

CRISTINA MARIA TEIXEIRA SARAIVA

**INFLUÊNCIA DO pH FINAL E TIPO DE EMBALAGEM NA
CONSERVAÇÃO DE CARNE DE BOVINO DA RAÇA MARONESA**

**Parâmetros microbiológicos, físico-químicos,
sensoriais e fracção volátil**

Dissertação apresentada à Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro para obtenção do grau de Doutor em Ciências Veterinárias, de acordo com o disposto no Decreto-Lei nº 216/92 de 13 de Outubro.



**UNIVERSIDADE DE TRÁS-OS-MONTES E ALTO DOURO
VILA REAL, 2008**

Aos meus pais e irmãs

À minha filha Filipa

Agradecimentos

Pela contribuição para a realização desta tese de Doutoramento, gostaria de expressar o meu sincero agradecimento:

Ao Professor Doutor Armando Mascarenhas Ferreira, na qualidade de Reitor da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, pelas facilidades concedidas na realização deste trabalho.

À Professora Doutora Conceição Martins, pela orientação científica desta tese de Doutoramento, pelas valiosas sugestões críticas e ensinamentos, pelo apoio constante e imprescindível à realização deste trabalho, pelo estímulo permanente, pela amizade e pelo exemplo de força e determinação.

Ao Professor Doutor Jesús Ventanas, Director do departamento de Zootecnia da Faculdade de Veterinária da Universidade de Extremadura, pela forma como tão prontamente me recebeu no Laboratório de Tecnologia Alimentar, pelas facilidades concedidas e interesse demonstrado no decurso do trabalho experimental. À Professora Doutora Cármen García agradeço todo o empenho e ensinamentos no âmbito das técnicas de avaliação da fracção volátil, assim como a amizade e incentivo.

Ao Instituto Nacional de Investigação Agrária e das Pescas (INIAP), Programa Agro, Medida 8 - Desenvolvimento Tecnológico e Demonstração, Acção 8.1 - Desenvolvimento Experimental e Demonstração (DE&D) pelo suporte financeiro de parte deste trabalho.

Ao Centro de Estudos de Ciências Agrárias e Veterinárias (CECAV), na pessoa do Professor Doutor Arnaldo Dias da Silva, queria agradecer o suporte financeiro concedido para a deslocação a Cáceres no âmbito deste trabalho.

À Cooperativa Agrícola de Vila Real – Agrupamento de produtores "Carne Maronesa-DOP", na pessoa do Professor Doutor Virgílio Alves, bem como da Eng^a Marília Olhero, pelas facilidades concedidas.

À Empresa HAFRI pela cedência do material de embalagem.

Ao colega António Silva, pela constante disponibilidade, pela objectividade e rigor científico nas sugestões críticas apresentadas no decurso deste trabalho. Pelo apoio na execução de algumas tarefas laboratoriais, bem como pela amizade incondicional.

Ao colega Luís Patarata, pela amizade, precioso espírito crítico e clareza nas sugestões apresentadas, bem como pela ajuda imprescindível no tratamento estatístico de dados.

Às colegas Alexandra Esteves, Conceição Fontes e Madalena Vieira-Pinto, pelas palavras encorajadoras, pela amizade e incentivo que sempre me dispensaram. À colega Conceição Fontes agradeço ainda a ajuda em algumas tarefas laboratoriais.

À D. Ana Leite e Sr. Felisberto Borges pelo empenho e dedicação com que colaboram na execução de algumas tarefas laboratoriais e pela amizade sincera com que sempre me distinguiram.

Às minhas estagiárias Elisabete Madureira e Cristina Jardim pela dedicação e amizade e pela execução de algumas tarefas laboratoriais no âmbito do seu estágio final de licenciatura integrado neste e noutros trabalhos.

À D. Graça Santos pelo apoio prestado na informatização de dados, assim como à D. Delmina Fraga por toda a colaboração.

Aos serviços gráficos da UTAD, pelas facilidades concedidas na edição deste trabalho.

A todos os que integraram o painel de provadores, pela disponibilidade manifestada, empenho e dedicação com que participaram na realização das sessões de análise sensorial das amostras de carne.

Aos elementos que realizaram as provas de olfactometria, pela disponibilidade, profissionalismo, empenho e prontidão com que se disponibilizaram para integrar este painel.

À Ângela Jurado e Ana Galáz pelo apoio e estímulo constantes, pela colaboração, boa disposição e amizade tornando mais fácil a realização do trabalho laboratorial, bem como à Eva por todo o apoio, incentivo e amizade fundamental durante a minha estada em Cáceres.

Às minhas amigas Luísa e Fernanda pela força, incentivo permanente e por estarem sempre presentes particularmente nos momentos mais difíceis. À Fernanda agradeço o apoio dedicado na recta final da realização deste trabalho.

À minha amiga Dina, pela força, pela voz amiga e encorajadora, pelas palavras de ânimo e apoio ao longo destes anos. Pela amizade dedicada e incondicional, pela constante disponibilidade e por estar sempre presente nos momentos de alegria, mas particularmente nos momentos mais difíceis. Ao Juan, pelo apoio demonstrado e amizade.

Aos meus tios e primos pela constante disponibilidade, paciência e apoio incondicional, e por estarem presentes de uma forma tão especial ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

Às minhas irmãs pelo apoio constante e incentivo inesgotável e determinado. Pelos afectos e laços de união que se mantêm sempre firmes, sejam eles sempre o nosso porto seguro.

Aos meus pais pela dádiva constante e silenciosa, pelo apoio permanente, pelo amor incondicional, âncora, suporte e força em todos os momentos da minha vida.

À minha filha Filipa, pedra basilar da minha vida, cujo amor infindável alimenta as minhas forças.

A todos os que de alguma forma contribuíram, directa ou indirectamente, para a realização deste trabalho, o meu sincero agradecimento.

Índice

ÍNDICE DE QUADROS	VII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XI
RESUMO	XV
ABSTRACT	XVII
I. INTRODUÇÃO	1
II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
II.1. DETERIORAÇÃO DE CARNE FRESCA	7
II.1.1. Factores que afectam a deterioração da carne.....	8
II.1.2. Microbiota da carne.....	9
II.1.2.1. Origem da contaminação.....	9
II.1.2.2. Disponibilidade de substrato(s) no ecossistema “carne”.....	10
II.1.2.3. Principal microflora deteriorativa da carne - o papel dos microrganismos específicos da deterioração (MED)	12
II.1.2.3.1. Bactérias do ácido láctico (BAL)	13
II.1.2.3.2. <i>Brochothrix thermosphacta</i>	14
II.1.2.3.3. <i>Enterobacteriaceae</i>	15
II.1.2.3.4. <i>Pseudomonas</i> spp.	15
II.1.2.3.5. <i>Acinetobacter/Moraxella</i>	17
II.1.2.3.6. <i>Shewanella putrefasciens</i>	17
II.1.2.3.7. Fungos.....	18
II.1.2.4. Padrões deteriorativos e interacção dos MED em carne fresca.....	18
II.1.2.5. Consequências organolépticas da deterioração microbiana na carne armazenada	20
II.1.3. Deterioração enzimática endógena.....	21
II.1.4. Oxidação lipídica	22
II.2. APLICAÇÃO DE TÉCNICAS DE EMBALAGEM EM ATMOSFERAS MODIFICADAS A CARNE FRESCA	25
II.2.1. Tipos de embalagem	26
II.2.1.1. Embalagem em aerobiose	27
II.2.1.2. Embalagem em atmosfera modificada (AM).....	28
II.2.1.2.1. Embalagem sob vácuo.....	29
II.2.1.2.2. Embalagem em AM com gás	31
II.2.1.2.2.1. Oxigénio	32
II.2.1.2.2.2. Dióxido de carbono	33
II.2.1.2.2.3. Azoto	35
II.2.1.2.2.4. Monóxido de carbono.....	35
II.3. SEGURANÇA SANITÁRIA DE CARNE FRESCA EMBALADA EM ATMOSFERAS MODIFICADAS.....	37

III. TRABALHO EXPERIMENTAL.....	41
III.1. INTRODUÇÃO	43
III.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	45
III.2.1. Delineamento experimental.....	45
III.2.1.1. Amostragem	45
III.2.1.2. Preparação, embalagem e acondicionamento das amostras	45
III.2.2. Determinações microbiológicas.....	46
III.2.2.1. Preparação das diluições e sementeira.....	46
III.2.2.2. Contagem de bactérias do ácido láctico	47
III.2.2.3. Contagem de <i>Brochothrix thermosphacta</i>	47
III.2.2.4. Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	47
III.2.2.5. Contagem de <i>Pseudomonas</i> spp.	47
III.2.2.6. Contagem de fungos (bolores e leveduras).....	48
III.2.2.7. Contagem de microrganismos mesófilos (aeróbios totais a 30°C)	48
III.2.2.8. Contagem de microrganismos psicrotróficos (aeróbios totais a 7°C).....	48
III.2.3. Determinações físico-químicas.....	48
III.2.3.1. pH.....	48
III.2.3.2. Coordenadas de cor L*a*b*	48
III.2.3.3. Azoto básico volátil total (ABVT)	49
III.2.4. Análise sensorial	49
III.2.5. Análise da fracção volátil.....	50
III.2.5.1. Compostos voláteis identificados por HS-SPME-GC-MS.....	50
III.2.5.1.1. Extracção dos compostos voláteis por HS-SPME	50
III.2.5.1.2. Separação e identificação dos compostos voláteis por GC-MS	50
III.2.5.2. Odores activos e compostos voláteis detectados por HS-SPME-GC-MS/GC-O	51
III.2.5.2.1. Extracção dos compostos voláteis por HS-SPME.....	51
III.2.5.2.2. Separação e identificação dos compostos voláteis e odores activos (GC-MS/GC-O).....	51
III.2.6. Análise dos dados	52
III.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
III.3.1. Parâmetros microbiológicos	53
III.3.1.1. Bactérias do ácido láctico	53
III.3.1.2. <i>Brochothrix thermosphacta</i>	58
III.3.1.3. <i>Enterobacteriaceae</i>	64
III.3.1.4. <i>Pseudomonas</i> spp.	68
III.3.1.5. Fungos.....	72
III.3.1.6. Microrganismos mesófilos	75
III.3.1.7. Microrganismos psicrotróficos	80

III.3.1.8. Relação entre os grupos de microrganismos nas diferentes condições de ensaio	83
III.3.2. Parâmetros físico-químicos	91
III.3.2.1. pH	91
III.3.2.2. ABVT	93
III.3.2.3. Coordenadas de cor L*a*b*	96
III.3.2.3.1. Parâmetro L* (L ₀ *, L ₆₀ * e ΔL*)	96
III.3.2.3.2. Parâmetro a* (a ₀ *, a ₆₀ * e Δa*)	105
III.3.2.3.3. Parâmetro b* (b ₀ *, b ₆₀ * e Δb*)	115
III.3.3. Parâmetros sensoriais	125
III.3.3.1. Aspecto da carne avaliada pelo painel	125
III.3.3.1.1. Cor	125
III.3.3.1.2. Superfície de descoloração	148
III.3.3.3. Cheiro avaliado pelo painel	153
III.3.3.3.1. Intensidade de cheiro a deteriorado	154
III.3.3.3.2. Tipo de cheiro detectado	157
III.3.3.4. Apreciação global avaliada pelo painel	168
III.3.3.5. Relação entre o tipo de cheiro detectado com o cheiro a deteriorado e a apreciação global	175
III.3.4. Análise multifactorial de dados microbiológicos, físico-químicos e sensoriais	177
III.3.5. Composição da fracção volátil	183
III.3.5.1. Compostos voláteis detectados por HS-SPME-GC-MS	184
III.3.5.1.1. Ácidos e ésteres	185
III.3.5.1.2. Aldeídos	187
III.3.5.1.3. Cetonas	190
III.3.5.1.4. Álcoois	193
III.3.5.1.5. Hidrocarbonetos	195
III.3.5.1.6. Compostos sulfurados e compostos azotados	197
III.3.5.1.7. Furanos e lactonas	198
III.3.5.1.8. Terpenos	200
III.3.5.2. Compostos com odor activo detectados por HS-SPME-GC-MS/ GC-O	200
III.3.6. Análise multifactorial da composição da fracção volátil com variáveis contínuas	205
III.4. CONCLUSÕES	211
BIBLIOGRAFIA	215

ANEXOS.....	239
ANEXO A.I. Fichas de análise sensorial	241
ANEXO A.II. Análise de variância para os parâmetros microbiológicos, físico-químicos e sensoriais	243
ANEXO A.III. Estatística descritiva para os parâmetros microbiológicos físico-químicos e sensoriais (média±DP).....	251
ANEXO A.IV. Coeficientes de correlação (r) de Pearson (posição inferior à diagonal) e significância (Sig., posição superior à diagonal) para os parâmetros microbiológicos, físico-químicos e sensoriais.....	267
ANEXO A.V. Análise de variância para os compostos da fracção volátil.....	268
ANEXO A.VI.- Estatística descritiva para os compostos da fracção volátil	272

Lista de abreviaturas

a.a. – Aminoácido
ABVT – Azoto básico volátil total
ACP – Análise de componentes principais
AM – Atmosfera modificada
BAL – Bactérias do ácido láctico
BT – *Brochothrix thermosphacta*
CARB/PDMS – Carboxen/ Polidimetilsiloxano
COMb – Carboximioglobina
CP – Componente principal
DFD – Escura, firme e seca (*Dark, Firm and Dry*)
DFDmod – DFD moderado
DP – Desvio padrão
EAC – Embalagem em atmosfera controlada
EAEM – Embalagem em atmosfera equilibrada modificada
EP – Erro padrão
eV – electrovolts
F – Teste-F (Fisher)
FD – Frequência de detecção
CG – Cromatografia gasosa (*GC Gas Chromathography*)
GL – Graus de liberdade
h – Hora
h.r. – Humidade relativa
HS – Espaço de cabeça (*Headspace*)
ICMS – *International Commission for Microbial Specifications in Food*
IK – Índice de Kovats
ISO – *International Organization for Standardization*
M.M. – Massa molecular
m/v – Massa por volume
MED – Microrganismos específicos de deterioração
min – Minuto
MMb – Metamioglobina
EM– Espectro de massa (*MS Mass Spectrum*)
O – Olfactometria
OMb – Oximioglobina
OR – Odds ratio
p – Probabilidade
PF – Peso factorial
pH_f – pH final medido às 24 horas *post mortem*
pm – *post mortem*
pO₂ – Pressão parcial de oxigénio
ppm – Partes por milhão
PR – Padrão de referência
PSE – Pálida, mole e exsudativa (*Pale, Soft and Exudative*)
QM – Quadrados médios
r – Coeficiente de correlação
r.p.m. – Rotações por minuto
Sig. – Significância
SPME – Microextração em fase sólida (*Solid Phase Microextraction*)
SQ – Soma dos quadrados dos desvios para a média
UAA – Unidades arbitrárias de área
ufc – Unidades formadoras de colónias
V – Volts

Índice de quadros

Quadro 1- Substratos utilizados por microrganismos responsáveis pela deterioração da carne em condições de aerobiose e de anaerobiose (adaptado de Nychas <i>et al.</i> , 1998).....	11
Quadro 2- Terminologias usadas nas técnicas de embalagem em atmosfera modificada com uma descrição sumária das suas características (adaptado de Phillips, 1996).	27
Quadro 3- Vida útil comercial estimada para carne normal e DFD em refrigeração e capacidade de desenvolvimento de alguns microrganismos em diferentes tipos de embalagem (adaptado de Borch <i>et al.</i> , 1996).	35
Quadro 4- Amostragem de acordo com o tipo de embalagem e tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento para cada grupo de pH _f (Normal, DFDmod e DFD)	46
Quadro 5- Contagens de BAL expressas em log ufc/g (média ± desvio padrão), de acordo com o grupo de pH _f e com o tipo de embalagem, antes da embalagem (t ₁) e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.....	53
Quadro 6- Contagens de <i>Brochothrix thermosphacta</i> expressas em log ufc/g (média ± desvio padrão), de acordo com o grupo de pH _f e com o tipo de embalagem, antes da embalagem (t ₁) e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.....	59
Quadro 7- Contagens de <i>Enterobacteriaceae</i> expressas em log ufc/g (média ± desvio padrão), de acordo com o grupo de pH _f e com o tipo de embalagem, antes da embalagem (t ₁) e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.....	65
Quadro 8- Contagens de <i>Pseudomonas</i> spp. expressas em log ufc/g (média ± desvio padrão), de acordo com o grupo de pH _f e com o tipo de embalagem, antes da embalagem (t ₁) e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.....	68
Quadro 9- Contagens de fungos expressas em log ufc/g (média ± desvio padrão), de acordo com o grupo de pH _f e com o tipo de embalagem, antes da embalagem (t ₁) e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.....	73
Quadro 10- Contagens de microrganismos mesófilos expressas em log ufc/g (média ± desvio padrão), de acordo com o grupo de pH _f e com o tipo de embalagem, antes da embalagem (t ₁) e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.....	76
Quadro 11- Contagens de microrganismos psicotróficos expressas em log ufc/g (média ± desvio padrão) de acordo com o grupo de pH _f e com o tipo de embalagem, antes da embalagem (t ₁) e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.....	81
Quadro 12- Médias (± desvio padrão) para o pH, de acordo com o grupo de pH _f e o tipo de embalagem, no t ₁ e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.....	91
Quadro 13- Médias (± desvio padrão) para o ABVT (mg NH ₃ /100g), de acordo com o grupo de pH _f e com o tipo de embalagem, no t ₁ e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.....	94
Quadro 14- Médias (± desvio padrão) para o parâmetro L ₀ [*] , de acordo com o grupo de pH _f e com o tipo de embalagem, no t ₁ e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.....	96
Quadro 15- Médias (± desvio padrão) para o parâmetro L ₆₀ [*] , de acordo com o grupo de pH _f e com o tipo de embalagem, no t ₁ e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.....	99
Quadro 16- Médias (± desvio padrão) para o parâmetro ΔL [*] , de acordo com o grupo de pH _f e com o tipo de embalagem, no t ₁ e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.....	102
Quadro 17- Médias (± desvio padrão) para o parâmetro a ₀ [*] , de acordo com o grupo de pH _f e com o tipo de embalagem, no t ₁ e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.....	105
Quadro 18- Médias (± desvio padrão) para o parâmetro a ₆₀ [*] , de acordo com o grupo de pH _f e com o tipo de embalagem, no t ₁ e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.....	109

Quadro 19- Médias (\pm desvio padrão) para o parâmetro Δa^* , de acordo com o grupo de pH _f e com o tipo de embalagem, no t ₁ e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.....	113
Quadro 20- Médias (\pm desvio padrão) para o parâmetro b ₀ [*] , de acordo com o grupo de pH _f e com o tipo de embalagem, no t ₁ e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.....	116
Quadro 21- Médias (\pm desvio padrão) para o parâmetro b ₆₀ [*] , de acordo com o grupo de pH _f e com o tipo de embalagem, no t ₁ e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.....	119
Quadro 22- Médias (\pm desvio padrão) para o parâmetro Δb^* , de acordo com o grupo de pH _f e com o tipo de embalagem, no t ₁ e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.....	122
Quadro 23- Médias (\pm desvio padrão) para a cor vermelho-vivo avaliada pelo painel, na carne embalada (E), de acordo com o grupo de pH _f e com o tipo de embalagem, no t ₁ e ao longo do tempo de armazenamento.....	125
Quadro 24- Médias (\pm desvio padrão) para a cor vermelho-vivo avaliada pelo painel, 60 min após abertura da embalagem, de acordo com o grupo de pH _f e com o tipo de embalagem, no t ₁ e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.....	129
Quadro 25- Médias (\pm desvio padrão) para a cor vermelho-escuro avaliada pelo painel, na carne embalada (E), de acordo com o grupo de pH _f e com o tipo de embalagem, no t ₁ e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.....	132
Quadro 26- Médias (\pm desvio padrão) para a cor vermelho-escuro avaliada pelo painel, 60 min após abertura da embalagem, de acordo com o grupo de pH _f e com o tipo de embalagem, no t ₁ e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.....	135
Quadro 27- Médias (\pm desvio padrão) para a cor púrpura avaliada pelo painel, na carne embalada (E), de acordo com o grupo de pH _f e com o tipo de embalagem, no t ₁ e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.	138
Quadro 28- Médias (\pm desvio padrão) para a cor púrpura avaliada pelo painel, 60 min após abertura da embalagem, de acordo com o grupo de pH _f e com o tipo de embalagem, no t ₁ e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.....	140
Quadro 29- Médias (\pm desvio padrão) para a cor castanha (E) avaliada pelo painel, na carne embalada, de acordo com o grupo de pH _f e com o tipo de embalagem, no t ₁ e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.	142
Quadro 30- Médias (\pm desvio padrão) para a cor castanha avaliada pelo painel, após 60 min da abertura da embalagem, de acordo com o grupo de pH _f e com o tipo de embalagem, no t ₁ e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.....	146
Quadro 31- Médias (\pm desvio padrão) para a superfície de descoloração (E), avaliada pelo painel, na carne embalada, de acordo com o grupo de pH _f e com o tipo de embalagem, no t ₁ e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.....	149
Quadro 32- Médias (\pm desvio padrão) para a superfície de descoloração, avaliada pelo painel, após 60 min da abertura da embalagem, de acordo com o grupo de pH _f e com o tipo de embalagem, no t ₁ e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.	151
Quadro 33- Médias (\pm desvio padrão) para o cheiro a deteriorado, avaliado pelo painel, de acordo com o grupo de pH _f e com o tipo de embalagem, no t ₁ e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.	154
Quadro 34- Frequências (%) e significâncias do teste Qui-quadrado para o cheiro a pútrido detectado pelo painel, para cada tipo de embalagem e grupo de pH _f , no t ₁ e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.	158
Quadro 35- Frequências (%) e significâncias do teste Qui-quadrado para o cheiro ácido/fermentado detectado pelo painel, para cada tipo de embalagem e grupo de pH _f , no t ₁ e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.	160
Quadro 36- Frequências (%) e significâncias do teste Qui-quadrado para o cheiro amoniacal detectado pelo painel, para cada tipo de embalagem e grupo de pH _f , no t ₁ e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.	161

Quadro 37- Frequências (%) e significâncias do teste Qui-quadrado para o cheiro a ranço detectado pelo painel, para cada tipo de embalagem e grupo de pH _f , no t ₁ e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.	162
Quadro 38- Frequências (%) e significâncias do teste Qui-quadrado para o cheiro a manteiga detectado pelo painel, para cada tipo de embalagem e grupo de pH _f , no t ₁ e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.	163
Quadro 39- Frequências (%) e significâncias do teste Qui-quadrado para o cheiro a adocicado detectado pelo painel, para cada tipo de embalagem e grupo de pH _f , no t ₁ e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.	165
Quadro 40- Frequências (%) e significâncias do teste Qui-quadrado para o cheiro a outros detectado pelo painel, para cada tipo de embalagem e grupo de pH _f , no t ₁ e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.	166
Quadro 41- Médias (± desvio padrão) para a apreciação global (E) avaliada pelo painel, na carne embalada, de acordo com o grupo de pH _f e com o tipo de embalagem, no t ₁ e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento. .	168
Quadro 42- Médias (± desvio padrão) para a apreciação global avaliada pelo painel, 60 min após abertura da embalagem, de acordo com o grupo de pH _f e com o tipo de embalagem, no t ₁ e ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento.	171
Quadro 43- Resultados do modelo de regressão logística para o cheiro a deteriorado (classe de valores superiores à mediada em relação à dos inferiores) considerando os cheiros qualitativos como estimadores (classe de referência é a ausência do cheiro qualitativo).....	175
Quadro 44- Resultados do modelo de regressão logística para a apreciação global (classe de valores superiores à mediada em relação à dos inferiores) considerando os cheiros qualitativos como estimadores (classe de referência é a ausência do cheiro qualitativo).....	176
Quadro 45- Pesos factoriais, comunalidades e valores próprios da análise de componentes principais (ACP) estudada com 26 variáveis do ensaio.	177
Quadro 46- Compostos voláteis identificados por HS-SPME-CG-MS na totalidade das amostras de carne de bovino analisadas (n=32), de acordo com o índice de Kovats (IK).....	184
Quadro 47- Ácidos e ésteres detectados por SPME-GC-MS em amostras de carne, expressos em UAA x 10 ⁶ (média ± desvio padrão), de acordo com o grupo de pH _f , o tipo de embalagem (E) e o tempo (t) (dias <i>pm</i>) de armazenamento.....	185
Quadro 48- Aldeídos detectados por SPME-GC-MS em amostras de carne, expressos em UAA x 10 ⁶ (média ± desvio padrão), de acordo com o grupo de pH _f , o tipo de embalagem (E) e o tempo (t) (dias <i>pm</i>) de armazenamento.	187
Quadro 49- Cetonas detectadas por SPME-GC-MS em amostras de carne, expressos em UAA x 10 ⁶ (média ± desvio padrão), de acordo com o grupo de pH _f , o tipo de embalagem (E) e o tempo (t) (dias <i>pm</i>) de armazenamento.	191
Quadro 50- Álcoois detectados por SPME-GC-MS em amostras de carne, expressos em UAA x 10 ⁶ (média ± desvio padrão), de acordo com o grupo de pH _f , o tipo de embalagem (E) e o tempo (t) (dias <i>pm</i>) de armazenamento.	193
Quadro 51- Hidrocarbonetos detectados por SPME-CG-MS em amostras de carne, expressos em UAA x 10 ⁶ (média ± desvio padrão), de acordo com o grupo de pH _f , o tipo de embalagem (E) e o tempo (t) (dias <i>pm</i>) de armazenamento.....	195
Quadro 52- Compostos sulfurados e compostos azotados detectados por SPME-GC-MS em amostras de carne, expressos em UAA x 10 ⁶ (média ± desvio padrão), de acordo com o grupo de pH _f , o tipo de embalagem (E) e o tempo (t) (dias <i>pm</i>) de armazenamento.	197
Quadro 53- Furanos e lactonas detectados por SPME-GC-MS em amostras de carne, expressos em UAA x 10 ⁶ (média ± desvio padrão), de acordo com o grupo de pH _f , o tipo de embalagem (E) e o tempo (t) (dias <i>pm</i>) de armazenamento.....	199

Quadro 54- Terpenos detectados por SPME-GC-MS em amostras de carne, expressos em UAA x 10 ⁶ (média ± desvio padrão), de acordo com o grupo de pH _i , o tipo de embalagem (E) e o tempo (t) (dias <i>pm</i>) de armazenamento.	200
Quadro 55- Odores activos e compostos associados detectados por HS-SPME-GC-MS/GC-O na totalidade das amostras de carne de bovino analisadas (n=32).	201
Quadro 56- Frequências de detecção e significâncias do teste do Qui-quadrado para os odores activos em efluentes de GC, de acordo com o grupo de pH _i , o tipo de embalagem (E) e o tempo (t) (dias <i>pm</i>) de armazenamento.	203
Quadro 57- Pesos factoriais, comunalidades e valores próprios da análise de componentes principais (ACP) estudada com 40 variáveis do ensaio.	206

Índice de figuras

Figura 1- Evolução das contagens de BAL expressas em log ufc/g de acordo o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD), ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}).....	54
Figura 2- Evolução das contagens de <i>Brochothrix thermosphacta</i> expressas em log ufc/g de acordo o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD), ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}).....	59
Figura 3- Evolução das contagens de <i>Enterobacteriaceae</i> expressas em log ufc/g de acordo o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD), ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}).....	65
Figura 4- Evolução das contagens de <i>Pseudomonas</i> spp. expressas em log ufc/g de acordo o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD), ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}).....	69
Figura 5- Evolução das contagens de fungos expressas em log ufc/g de acordo o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD), ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}).....	73
Figura 6- Evolução das contagens totais de mesófilos expressas em log ufc/g de acordo o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD), ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}).....	76
Figura 7- Evolução das contagens totais de psicrotróficos expressas em log ufc/g de acordo o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD), ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}).....	82
Figura 8- Evolução da microbiota, expressa em log ufc/g, de acordo o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD), ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}).....	85
Figura 9- Evolução do pH ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}), de acordo com o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD).....	92
Figura 10- Evolução do ABVT ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}), de acordo com o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD).....	94
Figura 11- Interação grupo de pH _f e tipo de embalagem para o ABVT no t ₇ , t ₁₀ e t ₁₄ (médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; p<0,05).....	95
Figura 12- Evolução do parâmetro L ₀ * ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}), de acordo com o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD).....	97
Figura 13- Evolução do parâmetro L ₆₀ * ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}), de acordo o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD).....	100
Figura 14- Evolução do parâmetro ΔL* ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}), de acordo o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD).....	103
Figura 15- Interação grupo de pH _f e tipo de embalagem para o parâmetro ΔL* no t ₇ (médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; p<0,05).....	104

