a linha de processamento já existente e obter o produto sob alta pressão, estejam em torno de US\$ 0,0455/libras, considerando-se a depreciação do equipamento como sendo de 10 anos (MEYER et al. 2000).

Tabela 1. Relação de países e produtos disponíveis no comércio mundial, tratados por APH.

País (ano)	Produto	Processo	Embalagem	Vida útil	Observações
Espanha (1998)	Presunto cozido fatiado	400 MPa/10 min a 8°C	Vácuo ou com gases	2 meses	Sem alterações de cor ou sabor. Aumento da vida útil.
EUA (2001)	Presunto cozido fatiado e Presunto de Parma		Vácuo		Sem alterações de cor ou sabor. Destruição de <i>Listeria spp.</i> Aumento da vida útil.
EUA (2001)	Preparações culinárias de aves (prontas para servir)		Plásticos embalados com gases a vácuo		Sem alterações de cor ou sabor. Destruição de <i>Listeria spp.</i> Aumento da vida útil.
EUA (2002)	Frango temperado pré-cozido fatiado		Vácuo	21 dias	Sem alterações de cor ou sabor. Destruição de <i>Listeria spp.</i> Aumento da vida útil.
Espanha (2002)	Presunto em fatias finas, produtos de frango e peru.	500 MPa, 4 a 10 min a 8°C.	Vácuo	2 meses para produtos cozidos	Sem alterações de cor ou sabor. Destruição de <i>Listeria spp.</i> Aumento da vida útil com redução dos conservadores.
Itália (2003)	Presunto de Parma, Salame e Mortadela	600 MPa por 10 min a 7°C.	Vácuo		Sem alterações da cor ou sabor. Destruição de <i>Listeria spp.</i> Aumento da vida útil.
Japão (2005)	Salsicha, Bacon e Presunto	600 MPa por 5 min a 5°C	Vácuo	4 semanas	Aumento da vida útil.
Alemanha (2005)	Presunto alemão defumado: produtos inteiros e fatiados	600 MPa por 2min a 5°C.	Vácuo		Destruição de <i>Listeria spp.</i> Produtos para exportação para EUA. Aumento da vida útil.

Fonte: SAN MARTÍN et al. (2002).

3.3.1. Efeito da APH sobre microrganismos

Os primeiros estudos que avaliaram os efeitos da alta pressão hidrostática sobre os microrganismos foram realizados na França, por Certes, 1884, e nos Estados Unidos, por Hite entre 1899 e 1914. A partir de então, outros pesquisadores têm se dedicado ao estudo de APH em alimentos (CHEFTEL, 1995).

Uma melhor compreensão dos efeitos da pressão na célula é essencial para que o desenvolvimento de processos com aplicação de pressão sejam eficazes, e a elucidação dos aspectos do mecanismo de inativação microbiana induzida por pressão possa auxiliar na preservação dos alimentos (SMELT, 1998).

A aplicação da APH pode causar danos à fisiologia microbiana e à sua viabilidade, tanto danificando as células como inativando-as. Assim, exercem efeito direto sobre a segurança dos alimentos, podendo prolongar a sua vida-de-prateleira (LÓPEZ-CABALLERO et al. 2002).

O efeito da pressão sobre os microrganismos depende de fatores relacionados os próprios microrganismos (espécie, formato, esporulação, Gram, fase de crescimento e idade da cultura), com a natureza do meio (pH, composição do alimento ou meio de dispersão, presença de sais e/ ou nutrientes, atividade de água, força iônica e tipos de íons presentes) e com as variáveis de pressão (níveis de pressão, tempo e temperatura e tipo do tratamento – contínuo ou descontínuo) (SAN MARTÍN et al. 2002; HUGAS et al. 2002).

A morfologia das células dos microrganismos influencia na sua sensibilidade aos efeitos da pressão, sendo os bacilos mais sensíveis do que os cocos. A temperatura exerce importante papel na inativação microbiana durante o tratamento sob APH. A inativação microbiana é menor na temperatura ótima de crescimento e maior acima ou abaixo dessa. Assim, a combinação de alta pressão com temperaturas moderadas de tratamento podem

proporcionar excelente estabilidade microbiana (HUGAS et al. 2002; SHERRY et al. 2002). As formas vegetativas dos eucariontes, tais como os fungos e leveduras, são inativadas por pressões entre 200 e 300 MPa. Bactérias Gram positivas são mais resistentes ao calor e à pressão do que as bactérias Gram negativas.

As membranas biológicas têm sido identificadas como as mais afetadas pela pressão. As membranas são compostas por uma camada de fosfolipídios envolvidos por proteínas funcionais que (entre outras funções) exercem papel importante no transporte de íons e outras substâncias para as células (SAN MARTÍN et al. 2002).

Segundo Hugas et al. (2002) e Cheftel (1995), a inativação dos microrganismos pela APH é, provavelmente, o resultado de diversos fatores, onde a APH não inibe ou destrói um local específico da célula ou exerce uma única função celular, mas ocasiona a morte da célula pelo acúmulo de danos dentro da mesma. A membrana celular é o primeiro alvo dos danos causados pelas altas pressões, principalmente pelo efeito de cristalização dos fosfolipídios, alterando sua permeabilidade. Outras funções celulares sensíveis aos efeitos da pressão envolvem a troca de íons, a composição de ácidos graxos, a morfologia dos ribossomos, a desnaturação protéica, a atividade enzimática, a replicação do DNA, a compressão do vacúolo.

Hoover et al. (1989) relatam que as causas da inativação microbiana são ainda pouco compreendidas. Várias mudanças morfológicas são observadas com o aumento da pressão: compressão de vacúolos gasosos, alongamento da célula, separação da membrana da parede celular, contração da parede celular com a formação de poros, modificações no núcleo e em organelas intracelulares, acima 400 MPa (1MPa = 10bar). No caso de *Sacharomyces*, a coagulação de proteínas citoplasmáticas, vai liberar constituintes intracelulares (especialmente os de origem nuclear) para fora da célula, entre outros (CHEFTEL, 1995).

Um nível de pressão elevado, geralmente leva ao aumento da inativação dos microrganismos, entretanto, o aumento da duração do tratamento de alta pressão não potencializa necessariamente seu efeito letal. Em geral, as células bacterianas vegetativas, podem ser inativadas em pressões entre 400 e 600MPa, enquanto que os esporos (forma de resistência), podem suportar até 1000MPa em temperatura ambiente (PALOU et al. 1990).

Segundo Chiavaro e Bonardi (1999), a Tabela 2 apresenta dados sobre as condições de pressão para inativação de alguns microrganismos.

Tabela 2. Pressão necessária para inativação de microrganismos.

Microrganismo	Pressão (MPa)
Bactérias Gram negativas	300
Bactérias Gram positivas não esporuladas	400-600
Leveduras e fungos não termorresistentes	400
Esporos de bactérias Gram positivas	700-800 <i>Bacillus spp</i> e 900 <i>Clostridium spp</i>
Esporos de fungos termorresistentes	700-800

Fonte: CHIAVARO e BONARDI (1999).

Vários estudos relatam que dependendo do tipo de microrganismo e do nível de pressão aplicado, algumas células bacterianas sobrevivem ao processamento e outras são inativadas ou sofrem diferentes níveis de injúria (BOZOGLU; ALPAS & KALETUNÇ, 2004). A incompleta inativação dos microrganismos por APH pode resultar em células injuriadas com capacidade de recuperação em condições ótimas de crescimento durante o armazenamento (FDA, 2007).

A recuperação dos microrganismos é importante para alimentos com baixa acidez tratados por APH, uma vez que se pode subestimar a segurança desses durante a estocagem. Por outro lado em alimentos que são muito ácidos, a injúria usualmente não pode ser reparada (BOZOGLU et al. 2004).

Segundo Paterson et al. (1995), o tratamento a alta pressão não inativa completamente microrganismos e uma pequena proporção da população sofre injúria, sendo que a recuperação das células injuriadas vai depender das condições após o tratamento.

Um dos desafios na preservação dos alimentos por APH é a inativação de esporos bacterianos, uma vez que são muito resistentes (LECHOWIC, 1993). Tal resistência é creditada à estrutura e espessura da capa protetora dos esporos, considerando que suas proteínas são protegidas pelo ácido dipicolínico que impede a solvatação, a excessiva ionização e a conseqüente precipitação das mesmas. SANGRONIS et al. (1997) relatam que, a aplicação de APH, pode não ser suficiente para inativar os esporos, por isso tem sido empregada em combinação com temperaturas mais elevadas. A inativação dos esporos requer como alternativa a germinação prévia, obtida mediante aplicação de níveis de pressão menores que os utilizados no processamento propriamente dito. Posteriormente, o alimento é submetido a pressões mais elevadas para inativação das células vegetativas (COSTA; DELIZA & ROSENTHAL, 1999).

A cinética de inativação de microrganismos pelo calor tem sido extensivamente pesquisada, mas são limitados os estudos à cinética de inativação por APH, especialmente em condições de aplicação simultânea de alta pressão e outras técnicas de processamento (BUZRUL et al. 2004).

As cinéticas de inativação por alta pressão são significativamente diferentes da térmica e de outros métodos de processamento de alimentos. Por exemplo, um número pequeno, mas significativo de microrganismos pode sobreviver ao tratamento de alta pressão. A estabilidade microbiana de alimentos tratados com pressão é outra consideração importante, predições precisas de vida de prateleira são necessárias comercialmente (GRANT et al. 2000).

A temperatura durante o tratamento pode exercer diferentes efeitos sobre a inativação de células microbianas. Alguns autores relataram maior resistência de células endógenas, ou inoculadas, quando submetidas à pressão, em temperatura entre 15 e 30°C. Já a resistência decresce significativamente, abaixo ou acima dessa faixa de temperatura (CHEFTEL, 1995; CARLEZ, ROSEC e CHEFTEL, 1993; SMELT e RIJKE, 1992).

Alpas et al. (1999) mostraram que a combinação de pressão de 345 MPa com temperatura de 50°C pode ser usada na inativação de algumas estirpes de *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7 e *Salmonella* com redução de mais de 6 ciclos logarítmicos.

Chen e Hoover (2003) relataram inativação de 8 ciclos logarítmicos de *Listeria monocytogenes* Scott A inoculada em leite UHT, submetido a 500MPa por 5 minutos a 50°C. Para alcançar esse mesmo grau de inativação a 22°C, sob o mesmo nível de pressão, foram necessários 35 minutos de tratamento.

Shigehisa et al.(1991) observaram a destruição completa de *Salmonella typhimurium* a 300 MPa após 10 min a 25°C. Carlez et al. (1993) observaram que *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas fluorescens*, e *Listeria innocua* foram completamente inativadas sob pressões maiores que 280, 200 e 400 MPa, respectivamente, a 20°C.

Dogman e Erkmen (2003) mostraram que a sensibilidade de *Escherichia coli* inoculada em meio de cultura e submetida a APH foi maior com a elevação do nível de pressão do que com o aumento do tempo de exposição ao tratamento. Entretanto, não existe relação proporcional entre o aumento do nível de pressão e a redução da população microbiana.

Kalchayanand et al. (1998) sugeriram que a pressurização por longo tempo com baixo nível de pressão, utilizado para amenizar efeitos adversos na textura e cor dos alimentos, pode não ser vantajosa para inativação microbiana.

Alpas e Bozoglu (2003) demonstraram que o tratamento com 350MPa a 40°C apresentou grande potencial de inativação de *Listeria monocytogenes* CA inoculada em

diferentes sucos de frutas. Em outro estudo, foi observado que o tratamento com 615MPa, 2 minutos e 15°C, exerceu efeito potencial na inativação de estirpes de *Escherichia coli* O157:H7 e espécies de *Salmonella* inoculadas em sucos de uva, laranja e cenoura.

Dogman e Erkman (2004) analisaram a cinética de inativação por APH de *Listeria monocytogenes* em meio de cultura, leite fresco e em sucos de laranja e de pêssego. Demonstraram que o logaritmo do número de células reduziu-se linearmente com o tempo do tratamento, indicando cinética de primeira ordem. A bactéria foi inativada mais rapidamente com o aumento do nível de pressão. Esses mesmos autores mostraram que a *Escherichia coli* inoculada em meio de cultura e nos mesmos alimentos também obedeceu à cinética de primeira ordem em níveis de pressão entre 300-700 MPa.

A sensibilidade dos microrganismos a alta pressão depende do meio em que se encontram. Microrganismos classificados como sensíveis a APH (mediante estudos com tampões) podem ser resistentes a esse tratamento, quando presentes em alimentos (GARCIA-GRAELLS, MASSERALEK & MICHIELIS, 1999). Os constituintes dos alimentos e dos meios enriquecidos parecem proteger os microrganismos do efeito da APH, enquanto que soluções não nutritivas parecem reduzir a barotolerância dos microrganismos (DOGMAN e ERKMAN, 2003; PALOU et al. 1998).

Patterson et al. (1995) sugeriram que proteínas, vitaminas e carboidratos fornecem proteção às células microbianas.

Préstamo et al. (1999) relataram que o nível de pressão para inativar *Listeria monocytogenes* inoculado em geléia de maçã ou ameixa não foi maior do que em meio de cultura. Dogman e Erkman (2004) relataram que o tratamento com APH foi menos efetivo sobre *Listeria monocytogenes* e bactérias aeróbias em leite do que em meio de cultura e sucos de frutas e sugeriram que o teor de proteínas e lipídeos no leite aumenta a resistência das bactérias ao tratamento.

Solomon e Hoover (2004) investigaram a resposta ao tratamento com APH de *Campylobacter jejuni* ATCC 35919 e 35921 inoculados em meio de cultura, tampão fosfato e alguns alimentos (leite, extrato solúvel de soja e purê de galinha) e observaram que os alimentos oferecem efeito protetor aos microrganismos e que foi necessário um nível de pressão adicional de 50 a 75 MPa para atingir a inativação similar à obtida em meio de cultura e fosfato.

A idade das células microbianas influencia na sua taxa de inativação por APH (SAN-MARTÍN, BARBOSA-CÁNOVAS & SWANSON, 2002). Microrganismos em fase de crescimento logarítmico são mais sensíveis à APH. De acordo com Palou et al. (1998), isto provavelmente se deve ao fato dos microrganismos na fase estacionária apresentarem tamanho pequeno e esférico em comparação com a forma alongada que assumem durante crescimento logarítmico.

Alpas et al. (1999), relataram que algumas estirpes de microrganismos patogênicos são mais resistentes a APH do que outras da mesma espécie e estudaram a resistência de estirpes de quatro patógenos veiculados por alimentos (*Staphylococcus aureus* 485 e 765, *Listeria monocytogenes* CA e OH₂, *Escherichia coli* O157:H7 933 e 931, *Salmonella enteritidis* FDA e *Salmonella typhimurium* E21274). Mostraram que *S. aureus* 484, *L. monocytogenes* CA, *E. coli* O157:H7 933 e *S. enteritidis* FDA foram mais resistentes à pressão do que outras estirpes da mesma espécie. Embora Cheftel (1995) mencione que a flora endógena é mais resistente à APH do que os outros microrganismos inoculados no alimento.

Outros autores sugeriram padrão de inativação com ocorrência de duas fases, na primeira a população de microrganismos é inativada mais rapidamente e na segunda os microrganismos apresentam alta resistência à pressão (SOLOMON e HOOVER, 2004).

Na indústria de alimentos, os valores D (taxa decimal de inativação) e Z (constante de resistência) são freqüentemente usados como constantes na cinética de inativação (DOGMAN

e ERKMAN, 2004). Esses parâmetros são análogos aos usados em termobacteriologia, em que D é o tempo necessário ao tratamento em determinada pressão para reduzir em um ciclo logarítmico a população de microrganismos. Já o valor Z corresponde ao aumento necessário na pressão de tratamento para reduzir em um ciclo logarítmico o valor de D (PARISH, 1998).

A Tabela 3 apresenta uma comparação de resistência à pressão hidrostática de alguns microrganismos de interesse em alimentos (CAMPOS et al. 2003).

Tabela 3. Comparação da resistência à alta pressão hidrostática entre microrganismos.

Microrganismos	APH MPa	D (min)	T (°C)	Substrato
<i>Clostridium pasteurianum</i>	700	2,4	60	n.i.
<i>Clostridium pasteurianum</i>	800	3,4	60	n.i.
<i>Citrobacter freundii</i>	230	14,7	20	n.i.
<i>Listeria monocytogenes</i> ¹	414	2,17	25	n.i.
<i>Salmonella senftenberg</i>	414	1,48	2	n.i.
<i>Listeria innocua</i> ²	400	3,12	2	n.i.
<i>Listeria innocua</i> ²	400	4	25	n.i.
<i>Staphylococcus aureus</i> ³	200	211,8	20	n.i.
<i>Staphylococcus aureus</i> ³	250	15	20	n.i.
<i>Staphylococcus aureus</i> ^a	300	3,7	20	n.i.
<i>Staphylococcus aureus</i> ^a	350	2,6	20	n.i.
<i>Listeria innocua</i>	400	7,35	2	n.i.
<i>Listeria innocua</i>	400	8,23	20	n.i.
<i>Listeria monocytogenes</i> ¹	150	84,4	4	Leite cru
<i>Listeria monocytogenes</i> ¹	250	46,0	4	Leite cru
<i>Listeria monocytogenes</i> ¹	300	26,6	4	Leite cru
<i>Listeria monocytogenes</i> ¹	350	13,9	4	Leite cru
<i>Sacharomyces cerevisiae</i>	350	0,64*	n.i.	Suco de laranja
<i>Sacharomyces cerevisiae</i>	500	0,02*	n.i.	Suco de laranja
<i>Sacharomyces cerevisiae</i> ³	350	1,27**	n.i.	Suco de laranja
<i>Sacharomyces cerevisiae</i> ⁴	500	0,07*	n.i.	Suco de laranja

Observações: ¹Scott A, ²910CECT, ³ATCC 27690, ⁴ascósporos, * z = 106MPa, ** z = 123 MPa, n.i. = não informado, ^a apud CAMPOS et al. (2003).

3.3.2. Efeito da APH sobre características físico-químicas

3.3.2.1 pH

A influência do pH, sobre a sobrevivência de microrganismos submetidos a APH foi demonstrado pelo trabalho de Garcia-Graells et al. (1998) onde estirpes de *E. coli* C9490 foram submetidas a pressões de 100, 200, 300, 400, 500, e 600 MPa durante 10 minutos em pH 7,0, em solução salina tampão de fosfato (PBS). Após os tratamentos, as células foram transferidas para pH 3,5 em caldo triptona de soja e armazenadas a 37 ° C durante 3 horas. As células tratadas a pressões de 200 MPa e abaixo, não revelaram perda de viabilidade. Células tratadas com 300 a 600 MPa apresentavam viabilidade afetada. Estudos mostraram que células foram inativadas a pH 4,5 ou inferior.

Linton (1999) mostrou que o pH exerce um forte efeito sobre as taxas de inativação da *Escherichia coli* O157-H:7. Com a queda do pH, a maioria da população torna-se mais susceptível à APH, devido a injúria provocada nas células microbianas. Estas observações indicam que pH e a atividade de água são fatores cruciais no processo de inativação de microrganismos de importância para saúde pública.

De acordo com testes realizados por Kajiyama et al. (1995) o extrato de soja mudou do estado líquido para sólido após o tratamento a 500 MPa por 30 minutos. Quando submetido a pressões menores ou iguais a 500 MPa, por 10 minutos, o extrato de soja permaneceu em

estado líquido e melhorou sua estabilidade. Entretanto, ocorreu redução na sua capacidade emulsificante. A solubilidade protéica foi afetada pelo tratamento sob pressão, mudando o ponto isoelétrico de pH 4,1 a 4,3 para 4,5 a 4,7.

3.3.2.2. Lipídeos

Fatores como desossa mecânica, fatiamento, moagem, trituração e emulsificação de carnes, provocam rompimento de células e organelas que resulta na liberação de ferro, cobre, outros metais de transição e enzimas (DAWSON & GARTNER, 1983; DONNELLY & ROBINSON, 1995). O tratamento térmico, que constitui um procedimento, normalmente utilizado pela indústria, tem como objetivo limitar a microbiota do produto, facilitar o consumidor que utiliza produtos semi-prontos e/ou conferir características sensoriais aos alimentos. (GRAY & MORTON, 1981; HALLIELL, 1994; FERRARI, 1998a).

A oxidação dos lipídeos é um dos problemas que causam deteriorações no aroma e a diminuição na vida útil das carnes e dos produtos cárneos. A oxidação de uma pequena quantidade de gordura é suficiente para que o consumidor detecte aroma e sabor associados à alteração e rejeite o alimento, especialmente produtos cárneos. A exclusão do oxigênio, baixas temperaturas e/ou uso de antioxidantes são necessários para controlar a oxidação. O fenômeno da oxidação também é extremamente dependente do teor de umidade do alimento (WICK et al. 2001)

Cheach & Ledward (1996) avaliaram a oxidação lipídica em carne de porco tratada com alta pressão. Verificaram que pressões de até 200 MPa não aumentou a extensão da oxidação lipídica (indica pelo número de TBA), durante os 4 dias de estocagem a 4°C. Entretanto, verificaram que houve um aumento acentuado no número de TBA a 400 MPa e acima desta pressão. Verificaram também que o cozimento associado à alta pressão em carne de porco aumentou o número de TBA.