Figura 16- Evolução do parâmetro a_0^* ao longo do tempo (dias pm) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}), de acordo o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD).....	106
Figura 17- Interação grupo de pH _f e tipo de embalagem para o parâmetro a_0^* no t_3 , t_7 , t_{10} , t_{14} , t_{21} e t_{28} (em cada tempo, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; $p < 0,05$).....	108
Figura 18- Evolução do parâmetro a_{60}^* ao longo do tempo (dias pm) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}), de acordo o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD).....	110
Figura 19- Interação grupo de pH _f e tipo de embalagem para o parâmetro a_{60}^* no t_7 , t_{10} , t_{14} , t_{21} e t_{28} (em cada tempo, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; $p < 0,05$).....	112
Figura 20- Evolução do parâmetro Δa^* ao longo do tempo (dias pm) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}), de acordo o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD).....	113
Figura 21- Interação grupo de pH _f e tipo de embalagem para o parâmetro Δa^* no t_3 , t_{10} , t_{14} , t_{21} e t_{28} (em cada tempo, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; $p < 0,05$).....	115
Figura 22- Evolução do parâmetro b_0^* ao longo do tempo (dias pm) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}), de acordo o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD).....	116
Figura 23- Interação grupo de pH _f e tipo de embalagem para o parâmetro b_0^* no t_3 , t_7 , t_{10} , t_{14} e t_{21} (em cada tempo, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; $p < 0,05$).....	118
Figura 24- Evolução do parâmetro b_{60}^* ao longo do tempo (dias pm) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}), de acordo o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD).....	120
Figura 25- Interação grupo de pH _f e tipo de embalagem para o parâmetro b_{60}^* no t_{10} , t_{14} , t_{21} e t_{28} (em cada tempo, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; $p < 0,05$).....	121
Figura 26- Evolução do parâmetro Δb^* ao longo do tempo (dias pm) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}), de acordo o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD).....	123
Figura 27- Interação grupo de pH _f e tipo de embalagem para o parâmetro Δb^* no t_{10} , t_{14} , t_{21} e t_{28} (em cada tempo, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; $p < 0,05$).....	124
Figura 28- Evolução da cor vermelho-vivo (E) ao longo do tempo (dias pm) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}), de acordo o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD).....	126
Figura 29- Interação grupo de pH _f e tipo de embalagem para a cor vermelho-vivo (E) no t_7 , t_{10} , t_{14} , t_{21} e t_{28} (em cada tempo, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; $p < 0,05$).....	128
Figura 30- Evolução da cor vermelho-vivo ao longo do tempo (dias pm) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}), de acordo o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD).....	129
Figura 31- Interação grupo de pH _f e tipo de embalagem para a cor vermelho-vivo no t_7 , t_{10} , t_{14} , t_{21} e t_{28} (em cada tempo, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; $p < 0,05$).....	131
Figura 32- Evolução da cor vermelho-escuro (E) ao longo do tempo (dias pm) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}), de acordo o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD).....	133
Figura 33- Interação grupo de pH _f e tipo de embalagem para a cor vermelho-escuro (E) no t_3 , t_7 , t_{10} e t_{21} (em cada tempo, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; $p < 0,05$).....	134

Figura 34- Evolução da cor vermelho-escuro, ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}), de acordo o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD).....	136
Figura 35- Interação grupo de pH _f e tipo de embalagem para a cor vermelho-escuro no t ₂₈ (médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; p<0,05).	137
Figura 36- Evolução da cor púrpura (E) ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}), de acordo o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD).....	138
Figura 37- Interação grupo de pH _f e tipo de embalagem para a cor púrpura (E) no t ₃ , t ₇ , t ₁₀ , t ₁₄ , t ₂₁ e t ₂₈ (em cada tempo, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; p<0,05).....	139
Figura 38- Evolução da cor púrpura ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}), de acordo o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD).....	141
Figura 39- Interação grupo de pH _f e tipo de embalagem para a cor púrpura no t ₂₁ (médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; p<0,05).....	142
Figura 40- Evolução da cor castanha (E) longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}), de acordo o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD).....	143
Figura 41- Interação grupo de pH _f e tipo de embalagem para a cor castanha (E) no t ₇ , t ₁₀ , t ₁₄ , t ₂₁ e t ₂₈ (em cada tempo, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; p<0,05).	145
Figura 42- Evolução da cor castanha ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}), de acordo o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD).....	146
Figura 43- Interação grupo de pH _f e tipo de embalagem para a cor castanha no t ₇ , t ₁₀ , t ₁₄ , t ₂₁ e t ₂₈ (em cada tempo, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; p<0,05).	148
Figura 44- Evolução da superfície de descoloração (E), ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}), de acordo o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD).	149
Figura 45- Interação grupo de pH _f e embalagem para a superfície de descoloração (E) no t ₂₁ (médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; p<0,05).	151
Figura 46- Evolução da superfície de descoloração ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}), de acordo o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD).....	152
Figura 47- Interação grupo de pH _f e tipo embalagem para a superfície de descoloração da carne no t ₂₁ (médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; p<0,05).	153
Figura 48- Evolução do cheiro a deteriorado ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}), de acordo o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD).....	155
Figura 49- Interação grupo de pH _f e tipo de embalagem para o cheiro a deteriorado no t ₂₁ e t ₂₈ (em cada tempo, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; p<0,05).	156
Figura 50- Evolução da apreciação global (E) longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}), de acordo o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD).....	169
Figura 51- Interação grupo de pH _f e tipo de embalagem para a apreciação global (E) no t ₇ , t ₁₀ , t ₁₄ e t ₂₁ (em cada tempo, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; p<0,05).....	170

Figura 52- Evolução da apreciação global ao longo do tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM _{70/20} , AM _{50/40} e AM _{30/60}), de acordo o grupo de pH _f da carne (Normal, DFDmod e DFD).....	172
Figura 53- Interação grupo de pH _f e tipo de embalagem para a apreciação global no t ₁₀ , t ₁₄ , t ₂₁ e t ₂₈ (em cada tempo, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; p<0,05).....	174
Figura 54- Pesos factoriais, após rotação, das variáveis originais para as duas primeiras CPs (parte superior) e primeira e terceira CPs (parte inferior).....	181
Figura 55- Projecção das observações no espaço definido pelas 3 primeiras componentes principais; parte superior CP 1 vs CP 2; parte inferior CP 1 vs CP 3.....	182
Figura 56- Interações: 3-metilbutanal (Ext); 2-metilbutanal (Ext); pentanal+heptano (pH _f xE; Ext) e nonanal (Ext), valores expressos em UAA x 10 ⁶ (em cada caso, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; p<0,05).	189
Figura 57- Interações: 2,3-pentanodiona (pH _f xE); 2,3-octanodiona (pH _f Ext) e 3,5-octanodiona (pH _f Ext), valores expressos em UAA x 10 ⁶ (em cada caso, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; p<0,05).	192
Figura 58- Interações: 3-metilbutanol (Ext); 1-pentanol (pH _f xE) e 1-hexanol (pH _f Ext), valores expressos em UAA x 10 ⁶ (em cada caso, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; p<0,05).	194
Figura 59- Interação: 3-metilpentano (pH _f xt), valores expressos em UAA x 10 ⁶ (médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; p<0,05).	196
Figura 60- Interação: 2-etilfurano (pH _f Ext), valores expressos em UAA x 10 ⁶ (médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; p<0,05).	199
Figura 61- Pesos factoriais, após rotação varimax, das variáveis da composição da fracção volátil, microbiológicas, químicas e sensoriais para as duas primeiras CPs (parte superior) e primeira e terceira CPs (parte inferior).....	207
Figura 62- Projecção das observações no espaço definido pelas 3 primeiras componentes principais obtidas a partir das variáveis da composição da fracção volátil, microbiológicas, químicas e sensoriais; parte superior CP 1 vs CP 2; parte inferior CP 1 vs CP 3 (os símbolos fora do referencial correspondem a localizações com coordenadas superiores à escala apresentada).....	208

Resumo

A carne de bovino é uma das que tem maior valor comercial no panorama das espécies pecuárias. Para além do valor intrínseco da carne de bovino, a sua origem associada a uma raça autóctone e a um sistema de produção ecologicamente sustentável, como é o caso da raça bovina Maronesa DOP, aumenta o seu valor comercial e a sua aceitabilidade. Porém, para poder explorar todo o potencial desse produto, é necessário assegurar que chega ao consumidor nas melhores condições, e encontrar formas de apresentação que tornem mais fácil e segura a sua distribuição por unidades comerciais que frequentemente não têm serviço de corte de carnes. Assim, a comercialização desta carne previamente embalada, num sistema que prolongue ao máximo a sua vida útil, preservando o seu aspecto natural, principal factor que determina a decisão de compra pelo consumidor pode ser vantajosa. Por outro lado, é conhecida a ocorrência de carnes de condição DFD no sistema de produção desta carne, cuja capacidade de conservação é previsivelmente inferior.

O presente trabalho teve como objectivo determinar quais as melhores condições de embalagem de carne de bovino Maronês DOP, de diferentes condições *post mortem* - Normal, DFD moderado e DFD. Desenhou-se um ensaio em que se embalou a carne destas condições *post mortem* em cinco tipos de embalagem diferente (aerobiose, vácuo, e 3 atmosferas modificadas, com uma proporção de O₂:CO₂ de 70:20, 50:40 e 30:60) e armazenadas a 4°C. As amostras foram analisadas às 24 h *post mortem*, imediatamente após a sua preparação, e ao fim de 3, 7, 10, 14, 21, 28 e 35 dias de armazenamento (os tempos mais avançados só incluíram as embalagens sob vácuo e AM_{30/60}). O ensaio foi conduzido com 6 repetições, correspondentes a 6 animais em cada unidade experimental.

Em cada tempo de análise determinou-se o teor em microrganismos potencialmente associados à deterioração da carne: Bactérias do ácido láctico, *Brochothrix thermosphacta*, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp., Fungos e totais mesófilos e psicrotrofos. Determinou-se o teor em azoto básico volátil total (ABVT) e as coordenadas de cor L*a*b*. Um painel de provadores analisou a carne imediatamente após a abertura das embalagens quanto à sua cor (em 4 escalas possíveis: vermelho-vivo, vermelho-escuro, púrpura e castanho), superfície de descoloração e apreciação global de frescura. Após 60 minutos de avermelhamento, as mesmas amostras voltaram a ser analisadas pelo painel, para as características supra-mencionadas e cheiro a deteriorado. Os provadores indicaram ainda qual a nota aromática específica que detectaram. Num subgrupo de amostras (t₁₀ e t₂₁; embalagens sob vácuo e AM_{70/20}; pH_f normal e DFD) determinou-se a composição da fracção volátil por HS-SPME-GC-MS, e detectou-se a nota aromática de alguns desses compostos por acoplamento de uma porta de olfactometria à técnica mencionada.

Verificou-se que a maioria da microflora foi influenciada pelos efeitos em estudo, não se verificando nenhuma interacção entre esses. Confirma-se a importância do pH_f da carne no comportamento de alguns microrganismos, determinando contagens superiores nas carnes com pH_f mais elevado - ainda que, em termos absolutos, essas diferenças se situem entre 1 e 2 log (ufc/g). O teor em CO₂ mostrou ser importante na inibição da maioria dos microrganismos.

A cor da carne foi muito influenciada pelo tipo de embalagem, pelo pH_f e pela interacção entre ambos, destacando-se a elevada ocorrência de colorações acastanhadas nas amostras de carne normal embalada em AM, ao contrário do observado em carnes com pH_f mais elevado, e, uma melhor recuperação da cor vermelha após abertura da embalagem sob vácuo nas carnes normais.

O cheiro a deteriorado foi determinado por notas a pútrido e a ácido/fermentado em carnes embaladas em aerobiose e sob vácuo, e a ranço nas carnes normais embaladas em AM. Observou-se existir nessas amostras uma associação entre o cheiro a ranço e a ocorrência de colorações castanhas. Essas notas aromáticas vieram a ser confirmadas pelos resultados da composição da fracção volátil, onde foram identificados vários compostos com origem provável na oxidação lipídica.

Demonstrou-se que o grupo de pH_f e o tipo de embalagem da carne de bovino de raça Maronesa tiveram uma marcada influência em diversos parâmetros associados à sua frescura. As soluções de embalagem que se mostraram mais eficazes foram o vácuo, para o tipo de carnes, e as atmosferas modificadas apenas para as carnes com pH_f elevado.

Palavras chave: carne de bovino, pH final, embalagem, vácuo, atmosfera modificada, deterioração, qualidade, cor, compostos voláteis.

Abstract

Beef has the highest commercial value among types of meat. Besides the intrinsic value of beef, when its origins can be traced to an autochthonous breed and to an environmentally sustainable production system, as observed in the case of Maronesa beef (Protected Designation Of Origin – PDO), its commercial value and acceptability are both increased. However, in order to exploit this product's full potential it is vital to ensure that it reaches the consumer in the best possible condition. Also, display strategies must be found that ensure the product's practical and safe distribution to commercial outlets, which frequently do not have meat-cutting facilities. Thus, the commercialization of this meat in a pre-packaged form, using a system that extends its shelf-life and preserves its appearance for longer -one of the main factors influencing consumers' choice-, might well be advantageous.

Additionally, in the production system of this meat is known the occurrence of DFD (Dark, Firm and Dry) condition, with a predictable reduction in the product's shelf-life. The objectives of this current study were to determine the best packaging strategies for Maronesa meat PDO, at different *post mortem* conditions: Normal, Moderate DFD and DFD. An experiment was designed which involved packaging meats from each *post mortem* condition category in 5 different types of packaging (aerobic, vacuum, and 3 modified atmospheres (MA) with a proportion of O₂:CO₂ of 70:20, 50:40 and 30:60) and stored at 4°C. Samples were analysed at 24 hours *post mortem*, immediately after preparation, and after 3, 7, 10, 14, 21, 28 and 35 days of storage (latter sampling times only included vacuum and MA_{30/60} packaging). Experiments were performed using 6 repetitions, corresponding to 6 animals in each experimental unit.

At each sampling point, the number of microorganisms potentially associated with meat spoilage was counted. These were: Lactic acid bacteria, *Brochothrix thermosphacta*, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp., Fungi and total mesophilic and psychrotrophic microflora. The level of total volatile basic nitrogen was evaluated as well as the colour coordinates L*a*b*. Sensory panellists evaluated the meat's colour immediately after opening the packaging (using 4 possible scales: cherry-red, dark-red, purple and brown); surface discolouration and a general freshness evaluation. After 60 minutes of blooming, the same samples were evaluated again for the same characteristics and for spoiled aroma. Panellists also indicated the specific aromatic note detected. In a sub-group of samples (t₁₀ and t₂₁, vacuum and MA_{70/20} packages; pH_f normal and DFD), the composition of the volatile fraction was determined by SPME-GC-MS, and the aroma of some of these compounds were detected using a sniffer coupled with the aforementioned technique.

It was observed that the majority of the microflora enumerated was influenced by both of the effects studied, but not by the interaction between the two. The importance of ultimate pH levels was confirmed in the behaviour of certain microorganisms; higher pH meats were associated with higher counts, representing absolute differences between 1 to 2 log (ufc/g). CO₂ concentration was an inhibitory factor for the majority of microflora studied. The colour of the meat was highly influenced by the packaging, the pH and the interaction between both. Brownish colours were observed in normal meat packaged under MA, in contrast to the red colour that high pH meat maintained; normal pH meat exhibited better blooming after vacuum packing was opened.

Spoilage smell was composed of putrid and sour aromatic notes in aerobic-packaged meat, and by rancidity in normal pH meat packaged under MA. In those samples, an association between brownish colours and rancid aromas was observed, which was subsequently confirmed by the composition of the volatile fraction that revealed several compounds with probable origins associated with lipid oxidation.

It was proven that the ultimate pH and packaging type of Maronesa beef meat influenced the various parameters that are associated with its freshness. The packaging that was revealed to be most efficient for all types of meat was vacuum packaging, and MA packaging for high pH meats.

Keywords: beef quality, ultimate pH, packaging, vacuum, modified atmosphere packaging, spoilage, colour, volatile compounds.

I. INTRODUÇÃO

A carne de bovino é uma das que tem maior valor comercial no panorama das espécies com aproveitamento pecuário. Para além do valor intrínseco da carne de bovino, a sua origem associada a uma raça autóctone e a um sistema de produção ecologicamente sustentável, como é o caso da raça bovina Maronesa DOP (Denominação de Origem Protegida), aumenta o seu valor comercial e a sua aceitabilidade. Porém, para poder explorar todo o potencial desse produto, é necessário assegurar que chega ao consumidor nas melhores condições e encontrar formas de apresentação que tornem mais fácil e segura a sua distribuição por unidades comerciais que frequentemente não têm serviço de corte de carnes. Assim, a comercialização desta carne previamente embalada, num sistema que prolongue ao máximo a sua vida útil, preservando o seu aspecto natural, principal factor que determina a decisão de compra pelo consumidor, pode ser vantajosa. Por outro lado, é conhecida a ocorrência de carnes de condição DFD no sistema de produção desta carne (Silva, 2006), cuja capacidade de conservação poderá ser afectada pelo pH final mais elevado.

A raça bovina Maronesa, cujo solar engloba a região correspondente às serras do Alvão, Marão e Padrela, é criada num sistema extensivo em pequenas explorações de tipo familiar, num regime misto de estabulação e pastoreio, com predomínio deste último. Este modo de produção, assenta num sistema de exploração de montanha, caracterizado pela altitude e minifundio, com recurso à utilização de baldios (Alves, 1993).

Neste estudo foram utilizados animais inscritos no Livro Geneológico da Raça Maronesa e cuja carne é comercializada com a designação "Carne Maronesa-DOP". Esta carne é referida como um produto de elevada qualidade, destacando-se os aspectos sensoriais (Olhero e Alves, 2004). De entre as diversas alternativas disponíveis para embalar estas carnes, encontram-se a tradicional embalagem sob vácuo - cuja utilização é limitada pelo aspecto pouco atractivo que a carne desenvolve - assim como embalagens sob atmosfera modificada, condicionando o desenvolvimento microbiano e o estado químico da mioglobina com a proporção do teor em dióxido de carbono e oxigénio. As condições ideais de embalagem devem ser determinadas experimentalmente para o produto específico que se pretende comercializar, pois as variações nos factores que determinam a sua eficácia, como a origem da carne, a idade dos animais, a peça da carcaça, a sua condição *post mortem*, podem tornar completamente inapropriada uma embalagem, quer por permitir o desenvolvimento da microflora deteriorativa precocemente, quer por contribuir para alterações da cor depreciadas pelo consumidor (Rao e Sachindra, 2002; McMillin, 2008).

II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

II.1. DETERIORAÇÃO DE CARNE FRESCA

A deterioração, como sinónimo de alteração de um alimento, pode ser considerada como qualquer modificação que pode converter um produto em inaceitável para o consumo humano. Nesta ampla perspectiva, pode ser devida a lesões físicas evidentes, danos provocados por insectos, consequências perceptíveis do desenvolvimento microbiano e/ou de modificações (bio)químicas, entre outros factores (Forsythe e Hayes, 1999).

A deterioração dos alimentos constitui uma das principais perdas económicas. Nos países desenvolvidos, a principal causa da deterioração é de natureza microbiana, estimando-se que esta acarrete a perda de um quarto das reservas mundiais de alimentos, representando um importante problema económico ainda sem controlo adequado, apesar dos avanços em tecnologias alimentares e da variedade de técnicas de preservação disponíveis (Huis in't Veld, 1996).

Com o objectivo de minorar a deterioração e poder prever a qualidade ou o tempo de conservação de um alimento, é essencial uma melhor compreensão dos factores e mecanismos que estão na base do processo deteriorativo, os quais ainda não estão totalmente esclarecidos. A identificação do estado de deterioração que permita a sua detecção antes que esta fosse perceptível do ponto de vista sensorial, constituiria na prática um grande progresso, levando a uma diminuição considerável de perdas e a um controlo mais eficiente dos produtos alimentares. É, contudo, difícil contemplar todas as situações que determinam a evolução do processo deteriorativo, uma vez que são vários os factores implicados (Huis in't Veld, 1996; Ercolini *et al.*, 2006).

Segundo Gill (1983) pode considerar-se que uma carne está deteriorada quando da acumulação de produtos da actividade metabólica de origem microbiana resultam em características organolépticas "ofensivas" para o consumidor. O aparecimento de modificações na aparência, tais como descolorações, formação de biofilme superficial e de odores e aromas desagradáveis são sinais de deterioração evidentes e os mais frequentemente referidos. A avaliação do rumo da deterioração estará sempre relacionada, seja directa ou indirectamente, a uma avaliação sensorial. As análises bioquímicas ou a um menor grau, as análises microbianas são menos dispendiosas mas objectivas e assim, mais vantajosas.

A microbiologia da deterioração dos alimentos tem recebido atenção considerável ao longo dos anos, e a caracterização da microflora típica nos diferentes tipos de alimentos durante o armazenamento tem sido documentada por diversos autores (Mossel *et al.*, 1995; Nychas *et al.*, 2008). Contudo, a relação entre a constituição da microflora e a presença dos seus metabolitos, conducentes à avaliação e à possível predição da deterioração de origem microbiana tem sido difícil de estabelecer. Índices microbianos e bioquímicos têm sido propostos e utilizados como medidas de avaliação da qualidade ou do grau de deterioração para um grupo limitado de produtos alimentares (Kakouri e Nychas, 1994; Dainty, 1996; Huis in't Veld, 1996; Byun *et al.*, 2000).

A deterioração é então um evento complexo, em que uma combinação de actividades microbianas e (bio)químicas podem interagir. Embora o factor mais importante da diminuição da qualidade da carne fresca e da sua deterioração seja o desenvolvimento microbiano, alguns fenómenos deteriorativos podem ocorrer sem implicação de microrganismos, tais como a degradação enzimática e outras alterações físico-químicas (Kennedy *et al.*, 2004).

II.1.1. Factores que afectam a deterioração da carne

A prevalência de determinados microrganismos ou associações microbianas na carne depende de várias condições que actuam durante o processamento, o transporte e o armazenamento da carne. Qualquer que seja o ecossistema do alimento, existem distintos tipos de causas ecológicas determinantes. Na carne, os parâmetros que afectam em particular a sobrevivência e/ou proliferação dos microrganismos podem ser agrupados em 4 categorias: parâmetros intrínsecos; parâmetros extrínsecos; modos de processamento e conservação e os parâmetros implícitos. Qualquer um destes factores pode influenciar o efeito dos outros (Mossel *et al.*, 1995).

Os parâmetros intrínsecos correspondem às propriedades físicas, químicas e estruturais inerentes à própria carne. Os factores intrínsecos mais importantes são a actividade da água (a_w), o pH, o potencial redox, a disponibilidade de nutrientes e a presença de substâncias antimicrobianas naturais. Os parâmetros extrínsecos dizem respeito a factores do meio ambiente, no qual alimento é embalado e armazenado e incluem a temperatura, a humidade e a composição da atmosfera (Betts e Everis, 2000; Nychas e Skandamis, 2005).

As técnicas de processamento e conservação representam os tratamentos físicos ou químicos aplicados ao alimento e podem resultar em alterações das suas características, determinando a microflora associada ao produto alimentar (Huis in't Veld, 1996; Nychas e Skandamis, 2005).

Os parâmetros implícitos englobam as influências mútuas, de sinergismo ou de antagonismo, entre a selecção primária de microrganismos, resultando da influência dos parâmetros acima mencionados. Assim, os parâmetros implícitos são o resultado do desenvolvimento de um microrganismo que pode ter um efeito sinérgico ou antagónico na actividade microbiana de outros presentes no produto alimentar (Mossel *et al.*, 1995). Os efeitos sinérgicos incluem a produção e a disponibilidade de nutrientes essenciais ao crescimento de um determinado grupo de microrganismos, permitindo o desenvolvimento de outros, que de outra forma seriam incapazes de se desenvolver. Do mesmo modo, variações no pH, no potencial redox e na a_w podem impossibilitar o desenvolvimento de microrganismos menos tolerantes a estes factores inibitórios, limitando a deterioração. Os mecanismos antagónicos incluem a competição por nutrientes essenciais, variações de pH ou do potencial redox ou ainda a formação de substâncias antimicrobianas, por exemplo, bacteriocinas, as quais podem afectar negativamente a sobrevivência e/ou o desenvolvimento de outros microrganismos (Stiles e Hastings, 1991; Abee *et al.*, 1996; Signorini *et al.*, 2003).

Nychas e Skandamis (2005) e Nychas *et al.* (2008) referem ainda um quinto parâmetro a considerar, os efeitos emergentes, sendo o resultado final da interacção dos distintos factores, o que geralmente tem um efeito muito superior ao efeito individual de cada um destes.

II.1.2. Microbiota da carne

II.1.2.1. Origem da contaminação

Em condições normais, o número de microrganismos presentes no tecido muscular vivo é reduzido e as carcaças provenientes de animais saudáveis possuem uma capacidade bactericida residual considerável para manter os tecidos estéreis (Gill, 1979; Gill e Penney, 1979; Walker e Betts, 2000). Assim sendo, grande parte da contaminação do tecido muscular ocorre principalmente após o abate dos animais. A contaminação das carcaças pode ocorrer em qualquer operação de abate, desde a esfolagem até ao acondicionamento, assim como, por contacto com a água, os pavimentos, o equipamento, os manipuladores, entre outros (Nottingham, 1982; Roberts, 1987; Gill, 1998; James e James, 2002). A contaminação bacteriológica da superfície da carcaça no matadouro é imediata e praticamente inevitável durante a esfolagem (Jericho *et al.*, 1994). Vários microrganismos são originários do tracto gastrointestinal do animal, assim como do contacto com o meio ambiente. Vários estudos demonstraram a associação da presença de *Enterobacteriaceae* em carnes e o contacto com as superfícies de trabalho. Outras bactérias psicrófilas são também isoladas de superfícies de materiais e equipamento no matadouro, assim como de carcaças e carne manipulada em todas as etapas do processamento (Gill, 2005; Nychas *et al.*, 2008).

De acordo com Dainty e Mackey (1992) após a preparação, as carcaças de bovino albergam, entre 10^2 e 10^4 bactérias/cm². Widders *et al.* (1995) referiram que o nível de contaminação média da carcaça a 4°C alcançou um máximo de 3,9 ufc/cm² e de 4,54 ufc/cm² na superfície da carne.

Estudos realizados por Newton *et al.* (1978) e Nortjé *et al.* (1990) permitiram demonstrar que *Pseudomonas* spp. e bactérias do grupo *Enterobacteriaceae* são as mais frequentemente isoladas em matadouro, o que está relacionado com o seu carácter ubiquitário. *Brochothrix thermosphacta* foi isolada das paredes e pavimentos de salas de desossa e de áreas refrigeradas e não refrigeradas, tornando-se mais frequente nas carcaças à medida que estas passam das câmaras de refrigeração para as salas de desossa.

Consequentemente, pode isolar-se da carne uma grande variedade de microrganismos, alguns dos quais são capazes de se desenvolver originando a deterioração da carne, ou constituir um risco para a saúde pública (Huis in't Veld, 1996; Gill, 2005). Quanto menor for o nível de contaminação inicial da carne maior será, à partida, a sua vida útil (Walker e Betts, 2000).

A presença de uma determinada população microbiana na carne depende por um lado, da forma como o animal foi abatido e eviscerado, e, por outro, do modo como foi manipulada e armazenada em termos de tempo, temperatura, condições higiénicas, de entre outros (Brown e Baird-Parker, 1982, citados por Pérez-Chabela *et al.*, 1999).