Os mesmos autores citados no parágrafo acima estudaram os efeitos da APH na oxidação lipídica em amostras de carne suína moída tratadas com 800 MPa/20 min, a 20°C, comparando com amostras cozidas a 80°C. Ambas as amostras foram armazenadas por 8 dias, a 4°C. Os autores observaram que nas amostras pressurizadas a oxidação lipídica ocorreu mais rápido do que nas amostras controles. Entretanto, um aumento significativo na taxa de oxidação da carne suína moída foi observado em pressões maiores que 300 MPa.

Tuboy et al. (2003), em experimentos com carne mecanicamente separada de peru submetida a 200MPa por 20 minutos para as carnes resfriadas, e 400MPa e 20 minutos para as carnes congeladas, em armazenamento de 15 dias e 8 meses respectivamente, observaram o aumento de TBA em ambas as situações para os produtos pressurizados.

3.3.2.3. Proteínas miofibrilares

Nas décadas de 60 e 70, a APH passou a ser utilizada mais extensamente ao estudo de proteínas e a desnaturação reversível por APH foi observada para várias proteínas monoméricas, como a ribonuclease A e a mioglobina, e desde então a APH tem sido usada como uma ferramenta capaz de dissociar diversas proteínas (FOGUEL, 1993).

Vários estudos bioquímicos sugerem que pressões acima de 200 MPa geralmente causam, em temperatura ambiente: a dissociação de estruturas oligoméricas em suas sub-unidades; abertura parcial e deconformação das estruturas monoméricas (em muitos casos irreversíveis); e a e gelatinização das proteínas, sempre que a pressão e a concentração de proteínas sejam altamente suficientes (CHEFTEL, 1997; HEREMANS et al. 1997).

Quando expostas às condições de alta temperatura, pH extremos, APH, etc, as proteínas podem desenovelar-se e perderem parcialmente sua estrutura e ação. A APH age ao

forçar a entrada de água no cerne protéico, o que resulta na quebra das interações fracas e, conseqüentemente, o desenovelamento protéico (CREIGHTON, 1987, apud PALMIERI, 2005).

Em geral, na faixa de 700 MPa, a pressão causa o rompimento de ligações não covalentes, principais responsáveis pela manutenção da estrutura nativa de uma proteína. As interações hidrofóbicas são as ligações mais fracas envolvidas na estabilidade de proteínas, de micelas e de lipídeos. Ligações iônicas são rompidas pela pressão e a ionização de sais, ácidos e bases e a auto-ionização da água sofrem aumento sobre pressão. Ácidos nucleicos e açúcares são resistentes à pressão por que a sua estrutura é principalmente estabilizada por pontes de hidrogênio, que não são afetadas drasticamente pela pressão por serem ligações muito fortes (SILVA & WEBER, 1993; SUAREZ, 1995; apud CAMARGO, 2002).

Segundo Keim e Hinrichs (2004), a formação de gel nas proteínas é o resultado de dois processos: deconformação parcial das cadeias laterais reativas dos grupos de proteínas e agregação dessas proteínas em uma dimensão de redes de proteínas com estruturas menores.

Segundo Molina-Garcia (2002), apud Slongo (2008) as proteínas citoplasmáticas também podem sofrer os efeitos da APH, e pressões de 20-40 MPa já são suficientes para provocar importantes modificações conformacionais, capazes de levar a alterações na funcionalidade e na interação das proteínas. O autor relatou ainda que isso ocorreu devido à reorganização da camada de hidratação das proteínas, quando submetidas à pressurização e despressurização.

Segundo Paladini & Weber, 1988 apud Gaspar 2000, tem sido observado que no processo de pressurização e despressurização de várias proteínas existe uma histerese substancial entre as curvas de compressão e descompressão, e isto sugere a formação de estruturas defectivas que vagarosamente voltam (relaxam) para sua conformação nativa. Estes autores realçaram, ainda, que essa derivação conformacional dependerá do número de subunidades e da complexidade das interações presentes nos oligômeros e pode ser evidenciada, por exemplo, através de mudanças na atividade enzimática de algumas proteínas.

Estudos recentes foram realizados para verificar as mudanças na actina, miosina e actomiosina depois do tratamento com alta pressão. A despolimerização, acompanhada de uma redução do volume do alimento cárneo exposto (verificado pela liberação de água) foi o principal efeito observado (GHOSH et al. 2001, apud Slongo, 2008).

Segundo Silva et al. (1993), a pressão força a inserção de moléculas de água entre domínios hidrofóbicos ou eletricamente carregados de maneira a promover uma redução do volume ocupado pela molécula, e este fenômeno leva ao enfraquecimento de interações iônicas e hidrofóbicas, tanto entre complexos protéicos quanto na estrutura da própria proteína.

Ricards (1979), apud Slongo (2008) mostrou, através de estudos cristalográficos, que embora as proteínas estejam altamente enoveladas, em seu interior existem “espaços vazios”, são formados pela impossibilidade de se satisfazer à distância mínima entre os átomos. Este fato explica porque a forma nativa das proteínas ocupa um volume maior do que o estado desenovelado. Desta forma, de acordo com o princípio de *Le Chatelier*, a aplicação de pressão desloca o equilíbrio no sentido da diminuição do volume, ou seja, passa para o estado dissociado.

A hipótese mais aceita para explicar porque as altas pressões favorecem a dissociação de proteínas pressupõe também a existência de espaços mortos no interior das mesmas, que se originam em decorrência da impossibilidade de que todos os resíduos de aminoácidos assumam os mínimos de distância intermoleculares possíveis (FOGUEL, 1993).

Quando a proteína se desenovela, o sistema proteína-solvente sofre contração de volume devido ao empacotamento dos resíduos de aminoácidos pela molécula do solvente.

Dessa forma, o que se supõe é que, sob pressão, a água infiltra na proteína, onde as ligações fracas são desestabilizadas (FOGUEL, 1993).

Muitos autores afirmam que diferentes níveis de pressão, assim como diferentes níveis de temperatura e tempos de aplicação de pressão, irão proporcionar diferentes mudanças, dependendo do alimento que está sendo exposto à pressão e a composição deste (GRANT et al. 2000).

3.3.3. Aplicação da APH a Produtos cárneos

3.3.3.1. Carne Refrigerada/Congelada

Em pesquisa realizada em carne de porco homogeneizada, tratadas com 400 MPa a 25°C, por 10 minutos Shigehisa et al. (1991) verificaram uma redução de 6 ciclos log na população de *E.coli*, *Campylobacter jejuni*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Yersinia enterocolitica*, *Saccharomyces cereviae* e *Candida utilis* inoculadas com um nível de 10^6 - 10^7 UFC/g.

O'Brien & Marshall (1996) relataram que o tempo de estocagem refrigerada de carne de frango picada foi estendido, significativamente, com o tratamento a alta pressão, na faixa de 400 a 900 MPa, por um tempo de 10 minutos, a uma faixa de temperatura de 14 a 28°C, e a deterioração microbiana foi atingida após 27, 70 e 98 dias de estocagem, com pressurização a 408, 616 e 888 MPa, respectivamente, a 4°C.

Carlez et al. (1994) armazenaram amostras de carne moída pressurizada e estocada por 16 - 23 dias a 3°C. Bactérias gram-negativas foram mais sensíveis a APH do que as gram-positivas. A inibição total dos microrganismos ocorreu a 400 - 450 MPa. No entanto, *Pseudomonas sp* foram detectadas após 3 - 9 dias a 3°C, o que significa que elas não foram completamente inativadas pelo estresse da pressão aplicada. Estes resultados sugerem que a APH poderia ser associada com outro tratamento (ex: temperatura moderada de 50°C) para eliminar *Pseudomonas sp* viáveis.

Linton et al. (2004) realizaram estudos com frangos em pedaços que foram empacotados a vácuo e depois tratados a pressão de 500 MPa, por 15 minutos a 40°C, e estocados a 3°C. Os autores verificaram que a contagem em placa para aeróbios e psicrotróficos e anaeróbios aumentou rapidamente durante a estocagem e chegando a 10^7 UFC/g, após aproximadamente 8 dias a 3°C, em amostras não tratadas. Entretanto, amostras tratadas com alta pressão não tiveram aumento significativo, durante os 182 dias de estocagem a 3°C.

Deuchi & Hayashi (1992) estudaram a aplicação da alta pressão em temperaturas abaixo de zero objetivando a preservação, congelamento rápido e descongelamento rápido dos alimentos. Eles armazenaram alimentos *in-natura* congelados a temperaturas entre -5 a -20°C com aplicações de pressão entre 50 a 200 MPa por algumas semanas. Os resultados observados foram que a carne suína crua não exudou e a maioria dos microrganismos como coliformes, *Enterobacteriaceae*, psicrotróficos, gram-negativos, gram-positivos, enterococcus e bactérias ácido-lácticas foram reduzidas e a atividade enzimática foi praticamente prevenida. Os resultados demonstraram que os alimentos armazenados sob pressões moderadas em temperaturas abaixo de zero preservaram as características naturais dos alimentos, sem esporulação ou danos microbianos.

3.3.3.2. Carne mecanicamente separada (CMS)

Tuboy et al. (2003) trataram carne de peru mecanicamente separada (resfriada e congelada) sob APH. Na carne resfriada foi aplicada pressão de 200 MPa por 20 minutos e

realizado acompanhamento do produto por 15 dias. Na carne congelada foi aplicado 400 MPa por 20 minutos e seguido de congelamento (-20°C), o acompanhamento da vida-de-prateleira foi por 8 meses. Os produtos foram submetidos a análises microbiológicas (contagem total e enterobactérias), oxidação de lipídios (TBA) e concentração dos produtos da oxidação de colesterol (cromatografia e métodos enzimáticos). Foi observada redução significativa no número de células viáveis, principalmente para o produto refrigerado. Foi observado também o aumento nos valores de TBA, bem como formação de compostos de oxidação do colesterol nos dois produtos.

Estudos envolvendo alta pressão em carne de frango mecanicamente separada inoculada com *Listeria innocua* 910 CECT foram realizados por Yuste et al. (1999). Nesta pesquisa, os autores trabalharam com amostras embaladas a vácuo que foram submetidas a diferentes combinações de pressões (350, 400, 450 e 500 MPa), tempo (5, 10, 15 e 30 minutos) e temperaturas (2, 10, e 20°C), sendo o produto estocado a 2°C por 2 meses. Os autores determinaram a contagem de *L. innocua* e mesófilos aeróbios a 1, 4, 7, 15, 30 e 60 dias após a pressurização e verificaram, ao final, que a pressurização reduziu significativamente o número de mesófilos. Verificaram, ainda, que a alta pressão causou um notável efeito bactericida para *L. innocua*, onde reduções mais altas que 7,5 log foram atingidas em alguns casos. Algumas células foram sub-letalmente injuriadas pela pressão. Amostras tratadas a 500 MPa por 30 minutos a 2°C tiveram a contagem de 2,3 log unidades depois de 60 dias de estocagem a frio. Os autores concluíram que o processo de alta pressão melhorou a qualidade microbiológica de carnes de frango mecanicamente separadas.

3.3.3.3. Produtos de Salsicharia

Garriga et al. (2004), em estudo realizado com presunto cozido e presunto curado, avaliaram o comportamento de diferentes microrganismos patogênicos em tratamento a alta pressão a 600 MPa, por 6 minutos, a 31°C durante a estocagem a 4°C, por 120 dias. Estes autores verificaram que o tratamento foi eficiente para prevenção do crescimento de leveduras e enterobacteriaceae e afetou o crescimento de bactérias ácido-lácticas, assim como a esporulação de alguns microrganismos. Constataram, ainda, que a alta pressão reduziu os riscos associados com *Salmonella sp* e *Listeria monocytogenes*. Com relação às bactérias ácido-lácticas, principalmente provenientes de contaminação cruzada durante o fatiamento e a embalagem, estas cresceram rapidamente em 30 dias até 108 UFC/g em todas as amostras não tratadas, enquanto que amostras tratadas a alta pressão mostraram um retardamento significativo no crescimento de deteriorantes (120 dias). Os autores observaram que o tratamento a alta pressão ajudou a prevenir mudanças de coloração, e que a composição do alimento é, talvez, um dos fatores-chave que influenciam o efeito conservador do tratamento a alta pressão.

López-Caballero et al. (1999) estudaram o efeito da alta pressão hidrostática (200 e 400 MPa, 5 e 20 minutos, 7°C) sobre a qualidade microbiológica e propriedades de ligação de água em presunto cozido fatiado e embalado a vácuo, acompanhando sua vida-de-prateleira durante estocagem a 2°C. A pressurização provocou maiores efeitos quando foram utilizados altos níveis de pressão e maior tempo de processamento. A contagem total e de bactérias lácticas mostraram-se bastante reduzidas, não sendo detectado crescimento de enterobactérias em meio *Baird Parker Microbiota* ou *Brochothrix thermosphacta* quando o produto foi submetido a 400 MPa por 20 minutos, em nenhum momento do armazenamento do produto.

Carpi et al. (1999) relataram um aumento na vida de prateleira de presunto cozido fatiado tratado a 600 MPa, por 5 minutos, de até 75 dias armazenados a 4°C. Os resultados atingidos por López-Caballero et al. (1999) com o mesmo tipo de produto, mas tratado a pressões menores não atingiu o mesmo grau de inativação e a vida-de-prateleira máxima

obtida a 3°C foi de 21 dias, para presunto cozido fatiado e tratado a alta pressão (400 MPa por 20 minutos). Esses resultados estão de acordo com o fato de que a vida-de-prateleira está geralmente relacionada ao nível de pressão aplicada.

De acordo com HUGAS (1998) os presuntos são altamente sensíveis à deterioração microbiana devido as suas propriedades como: atividade de água, pH e nutrientes. As bactérias ácido-láticas constituem uma parte da flora inicial a qual se desenvolve facilmente após o presunto ser processado, estocado a baixas temperaturas, embalados sob vácuo ou sob atmosfera modificada. Os metabólitos produzidos pelas bactérias ácido-láticas e as bactérias em si têm sua importância na preservação dos alimentos, apesar de que o crescimento incontrolável de algumas espécies de bactérias lácticas pode causar deterioração em presuntos.

Mor-Mur & Yuste (2003) aplicaram 500 MPa em salsichas que foram cozidas e empacotadas a vácuo e submetidas ao tratamento de pressão por um tempo de 5 a 15 minutos, e uma temperatura de processo de 65°C. Os autores avaliaram a cor, textura e rendimento das amostras e compararam estes resultados com os obtidos em amostras tratadas no processo convencional de pasteurização (80-85°C por 40 minutos). Não foram verificadas mudanças no aspecto da coloração. As salsichas pressurizadas ficaram menos firmes que as tratadas por tratamento térmico, e que o tratamento de pressão induziu maiores mudanças que o tratamento térmico. Nas análises sensoriais, os autores não verificaram, em alguns casos, diferenças entre os dois processos e, quando havia diferenças, as amostras pressurizadas foram preferidas por causa da sua aparência, gosto e, especialmente, textura, que se apresentaram melhores. Em relação ao rendimento verificaram que a perda de peso foi muito mais elevada em salsichas tratadas pelo calor que em salsichas pressurizadas. Ao final, os autores concluíram que, as diferenças entre bateladas do mesmo produto são devidas, principalmente, às variações ocorridas no cozimento industrial, e que o processo de alta pressão é recomendável na produção em grande escala. Estes autores verificaram ainda que, para carne fresca de aves domésticas e produtos derivados, as modificações da cor ocasionadas pela pressão, dependem extremamente das condições do tratamento, ou seja; da pressão, tempo e temperatura do processo.

Lingüiças de carne suína inoculadas com três cepas de *Listeria monocytogenes* (10^7 UFC/g) foram submetidas a pressões de 414 e 552 MPa, em temperaturas de 25 e 50°C e intervalos de tempo de 2, 4, 6, 8 e 10 minutos. Significativa redução na contagem de *Listeria monocytogenes* foi verificada à pressão de 414 MPa a 50°C por 2 minutos. Tal condição mostrou também completa inativação dos microrganismos presentes na lingüiça de porco fresca e mudanças mínimas na sua qualidade sensorial.

López-Caballero et al. (2002) estudaram o efeito do tratamento sob APH (300 MPa, 15 minutos) e da temperatura (5, 20, 35 e 50°C) sobre a inativação de microrganismos (contagem total, bactérias lácticas, *Pseudomonas* sp. e enterobactéria) em presunto cozido fatiado e pedaços de carne suína. A redução da carga microbiana mostrou-se maior nos pedaços de carne fatiada. As bactérias Gram-negativas revelaram maior sensibilidade ao tratamento sob pressão, exibindo maior perda de viabilidade. A inativação microbiana mais pronunciada ocorreu quando foi utilizada temperatura de processamento de 50°C.

De acordo com estudos realizados por Chen (2007), o peito de peru embalado a vácuo e pronto para consumo foi inoculado com *Listeria monocytogenes* à uma concentração final de 10^7 UFC/g e submetido a seguinte variação de pressão e temperatura: 300MPa por 2 minutos, 400MPa e 500MPa por 1 minuto, em temperaturas de 1, 10, 20, 30, 40, 50 e 55°C. O microrganismo mostrou-se mais resistente entre temperaturas de 10 e 30°C e teve sua sensibilidade aumentada em temperaturas inferiores a 10°C e acima dos 30°C. Em 1 minuto de tratamento a 500MPa, foi obtido uma redução na contagem de $3,8 \log^{10}$ e na mesma pressão, mas em temperatura de 1 e 20°C, a redução da contagem foi de $1,4$ e $0,9 \log^{10}$,

respectivamente. Estudos de cinética de inativação foram introduzidos para se obter uma avaliação mais aprofundada.

Rubio et al. (2007) analisaram os efeitos da APH sobre “salchichón” (salsicha espanhola seca e fermentada) embalada a vácuo e tratada com 500MPa por 5 minutos e armazenadas a 6°C, por um período máximo de 210 dias. Pode-se observar que o tratamento inibiu determinados microrganismos, em especial as leveduras, bolores, microrganismos psicotrófilos e bactérias anaeróbias. Houve uma queda na contagem microbiana, os parâmetros físico-químicos e sensoriais não foram afetados, concluindo-se que o tratamento em questão aumenta a segurança alimentar sem causar danos ao alimento.

Em outro estudo, Rubio et al. (2007) submeteram a “Cecina de Leão” (carne bovina seca) embalada a vácuo ao tratamento com APH de 500MPa a 5 minutos, sendo o produto armazenado por 210 dias a temperatura de 6°C. Puderam observar que a APH evitou o crescimento de Enterobactérias, *Enterococcus* e *Pseudomonas sp* e retardou o crescimento de bactérias ácido-lácticas, Micrococcaceae, leveduras e bolores.

Yuste et al. (1999) compararam o tratamento sob alta pressão hidrostática (500 MPa a 65°C) por 5 e 15 minutos em salsicha de frango, com tratamento térmico de 80-85°C por 40 minutos e acompanharam a vida de prateleira dos produtos por 18 semanas a 2°C. Praticamente não foi detectado o crescimento de enterobactérias no produto até o final da estocagem. Contagens similares de bactérias lácticas foram verificadas entre os tratamentos a 500 MPa a 65°C por 15 minutos e o tratamento térmico ($<10^1$ UFC/g) até o final da estocagem. Comprovaram assim, que o tratamento sob alta pressão pode substituir a pasteurização de salsichas de frango cozidas após a embalagem.

“Morcilla de Burgos”, um embutido cozido típico da Espanha, foi elaborada a partir de mistura de cebola, arroz, gordura animal, sangue, vários tipos de condimentos e sal. Borek et al. (2002) avaliaram o efeito da alta pressão na microbiota deste produto com a finalidade de aumentar sua vida de prateleira. Foram comparados três tratamentos, o tradicional definido como controle e os outros dois com o uso de APH por 10 minutos, água a 15°C e pressões de 300 e 500 MPa. Os produtos foram estocados sob refrigeração a 4°C e realizadas análises microbiológicas de contagem total, bactérias lácticas, Enterobacteriaceae, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas sp.*, *Enterococcus* e *Clostridium perfringens*, com 0, 1, 5, 18 e 25 dias após os tratamentos. As condições utilizadas possibilitaram eliminar ou reduzir drasticamente a população de bactérias pertencentes aos gêneros *Pseudomonas*, Enterobacteriaceae, *Enterococcus* e *Staphylococcus aureus*. Durante todo o estudo, não houve crescimento de *Clostridium perfringens*. O tratamento sob pressão não foi efetivo para eliminar as bactérias lácticas, porém foi observada ligeira diminuição na contagem dessas em relação ao controle.

3.3.4. Efeito da APH sobre a cor de produtos cárneos

Para avaliar pequenas diferenças na coloração, o equipamento CIELAB é recomendado. Nesse sistema, as coordenadas, X, Y e Z sofrem transformações quadráticas ou cúbicas, dando origem às variáveis L*, a* e b*. O valor de L* representa o máximo estímulo luminoso, seja de reflectância ou de transmitância, e os valores a* e b* são entendidos, respectivamente, como as proporções de vermelho e de amarelo refletidos ou transmitidos pelo objeto. Quando carnes são submetidas a níveis de pressão elevados, a coloração se torna mais pálida inicialmente (com um valor de L* alto, alcançando um máximo a 350 MPa) mas, posteriormente, a cor rosa muda para um marron-acinzentado. Em paralelo, o valor de a* decresce notadamente, devido ao decréscimo da mioglobina total contida na carne (CARLEZ et al. 1995). Estes autores observaram que pressões acima de 400 MPa provocam a oxidação parcial da mioglobina ferrosa em metamioglobina férrica, junto com a possível desnaturação da globina.

Brunn & Skibsted (1996) estudaram os efeitos da alta pressão na oxidação de nitrosomioglobina (importante pigmento em produtos curados de carne). Pressurizaram carnes curadas (baseados na nitrosomioglobina de cavalo) acima de 300 MPa e observaram um decréscimo na oxidação de nitrosomioglobina com aumento da pressão. Eles explicaram que o efeito da pressão na oxidação foi devido à desnaturação protéica, e que as reduzidas taxas de oxidação podem favorecer a utilização de APH em carnes curadas.

Carlez et al. (1995) investigaram os efeitos da alta pressão na cor e no conteúdo de mioglobina de carne moída embalada a vácuo. Notaram uma cor rósea na carne tratada a 200 – 350 MPa, a qual tornou-se em cinza-amarronzada a 400 – 500 MPa. No entanto, houve um decréscimo no conteúdo de mioglobina a 200 – 500 MPa, uma redução na oximioglobina, e um aumento na metamioglobina a 400 – 500 MPa. Os autores sugeriram que a descoloração da carne durante a alta pressão é devido ao efeito clareador a 200 – 300 MPa causados pela desnaturação da globina, liberação do grupamento heme ou oxidação do ferro da mioglobina a 400 MPa. Estes autores concluíram que a descoloração de bifes de carnes por pressão é um fenômeno complexo, e que a pressões em torno de 200 MPa ocorreu um efeito branqueador, onde a coloração deixou aos poucos de ser rosa e tornou-se mais pálida. Simultaneamente, verificaram que os valores de L* notadamente aumentaram. Este efeito branqueador está atribuído à desnaturação induzida pela pressão na parte protéica da mioglobina.

Shigehisa et al. (1991) encontraram mudanças similares nos valores de L* e a* em carne suína pressurizada. Os valores de L* começaram a diminuir em pressões entre 100 e 200 MPa, alcançando um valor mínimo em pressões entre 300 e 400 MPa. Verificaram que acima de 600 MPa, não ocorreu nenhuma mudança. Os autores verificaram que um decréscimo moderado nos valores de a* ocorreu em pressão entre 100 e 200 MPa, progredindo até 600 MPa, e relataram que nenhuma explicação era determinada para estes fenômenos.

3.4. Análise Sensorial

A NBR 12806 define análise sensorial com uma disciplina científica usada para evocar medir, analisar e interpretar reações das características dos alimentos e materiais como são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição (ABNT, 1993a).

As percepções sensoriais dos alimentos são alterações complexas que envolvem os cinco sentidos. No caso especificamente do sabor, este é usualmente definido como impressões sensoriais que ocorrem na cavidade bucal, como resultado do odor de vários efeitos sensoriais, tais como frio, queimado, adstringência e outros (GEISE, 1995).

Os testes sensoriais são importantes por ser uma medida multidimensional integrada que, possuem vantagens por serem capazes de identificar a presença ou ausência de diferenças perceptíveis, definirem características sensoriais de um produto, e ser capazes de detectar particularidades dificilmente detectadas por outros procedimentos analíticos, e ainda avaliarem se um produto é aceito pelo consumidor (MUNOZ, CIVILLE & CARR, 1992). Piggot (1995) acrescentou ainda que os testes sensoriais são usados para entender as reações do consumidor a um produto.

Os métodos sensoriais podem ser classificados em (IFT, 1995):

- ✓ Teste analítico: teste de diferença (teste de escolha forçada, teste de comparação múltipla, sensibilidade, ordenação, grau de diferença); teste descritivo (perfil de sabor, perfil de textura, análise descritiva quantitativa), análise *spectrum*, técnica, tempo, intensidade, avaliação de atributos.
- ✓ Teste de aceitação e de consumidor: teste de preferência (preferência pareada, ordenação de preferência, pareado múltipla ou ordenação múltipla); teste de

aceitação, escala hedônica, escala de ideal, escala de atributo, diagnóstico e de escalas de intensidade e hedônica.

Stone & Sidel (1993) dividem os métodos de análise sensorial em discriminativos, descritivos ou afetivos. Dentre os métodos descritivos, destaca-se, a Análise Descritiva Quantitativa, e dentre os afetivos está o Teste de Aceitação.

A indústria alimentícia moderna utiliza a Análise Sensorial como ferramenta, considerando a avaliação das características sensoriais dos produtos como componente essencial no desenvolvimento, manutenção, otimização, controle de qualidade e avaliação do potencial de mercado de um determinado alimento (STONE & SIDEL, 1993; PIGGOT, 1995).

O sucesso da aplicação dos testes sensoriais em problemas reais da indústria de alimentos e pesquisas depende da adequada correlação entre a utilização do método e a informação desejada ao final da sua aplicação, isto é, o objetivo a ser alcançado (PIGGOT, 1995).

A avaliação sensorial intervém nas diferentes etapas do ciclo de desenvolvimento dos produtos, como na seleção e caracterização de matérias-primas, na seleção do processo de elaboração, no estabelecimento das especificações das variáveis das diferentes etapas do processo, na otimização da formulação, na seleção dos sistemas de envase e das condições de armazenamento, e no estudo de vida útil do produto final (PENNA, 1999, apud BARBOZA, 2003).

Atingir o sucesso no lançamento de novos produtos é essencial para todas as empresas cujo mercado consumidor é dinâmico e ávido por novidades, exigindo que as prateleiras dos supermercados sejam continuamente renovadas (NORONHA, 2003).

Algumas pesquisas têm se baseado nas respostas dos consumidores com o objetivo de estudar a aceitabilidade de determinados produtos, exatamente porque a percepção de qualidade, seguridade, confiabilidade, e consciência em relação à tecnologia que foi utilizada para a obtenção daquele determinado produto, assim como as vantagens e desvantagens associadas aos possíveis riscos, certamente refletirão na intenção de compra o e posterior consumo (FREWER et al. 1998).

3.4.1. Análise Descritiva Quantitativa (ADQ)

A Análise Descritiva Quantitativa foi desenvolvida por Stone et al. (1974), sendo considerada uma das principais e mais sofisticadas metodologias para a análise sensorial. A técnica é capaz de promover a descrição qualitativa e quantitativa do produto avaliado, com precisão em termos matemáticos, baseado na percepção de um grupo de pessoas capacitadas (STONE & SIDEL, 2004).

ABNT (1993b) informa que os métodos descritivos podem ser testes de avaliação de atributos (por meio de escalas), perfil de sabor, perfil de textura, análise descritiva quantitativa – ADQ e teste de tempo e intensidade. No testes descritivos procura se descrever as propriedades do alimento e medi-la de maneira mais objetiva possível. Aqui não são importantes as preferências e aversões dos julgadores e não é tão importante saber se as diferenças entre as amostras são detectadas, e sim qual é a magnitude ou intensidade dos atributos do alimento.

Os resultados obtidos incluem a descrição sensorial completa dos produtos, e proporcionam uma base para determinar os atributos sensoriais que são importantes para a aceitabilidade (MEILGAARD, CIVILLE & CARR, 1991; STONE & SIDEL, 2004).

Segundo Umbelino (2005), apud Marcellini (2006), as principais etapas relacionadas à ADQ são: pré-seleção de provadores, desenvolvimento de terminologia descritiva, treinamento, seleção de provadores, avaliação sensorial e interpretação dos resultados.

O sucesso da implementação da ADQ está ligado principalmente à performance dos provadores e o alcance dessa performance é obtido através de adequada seleção e treinamento (HUSSON & PAGES, 2003). Segundo McEwan et al. (2002), na Análise Sensorial os provadores devem ser vistos como instrumentos de medida de atributos sensoriais, por esta razão, a avaliação da performance do provador é etapa fundamental.

Issanchou, Lesschaeve & Koster (1995) relataram que para a utilização da ADQ, é necessário utilização de provadores, com habilidades descritivas e discriminativas, o que leva à necessidade da realização de testes para avaliação dessas habilidades. Os provadores com a habilidade descritiva devem identificar os diferentes estímulos (atributos). Para a habilidade discriminativa os provadores devem perceber diferenças mínimas de intensidade entre estímulos e, ainda, ter a capacidade de quantificar, sendo aptos a utilizar a escala em toda a sua amplitude, com pequena dispersão entre as repetições e em consenso com a equipe (UMBELINO, 2005).

3.4.2. Teste de Preferência

Os testes afetivos são realizados para avaliar a preferência e/ou aceitação de produtos. Geralmente um grande número de julgadores é requerido para essas avaliações. Os julgadores não são treinados, mas são selecionados para representar uma população alvo (IFT, 1981).

O Teste de Aceitação (afetivo) é um valioso e necessário componente de toda a Análise Sensorial, o qual utiliza o consumidor como instrumento de medida e, a partir da correta aplicação, é possível transformar dados subjetivos em objetivos, obtendo informações importantes sobre o grau com que as pessoas gostam ou não de um determinado produto (STONE & SIDEL, 1993).

Para a realização dos testes de aceitação é de fundamental importância que mais de 50 indivíduos sejam consultados, os quais tenham o hábito de consumir o produto. Meilgaard, Civille & Carr (1991) recomendam ainda a realização de testes em diferentes cidades em um mesmo país, para que a heterogeneidade advinda de diferentes regiões possa ser avaliada.

A escala hedônica de nove pontos é a mais utilizada para testes de aceitação, devido à confiabilidade dos resultados e a fácil compreensão da ficha pelos consumidores (STONE & SIDEL, 1993).

Os dados obtidos nos testes de aceitação são submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e teste de médias, onde se verifica se houve diferença significativa entre as médias, em um determinado nível de confiança (STONE e SIDEL, 1993).

Os Testes de Aceitação e Intenção de Compra em associação com a ADQ podem explicar as diferenças responsáveis pela maior ou menor aceitação dos produtos estudados (DAILLANT-SPRINLER et al.1995). Entendendo quais atributos direcionaram a aceitação de alimentos e bebidas, é possível auxiliar a indústria de alimentos a se adequar às necessidades de mercado (GUINARD, UOTANI & SCHLICH, 2001).

O Teste de Aceitação pode refletir o grau de preferência por determinado produto. Porém, quando os dados da aceitação são analisados por técnicas estatísticas univariadas, médias são obtidas e assume-se que o critério de aceitabilidade dos consumidores seja homogêneo, o que implica que os valores desta forma obtidos, podem não ser representativos da real situação. Por esta razão a variabilidade individual dos consumidores também deve ser considerada (GREENHOFF & MacFIE, 1994).

Villanueva (2003) apud Macellni (2006), acrescentou que as médias obtidas em testes de aceitação podem ser afetadas por valores extremos, por distribuições assimétricas ou por distribuições multimodais de dados. Em testes com consumidores, esta limitação é grave porque impede a detecção de segmentos de indivíduos em função das amostras de sua preferência. Por exemplo, se em um teste de aceitação 50% dos consumidores mostrarem alta

aceitação por determinada amostra, e os demais mostrarem baixa aceitação pela mesma, a média dos dados coletados resultará em um valor intermediário de aceitação, o que não representará a verdadeira opinião de nenhum dos dois grupos de consumidores. Assim, informações sobre preferências individuais dos consumidores são perdidas.

No entanto, a detecção de preferências individuais tem sido fundamental para a área de marketing das indústrias que, em função da atual competitividade dos mercados, procura identificar consumidores potenciais e dirigir a otimização e venda de produtos para mercados específicos (DELIZA, 2004; VILLANUEVA, 2003).

Segundo Greenhoff & MacFie (1994), a solução para o problema da utilização de médias na análise de dados de aceitação é o uso de técnicas multivariadas, que conduz de forma separada as análises dos vários subgrupos encontrados dentro dos consumidores que participaram do estudo.

A técnica intitulada Mapa Interno da Preferência (MIP) é um tratamento multidimensional dos dados afetivos, baseada na Análise de Componentes Principais e “Cluster Analysis” (GREENHOFF & MacFIE, 1994; YACKINOUS, WEE & GUINARD, 1995).

O MIP gera um gráfico onde os produtos são representados como pontos e cada indivíduo como um vetor, sendo que os pontos mais próximos de um conjunto de vetores correspondem aos produtos de maior preferência daquele segmento de consumidores. A grande vantagem do MIP sobre a ANOVA e tradicionais testes de médias é a identificação da preferência individual de cada consumidor em relação aos produtos avaliados, bem como, por meio da “Cluster Analysis”, a identificação de segmentos da população (GREENHOFF & MacFIE, 1994).

A partir da identificação de grupos de consumidores, em função de suas preferências, é possível estudar cada segmento considerando as características sócio-demográficas e hábitos de consumo. Desta forma, a indústria de alimentos pode direcionar estratégias de marketing específicas para o produto avaliado (GREENHOFF & MacFIE, 1994; HELGESEN, SOLHEIM & NAES, 1997).

Além do MIP os dados podem ser analisados pelo Mapa Externo da Preferência (PREFMAP) o qual relaciona os dados de testes de aceitação com os obtidos por meio de testes descritivos, como a ADQ, com o propósito de explicar as características intrínsecas dos produtos que direcionam a aceitabilidade dos consumidores (GREENHOFF & MacFIE, 1994).

Os resultados obtidos nos testes de aceitação e ADQ são analisados de forma a construir um gráfico, semelhante ao MIP, no qual estão posicionados os consumidores, amostras e atributos que as descrevem. Greenhoff & MacFie (1994) relataram que no gráfico formado, os consumidores que se encontram localizados próximos dos atributos que caracterizam as amostras, foram influenciados por estes descritores para a aceitabilidade do produto.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material

4.1.1. Matéria-prima

Coxas de peru congeladas, embaladas em sacos plásticos (embalagem primária), contendo aproximadamente 1,2 kg e acondicionadas em caixas de papelão (embalagem secundária) com 15 kg cada, foram adquiridas de uma empresa sediada no Sul do Brasil e que possui distribuição no Rio de Janeiro. A empresa trabalha com cortes especiais de peru congelado e realizou a entrega da mercadoria em caminhão com temperatura controlada, seguindo todos os requisitos básicos de higiene e conservação. A mercadoria foi armazenada à temperatura de -18°C, em câmara frigorífica.

4.2. Métodos

Para fabricação do presunto de peru, foi realizado o *toailete* na coxa de peru congelada, com facas do tipo desossa, retirando-se tendões, nervos, pele e ossos e cortando a carne em pedaços menores (Figura 2).



Figura 2. Toailete da coxa de peru.

Para a formulação (Tabela 4), foram utilizados aditivos e condimentos, adquiridos da empresa Duas Rodas Industrial®, a qual possui certificação ISO 9001/2000 e ISO 14001 para fabricação de todos os seus produtos. Os componentes da salmoura foram pesados e diluídos em água gelada, sob agitação constante para completa dissolução, até que fosse adicionada à carne.

Tabela 4. Formulação do presunto de peru.

Formulação	Quantidade
Coxa de peru em pedaços	2,5 kg
Supergal 202/11®	78,025 g
Condimento Misto para Presunto Califórnia 616/1®	26,250 g
Realçador de Sabor 404®	10,625 g
Açúcar	10,675 g
Sal (NaCl)	37,500 g
Água gelada	950 mL

Em seguida, misturou-se a carne e a salmoura, levando-as o “cutter” (marca *Geiger* e modelo UM12), intercalando-se a operação com 2 a 3 intervalos de alguns segundos, com intuito de reduzir a carne a pedaços menores até a obtenção de uma massa mais homogênea (Figura 3). A mesma foi posteriormente transferida para um recipiente plástico com tampa e foi levada à geladeira a 5°C, permanecendo por 24 horas.



Figura 3. “Cutter” com a carne de peru em pedaços.

Após este período, a massa obtida contendo em média 2,5kg foi colocada em embalagens plásticas resistentes a altas temperaturas (*cook-in*), fechadas em uma seladora a vácuo (marca *Engevac* e modelo 30 gás) e posteriormente colocadas em formas de aço inoxidável para o cozimento.

O cozimento foi realizado em autoclave até que a temperatura interna do produto atingisse no mínimo 68°C, cuja verificação foi feita com controlador interno de temperatura (modelo *ELLAB*) em umas das peças controle (Figura 4). Após o cozimento, o produto foi resfriado em banho de gelo por 40 minutos e, posteriormente, armazenado em geladeira a 5°C durante 24 horas.



Figura 4. Autoclave (a); ELLAB (b); formas aço inox (c).

Após o período de 24 horas sob refrigeração, o presunto de peru já estava pronto para ser fatiado, embalado a vácuo e sofrer o tratamento a alta pressão hidrostática.

As peças de presunto a serem utilizadas tiveram a película plástica higienizada e depois removida para proceder ao corte em fatias de 0,5mm de espessura e para o fatiamento

foi utilizado um fatiador de frios (marca *SKYMSEN*, modelo CFI-300) previamente higienizado. Para as análises microbiológicas, o equipamento foi colocado em uma câmara de fluxo higienizada com ação da luz UV, por no mínimo 15 minutos.

Feito este procedimento, as fatias foram acondicionadas em sacos plásticos estéreis, medindo em média 10 x 4cm, selados a vácuo (seladora marca *Engevac* e modelo 30 gás) e enviadas para pressurização (Figura 5).



Figura 5. Presunto de peru embalado a vácuo antes da pressurização.

4.3. Tratamento a alta pressão hidrostática

As amostras fatiadas e embaladas a vácuo foram submetidas à alta pressão. O equipamento de alta pressão hidrostática (marca *Stansted Fluid Power* e modelo S-FL-850-9-W) utilizado é um modelo experimental, localizado na planta piloto II da Embrapa Agroindústria de Alimentos. Este equipamento possui capacidade para operar em uma faixa de pressão de 100 a 900 MPa, em temperaturas variando de 0 a 80°C, e intervalos de tempos variados (Figura 6).



Figura 6. Equipamento APH (*Stansted Fluid Power*).

O equipamento foi controlado através de um painel para o ajuste da pressão, tempo e temperatura desejada, de acordo com o planejamento experimental. Posteriormente, as

amostras do presunto de peru foram colocadas dentro do cilindro interno, de aço inoxidável (Figura 7), de aproximadamente 7,0 cm de diâmetro e 20,0 cm de comprimento, com vários orifícios por onde circula o líquido pressurizador, neste caso álcool 70%.



Figura 7. Cilindro com amostra pressurizada.

A câmara contendo o cilindro foi hermeticamente fechada e vedada para evitar vazamentos. Primeiramente, uma bomba pneumática foi acionada na câmara, injetando uma pré-carga até que os selos da mesma se fechassem. Posteriormente, foi acionada automaticamente, uma segunda bomba hidráulica que deslocou um pistão e elevou a pressão até a condição de trabalho desejado caracterizando, assim, dois estágios de pressurização.

O equipamento operou a uma taxa de pressurização de 7 MPa/s até a pressão desejada, iniciando-se então a contagem do tempo total do processo. O tempo de processo foi contado a partir do momento em que a câmara alcançou a pressão desejada, até o início da despressurização. No decorrer do processo, pequenas oscilações de temperatura podem ocorrer devido à pressão ser diretamente proporcional à temperatura e haver um aumento em torno de 3°C a cada 100MPa. Ao término do ciclo, após a despressurização, a câmara foi aberta e as amostras pressurizadas foram retiradas do cilindro e enviadas para as respectivas análises.

4.4. Planejamento experimental

Foi utilizado um planejamento experimental fatorial 2^2 com triplicata no ponto central, utilizando um efeito combinado de diferentes pressões e tempos de pressurização (200-5, 200-15, 300-10, 300-10, 300-10, 400-5, 400-15), à temperatura ambiente. A definição de tal planejamento baseou-se nos resultados de Slongo (2008), referentes a estudo de acompanhamento da vida útil do presunto suíno submetido a alta pressão. Através desse experimento foi concluído que em 400MPa a 15 minutos houve aumento significativo da vida útil do presunto e preservação das propriedades sensoriais e, por esse motivo, essa foi a condição usada para a maioria das análises no presente trabalho.

4.5. Análises microbiológicas

Para realização das análises microbiológicas, o presunto de peru foi pressurizado na condição de 400MPa por 15 minutos. As amostras foram manuseadas na câmara de fluxo higienizada, retirando-se assepticamente 1.500g e divididas em sacos estéreis (*Nasco WHIL-PACK®*) com 25g cada, embaladas a vácuo e armazenadas a 8°C, durante 75 dias.

4.5.1. Legislação RDC nº 12 – ANVISA

As análises microbiológicas realizadas para o presunto de peru controle e pressurizado foram baseadas no padrão de qualidade especificado na RDC nº 12 – ANVISA (BRASIL, 2001), que estabelece os padrões microbiológicos para alimentos em geral.