II.1.2.2. Disponibilidade de substrato(s) no ecossistema “carne”

A carne é um alimento perecível que constitui um meio semi-sólido ideal para o desenvolvimento microbiano, devido ao seu pH, elevado conteúdo em água, abundância em substâncias azotadas e hidratos de carbono e ainda pela presença de factores essenciais, como vitaminas e minerais. Os microrganismos que se desenvolvem na carne durante o armazenamento resultam do tipo de contaminação introduzida no seu processamento, bem como da influência de parâmetros físico-químicos. Estes factores (temperatura, pH, nutrientes, a_w e composição da atmosfera) constituem obstáculos, desempenhando um papel crucial na selecção, taxa de crescimento e actividade metabólica da flora microbiana presente (Leistner, 1992; Borch *et al.*, 1996; Walker e Betts, 2000; Gill, 2005).

Estes obstáculos são importantes para explicar a acção selectiva dos diferentes factores acima descritos numa microflora complexa, mas não conseguem esclarecer de forma precisa, o facto de determinados microrganismos selectivos da carne e produtos cárneos não se desenvolverem noutros produtos alimentares. Tal facto, realça a necessidade de estudar a relação entre o desenvolvimento bacteriano e a disponibilidade de substratos na carne (Labadie, 1999).

As bactérias crescem à custa dos componentes solúveis de baixo peso molecular presentes na carne. Existem 3 tipos de substâncias utilizadas pelas associações microbianas: compostos usados na via glicolítica, por exemplo, glicogénio, glucose, glucose-6-fosfato, lactato; produtos de metabolismo, nomeadamente gluconato, gluconato-6-fosfato, piruvato, lactato e fontes energéticas azotadas, por exemplo, a.a., proteínas (Gill, 1996; Nychas *et al.*, 1998; Nychas *et al.*, 2008).

Apesar dos microrganismos se encontrarem distribuídos pelos tecidos conjuntivo, adiposo e muscular da carne, é ao nível deste último que o crescimento microbiano assume maior importância devido à maior disponibilidade de nutrientes (Dainty e Mackey, 1992; Lasta *et al.*, 1995). As bactérias expostas a uma fonte rica de nutrientes irão utilizar preferencialmente como substratos, os açúcares simples, tais como a glucose (Gill e Newton, 1977). Para além deste, também o ácido láctico e determinados a.a., os nucleótidos, a ureia e as proteínas hidrossolúveis são catabolizadas pela maioria das bactérias que constituem a microflora da carne (Jay e Shelef, 1976; McMeekin, 1982; Gill, 1996). Contudo, a carne é relativamente pobre como fonte de açúcar para as bactérias ou de a.a. livres, mas é uma fonte importante de proteínas (Gill, 1976; Lawrie, 1985; Labadie, 1999).

Factores intrínsecos da carne, tais como a carne magra, a gordura e o pH, podem também contribuir para o padrão de deterioração que se estabelece (Grau, 1983; Vanderzant *et al.*, 1986; Gordon, 2004).

O tecido adiposo e as carnes DFD exibem um pH mais elevado e níveis reduzidos de glucose (<0,2), quando comparados com a carne normal, sofrendo uma deterioração mais rápida, pois os a.a. são degradados precocemente (Borch *et al.*, 1996; Walker e Betts, 2000). Os substratos disponíveis para a fermentação bacteriana são muito restritos, com variadas espécies a serem capazes de utilizar apenas glucose e no máximo um ou dois outros tipos de substrato. Como estes estão presentes em baixas concentrações, a sua disponibilidade determina a densidade celular final em cerca de 10^8 bactérias/cm². A avaliação de níveis de metabolitos musculares, tais como glucose e glucose-6-fosfato, pode ser

importante uma vez que estes são utilizados durante o desenvolvimento bacteriano aeróbio ou anaeróbio na carne (Gill e Newton, 1977; Newton e Gill, 1978a b).

No Quadro 1 apresentam-se alguns substratos utilizados por microrganismos responsáveis pela deterioração da carne em condições de aerobiose e de anaerobiose (Nychas *et al.*, 1998).

Quadro 1- Substratos utilizados por microrganismos responsáveis pela deterioração da carne em condições de aerobiose e de anaerobiose (adaptado de Nychas *et al.*, 1998).

Microrganismo	Substratos usados para o desenvolvimento	
	Em aerobiose	Em anaerobiose
<i>Pseudomonas spp.</i>	Glucose, glucose-6-P, ácido láctico, piruvato, gluconato, gluconato-6-P, creatina, creatinina, citrato, a.a. (aspartato e glutamato)	Glucose, ácido láctico, piruvato, gluconato, a.a. (glutamato)
<i>Acinetobacter/Moraxella</i>	Ácido láctico/glucose, a.a.	Glucose, a.a.
<i>Shewanella putrefaciens</i>	Glucose, ácido láctico, piruvato, gluconato, propionato, etanol, acetato, a.a. (serina)	Formato
<i>Brochothrix thermosphacta</i>	Glucose, ribose, a.a. (glutamato, valina, leucina), glicerol	Glucose
<i>Enterobacter spp.</i>	Glucose, glucose-6-P, a.a.	Glucose, glucose-6-P, a.a.
<i>Lactobacillus spp.</i>	Glucose	Glucose, ácido láctico, a.a.

Dado que a taxa, pelos quais os mesmos se tornam disponíveis, varia dentro da mesma espécie e entre espécies de animais de talho, a sua presença influencia a microflora decorrente e final (Crouse e Smith, 1986, citados por Sheridan *et al.*, 1997). Por exemplo, a concentração de glucose na carne varia entre espécies e entre diferentes músculos na mesma carcaça (Newton e Gill, 1978a). As concentrações de glucose referidas em carne de bovino, ovino e de suíno são de cerca de 100, 300 e 900 µg/g, respectivamente. Apesar da concentração de glucose no músculo ser muito baixa, está longe de ser negligenciável em termos de desenvolvimento bacteriano, já que essa concentração pode permitir o aparecimento de pelo menos 10^7 bactérias em condições aeróbias (Gill e Newton, 1981).

Gill e Newton (1977, 1978) demonstraram que a difusão de substratos a partir do interior dos músculos para a superfície contaminada pode influenciar o crescimento bacteriano. À medida que a densidade celular aumenta, a concentração dos substratos à superfície da carne diminui. O gradiente de concentração do substrato efectua-se, portanto, do interior da carne para a sua superfície, sendo que a velocidade de difusão pode tornar-se demasiado lenta para satisfazer as necessidades de desenvolvimento microbiano. Tal facto, pode levar a uma baixa concentração do substrato preferencial na superfície e, portanto, as bactérias passam a utilizar os substratos secundários, mesmo na presença de quantidades consideráveis do substrato preferencial nos tecidos mais profundos (Gill, 1976). A densidade celular que leva à utilização dos substratos secundários depende da concentração inicial do substrato

preferencial e se a degradação ocorre por via do metabolismo oxidativo ou fermentativo (Gill, 1983; Nychas *et al.*, 1998; Tsigarida e Nychas, 2001; Skandamis e Nychas, 2002a).

A glucose é um precursor de vários odores desagradáveis que surgem durante o armazenamento da carne, uma vez que o seu esgotamento poderá activar a via alternativa de degradação de a.a. por algumas espécies bacterianas. As variações dos níveis de glucose e de lactato (em segundo lugar como fonte de carbono), assim como os seus produtos de oxidação (p. ex., gluconato, gluconato-6-fosfato) têm sido propostos como forma de descrever ou prever o grau de deterioração (Nychas *et al.*, 1988; Boers *et al.*, 1994; Seymour *et al.*, 1994). Isto é especialmente evidente para carne armazenada em condições de aerobiose, em que *Pseudomonas* spp. são os principais responsáveis pela deterioração (Dainty *et al.*, 1984). Demonstrou-se que em aerobiose a totalidade de a.a. livres e proteínas hidrossolúveis aumentaram durante o armazenamento, revelando-se também concordante com as contagens da microflora (Nychas *et al.*, 2008). Contudo, Nychas e Arkoudelos (1990) e Nychas e Tassou (1997) demonstraram que este aumento ocorreu em amostras de carne com uma concentração relativamente elevada de glucose. Além disso, o aumento do teor de a.a. livres em aerobiose foi superior ao ocorrido em atmosferas modificadas. Estas observações são de importância comercial, uma vez que a deterioração é maioritariamente associada à utilização de a.a. após esgotamento de glucose por *Pseudomonas* (Gill, 1996; Lambropoulou *et al.*, 1996).

II.1.2.3. Principal microflora deteriorativa da carne - o papel dos microrganismos específicos da deterioração (MED)

Como etapa preliminar, com vista a elucidar o mecanismo básico pelo qual as carnes mantidas em refrigeração sofrem deterioração, é importante caracterizar a microflora da carne fresca e da carne deteriorada a baixas temperaturas (Jay, 1967, citado por Dainty e Mackey, 1992), pelo que passamos a referir a principal flora deteriorativa da carne.

A microflora inicial da carne é muito diversificada e encontra-se constituída na sua maioria por mesófilos, nomeadamente, *Pseudomonas* spp., bactérias do ácido láctico (BAL), *Brochothrix thermosphacta*, *Flavobacterium* spp., bactérias da família *Enterobacteriaceae* e micrococos, estafilococos (Dainty e Mackey, 1992). Contudo, durante o armazenamento apenas algumas espécies encontram condições ambientais favoráveis (temperatura, composição da atmosfera, pH) ao seu desenvolvimento, convertendo-se na microflora mais abundante e responsável pela deterioração. Tal facto, significa que os microrganismos que causam deterioração, representam apenas uma fracção da microflora inicial e que, sob uma série de condições de armazenamento específicas, se convertem nos predominantes, o que foi demonstrado por vários trabalhos realizados no âmbito da microbiologia da carne (Ercolini *et al.*, 2006; Nychas *et al.*, 2008). Desta forma, quando a carne é armazenada em determinadas condições pode prever-se a composição da microflora e, conseqüentemente, o tipo específico de alteração microbiana que irá ocorrer. A conservação da carne fresca em refrigeração, cria um ambiente selectivo que favorece o desenvolvimento de microrganismos psicrófilos, contudo, apenas uma pequena proporção da microflora inicial é

psicrotrófica. A maioria dos microrganismos presentes não se desenvolve a temperaturas de refrigeração da ordem de 0-5°C (Tewari *et al.*, 1999, Walker e Betts, 2000; James e James, 2002).

II.1.2.3.1. Bactérias do ácido láctico (BAL)

São bacilos imóveis Gram positivos e geralmente catalase negativos. Relativamente ao metabolismo são anaeróbios facultativos e microaerófilos, uma vez que o seu crescimento é favorecido em condições de anaerobiose ou baixas tensões de O₂ e 5-10% de CO₂ (Kandler e Weiss, 1986). As BAL representam uma pequena fracção da microflora contaminante inicial, apresentando um fraco potencial deteriorativo e, em condições de refrigeração, o seu desenvolvimento pode ser afectado. Consequentemente, para que este grupo possa causar deterioração, o desenvolvimento de outras bactérias deteriorativas deve estar inibido. A produção de substâncias com actividade antimicrobiana, por algumas estirpes de BAL, pode permitir a sua dominância. Para além disso, estes microrganismos são mais tolerantes a pH reduzido, podendo multiplicar-se a valores de 3,8, apresentando também uma grande resistência a pequenas variações da a_w. Em anaerobiose são as bactérias dominantes em carne com pH normal. Estes microrganismos utilizam a glucose e a arginina para crescer e parecem inibir espécies competidoras pela produção de agentes antimicrobianos (Newton e Gill, 1978b; Borch e Agerhem, 1992; Dainty e Mackey, 1992; Devlieghere *et al.*, 1998).

As espécies típicas pertencem aos géneros *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Carnobacterium*, *Pediococcus* e *Sreptococcus* (Borch *et al.*, 1996; Bell *et al.*, 1997; Walker e Betts, 2000). As BAL são normalmente consideradas como "agentes de preservação" em carnes embaladas em AMs (Stiles, 1991), contudo algumas BAL, tal como *Lactobacillus sakei*, podem causar deterioração por produção de H₂S a partir da degradação da cisteína por limitação de glucose e de O₂ (Egan *et al.*, 1989; Borch *et al.*, 1996).

Segundo Sørheim *et al.* (1997) e Vignolo *et al.* (2000) as BAL parecem inibir o desenvolvimento de *Pseudomonas* spp. e *Brochothrix thermosphacta* e, essa inibição, permanece mesmo após exposição ao ar, o que foi demonstrado por Sørheim *et al.* (1996) e Nissen *et al.* (1996) em carne de porco e de bovino, respectivamente. Signorini *et al.* (2003) verificaram também uma redução de *Pseudomonas* spp. quando carne de bovino foi inoculada com estirpes de *Lactobacillus*.

Existe pouca informação acerca do tipo de BAL que é preferível para um melhor efeito competitivo relativamente a bactérias típicas da deterioração, por outro lado as BAL possuem um potencial deteriorativo diferente entre si (Nissen *et al.*, 1996). O principal mecanismo pelos quais as BAL podem suprimir os seus competidores consiste na formação de ácido láctico, ácido acético e possivelmente bacteriocinas (Lucke, 2000; Jones, 2004; Katikou *et al.*, 2005; Jones *et al.*, 2008). Segundo García-Lopez *et al.* (1998) estas bactérias, para além dos ácidos referidos, ao metabolizarem a glucose, produzem também ácido isobutanóico e isopentanóico. Outros metabolitos de BAL têm sido referidos como sendo inibidores de bactérias Gram negativas *in vitro* (Niku-Paavola *et al.*, 1999). Alguns compostos são formados em quantidade insuficiente (p. ex. reuterina), outros interferem com as propriedades sensoriais (p. ex., diacetilo, peróxido de hidrogénio) e outros obedecem a critérios regulamentares (p. ex. ácido benzóico) (Lucke, 2000).

A deterioração por BAL resulta na formação de viscosidade superficial e de CO₂ com diminuição do pH e desenvolvimento de odores desagradáveis (Huis in't Veld, 1996), nomeadamente a queijo e ácido/fermentado (García-Lopez *et al.*, 1998). A produção de diacetilo contribui para o odor a manteiga (Schelegel, 1997).

Apesar das BAL raramente serem responsáveis pela deterioração de alimentos proteínáceos frescos em geral, estas bactérias constituem o maior grupo de microrganismos que causa deterioração de carnes embaladas sob vácuo (Dainty *et al.*, 1983; Mead, 1983; García-Lopez *et al.*, 1998) e têm sido implicadas na deterioração de produtos de peixes levemente preservados. Os produtos de carne curados e fermentados podem igualmente ser deteriorados por estas bactérias que, tal como o pH ou outros métodos de preservação no alimento, impedem também o crescimento da microflora normal de deterioração (Huis in't Veld, 1996).

Do ponto de vista de segurança alimentar seria conveniente encontrar uma mistura gasosa que favorecesse as BAL, uma vez que a sua presença exerce um efeito inibitório ao desenvolvimento de microrganismos patogénicos (Saucier *et al.*, 2000).

II.1.2.3.2. *Brochothrix thermosphacta*

Brochothrix thermosphacta é um bacilo, imóvel, Gram positivo, catalase positivo e oxidase negativo (Kandler e Weiss, 1986). É anaeróbio facultativo a microaerófilo, podendo desenvolver-se em aerobiose e em atmosferas com baixa tensão de O₂ e/ou elevada tensão de CO₂ (Gill, 1983; Walker e Betts, 2000). As condições ambientais e, em particular, a tensão de O₂, o pH inicial da carne e a concentração de glucose, influenciam o tipo de metabolitos finais produzidos e as suas quantidades relativas. Este microrganismo é incapaz de se desenvolver em anaerobiose quando os valores de pH são inferiores a 5,8 (Holzapfel, 1998) mas, na presença de O₂ pode multiplicar-se até valores de 5,5 (Gill, 1983). É ocasionalmente, encontrada na carne normal mas, raramente provoca deterioração (Walker e Betts, 2000).

Em aerobiose, *B. thermosphacta* pode utilizar como substratos a glucose, a ribose, o glicerol e alguns a.a. (valina, leucina, isoleucina e glutamato) (Dainty e Hibbard, 1980; Macaskie *et al.*, 1984; Dainty e Mackey, 1992). Os principais produtos finais do metabolismo dos hidratos de carbono são o ácido acético e a acetoína, podendo a alanina ser considerada um metabolito de menor importância. A hidrólise da valina, da leucina e da isoleucina resulta na formação dos ácidos isobutírico (3-metilbutírico), isovalérico e 2-metilbutírico, respectivamente (Dainty *et al.*, 1985; Russo *et al.*, 2006). Em condições de anaerobiose, na sequência da fermentação da glucose, os principais produtos finais formados são o ácido láctico e o etanol. A acetoína/diacetilo conferem à carne um odor a manteiga ou a queijo levando a uma reprovação sensorial precoce, quando comparado com o que ocorre em condições de anaerobiose (Nychas *et al.*, 1998; Erkmen, 2000; Pin *et al.*, 2002; Russo *et al.*, 2006).

Apesar de *Brochothrix thermosphacta* ser uma bactéria anaeróbia facultativa, desenvolve-se melhor na presença de O₂ (Sneath e Jones, 1986). A redução ou a ausência de O₂ na mistura de gases pode justificar a inibição do seu crescimento mais do que a presença de CO₂ em determinadas concentrações. De acordo com Holley (2000), a introdução de CO₂ não é inibitória do desenvolvimento de *Brochothrix thermosphacta* até atingir concentrações de 50% na presença de O₂. O metabolismo de *Brochothrix*

thermosphacta continua a ser maioritariamente anaeróbio em atmosferas de CO₂ enriquecidas com O₂. Em geral, baixas concentrações de O₂ não influenciam a velocidade de multiplicação de *Brochothrix thermosphacta* até atingirem valores inferiores a 0,2%.

II.1.2.3.3. Enterobacteriaceae

A família *Enterobacteriaceae* é constituída por bacilos Gram negativos, oxidase negativos, anaeróbios facultativos com metabolismo do tipo fermentativo (Brenner, 1986). Esta população microbiana exhibe um maior desenvolvimento a temperaturas de 8-15°C, sendo menos sensíveis que *Pseudomonas* spp. a variações de pH, mas sensíveis aos conservantes, concentrações de NaCl, tratamentos térmicos e baixa a_w. São microrganismos ubiqüitários, podendo ser encontrados no pêlo e tracto digestivo dos animais (Nesbakken, 2005; Doyle, 2007), por este motivo, a presença destas bactérias nos alimentos é, frequentemente usada como indicador de possível contaminação fecal, processamento inadequado ou contaminação após o processamento (Gill, 1998). As espécies deteriorativas típicas pertencem aos géneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Proteus* e *Serratia* (Huis in't Veld, 1996; Walker e Betts, 2000).

As enterobactérias apresentam um crescimento inicial suportado pela hidrólise dos hidratos de carbono (glucose e glucose-6-fosfato) resultando na formação de acetoína, e um crescimento posterior devido à descarboxilação dos a.a. e conseqüente formação de aminas biogénicas (principalmente cadaverina) e compostos sulfurados (sulfureto de hidrogénio - H₂S). O H₂S é responsável pelos odores pútridos ou sulfurosos que a carne apresenta em fase avançada de deterioração e, através da sua combinação com a mioglobina, forma sulfomioglobina, conferindo à carne uma coloração esverdeada (Nicol *et al.*, 1970; Dainty e Mackey, 1992; Baylis, 2006). Este grupo de microrganismos forma também acetoína/diacetilo, com os odores desagradáveis correspondentes. A deterioração da carne por microrganismos pertencentes à família *Enterobacteriaceae* manifesta-se também pela formação de colónias pigmentadas, viscosidade superficial e produção de gases (Huis in't Veld, 1996; Schillingher e Holzapfel, 2006).

II.1.2.3.4. Pseudomonas spp.

São bacilos, móveis, Gram negativos, catalase positivos e apresentam reacção variável à prova da oxidase mas, geralmente, são oxidase positivos. São microrganismos aeróbios estritos, com metabolismo do tipo oxidativo, e não se desenvolvem a valores de pH inferiores a 4,5 (Palleroni, 1986; Liao, 2006). Encontram-se amplamente distribuídos no meio ambiente, principalmente na água, mas também em superfícies inadequadamente limpas, podendo contaminar facilmente a carne. Apesar de constituírem apenas uma pequena fracção da microflora inicial, estes microrganismos rapidamente se convertem na flora dominante devido à sua elevada taxa de crescimento (Huis in't Veld, 1996; Walker e Betts, 2000).

Vários trabalhos revelaram que estirpes de *Pseudomonas* constituem o grupo predominante entre as bactérias deteriorativas da carne fresca. Neste sentido apontam os resultados de Lebert *et al.* (1998) em

carne de aves, de Coates *et al.*(1995) e de Viana (2005) em carne de porco e de Widders *et al.* (1995) em carne de bovino e de cordeiro.

As principais espécies de *Pseudomonas* isoladas da carne são *P. fragi*, *P. lundensis* e *P. fluorescens* (Stanbridge e Davies, 1998). Apesar de existirem vários estudos de ocorrência e dos níveis de contaminação de *Pseudomonas* em carne e produtos cárneos (Molin e Terstrom, 1982; Gustavsson e Borch, 1993; Coates *et al.*, 1995; Widders *et al.*, 1995), os trabalhos são escassos no que se refere ao desenvolvimento relativo de espécies de *Pseudomonas* e as variações do crescimento das distintas estirpes (Coates *et al.*, 1995) em carnes de bovino e cordeiro (Widders *et al.*, 1995; Lebert *et al.*, 1998).

P. fragi e *P. fluorescens* devido à produção a baixas temperaturas de proteases e lipases extracelulares causam deterioração muito acentuada de carnes e de leites (Lebert *et al.*, 1998).

Gill e Penney (1977) referem que a actividade proteolítica de *Pseudomonas* pode levar à sua penetração na carne. Desta forma, as bactérias proteolíticas podem ter uma vantagem ecológica, pois têm acesso a recursos que não estariam disponíveis para bactérias com baixa ou ausente capacidade proteolítica (Nychas *et al.*, 2008).

P. fluorescens é conhecida por ser ubiqüitária, podendo encontrar-se no solo, na água, no couro e peles dos animais e também nas superfícies das indústrias de carnes (Drosinos e Board, 1995). Estes autores ao estudaram a evolução da microflora bacteriana em carne ovina picada armazenada em aerobiose a 4°C, demonstraram que as contagens de *P. fragi* ultrapassaram as de *P. fluorescens*. Os autores sugerem que esta sucessão da microflora, observada durante o processamento da carne, a diferenças no metabolismo de ambas as espécies. O grupo de *P. fragi* tem na maioria dos casos, uma fase *lag* mais curta do que *P. fluorescens* (Lebert *et al.*, 1998). Esta diferença tem sido observada para um grande número de estirpes e numa larga variação de temperatura, pH e a_w . Por exemplo, a fase *lag* é, em média, duas vezes mais curta no grupo de *P. fragi* a 7°C (Coates *et al.*, 1995) em carne de bovino e de cordeiro (Widders *et al.*, 1995), podendo estar relacionada com a capacidade de *P. fragi* se adaptar melhor às novas condições ambientais, comparativamente a *P. fluorescens* (Lebert *et al.*, 1998). Estes resultados podem explicar as alterações na ecologia das estirpes de *Pseudomonas* demonstrada por diversos estudos de níveis de contaminação e de áreas de isolamento durante o processamento da carne e retalho (Coates *et al.*, 1995) em carnes de bovino e cordeiro (Widders *et al.*, 1995).

Em carnes de bovino, cordeiro e porco, os estudos demonstraram a predominância de *P. fluorescens* durante a linha de abate e a refrigeração, enquanto *P. fragi* predomina apenas durante o processo de refrigeração (Lebert *et al.*, 1998).

O desenvolvimento de *Pseudomonas* spp. processa-se inicialmente, na superfície da carne, utilizando compostos de baixo peso molecular, especialmente a glucose, com libertação de uma grande variedade de compostos como ácidos gordos de cadeia curta, cetonas e álcoois, que conferem à carne odores adocicados (Gill, 1983; Dainty e Mackey, 1992). Quando as bactérias atingem uma densidade celular de 10^8 bactérias/cm², a glucose torna-se insuficiente para satisfazer as reservas energéticas e os microrganismos iniciam a degradação dos a.a., através de uma reacção de desaminação. Esta acção tem várias consequências ao nível da carne: aumenta os níveis de amónia e de pH; formação de aminas biogénicas (principalmente putrescina) e de compostos com enxofre (por exemplo, sulfureto de dimetilo). Apesar de produzidas em pequenas quantidades, as aminas e os sulfuretos são bastante desagradáveis e

acumulam-se até atingirem níveis que são detectados sensorialmente como odores pútridos/sulfurosos bastante desagradáveis (Dainty *et al.*, 1985; Stutz *et al.*, 1991; Borch *et al.*, 1996). Simultaneamente, observa-se a formação de viscosidade à superfície da carne. Quando as populações de *Pseudomonas* spp. ultrapassam as 10^9 bactérias/cm² inicia-se a proteólise das proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas por acção de enzimas segregadas por estes microrganismos (Garcia-López *et al.*, 1998). Por outro lado, *Pseudomonas* spp. metabolizam a acetoína/diacetilo produzidos por *Brochothrix thermosphacta* e *Enterobacteriaceae*, provocando a redução dos níveis destes compostos em fases tardias do armazenamento (Dainty e Mackey, 1992). Dadas as características deste microrganismo, a ausência de *Pseudomonas* é importante para um aumento da vida útil da carne (Dainty *et al.*, 1983; Sørheim *et al.*, 1995).

II.1.2.3.5. *Acinetobacter/Moraxella*

Estes microrganismos são bacilos imóveis, Gram negativos e oxidase negativos e positivos, respectivamente. São aeróbios estritos e constituem uma fracção minoritária da microflora deteriorativa, possuindo um fraco potencial deteriorativo (Dainty e Mackey, 1992; Betts, 2006). Podem ser encontrados preferencialmente na superfície da gordura e em carnes de pH intermédio, uma vez que a maioria das estirpes é inibida a valores normais de pH da carne. Os teores em *Acinetobacter* e *Moraxella* diminuem com o armazenamento prolongado da carne, uma vez que as condições se tornam limitantes (Gill, 1983; Gill, 2005). São incapazes de metabolizar as hexoses, utilizando os a.a. e os ácidos orgânicos como fontes de carbono e energia (Dainty e Mackey, 1992). *Acinetobacter* degrada inicialmente os a.a. e só depois o lactato, mas da degradação dos a.a. não resulta a formação de metabolitos desagradáveis (Gill, 1983).

II.1.2.3.6. *Shewanella putrefasciens*

É um bacilo móvel Gram negativo e oxidase positivo (Jay, 2000). Em condições de refrigeração, este microrganismo só se desenvolve quando os valores de pH são superiores a 6 (Gill, 1983; Doyle, 2007), sendo referenciado normalmente como um microrganismo de carne com pH elevado, embalada sob vácuo. Esta sensibilidade de *Shewanella putrefasciens* a pH reduzido e a sua ocorrência em carne com pH elevado tem sido igualmente observada por outros autores. O pH elevado e a ausência de glucose são aparentemente necessários para permitir que esta espécie possa competir com sucesso com as BAL (Patterson e Gibbs, 1977).

Nicol *et al.* (1970), Newton e Rigg (1979) e Gill e Newton (1979) referem que *Shewanella putrefasciens* em carne embalada sob vácuo produz um esverdeamento da carne como resultado da produção de H₂S que, por reacção com a mioglobina, forma sulfomioglobina. Esta bactéria utiliza a cisteína, a qual deriva provavelmente da degradação proteica, e a glutatona. Estes substractos são rapidamente oxidadas sob condições aeróbias, o que não ocorre em ambientes anaeróbios em embalagens sob vácuo.

II.1.2.3.7. Fungos

Os bolores e as leveduras podem estar amplamente distribuídos no ambiente (plantas, solo, água e produtos de origem animal) devido à sua capacidade para utilizar um vasto leque de substratos (Dillon, 1998). Para além disso, são relativamente tolerantes a reduzidos valores de pH e a_w , baixas temperaturas e presença de conservantes (Deak, 2004). As leveduras podem também utilizar ácidos orgânicos como o acético e o cítrico e conservantes alimentares que possuem um efeito inibitório no desenvolvimento de microrganismos. A carne fresca raramente contém bolores ou leveduras mas, pode ocorrer contaminação a partir do ambiente, através das deslocações de ar que transportam esporos, especialmente ascósporos de bolores. Apesar de existirem vários bolores e leveduras psicotróficos, estes raramente estão implicados na deterioração da carne, uma vez que possuem fraca capacidade competitiva comparativamente às bactérias. Assim sendo, os bolores e as leveduras são organismos deteriorativos oportunistas, desempenhando um papel significativo, durante as operações de processamento, de preservação e de armazenamento, em que ocorrem condições desfavoráveis ao desenvolvimento das bactérias (Lowry e Gill, 1984; Dillon, 1998; Walker e Betts, 2000). Os bolores necessitam de O_2 para crescer, enquanto as leveduras desenvolvem-se tanto na presença como na ausência de O_2 . Os bolores são sensíveis à presença de CO_2 , enquanto as leveduras podem, segundo Gould (1996), crescer com concentrações de 100% deste gás.