Foram realizadas análises em triplicata para pesquisa de Coliformes a 45°C (NMP), *Estafilococcus coagulase positiva* (UFC/g), *Clostridium* sulfito redutor a 46°C (UFC/g) e *Salmonella spp* (ausência em 25g), a cada 15 dias até completar os 75 dias de armazenamento.

A contagem de Coliformes a 45°C foi realizada seguindo-se a metodologia analítica do Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (APHA) (2001). Inicialmente as amostras foram preparadas e semeadas em caldo LST (Caldo Lauril Sulfato Triptose), técnica de NMP (número mais provável).

Para contagem de *Estafilococcus coagulase positiva* utilizou-se a metodologia recomendada pela APHA (2001).

Na detecção de *Salmonella spp* empregou-se a metodologia segundo APHA (2001). A detecção envolveu as etapas de pré-enriquecimento objetivando a recuperação das células de microrganismos injuriados durante o processamento, ou ainda para aumentar o número de células de enterobactérias, de maneira não seletiva. Posteriormente, utilizou-se enriquecimento seletivo: esta etapa teve como objetivo, favorecer a multiplicação das salmonelas, inibindo ou restringindo o desenvolvimento de outros microrganismos presentes. Foi realizado plaqueamento em meio seletivo-indicador, utilizando-se dois meios sólidos, sendo um de pequeno efeito inibidor e o outro de efeito maior, favorecendo o reconhecimento de colônias suspeitas de *Salmonella*. Após triagem, as colônias suspeitas foram testadas em meios que forneciam indicações sobre as características bioquímicas dos microrganismos, como os meios ágar três açúcares-ferro (ágar TSI) e ágar lisina-ferro (LIA). Posteriormente, foram realizadas provas bioquímicas e sorológicas complementares para comprovação do gênero *Samonella*.

Para a contagem de *Clostridium* sulfito redutor a 46°C seguiu-se a metodologia do APHA (2001). As amostras inoculadas em ágar SPS foram mantidas em meio de anaerobiose (sistema GASPAC), com papel indicador de anaerobiose, e incubadas em estufa a 35-37°C por 72 horas. Depois desse tempo, as colônias selecionadas foram incubadas por mais 12 horas, até leve crescimento e a comprovação presuntiva para *C. perfringens*, utilizando-se os meios ágar nitrato-motilidade, ágar lactose-motilidade e meio de leite-ferro e por último incubado por mais 24 horas e feito a leitura.

4.5.2. Vida útil

A vida útil do presunto de peru controle e pressurizado foi determinada baseando-se na pesquisa de bactérias ácido-láticas (BAN) e contagem total padrão em placas de microrganismos anaeróbios estritos e facultativos viáveis (CPP) seguindo-se a metodologia preconizada pela APHA (2001), no qual, foi avaliado o crescimento desses microrganismos até que atingissem a contagem de 10⁷ UFC/g.

4.6. Análises Físico-Químicas

Para as análises físico-químicas, após a pressurização na condição de 400MPa a 15 minutos, 400g das amostras controle e pressurizada foram embaladas à vácuo e divididas em sacos plásticos estéreis (*Nasco WHIL-PACK®*) de 20 g cada e armazenadas a 8°C. A exceção foi em relação à análise de Eletroforese SDS-PAGE e Análise Instrumental de Cor que, seguiram o planejamento experimental fatorial 2² com triplicata no ponto central.

4.6.1. Atividade de água (aw)

A análise de atividade de água realizada para o presunto de peru controle e pressurizado, foi baseada na medição de quantidade de água livre ou disponível no alimento, seguindo a instrução do *Higrômetro Eletrônico Novasina Aw-Center* (marca Novasina, modelo *aw Sprint TH-500*), no qual foram feitas leituras do valor de aw em duplicata a cada 15 dias, por 45 dias.

4.6.2. Composição centesimal

As amostras foram analisadas em triplicata em uma única leitura.

4.6.2.1. Cinzas

As análises de cinzas foram realizadas seguindo-se metodologia da AOAC Official Methods 923.03, 2005.

4.6.2.2. Extrato etéreo

As análises de extrato etéreo foram realizadas conforme a metodologia da AOAC Official Methods 922.06, 2000.

4.6.2.3. Nitrogênio total

As análises do teor de nitrogênio total foram realizadas de acordo com a metodologia da American Association for Clinical Chemistry - AACC, 1995, método 46-13.

4.6.2.4. Umidade

Para análise de umidade seguiu-se a metodologia do DGF, 1995, B-1-4 (equivalente ao Método Internacional Padrão ISSO 665 “Oilseeds – Determination of Moisture and Volatile Matter Content”). Foram feitas pesagens sucessivas da amostra antes e após a exposição em estufa previamente mantida a 103± 2°C, e a determinação da umidade foi concluída quando a diferença após operações de secagem e pesagem foi igual ou menor que 0,1% do peso da amostra.

4.6.3. pH (Método do potenciômetro)

A análise de pH foi determinada após a pressurização na condição de 400MPa a 15 minutos de 1000g das amostras controle e pressurizada, embaladas a vácuo e divididas em sacos plásticos estéreis (*Nasco WHIL-PACK®*) de 20 g cada e analisadas em triplicata a cada 15 dias, durante 90 dias de armazenamento.

A amostra foi misturada à água destilada, homogeneizada e depois foi feita leitura do pH, seguindo-se a instrução do pHmetro *Modelo pH 300 - Analyser*.

4.6.4. Oxidação de lipídeos

A oxidação de lipídeos foi determinada após a pressurização na condição de 400MPa a 15 minutos de 1000g das amostras controle e pressurizada, embaladas a vácuo e divididas em sacos plásticos estéreis (*Nasco WHIL-PACK®*) de 20 g cada e analisadas em triplicata a cada 15 dias, durante 90 dias de armazenamento.

4.6.4.1. Índice de peróxido

O índice de peróxido (IP) foi usado para medir a fase inicial da oxidação, onde há liberação de peróxidos e as alterações não são percebidas sensorialmente. Devido à sua ação fortemente oxidante, os peróxidos orgânicos formados no início da rancificação atuam sobre o iodeto de potássio liberando iodo, que será titulado com o tiosulfato de sódio, em presença de amido como indicador. Ele indica até que ponto a oxidação progrediu. Para determinação do índice de peróxidos, utilizou-se metodologia analítica do Instituto Adolfo Lutz – Métodos Físicos e Químicos para Análise de Alimentos, 1985.

4.6.4.2. Índice de TBA (ácido 2-tiobarbitúrico)

Para determinação do TBA utilizou-se a metodologia analítica do Ministério da Agricultura - Métodos Analíticos para Controle dos Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes - Instrução Normativa, nº 20 de 21/07/1999. Essa metodologia fundamenta-se na formação de um composto de coloração vermelha resultante da condensação de 2 moles de ácido 2-tiobarbitúrico com 1 mol de aldeído malônico ou de seus tautômeros (originados na oxidação de lipídeos). A quantificação de malonaldeído foi feita a partir de curvas de calibração construídas com concentrações conhecidas de malonaldeído, o padrão utilizado foi o 1,1, 3,3 – tetraetoxipropano (TEP), que nas condições ácidas do teste, sofreu hidrólise liberando o malonaldeído.

4.6.5. Eletroforese SDS-PAGE

Para a análise de eletroforese SDS-PAGE, após a pressurização na condição do planejamento experimental fatorial 2², 210g das amostras controle e pressurizada foram embaladas a vácuo e divididas em sacos plásticos estéreis (*Nasco WHIL-PACK®*) de 15 g cada.

Foi utilizado o sistema de Eletroforese da Biorad e a metodologia de preparação dos géis foi descrita por Laemmli (1970). Para o gel de corrida foi utilizada acrilamida na concentração de 12% e 4% no gel de aplicação da amostra. A corrida foi realizada durante sete horas sob uma tensão de 100V. Os marcadores de alta massa molecular foram obtidos a partir dos seguintes padrões de proteínas (em kDa): 200,0-miosina; 116,2-β-galactosidase; 66,2-soralbumina; 45,0-ovalbumina. Os marcadores de baixa massa molecular foram obtidos a partir dos seguintes padrões de proteínas (em kDa): 97,4-fosforilase b; 66,2-soralbumina; 45,0-ovalbumina; 31,0-anidrase carbônica; 21,5-inibidor de tripsina; 14,4-lisozima. As proteínas dos géis foram coradas com o reagente de cor “coomassie blue R250”, durante uma noite, e descoradas com solução de metanol/ácido acético/água (40: 10: 50), durante três horas. Para este estudo, foram utilizados pedaços de presunto de peru, previamente submetidas a três diferentes níveis de pressão (200, 300 e 400MPa). Utilizou-se 15g deste

material (previamente triturado) e 30 mL de solução extratora contendo tampão fosfato 20mM, KCl 0,45M e 0,05% de Triton X-100 para realização da extração inicial em blender durante 2 minutos e posterior homogeneização em ultra-som durante mais 2 minutos. Após estas etapas de homogeneização, o extrato bruto foi filtrado em pedaço de pano de algodão para retirada das partículas sólidas. O material obtido no filtrado foi submetido a centrifugado a 4000 rpm durante 15 minutos e 2mL do sobrenadante foi tratado com três volumes de acetona e colocado no congelador durante 1 noite, visando desengordurar o material e precipitar as proteínas. As proteínas precipitadas com acetona, após a centrifugação, foram ressuspensas em 700 μ L do tampão TRIS-HCl pH 6,8. Desta amostra aproximadamente duas vezes concentrada, foram retirados 20mL e aplicados em gel de poliacrilamida, utilizando-se as condições e padrões conforme descrito acima. Deve-se enfatizar que, em tentativas iniciais de ressuspender as proteínas no mesmo tampão utilizado para a extração, foi observada uma forte insolubilidade da amostras. Portanto, introduziu-se esta alternativa de solubilização utilizando tampão TRIS-HCl pH 6,8.

4.7. Análise sensorial

4.7.1. Análise instrumental de cor

A análise instrumental de cor foi realizada com amostras (2 cm de altura por 2 cm de diâmetro) modeladas em um cilindro com 2cm de diâmetro e embaladas a vácuo em sacos plásticos estéreis (*Nasco WHIL-PACK*) (Figura 8), onde utilizou-se o planejamento experimental fatorial 2^2 com triplicata no ponto central, objetivando-se verificar possíveis mudanças durante a estocagem na coloração de presunto de peru controle e os submetidos às diferentes condições de pressão e tempo de pressurização. As amostras foram analisadas durante os períodos de 1, 15, 35, 45 e 65 dias de estocagem, feitas em triplicata com quatro repetições de cada amostra, totalizando 12 leituras. Os parâmetros de cor foram avaliados por reflectância no S & M Colour Computer modelo SM – 4 – CH da Suga, no sistema de Hunter com abertura de 10mm de diâmetro para cada amostra, e os resultados foram expressos em relação a luminosidade (L) e variação da intensidade de vermelho (a).



Figura 8. Amostras de presunto de peru pressurizadas.

4.7.2. Análise Descritiva Quantitativa (ADQ)

Para a Análise Descritiva Quantitativa, as amostras de presunto de peru controle (1), pressurizado (2) na condição de 400MPa, 15 minutos e as quatro marcas comerciais de

presunto: 3, 4, 5 e 6, foram avaliadas, seguindo o procedimento padrão da ADQ (STONE et al. 1974).

Sete provadores previamente selecionados para gosto salgado e textura integraram a equipe e o levantamento dos termos descritivos foi realizado a partir de amostras comerciais e experimentais de presunto e peru. A diversidade das amostras oferecidas aos provadores teve como objetivo facilitar o levantamento dos referidos atributos sensoriais.

Posteriormente ao levantamento dos atributos, a equipe reuniu-se em várias sessões para estabelecer, por consenso, as definições e referências, para subsequente elaboração da ficha de avaliação. Após a identificação dos atributos e definição das referências, o treinamento dos termos descritivos foi realizado utilizando os pontos âncora; “pouco” ou “muito” para cada atributo avaliado.

Antes da realização da ADQ, o desempenho da equipe de provadores foi avaliado, verificando a discriminação entre as amostras, repetibilidade e concordância entre os membros (DAMÁSIO, COSTELL, 1991). Para isto, foi realizada a análise de variância (ANOVA), com duas causas de variação (amostra e repetição) para cada atributo e provador, sendo selecionados os provadores com valores de $F_{amostra}$ significativo para $p < 0,30$ e $F_{repetição}$ para $p > 0,05$ não significativos. Os sete provadores selecionados, participaram dos testes subsequentes.

No perfil, as seis amostras de presunto de peru foram monadicamente servidas, codificadas com números de três algarismos e a ordem de apresentação foi balanceada. Os dados foram coletados utilizando-se o software *Fizz* (Version 2.10, Couternon, France) com três repetições por provador. Foram servidas à temperatura ambiente nas cabines individuais. Todas as amostras foram apresentadas em pratos plásticos descartáveis brancos (Figura 9). Para avaliação da aparência, as amostras foram apresentadas à temperatura ambiente e sob luz branca. Os demais atributos foram avaliados sob luz vermelha. Para limpar o palato entre uma amostra, foi oferecido biscoito tipo água e água mineral à temperatura ambiente.



Figura 9. Ilustração do preparo das amostras para apresentação aos participantes do estudo.

4.7.2. Teste de preferência

Oitenta e quatro consumidores participaram do teste de preferência, os quais foram recrutados no critério de gostar e consumir presunto de peru.

Seis amostras de presunto (controle, pressurizada, e as quatro marcas comerciais) foram apresentadas monadicamente, codificadas com três algarismos e servidas à temperatura ambiente, nas cabines individuais.

A ordem de apresentação foi balanceada (MacFIE et al. 1989). Todas as amostras foram apresentadas em pratos plásticos descartáveis brancos. A água e biscoito foram

servidos entre uma amostra e outra para limpar o palato. A aceitabilidade foi avaliada em escala hedônica estruturada de nove pontos variando entre 1: degostei extremamente (pouco) e 9: gostei extremamente (muito) (Figura 10).

Por favor avalie esta amostra de presunto de peru, clicando nas escalas abaixo

Aparência

Aspecto Caract. de Presunto 136

Aspecto Uniforme

Cor Caract. de Presunto

136

Próxima página

Figura 10. Escala hedônica estruturada de 9 pontos, exemplificando o atributo aparência.

4.8. Análise estatística

Os dados provenientes das análises físico-químicas foram analisados por ANOVA, considerando-se $p \leq 0,05$ utilizando o software *Statistica 7.0*. Foi utilizada a técnica de análise de variância, seguida do teste de Tukey e Dunnett ao nível de 5% e de significância (VIEIRA, 2005).

Os dados da avaliação sensorial descritiva (equipe treinada) foram analisados no próprio software *Fizz* por ANOVA e teste de média para checar a diferença entre os atributos sensoriais das amostras avaliadas, bem como pela Análise de Componentes Principais (ACP).

Os dados da preferência foram submetidos à ANOVA ($p \leq 0,05$) e teste de média, análise e distribuição de frequência de notas e também ao Mapa Interno de Preferência e “Cluster Analysis”.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Análises Microbiológicas

Os resultados obtidos nas contagens de Coliformes a 45°C/g, *Estafilococcus coagulase positiva*/g, *Clostridium* sulfito redutor a 46°C e e na detecção de *Salmonella spp*/25g, de acordo com a RDC nº12, (BRASIL, 2001), ao longo da vida de prateleira para as amostras de presunto de peru pressurizadas armazenadas por até 75 dias a 8°C, em comparação com o controle estão expressas na Tabela 5.

Tabela 5. Médias dos resultados obtidos na pesquisa de Coliformes a 45°C, *Estafilococcus coagulase positiva*/g, *Clostridium* sulfito redutor a 46°C e *Salmonella spp* para as amostras de presunto de peru controle e pressurizadas em 75 dias a 8°C.

Amostras	Coliformes a 45°C (NMP)	S.coagulase positiva (UFC/g)	C. sulfito redutor a 46°C (UFC/g)	<i>Salmonella psp</i> (ausência 25g)
Controle*	<3	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10	ausência
Pressurizada (400 MPa – 15 min)*	<3	<1,0 x 10 ¹	<1,0 x 10	ausência

* Médias dos resultados das análises realizadas em duplicata.

De acordo com os resultados obtidos pode-se concluir que não houve alteração dos valores obtidos entre a amostra controle e pressurizada, durante todo o período de armazenamento, estando estas duas amostras dentro dos padrões da Legislação Vigente.

Para Coliformes a 45°C/g a contagem manteve-se ausente, sendo o valor limite máximo definido na legislação de 10³, indicando que na amostra analisada não houve contaminação fecal e que as condições higiênico-sanitárias foram adequadas. Para *Estafilococcus coagulase positiva*/g o limite da legislação é de 3 x 10³ UFC/g, e os valores encontrados foram <1,0 x 10¹ UFC/g, indicando que não houve contaminação a partir de pele, boca e das fossas nasais durante a manipulação após processamento e que a higiene na manipulação, bem como utensílios e equipamentos, foi adequada.

Clostridium sulfito redutor a 46°C manteve sua contagem em <1,0 x 10 UFC/g, abaixo da legislação que estipula o valor de 10³ UFC/g, indicando que o tratamento térmico e resfriamento após processamento para o presunto de peru foram adequados e suficientes para evitar que possíveis esporos presentes se desenvolvessem.

A presença de *Salmonella spp* não foi detectada nas amostras analisadas, indicando que as condições de higiene tanto no processamento, quanto posteriormente, foram adequadas, principalmente se tratando de um produto avícola, onde existe uma preocupação maior em relação a esse microrganismo.

Em relação ao estudo da vida útil do presunto de peru, os resultados obtidos para bactérias ácido-lácticas (UFC/g) e contagem padrão em placa para anaeróbios estritos e facultativos viáveis (UFC/g), provenientes de análises realizadas em triplicata, encontram-se no Tabela 6.

Tabela 6. Resultados obtidos do crescimento de bactérias ácido-láticas, nas amostras de presunto de peru controle com 45 dias e pressurizada com 80 dias de estocagem a 8°C, e da contagem padrão em placas de anaeróbios estritos e facultativos nas amostras controle e pressurizada em 75 dias e estocadas a 8°C.

Microrganismos	*C/							
	P	1°	15°	30°	45°	60°	75°	
Bactérias ácido-láticas (UFC/g)	C	<1,0 x 10	1,0 x 10 ⁵	8,70 x 10⁷				
	P	<1,0 x 10	3,8 x 10 ³	4,30 x 10 ³	3,5 x 10 ⁴	1,5 x 10 ⁵	3,80 x 10⁷	
CPP anaeróbios (UFC/g)	C	<1,0 x 10	1,0 x 10 ⁶	7,5 x 10⁷				
	P	<1,0 x 10	2,0 x 10 ²	2,9 x 10 ²	4,5 x 10 ⁴	9,7 x 10 ⁶	2,7 x 10⁷	

*C/P= amostras C: controle e P: pressurizada.

Quando comparadas amostras de presunto controle e pressurizadas, pode-se observar que a contagem de 10⁷ foi alcançada no 30° dia para a amostra controle e 75° dia para a amostra pressurizada, indicando que o tratamento a alta pressão hidrostática aumentou a vida útil do presunto de peru mais que o dobro (Figura 11).

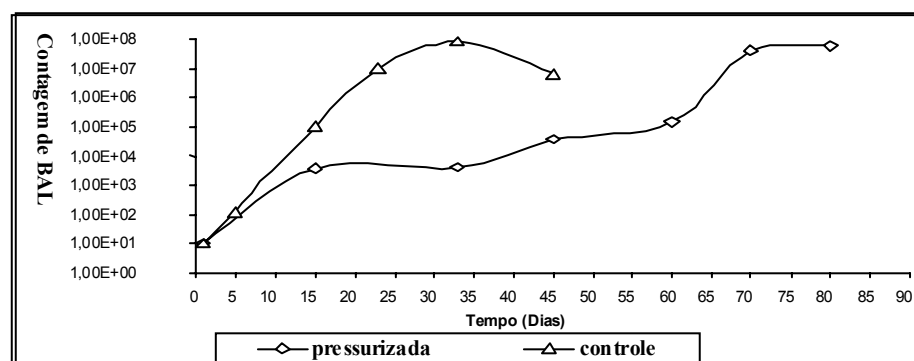


Figura 11. Contagem de bactérias ácido-láticas nas amostras de presunto de peru controle e pressurizada a 400MPa a 15 minutos.

Vermeiren et al. (2004) trabalhando com presunto fatiado empacotado a vácuo, constataram que o esverdeamento desses produtos era devido ao desenvolvimento de bactérias ácido-láticas. A combinação de condições de microaerofilia, a presença de sais de cura e nitrito e a atividade de água baixa, resultado da adição de cloreto de sódio e de outros umectantes favorecem o crescimento destas bactérias. Estes autores relataram, ainda, que a atividade metabólica das bactérias ácido-láticas resulta da deterioração por produção de “off-flavours”, líquido exsudado e freqüentemente viscoso, inchaço dos pacotes devido à produção de gás e esverdeamento.

Segundo Cayre et al. (1999) e Samelis et al. (2000), a utilização de embalagens a vácuo em produtos cárneos, fornece condições favoráveis para o desenvolvimento de bactérias ácido láticas psicrotóxicas, já que podem crescer em atmosferas microaerofílicas e anaeróbicas.

Segundo Garriga et al. (2004), o final da vida útil do presunto pode ser considerado quando a contagem de bactérias ácido-láticas alcança 10⁷ UFC/g.

Os resultados encontrados no presente estudo estão de acordo com as pesquisas realizadas por Carpi et al. (1999), que relataram um aumento na vida de prateleira de presunto cozido fatiado tratado a 600 MPa, por 5 minutos, de até 75 dias, quando armazenados a 4°C.

España (2008) relatou que, na Espanha é comercializado presunto cozido e outros produtos cárneos fatiados e embalados a vácuo, tratados com pressão de 400MPa por 10 minutos. Nesses estudos feitos para comercialização, foi constatado que a alta pressão

hidrostática reduziu significativamente a quantidade, atividade e crescimento de microrganismos capazes de causar alterações de sabor e aroma dos produtos cárneos embalados. Após os 60 dias que correspondem à faixa de consumo preferencial, o produto se mantém fresco porque a APH reduz o crescimento de *Lactobacillus sp*, que são os microrganismos que causam as alterações de sabor e aroma.

Os resultados obtidos por López-Caballero et al. (1999), com o mesmo tipo de produto, mas tratado a pressões menores (200 MPa ou 400 MPa), não atingiram o mesmo grau de inativação e a vida de prateleira máxima obtida a 3°C foi de 21 dias, para presunto cozido fatiado e tratado a alta pressão (400 MPa, por 20 minutos).

A contagem total em placas de microrganismos anaeróbios estritos e facultativos viáveis (CPP) forneceu informações sobre a presença de microrganismos deteriorantes que utilizam pouco oxigênio ou nenhum, trazendo informação de uma forma mais geral e não tão específica, quanto ao grupo de bactérias ácido lácticas. São usadas também para prever a vida útil do presunto de peru ao atingir 10^7 , configurando convencionalmente o final da vida útil.

Para CPP de anaeróbios, foi observado que a vida útil da amostra controle também foi de 30 dias, e para a amostra pressurizada, 75 dias, apresentando valores aproximados de crescimento bacteriano quando comparado à contagem de BAL. (Tabela 7).

Comparando-se os resultados do crescimento de bactérias ácido-lácticas e a contagem CPP de anaeróbios, pode-se observar que para as amostras controle, não houve diferença em torno de 30 dias, e para as amostras pressurizadas a vida útil ficou em torno dos 75 dias, indicando que a mesma também pode ser avaliada segundo esse grupo de microrganismos. Pode-se observar que a APH aplicada foi eficiente para garantir aumento da vida útil do presunto de peru, retardando o crescimento desses microrganismos e evitando alterações sensoriais relacionadas com a deterioração do produto nas amostras analisadas.

Os resultados obtidos para bactérias ácido-lácticas e CPP de anaeróbios em presunto de peru são preliminares e estudos futuros serão realizados, utilizando-se a microbiologia preditiva e modelos matemáticos que fornecem a diferença significativa entre as amostras e a melhor condição de crescimento microbiológico.

5.2. Análises Físico-Químicas

5.2.1. Atividade de água (a_w)

As médias e desvio padrão dos resultados de a_w para as amostras controle e pressurizada, encontram-se na Tabela 7.

Analisando os resultados obtidos através do tratamento estatístico, pode-se observar que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para os valores de a_w , entre as amostras controle quando comparada à amostra pressurizada, indicando que o tratamento não causou alteração na quantidade de água livre no produto, estando de acordo com citações de Rubio et al. (2007) que fizeram análises de a_w em bifes curados de “Cecina de Leon” embalados a vácuo, estocadas por um período de até 210 dias de cura e não verificaram mudanças expressivas nos valores de a_w . Resultados semelhantes também foram encontrados por Marcos et al. (2007) em salsichas embaladas a vácuo, submetidas ao processo de APH e armazenadas por 28 dias.

Tabela 7. Valores das médias e desvio padrão para atividade de água das amostras de presunto de peru controle e pressurizada.

Amostras	1°	15°	30°	45°
Controle	0,980 ^a (±0,000)	0,978 ^a (±0,000)	0,973 ^a (±0,000)	0,970 ^a (±0,000)
Pressurizada (400 MPa-15 min.)	0,980 ^a (±0,000)	0,978 ^a (±0,000)	0,973 ^a (±0,000)	0,970 ^a (±0,000)

Letras iguais em uma mesma linha e coluna não diferem entre si significativamente ($p>0,05$), teste de Dunnett.

5.2.2. Composição Centesimal

Os resultados das médias e desvio padrão das análises para composição centesimal (cinzas, lipídeos, proteína e umidade), encontram-se na Tabela 8.

Tabela 8. Médias (%) e desvios padrões da composição físico-química das amostras de presunto de peru controle e pressurizada.

Determinações	Amostra controle	Amostra pressurizada (400 MPa a 15 min.)
Cinzas	4,10 ^a (± 0,04)	4,06 ^a (± 0,01)
Lipídeos	2,45 ^a (± 0,056)	2,73 ^a (± 0,025)
Proteínas	16,00 ^a (± 0,213)	16,56 ^a (± 0,317)
Umidade	75,32 ^a (± 0,149)	74,59 ^a (± 0,288)

Letras iguais em uma mesma linha, não diferem entre si significativamente ($p>0,05$), teste de Dunnett.

Analisando os resultados obtidos através do tratamento estatístico, pode-se observar que para cinzas, lipídeos, proteínas e umidade, não houve diferença significativa ($p>0,05$), para as amostras controle e pressurizada, indicando que a alta pressão hidrostática não alterou a quantidade de cinzas da amostra tratada, quando comprado com o controle, estando de acordo com estudo realizado por Serra et al. (2007) que descreveram o efeito da alta pressão hidrostática de 400 a 600MPa em presunto curado na fase inicial de cura e na fase final. Foram avaliados os parâmetros físico-químicos (pH, aw, proteína total), oxidação de lipídeos e a atividade de enzimas proteolíticas. Não foi observada diferença significativa entre os tratamentos e amostra controle para os parâmetros físico-químicos.

De acordo com Rankem (2000), boa parte da água encontra-se dentro das células e está fortemente ligada a diversas proteínas, sendo que aproximadamente 25% desta água estão praticamente livre, presa apenas por fracas forças iônicas, constituídas pelas membranas e capilares e esta água considerada livre pode exsudar sob pressão ou durante os processos tecnológicos e/ ou durante a cadeia de armazenamento e distribuição do produto.

5.2.3. pH

Os resultados das médias e desvio padrão do pH para as amostras controle e pressurizadas, encontram-se no Tabela 9.

Tabela 9. Médias e desvio padrão para o pH do presunto de peru controle e pressurizado, durante 90 dias de armazenamento.

Amostras	1°	15°	30°	45°	60°	75°	90°
Controle	6,61 ^a (±0,00)	6,58 ^a (±0,03)	6,13 ^a (±0,34)	6,10 ^a (±0,05)	5,95 ^a (±0,13)	6,10 ^a (±0,31)	6,17 ^a (±0,40)
Pressurizada (400MPa-15min.)	6,61 ^a (±0,00)	6,63 ^a (±0,03)	6,61 ^a (±0,34)	6,18 ^a (±0,05)	5,76 ^a (±0,13)	5,65 ^a (±0,31)	5,60 ^a (±0,40)

Letras iguais em uma mesma linha e coluna, não diferem entre si significativamente ($p > 0,05$), teste de Tukey.

Analisando os resultados obtidos através do tratamento estatístico, pode-se observar que não houve diferença significativa ($p > 0,05$), para as amostras controle e pressurizada, do pH durante os 90 dias a 8 °C.

O pH dos alimentos representa um importante fator na determinação do efeito da APH sobre microrganismos. A dissociação iônica da água (e de vários ácido fracos) é aumentada quando sob pressão, ocasionando uma diminuição do pH do meio. Essa redução provoca a desnaturação de proteínas e a inativação de microrganismos presentes no alimento que foi submetido a este processo (CHEFTEL, 1995).

Embora não tenha ocorrido diferença significativa entre as amostras controle e pressurizada, pode-se observar que houve uma redução do pH ao longo dos dias para a amostra pressurizada a partir do 60° dia.

5.2.4. Oxidação de lipídeos

Na Tabela 10, seguem os valores das médias e desvio padrão do índice de peróxido, para as amostras controle e pressurizada.

Tabela 10. Valores das médias e desvio padrão do índice de peróxido (meq de peróxido/ 100g) para amostras de presunto de peru controle e pressurizada.

Amostras	1°	15°	30°	45°	60°	75°	90°
Controle	0,00 ^a (±0,00)	15,04 ^b (±1,26)	1,52 ^a (±7,45)	0,00 ^a (±3,45)	0,00 ^a (±0,00)	0,00 ^a (±0,00)	0,00 ^a (±0,00)
Pressurizada (400MPa-15 min.)	0,00 ^a (±0,00)	13,25 ^b (±1,26)	12,07 ^a (±7,45)	4,88 ^a (±3,45)	0,00 ^a (±0,00)	0,00 ^a (±0,00)	0,00 ^a (±0,00)

Letras iguais em uma mesma linha e coluna, não diferem entre si significativamente ($p > 0,05$), teste de Tukey.

Analisando os resultados obtidos através do tratamento estatístico, pode-se observar que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as amostras controle e pressurizada no 30° dia e houve alteração do índice de peróxido ao longo dos 90 dias a 8°C, havendo uma diferença significativa ($p \leq 0,05$) para o 15° dia e 30° dia, em relação aos demais.

Inicialmente ocorre a reação dos radicais livres dos ácidos graxos com oxigênio, havendo a formação dos peróxidos e hidroperóxidos, que são considerados os primeiros produtos formados na oxidação de gorduras. Segundo a legislação brasileira, o limite máximo permitido de índice de peróxido em uma amostra é de 10 mg de peróxido O₂/kg. Na presente pesquisa, pode-se verificar que os valores de índice de peróxido foram abaixo deste limite máximo permitido, mas no 15° e 30° dia, no caso da amostra pressurizada, e 15° da amostra controle, esses valores foram superiores, indicando que houve produção do composto. Dessa forma, houve uma diferença entre as amostras no 30° dia, indicando que na amostra pressurizada ainda estava havendo produção de peróxidos, enquanto na amostra controle o

teor detectado foi muito reduzido. Após este período, as amostras tiveram seus valores decrescidos até não haver mais a produção do peróxido, e sim de compostos intermediários, avaliados pelo índice de TBA.

O índice do ácido tiobarbitúrico (TBA) foi usado para medir a oxidação em uma fase mais avançada, onde ocorre a produção dos compostos intermediários, reativos ao TBA e que são percebidos sensorialmente. De acordo com a Tabela 12, o valor de malonaldeído/kg atingiu o ponto máximo em 30 dias e depois teve um decréscimo.

O índice de TBA quantifica o malonaldeído (MDA), um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados, formando durante o processo oxidativo – o MDA (CECCHI, 2003).

A reação envolve o ácido 2-tiobarbitúrico com o malonaldeído, produzindo um composto de cor vermelha, medido espectrofotometricamente a 532 nm de comprimento de onda. A quantificação de malonaldeído é feita a partir de curvas de calibração construídas com concentrações conhecidas do reagente. Os resultados são expressos em unidade de absorvância por unidade de massa de amostra, ou em “valor de TBA” ou “número de TBA”, definidos como a massa, em mg de malonaldeído por kg de amostra (ANGELO, 1996).

Na Tabela 11 seguem os valores das médias e desvio padrão do índice de TBA, para as amostras controle e pressurizada.

Tabela 11. Valores das médias e desvio padrão de TBA em mg de malonaldeído/kg para amostras de presunto de peru pressurizada e controle ao longo de 90 dias.

Amostras	1°	15°	30°	45°	60°	75°	90°
Controle	3,59870 ^a (±0,411)	0,23550 ^a (±0,164)	13,15010^b (±2,925)	0,53120 ^a (±0,604)	1,78770 ^a (±0,302)	0,36080 ^a (±0,182)	3,08430 ^a (±0,782)
Pressurizada (400MPa-15 min)	3,01670 ^a (±0,411)	0,46830 ^a (±0,164)	9,01240^b (±2,925)	1,38620 ^a (±0,604)	1,35980 ^a (±0,302)	0,61940 ^a (±0,182)	1,97770 ^a (±0,782)

Letras iguais em uma mesma linha e coluna, não diferem entre si significativamente ($p > 0,05$), teste de Tukey.

Analisando os resultados obtidos através do tratamento estatístico, pode-se observar que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as amostras controle e pressurizada. No entanto, houve alteração do índice de TBA ao longo dos 90 dias a 8 °C, ocorrendo uma diferença significativa ($p \leq 0,05$) para 30° dia em relação aos demais, onde houve uma maior produção do ácido 2-tiobarbitúrico.

Valores de TBARS até 1,59mg de aldeído malônico/kg de amostra são considerados baixos para serem percebidos por análise sensorial e não causam alarme para saúde do ser humano (TORRES e OKANI, 2000).

Em frangos cozidos são formados maiores teores de malonaldeído que em carnes bovinas, devido a maior composição de ácidos graxos insaturados dos primeiros. Durante a cocção ocorre fato similar, as carnes bovinas por possuírem menores quantidades de ácidos graxos poliinsaturados, exibem menores teores de malonaldeído que as carnes de frango e suína (SIU, 1978).

Comparando-se estatisticamente os valores de oxidação lipídica para índice de peróxido e TBA, pode-se observar que os peróxidos foram os primeiros compostos a serem produzidos, e à medida que esses valores foram reduzindo, por volta do 30° dia, pode-se observar que já havia a produção dos compostos intermediários, e estes tiveram sua produção máxima em torno do 30° dia, onde foram analisados através do índice de TBA.

5.2.5. Eletroforese SDS-PAGE para proteínas miofibrilares

O estudo do efeito da aplicação de alta pressão em presunto de peru na presente pesquisa foi realizado em relação às proteínas miofibrilares actina e miosina por constituírem a maior parte da estrutura protéica. Na Figura 12, pode-se observar o gel de poliacrilamida contendo as cadeias polipeptídicas provenientes das diferentes amostras de presunto de peru (crua, processada termicamente à 68^oC e tratadas com alta pressão).

As proteínas de massas conhecidas (padrões) foram aplicadas, em paralelo, e submetidas à corrida com outros sete extratos contendo proteínas desconhecidas. Desta forma, pôde-se fazer os cálculos de massa molecular e comparar com a amostra referência, a amostra crua (Tabela 12).

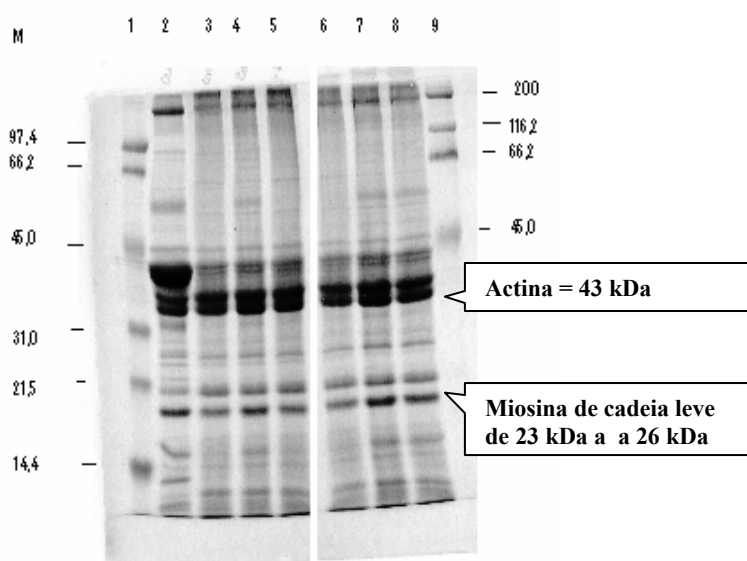


Figura 12. Perfil eletroforético das proteínas extraídas de presunto de peru (2) cru; (3) controle (68^oC) e submetido a diferentes pressões e tempos: (4) 200 MPa, 5 min.; (5) 200 MPa, 15 min.; (6) 300 MPa, 10 min.; (7) 400 MPa, 5 min., (8) 400 MPa, 15 min. Os marcadores de massa molecular estão nos poços 1 e 9, os valores estão em kDa.

Estes extratos foram provenientes dos tratamentos de 200 MPa (5 e 15 minutos), 300 MPa (10 minutos) e 400 MPa (5 e 15 minutos). As proteínas miofibrilares que se caracterizam por serem solúveis em soluções de alta concentração de sais e de se apresentarem em maior concentração em tecido muscular (52-56%) mostraram que estão presentes nos extratos em estudo, na seguinte forma (Figura 12 – Tabela 12): a) uma banda fortemente corada de 195 kDa, que representa a cadeia pesada de miosina; b) três bandas que variam em intensidade de coloração de acordo com o tratamento, 20,8, 18,7 e 15,0 kDa que representam as cadeias leves de miosina c) duas bandas intensamente coradas de 45,0 e 41,1 kDa que possivelmente representam cadeias de actina. Das 14 cadeias polipeptídicas identificadas na amostra crua, somente três bandas desapareceram tanto no controle como para a alta pressão (74,4, 25,1 e 24,0 kDa). Possivelmente estas bandas referem-se a alguma enzima presente na fração sarcoplasmática, que também foi possível ser extraída com o tampão utilizado. Futuros estudos precisam ser realizados visando entender melhor porque houve ausência de desaparecimento de 3 diferentes bandas (55,8, 29,8 e 15,0 kDa) nos tratamentos de 200 (5 minutos) e 400 MPa (5 minutos). Pode-se especular que estas bandas referem-se a produtos de degradação da cadeia pesada de miosina, proveniente de hidrólise desta cadeia. Foi verificada menor intensidade de coloração da banda de 195 kDa, que se refere à cadeia pesada de

miosina. Estes resultados não estão em acordo com o descrito por Ko & Hsu (2002) que mostraram que bandas de proteínas acima de 97 Kda desapareceram com o tratamento de alta pressão (2000 e 3000 atm). Foi possível ver claramente que a banda de 195 kDa apareceu em todos os tratamentos (Figura 12). Estudos realizados por (Stephan et al, 2006) mostraram que as cadeias de miosina de alta e baixa massa molecular apareceram também no presunto submetido à alta pressão.

Tabela 12. Valores de massa molecular das cadeias polipeptídicas separadas por eletroforese SDS-PAGE, com indicação de suas presenças (+) e ausências (-), tomando como referência a amostra crua e controle e pressurizada.

Massa Molecular (kDa)	Amostra crua	Controle	200 MPa		300 MPa		400 MPa	
			5	15	10	5	15	
195,1	+	+	+	+	+	+	+	+
74,4	+	-	-	-	-	-	-	-
55,8	+	-	+	-	-	+	+	
45,0	+	+	+	+	+	+	+	
41,1	+	+	+	+	+	+	+	
34,4	+	+	+	+	+	+	+	
31,3	+	+	+	+	+	+	+	
29,8	+	-	+	-	-	+	-	
26,2	+	+	+	+	+	+	+	
25,1	+	-	-	-	-	-	-	
24,0	+	-	-	-	-	-	-	
20,8	+	+	+	+	+	+	+	
18,7	+	+	+	+	+	+	+	
15,0	+	-	+	-	-	+	+	

Scheibenzuber et al. (2002), apud Stephan (2006) em pesquisas realizadas com carne de porco, usaram a eletroforese SDS-PAGE para verificar as alterações nas proteínas miofibrilares deste produto após tratamento a diferentes pressões. Estes autores concluíram que a alta pressão induziu a solubilização das proteínas miofibrilares induzindo a gelatinização das miofibrilas. Verificaram também que componentes de filamentos finos foram solubilizados facilmente com aplicação de pressão, contudo, a solubilização da miosina dependeu da magnitude e da duração da pressão aplicada.

De acordo com Jiménez-Colmenero et al. (1998), o aquecimento sobre pressão favorece a quebra da cadeia de proteína que foi atribuída a uma quebra enzimática acelerada pela pressão de um componente de peso molecular mais alto (possivelmente a miosina). Estes autores afirmaram, ainda, que uma atividade das proteases diminuída nas proteínas da carne é devido à alta pressão aplicada, levando a quebra das proteínas miofibrilares.

5.3. Análise Sensorial

5.3.1. Análise Instrumental de Cor

Na Tabela 13 são apresentados os valores da estatística p do teste de Dunnett referentes aos parâmetros de cor L* e a* para as amostras pressurizadas e controle, ao longo do armazenamento. Observou-se que o aumento da pressão e o aumento do tempo de pressurização afetaram significativamente apenas o parâmetro a* (intensidade de vermelho), avaliado aos 45 e 65 dias de armazenamento.