As espécies deteriorativas típicas de leveduras estão incluídas nos géneros *Candida*, *Debaryomyces*, *Hansenula*, *Kluveromyces*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Torula* e *Zigosaccharomyces*. Os bolores isolados de carne fresca refrigerada incluem espécies pertencentes aos géneros de *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Geotrichum*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus* e *Thamnidium* (Dillon, 1998) A deterioração causada pelos bolores e leveduras caracteriza-se pela formação de colónias grandes, frequentemente pigmentadas, viscosidade superficial, fermentação dos açúcares com produção de ácidos, gás ou álcool e desenvolvimento de odores e sabores desagradáveis (Huis in't Veld, 1996; Schelegel, 1997), nomeadamente a fruta, amoniacal, a ranço e a "mofo". Para além da deterioração visível, os bolores podem ainda produzir metabolitos secundários tóxicos produzidos por diferentes géneros de fungos filamentosos (Lowry e Gill, 1984; Walker e Betts, 2000; Doyle, 2007).

II.1.2.4. Padrões deteriorativos e interação dos MED em carne fresca

Definir um quadro concordante entre o padrão de "crescimento bacteriano", e, as alterações que lhe são inerentes no aparecimento da deterioração em materiais biológicos complexos, é difícil. Muitos autores têm investigado a capacidade de vários microrganismos causarem deterioração, em particular *BAL*, *Brochothrix thermosphacta*, *Pseudomonas* e *Enterobacteriaceae*, em carne fresca de bovino, de porco e de cordeiro embalada sob vácuo e em diferentes atmosferas (Nissen *et al.*, 1996; Sheridan *et al.*, 1997; García-Lopez *et al.*, 1998; Stanbridge e Davis, 1998; Mano *et al.*, 2002).

Uma vez que a deterioração é o resultado de circunstâncias ambientais impostas e da interação microbiana, a composição e relação numérica da microflora instalada durante as fases de preparação da

carne e a sua composição final caracterizam eventualmente o padrão de deterioração (Nychas *et al.*, 1998; Vignolo *et al.*, 2000; Tsigarida *et al.*, 2003).

A deterioração da carne não ocorre até que o número total da contagem bacteriana atinja 10^{6-8} organismos g^{-1} ou cm^{-2} . Este nível é composto por combinações de cada um dos diferentes grupos de microrganismos acima referidos (Gill, 1983; Sheridan *et al.*, 1997).

De forma a ter um papel no processo deteriorativo, as bactérias têm que desenvolver-se e produzir metabolitos que contribuem para o aparecimento de odores desagradáveis (Sheridan *et al.*, 1997). Segundo este autor o desenvolvimento de um nível inicial de 2 log até um nível final de 5 log indica "crescimento elevado", enquanto aumentos inferiores a 10^3 microrganismos g^{-1} ou cm^{-2} foram considerados como representando um "crescimento baixo". A ocorrência de um "crescimento elevado" tem maior efeito no desenvolvimento de odores desagradáveis, enquanto a existência de um "crescimento baixo" não o tem. Contudo, parece arriscado assumir que a microflora dominante será necessariamente a responsável por ditar o curso do processo deteriorativo em todos os casos (Ingram e Dainty, 1971).

Sheridan *et al.* (1997) referem que existem diferentes padrões de crescimento bacteriano nas carnes embaladas, tendo sido observados padrões que variam dentro e entre carne de diferentes espécies pecuárias, principalmente dependendo do ambiente da embalagem e da temperatura de armazenamento. Outros factores extrínsecos podem estar envolvidos, incluindo teores iniciais e composição da microflora, exsudado e a forma física da carne (Gill e Penney, 1988; Gill, 2005).

Num estudo efectuado por Gill e Harrison (1989), o incremento elevado de BAL foi observado em carne de porco embalada em 100% CO_2 a $-1,5^\circ C$. Contudo, os autores atribuíram a deterioração a um baixo nível de *Enterobacteriaceae* (log 3,08 cm^2 às 12 semanas), apesar de ter sido demonstrado que membros de BAL podem também produzir odores. Usando este critério, padrões de crescimento de uma variedade de microrganismos, a partir de vários estudos efectuados, foram obtidos para variações de temperatura de $-1,5$ a $2^\circ C$ e de 3 a $7^\circ C$, para sacos de embalagem de baixa permeabilidade (ou seja $< 70 cm^3 m^{-2} 24h^{-1} atm^{-1}$). Em alguns casos, a deterioração pode nem sequer ocorrer, especialmente a baixas temperaturas ($-1,5-0^\circ C$). Contudo esse padrão de deterioração continua a ser determinado pelo crescimento da microflora presente (Gill, 1996; Sheridan *et al.*, 1997).

Os mecanismos exactos pelos quais o desenvolvimento de odores desagradáveis resultam do metabolismo microbiano são desconhecidos, contudo a taxa e extensão do seu desenvolvimento é influenciada pelas condições de armazenamento e pela temperatura. O reconhecimento de uma grande variedade de padrões deteriorativos, pode permitir associar a produção de odores desagradáveis a microrganismos específicos ou a grupos de microrganismos (Sheridan *et al.*, 1997).

Estudos em sistemas modelo de co-cultura (Tsigarida *et al.*, 2003; Tsigarida e Nychas, 2003) podem ser úteis na simplificação de ecossistemas alimentares, permitindo compreender os mecanismos através dos quais o desenvolvimento de potenciais MED é afectado pelas interações comportamentais e identificar os metabolitos responsáveis e, assim, poderem ser utilizados como índices químicos de deterioração (Nychas *et al.*, 2008).

A interacção dos microrganismos específicos da deterioração pode ocorrer de distintas formas. A contribuição de nutrientes presentes pode ter um efeito positivo (sinérgico/sintrópico) ou competitivo (p. ex., sob o excesso, a limitação ou a escassez). A metabiose (a produção de um ambiente favorável) e a comunicação célula a célula (p. ex., *quorum sensing*) podem também afectar os atributos fisiológicos dos organismos sob factores ecológicos impostos e determinantes (Nychas *et al.*, 2008). A produção de substâncias como, bacteriocinas, ácidos, compostos voláteis (diacetilo) pode restringir o desenvolvimento, podendo ser consideradas como interacções do tipo antagónico ou competitivo (Drosinos *et al.*, 1997; Pin *et al.*, 2002; Tsigarida e Nychas, 2003).

Koutsoumanis e Nychas (1999) e Tsigarida e Nychas (2001) relataram que as alterações químicas que ocorrem em carne e em pescado naturalmente contaminados diferem significativamente daquelas que ocorrem em tecidos musculares estéreis quando são inoculadas individualmente com MED.

Pseudomonas spp. podem ultrapassar o desenvolvimento de *Shewanella putrefaciens* devido à sua capacidade para produzir sideróforos (Gram e Dalgaard, 2002) ou por utilizar a glucose a uma taxa mais rápida que os últimos (Tsigarida *et al.*, 2003). Esta interacção pode ser o factor principal que governa o desenvolvimento da microflora deteriorativa (Nychas *et al.*, 2008).

Um outro exemplo das propriedades interactivas das bactérias Gram negativas que deterioram os alimentos é a sua capacidade de produzir sinais de comunicação químicos, as lactonas homoserinas aciladas (AHLs). Demonstrou-se recentemente que estes compostos (AHLs) podem ser encontrados numa ampla variedade de alimentos (pescado, carne e vegetais) (Smith *et al.*, 2004) e a concentração aumenta à medida que ocorre o crescimento das bactérias Gram negativas. O papel de AHLs na deterioração do músculo ainda não se encontra estabelecido, embora diversos fenótipos com actividades proteolítica, quitinolítica, pectinolítica, e lipolítica com potencial deteriorativo de diferentes alimentos tenham sido ligados à regulação por AHLs (Gram *et al.*, 1999; Gram e Dalgaard, 2002). As AHLs podem ser extraídas de carne fresca fatiada e picada em fase de deterioração sensorialmente detectável, e são produzidas por diversas bactérias envolvidas na sua deterioração (Nychas *et al.*, 2007). A elucidação do papel de AHLs na deterioração em músculo é ainda uma área importante para futuras pesquisas (Nychas *et al.*, 2008).

II.1.2.5. Consequências organolépticas da deterioração microbiana na carne armazenada

A principal característica de deterioração no alimento ocorre sob a forma de odores desagradáveis, tais como a queijo, através da produção de ácidos a partir da glucose e de ácidos gordos voláteis a partir de a.a., com ocorrência de *flavores* desagradáveis, descoloração e produção de gás (Borch *et al.*, 1996; Braun e Sutherland, 2004; Doyle, 2007). Segundo Lebert *et al.* (1998), os odores desagradáveis ocorrem quando a população de *Pseudomonas* alcança na carne 10^7 a 10^8 ufc /cm². Estirpes de *P. fragi* produzem odores pútridos e a fruta em carne de bovino (Dainty *et al.*, 1979) e tem um efeito pernicioso na cor da carne armazenada a 1°C, resultando numa aparência esverdeada e em viscosidade superficial.

O método de embalagem afecta as taxas de desenvolvimento e o tipo de odores detectados e raramente estão relacionadas com pequenas diferenças no número total de contagens viáveis. Contudo, no estudo

de Sørheim *et al.* (1999), o aparecimento de odores desagradáveis em três tipos de carne, especialmente em carne picada e em costeletas de porco embaladas em elevado O₂ coincidiram com a ocorrência de elevados teores de *Brochothrix thermosphacta*. Uma alteração no metabolismo das BAL em condições aeróbias pode também produzir odores desagradáveis (Nissen *et al.*, 1996). A carne de porco com elevado pH (>5,65) em AMs são superiores em termos de estabilidade de cor ao longo do tempo, mas são mais susceptíveis ao desenvolvimento microbiano do que lombos com pH mais baixo (<5,65) (Livingston *et al.*, 2004).

II.1.3. Deterioração enzimática endógena

A contribuição de enzimas endógenas da carne na deterioração é mínima, quando comparada com a acção da microflora presente (Nychas e Tassou, 1997; Tsigarida e Nychas, 2001). Deve porém considerar-se a interdependência entre estas duas vias, na medida em que a actividade enzimática residual endógena pode contribuir para a posterior actividade microbiana. A actividade endógena pode ser agrupada em três grandes grupos, em função do tipo de substrato utilizado: glícidos, compostos azotados e lípidos.

Quanto aos primeiros, além de existirem em níveis residuais na carne (Correia e Correia, 1985), ocorre ainda glicólise *post mortem*, causada por enzimas endógenas, que cessa quando o pH final atinge um valor de 5,4-5,5, ou quando há depleção total de glícidos disponíveis. Apesar deste fenómeno possuir um contributo directo moderado para as características de frescura da carne, indirectamente revela-se de grande contribuição, pois o pH final da carne e a disponibilidade de glícidos na mesma, permitirá modular o perfil e a quantidade de microrganismos que aí se desenvolvem (Gordon, 2004; Nychas *et al.*, 2008).

As modificações da fracção azotada ocorrem por acção de enzimas endógenas da carne, que pertencem a dois grupos principais de peptidases, as catepsinas, ou proteases lisossomais, e calpaínas, também designadas por proteases neutras ou proteases dependentes do cálcio. Num terceiro grupo, genericamente designado por complexo proteolítico multicatalítico, são incluídas outras enzimas que têm sido detectadas em extractos musculares, mas que não se incluem nos anteriores. As catepsinas e as calpaínas são endopeptidases, estando portanto associadas a processos hidrolíticos no interior da cadeia polipeptídica, com a consequente libertação de péptidos, cuja dimensão e abundância relativa é variável, em função da especificidade da enzima envolvida e das condições para a sua actuação (Valin e Ouali, 1992). A actividade de alguma dessas enzimas endógenas é responsável pelo importante fenómeno de maturação da carne, associado fundamentalmente à sua tenrificação (Silva *et al.*, 1999; Silva, 2006), sem que haja reflexos directos nas características de deterioração da carne. A actividade das enzimas proteolíticas e lipolíticas endógenas pode não ser suficiente para uma boa maturação durante o acondicionamento da carne. Neste caso, as enzimas ou outros produtos químicos, ou ainda processos mecânicos são por vezes utilizados como forma artificial na tenrificação da carne (Koochmaraie, 1994; Lawrence *et al.*, 2003a e b).

Porém, a maior disponibilidade de péptidos e a.a. livres poderá facultar o crescimento e actividade metabólica de microrganismos que os utilizam como fonte de energia para o seu desenvolvimento, quase sempre com a produção concomitante de compostos aromaticamente muito activos e desagradáveis, determinando as características que levam à carne ser reconhecida como deteriorada (Nychas *et al.*, 2007). Assim, é importante no contexto de deterioração da carne considerar as interacções entre o desenvolvimento microbiano e a sua actividade enzimática.

Ao nível da fracção lipídica, as modificações que ocorrem podem ser do tipo hidrolítico ou oxidativo, que, apesar de terem uma origem diferente, estão relacionadas, uma vez que o aumento em ácidos gordos livres no meio, resultantes da hidrólise, favorece a oxidação, pois os ácidos gordos são mais susceptíveis de ser oxidados quando estão livres do que quando estão esterificados (Nawar, 1993, 1998). Os compostos resultantes desses fenómenos, particularmente dos segundos, têm uma importância determinante no desenvolvimento de cheiros anormais, vulgarmente designados por ranço. Para essa actividade lipolítica pode contribuir a actividade residual de enzimas endógenas, assim como a actividade enzimática de alguns microrganismos.

II.1.4. Oxidação lipídica

A oxidação lipídica tem um papel determinante na qualidade sensorial e conseqüente aceitabilidade de carne fresca, principalmente quando conservada por longos períodos de tempo (McMillin, 2008). Os processos de oxidação dos ácidos gordos que ocorrem na carne podem ter lugar por um processo predominantemente químico, a auto-oxidação, ou por um processo enzimático, a beta-oxidação (Ranken, 1994). Na auto-oxidação - também designada via dos hidroperóxidos ou dos radicais livres - o processo depende, na presença de factores catalisadores, da produção de radicais livres a partir das moléculas lipídicas, pela sua interacção com o oxigénio. A iniciação do processo pode ser catalisada por fontes de energia externa - calor, luz ou radiação -, ou quimicamente, envolvendo iões metálicos ou metaloproteínas, tais como as hélicas. O radical livre formado na fase de iniciação pode então actuar com oxigénio para formar um peróxido lipídico, que pode reagir subsequentemente para formar um hidroperóxido. Nesta segunda reacção da fase de propagação, é formado um novo radical livre, fazendo com que esta reacção siga uma cadeia de auto-propagação, até que ocorram reacções de terminação, em que dois radicais se combinem para formar produtos mais estáveis que interrompem a cadeia (Hamilton, 1994).

Os substratos das reacções de oxidação são maioritariamente ácidos gordos insaturados, uma vez que o hidrogénio que é subtraído ao ácido gordo no início do processo pertence ao carbono adjacente ao envolvido na ligação dupla. Assim, quanto maior for o grau de insaturação de um ácido gordo, maior será a sua susceptibilidade à oxidação (Nawar, 1993). Hamilton (1994) aponta uma taxa de oxidação de 100 e 64 vezes superior, respectivamente, nos ácidos linolénico e linoléico em relação ao ácido oleico. Também o facto do ácido gordo se encontrar na forma livre ou esterificado em triglicéridos ou fosfolípidos determina a facilidade com que é oxidado. Naturalmente, é na forma livre que esses são mais

susceptíveis, implicando assim a interacção entre este fenómeno e a lipólise prévia que possa ter ocorrido no produto (Bertelsen *et al.*, 2000), desencadeando a libertação preferencial de ácidos gordos insaturados. Os peróxidos lipídicos formados durante a fase de propagação são os produtos primários da oxidação lipídica. Estes compostos são desprovidos de cheiro ou sabor, pelo que não contribuem para a formação do cheiro a ranço na carne. No entanto, sendo instáveis, são rapidamente degradados a produtos secundários que são responsáveis pelas modificações organolépticas induzidas pelos fenómenos de oxidação. Cada ácido gordo insaturado produz hidroperóxidos próprios, que, por sua vez, se decompõem em produtos secundários específicos, esses sim com importantes impactos aromáticos, nomeadamente aldeídos, álcoois, cetonas, ácidos e ésteres, entre outros (Gray e Crackel, 1998).

A beta-oxidação, bastante estudada em produtos cárneos (Ordóñez *et al.*, 1999) pode acontecer na carne, decorrendo, quer da actividade enzimática residual do músculo, quer através de microrganismos. Nesta reacção há degradação de ácidos gordos saturados em ácido acético através da eliminação sucessiva de pares de carbono, tendo como produtos finais acetilCoA e propionilCoA, podendo levar à libertação dos ácidos correspondentes. A produção de cetonas por esta via também é possível (Montel *et al.*, 1998). Esta utilização dos ácidos gordos está bem estabelecida em organismos eucariotas, envolvendo material enzimático mitocondrial e dos peroxissomos, assim como em alguns grupos específicos de bactérias (Ratledge, 1992).

Os compostos finais formados a partir da decomposição dos hidroperóxidos são constituídos por compostos alifáticos - incluindo hidrocarbonetos saturados e insaturados, álcoois, aldeídos, cetonas, ácidos e ésteres - tal como compostos cíclicos - como furanos, lactonas e cetonas cíclicas. Muitos destes compostos possuem odores intensos, pelo que o perfil e quantidades em que estão presentes determina a qualidade do *flavour* e conseqüentemente o grau de aceitabilidade da carne (Farmer, 1992). A nota aromática conferida por estes compostos é muito variada, e aparentemente com impactos diferentes em função do conjunto em que se insere. Como exemplo, o hexanal, originado principalmente por oxidação dos ácidos linoleico e araquidónico, é apontado por Martin *et al.* (2000) como conferindo um aroma levemente rançoso. Porém, para o mesmo composto, Stahnke (1994) refere um odor agradavelmente herbáceo ou frutado. Dos vários compostos formados por oxidação lipídica as notas aromáticas variam do rançoso e pelargónico de alguns aldeídos, a frutados, herbáceo e a cogumelos de alguns álcoois, e cheiros frutados e florais das cetonas, ainda que com notas mais agressivas, como acetona, queijo ou mosto (Rossel, 1992; Gray e Pearson, 1994; Ranken, 1994)

II.2. APLICAÇÃO DE TÉCNICAS DE EMBALAGEM EM ATMOSFERAS MODIFICADAS A CARNE FRESCA

A utilização de embalagem em carne fresca tem como principais objectivos: isolar o produto de factores ambientais adversos; protecção contra lesões físicas; prevenção das perdas de H₂O por evaporação e prevenção e/ou redução da contaminação microbiana, permitindo aumentar a sua vida útil (Betts e Everis, 2000).

A vida útil de carne fresca define-se como o período mais longo de armazenamento que decorre desde o momento da aplicação da embalagem até à sua deterioração, e, determina-se por parâmetros de qualidade microbiológica e sensoria, anteriores ao aparecimento de sinais inaceitáveis de deterioração. O ponto de deterioração pode definir-se como o nível máximo aceitável de bactérias ou o aspecto e/ou odores/aromas inaceitáveis e desagradáveis para o consumidor (Borch *et al.*, 1996, Insausti *et al.*, 1999)

A selecção de um sistema de embalagem apropriado para a preservação requer o conhecimento dos principais processos deteriorativos, das condições higiénicas do produto imediatamente antes da embalagem e a(s) temperatura(s) a que o produto tem que ser mantido durante o armazenamento e a distribuição. A ausência de um conhecimento integrado destes factores continua a retardar o uso óptimo de embalagens de preservação (Jeremiah, 2001; Beggan *et al.*, 2004).

Actualmente, existem várias técnicas de embalagem que podem ser aplicadas à carne, com maior ou menor efeito na sua vida útil, como sejam a embalagem em película permeável ao O₂, em atmosferas modificadas com gás ou sob vácuo, entre outras. Na embalagem de carne vermelha, um dos principais métodos utilizados consiste na utilização de técnicas de embalagem em atmosferas modificadas (AMs), normalmente com misturas de oxigénio, dióxido de carbono e azoto (Insausti *et al.*, 2001).

Na escolha do tipo de embalagem a usar na conservação da carne fresca deve ter-se em consideração que o principal critério de selecção do consumidor no momento de compra de carne é a sua cor (Insausti *et al.*, 1999; Luño *et al.*, 2000). Esta é determinada pelas proporções relativas dos 3 derivados da mioglobina: oximioglobina, desoximioglobina e metamioglobina (Luño *et al.*, 1998; Rhao e Sachindra, 2002). Na ausência de O₂, o pigmento encontra-se na forma de desoximioglobina ou mioglobina reduzida (Mb) que possui uma cor púrpura (Mancini e Hunt, 2005). Esta é a cor do tecido muscular profundo e da carne embalada em vácuo. Com a exposição ao ar, a mioglobina reage com o O₂ para formar a oximioglobina (OMb), conferindo ao músculo uma cor vermelho vivo que os consumidores consideram atractiva. A desoximioglobina e a oximioglobina reagem ambas com o O₂ para originar a forma oxidada, a metamioglobina (MMb), que confere a cor castanha à carne e que os consumidores associam a perda de qualidade (Renner, 1990; Singh e Anderson, 2004).

Dos vários métodos disponíveis para prevenir a deterioração microbiana, um dos mais utilizados é a embalagem em atmosfera modificada. Esta técnica consiste na inclusão da carne em materiais de embalagem com boas propriedades de barreira ao gás, nas quais o ambiente gasoso é modificado para, retardar ou inibir o crescimento microbiano (especialmente de *Pseudomonas* spp.) e, a taxa de formação de metamioglobina. Deste modo, pode preservar-se o aspecto fresco da carne e retardar o início da deterioração (Gill, 1996; Beggan *et al.*, 2004). Church e Parsons (1995) referem que a extensão da vida útil

da carne embalada em AM pode aumentar o risco microbiológico para a saúde pública ao permitir que microrganismos patogênicos psicrótróficos atinjam níveis inaceitáveis que tornam a carne imprópria para consumo humano, apesar desta não exibir alterações sensoriais. A embalagem em atmosfera modificada deve ser associada a um controle estreito da temperatura com vista à inibição microbiana máxima, pois em casos de temperaturas abusivas, a deterioração processa-se de igual modo à observada na ausência de atmosfera conservadora (Tewari *et al.*, 1999; Walker e Betts, 2000; James e James, 2002).

II.2.1. Tipos de embalagem

Quando nos referimos a alimentos embalados em atmosfera modificada (AM), incluímos embalagem sob vácuo, embalagem em atmosfera controlada (EAC) e a “verdadeira” embalagem em atmosfera modificada com gás, fluxo de gás ou transferência de gás, e ainda produtos que respiram normalmente com utilização de uma película permeável (Church e Parsons, 1995; Phillips, 1996).

As embalagens sob vácuo podem ser definidas como a introdução do produto numa embalagem de alta barreira, ou seja, películas com baixa permeabilidade ao oxigênio (Gill, 1996; Jay, 2000), com remoção do ar (Church e Parsons, 1995). A embalagem em AM com gás é frequentemente uma alternativa à embalagem em atmosfera sob vácuo e é uma extensão deste processo, sendo o ar removido e substituído por um gás específico ou por uma combinação de gases (Farber, 1991). A embalagem em atmosfera controlada (AC) envolve a manutenção de uma atmosfera precisa na câmara de armazenamento. Esta pode ser considerada uma forma de AM, uma vez que a remoção do ar é por si só uma modificação de atmosfera (Hintlian e Hotchkiss, 1986; Phillips, 1996).

O vácuo e a AM com baixa tensão de O₂ são amplamente utilizados mesmo em circunstâncias inapropriadas que permitem apenas uma extensão modesta da vida útil. Consequentemente, têm sido desenvolvidos sistemas de embalagem usando atmosferas modificadas ou controladas com o objectivo de preservar os alimentos durante períodos de tempo mais longos (Tewari *et al.*, 2002; Venturini, 2003).

De acordo com Jeremiah *et al.* (1995), o sistema de embalagem mais eficaz para preservação de carne refrigerada é o de atmosfera controlada com elevada concentração de CO₂. Este tipo de embalagem limita a deterioração microbiana através da utilização de uma temperatura de armazenamento óptima (-1,5°C), de níveis de CO₂ elevados e de O₂ baixos (≤500ppm) e pela utilização de uma película impermeável ao gás.

Tanto o vácuo como as atmosferas controladas com elevada concentração de CO₂ têm sido usados com sucesso em carne de bovino e de cordeiro. Mas a embalagem sob vácuo tem sido pouco eficaz em carne de porco. Algumas AMs são utilizadas com o objectivo de simplesmente inibir a oxidação, outras têm em vista um efeito bactericida ou bacteriostático, como é o caso daquelas em que se utiliza o CO₂ (Hintlian e Hotchkiss, 1986; Jeremiah *et al.*, 1995). Vários estudos indicaram que as atmosferas controladas ricas em CO₂ têm potencial para retardar a deterioração microbiana em carne de porco, por vezes semelhante à obtida em carne de bovino (Blickstad e Molin, 1983; Gill e Harrison, 1989; Jeremiah *et al.*, 1992a e b).

No Quadro 2 apresentam-se as diferentes terminologias usadas nas técnicas de embalagem em atmosfera modificada com uma descrição sumária das suas características.

Quadro 2- Terminologias usadas nas técnicas de embalagem em atmosfera modificada com uma descrição sumária das suas características (adaptado de Phillips, 1996).

Terminologias	Características
Embalagem em Atmosfera modificada (EAM)	Substituição de ar por gás ou mistura de gases. Não controlo posterior acerca da composição inicial.
Embalagem em Atmosfera controlada (EAC) ou Armazenamento em atmosfera controlada	Proporção e tipo de mistura de gás são controlados ao longo do período de armazenamento.
Embalagem em atmosfera equilibrada modificada (EAEM)	Utilizado em frutos e vegetais.
Embalagem sob vácuo	Produtos selados em embalagens de baixa permeabilidade ao gás, sendo a atmosfera o resultado do metabolismo da sua microflora
Embalagem sob vácuo em película	Utilizada em produtos sensíveis. A película de filme é colocada sobre o produto e aplicado a vácuo.

Segundo Taylor *et al.* (1990) quando se comparam os sistemas de embalagem sob vácuo e 75% O₂: 25% CO₂ deve efectuar-se um balanço entre a importância da cor vermelha - atractiva para o consumidor - e o período relativamente curto de armazenamento permitido pelas AMs, com a embalagem sob vácuo, não obstante a cor pouco usual, obtém-se uma estabilidade microbiológica mais prolongada.

II.2.1.1. Embalagem em aerobiose

O principal objectivo da embalagem de carne fresca em película permeável ao O₂ é a preservação da cor vermelho-vivo que a caracteriza (Sørheim *et al.*, 2001).

A carne fresca embalada em aerobiose possui uma vida útil comercial relativamente curta, que pode variar, segundo Stanbridge e Davies (1998) de aproximadamente 10 dias se a carne for armazenada a 0°C ou 5 dias se for armazenada a 5°C.

A microflora deteriorativa da carne refrigerada embalada nestas condições é, geralmente, dominada por bactérias Gram negativas, aeróbias, psicrotróficas pertencentes aos géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter* e *Psychrobacter* (Gill, 1983; Dainty e Mackey, 1992). Nos últimos estádios de deterioração, predominam *Pseudomonas* spp., representando de 50 a 90% da microflora deteriorativa devido à sua maior taxa de crescimento em condições de refrigeração, aerobiose e disponibilidade de nutrientes (Dainty e Mackey, 1992; Borch *et al.*, 1996).

Outras bactérias como *Brochothrix thermosphacta* e elementos da família *Enterobacteriaceae* (*Serratia liquefaciens*, *Hafnia alvei* e *Enterobacter agglomerans*) estão também presentes, embora constituam apenas uma pequena proporção da microflora total. Estes organismos assumem maior importância em carne de porco e cordeiro, particularmente nas superfícies de gordura e a temperaturas superiores a 5°C (Gill, 1983; Varnam e Sutherland, 1995; James e James, 2002).

As BAL estão presentes em número reduzido na microflora inicial da carne e, como já foi referido anteriormente, têm um potencial deteriorativo fraco, pelo que são consideradas como contaminantes de menor importância em aerobiose (Dainty e Mackey, 1992).

De acordo com o exposto, a deterioração da carne, normal e DFD, embalada em película permeável ao O₂, é determinada pelo metabolismo de *Pseudomonas* spp. (Gill, 1983). As alterações da carne DFD tornam-se evidentes quando estes microrganismos atingem uma densidade celular superior a 10⁶ ufc/cm², enquanto que em carne normal só ocorrem com densidades superiores a 10⁸ ufc/cm² (Newton e Gill, 1979). Segundo Dainty e Mackey (1992), durante o período de embalagem vários odores característicos como o adocicado ou frutado, o sulfuroso, o pútrido, e a queijo ou a manteiga podem ser perceptíveis. Dainty *et al.* (1985), constataram que o aroma da carne embalada em aerobiose apresentava uma evolução gradual e que este se processava do seguinte modo: cheiro inicial a carne fresca (quando o nível de contaminação é ≤10⁷ bactéria/g) é substituído por um outro não fresco, mas não desagradável, passando a manteiga/queijo (10⁸ bactéria/g) e eventualmente a um cheiro de adocicado/frutado e finalmente pútrido (>10⁹ bactérias/g).

A carne DFD armazenada em aerobiose a 6°C apresenta odores desagradáveis após 2 dias, enquanto a carne de pH normal só os emite ao fim de 4 dias (Stanbridge e Davies, 1998). A adição de glucose à carne DFD pode atrasar a deterioração por *Pseudomonas* spp., uma vez que irá retardar a utilização dos a.a. como fonte de energia (Dainty e Hibbard, 1980; Lambropoulou *et al.*, 1996).

II.2.1.2. Embalagem em atmosfera modificada (AM)

A embalagem em atmosferas modificadas pode ser definida como a “colocação de produtos alimentares em materiais herméticos, nos quais o ambiente gasoso foi modificado” (Young *et al.*, 1988), de modo a inibir o desenvolvimento de bactérias causadoras de deterioração e, assim, manter a qualidade de produtos perecíveis durante a sua vida útil ou prolongar o seu prazo de validade (Farber, 1991; Nissen *et al.*, 2000).

Esta técnica foi utilizada pela primeira vez na conservação de carne fresca, nos anos trinta, durante o transporte de carcaças de bovinos refrigeradas em porções de navios da Austrália e Nova Zelândia para a Grã-Bretanha, armazenada em embalagens em atmosfera contendo CO₂ (Silliker e Wolfe, 1980; Cornforth e Hunt, 2008). A indústria alimentar europeia usa frequentemente AMs e estudos de mercado revelam que, desde a década de 80, este tipo de embalagem se apresenta em grande expansão. Nessa altura Daniels *et al.* (1985), Genigeorgis (1985) e Hintlian e Hotchkiss (1986) documentaram a capacidade das AMs prolongarem a vida útil de vários produtos, incluindo carne de aves, pescado, entre outros produtos alimentares.

A utilização mundial de tecnologia de AM acarreta numerosas vantagens e desvantagens, que têm sido periodicamente revistas. Para Farber (1991) e Phillips (1996), as vantagens da tecnologia da AM consistem no aumento do prazo de validade em 40 a 50%; na redução das perdas económicas; na redução dos custos de produção/distribuição de produtos a maiores distâncias e no decréscimo de devoluções; na obtenção de produtos de alta qualidade; numa boa visualização do produto; na separação facilitada de produtos fatiados (p. ex.: bacon em AM e em embalagem sob vácuo); e na pouca ou nenhuma utilização

de aditivos químicos. Por sua vez, as desvantagens incluem os custos adicionais; o controlo rigoroso e adequado da temperatura; a necessidade de formulações gasosas diferentes e específicas para cada tipo de produto; o treino e equipamento especial; a segurança do produto não está estabelecida; o aumento do volume da embalagem e custos de transporte e os benefícios perdem-se após abertura da embalagem.

O ponto de partida para a introdução de novas tecnologias de embalagem em atmosfera modificada foi devida a um aumento da procura por parte do consumidor de produtos frescos e refrigerados, no sentido de aumentar a vida útil do produto sem necessidade de recorrer a conservantes (Farber, 1991; Philips, 1996).

As técnicas de embalagem em AM são actualmente usadas numa grande variedade de produtos frescos ou refrigerados, incluindo carnes cruas ou cozinhadas; aves, peixes, massa fresca, frutas e vegetais frescos e mais recentemente em produtos secos, tais como café e chá e em produtos de padaria. Para alguns destes, a AM é o método de embalagem mais utilizado (Jayas e Jeyamkondan, 2002).

As AMs aplicadas à carne fresca podem ser divididas em duas técnicas básicas: embalagem sob vácuo e embalagem com gás.

II.2.1.2.1. Embalagem sob vácuo

A embalagem sob vácuo que envolve a colocação da carne numa película com baixa permeabilidade ao oxigénio, a remoção do ar da embalagem e a aplicação de fecho hermético, tem como objectivo o prolongamento da vida útil da carne fresca (Dainty e Mackey, 1992). Os materiais mais indicados são os impermeáveis ao O₂, que levam uma perda da cor vermelha, a qual é reversível na maioria dos casos após abertura da embalagem e exposição ao ar. A necessidade de utilizar películas impermeáveis ao O₂ (com uma taxa de transmissão de O₂ muito baixa ou preferencialmente zero), na embalagem de carne sob vácuo, deriva da impossibilidade, na prática, de se obterem atmosferas completamente livres de O₂ no momento do fecho hermético. É portanto inevitável, mesmo após a remoção do O₂ (ar residual), a contaminação pelo O₂ devido a vestígios de ar que ficam na embalagem (Gill, 1996). Segundo o mesmo autor, e, tendo em conta o equipamento comercial disponível concebido para as embalagens neste tipo de atmosfera, a concentração mais baixa de O₂ conseguida é de 100 ppm. Em concentrações tão baixas, o O₂ é rapidamente removido da atmosfera com formação de metamioglobina na superfície da carne, causando geralmente descoloração transitória durante 2 a 4 dias. De acordo com Hood (1980), a cor da carne mantém-se estável por tempo indefinido, pois não ocorre formação de metamioglobina durante o armazenamento e a metamioglobina formada antes da embalagem é reconvertida em mioglobina dependendo da capacidade redutora do músculo. Quando utilizamos películas permeáveis ao O₂, o tecido muscular actua como um absorvedor do O₂, de modo a manter uma tensão de O₂ muito baixa na superfície da carne, resultando na oxidação da desoximioglobina. Apesar dos tecidos possuírem capacidade de redução da metamioglobina, esta decresce e esgota-se com o tempo e, conseqüentemente, a taxa de formação da metamioglobina excede a taxa de redução, com acumulação lenta da metamioglobina e descoloração do tecido muscular superficial. Para além do efeito referido na

qualidade sensorial da carne, a utilização de películas permeáveis ao O₂ altera a composição da microflora deteriorativa, através do aumento da taxa de crescimento e das contagens totais de *Pseudomonas* spp. e do aumento das contagens totais de *Brochothrix thermosphacta* (Gill, 1996). No entanto, de acordo com Dainty e Mackey (1992), com este tipo de atmosfera, o crescimento dos microrganismos deteriorativos Gram negativos aeróbios, especialmente *Pseudomonas* spp., está afectado pelo baixo volume de O₂ (≈1%) e pelo efeito inibitório do CO₂. Este último está presente na ordem dos 10-20% v/v e resulta das actividades respiratórias do tecido muscular e dos microrganismos (Silliker e Wolfe, 1980; Gill, 1996; Jay, 2000). Nestas condições, a deterioração é evidente quando *Pseudomonas* spp. atingem uma densidade celular de 10⁶ bactéria/cm² que é semelhante à obtida em carne DFD embalada em aerobiose (Gill, 1983), enquanto que em carne Normal só com densidades superiores a 10⁸ ufc/cm² (Newton e Gill, 1979).

Os materiais de embalagem são mais permeáveis ao CO₂ do que ao O₂, de modo que, uma película pouco permeável pode impedir a saída de O₂ deixando, no entanto, escapar o CO₂, mantendo assim o vácuo. A maioria das películas usadas são impermeáveis ao vapor de água, minimizando as perdas de peso durante o armazenamento, resultantes da pressão sobre o produto (Gill, 1983; Cutter, 2002).

A conservação sob vácuo tem a vantagem da utilização de técnicas simples, contudo, os danos provocados pela compressão, levam à perda de forma e aumento da probabilidade de ocorrência de exsudado (Farber, 1991; Church e Parsons, 1995).

A carne embalada sob vácuo e armazenada a baixas temperaturas inibe o desenvolvimento bacteriano e consequentemente diminui a deterioração da carne (Labadie, 1999; Jeremiah, 2001). Para Egan (1983), na embalagem sob vácuo, pode obter-se uma vida útil, em carne de bovino, de 10 a 12 semanas a 0°C, até os odores se tornarem inaceitáveis.

Nestas condições, a microflora deteriorativa é gradualmente substituída por microrganismos Gram positivos anaeróbios facultativos, com predomínio das BAL (Taylor *et al.*, 1990; Gill, 1996; Stanbribe e Davies, 1998). As principais espécies de BAL são do tipo homofermentativo de *Lactobacillus* (*L. sake*, *L. curvatus*, *L. bavaricus*), *Carnobacterium* (*C. divergens*, *C. piscicola*) e *Leuconostoc* (*L. carnosum*, *L. gelidum* e *L. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*) (Dainty e Mackey, 1992), enquanto que *Lactococcus* spp. são menos frequentes (Varnam e Sutherland, 1995). De acordo com García-Lopez *et al.* (1998) e James e James (2002), a dominância das BAL deve-se ao facto de apresentarem uma maior taxa de crescimento em condições de refrigeração, ausência de repressão catabólica na presença de baixas tensões de O₂, maior tolerância ao CO₂ e fermentação da glucose com produção de ácido láctico (Gill, 1983; James e James, 2002). Schillinger e Lucke (1987) constataram que este metabolito inibe o desenvolvimento de *Brochothrix thermosphacta*, *Shewanella putrefasciens* e *Enterobacteriaceae*.

Se a carne é DFD e a conservação efectuada a temperaturas elevadas, pode obter-se um desenvolvimento considerável de *Brochothrix thermosphacta*, *Shewanella putrefasciens* e de membros da família *Enterobacteriaceae* (Gill, 1983). De acordo com Erichsen e Molin (1981), *Brochothrix thermosphacta* pode constituir 40% da microflora da carne DFD embalada sob vácuo. O desenvolvimento de bactérias com maior potencial deteriorativo do que as BAL, é responsável pela sua deterioração mais rápida em carne DFD, e faz-se acompanhar pelo desenvolvimento de uma coloração verde (Gill, 1983). Com vista a prolongar a vida útil comercial de carne DFD, Shay *et al.* (1994) (citados por Stanbridge e Davies, 1998)

propuseram o armazenamento a temperaturas inferiores a 0°C e Erichsen e Molin (1981) o uso de embalagem em atmosfera com 100% de CO₂.

Os odores da carne embalada em vácuo são menos desagradáveis do que os da carne embalada em aerobiose (Borch *et al.*, 1996), pois de um modo geral as BAL não produzem substâncias causadoras de maus odores (Dainty *et al.*, 1975). De acordo com Varnam e Sutherland (1995), o tipo de odor indicativo de deterioração é o fermentado ou ácido, detectável apenas quando o número de microrganismos atinge valores iguais ou superiores a 10⁸ ufc/g. A causa exacta deste tipo de alteração é desconhecida, no entanto presume-se que resulte da acumulação lenta de ácido láctico e de outros produtos finais da fermentação da glucose pelas BAL (James e James, 2002).

Na embalagem sob vácuo é necessário um conteúdo em O₂ menor que 2% v/v, para reduzir significativamente a rancificação oxidativa, e a razão superfície/volume é também de grande importância determinando a área de superfície disponível para trocas gasosas. Porções grandes de carne em embalagem sob vácuo têm uma razão de ar residual para a carne suficientemente baixa para garantir a depleção rápida do O₂, pelo contrário em porções de carne mais pequenas essa razão tende a ser maior e conseqüentemente a formação de metamioglobina em maior quantidade, pode provocar a descoloração da carne (Church e Parsons, 1995).

II.2.1.2.2. Embalagem em AM com gás

A técnica de embalagem em AM com gás que implica a remoção do ar da embalagem e a sua substituição por gases específicos, únicos ou em combinação, seguida de fecho hermético (Young *et al.*, 1988; Cutter, 2002), foi desenvolvida para ultrapassar alguns dos problemas associados, ou causados, pela embalagem sob vácuo, nomeadamente para inibir um maior leque de microrganismos deteriorativos, evitar danos devidos à compressão mecânica e solucionar o problema da cor depreciativa em carnes vermelhas. Tal como na embalagem sob vácuo, os produtos são normalmente armazenados em refrigeração, de modo a maximizar os efeitos dos gases utilizados (Cutter, 2002). A composição da atmosfera envolvente ao produto condiciona consideravelmente a manifestação de alterações (bio)químicas, sendo estas alterações observadas tanto a nível das reacções enzimáticas como ao nível da prevenção de alteração microbiana.

Nas AMs geralmente são usados três gases principais, designadamente o oxigénio (O₂), o dióxido de carbono (CO₂) e o azoto (N₂), cada um com uma função específica (Young *et al.*, 1988; Church e Parsons, 1995). Apesar de gases residuais, tais como monóxido de carbono (CO), óxido de nitrogénio (NO), dióxido de enxofre (SO₂), serem mencionados como gases possíveis na utilização em AM de alimentos (Farber, 1991), a maioria destes, quer por uma questão de segurança, quer por aspectos legais ou por razões de custo não tem sido utilizada.

A escolha dos gases é influenciada pela capacidade de desenvolvimento da microflora no produto, pela sensibilidade ao O₂ e ao CO₂ e pelos requisitos de estabilidade da cor (Philips, 1996). A concepção de um sistema de embalagem óptimo para qualquer produto envolve a consideração de uma série de factores, sendo o mais importante a quantidade relativa de O₂ e CO₂ determinados pela concentração destes gases

no interior da embalagem, pelo volume e pela permeabilidade do material de embalagem. A otimização do sistema de embalagem resulta numa maximização da qualidade e na minimização de riscos para a saúde pública (Church e Parsons, 1995).

Definir a atmosfera de armazenamento adequada é complexo, uma vez que existem recomendações contraditórias para produtos aparentemente idênticos: por exemplo a atmosfera óptima para a embalagem de carne de frango é de 75% de N₂ e 25% de CO₂ v/v de acordo com Guise (1992) e de 50% N₂ e de 50% CO₂ v/v de acordo com Smith *et al.* (1990) (autores citados por Church e Parsons, 1995). Segundo Nissen *et al.* (2000) a mistura gasosa mais frequentemente utilizada para a carne fresca pronta a utilizar nos países Europeus é 70% de O₂ e 30% de CO₂. Uma concentração elevada de O₂ é necessária para manter a cor vermelha da carne (Giil, 1996; Nissen *et al.*, 2000). De acordo com Labadie (1999) e Tewari *et al.* (2002) referem que numa atmosfera que contenha apenas CO₂ puro e absorvedores de O₂, a conservação do produto é elevada (de 3 ou 4 semanas à temperatura de +2°C), enquanto uma atmosfera modificada que contenha 2 (O₂, CO₂) ou 3 gases (O₂, CO₂, N₂), permite uma conservação que é bastante mais reduzida. Por exemplo, uma mistura contendo 66% O₂, 25% CO₂ e 9% N₂ fornece um máximo de 2 semanas de conservação à temperatura de +2°C. Isto deve-se à fraca influência inibitória de CO₂ em *Brochothrix thermosphacta* e ao desenvolvimento de outras bactérias como *Pseudomonas* spp. ou *Psychobacter* spp. que utilizam para o seu desenvolvimento o O₂ residual (Newton e Rigg, 1979; Labadie, 1999).

De acordo com Dainty e Mackey (1992), não foram encontradas evidências de que as bactérias encontradas após armazenamento da carne em AMs com O₂/CO₂ ou 100% de CO₂ são distintas das descritas em aerobiose ou em vácuo.

II.2.1.2.2.1. Oxigénio

O oxigénio é um dos factores com maior efeito na vida útil da carne fresca devido à sua acção química sobre as gorduras e, pelo facto de permitir o desenvolvimento de microrganismos aeróbios deteriorativos (Stanbridge e Davies, 1998; Ooraikul, 2000; Mano *et al.*, 2002). Contudo, a sua inclusão na embalagem de carne fresca é vantajosa, pois inibe o desenvolvimento de microrganismos anaeróbios e permite o aparecimento e manutenção de uma cor vermelho vivo (oximioglobina), satisfazendo, deste modo, as exigências do consumidor que associa esta cor a um estado de frescura (Daniels *et al.*, 1985; Church e Parsons, 1995; Kilcast e Subramaniam, 2000). Devido a esta dualidade de efeitos, é introduzida na embalagem apenas uma quantidade de oxigénio suficiente para manter a cor, mas de modo a não favorecer as reacções deteriorativas induzidas por este gás. Young *et al.* (1988), constataram que com a utilização de pressões de oxigénio superiores a 240 mm de Hg ocorria uma redução simultânea da dissociação do oxigénio da oximioglobina e da redução da mioglobina a metamioglobina, prolongando o aspecto fresco da carne (Stanbridge e Davies, 1998).

Nas atmosferas com concentrações elevadas de O₂ (50-100%), juntamente com 15-50% de CO₂, a microflora deteriorativa é, em essência, similar à da embalagem sob vácuo com predomínio das BAL, sendo as espécies mais frequentes as pertencentes ao género *Leuconostoc*. *Brochothrix thermosphacta* exibe um maior desenvolvimento, possivelmente devido à sua relativa tolerância ao CO₂ e pela presença

de O₂, permitindo a multiplicação desta bactéria a valores de pH inferiores a 5,8 (Varnam e Sutherland, 1995; James e James, 2002). *Pseudomonas* spp. e elementos do grupo *Enterobacteriaceae* podem também ser encontrados em maior número comparativamente à embalagem sob vácuo (Dainty e Mackey, 1992).

II.2.1.2.2.2. Dióxido de carbono

O dióxido de carbono é amplamente utilizado na conservação de alimentos, sendo em alguns países utilizado há mais de um século (Farber, 1991; Gould, 1996). No entanto, o mecanismo pelo qual o CO₂ inibe o crescimento das bactérias não se encontra totalmente esclarecido. Entre os vários mecanismos propostos para se obter o efeito bacteriostático encontram-se: (1) alteração da função da membrana na captação de nutrientes; (2) inibição de enzimas ou redução das taxas de reacção enzimática; (3) alteração do pH intracelular com perturbação do equilíbrio enzimático; (4) alteração do gradiente de protões; (5) alteração das propriedades físico-químicas das proteínas devido a alteração das forças electrostáticas internas; (6) feed-back negativo - o pH afecta as descarboxilases, conduzindo à formação de mais CO₂ e (7) dissipação de energia (Daniels *et al.*, 1985; Stanbridge e Davies, 1998).

A concentração efectiva de CO₂ está dependente da composição da carne, da percentagem de gordura, da forma e tamanho das peças, da composição das superfícies expostas, do pH, da temperatura de armazenamento, da pressão e da solubilidade do CO₂ no sistema, da presença de outros solutos, a sensibilidade das bactérias e da fase de crescimento (Gill, 1988, Stanbridge e Davies, 1998), estando o seu efeito inibitório directamente relacionado com a quantidade presente (Church e Parsons, 1995; Ooraikul, 2000). Gill e Tan (1980) constataram que esse efeito aumentava linearmente até se atingirem concentrações de 50-60% de quantidade de gás (volume total de atmosfera), acima das quais não se verificavam efeitos adicionais sobre a maioria dos microrganismos. Fraqueza (2006) em carne de peru verificou também que a presença de CO₂ na mistura gasosa provocou uma inibição maior do desenvolvimento microbiano, comparativamente com as amostras embaladas em misturas que não continham esse gás, todavia essa inibição não aumentou linearmente com a concentração de 80%.

Gill e Tan (1980) verificaram ainda que a solubilidade do CO₂ aumentava com as temperaturas baixas de armazenamento, existindo assim um sinergismo entre a refrigeração e a aplicação de CO₂ na conservação das carnes frescas. Também para Gill (1988) e Gill e Molin (1991), o efeito bacteriostático geral do CO₂ aumenta com a diminuição da temperatura.

Shay e Egan (1987) e Gill e Penney (1988) referem que é necessária uma maior quantidade do que aquela que se dissolve no produto para a obtenção de um efeito óptimo. Contudo, quando são usadas concentrações elevadas de CO₂, a dissolução de parte do gás na fase aquosa da carne, com formação de ácido carbónico, pode produzir sabores ácidos desagradáveis (Enfors e Molin, 1980, 1984; Church e Parsons, 1995).

As bactérias Gram negativas são mais susceptíveis ao efeito do CO₂ do que as Gram positivas (Sutherland *et al.*, 1975a; Dixon e Kell, 1989; Lambert *et al.*, 1991; Devlieghere e Devere, 2000; Williams-Campbell e Jay, 2002).

A sensibilidade dos microrganismos ao CO₂ diminui à medida que estes se deslocam da fase *lag* para a fase crescimento, de modo que quanto mais rápido se proceder à embalagem do produto mais eficaz será a acção do CO₂ (Church e Parsons, 1995) e o metabolismo e ligação a proteínas (Gill, 1988; Jones, 1989; Stiles, 1991).

As condições de exposição e a evolução da cor da carne também afectam a vida útil e a aceitação por parte do consumidor. Após as 10 semanas, as diferenças nas contagens microbiológicas foram menores, indicando que o CO₂ e baixas temperaturas prolongam o período *lag* e/ou levam a taxas de crescimento baixas (Nissen *et al.*, 1996). A carne picada de bovino tem sido estudada por alguns autores (Enfors e Molin, 1978; Gill e Newton, 1979; Gill e Tan, 1980), com vista a avaliar a inibição de microrganismos de deterioração armazenada sob CO₂ (Williams-Campbell e Jay, 2002).

A embalagem de carne fresca em atmosfera com elevada tensão de CO₂ é a que permite uma maior extensão da vida útil, devido ao efeito inibitório exercido pelas elevadas concentrações deste gás. No entanto, é acompanhada de rápida descoloração da superfície do tecido muscular, causando rejeição sensorial (Ledward, 1970, Silliker *et al.*, 1977; Dainty e Mackey, 1992; Cornforth e Hunt, 2008). A saturação da atmosfera envolvente da carne com CO₂ e diminuição da temperatura a -1,5°C, faz com que a vida útil possa ser aumentada até vários meses (Gill e Penney, 1988; Venturini, 2003).

Estudos de microflora invariavelmente demonstraram uma dominância esmagadora de BAL (Enfors *et al.*, 1979; Erichsen e Molin, 1981; Blickstad e Molin, 1983; Dainty e Mackey, 1992), apesar de outros revelarem que *Enterobacteriaceae* e *Brochothrix thermosphacta* podem ainda ser causa de deterioração se estiverem inicialmente presentes em níveis elevados na microflora contaminante, se a carne tiver um pH elevado ou se forem utilizados materiais de embalagem pouco impermeáveis ao O₂ (Gill e Penney, 1988; Gill e Harrison, 1989; Dainty e Mackey, 1992).

Segundo Gill e Penney (1988) o armazenamento da carne com AMs em plástico ou "folha laminada" com 100% de CO₂ pode prolongar a vida útil de carne com pH normal ou elevado por períodos de 3 meses ou superiores a temperaturas de 0°C a 1°C.

De acordo com Borch *et al.* (1996), a vida útil da carne fresca aumenta na seguinte ordem: embalagem em aerobiose, AM com elevada tensão de O₂, vácuo e 100% CO₂.

Segundo Gram *et al.* (2002), as BAL, *Enterobacteriaceae*, *Brochothrix thermosphacta* e *Shewanella putrefasciens*, os quais são capazes de crescer em atmosferas anaeróbias, sendo responsáveis pela deterioração de carne e de produtos cárneos. O odor a fermentado e ácido observado em carne e produtos cárneos em fase de deterioração têm sido atribuídos às BAL *Pseudomonas* spp. contribuem provavelmente para os odores desagradáveis verificados na carne a elevadas concentrações de O₂ (Dainty e Mackey, 1992; Alonso-Calleja *et al.*, 2004).

No Quadro 3 encontra-se representada a vida útil comercial estimada de carne normal e DFD em refrigeração e a capacidade de crescimento de alguns microrganismos em diferentes tipos de embalagem.

Quadro 3- Vida útil comercial estimada para carne normal e DFD em refrigeração e capacidade de desenvolvimento de alguns microrganismos em diferentes tipos de embalagem (adaptado de Borch *et al.*, 1996).

Produto	Embalagem	Vida útil previsível	Desenvolvimento de microrganismos			
			<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Enterobacteriaceae</i>	BAL	<i>B. thermosphacta</i>
Carne Normal	Aerobiose	Dias	+++	++	++/	++/+++
	AM c/ elevada tensão O ₂	Dias	+++	++/+++	++	+++
	Vácuo	Semanas/meses	+	+ / ++	+	++/+++
	100% CO ₂	Meses	+	+ / ++	++	+
Carne DFD	Vácuo	Dias	+	++/+++	+	++/+++
	100% CO ₂	Semanas/meses	+	+ / ++	++	+
					+	

+++ fracção dominante da microflora; ++ fracção intermédia da microflora; + fracção minoritária da microflora.

As BAL predominam nas carnes armazenadas sob vácuo e as outras bactérias deteriorativas desenvolvem-se lentamente, ou simplesmente não se multiplicam, resultando numa vida útil da carne de bovino longa e livre de odores até 34 dias de embalagem (Dainty *et al.*, 1979; Taylor *et al.*, 1990).

No estudo de Taylor *et al.* (1990) e Jackson *et al.* (1992), os odores desagradáveis desenvolveram-se mais rapidamente em AM do que em vácuo. Tal poderá ser atribuído em parte aos elevados teores de *Brochothrix thermosphacta* na embalagem em AM, e pelo facto deste microrganismo produzir produtos finais aromaticamente activos em condições aeróbias (Dainty e Hibbard, 1983). BAL, as quais são predominantes nos dois tipos de embalagem, também produzem substâncias aromaticamente activas em condições aeróbias (Kandler, 1983, citado por Taylor *et al.*, 1990), o que pode contribuir para o mais rápido desenvolvimento de odores desagradáveis nas AMs (Taylor *et al.*, 1990).

II.2.1.2.2.3. Azoto

O azoto é um gás inerte, sem sabor, de baixa solubilidade na água e desprovido de actividade antimicrobiana. É usado com frequência nas AM como balastro, em alternativa ao O₂ ou à embalagem sob vácuo, para reduzir o stresse físico sobre a carne, prevenindo o colapso da embalagem provocado pela absorção de dióxido de carbono (Daniels *et al.*, 1985; Gill, 1996; Stanbridge e Davies, 1998; Tewari *et al.*, 1999; Guynot *et al.*, 2003; Mullan e McDowell, 2003).

II.2.1.2.2.4. Monóxido de carbono

O monóxido de carbono é um gás incolor, inodoro e sem sabor, cuja formação resulta da combustão incompleta de materiais contendo carbono (Sørheim *et al.*, 2001). Foi usado na indústria de carnes na

Noruega desde a década de 80 com obtenção de resultados satisfatórios (Sørheim *et al.*, 1996; Cornfort e Hunt, 2008). No entanto, a sua utilização, ainda que em pequena percentagem, não é permitida no nosso país, nem nos restantes países da Comunidade Europeia.