Nos resultados obtidos observou-se que a média dos valores de L* e a* durante o armazenamento revelaram que o aumento da pressão afetou significativamente ($p \leq 0,05$) o parâmetro a* ao longo do armazenamento dos produtos, quando comparado com o presunto de peru controle, mostrando que o presunto de peru tratado por APH a 400MPa teve um

decréscimo da cor vermelha (valor de a^*), mesmo adicionado do sal de cura, entretanto estudos realizados por Tanzi et al. (2004) constataram que o processo de APH em pressões maiores que 300 MPa provocou o decréscimo da cor vermelha de presuntos de parma, em comparação com as amostras controle. Outros estudos realizados por TANZI et al. (2004); ANDRÉS et al. (2006) com presuntos cozidos e adicionados de nitrito, mostraram que devido à formação do composto estável nitrosohemocromo, a cor não foi consideravelmente afetada pela APH e a mesma se manteve estável durante a vida de prateleira, sugerindo que presuntos foram bons produtos para serem pressurizados.

Tabela 13. Valores de p do Teste de Dunnett para os parâmetros de cor L^{\S} e $a^{\S\S}$ das amostras de presunto de peru ao longo da vida útil.

Tratamento: Pressão (MPa) –Tempo (min.)							
Tempo de armazenamento	200-05	200-15	300-10	300-10	300-10	400-05	400-15
1º dia							
Dunnett – L	0,4892	0,463	0,219	0,999	0,955	0,991	0,999
Dunnett – a	0,980	0,999	0,987	0,497	0,730	0,794	0,441
15º dia							
Dunnett – L	1,000	1,000	0,998	0,999	0,968	0,999	0,895
Dunnett – a	0,899	1,000	0,999	0,958	0,999	1,000	0,533
35º dia							
Dunnett – L	0,4333	0,999	0,999	0,6111	0,1555	0,410	0,999
Dunnett – a	0,182	0,152	0,138	0,084	0,1292	0,237	0,152
45º dia							
Dunnett – L	0,995	0,763	0,999	0,332	0,902	0,863	0,999
Dunnett – a	0,492	0,831	0,776	0,999	0,075	0,0051	0,0057
65º dia							
Dunnett – L	0,967	0,997	1,000	0,996	0,999	0,999	0,968
Dunnett – a	0,921	0,988	0,1498	0,851	0,996	0,069	0,002

$^{\S}L$ = luminosidade (0 = preto e 100 = branco) $^{\S\S}a$ = intensidade de verde/ vermelho (-80 até zero = verde, do zero ao +100 = vermelho)⁵

5.3.2. Análise Descritiva Quantitativa (ADQ)

Os atributos sensoriais, definições e referências, definidos pela estão representados no Tabela 14.

A equipe de 07 provadores levantou nove atributos sensoriais para presunto de peru, compreendendo três atributos para a aparência (aspecto característico, aspecto uniforme e cor característica), três para textura (suculência, firmeza e presença de fibras), aroma característico e dois para sabor (sabor característico e gosto salgado). Todos os provadores apresentaram habilidade em discriminar as amostras, apresentando valores de $F_{amostra}$ significativo para $p < 0,30$ e $F_{repetição}$ para $p > 0,05$ não significativo.

Tabela 14. Atributos sensoriais, definições e referências para presunto de peru.

Atributos	Definições	Referências
Aparência		
Aspecto característico	Aparência das fatias característica de presunto de peru (pedaços de carne bem delimitados)	Pouco: Presunto de peru comercial marca 3 Muito: Presunto de peru comercial marca 5
Aspecto uniforme	Fatia com aspecto uniforme	Pouco: Presunto de peru comercial marca 6 Muito: Presunto de peru comercial marca 5
Cor característica	Cor rósea forte, característica de presunto de peru.	Pouco: Presunto de peru comercial marca 4 Muito: Presunto de peru comercial marca 3
Aroma		
Aroma característico	Aroma típico de presunto de peru (aroma bem acentuado)	Pouco: Presunto de peru pressurizado Muito: Presunto de peru comercial marca 5
Textura		
Suculência	Liberação de água da amostra percebida durante a mastigação	Pouco: Presunto de peru pressurizado Muito: Presunto de peru comercial marca 3
Firmeza	Propriedade de textura percebida ao mastigar o produto. Este relacionado com a resistência das fibras durante a mastigação.	Pouco: Presunto de peru comercial marca 3 Muito: Presunto de peru comercial marca 5
Presença de fibras	Percepção de fibras musculares durante a mastigação	Pouco: Presunto de peru comercial marca 3 Muito: Presunto de peru comercial marca 6
Sabor		
Sabor característico	Sabor característico de presunto de peru	Pouco: Presunto de peru comercial marca 6 Muito: Presunto de peru comercial marca 5
Gosto salgado	Presença gosto salgado, percebido durante a mastigação, proveniente do sal da formulação do presunto de peru	Pouco: Presunto de peru controle Muito: Presunto de peru comercial marca 6

Os resultados da ADQ são mostrados no Tabela 15, que contém as médias alcançadas para as amostras de presunto de peru avaliadas neste estudo, incluindo as amostras controle (1), pressurizada (2) e as marcas comerciais: 3, 4, 5 e 6.

Tabela 15. Média* dos atributos sensoriais para o presunto de peru controle, pressurizado e diferentes marcas comerciais (3, 4, 5 e 6).

Atributos sensoriais	Controle	Pressurizada	3	4	5	6
Aparência						
Aspecto característico	4,22 ^c	5,66 ^b	7,34 ^a	5,15 ^b	5,88 ^b	7,18 ^a
Aspecto uniforme	6,08 ^b	5,28 ^c	2,95 ^e	6,87 ^a	6,81 ^{ab}	4,12 ^d
Cor característica	4,24 ^d	5,77 ^b	6,69 ^a	4,82 ^{cd}	5,53 ^{bc}	6,97 ^a
Aroma						
Aroma característico	6,73 ^a	7,02 ^a	5,73 ^b	5,67 ^b	6,60 ^a	6,86 ^a
Textura						
Suculência	5,31 ^b	5,26 ^b	6,67 ^a	4,86 ^b	4,38 ^b	7,13 ^a
Firmeza	5,20 ^a	5,78 ^a	3,83 ^b	5,77 ^a	5,42 ^a	3,89 ^b
Presença de fibras	5,84 ^a	5,58 ^a	5,56 ^a	5,80 ^a	5,32 ^{ab}	4,84 ^b
Sabor						
Sabor característico	6,26 ^a	6,35 ^a	6,27 ^a	5,61 ^b	5,86 ^b	6,41 ^a
Gosto salgado	5,85 ^{bc}	5,89 ^{bc}	5,11 ^c	6,20 ^{ab}	6,23 ^{ab}	7,10 ^a

Letras iguais em uma mesma linha e coluna não diferem entre si significativamente ($p > 0,05$), teste de Tukey.

Em relação ao aspecto característico, a amostra controle diferiu significativamente da pressurizada, recebendo a menor nota dentre as avaliadas. Já a amostra pressurizada não diferiu significativamente das marcas comerciais 4 e 5, mas diferiu das marcas comerciais 3 e 6, que apresentaram as maiores notas para o atributo em questão.

Para o atributo aparência uniforme, a amostra controle diferiu significativamente da pressurizada. A amostra controle não apresentou diferença em relação à marca comercial 5, mas diferiu das demais e a pressurizada diferiu de todas as marcas comerciais.

Em relação à cor característica, a amostra pressurizada diferiu significativamente da amostra controle e não teve diferença em relação à marca comercial 5. A amostra controle foi a que apresentou a menor nota.

Pode-se observar que em relação ao atributo aparência, os provadores treinados identificaram diferenças para os atributos aspecto característico, aspecto uniforme e cor, quando compararam as amostras controle e pressurizada, indicando que o tratamento sob pressão afetou as características do produto e o mesmo apresentou melhores notas do que o controle em relação ao aspecto e cor característicos.

O atributo aroma característico da amostra pressurizada alcançou a melhor nota, mas não diferiu significativamente da amostra controle indicando que o tratamento não foi capaz de alterar o aroma do presunto de peru.

As amostras controle e pressurizada não diferiram significativamente entre si e entre as marcas comerciais 3 e 5, em relação à suculência, indicando que a pressão aplicada manteve a quantidade de água suficiente para que o presunto de peru permanecesse tenro, sem alterações aparentes e perceptíveis pela equipe.

As amostras controle e pressurizada apresentaram-se mais firmes e não diferiram significativamente das marcas comerciais 4 e 5, mas diferiram significativamente das marcas comerciais 3 e 6, que se apresentaram menos firmes. As amostras controle e pressurizada também foram percebidas com maior intensidade de fibras musculares, não diferindo significativamente das marcas comerciais 3 e 4.

Quanto ao sabor característico de presunto de peru, as amostras controle e pressurizada tiveram as maiores médias e não diferiram significativamente das marcas comerciais 3 e 6, mas diferiu significativamente das marcas comerciais 4 e 5.

A marca comercial 6 foi a percebida como a mais salgada, diferindo significativamente das demais, já as marcas comerciais 4 e 5 diferiram significativamente das amostras controle, pressurizada e a marca comercial 3.

Serra et al. (2007b) reportaram que os provadores detectaram diferença significativa para o atributo gosto salgado entre as amostras pressurizadas e não pressurizadas. Segundo estes autores, tal resultado pode ser devido à desnaturação das proteínas pela alta pressão, contribuindo para o aumento da percepção do gosto salgado pelos provadores. Resultados similares não foram observados no presente estudo.

O processo de alta pressão forneceu produto adequado para o consumo e mesmo tendo sido observadas alterações em relação aos atributos de aparência, essas alterações foram benéficas, tornando-o mais similares a algumas marcas comerciais.

A Análise dos Componentes Principais (ACP) tem sido uma ferramenta muito útil para auxiliar a interpretação dos resultados da ADQ, de acordo com Borgognone, Bussi e Hough (2001).

A Figura 13 mostra a posição das seis amostras de presunto de peru e a distribuição dos atributos sensoriais no espaço definido pela primeira e segunda dimensão.

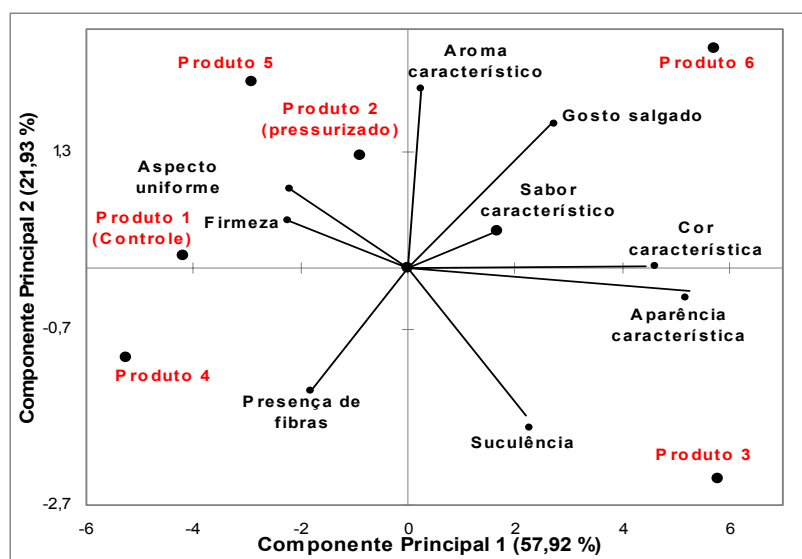


Figura 13. Análise dos Componentes Principais (ACP) dos produtos controle, pressurizado e os produtos comerciais 3, 4, 5 e 6 de presunto de peru.

A primeira e segunda dimensões explicaram 79,8% da variação total. Com relação ao componente principal 1, os produtos 3 e 6 ficaram correlacionados na parte positiva desta dimensão. Enquanto que os produtos 1 (controle), 2 (pressurizado), 4 e 5, ficaram negativamente correlacionados com esta dimensão. Os atributos suculência, gosto salgado, assim como aspecto, cor, sabor e aroma característicos, foram positivamente correlacionados com esta dimensão.

No componente principal 2, os produtos 1, 2, 5 e 6, e os atributos aspecto uniforme, firmeza, gosto salgado, aroma, sabor e cor característicos, foram positivamente correlacionadas com essa dimensão. Em contraste, os produtos 3 e 4 foram negativamente correlacionados com essa dimensão, assim como os atributos de presença de fibras, suculência e aspecto característico.

Segundo Greenhoff & MacFie (1994), ao se analisar uma figura de ACP, atributos que são muito próximos indicam correlações positivas entre eles, enquanto aqueles em direções opostas indicam correlações negativas. Desta maneira, na Figura 13 verifica-se que os atributos de sabor, cor e aparência característica, apresentam correlações positivas entre si e os produtos 3 e 6 e foram mais caracterizados nesse ponto, já os produtos 1, 2, 4 e 5 estes atributos foram menos caracterizados.

O atributo suculência foi mais caracterizado no produto 3 e menos caracterizado nos produtos 2 e 5. Os atributos de aroma característico, aspecto uniforme e firmeza, foram mais fortemente caracterizados nos produtos 1, 2 e 5, e menos caracterizados no produto 3. O atributo presença de fibras foi mais caracterizado no produto 4 e menos caracterizado no produto 6, onde o inverso disso verificou-se para o atributo de gosto salgado.

Os resultados apresentados demonstram que as amostras foram bem caracterizadas em termos das propriedades sensoriais, demonstrando que a equipe de provadores treinados conseguiu discriminar diferenças entre as amostras estudadas, confirmando a ADQ como ferramenta adequada para descrever e quantificar atributos sensoriais de presunto de peru.

Esta análise demonstrou que as amostras controle e pressurizada diferiram entre si e nenhuma diferença significativa foi encontrada nos demais atributos sensoriais, revelando que a APH pouco modificou os atributos sensoriais do produto em estudo.

Apichartsrangkoon et al. (1999) relataram que o processo de alta pressão ocasionou mudanças na aparência de produtos cárneos submetidos a este processo, melhorando o brilho

e a aparência dos mesmos. No entanto, estas constatações não foram verificadas na presente pesquisa.

Serra et al. (2007b) verificaram que a alta pressão não causou efeito significativo no aroma do produto nas pressões aplicadas (400 MPa/10 min e 600 MPa/10 min) e constataram que o tratamento a altas pressões ocasionou mudanças sensoriais significativas na textura, as quais foram detectadas pelos consumidores, especialmente nas pressões de 600 MPa.

Segundo Ramirez-Surez & Morrissey (2006), as alterações na textura de produtos cárneos são devidas ao aumento da elasticidade, que conseqüentemente resulta na diminuição da resistência da estrutura do produto. Tal processo contribui para o desdobramento das proteínas majoritárias do produto cárneo, ocasionando sua agregação com formação de géis, e conseqüente efeito na textura do produto, facilmente percebido pelo consumidor.

Yamamoto et al. (1994) relataram que as mudanças na textura de produtos cárneos foi atribuída à desnaturação e agregação das moléculas de miosina, processo iniciado a pressões acima de 100 MPa. Stephan, Slongo, Deliza e Rosenthal (2006) em pesquisa realizada para verificação do efeito da alta pressão nas proteínas de presunto suíno, utilizando a técnica de eletroforese SDS-PAGE verificaram que pressões até 200 MPa/15 min, não ocasionam mudanças visíveis nas proteínas do produto, porém acima de 300 MPa/15min, estas mudanças tornaram-se visíveis.

Segundo Chamber & Bowers (1993) o atributo de textura (suculência) tem papel muito importante na qualidade e na aceitação de produtos cárneos cozidos, por ser um atributo em que os consumidores facilmente detectam alterações. A alta pressão não afetou tal atributo de textura favorecendo, portanto, o uso desta tecnologia no processamento do referido produto.

5.3.2. Teste de Preferência

A média da preferência para as seis amostras de presunto de peru avaliadas pelos consumidores (n=84) e os três segmentos de consumidores identificados, são apresentadas na Tabela 16. A “Cluster Analysis” identificou três grupos de consumidores baseado na similaridade de respostas, os quais compreenderam 25, 28 e 31 indivíduos, respectivamente. A Figura 14 apresenta o dendrograma dos consumidores, mostrando os três segmentos identificados. A média da preferência para cada um dos segmentos é mostrada na Tabela 17.

Tabela 16. Médias* da preferência** das amostras de presunto de peru e para os diferentes segmentos de consumidores.

Amostras	Total (n = 84)	Segmento 1 (n=25)	Segmento 2 (n=28)	Segmento 3 (n=31)
Produto 1 (Controle)	6,2 ^{a,b}	5,7 ^{fg}	6,2 ^{defg}	6,8 ^{bcd}
Produto 2 (Pressurizada)	5,8 ^b	4,2 ^h	6,5 ^{cdefg}	6,7 ^{bcde}
Produto 3	6,3 ^a	7,4 ^{abc}	7,4 ^{ab}	4,2 ^h
Produto 4	6,6 ^a	7,0 ^{bcd}	6,0 ^{efg}	6,9 ^{bcde}
Produto 5	6,4 ^a	6,6 ^{bcdef}	6,2 ^{defg}	6,5 ^{cdefg}
Produto 6	6,7 ^a	5,6 ^g	8,1 ^a	6,4 ^{defg}

* Letras iguais na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p > 0.05). ** Avaliada em escala hedônica estruturada, sendo 1 = desgostei extremamente até 9 = gostei extremamente.

No segmento 1, observa-se que houve diferença quanto à preferência entre as amostras controle e pressurizada, sendo esta última a menos preferida dentre os indivíduos do referido segmento. Para o segmento 2, as marcas comerciais 3 e 6 diferiram significativamente das demais e alcançaram a maior média para preferência. As amostras controle e pressurizada, bem como as marcas 4 e 5 ficaram entre as amostras menos preferidas. Para os consumidores

do segmento 3, a amostra 3 foi a menos preferida e as demais alcançaram preferência semelhante

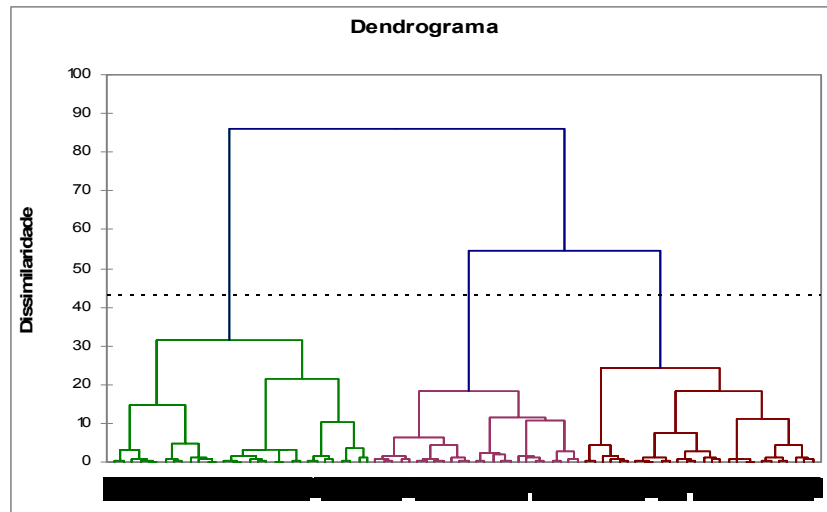


Figura 14. Dendrograma dos consumidores (n=84).

Esta análise mostrou a heterogeneidade na preferência dentre os participantes. A partir da identificação dos três segmentos de consumidores, a ferramenta “Mapa da Preferência” (MIP) foi utilizada na análise dos dados. Tal ferramenta permite representar graficamente a preferência individual de cada consumidor em relação aos produtos estudados, gerando um espaço multidimensional representado por dimensões de preferência que, explicaram a variação total das respostas hedônicas. A Figura 15 mostra os resultados do MIP. As dimensões 1 e 2 do Mapa da Preferência explicaram 56,91% do total da variação (dimensão 1 – 30,69 %; dimensão 2 – 26,22 %), mostra ainda a posição dos consumidores e dos produtos nas dimensões 1 e 2.

O segmento apresentou o menor número de consumidores (29,76 %), sendo localizado no quadrante superior esquerdo da Figura 15. Nenhum produto analisado encontra-se neste quadrante, porém os produtos 3, 4 e 5 encontram-se próximos à ele e foram os que tiveram a maior preferência pelos consumidores deste segmento.

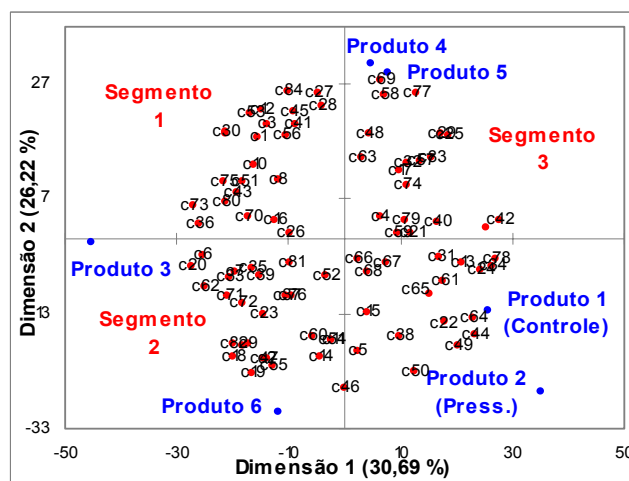


Figura 15. Mapa Interno da Preferência (MIP) mostrando a posição dos consumidores e a posição dos presuntos de peru no espaço definido pela primeira e segunda dimensão.