Este gás quando usado como componente da atmosfera envolvente, mesmo que em pequenas concentrações, reage com a mioglobina para formar o pigmento de carboximioglobina (COMb) (Lanier *et al.*, 1978; Sørheim *et al.*, 1999). Este apresenta um espectro visual muito semelhante ao da oximioglobina (OMb) e é mais estável à oxidação (El-Badawi *et al.*, 1964, citado por Gee e Brown, 1978), permitindo assim, que a carne embalada em atmosfera com monóxido de carbono mantenha um aspecto fresco por mais tempo, quando comparada com carne armazenada em aerobiose (Stanbridge e Davies, 1998; Cornfort e Hunt, 2008). Clark *et al.* em 1976, determinaram que a concentração mínima de monóxido de carbono necessária para a obtenção de uma coloração óptima é de 1% (v/v). Os benefícios microbiológicos que se podem obter da utilização deste gás derivam da possibilidade da exclusão do O₂ da atmosfera e do aumento das concentrações de CO₂, de 60% para aproximadamente 100% (Sørheim *et al.*, 2001). De acordo com Sørheim *et al.* (1999) e Jayasingh *et al.* (2001), a embalagem de carne em atmosfera deste tipo não representa risco de toxicidade para o consumidor, uma vez que são usadas concentrações muito baixas de gás (<1%) e, após a confecção, as carnes perdem 85% do gás (Watts *et al.*, 1978, citado por Jayasingh *et al.*, 2001). A limitação ao uso de CO na conservação das carnes frescas advém do seu efeito tóxico e do prolongamento do aspecto fresco da carne para além da vida útil microbiológica da mesma, mascarando deste modo a deterioração (Kropf, 1980; Luño *et al.*, 1998; Sørheim *et al.*, 1999). Trabalhos realizados por Jayasingh *et al.* (2001) permitiram verificar que, as carnes submetidas a um pré-tratamento com CO e posteriormente embaladas em AM, mantinham um aspecto fresco até às 8 semanas de embalagem, mas às 5 semanas já se apresentavam deterioradas em termos microbiológicos.

As diferenças nas contagens microbianas obtidas por Gee e Brown (1978), com utilização de 50% de CO₂ e 1% CO em carne de bovino picada, corresponderam às encontradas por Siliker *et al.* (1977) quando utilizam 60% de CO₂ e não utilizaram CO. Assim, parece que a presença de baixos níveis de CO tem pouco efeito nas propriedades inibitórias de CO₂. Deve contudo referir-se que Clark *et al.* em 1976, demonstraram inibição do crescimento bacteriano em atmosferas contendo CO, mas sem O₂ (Cornforth e Hunt, 2008).

II.3. SEGURANÇA SANITÁRIA DE CARNE FRESCA EMBALADA EM ATMOSFERAS MODIFICADAS

As AMs exercem um efeito importante no desenvolvimento e sobrevivência de microrganismos patogénicos existentes nos alimentos. A vulnerabilidade da utilização de AM reside no facto de, em certas atmosferas modificadas, os microrganismos causadores de deterioração e alterações visíveis, serem normalmente inibidos, podendo permitir ou mesmo aumentar o desenvolvimento de agentes patogénicos, caso estejam presentes (Farber, 1991). Deste modo, o aumento do período de conservação de muitos produtos obtido em AM pode, em determinadas condições, implicar um risco ao permitir tempo suficiente para que os microrganismos patogénicos para o Homem atinjam níveis considerados perigosos e conseqüentemente os tornem impróprios para consumo (García-de-Fernando *et al.*, 1995; Tewari *et al.*, 1999; Nissen *et al.*, 2000). Esse problema é particularmente preocupante com alguns microrganismos patogénicos que podem crescer mesmo a temperaturas de refrigeração, tais como *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas hydrophila* e *Yersinia enterocolitica* (Farber, 1991; Manu-Tawiah *et al.*, 1993; Farber *et al.*, 1996).

As principais preocupações de segurança alimentar em AM no passado estavam centradas nos microrganismos patogénicos anaeróbios, especialmente estirpes não proteolíticas psicrotróficas de *Clostridium botulinum* (Farber, 1991). Actualmente, *Campylobacter jejuni* em determinadas atmosferas gasosas constitui uma importante preocupação, assim como *Salmonella* sp. que é um dos agentes mais frequentemente envolvido em surtos de toxinfecções alimentares, nomeadamente associado a carnes. *Escherichia coli* O157:H7, cujo habitat está muito associado ao ecossistema bovino, tem sido particularmente associada a surtos de toxinfecções alimentares, envolvendo a morte de algumas pessoas afectadas, pelo que tem sido foco de vários trabalhos de investigação nesta área (Ansay *et al.*, 1999; Cassin *et al.*, 1999; Duffy *et al.*, 2001; Hancock *et al.*, 2001).

No caso de embalagem sob vácuo, *Listeria monocytogenes* (Wimpfheimer *et al.*, 1990; Duffy *et al.*, 1994), *Y. enterocolitica* e *Aeromonas hydrophila*, apresentam um risco potencial para a saúde pública uma vez que parecem ser mais competitivas nessas condições de embalagem, sendo necessários níveis de CO₂ de 40% v/v ou superiores para uma inibição eficaz (Palumbo, 1988; Farber, 1991; Church e Parsons, 1995; Farber *et al.*, 1996). Nestas condições estes patogénicos, tolerantes a temperaturas baixas, podem desenvolver-se a pH igual ou superior a 6 (Palumbo, 1986; Grau e Vanderlinde, 1990). Desta forma e, especialmente estes microrganismos, podem constituir um risco quando armazenados a temperaturas superiores aos 0°C (Gill e Reichel, 1989). Alguns microrganismos que se desenvolvem em carnes com pH elevado (pH>6), carnes DFD, tais como *Shewanella putrefasciens*, *Enterobacter liquefaciens* e *Y. enterocolitica* são inibidas por um ambiente típico de AM usado para carnes frescas (Church e Parsons, 1995), melhorando as condições de competição para a microflora patogénica eventualmente presente.

Embora as concentrações de CO₂ a 100% inibam o desenvolvimento destes microrganismos com uma eficácia que depende da temperatura (Farber, 1991). Foi demonstrado que *Aeromonas hydrophila* se multiplica rapidamente a 10°C e apresenta ausência da fase *lag*, o que indica que estes microrganismos

podem constituir um risco em produtos embalados em AM e armazenados a esta temperatura mas, em contrapartida, a 5°C estes efeitos já não se verificam (Phillips, 1996).

Deste modo, a carne na amplitude do pH normal apresenta uma redução do risco destes três patógenos tolerantes a baixas temperaturas, quando embalada com CO₂ e armazenada a temperaturas inferiores a 5°C (Gil e Reichel, 1989; Phillips 1996). Uma vez que tanto os efeitos bacteriostáticos como os bactericidas do CO₂ são dependentes da temperatura (Hintlian e Hotchkiss, 1986), a ausência de refrigeração em qualquer altura durante a vida de um produto, poderá permitir o desenvolvimento de organismos que tinham sido inibidos por acção do CO₂ durante o armazenamento a baixas temperaturas. Os microrganismos anaeróbios facultativos e os anaeróbios são resistentes aos efeitos antimicrobianos do CO₂ sempre que estejam impossibilitados de crescer a baixas temperaturas, no entanto podem, desenvolver-se perante o efeito de temperaturas abusivas (Avery *et al.*, 1995). Deve ter-se em atenção que os sistemas aeróbios também têm problemas com *L. monocytogenes* que pode desenvolver-se em atmosferas com concentrações elevadas de CO₂ (75% v/v) se estiver presente uma pequena quantidade (5% v/v) de O₂. Com a vantagem de que o CO₂ inibe os microrganismos causadores de deterioração que dariam indicação sensorial de alteração (Farber, 1991). *L. monocytogenes* e *Y. enterocolitica* podem crescer em atmosferas com concentrações elevadas de CO₂ (75% v/v) em carnes DFD (Kaya e Schmidt, 1991, Curch e Parsons, 1995). Geralmente, sob uma atmosfera modificada anaeróbica as BAL competem com a microflora de suporte e demonstram ser eficazes na inibição do crescimento de bactérias patogénicas, tais como *L. monocytogenes* em produtos derivados da carne (Newton e Gil, 1978; Phillips 1996).

As preocupações relacionadas com o potencial desenvolvimento de clostrídeos em AMs são muito elevadas devido à elevada patogenicidade destes microrganismos. Alguns autores referem a ocorrência de intoxicações alimentares devido ao desenvolvimento de estirpes de *Clostridium perfringens* na carne embalada em 100% N₂ e em 100% CO₂, sendo o tempo de geração das estirpes segundo Silliker e Wolfe (1980) essencialmente o mesmo em ambas as atmosferas. O CO₂ tem um efeito inibitório em várias espécies de *Clostridium*. Após 15 dias a 37°C confirmou que não ocorre qualquer esporogénese de *Clostridium*. Em contrapartida afirma que não há qualquer evidência de que o CO₂ iniba o crescimento ou a produção de toxinas por estes microrganismos. A acção do CO₂ em retardar a toxigenese (Silliker e Wolfe, 1980; Hintlian e Hotchkiss, 1986) está pouco documentada. Contudo, esses autores verificaram que as AMs não têm qualquer efeito sobre *C. botulinum* em carne fresca. No entanto está claro de que os clostrídios podem crescer em qualquer atmosfera a temperaturas altamente abusivas como as usadas em estudos efectuados por Silliker e Wolfe (1980) e Hintlian e Hotchkiss (1987). Estes riscos podem ser minimizados com condições sanitárias apropriadas e controlo de temperatura (Daniels *et al.*, 1985).

Apesar da longa história do armazenamento de carnes em atmosferas enriquecidas com CO₂ a segurança no uso desse procedimento comparativamente ao armazenamento em aerobiose não foi submetida a estudos controlados. Hanna *et al.* (1977) detectou a presença de um elevado número de estirpes de *Yersinia enterocolitica* em carne bovina embalada sob vácuo, o que levantou sérias questões quanto à presença destes microrganismos em outros alimentos embalados sob vácuo assim como em alimentos embalados em AMs (Silliker e Wolfe, 1980; Hintlian e Hotchkiss, 1986). Gill e Tan (1980) verificaram que a taxa de respiração da *Yersinia* diminui e o tempo de geração aumenta com o CO₂. Eklund e Jarmund (1983) constataram a inibição de *Y. enterocolitica*, por acção do CO₂. De acordo um trabalho realizado por

Grau e Vanderlinde (1990), o desenvolvimento de *L. monocytogenes* em carne embalada sob vácuo foi afectado pela temperatura de armazenamento, pelo tipo de tecido (gordura ou músculo) e pelo pH da carne. Embalagens em AM que contenham elevados níveis de CO₂ inibem o desenvolvimento de *L. monocytogenes* em produtos derivados da carne (Fang e Lin, 1994) enquanto que embalagens com 100% de N₂ permitem a multiplicação da *L. monocytogenes*. De acordo com Phillips (1996) o armazenamento de carne de bovino em CO₂ com um pH normal mostra-se eficaz na inibição de *L. monocytogenes*. Mesmo quando a carne fresca é exposta a temperaturas abusivas, com apenas uma exposição breve (inferior a 3 horas) ao CO₂, constataram uma total inibição da bactéria ou num prolongamento da fase *lag* (maior que 74 horas). Marshall *et al.* (1992) detectaram *L. monocytogenes* em *nuggets* de galinha cozinhadas armazenada a 3,7 e 11°C em atmosfera de 80% CO₂/20% N₂ v/v. Em produtos derivados da carne, *Listeria* spp. pode ser detectada como parte da microflora a temperaturas que variam de -1°C a +1°C. Isto é um indicativo de risco de *L. monocytogenes* em produtos armazenados em AM até mesmo por curtos períodos de tempo de armazenamento (Phillips, 1996).

Alguns estudos que têm avaliado o desenvolvimento de *Salmonella* sp. sob diferentes métodos de embalagem (Nissen *et al.*, 2000; Skandamis *et al.*, 2000a, 2000b; Nychas e Skandamis, 2005). Isto poderá ser devido por um lado ao facto deste microrganismo não ser considerado um patógeno psicrófilo. É bem conhecido que a sobrevivência e desenvolvimento de *Salmonella* dependem de numerosos factores para além da temperatura, tais como pH (bactéria ácido-tolerante), atmosfera e microflora competitiva (Nychas e Skandamis, 2005). Para além disso, a inabilidade para *S. Enteritidis* competir com sucesso com BAL tem sido documentada. De uma forma geral o desenvolvimento de *Enterobacteriaceae*, incluindo *Salmonella* sp. é reduzido em concentrações crescentes de CO₂, no entanto, a temperatura de armazenamento é um factor a ter em consideração (Phillips, 1996). Nychas (1996) em carne de aves com diferentes valores de pH inoculada com *S. enteritidis* verificou que esta bactéria sobreviveu, mas não se desenvolveu a 30°C. Contudo a 10°C, os seus teores aumentaram rapidamente em todas as amostras, excepto nas amostras armazenadas sob 100% de CO₂ nas quais os teores destes microrganismos diminuíram (aproximadamente uma unidade logarítmica) após 12 dias de armazenamento em carne com pH mais baixo. Em carne com pH mais elevado mantiveram-se os níveis iniciais e os resultados foram semelhantes aos obtidos por Gray *et al.* (1984). Para Silliker e Wolfe (1980), o CO₂ mostrou-se eficaz na redução de *Salmonella* sp. com diferentes contagens em cerca de 3 unidades logarítmicas quando comparado com alimentos armazenados em aerobiose durante 10 dias e, esta inibição aumentou com a diminuição da temperatura. Tassou *et al.* (1996) refere que a presença de CO₂ ou 100% de N₂ no interior das embalagens utilizadas para embalar filetes de pescado possuíam um efeito bacteriostático e bactericida em *S. Enteritidis*.

Os principais alimentos que podem veicular *E. coli* O157:H7 são de origem bovina, principalmente a carne picada e o leite não pasteurizado (Tood e Dundas, 2001). A carne de vaca mal cozinhada e outros produtos à base de carne (rosbife, bifes de Hamburgo e salsichas) têm sido associados a surtos humanos de toxinfecções por *E. coli* O157:H7 (Doyle e Schoeni, 1987; CDC, 2002). Estudos efectuados por Nissen *et al.* (2000) verificaram que a temperaturas de armazenamento abusivas (10°C), *E. coli* O157:H7 em aerobiose multiplicou-se rapidamente, no entanto, o seu desenvolvimento foi inibido na mistura rica em CO₂ e com baixa em CO e na mistura rica em O₂. Isto é, concordante com o modelo preditivo de Sutherland *et al.* (1997) e com o referido por Cornforth e Hunt (2008).

III. TRABALHO EXPERIMENTAL

III.1. INTRODUÇÃO

A aplicação de atmosferas modificadas é uma técnica que tem sido utilizada para prolongar a vida útil de carnes frescas e tem sido estudada por diversos autores (Enfors *et al.*, 1979; Gill e Penney, 1988; Taylor *et al.*, 1990, Sheridan *et al.*, 1997; Sørheim *et al.*, 1999; Luño *et al.*, 2000; Rodríguez *et al.*, 1996, 2000; Jeremiah e Gibson, 2001; Mano *et al.*, 2002; Venturini, 2003). Estes demonstraram que a utilização desta técnica associada a baixas temperaturas de conservação, prolonga consideravelmente o seu tempo de armazenamento. A principal característica que determina - e limita - a vida útil da carne, é o seu aspecto, em particular a cor. Este atributo é de extrema importância, particularmente em carnes vermelhas - como a de bovino-, na qual a cor vermelho-vivo brilhante é indicadora de bom estado de frescura, condicionando a escolha do consumidor no momento de compra. A evolução dessa cor ao longo do tempo de armazenamento, exposição e venda tem sido objecto de trabalhos que visam especificamente aumentar a vida comercial de carne fresca (Taylor *et al.*, 1990; Nissen *et al.*, 1996; Sørheim *et al.*, 1999; Luño *et al.*, 1998). Contudo é necessária mais informação acerca do efeito das diferentes combinações de gases utilizadas na qualidade e segurança sanitária da carne fresca (Insausti *et al.*, 2001).

A cor é influenciada pelo desenvolvimento de microflora deteriorativa e/ou por fenómenos oxidativos. Há que considerar os factores intrínsecos ou extrínsecos provocam ou condicionam alterações nas características organolépticas (nomeadamente cor e cheiro) da carne embalada refrigerada. Destes, pode destacar-se o pH_f da carne no momento da embalagem. Ainda que o efeito do pH no crescimento bacteriano esteja bem documentado (Erichsen e Molin, 1981; Rousset e Renerre, 1991), a influência de pequenas variações - como as encontradas entre carnes de diferentes condições *pm* - é ainda em parte desconhecida (Sheridan *et al.*, 1997).

O tipo de embalagem utilizado é outro factor que, ao ditar a evolução do processo deteriorativo, influencia as características de uma carne refrigerada, assim como a sua aceitabilidade por parte do consumidor.

O presente trabalho teve como objectivo geral determinar quais as melhores condições de embalagem de carne de bovino Maronês DOP, de diferentes condições *pm* - Normal, DFD moderado e DFD - através dos objectivos específicos:

Avaliar o comportamento da microflora deteriorativa e de indicadores físico-químicos de frescura da carne de cada condição *pm*, em diferentes condições de embalagem;

Determinar a evolução das características sensoriais perceptíveis em situação de compra - aspecto e cheiro - visando determinar o limite de vida útil das carnes nas diferentes condições de embalagem;

Determinar a composição da fracção volátil da carne em diferentes estados de conservação, visando compreender os fenómenos subjacentes à deterioração.

III.2. MATERIAL E MÉTODOS

III.2.1. Delineamento experimental

III.2.1.1. Amostragem

Para o estudo da evolução das características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais de carne de bovino, ao longo do tempo de armazenamento sob refrigeração, em diferentes tipos de embalagem, foi utilizado o músculo (m.) *longissimus thoracis et lumborum* (n=18) de animais do sexo masculino de raça Maronesa abatidos no Matadouro Industrial de Penafiel (Pec-Nordeste), com 9 a 11 meses de idade e 90 a 150 kg de peso de carcaça. Para avaliação do efeito do grupo de pH final (pH_f) da carne, os músculos foram organizados em 3 grupos de qualidade: Normal (pH_f ≤5,8, n=6), DFD moderado (DFDmod) (5,8 < pH_f < 6,2, n=6) e DFD (pH_f ≥6,2, n=6), de acordo com o valor de pH medido directamente no músculo, às 24 horas após o abate. Para tal, foi utilizado um medidor de pH WTW PH 330i com um eléctrodo combinado, sendo a medição efectuada em três pontos do músculo, após a sua excisão entre a 4ª vértebra torácica e a 4ª vértebra lombar.

III.2.1.2. Preparação, embalagem e acondicionamento das amostras

Às 24 horas *post mortem* (pm) (dia 1 pm = dia 0 de embalagem = t₁), o músculo *longissimus thoracis et lumborum* foi recolhido por excisão da metade esquerda da carcaça e mantido em refrigeração (4±0,5°C) até à preparação das amostras (1-2 horas).

Após limpeza da gordura superficial, o músculo foi dividido perpendicularmente em 29 porções (bifes com ±70 g), uma para análise imediata no t₁ (antes da embalagem) e as restantes 28 para serem embaladas em 5 diferentes tipos de embalagem: película permeável ao oxigénio (Aerobiose - A); vácuo (V); atmosfera modificada com 70% O₂/ 20% CO₂/ 10% N₂ (AM_{70/20}); atmosfera modificada com 50% O₂ + 40% CO₂/ 10% N₂ (AM_{50/40}) e atmosfera modificada com 30% O₂/ 60% CO₂/10% N₂ (AM_{30/60}).

Para a embalagem em aerobiose, as amostras foram envolvidas em película de polietileno, após colocação numa cuvette de plástico; para embalagem em vácuo, as amostras foram introduzidas em sacos COMBITHERM (WIPAK Walsrode, HAFRI) de espessura 0,090 mm, com uma taxa de transmissão ao O₂ de 63 cm³ m⁻² d⁻¹ atm⁻¹ a 23°C e 0% h.r. e ao vapor de H₂O de 1g m⁻² d⁻¹ a 23°C e 85% h.r. e para embalagem em atmosfera modificada, as amostras foram introduzidas em sacos COMBITHERM XX (WIPAK Walsrode, HAFRI) de espessura 0,115 mm, com uma taxa de transmissão ao O₂ de 1cm³ m⁻² d⁻¹ atm⁻¹ a 23°C e 0% h.r. e ao vapor de H₂O de 1g m⁻² d⁻¹ a 23°C e 85% h.r..

O procedimento de embalagem (excepto para a aerobiose) realizou-se numa máquina SAMMIC V-420 SGA, utilizando-se nas AMs uma relação de gás/amostra de aproximadamente 3:1.

Após embalagem, as amostras foram armazenadas a 4±0,5°C para caracterização microbiológica, sensorial e medição objectiva da cor nos dias 3, 7, 10, 14, 21 e 28 pm para todos os tipos de embalagem,

exceptuando-se no dia 21 para embalagem A e no dia 28 para as embalagens A, AM_{70/20} e AM_{50/40}. Efectuou-se ainda a embalagem de duas amostras de carne uma em película e outra em vácuo para análise aos 5 e aos 35 dias *pm*, respectivamente.

Todas as análises foram realizadas na totalidade das amostras de carne em estudo (Quadro 4) (n=522), excepto a determinação de compostos voláteis que apenas foi efectuada em 32 amostras, correspondentes a carne de dois grupos de qualidade da carne (Normal, pH_f ≤5,8, n=4; DFD, pH_f ≥6,2, n=4) embaladas sob vácuo e em AM_{70/20}, no t₁₀ e no t₂₁.

Quadro 4- Amostragem de acordo com o tipo de embalagem e tempo (dias *pm*) de armazenamento para cada grupo de pH_f (Normal, DFDmod e DFD)

Por grupo de pH _f :	Embalagem	Tempo (dias <i>pm</i>) de armazenamento									Total (amostras)
		1	3	5	7	10	14	21	28	35	
Normal	Aerobiose	6	6	6	6	6	6	-	-	-	36
	Vácuo	-	6	-	6	6	6	6	6	6	42
DFDmod	AM _{70/20}	-	6	-	6	6	6	6	-	-	30
	AM _{50/40}	-	6	-	6	6	6	6	-	-	30
	AM _{30/60}	-	6	-	6	6	6	6	6	-	36
	Total										174
Total											522

No dia 1 *pm* e no final de cada tempo de armazenamento, realizou-se a colheita asséptica de amostra para análise microbiológica e efectuaram-se as restantes determinações: medição instrumental de cor (aos 0 minutos e aos 60 minutos após remoção da embalagem) e análise sensorial de carne embalada e aos 60 minutos após remoção da embalagem. Após estes procedimentos analíticos, a parte restante de cada amostra foi embalada sob vácuo e congelada a -82°C para ulterior determinação do pH e do Azoto Básico Volátil Total (ABVT) e da composição da fracção volátil.

III.2.2. Determinações microbiológicas

No dia 1 *pm* e no final de cada tempo de armazenamento, foram efectuadas as seguintes determinações microbiológicas: contagem de Bactérias do Ácido Lático (BAL); *Brochothrix thermosphacta*; *Enterobacteriaceae*; *Pseudomonas* spp.; fungos; microrganismos mesófilos (aeróbios totais a 30°C) e de microrganismos psicrótróficos (aeróbios totais a 7°C).

III.2.2.1. Preparação das diluições e sementeira

Para todos os tempos estudados, foi realizada a colheita e pesagem assépticas de 10 g de cada amostra, diluída em 90 ml de solução de triptona sal (triptona a 0,3% e NaCl a 0,85%, esterilizada a 121°C durante 15 minutos) e homogeneizada em aparelho "Stomacher" durante 90 segundos. Foram efectuadas diluições decimais sucessivas em 9 ml da mesma solução. De seguida, foram realizadas as sementeiras, quer por incorporação, quer à superfície, nos respectivos meios de cultura, dependendo da análise

microbiológica a efectuar de acordo com a quantificação de microrganismos deteriorativos.

As determinações efectuadas no dia 1 *pm* foram efectuadas em carne fresca antes do procedimento de embalagem.

III.2.2.2. Contagem de bactérias do ácido láctico

A sementeira foi feita por incorporação, de 1 ml da suspensão-mãe e das respectivas diluições, em meio de cultura selectivo MRS (Man Rogosa Sharpe) Agar (OXOID CM0361) com dupla camada. As placas semeadas foram incubadas a 30°C durante 72 horas, após o que se procedeu à contagem de colónias. Os resultados foram expressos em log do número de unidades formadoras de colónias por grama (log ufc/g).

Esta determinação foi efectuada de acordo com a Norma Francesa V 04-503 de 1988.

III.2.2.3. Contagem de *Brochothrix thermosphacta*

A sementeira foi feita à superfície, de 0,1 ml da suspensão-mãe e das respectivas diluições, em meio de cultura selectivo STAA (Streptomycin-sulphate, thallium-acetate, actidione) Agar (OXOID CM0881), após adição de suplemento selectivo (OXOID SR0151). As placas semeadas foram incubadas a 25°C durante 48 horas. Após contagem das colónias típicas de coloração esbranquiçada, e confirmação bioquímica pela prova da oxidase (negativa), os resultados foram expressos em log ufc/g.

Esta determinação foi efectuada de acordo com a Norma ISO 13722 de 1996.

III.2.2.4. Contagem de *Enterobacteriaceae*

A sementeira foi feita por incorporação, de 1 ml da suspensão-mãe e das respectivas diluições, em meio de cultura selectivo VRBG (Violet Red Bile Glucose) Agar (OXOID CM0485) com dupla camada. As placas semeadas foram incubadas a 37°C durante 24 horas. Foi efectuada a contagem de colónias típicas de coloração púrpura (cor rosa a vermelho, com ou sem halos de precipitação, ou colónias mucóides sem cor definida), das quais 5 foram repicadas para agar nutritivo e incubadas a 30°C durante 24 horas, sendo posteriormente sujeitas a confirmação bioquímica pela prova da oxidase (negativa) e capacidade de fermentação da glucose em meio Glucose Agar (Harrigan e McCence, 1979). Após a contagem de colónias, e, em função dos testes bioquímicos de confirmação, os resultados foram expressos em log ufc/g.

Esta determinação foi efectuada de acordo com a Norma ISO 5552 de 1997.

III.2.2.5. Contagem de *Pseudomonas spp.*

A sementeira foi feita por incorporação, de 1 ml da suspensão-mãe e das respectivas diluições, em meio de cultura selectivo CFC (Cetrimide, Fucidin, Cephaloridine) Agar com *Pseudomonas* agar base (OXOID CM0559) e suplemento selectivo CFC (OXOID SR0103). As placas semeadas foram incubadas a 25°C,

durante 72 horas. Após a contagem das colónias, das quais 5 foram repicadas para agar nutritivo e incubadas a 30°C durante 24 horas, sendo posteriormente sujeitas a confirmação bioquímica pela prova da oxidase (positiva) e pelo crescimento em aerobiose em meio de Kligler (Kligler Iron Agar) (OXOID CM0033). Os resultados foram expressos em log ufc/g.

Esta determinação foi efectuada de acordo com a Norma Francesa V 04-504 de 1998.

III.2.2.6. Contagem de fungos (bolores e leveduras)

A sementeira foi feita à superfície, de 0,1 ml da suspensão-mãe e das respectivas diluições, em meio de cultura selectivo Chloramphenicol Glucose Agar (BIOKAR DIAGNOSTICS BK007HA). As placas semeadas foram incubadas a 25°C, durante 3 a 5 dias. Após contagem das colónias de bolores e leveduras, os resultados foram expressos em log ufc/g.

Esta determinação foi efectuada com base na Norma ISO 13681 de 1995.

III.2.2.7. Contagem de microrganismos mesófilos (aeróbios totais a 30°C)

A sementeira foi feita por incorporação, de 1 ml da suspensão-mãe e das respectivas diluições, em meio de cultura selectivo PCA (Plate Count Agar) (OXOID CM0325). As placas semeadas foram incubadas a 30°C, durante 72 horas. Após contagem das colónias, os resultados foram expressos em log ufc/g.

Esta determinação foi efectuada de acordo com a Norma ISO 4833 de 1991.

III.2.2.8. Contagem de microrganismos psicrótróficos (aeróbios totais a 7°C)

A sementeira foi feita por incorporação em meio de cultura selectivo PCA (Plate Count Agar) (OXOID CM0325) de 1 ml da suspensão-mãe e das respectivas diluições. As placas semeadas foram incubadas a 7°C, durante 10 dias. Após contagem das colónias, os resultados foram expressos em log ufc/g.

Esta determinação foi efectuada de acordo com a Norma Portuguesa 2307 de 1987.

III.2.3. Determinações físico-químicas

III.2.3.1. pH

A determinação do pH foi efectuada, com um medidor de pH Crison modelo micropH 2002, directamente colocado numa massa de amostra de carne picada. O valor de pH foi obtido através da média aritmética de três medições.

III.2.3.2. Coordenadas de cor L*a*b*

A medição da cor foi efectuada nas amostras de carne com cerca de 1-1,5 cm de espessura. Foram efectuadas duas medições em cada amostra, uma imediatamente num corte fresco na carne do dia 1 *pm*,

aos 0 (t_0) e aos 60 minutos (t_{60}) após o corte, ou, imediatamente após abertura da respectiva embalagem aos 3, 5, 7, 10, 14, 21, 28 e 35 dias *pm* (t_0) e a aos 60 minutos de exposição em aerobiose (t_{60}). Para a medição aos 60 minutos, as amostras foram mantidas, durante esse período de tempo, em caixas cobertas com película de polietileno e em refrigeração a 4°C de modo que pudesse ocorrer o "avermelhamento", por oxigenação da mioglobina (Boccard *et al.*, 1981). A medição de cor foi realizada utilizando um reflectómetro Minolta Chromo Meter CR-310 (Minolta, Japão), através do sistema de cor CIELAB $L^*a^*b^*$ (iluminante D65), sendo L^* , luminosidade e a^* e b^* , coordenadas de cromaticidade.

Com o objectivo de avaliar a influência do grupo de pH_f e do tipo de embalagem na capacidade de "avermelhamento" da carne quando exposta ao ar, foi calculada a diferença entre as coordenadas de cor após exposição ao ar durante 60 min (L_{60}^* , a_{60}^* e b_{60}^*) e sem exposição ao ar (L_0^* , a_0^* e b_0^*) e que se designou por ΔL^* , Δa^* e Δb^* . De acordo com Cassens *et al.* (1995) e O'Neill *et al.* (2004), a exposição ao ar durante 60 min é considerada suficiente para que ocorra o "avermelhamento" da carne.

III.2.3.3. Azoto básico volátil total (ABVT)

A determinação do ABVT foi realizada pelo método das células de Conway, de acordo com a Norma Portuguesa 1848 de 1987. A técnica consistiu na extracção das bases voláteis em 50 g da amostra de carne pelo ácido tricloroacético 5% (m/v), alcalinização por uma solução saturada de carbonato de potássio, para a sua libertação com recolha numa solução de ácido bórico, após o que se efectuou a sua titulação com ácido clorídrico (0,02 N). Os resultados foram expressos em mg de amoníaco/ 100 g de produto.

III.2.4. Análise sensorial

Para a análise sensorial foram utilizadas as amostras de carne fresca do dia 1 *pm* antes de embalar (t_1), e as amostras armazenadas nas diferentes embalagens, em refrigeração a 4°C, recolhidas nos vários tempos em estudo.

Foi utilizado um painel constituído por dez pessoas (com um mínimo de 6 membros por sessão) que avaliaram, em carne fresca do dia 1 *pm* antes de embalar (imediatamente após o corte da carne e após 60 minutos de avermelhamento) e em carne embalada e em carne desembalada (60 minutos após abertura da embalagem), as seguintes características: cor (vermelho vivo, vermelho escuro, púrpura ou castanho, variando de 1= pouco intenso até 5= muito intenso); superfície de descoloração (1= ausente, 0%; 2= leve (1-19%); 3= pequena (20-39%); 4= modesta (40-59%); 5= moderada (60-79%); 6= extensa (80-99%); 7= total (100%)); apreciação global de frescura (1= não aceitável, 7= muito aceitável). Na carne desembalada foram ainda avaliados os seguintes parâmetros: cheiro a fresco (1= pouco intenso, 7= muito intenso); cheiro a deteriorado (1= pouco intenso, 7= muito intenso) e tipo de cheiro a deteriorado detectado (adocicado, a manteiga, ácido, a ranço, amoniacal, pútrido e/ou outro) (adaptado de ASMA, 1991) (anexo AI).

III.2.5. Análise da fracção volátil

A análise do perfil de compostos voláteis de carne de bovino foi efectuada por HS-SPME-GC-MS e por HS-SPME-GC-MS/GC-O.

III.2.5.1. Compostos voláteis identificados por HS-SPME-GC-MS

A determinação de compostos voláteis de amostras de carne, por esta técnica, englobou três etapas: extracção, separação e identificação. Desta forma, foram utilizadas, sequencialmente, a técnica de microextracção em fase sólida (SPME), cromatografia gasosa (GC) e espectrometria de massa (MS).

III.2.5.1.1. Extracção dos compostos voláteis por HS-SPME

A extracção dos compostos foi efectuada mediante a análise do espaço de cabeça (HS) por SPME. Para a extracção utilizou-se uma fibra de SPME de Carboxen/Polidimetilsiloxano (CARB/PDMS) com 75µm de espessura (Supelco Co., Bellefonte, P.A.). Antes de cada colheita de amostra a fibra foi activada durante 50 min a 280°C.

Para este ensaio, uma porção de cada amostra de carne congelada foi picada e pesou-se 1,0 g de amostra para um frasco de vidro de 4 ml de capacidade. Este foi selado com uma tampa de plástico com *septum* de teflon/silicone, que foi perfurado pelo sistema de injeção da fibra activada. O frasco (dois terços) foi mergulhado, perpendicularmente, num banho de água a 40°C durante 30 minutos, mantendo-se a água em agitação. Desta forma, obteve-se uma libertação de compostos voláteis, os quais ficaram adsorvidos na fibra. Após o tempo de extracção, a fibra foi transferida o mais rapidamente possível para o sistema de injeção de um cromatógrafo de gases com detector de massas, cuja temperatura foi fixada em 280°C em modo *splitless*.

III.2.5.1.2. Separação e identificação dos compostos voláteis por GC-MS

A análise por GC-MS realizou-se num cromatógrafo de gases HP-6890 serie II ligado a um espectrómetro de massas modelo HP Agilent 5973. A separação dos compostos voláteis foi realizada numa coluna capilar de tipo HP-5 (5% de fenil metil silicone; 50m x 0,32 mm x 1,05µm). Utilizou-se o hélio como gás condutor com um fluxo de 1,4ml/ min. Programou-se um gradiente de temperatura, iniciando-se a 60°C durante 10 minutos, aumentando até 150°C num gradiente de 10°C/min, e até 250°C num gradiente de 5°C/min, ficando nesta temperatura durante 10 minutos. A linha de transferência do espectrómetro de massas manteve-se a 280°C. Os espectros de massas geraram-se por impacto electrónico a 70eV, com uma voltagem multiplicadora de 1756V. Os dados obtidos foram recolhidos à razão de 1 scan/s no intervalo de 30-300 m/z. Posteriormente, foram analisados mediante o software informático MS-ChemStation. A identificação dos compostos voláteis foi efectuada mediante comparação dos espectros obtidos com os espectros de massas incluídos nas bibliotecas Wiley e NIST/EPA/NIH, assim como com outros índices de retenção de lineares previamente descritos (Kondjoyan e Berdagué, 1996; Elmore *et al.*,

2000; García *et al.*, 2000; Carrapiso *et al.* 2003; Machiels *et al.*, 2003; García-Esteban *et al.*, 2004). Analisaram-se as soluções de alcanos (C₅-C₁₈) nas mesmas condições para o cálculo dos índices de retenção linear ou índice de Kovats (IK) e também de alguns compostos padrão de referência (PR) (Sigma and Aldrich, Steinhein, Alemanha) que serviram para confirmação de dados.

Os resultados da análise das áreas dos picos dos compostos voláteis identificados foram expressos em unidades arbitrárias de área (UAA) x10⁶.

III.2.5.2. Odores activos e compostos voláteis detectados por HS-SPME-GC-MS/GC-O

A avaliação de compostos voláteis e odores activos de amostras de carne, por esta técnica, englobou três etapas: extracção, separação e identificação. Desta forma, foram utilizadas, sequencialmente, a técnica de microextracção em fase sólida (SPME), cromatografia gasosa (GC) e espectrometria de massa (MS). Esta técnica permite a detecção por olfactometria (O) de odores, percebidos por via orthonasal por um painel de indivíduos, e de acordo com o seu tempo de eluição na coluna, podem ser associados a compostos com odor-activo.

III.2.5.2.1. Extracção dos compostos voláteis por HS-SPME

A extracção dos compostos foi efectuada nas mesmas condições referidas no ponto III.2.5.1.1.

III.2.5.2.2. Separação e identificação dos compostos voláteis e odores activos (GC-MS/GC-O)

A análise por GC-MS/ GC-O realizou-se num cromatógrafo de gases HP-6890 serie II equipado com um espectrómetro de massa modelo HP Agilent 5973 e com uma porta de olfactometria (O), o que permitiu que um painel constituído por 5 pessoas realizasse provas de percepção e descrição dos odores detectados durante os efluentes cromatográficos de cada amostra. Ar humidificado foi adicionado à porta olfactiva a 1ml/min. A separação dos compostos voláteis realizou-se nas mesmas condições referidas no ponto III.2.5.1.2.

A identificação dos odores por este método foi efectuada pela descrição dos odores realizada pelo painel e o seu tempo de retenção linear e, por comparação com a descrição de odores e índices de retenção linear previamente descritos por outros autores (Carrapiso *et al.*, 2002a; Carrapiso *et al.*, 2002b; Machiels *et al.*, 2003; Timón *et al.*, 2004). A identificação por espectrometria de massa (MS) dos compostos voláteis com odor-activo foi efectuada (utilizando o software informático MS-ChemStation) por comparação dos espectros obtidos com os espectros de massas incluídos nas bibliotecas Wiley e NIST/EPA/NIH, assim como com outros índices de retenção de linear previamente descritos (Kondjoyan e Berdagué, 1996; Elmore *et al.*, 2000; Machiels *et al.*, 2003; García-Esteban *et al.*, 2004). Em alguns casos, obteve-se a descrição do odor, sendo calculado o seu índice de retenção linear, mas o composto correspondente não foi detectado pelo espectrómetro de massa.

Analisaram-se soluções de alcanos (C₅-C₁₈) nas mesmas condições para o cálculo dos índices de retenção linear ou índice de Kovats (IK) e também de alguns compostos padrão de referência (PR) (Sigma and Aldrich, Steinhein, Alemanha) que serviram para confirmação de dados.

Os dados dos elementos do painel foram analisados de acordo com a frequência de detecção de odores que apresentavam os mesmos tempos de retenção linear (IK) e uma descrição similar dos odores. Os dados são apresentados de acordo com a descrição de odor percebida e o número de vezes em que foram detectados pelos elementos do painel. Cada pico de odor foi considerado quando foi detectado pelo menos por 3 pessoas do painel.

III.2.6. Análise dos dados

Na avaliação da influência do pH_f e do tipo de embalagem nas características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais da carne, os dados foram analisados através da análise de variância factorial (efeito do grupo de pH_f, efeito do tipo de embalagem e interacção). Considerou-se efeito não significativo (ns) quando $p \geq 0,05$; efeito significativo para $p < 0,05$; efeito muito significativo para $p < 0,01$ e efeito altamente significativo para $p < 0,001$. Utilizou-se, seguidamente, a análise de variância simples para avaliar a significância do efeito grupo de pH_f e do efeito tipo de embalagem, ambos para cada nível do tempo *pm*. A comparação múltipla das médias, ou seja as diferenças entre as médias das contagens para as embalagens (em cada tempo) e as diferenças entre as médias das contagens para os grupos de pH_f (em cada tempo), foram avaliadas através do teste de Tukey HSD ("Honestly Significantly Different"), para um nível de probabilidade de 5%. Na avaliação da composição da fracção volátil por HS-SPME-GC-MS, os dados foram analisados por da análise de variância factorial (efeito do grupo de pH_f, efeito do tipo de embalagem, efeito do tempo de armazenamento e interacções destes efeitos). As relações existentes entre as diferentes variáveis foram estudadas através de correlações simples de Pearson. O tratamento estatístico foi efectuado com o programa STATISTICA versão 7 (StatSoft, Inc. 2004).

Na avaliação da frequência de ocorrência do tipo de cheiro a deteriorado detectado na amostra, após (60 minutos) abertura da embalagem e na avaliação da composição da fracção volátil por HS-SPME-GC-MS-O foi registada a frequência de ocorrência do tipo de odor detectado. A comparação das proporções foi efectuada através do teste do Qui-quadrado, para um nível de probabilidade de 5%.

De forma a obter uma visão mais abrangente dos resultados, procedeu-se à sua abordagem por análise de componentes principais, com o objectivo de conhecer a relação global entre as variáveis em estudo, as variáveis que apresentaram uma maior contribuição para as variabilidades observadas, assim como o relacionamento global entre as amostras. Utilizou-se a medida de Kaiser-Meyer-Olkin e o teste de esfericidade de Bartlett para avaliar a adequação da matriz a este tipo de cálculo, e considerou-se, para a solução final o conjunto de variáveis que permitissem explicar pelo menos 70% da variância nas três primeiras componentes principais (Reis, 1997). Com o objectivo de determinar qual o contributo das notas aromáticas qualitativas detectadas pelo painel de provadores, para o cheiro a deteriorado e apreciação global de frescura (categorizados usando a mediana como limite), procedeu-se à sua análise por regressão logística (método *forward likelihood-ratio*). Foram incluídas as variáveis que apresentavam uma associação significativa ($p < 0,05$). Utilizou-se para o efeito o programa SPSS 13.0.

III.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

III.3.1. Parâmetros microbiológicos

III.3.1.1. Bactérias do ácido láctico

Os resultados médios da contagem de BAL nas amostras de carne para os três grupos de pH_f e para os vários tipos de embalagem nos distintos tempos (dias *pm*) de armazenamento são mostrados no Quadro 5. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os efeitos grupo de pH_f, tipo de embalagem e interação entre o grupo de pH_f e o tipo de embalagem. Os parâmetros de análise de variância são apresentados no Quadro A.II.1 do anexo.

Quadro 5- Contagens de BAL expressas em log ufc/g (média ± desvio padrão), de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem, antes da embalagem (t₁) e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
pH_f									
Normal	0,94±1,07	1,03±0,99	1,95±1,81	1,53±1,37	2,60±1,83	4,35±1,08	4,70±0,96	5,79±1,00	5,40±0,35
DFDmod	1,19±1,35	1,28±0,91	1,24±2,03	1,60±1,69	3,54±1,59	4,68±1,97	5,42±2,33	6,68±1,02	6,32±1,54
DFD	1,15±1,34	1,12±1,07	2,83±1,84	2,10±1,65	3,61±2,02	3,96±2,35	5,49±1,95	5,23±2,58	6,41±0,85
Sig	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Embalagem									
Aerobiose	1,09±1,19 [▲]	1,06±0,92	2,01±1,90	2,51±1,91	4,04±2,25	4,80±1,68	-	-	-
Vácuo	«	1,00±0,98	-	1,64±1,74	3,22±1,40	4,80±1,64	5,48±2,02	6,04±1,47	6,04±1,08
AM _{70/20}	«	1,17±1,08	-	1,44±1,47	3,20±1,90	4,54±1,84	4,90±2,25	-	-
AM _{50/40}	«	1,10±1,08	-	1,49±1,34	2,85±1,94	3,77±2,19	5,30±1,43	-	-
AM _{30/60}	«	1,38±0,92	-	1,63±1,27	2,94±1,66	3,75±1,91	5,13±1,70	5,77±2,05	-
Sig	-	ns	-	ns	ns	ns	ns	ns	-
Sig	-	ns	-	ns	ns	ns	ns	ns	-

ns-não significativo (p≥0,05). ND-não determinado.

[▲]antes da embalagem

Na Figura 1 ilustra-se a evolução da microbiota através da contagem dos valores médios de BAL obtidos ao longo do período de armazenamento considerado no ensaio, para os três grupos de pH_f nos diferentes tipos de embalagens. Os valores que suportam estes gráficos são apresentados no Quadro A.III.1 do anexo.

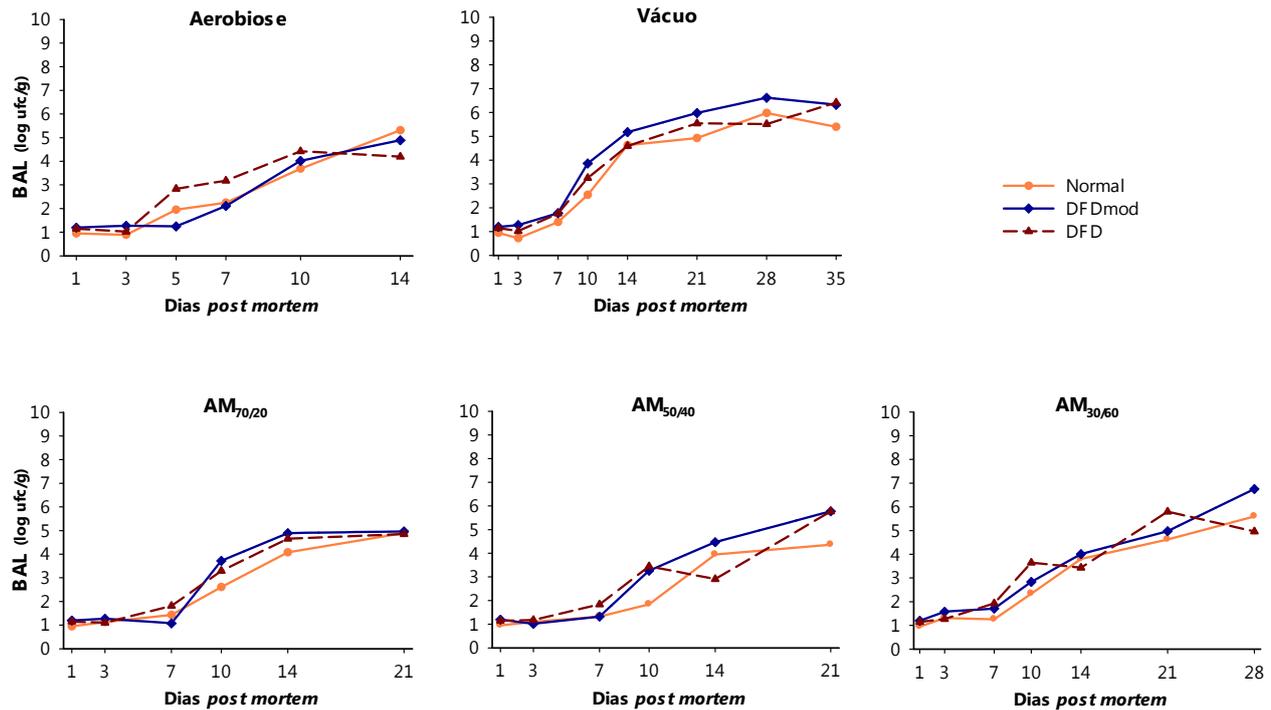


Figura 1- Evolução das contagens de BAL expressas em log ufc/g de acordo o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD), ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40} e AM_{30/60}).

Neste trabalho, não se obtiveram diferenças significativas para as contagens de BAL entre grupos de pH_f e entre tipos de embalagem e também não se observou qualquer interação de ambos.

As amostras de carne em estudo apresentaram teores de BAL iniciais baixos e próximos de 1 log ufc/g revelando estes resultados ser concordantes com estudos anteriores. Dainty e Mackey (1992), Saucier *et al.* (2000) e Walker e Betts (2000) referem que BAL estão presentes em níveis reduzidos na microbiota inicial da carne. Contagens iniciais da mesma ordem de valores foram obtidas por outros autores em carne fatiada e em carne picada de bovino e de suíno (Blix e Borch, 2002), e de aproximadamente 1 log ufc/cm² em carne de suíno Normal e PSE (Sørheim *et al.*, 1997). Nissen *et al.* (1996) referem teores médios de BAL em carne de bovino com pH Normal aos 3 dias *pm* de 0,5 log ufc/cm² num trabalho experimental e de 2,1 log ufc/cm² noutro trabalho, enquanto outros autores teores da ordem de 2 log ufc por cm² ou por g em carne de porco (Taylor *et al.*, 1990; Mano *et al.*, 2002; Liu *et al.*, 2006) e em carne picada de avestruz (Otremba *et al.*, 1999; Seydim *et al.*, 2006). Contudo, valores iniciais superiores a 3 log ufc/g foram obtidos em carne de porco (Viana *et al.*, 2005), em carne de avestruz (Matos, 2005; Capita *et al.*, 2006) e em carne de caprino (Babji *et al.*, 2000), correspondendo nestas duas últimas espécies a carnes com um pH mais elevado (superior a 6,5 em carne de caprino (Babji *et al.*, 2000) e em média 6,0 (Matos, 2005) e 6,7 (Capita *et al.*, 2006) em carne de avestruz. Estes valores de pH são equivalentes aos dos grupos de qualidade DFDmod e DFD deste trabalho, nos quais obtivemos contagens de 3,54 log ufc/g e de 3,61 log ufc/g, respectivamente, apenas no dia 10 *pm*.

Como se pode observar na Figura 1, as contagens de BAL registaram um aumento progressivo ao longo do período de armazenamento nos diferentes tipos de embalagem. Em aerobiose, as contagens de BAL nos diferentes grupos de pH_f mostraram-se muito semelhantes, apresentando curvas de crescimento ao longo do tempo de armazenamento similares, enquanto em vácuo, ocorreu um decréscimo das contagens de BAL para o pH_f Normal a partir do t₂₈. Nos diferentes tipos de embalagem, a fase de maior crescimento bacteriano decorreu entre o t₇ e o t₁₄, apresentando a carne embalada em aerobiose teores sempre superiores nesse período. Nas restantes embalagens podemos considerar um desenvolvimento bacteriano em fase exponencial durante esse período de tempo estudado. A evolução de BAL em carnes DFD apresentou-se apenas ligeiramente distinta, ao longo do tempo de armazenamento, quando comparada com a carne Normal e DFDmod.

Esse incremento superior de BAL a partir dos 7 dias de armazenamento, permitiu alcançar valores da ordem dos 5 log ufc/g aos 21 dias *pm*, nunca chegando a atingir os 7 log ufc/g, mesmo no fim do período de armazenamento (35 dias *pm* em vácuo). O valor máximo de 6,68±1,02 log ufc/g foi observado no t₂₈ em carne de pH_f intermédio (DFDmod), considerando o conjunto das duas embalagens em estudo nesse tempo (Vácuo e AM_{30/60}).

Estes teores parecem inferiores aos reportados por Taylor *et al.* (1990) com resultados da ordem dos 10⁸/cm², em carne de bovino embalada em vácuo e em AM com 75% O₂ e 25% CO₂, armazenada durante 34 dias a 1°C. Blix e Borch (2002) obtiveram aos 35 dias de armazenamento valores da ordem dos 7-8 ufc/g em carne picada de bovino e de suíno embalada em vácuo. Contudo, há que ter em consideração que, tratando-se de carne picada, a contaminação é mais fácil, verificando-se um desenvolvimento microbiano mais rápido. Nissen *et al.* (1996), em carne Normal de bovino embalada a vácuo e armazenada durante 5 semanas a 2°C e a 6°C obtiveram níveis de 6,2 log ufc/cm² e de 7 log ufc/cm², respectivamente, contudo noutro estudo a temperatura de armazenamento mais baixa, -1°C, os valores obtidos foram bastante inferiores, 2,3 log ufc/cm², para o mesmo período de tempo. Pelo contrário, Gill e Harrison (1989) detectaram em carne de porco embalada a 100% CO₂ e a -1,5°C um desenvolvimento elevado de BAL, superior a 6 log ufc/g.

Efeito do grupo de pH_f

Não foram observadas diferenças significativas (p≥0,05) entre as contagens nas amostras pertencentes aos três grupos de pH_f, o que indica a ocorrência de contaminação de forma aleatória no matadouro e durante manipulação posterior. Também, pela análise da Figura 1 pode observar-se que, as BAL exibiram uma tendência de crescimento idêntica nos três grupos de pH_f da carne. Sørheim *et al.* (1997) em estudos efectuados em carne de porco Normal e PSE não encontraram diferenças significativas nas contagens de BAL e Silla e Simonsen (1985) também não observaram qualquer correlação entre o pH e os níveis de BAL obtidos em produtos cárneos fatiados embalados a vácuo.

No presente trabalho, pode observar-se que as contagens médias obtidas em carnes dos grupos DFD e DFDmod apresentam, na globalidade, valores ligeiramente superiores aos obtidos em carne do grupo Normal (Quadro 5 e Figura 1), sendo que no t₃₅ em vácuo obtiveram-se contagens de 5,40±0,35 log ufc/g em carne Normal, 6,32±1,54 log ufc/g em carne DFDmod e 6,41±0,85 log ufc/g em carne DFD. Nissen *et al.* (1996) verificaram que as BAL, em carne Normal de bovino, não ultrapassaram os 7 log ufc/cm², para o

mesmo período de armazenamento. Noutros trabalhos obtiveram-se resultados similares, em condições de anaerobiose, em carne de porco (Shay e Egan, 1986; Jeremiah *et al.*, 1995) e em carne de bovino (Gill e Penney, 1989) com pH elevado. Ao contrário do observado no presente trabalho, vários autores referem a ocorrência de diferenças significativas relacionadas com os distintos valores de pH inicial de carne de porco (Jeremiah *et al.*, 1995; Blix e Borch, 2002) e de bovino (Blix e Borch, 2002). Estes últimos autores verificaram que as BAL apresentaram um desenvolvimento mais rápido em carnes com pH mais elevado, atingindo um teor máximo de 8 log ufc/g após 3-4 semanas em pH de 5,6-5,7 (carne da região cervical e costelas) e após 6-8 semanas em pH de 5,35-5,45 (lombo de porco e de bovino). Contrariamente, Erichsen e Molin (1981) referiram a presença de BAL em níveis similares ou, por vezes, ligeiramente superiores em carne Normal que em carne DFD de bovino.

Segundo Sørheim *et al.* (1997) em carne de suíno com diferentes valores de pH, as BAL atingiram teores superiores a 6 log ufc/cm² aos 21 dias de armazenamento em atmosferas ricas em CO₂, como também foi reportado por Gill e Harrison (1989) e Sørheim *et al.* (1995). Jeremiah *et al.* (1995) ao avaliarem a influência do pH de carne de porco armazenada em 100% CO₂ a -1,5°C verificaram que BAL constituíram a microflora dominante para todos os grupos de qualidade da carne durante as primeiras 6 semanas, atingindo o teor máximo de 6 log ufc/cm² em carne Normal e de 7 log ufc/cm² em carne PSE e DFD. A partir desse tempo e até às 15 semanas verificaram nos teores de BAL apenas um leve acréscimo. Otremba *et al.* (1999) detectaram em carne de avestruz embalada a vácuo diferenças significativas (p<0,05), com contagens de BAL superiores em pH mais elevado, sendo os teores mais baixos observados em carne com pH inferior a 5,8.

Efeito do tipo de embalagem

Não se observaram diferenças significativas (p≥0,05) entre as contagens obtidas nas carnes embaladas nos diferentes tipos de embalagem e para cada tempo de armazenamento. Para avaliar a qualidade de carne de avestruz embalada em distintas atmosferas e armazenada durante 16 dias *pm* de refrigeração Matos (2005) realizou um trabalho onde também não observou diferenças significativas nas contagens de BAL em cada tempo ensaiado.

É possível notar que, na maioria dos casos, as contagens obtidas em carnes embaladas em aerobiose, apresentaram valores ligeiramente superiores relativamente às detectadas em carnes embaladas em AMs. As contagens de BAL nos três tipos de AMs foram muito semelhantes, embora por vezes superiores em AM_{70/20} e inferiores em AM_{30/60} (Quadro 5).

Pela observação da Figura 1, e independentemente da categoria de qualidade da carne, observa-se que a evolução de BAL inicia-se por uma fase de arranque com a duração mínima de 3 dias para carnes embaladas em aerobiose e de 7 dias, para as restantes condições.

Em aerobiose, obtiveram-se teores médios de BAL, para o conjunto dos 3 grupos de pH_i, com um valor máximo de 4,80±1,68 log ufc/g no t₁₄. Para o mesmo período de tempo, os teores de BAL obtidos foram de 4,80 log ufc/g em vácuo, 4,54 log ufc/g em AM_{70/20}, 3,77 log ufc/g em AM_{50/40} e de 3,75 log ufc/g em AM_{30/60} (Quadro 5).