Esta constatação também pode ser verificada na Tabela 16, onde os consumidores do segmento 1 atribuíram as maiores médias de preferência para estes produtos. Neste segmento o produto pressurizado foi o menos preferido.

O segmento 2 localizado na parte inferior esquerda da Figura 15, revelou os produtos 3 e 6 com a maior preferência e os produtos 4 e 5 com a menor preferência. Este segmento foi constituído por 33,33 % dos consumidores. O segmento 3 com 36,90 % dos participantes do estudo preferiram os produtos 4 e 5, assim como os produtos 1 (controle) e 2 (pressurizado). O produto 3 obteve a menor preferência.

Os resultados de cada segmentos também puderam ser observados na Tabela 17, onde, pode-se verificar que as amostras controle e pressurizada, foram bem aceitas por um número bem expressivo de consumidores, especialmente os do segmento 3. Estes resultados são de extrema importância, pois o novo produto em estudo (presunto de peru pressurizado) mesmo não estando disponível comercialmente alcançou boa aceitação para os participantes do estudo. Pode-se inferir que estes consumidores perceberam pouca diferença entre as amostras controle e pressurizada indicando que o processo de alta pressão hidrostática afetou pouco as propriedades sensoriais do presunto de peru e sugerindo que estas mudanças não afetaram a avaliação da preferência.

Uma das grandes vantagens em se utilizar o MIP é a possibilidade em descrever cada segmento de consumidores de acordo com as suas características sócio demográficas e/ou hábitos de consumo.

Das características sócio demográficas de cada segmento dos 84 consumidores, pode-se observar que 50 foram representados pelo sexo masculino e 34 pelo sexo feminino. Com relação à idade, 21 consumidores encontravam-se na faixa de 18-24 anos, 33 na faixa de 25-35 anos, 17 na faixa de 36-45, 10 na faixa de 46-60 e 2 na faixa de idade superior à 60 anos. Considerando-se o nível salarial, pode-se observar que 29 consumidores estavam na faixa de 1-5 salários mínimos, 20 na faixa de 5-10, 24 na faixa de 10-20, 5 na faixa de 20-30 e 6 na faixa superior à 30 salários mínimos.

Visando identificar quais atributos dirigiram a preferência dos consumidores, foi utilizado o Mapa Externo de Preferência (MEP). Através dos resultados das médias dos atributos avaliados na ADQ e do teste de preferência para cada segmento de consumidor de presunto de peru, foi possível utilizar tal técnica, a qual, como já mencionado, auxilia na interpretação dos resultados da preferência dos consumidores.

A Figura 16(a) mostra representação gráfica das dimensões 1 e 2 do Mapa Externo da Preferência para os três segmentos de consumidor e amostras estudadas. A Figura 16 (b) apresenta os atributos sensoriais.

O segmento 1 (25 consumidores) foi caracterizado pela maior preferência pelos produtos 3 e 4 (Figura 16 a), devido aos atributos de aparência característica de presunto de peru, suculência e presença de fibras que estes produtos apresentaram (Figura 16 b). Os atributos de cor e aroma característicos, gosto salgado e sabor característico, aspecto uniforme e firmeza, foram negativamente correlacionados com estes produtos. Já o segmento 2 (28 consumidores) foi caracterizado pela maior preferência pelo produto 6 dirigido pelas características de aroma e cor característicos de presunto de peru, gosto salgado e sabor característico (Figura 16 a e b).

No segmento 3 (31 consumidores) os produtos que obtiveram a maior preferência foram 1, 2, 4 e 5, devido aos atributos de firmeza, aspecto uniforme, aroma característico e gosto salgado.

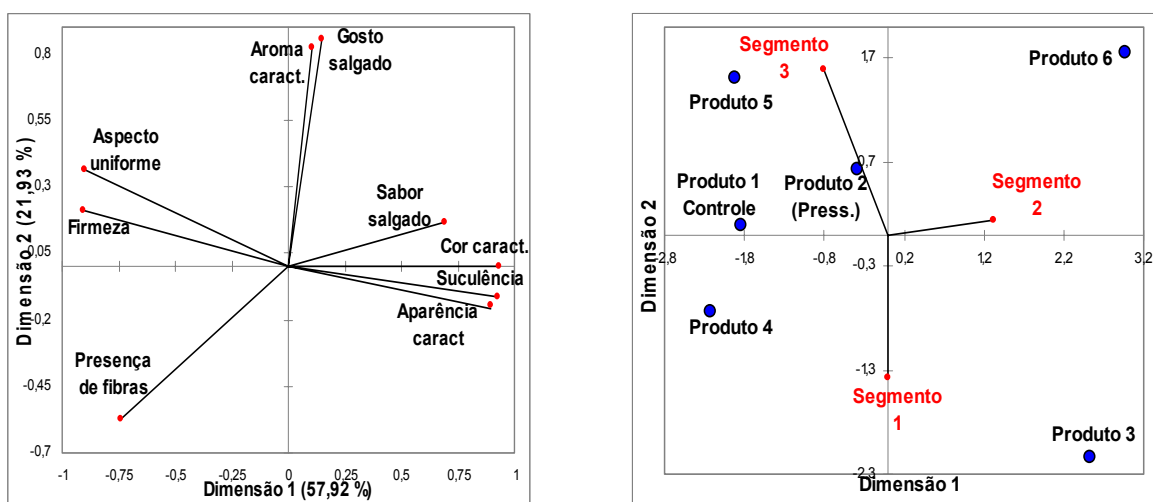


Figura 16. Representação gráfica das dimensões 1 e 2 do Mapa Externo da Preferência para presunto de peru: (a) segmento de consumidor e amostras; (b) atributos sensoriais.

Os resultados apresentados indicaram grande similaridade em relação às características sensoriais entre o presunto de peru pressurizado e a amostra controle.

Considerando os segmentos de consumidores identificados, ficou evidente a importância das ferramentas estatísticas utilizadas (“Cluster Analysis” e Mapa de Preferência) na interpretação dos resultados, possibilitando investigar o papel das características individuais dos consumidores na preferência dos produtos.

Vários trabalhos podem ser encontrados na literatura utilizando o Mapa da Preferência em estudos com produtos cárneos como presuntos e salsichas. No entanto, pesquisas que tenham utilizado presuntos submetidos à APH não foram identificados (SERRA et al. 2007). Nute et al. (1987) realizaram estudo de aceitação com uma grande variedade de presuntos. Estes autores verificaram que a aparência e a textura foram os atributos sensoriais mais importantes para os consumidores nos testes de preferência realizados.

Siret e Issanchou (1995) relataram resultados semelhantes, porém, observaram que o sabor também teve importante papel na preferência do consumidor para esta categoria de produto. Os autores verificaram que os presuntos preferidos foram aqueles de textura mais fibrosa, com sabor característico de presunto mais intenso e com nenhum aroma estranho.

6. CONCLUSÃO

Tomando-se como base o estudo do crescimento de bactérias ácido-lácticas do presunto de peru, pode-se observar que a pressão aplicada de 400MPa por 15 minutos à temperatura ambiente, foi eficaz nos experimentos realizados para aumentar a vida útil do presunto de peru fatiado e embalado a vácuo, mais que o dobro (em torno de 45 dias) quando comparado ao controle, garantindo um produto em boas condições de consumo, retardando o crescimento de microrganismos deteriorantes e mantendo as características sensoriais satisfatórias.

Pelos resultados obtidos em relação à análise de eletroforese SDS-PAGE (método modificado), pode-se constatar que a banda de 195 kDa, relacionada coma cadeia pesada de miosina, apareceu em todos os tratamentos, incluindo o controle, mostrando com isso que a APH não foi capaz de levar à hidrólise das proteínas majoritárias do presunto de peru.

A alta pressão não alterou os parâmetros físico-químicos, como a a_w , pH e composição centesimal do presunto de peru, o que consiste em um ponto importante, pois indica que o produto pressurizado mantém as mesmas qualidades do produto original.

Em relação à oxidação de lipídeos, o produto tratado a 400 MPa por 15 minutos à temperatura ambiente não diferiu significativamente ($p>0,05$) da amostra controle em relação ao índice de peróxido e índice de TBA, indicando que o tratamento nessas condições não foi capaz de acelerar a oxidação de lipídeos.

As análises mostraram que pressões de 400 MPa, após os 45 dias de armazenamento, causaram mudanças significativas na coloração do presunto de peru, especialmente em relação ao parâmetro a^* (intensidade de vermelho), tornando o produto menos vermelho.

O perfil sensorial para o presunto de peru foi estabelecido e possibilitou identificar os atributos importantes que dirigiram a preferência do consumidor, os quais serão fundamentais para o setor. Quanto à aceitação pelos consumidores, o produto alcançou adequada performance, diferindo significativamente da amostra controle apenas no segmento 1, indicando que a alta pressão não alterou as características sensoriais de maneira a interferir na aceitação do produto pelo consumidor.

Nos estudos realizados com o presunto de peru, pode-se observar que a APH trouxe grandes vantagens relacionadas ao aumento da vida útil, embora com algumas pequenas alterações nas características sensoriais relacionadas à aparência. Entretanto, tais alterações não devem comprometer a qualidade do produto e sim tornar vantajosa a implantação e comercialização futura, aos moldes do que já vem sendo feito no exterior.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACC – **American Association of Cereal Chemists**, Method 46-13, p.1-2, 1995

ABNT. **ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS**. NBR 12806: análise sensorial de alimentos e bebidas – terminologia. Rio de Janeiro, 1993a.

ABNT. **ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS**. NBR 12994: análise sensorial de alimentos e bebidas – terminologia. Rio de Janeiro, 1993b.

ADDIS, P.B.; SCHANUS, E.S. Massaging and tumbling in the manufacture of meat products. **Food Technology**, v.33, n.4, p.36, 1979.

ALPAS, H.; BOZOGLU, F. Efficiency of high pressure treatment for destruction of *Listeria monocytogenes* in fruit juice. **Immunology and Medical Microbiological**, v.35, p.269-273, 2003.

ALPAS, H.; KALCHAYANAND, N.; BOZOGLU, F.; SIKES, A.; DUNNE, C.P.; RAY, B. Variation in resistance to hydrostatic pressure among strains of food-borne pathogens. **Applied and Environmental Microbiology**, v.65, n.9, p.4248-4251, 1999.

ANDRÉS, A.I., ADAMSEN, C.E., MOLLER, J.H.S., RUIZ, J., SKIBSTED, L.H. High pressure treatment of dry-cured Iberian ham. Effect on color and oxidative stability during chill storage packed in modified atmosphere. **European Food Research and Technology**, v. 222, p.486-491, 2006.

APHA – **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 2001. Edited by: Frances Pouch, 4^a edition.

APICHARTSRANGKON, A. Effects of high pressure on rheological properties of soy proteins gels. **Food Chemistry**, v.80, p.55-60, 2003.

APICHARTSRANGKON, A., BELL, A.E., LEAWARD, D.A., SCHOFIELD, J.D. Dynamic viscoelastic behavior of high pressure treated wheat gluten. **Cereal Chemistry**, v.76(5), p.777-782, 1999.

ARIMA, H.K.; NETO, M.P. Curso sobre qualidade e processamento de presunto cozido e apresuntado. **Curso para produtos cárneos**. Instituto de Tecnologia de Alimentos - **ITAL**, p.121, 1995.

AOAC- **Association of Official Analytical Chemists**, Method 922.06, 2000. Acid Hydrolysis Method.

AOAC- **Association of Official Analytical Chemists**, Method 923.03, 2005.

BARBOZA, L.M.V.; FREITAS, R.J.S.; WAZSCZYNSKYJ, NINA. Desenvolvimento de Produtos e Análise Sensorial. **Brasil Alimentos**, n.8, p.34, janeiro/fevereiro 2003.

BARBOSA-CÁNOVAS, G.V., RODRÍGUEZ, J.J. Update on nonthermal food processing technologies, irradiation and ultrasound. **Food Australia**, Australia, v.54, p.11, 2002.

BORCH, E., KANT-MUERMANS, M.L., BLIXT, Y. Bacterial spoilage of meat and cured meat products. **International Journal of Food Microbiology**, v.33, p.103-120, 1996.

BORENSTEIN, B. Potentiation of the ascorbate effect in pigment development. **Journal of Food Science**, v. 41, p.1054, 1965.

BORGOGNONE, M.G., BUSSI, J., HOUGH, G. Principal component analysis in sensory analysis: covariance or correlation matrix? **Food Quality and Preference**, v.12(1), p.323-326, 2001.

BOZOGLU, F.; APLAS, H.; KALETUNÇ, G. Injury recovery of foodborne pathogens in high hydrostatic treated milk during storage. **Immunology and Medical Microbiological**, v.40, p. 243-247, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária. **Portaria nº 210, de 10 de novembro de 1998**. Aprovar o Regulamento Técnico de Inspeção Tecnológica e Higiênico-Sanitária de Carne de Aves.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária. **Instrução Normativa, nº 20, de 31 de julho de 2000**, anexo VII – Regulamento Técnico de Qualidade e Identidade do Presunto.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Decreto n.30691, de 29 de março de 1952**. Aprova o novo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA).

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Decreto n.55871, de 26 de março de 1965**. Modifica o Decreto nº 50.040, de 24 de janeiro de 1961, referente as normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto nº 691, de 13 de março de 1962.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Instrução Normativa, nº 20 de 21/07/1999**. Métodos Analíticos para Controle dos Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997**. Aprova o Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares – definições, classificação e emprego.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 271, de 22 de setembro de 2005**. Aprova o Regulamento Técnico para Açúcares e Produtos para Adoçar.

BREDHOLT, S., NESBAKKEN, T., HOLCK, A. Industrial application of an antilisterial strain of *Lactobacillus sakei* as a protective culture and its effect on the sensory acceptability of cooked, sliced, vacuum-packaged meats. **International Journal of Food Microbiology**, v.66, p.191-196, 2001.

BUZRUL, S.; ALPAS, H. LARGETEAU, A. et al. Compression heating of selected pressure transmitting fluids and liquid foods during high hydrostatic pressure treatment. **Journal of Food Engineering**, v.85, p.466-472, 2007.

BUZRUL, S.; ALPAS, H. Modeling the synergistic effect of high pressure and heat on inactivation Kinetics of *Listeria innocua*: a preliminary study. **FEMS Microbiology Letter**, v.238, p.29-36, 2004.

CALDERÓN-MIRANDA, M.L.; GONZÁLEZ, M.F.S.M.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V.; SWANSON, B.G. Métodos no térmicos para procesamiento de alimentos: variables e inactivación microbiana. **Brazilian Journal of Food and Thecnology**, v.1, p.3-11, 1998.

CAMARGO, L.M.A.Q. **Efeito da alta pressão hidrostática sobre o pneumovírus aviário: queda da infectividade e manutenção da imunogenicidade**. UNICAMP, 2002. Tese : Doutorado em Biologia, UNICAMP, 2002.

CAMPOS, F.P; DOUSUALDO, G.L.; CRISTIANINI, M. Utilização da tecnologia de alta pressão no processamento de alimentos. **Brazilian Journal of Food and Thecnology**, v.6, n.2, p.351-357, 2003.

CARLEZ, A., ROSEC, J., RICHARD, N., CHEFTEL, J. Bacterial growth during chilled storage of pressure treated minced meat. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v. 27, p.48-54, 1994.

CARLEZ, A., VECIANA-NOGUES, T., & CHEFTEL, J.C. Changes in colour and myoglobin of minced beef meat due to high pressure processing. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v.28(5), p.528-538, 1995.

CARLEZ, A.; ROSEC, J.P.; CHEFTEL, J.C. High pressure inactivation of *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas fluorescens* and *Listeria innocua* in inoculated in minced beef muscle **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v.26, p.357-363, 1993.

CARPI, G., SQUARCINA, N., GOLA, S., ROVERE, P., PEDRIELLI, R.; BERGAMASCHI, M. (1999). Application of high pressure treatment to extend the refrigerated shelf-life of sliced cooked ham. **Industria Conserve**, v.74, p.327-339.

CAYRÉ, M. E. et al. Efeito de la proliferacion de bacterias lácticas sobre la calidad de las salsichas tipo viena. **Actas de la Reunion de Comunicaciones Cientificas y Tecnológicas**, v. VIII, p.139-142, 1999.

CECCHI, H. M. **Fundamentos Teóricos e Práticos em Análise de Alimentos**, Editora da Unicamp: Campinas, 1999.

CHAMBERS, E., BOWERS, J.R. Consumer perception of sensory qualities in muscle foods. **Food Technology**, 47, 116-120, 1993.

CHEACH, P.B., LEDWARD, D.A. High pressure effects on lipid oxidation in minced pork. **Meat Science**, v.43(2), p.123-134, 1996.

CHEFTEL, J.; CURIOLI, J. Effects of high pressure on meat: a review. **Meat Science**, p.46, n.3, p.211-236, 1997.

CHEFTEL, J.C. Review: high-pressure, microbial inactivation and food preservation. **Food Science and Technology International**, v.1, p.75-90, 1995.

CHEN, H. Temperature-assisted pressure, inactivation of *Listeria monocytogenes* in Turkey breast meat. **International Journal of Food Microbiological**, v.117, n.1, p.55-60, 2007.

CHEN, H.; HOOVER, D.G. Modeling the combined effect of high hydrostatic pressure on the mild heat on the inactivation kinetics of *Listeria monocytogenes* Scott A in whole milk. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.4, p.25-34, 2003.

CHEN, N.; SHELEF, L.A. Relationship between water activity, salts of lactic acid, and growth of *Listeria monocytogenes* in a model meat system. **Journal of Food Protection**, v. 55, p. 574-578, 1992.

CHIAVARO, E.; BONARDI, S. Tecnologia ad alta pressioni e trattamenti combinate pressione/temperatura. **Industrie Alimentari**, v. 38, n.384, p.921-925, 1999.

COSTA, M.C.; DELIZA, R.; ROSENTHAL, A. Revisão: Tecnologias não convencionais e o impacto no comportamento do consumidor. **Boletim do CEPPA**, v.17, n.2, p.187-210, 1999.

DAILLANT-SPINLER, B., MACFIE, H.J.H., BEYTS, P.K., HEDDERLEY, D. Relationships between perceived sensory properties and major preference directions of 12 varieties of apples from the southern hemisphere. **Food Quality and Preference**, v.7 (2), p.113-126, 1995.

DAMÁSIO, M.H.; COSTELL, E. Análisis sensorial descriptivo: Generación de descriptors y selección de catadores. **Revista Agroquímica de Tecnología de Alimentos**, v.31, n.2, p.165-178, 1991.

DAWSON, L.E.; GARTNER, R. Lipid oxidation in mechanically deboned poultry. **Food Technology**, 37(7), 112-6, 1983.

DONELLY, J.K.; ROBINSON, D.S. Invited review: Free radicals in foods. **Free Radic.Res.**, 22: 147-76, 1995.

DELIZA, R. Apostila de Curso. **Como conhecer e interpretar os desejos do consumidor**. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CTAA, p.49, 2004.

DOGMAN, C.; ERKMEN, O. High pressure inactivation Kinetics of *Listeria monocytogenes* inactivation in broth, milk, and peach and orange juice. **Journal of Food Engineering**, v.62, p.47-52, 2004.

DOGMAN, C.; ERKMEN, O. Ultra high hydrostatic pressure inactivation off *Escherichia coli* in milk, an orange and peach juice. **Food Science and Technology International**, v.9, n.6, p.403-405, 2003.

DONSÍ, G.; FERRARI, G.; DI MATTEO, M. High Pressure Stabilization of Orange Juice: Evaluation of the effects of process conditions. **Italian Food & Beverage Technology VIII**: 10-14, 1996.

EFFENBERGER, G. Tripas artificiales. In: *Ciencia y tecnología de la carne: teoría y práctica*. Zaragoza, Espanha. Editora Acribia, 1980.

EGAN, A. F. Lactic acid bacteria of meat and meat products. **Antonie van Leeuwenhoek**, v.49, p.327-336, 1983.

ESPUÑA, 2008. **Producción/ Alta Presión**. Disponível: <http://www.espuna.es/esp/home.htm>. Acesso: 10/12/2007.

FAO. **Aditivos que podem ser utilizados em gêneros alimentícios**. Food and Agriculture Organization on the United Nations. DIRETIVA 95/2/CE DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO, de 20 de fevereiro de 1995.

FARKAS, D.F.; HOOVER, D.G. High pressure processing. **Journal of Food Science**, Chicago, suplement, p.47-64, 2000.

FDA/CFSAN. **Food and Drug Administration/ Center Food Safety and Applied Nutrition**. Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies – High Pressure Processing. Disponível em: <<http://vm.cfsan.fda.gov/-comm/ift-hpp.html>> Acesso em: 24/11/2007.

FOGUEL, D. **Efeito da alta pressão hidrostática e baixas temperaturas em organismos e estruturas fotossintéticas**. UFRJ, 1993. Tese: Doutorado em Bioquímica. UFRJ, 1993.

FRANCO, B.D.G.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**, São Paulo, Editora Atheneu, 2003.

FRANZ, C. M. A. P., HOLY, A. Bacterial populations associated with pasteurized vacuum-packed Vienn sausages. **Food Microbiology**, p.165-174, 1996.

FREWER, L.J., HOWARD, C., SHEPHERD, R. Public concerns about general and specific applications of genetic engineering: risk, benefit and ethics. **Science Technology and Human values**, v.22 (1), p.98-124, 1997.

FREWER, L.J., MOLES, A., SABA, A. Public concerns about general and specific applications of general engineering: a comparative study between the UK and Italy. **Nutrition & Food Science**, v.1, p.19-29, 1998.

GARCIA-GRAELLS, C.; MASSEHALEK, B.; MICHIELIS, C.W. Inactivation of *Escherichia coli* in milk by high-pressure treatment in combination with antimicrobial peptides. **Journal of Food Protection**, v.62, p.1248-1254, 1999.

GARCIA-GRAELLS, V.; HAUBEN, E. J.A.; MICHIELS, C. W. High-pressure inactivation and sublethal injury of pressure-resistant *Escherichia coli* mutants in fruit juices. **Appl Environ Microbiol**, v.64, p.1566-1568, 1998.

GARRIGA, M.; AYMERICH, M.T.; COSTA, S.; MONFORT, J.M.; HUGAS, M. Bactericidal synergism through bacteriocins and high pressure in a meat model system during storage. **Food Microbiology**, v.19, p.509-518, 2002.

GARRIGA, M., GREBOL, M.T., AYMERICH, J.M., MONFORT, J.M., HUGAS, M. Microbial inactivation after high-pressure processing at 600 MPa in commercial meat products over its shelf life. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.5, p.451-457, 2004.

GASPAR, L.P. **Estudo do estado fusogênico, dos mecanismos de inativação e da desmontagem de nucleocapsídeos de vírus envelopados**. UFRJ, 2000. Tese: Doutorado em Ciências Biológicas (Química Biológica), UFRJ, 2000.

GEISE, J. Developments in beverage additives. **Food Technology, Chicago**, v.49. n.9, p.64-72, set.1995.

GERHARDT, U. **Aditivos e Ingredientes**. Tradução por Jaime E. Escobar. Zaragoza, Espanha, 1980.

GIRARD, J.P. **Tecnología de la carne y de los Productos Cárnicos**. Zaragoza, Espanha. **Editorial Acribia**, p.299, 1991.

GRANT, S.; PATTERSON, M.; LEDWARD, D. Food processing gets freshly squeezed. **Chemistry & Industry**, n.2, pp.55-58, 24 Jan.2000.

GREENHOFF, K., MACFIE, H.J.H. Preference mapping in practice. In H.J.H. MacFie, & D.M.H. Thpmson (Eds). **Measurement of food preferences** (pp.137-166). Glasgow: Blackie Academic & Professional, 1994.

GUINARD, J.X., UOTANI, B., SCHLICH, P. Internal and external mapping of preferences for commercial lager beers: comparison of hedonic ratings by consumers blind versus with knowledge of brand and price. **Food Quality and Preference**, v.12, p.243-255, 2001.

HELGESEN, H.; SOLHEIM, R.; NAES, T. Consumer preference mapping o dry fermented lamb sausages. **Food Quality and Preference**, v.8, n.2, p.97-109, 1997.

HEREMANS, K., SMELLER, L. Review: Protein structure and dynamic at high pressure. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1386, p.353-370, 1997.

HITE, B.H. (1899). The effect of pressure on the preservation of milk. **West Virginia Agricultural Experimental Station Bulletin**, v.58, p.15-35.

HITE, B.H., GILDDINGS, N.J., WEAKLEY, Jr., C.E. The effect of pressure on certain microorganisms encountered in the preservation of fruits and vegetables. **West Virginia University Agricultural Experiment Station Bulletins**, v.146, p.3-67, 1914.

HOLLEY, R.A. Impact of slicing hygiene upon shelf life and distribution of bacteria in vaccum packaged cured ham. **Food Microbiology**, Winnipeg, v.14, p.201-211, 1997.

HUGAS, M, GARRIGA, M., MONFORT, J.M. New mild technologies in meat processing: high pressure as a model technology. **Meat Science**, v.62 , p.359-371, 2002.

HUGAS, M. Bacteriocinogenic lactic acid bacteria for the biopreservation of meat and meat products. **Meat Science**, v.49, p.139-150, 1998.

HUSSON, F.; PAGES., J. Comparison of sensory profiles done by trained and untrained juries: methodology and results. **Journal of Sensory Studies**, v.18, p.453-464, 2003.

IFT. Institute of Food Technologists. Sensory Evaluation Division, 1994. **Journal of Food Science**, v.60, n.1, p.210-211, 1995.

IFT. Institute of Food Technologists. Sensory evaluation guide for testing food and beverage products. **Food Technology**, Chicago, v. 35, n.11, p.50-57, 1981.

ISSANCHOU, S.; LESSCHAEVE, I.; KOSTER, E.P. Screening individual ability to perform descriptive analysis of food products: basic statements and application to a camembert cheese descriptive panel. **Journal of Sensory Studies**, v.10, p.349-368, 1995.

JIMÉNEZ-COLMENERO, F., COFRADES, S., CARBALLO, J., FERNÁNDEZ, P., FERNÁNDEZ-MARTIN, F. Heating of chicken and pork meat batters under pressure conditions: protein interactions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46(11), p.4706-4711, 1998.

KALCHAYANAND, N.; SIKES, A. DUNNE, C.P.; RAY, B. Factors influencing death and injury of foodborne pathogens by hydrostatic pressure-pasteurization. **Food Microbiology** , v. 15, p.207-214, 1998.

KO, W.C. & HSU, K.C. Effect of high-pressure storage on the processing quality of tilapia meat. **Trends in High Pressure Bioscience and Biotechnology**, p. 411-416, 2002.

KRÖCHEL, L. Natural barriers for use in biopreservation. **Fleisch Wirtschaft International**, Frankfurt, n.2, p.36-38, 1999.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage t4. **Nature**, London, v. 227, p. 680-685, 1970.

LAWRIE, R. A. **Meat Science**. 4 ed., New York: Pergamon Press, p.265, 1998.

LECHOWICK R.V. Food safety implications of high hydrostatic pressure as food processing method. **Food Technology**, v.47, n.6, p.170-172, 1993.

LINTON, M., McCLEMENTS, J.M.J., PATTERSON, M.F. Changes in the microbiological quality of vacuum-packaged, minced chicken treated with high hydrostatic pressure. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.5, p.151-159, 2004.

LINTON, M.; MC CLEMENTS, J. M. J.; PATTERSON, M. F. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in orange juice using a combination of high pressure and mild heat. **J Food Protect**, v.62(3), p.277-279, 1999.

LÓPEZ-CABALLERO, M.E.; CARBALLO, J.; JIMÉNEZ-COLMENERO, F. Responses of *Pseudomonas fluorescens* to combined high pressure/ temperature treatments. **European Food Research Technology**, v.214, n.6, p.511-515, 2002.

LÓPEZ-CABALLERO, M.E.; CARBALLO, J.; JIMENEZ-COLMENERO. Microbiological changes in pressurized, prepackaged sliced cooked ham. **Journal of Food Protection**, v. 62(12), p.1411-1415, 1999.

MARCELLINI, A.M.B. **Desenvolvimento de suco de abacaxi (*Ananás comosus* (L.) Merrill) através da tecnologia de alta pressão hidrostática aplicada à polpa do fruto**. UNICAMP, Campinas, 2006. Dissertação: Mestrado em Alimentos e Nutrição.

MARCOS, B., AYMERICH, T., GUARDIA, M.D., GARRIGA, M. Assessment of high hydrostatic pressure and starter culture on the quality properties of low-acid fermented sausages. **Meat Science**, v.76, p.46-53, 2007.

MARBA. **O que é polifosfato?** Disponível em: <http://www.marba.com.br/html/034html>
Acesso em: 11/09/2007.

McEWAN, J.A.; HUNTER, E.A.; GEMERT, L.; J-van; LEA, P. Proficience testing for sensory profile panels: mensuring panel performance. **Food Quality and Preference**, v.13, n.3, p.181-190, 2002

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory Evaluation Techniques**. New York: Boca Raton, 2 ed., p.5, 1991.

MERTENS, B. Hidrostatic pressure treatment off food: equipment and processing. In: GOULD, G.W. (Ed.). **New methods off food preservation**. Glasgow: Chapman & Hall; 1995. p.135-158.

MONTEIRO, E.; TERRA N.N. Processamento de Presunto “Cook-in” de Cordeiros. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.29, n.4, p.721-725, 1999.

MEYER, R.S.; COOPER, K.L.; KNORR, D.; LELIEVELD, H.L.M. High pressure sterilization of foods. **Food Technology**, v.54 (11), p.67-72, 2000.

MOR-MUR, M., YUSTE, J. High pressure processing applied to cooked sausage manufacture: physical properties and sensory analusis. **Meat Science**, v.65, p.1187-1191, 2003.

MÜLLER, W.D. Curing as smoking: are they healthier processes today then use to be? **Fleischwirtschaft Interntional**, v.71, n.1, p.61-65, 1991.

MUÑOZ, A.M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. Sensory evaluation in quality control. New York: Van Nostand Reinhold, p.240, 1992.

NORMAS. Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físicos e químicos para análise de alimentos**, 3ª ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985.

NORONHA, R.L.F.A. A expectativa do consumidor e sua influência na aceitação e percepção sensorial de café solúvel. **Tese de doutorado**. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, SP, 130, 2003

NUTE, G.R., JONES, R.C.D., DRANSFIELD, E., WHELEHAN, O.P. Sensory characteristics of ham and their relationships with composition, visco-elasticity and strength. **International Journal of Food Science and Technology**, v22, p.461-476, 1987.

O'BRIEN, J.K.; MARSHALL, R.T. Microbiological quality of raw ground chicken processed at high isostatic pressure. **Journal of Food Protection**, v.59(2), p.146-150, 1996.

OKAFOR, P.N.; OGBONNA, V.I. Nitrate and nitrite contamination of water sources and juice fruit juices marketed in south-eastern Nigeria. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.16, p.213-218, 2003.

ORDÓÑEZ, J.A.P., ÁLVAREZ, L.F., SANZ, M.L.G., MINGUILLÓN, G.D.G.F., PERALES, L. de LA HOZ, & CORTECERO, M.D.S. (2005). **Tecnologia de Alimentos. Alimentos de origem animal**, v2. Editora: Artmed, Porto Alegre.

PALMIERI, L.C. **Estudo do enovelamento e agregação do monômero da proteína amiloidogênica transtirretina (M-TTR)**. UFRJ, 2005. Dissertação (Mestrado em Química Biológica), Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2005.

PALOU, E LÓPZ-MALO, A.; BARBOSA-CÁNOVAS, .G.V.; WELTI-CHANES, J.; SWANSON, B.G. Oscillatory high hydrostatic pressure inactivation of *Zygosaccharomyces bailii*. **Journal of Food Protection**, v.61, n.9, p.1213-1215, 1998.

PALOU, E.; LÓPES-MALO.; A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V.; SWANSON, B.G. High pressure treatment in food preservation. In: RAHMAN, M.S. (Org). **Handbook off food preservation**. New York, Marcel Dekker, , p.533-576, 1990.

PARDI, M.C., SANTOS, I.F., PARDI, H.S. **Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne**. V. II. Goiânia: CEGRAF; UFG, 1996.

PARISH, M.E. High pressure inactivation of *Saccharomyces cerevisiae*, endogenous microflora and pectinmethylesterase in orange juice. **Journal of Food Safety**, v.18, n.1, p.57-65, 1998.

PATTERSON, M.F.; QUINN, M.; SIMPSON, R.; GILMOUR .A. A sensitivity of vegetative pathogens to high hydrostatic pressure treatment in phosphate buffered saline and foods. **Journal of Food Protection**, v.58, n., p.524-529, 1995.

PATTERSON, M.F. Microbiology of pressure treated foods. **Journal of Applied Microbiology**, 98(6), 1400-1409, 2005.

PEARSON, A.M.; GILLET, P.A. **Processed Meats**. 3rd ed. New York: Chapman & Hall p.664, 1999.

PRÉSTAMO, G.; SANZ, P.D.; FONBERG-BROQZECK, M.; ARROYO, G. High pressure response of fruit jams contaminated with *Listeria monocytogenes*. **Letters in Applied Microbiology**, v.28, p. 313-316, 1999.

PIGGOT, J.R. Design questions in sensory and consumer science. **Food Quality and Preference**, v.6, p.217-220, 1995.

RAMIREZ-SAUREZ, J., MORRISSEY, M.T. Effect of high pressure processing (HPP) on shelf-life of albacore tuna (*Thunnus alalunga*) minced muscle. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 7(1-2), 19-27, 2006.

ROBERTSON, G.L. "Food packaging-principles and practice". **Marcel Dekker Inc**, New York, 1992.

ROSENTHAL, A.; SILVA, J.L. Alimentos sob pressão. **Engenharia de alimentos**, v.14, p.37-39, 1997.

RUBIO, B., MARTÍNEZ, B., GARCÍA-CACHÁN, M.D., ROVIRA, J., JAIME, I. The effects of high pressure treatment and of storage periods on the quality of vacuum-packed "salchichón" made of raw material enriched in monounsaturated and polyunsaturated fatty acids. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 8, p. 180-187, 2007.

RUBIO, B.; MARTÍNEZ, B.; GARCIA-CAHÁN, M.D.; ROVIRA, G. e JAIME, I. Effect of high pressure preservation on the quality of dry cured beef "Cecina de Leon".. **Innovative Foods Science & Emerging Technology**, v. 8, n.1, p.102-110, 2007.

RUUSUNEN, M. et al. Effect of sodium citrate, carboxymethyl cellulose and carrageenan levels on quality characteristics of low-salt and low-fat bologna type sausages. **Meat Science**, v.64, p.371-381, 2005.

RUUSUNEN, M.; POULANNE, E. Sodium in meat products. **International Congress of Meat Science and Technology**. University of Helsinki, Helsinki, Finland, 2004.

SAN MARTÍN, M.F.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V.; SWANSON, B.G. Food processing by high hydrostatic pressure. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.42, n.6, p.627-645, 2002.

SANGRONIS, E., POTHAKAMURY, U., RAMOS, A.M., IBARZ, A., BARBOSA-CÁNOVAS, G.V.; SWANSON, B.G. La alta presión hidrostática: una alternativa en el procesamiento no térmico de alimentos. **Alimentaria**, v.283, p.33-43, 1997.

SILVA, J.L.; WEBER, G. Pressure stability of proteins. **Annu. Rev. Phys. Chem**, v.44, p.89-113, 1993.

SCHEID, D. Cooked ham manufacture pumping, mechanical treatment and heat treatment. **Fleischwirtschaft**. Espanha, v.66, p.1022, 1986.

SERRA, X., GREBOL, N., GUÀRDIA, M.D., GUERRERO, L., GOU, L., MASOLIVER, P., GASSIOT, M., SÁRRAGA, C., MONFORT, J.M., ARNAU, J. High pressure applied to frozen ham at different process stages. 2. Effect on the sensory attributes and on the colour characteristics of dry-cured ham. **Meat Science**, 75, 21-28, 2007.

SERRA, X., SÁRRAGA, C., GRÈBOL, N., GUÀRDIA, M.D., GUERRERO, L., GOU, P., MASOLIVER, P., GASSIOT, M., MONFORT J.M., ARNAU, J. High pressure applied to frozen ham at different process stages. 1. Effect on the final physicochemical parameters and on the antioxidant and proteolytic enzyme activities of dry-cured ham. **Meat Science**, 75(1), 12-20, 2007.

SHERRY, A.E., PATTERSON, M.F. MADDEN, R.H. **Resistance of Samonellae to heat, high-pressure and irradiation stress**. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY (ICoMST), 48., Rome, 25-30 de agosto de 2002.

SILVEIRA, E.T.F.; BERAQUET, J.B.; ARIMA, H.K.; SLVA, R.Z.M.; TORRE, J.C.M.D.; YAMADA, E.A.; BOTTEZELLI, S.R. **Processamento Artesanal de Produtos com Carne Suína**. Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), Campinas, 1989.

SHIGEHISA, T., OHMORI, T., SAITO, A., TAJI, S., HAYASHI, R. Effects of high hydrostatic pressure on characteristics of pork slurries and inactivation of microorganisms associated with meat and meat products. **International Journal of Food Microbiology**, v.12, p.207-216, 1991.

SIRET, F. & ISSANCHOU, S. (2000). Traditional process: influence on sensory properties and on consumers' expectation and liking Application to 'pâté de campagne'. **Archives de Pédiatrie**, 7(4), 391-395.

SIU, G.M.; DRAPER, H.H. A survey of the malonaldehyde content of retail meats and fish. **Journal of Food Science**, v.43, p.1147-1149, 1978.

SLONGO, A.P. **Determinação da Vida de Prateleira e Análise Sensorial de Presunto Suíno Submetido ao Tratamento de Alta Pressão Hidrostática**. Tese, Santa Catarina, UFSC, 2008.

SMELT, J.; RIJKE, G. High pressure treatment as tool for pasteurization of foods. **High Pressure Biotechnology**, v.224, p.361-364, 1992.

SMELT, J.P.M. Recent advances in the microbiology of high pressure processing. **Trends in Food Science & Technology**, v.9, p.152-158, 1998.

SOLOMON, E.B; HOOVER, D.G. Inactivation of Campylobacter jejuni by high hydrostatic pressure. **Letter in Applied Microbiology**, v.38, p.505-509, 2004.

STEPHAN, M. P., SLONGO, A.P., DELIZA, R., ROSENTHAL, A. Adaptação de método de extração e caracterização das proteínas extraídas de presunto submetido à alta pressão. **Comunicado Técnico da Embrapa-CTAA**, 96, 1-3, 2006.

STONE, H., SIDEL, J. Sensory evaluation practices. Academic Press: New York. 3 ed., p.338, 1993.

STONE. H., SIDEL, J. Quantitative descriptive analysis: developments, applications and the future. **Food Technology**, 52(8), 48-52, 1998.

STONE. H., SIDEL, J. Sensory Evaluation Practices, Academic Press: New York, 2004.

TANZI, E., SACCANI, G., BARBUTI, S., GRISENTI, M.S., LORI, D., BOLZONI, S., et al. High-pressure treatment of raw ham. **Sanitation and impact on quality. *Industria Converse***, 79, 37-50, 2004.

TORRES, E.A.F.S.; OKANI, E.T. **Teste de TBA, Ranço em alimentos**. Universidade de São Paulo (USP), Faculdade de Saúde Pública, Departamento de Nutrição. Av.Dr. Arnaldo, 715 USP/FSP/HNT. 01246-904, São Paulo, eatorres@usp.br, p.10, 2000.

TUBOY, E.; LEOVICS, V.K.; GÁAL, O.; MÉSZÁROS, L.; FARKAS, J. Microbiological and lipid oxidation studies an mechanically deboned turkey meat treated by high hydrostatic pressure. *Journal of Food Engineering*, v. 56, p.241-244, 2003.

VARNAMM, A.H.; SUTHERLAND, J.L. Meat and meat products. **Technology, Chemistry and Microbiology**, Ldon: Cahpman & Hall, 430p., 1995.

VERMEIREN, L., DEVLIEGHERE, F., DEBEVERE, J. Evaluation of meat born lactc acid bacteria as protective cultures for the biopreservation of cooked meat products. **International Journal of Food Microbiology**, v.96, p.149-164, 2004.

WICK, M. et. al. Dietary supplementation of vitamin and affects the peroxide value of subcutaneous lamb fat. **Journal of Muscle Foods**, v.12, p.237-243, 2001.

WLLIANS, A. New Technologies in Food Preservation and Processing: Part II. **Nutrition & Food Science**, v.1, p.20-23, 1994.

YACKINOUS, C.; WEE, C.; GUINARD, J.X. Internal preference mapping of hedonic ratings for Ranch salad dressing varing in fat ad garlic flavor. **Food Quality and Preference**, v.10, p.401-409, 1999.

YUSTE, J., MOR-MUR, M., CAPELLAS, M., GUAMIS, B., PLA, R. Mechanically recovered poultry meat sausages manufactured with high hydrostatic pressure. **Poultry science**, v.78, p.914-921, 1999.

VIEIRA, S. **Análise de variância (ANOVA)**. São Paulo: Atlas, 2006. 204 p.

YAMAMOTO, K., YOSHIDA, Y., MORITA, J., YASSUI, T. Morphological and physicochemical changes in the myosin molecules induced by hydrostatic pressure. **Journal of Biochemistry**, 116, 215-220, 1994.

ZIMMERMAM, F., BERGMAN, C. Isostatic high-pressure equipment for food preservation. **Food Technology**, 47(6), 162-163, 1993.

ZIMMERMAM, L.; KENDALL, P.; STONE, M.; HOBAN, T. Consumer knowledge and concern about biotechnology and food safety. **Food Technology**, v.48, n.11, p.71-77, 1994.