Neste trabalho, não foi observado um crescimento mais acentuado nas AMs com gás e em vácuo, contrariamente ao esperado, dado o carácter anaeróbio facultativo/microaerófilo deste grupo de

microrganismos. Também, não foi obtido um efeito inibidor do desenvolvimento microbiano, uma vez que as contagens foram ao longo do tempo, em geral, progressivamente superiores, como referido. BAL são identificadas por alguns autores como os principais microrganismos de carne embalada sob vácuo (Hitchener *et al.*, 1982; Holzapfel e Gerber, 1983; Shaw e Harding, 1984, 1989; Schillinger e Lucke, 1987; Taylor *et al.*, 1990; Borch *et al.*, 1996; Nissen *et al.*, 1996; Rodriguez *et al.*, 2000; Blix e Borch, 2002). Alonso-Calleja *et al.* (2004) num estudo efectuado em bifes de avestruz embalada em vácuo (entre 3 a 7 dias após embalagem), com uma película de baixa permeabilidade, verificaram que os teores de BAL foram mais elevados dos que os obtidos por Otremba *et al.* (1999) no mesmo tipo de carne armazenada em vácuo a temperaturas de refrigeração com teor de 2-4 log ufc/cm², de 0 a 28 dias.

Berruga *et al.* (2004) verificaram que, em carne de cordeiro armazenada a 2°C, as BAL apresentaram um desenvolvimento superior em vácuo do que em atmosferas modificadas. Estes autores, aos 28 dias, obtiveram valores mais baixos em carne embalada em atmosfera com 40% CO₂/ 60% N₂ (superior a 5 log ufc/cm²), relativamente a AMs com 80% CO₂/ 20% O₂ e a vácuo (superior a 7 log ufc/cm²). O desenvolvimento mais rápido em vácuo do que em AMs é concordante com outros autores (Garout *et al.*, 1989; Gill e Harrison, 1989; Taylor *et al.*, 1990). Tal facto não foi constatado neste trabalho, pois os valores médios foram praticamente coincidentes em todas as condições, contudo as AMs foram distintas das referidas pelo autor. No entanto, ao comparar, as contagens de BAL em AM_{70/20} com a AM com 80% CO₂/ 20% O₂ do estudo de Berruga *et al.* (2004), verificamos que no nosso trabalho em AM_{70/20} obtiveram-se níveis médios de 4,90 log ufc/g e Berruga *et al.* (2004) em AM com 80% CO₂/ 20% O₂ obtiveram teores de aproximadamente 6 log ufc/cm².

Mano *et al.* (2000) referem que a população de BAL não foi significativamente afectada pelas atmosferas ensaiadas em carne de porco e de peru armazenada a 1°C e a 7°C, dado que o tempo de duplicação destes microrganismos apresentou-se idêntico em quase todos os casos, embora a fase *lag* fosse usualmente mais extensa nas atmosferas enriquecidas com CO₂.

Rodríguez *et al.* (2000) num estudo efectuado em carne de bovino armazenada entre 0 e 3°C, no mesmo tipo de músculo, embalado em vácuo com uma película de barreira elevada, verificou que as BAL constituíram a microflora predominante ao fim de 30 dias de armazenamento, com teores de 5,9 log ufc/cm². Segundo Nissen *et al.* (1996), as BAL constituíram a microflora maioritária das contagens totais, no t₃₅ a 2°C, em vácuo e em 100% CO₂, com teores de 5,6 e de 6,2 log ufc/cm², respectivamente. Nissen *et al.* (1996) verificaram também que atmosferas com 100% N₂, pelo menos a -1°C, favorecem o desenvolvimento de *Carnobacterium* spp., enquanto que o armazenamento sob vácuo e 100% CO₂ favorece o desenvolvimento de *Leuconostoc* spp..

Ao avaliar o efeito do tempo *pm* decorrido até submeter a carne a embalagem sob vácuo, Foegeding *et al.* (1983) verificaram que as BAL aumentaram além de 4 log ufc/g nos dois tipos de carne (carne proveniente de carcaças de bovino com 2 dias e com 6 dias *pm*), durante os 7 primeiros dias de armazenamento.

No trabalho realizado por Taylor *et al.* (1990), as BAL constituíram também a microflora predominante em carne de bovino embalada a vácuo e em AM com 75% O₂ e 25% CO₂, armazenada a 1°C, multiplicando-se muito rapidamente de 10² no início para 10⁸ cm⁻² aos 34 dias, em ambos os sistemas. Os resultados do

presente trabalho revelaram que em vácuo, os valores obtidos foram em média de $6,04 \pm \log$ ufc/g desde o dia 28 *pm*, nunca atingindo os 7 log ufc/g.

Alguns trabalhos efectuados em carne embalada em atmosferas com elevada concentração de CO₂ armazenadas entre -1,5 a 2°C indicaram apenas um elevado desenvolvimento de BAL, no caso de carne de bovino (Rousset e Renerre, 1991) e de porco (Blickstad e Molin, 1983; Gill e Harrison, 1989).

Matos (2005) no seu trabalho em carne de avestruz refere teores de BAL inferiores aos esperados, principalmente em atmosferas contendo 100% de CO₂, provavelmente devido às temperaturas de refrigeração, ou existência de microrganismos competidores, e ainda, devido ao facto de se tratar de carne com pH elevado (6,0). Viana *et al.* (2005) ao estudarem o efeito de AMs em carne de porco armazenada a 5°C durante 28 dias, verificaram que as contagens de BAL aumentaram 2,5-3,5 unidades logarítmicas em amostras armazenadas em atmosferas livres de O₂. Contudo, verificou-se ainda que as BAL apresentaram contagens mais reduzidas em AM com 100% de O₂.

III.3.1.2. *Brochothrix thermosphacta*

No Quadro 6 apresentam-se os resultados médios relativos à contagem de *Brochothrix thermosphacta* nas amostras de carne para os três grupos de pH_f e para os diferentes tipos de embalagem nos diferentes tempos (dias *pm*) de armazenamento. Apresentam-se também, os resultados da análise de variância para os efeitos grupo de pH_f, tipo de embalagem e sua interacção (grupo de pH_f x tipo de embalagem). Os parâmetros da análise de variância para cada tempo são apresentados no Quadro A.II.2 do anexo.

Na Figura 2 ilustra-se a evolução de *Brochothrix thermosphacta* ao longo do tempo de armazenamento, apresentando-se os valores médios das contagens obtidas para os três grupos de pH_f nos diferentes tipos de embalagens. Os valores que suportam esses gráficos são apresentados no Quadro A.III.2 do anexo.

De uma forma geral, o pH_f da carne e o tipo de embalagem influenciaram significativamente os teores de *Brochothrix thermosphacta* nos diferentes tempos de armazenamento. Não se observou contudo, uma interacção significativa entre grupo de pH_f e tipo de embalagem.

No t₁ o nível de contaminação inicial da carne por *Brochothrix thermosphacta* foi na maioria dos casos inferior ao limite de detecção do método. Erkmen (2000) refere teores frequentemente encontrados na carne e produtos cárneos inferiores a 2 log ufc/g.

Nos gráficos apresentados na Figura 2 podemos observar que, independentemente do tipo de embalagem, *Brochothrix thermosphacta* apresenta um desenvolvimento acentuado ao longo do tempo para todas as categorias de qualidade da carne. A evolução de *Brochothrix thermosphacta* em carne Normal apresentou-se ligeiramente distinta e com contagens inferiores, ao longo do tempo de armazenamento, quando comparada com a carne DFD e DFDmod.

Quadro 6- Contagens de *Brochothrix thermosphacta* expressas em log ufc/g (média ± desvio padrão), de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem, antes da embalagem (t₁) e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
pH_f									
Normal	0,00±0,00	0,26±0,79	3,14±1,80	1,53±1,37 ^a	2,68±2,52 ^a	4,08±2,20 ^a	5,30±1,89 ^a	5,41±1,25 ^a	5,71±1,13
DFDmod	0,35±0,80	0,48±1,17	4,27±0,85	1,60±1,69 ^{ab}	3,70±2,22 ^{ab}	5,55±1,43 ^b	6,70±0,76 ^b	6,81±0,58 ^b	6,89±0,27
DFD	0,00±0,00	0,84±1,32	4,03±2,23	2,10±1,65 ^b	4,14±2,32 ^b	5,68±1,71 ^b	6,74±1,45 ^b	6,99±0,68 ^b	6,85±1,06
Sig	ns	ns	ns	**	*	***	***	***	ns
Embalagem									
Aerobiose	0,13±0,48 [▲]	1,44±1,75 ^b	3,82±1,70	4,44±1,87 ^c	5,48±2,18 ^c	6,59±1,09 ^c	-	-	-
Vácuo	«	0,13±0,54 ^a	-	2,37±1,79 ^b	3,57±2,16 ^{bc}	5,55±1,07 ^{bc}	6,15±1,19 ^{ab}	6,28±1,13	6,48±1,02
AM _{70/20}	«	0,53±0,93 ^{ab}	-	2,13±1,85 ^b	3,71±2,04 ^{abc}	5,40±1,71 ^{bc}	6,94±1,34 ^b	-	-
AM _{50/40}	«	0,35±0,93 ^a	-	1,14±1,72 ^{ab}	3,03±2,08 ^{ab}	4,67±1,78 ^{ab}	6,36±1,41 ^{ab}	-	-
AM _{30/60}	«	0,18±0,64 ^a	-	0,53±1,17 ^a	1,73±2,19 ^a	3,31±2,20 ^a	5,53±2,02 ^a	6,53±1,13	-
Sig	-	**	-	***	***	***	*	ns	-
pH_f x Emb									
Sig	-	ns	-	ns	ns	ns	ns	ns	-

Para cada efeito, na mesma coluna, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente (p<0,05).

ns-não significativo (p≥0,05); *-significativo (p<0,05); **-muito significativo (p<0,01); ***-altamente significativo (p<0,001).

▲antes da embalagem

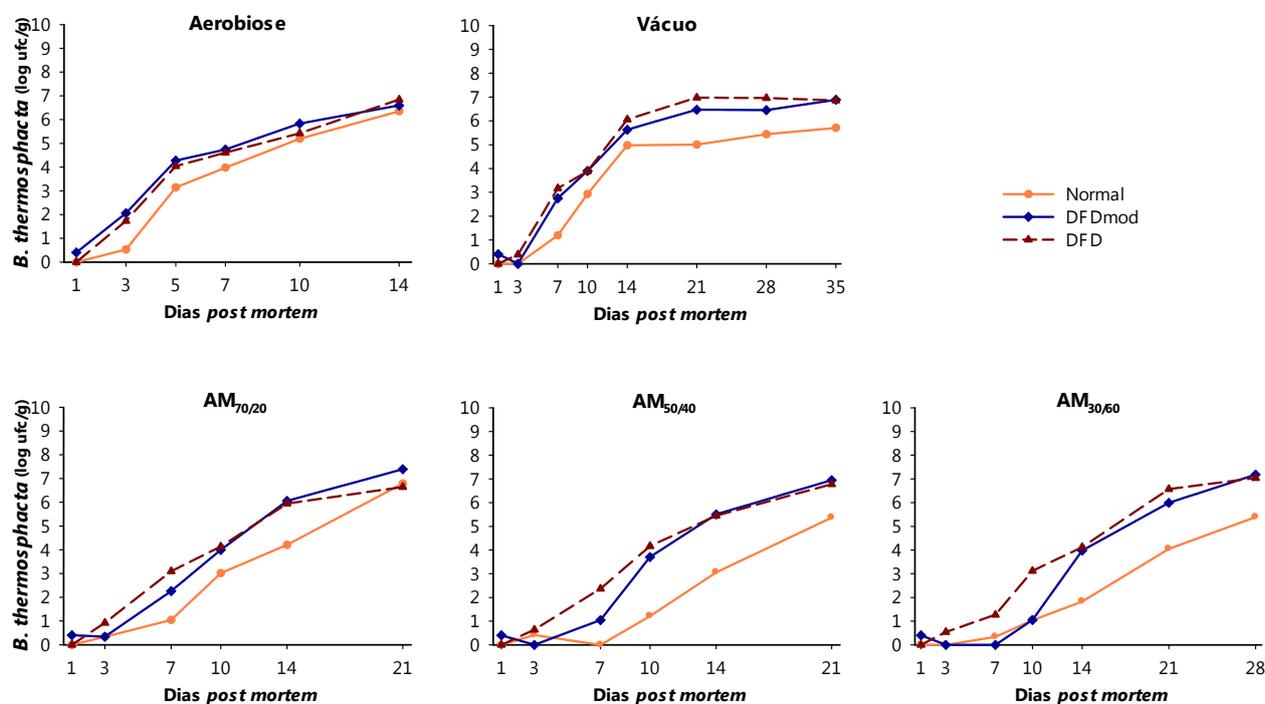


Figura 2- Evolução das contagens de *Brochothrix thermosphacta* expressas em log ufc/g de acordo o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD), ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40} e AM_{30/60}).

Em carne embalada em aerobiose obtiveram-se contagens elevadas de *Brochothrix thermosphacta* mais precocemente do que nas outras condições, em qualquer tipo de qualidade de carne, evidenciando um desenvolvimento de *Brochothrix thermosphacta* muito rápido, iniciando-se por uma fase de arranque (fase *lag*) com duração de 3 dias em carne Normal, e uma subida mais rápida entrando na fase logarítmica logo a partir do t_1 em carnes DFDmod e DFD. Em média, os teores foram de 3,97 log ufc/g em carne Normal no t_7 e ligeiramente superiores a esse valor em carne DFDmod (4,74 log ufc/g) e DFD (4,74 log ufc/g), atingindo teores superiores a 6 log ufc/g em todas as condições no t_{14} (Quadro A.III.2, em anexo)

É possível observar que as contagens obtidas em carnes embaladas em aerobiose, seguidas das embalagens em AM_{70/20} e sob vácuo apresentaram valores ligeiramente superiores relativamente às carnes embaladas nas restantes AMs, para carne Normal. Neste tipo de carne, as contagens nos diferentes tipos de embalagem revelaram uma curva de crescimento de *Brochothrix thermosphacta* semelhante, do tipo exponencial, com contagens progressivamente superiores ao longo do tempo *pm*, principalmente a partir do t_7 . Este facto, exceptua-se na carne embalada sob vácuo que parece apresentar valores similares a partir do t_{14} , entrando *Brochothrix thermosphacta* na fase estacionária, com aproximadamente 5 log ufc/g. A fase de maior crescimento bacteriano decorreu entre o t_3 e o t_7 , para carnes embaladas em aerobiose; entre o t_7 e o t_{14} , para carnes embaladas sob vácuo e, a partir do t_7 , para carnes embaladas em AMs. No t_{21} , obtiveram-se valores da ordem de 7 log ufc/g na AM_{70/20}, de 5 log ufc/g na AM_{50/40} e de 4 log ufc/g na AM_{30/60}. No t_{28} , na AM_{30/60} obtiveram-se valores da ordem de 5 log ufc/g.

No que se refere à carne DFDmod podemos observar um crescimento acentuado de *Brochothrix thermosphacta*, evidente em todos os tipos de embalagem, sendo a fase de arranque variável com o tipo de embalagem, apresentando-se mais alargada em carne armazenada em AM_{30/60} com a duração de 7 dias no mínimo. No entanto, nesta embalagem podemos observar um crescimento bacteriano em fase exponencial a partir do t_7 , sendo no t_{28} os teores foram similares ou ligeiramente superiores aos detectados em carne embalada sob vácuo.

Em carnes DFD, as contagens de *Brochothrix thermosphacta* apresentaram-se bastante homogéneas, ao longo do tempo *pm* nas distintas embalagens e, principalmente, quando confrontada com a carne Normal. Em aerobiose, verificou-se que *Brochothrix thermosphacta* entrou na fase de crescimento exponencial, desde o 1º dia de embalagem, apresentando teores médios de 6,59 e de 6,84 log ufc/g no t_{14} em carne DFDmod e DFD, respectivamente. A carne embalada a vácuo apresentou contagens de *Brochothrix thermosphacta* que indicam o final da fase logarítmica do t_{10} para o t_{21} , com o início da fase estacionária a partir do t_{21} para carnes DFDmod e DFD com aproximadamente 6,5-7 log ufc/g. Em carne com pH_f elevado, a curva de desenvolvimento de *Brochothrix thermosphacta* em AMs e vácuo foi semelhante e coincidente em determinados tempos, em particular no t_{21} , para todos os tipos de embalagem, atingindo valores de cerca de 7 log ufc/g em todas. As contagens de *Brochothrix thermosphacta* nos três tipos de AMs estudadas foram muito semelhantes ao longo do tempo neste tipo de carne, embora genericamente superiores em AM_{70/20} e inferiores em AM_{30/60} (Quadro A.III.2, em anexo).

Efeito do grupo de pH_f

O pH_f teve um efeito significativo nos teores de *Brochothrix thermosphacta* em vários tempos, particularmente dos dias 7 ao 28 *pm*. A carne pertencente ao grupo de qualidade pH_f Normal apresentou

sempre teores inferiores relativamente aos outros dois grupos, excepto no t_1 , mostrando diferenças significativas do dia 7 ao dia 28 *pm* relativamente ao grupo DFD, e do dia 14 ao dia 28 *pm* relativamente ao grupo DFDmod.

Nos dias 7 e 10 *pm* verificou-se que o grupo DFDmod apresentou uma posição intermédia, não se distinguindo significativamente dos outros dois grupos. Os grupos DFDmod e DFD nunca apresentaram diferenças significativas entre si em qualquer tempo.

Jeremiah *et al.* (1995) verificaram que, em lombo de porco com diferentes valores de pH armazenado em 100% CO₂ a -1,5°C, *Brochothrix thermosphacta* não se desenvolveu em pH Normal sob condições de anóxia, tal como observado por Gill e Harrison (1989).

Efeito do tipo de embalagem

A análise de variância (Quadro A.II.2, em anexo) revelou que o tipo de embalagem influenciou de forma, no mínimo, significativa os teores de *Brochothrix thermosphacta* desde o t_3 ao t_{21} *pm*.

As contagens de *Brochothrix thermosphacta* foram mais elevadas em aerobiose relativamente aos restantes tipos de embalagem, atingindo valores de $6,59 \pm 1,09$ log ufc/g no t_{14} , apresentando-se significativamente distintas de carne embalada sob vácuo no t_3 e t_7 ; em atmosferas com maior quantidade de CO₂ (AM_{50/40} e AM_{30/60}) em todos os tempos e na AM_{70/20} apenas no t_7 . As contagens obtidas nas amostras embaladas sob vácuo e em AM_{70/20} não se apresentaram diferenças significativas entre si e, apenas do t_7 ao t_{14} mostraram diferenças significativas relativamente a AM_{30/60}. Os teores de *Brochothrix thermosphacta* obtidos em AM_{50/40} e AM_{30/60} não apresentaram significativamente distintos entre si.

Os teores obtidos em carne Normal sob vácuo foram inferiores a 6 log ufc/g em média, atingindo $5,71 \pm 1,13$ log ufc/g no t_{35} (Quadro 6).

Valores similares foram encontrados em carne DFDmod (5,62) e em carne DFD (6,06) no t_{14} (Quadro A.III.2, anexo). Neste mesmo tempo de embalagem, a carne Normal sob vácuo apresentou contagens de *Brochothrix thermosphacta* mais baixos de 4,98 log ufc/g.

Vários autores têm documentado um desenvolvimento menos acentuado de *Brochothrix thermosphacta* em carne armazenada sob vácuo. Rodríguez *et al.* (2000) num estudo efectuado em carne de bovino armazenada, entre 0 e 3°C, numa película de barreira elevada e com uma taxa de transmissão de $16 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1} \text{ atm}^{-1}$, no mesmo tipo de músculo, verificaram que as contagens de *Brochothrix thermosphacta* foram similares às reportadas por Rodríguez *et al.* (1996) num produto similar apresentando um teor máximo de 3,43 log ufc/g aos 60 dias. No nosso trabalho, foram detectados resultados semelhantes aos 9 dias de armazenamento (t_{10}) de 2,93 log ufc/g em carne Normal no t_{35} de 6,48 log ufc/g em média dos 3 grupos de pH_f e de 5,71 para carne Normal, como já referido. É importante salientar que no nosso ensaio a carne foi armazenada a 4°C, superior à dos estudos referidos que era em média de $1,15 \pm 0,78^\circ\text{C}$, e que, os materiais de embalagem utilizados neste trabalho possuem uma permeabilidade ao O₂ superior, da ordem de $63 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1} \text{ atm}^{-1}$.

De acordo com Newton e Rigg (1979), as contagens mais elevadas de *Brochothrix thermosphacta* foram observadas em carnes embaladas sob vácuo em sacos com maior permeabilidade, com maior disponibilidade de O₂. A taxa de multiplicação parece não ser afectada, o que pode estar relacionado com a actividade de outros microrganismos, nomeadamente a redução da capacidade competitiva por BAL.

Isto poderá ser explicado pela maior disponibilidade do substrato glutamato como alternativa à glucose para o desenvolvimento de *Brochothrix thermosphacta*, à medida que a permeabilidade aumenta (Gill e Newton, 1977). Nissen *et al.* (1996) detectaram após 5 semanas de armazenamento sob vácuo em sacos com $30 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1} \text{ atm}^{-1}$ de permeabilidade ao O_2 a 2°C e a 6°C , níveis de 4,4 e 4,7 ufc/cm², respectivamente.

No presente trabalho, *Brochothrix thermosphacta* multiplicou-se bem em todas as atmosferas, mesmo naquelas enriquecidas com CO_2 . Das AMs, as embalagens com maior disponibilidade de O_2 foram aquelas onde se registaram contagens de *Brochothrix thermosphacta* mais elevadas, o que parece estar de acordo com o constatado por Newton e Rigg (1980) e Sørheim *et al.* (1999) que obtiveram também um maior desenvolvimento de *Brochothrix thermosphacta* na presença de O_2 . Segundo Taylor *et al.* (1990) nas amostras de carne de bovino embalada em AM com 75% O_2 e 25% CO_2 , *Brochothrix thermosphacta* também se desenvolveu muito rapidamente até um nível máximo de 10^7 até 10^8 cm^{-2} ; enquanto em vácuo o desenvolvimento foi muito lento, atingindo um nível máximo de apenas 10^3 a 10^4 cm^{-2} , aos 34 dias de armazenamento. Por outro lado, nas amostras de carne embalada em AM (75% O_2 e 25% CO_2), obteve-se uma população dominante com níveis aproximadamente equitativos de *Brochothrix thermosphacta* e BAL (Taylor *et al.*, 1990).

Berruga *et al.* (2004) verificaram que *Brochothrix thermosphacta* representou a microflora dominante no grupo das AMs com gás desenvolvendo-se rapidamente em fases precoces de armazenamento em todas as embalagens. Após duas semanas *pm* o crescimento rápido continuou, com exceção na embalagem sob vácuo a qual foi retardada. Situação idêntica foi observada neste trabalho experimental a partir mesmo tempo *pm*, onde todos os tipos de embalagem aumentaram do t_{14} para o t_{21} no mínimo um ciclo logarítmico, à exceção da carne embalada sob vácuo.

Sørheim *et al.* (1999) ao efectuarem estudos de vida útil de carne de bovino picada e fatiada e de costeletas de porco embaladas em AMs e em vácuo, armazenadas a 4 e a 8°C , verificaram que relativamente à carne de lombo fatiada embalada em vácuo e em duas misturas de gases com 0,4% CO /60% CO_2 /40% N_2 e com 70% O_2 /30% CO_2 , os teores de *B. thermosphacta* foram inferiores a 4 log ufc/g na carne em todos os tipos de embalagem em todos os tempos. No entanto, os teores foram significativamente superiores ($p < 0,05$) em aproximadamente um ciclo logarítmico em carne com elevadas concentrações de O_2 aos 7 e 10 dias, do que em carne com mistura de CO e sob vácuo nos tempos correspondentes (Sørheim *et al.*, 1999). Estes autores verificaram também que, para carne picada, o armazenamento na mistura de CO retardou o desenvolvimento de *B. thermosphacta* mesmo em níveis superiores ao do armazenamento em *chub packs* (carne picada embalada como um enchido em embalagem de polietileno sob vácuo).

Sheridan *et al.* (1997) referem que as contagens de *B. thermosphacta* obtidas em carne de cordeiro armazenada a 0 e 5°C durante 28 dias foram significativamente reduzidas em atmosferas ricas em CO_2 comparativamente à embalagem sob vácuo e AM com 80% O_2 e 20% CO_2 , dados estes concordantes com os obtidos neste trabalho. Nissen *et al.* (1996), verificaram que o desenvolvimento de *B. thermosphacta* após 5 semanas de armazenamento foi significativamente menor em carne de bovino em 100% CO_2 do que sob vácuo, sendo em 100% CO_2 a 2°C inferior a 1 log ufc /cm² e a 6°C de 2,8 log ufc/ cm², evidenciando-se um efeito combinado de baixa temperatura e efeito inibitório do CO_2 . De facto, Berruga

et al. (2004) referem que o desenvolvimento de *B. thermosphacta* sob condições anaeróbias também depende da combinação de diversos factores intrínsecos (pH, L-lactato, a_w , teor em gordura) e extrínsecos (oxigénio residual, temperatura) (Grau, 1981, 1983; Gill e Harrison, 1989; Jeremiah, 2001) que poderão afectar o seu crescimento. De acordo com Gill (1996), Nissen *et al.* (1996) e Sørheim *et al.* (1999), elevadas concentrações de CO₂, remoção de O₂ e baixa temperatura de armazenamento inibem o crescimento de *B. thermosphacta*. Betts (2006) refere que este microrganismo é pouco tolerante a temperaturas de refrigeração e reduzida a_w .

A utilização de elevadas concentrações de CO₂ para travar o desenvolvimento de *B. thermosphacta* tem sido documentada por alguns autores (Garout *et al.*, 1989; Sheridan *et al.*, 1997). Santé *et al.* (1994) obtiveram em carne de peru embalada em AMs uma inibição do crescimento de *B. thermosphacta* quando utilizaram uma atmosfera com 100% de CO₂. Contudo, Berruga *et al.* (1997) e outros autores observaram em carne de porco e de bovino (Gill e Harrison, 1989; Taylor *et al.*, 1990; Skandamis e Nychas, 2002b) um desenvolvimento marcante deste microrganismo em atmosferas ricas em CO₂. Neste trabalho, apesar dos teores de *B. thermosphacta* observados serem superiores em AM_{70/20} também foram observados teores elevados em AMs mais ricas em CO₂ (AM_{50/40} e AM_{30/60}). Isto pode ser explicado pelo facto de se tratar de um microrganismo anaeróbio facultativo (Pin *et al.*, 2002) e pela sua tolerância relativa ao CO₂ (Roth e Clark, 1975, citados por Newton e Rigg, 1979).

Segundo Holley (2000), a introdução de CO₂ na atmosfera não é inibitória do desenvolvimento de *B. thermosphacta* até atingir concentrações de 50% na presença de O₂. A redução de O₂ na mistura de gases ou a sua completa ausência pode implicar a inibição do seu desenvolvimento mais do que a presença de CO₂ a distintas concentrações. O metabolismo de *Brochothrix thermosphacta* continua a ser maioritariamente anaeróbio em atmosferas de CO₂ enriquecidas com O₂. De acordo com Betts (2006), *Brochothrix thermosphacta* pode tolerar acima de 50% de CO₂, desde que exista algum O₂. Baixas concentrações de O₂ não têm influência na velocidade de desenvolvimento de *Brochothrix thermosphacta* até se situarem abaixo de 0,2%, podendo ser inibida em AMs onde são utilizados absorventes de O₂ para reduzir o nível de O₂ abaixo desse valor percentual (Betts, 2006). Contudo, Gill e Harrison (1989) e Luño *et al.* (2000), observaram uma inibição do crescimento de *Brochothrix thermosphacta* em carne de bovino embalada em AMs, contendo 50% de CO₂, no entanto estes autores apenas avaliaram o desenvolvimento deste microrganismo sob influência de diferentes concentrações de CO₂ e de O₂ e não numa ausência total de O₂.

Alguns trabalhos referem que concentrações superiores a 1% de O₂ residual podem estimular a multiplicação de bactérias de deterioração, em particular *Brochothrix thermosphacta* (Sørheim *et al.*, 1997). Outros estudos também mostraram que níveis de O₂ residual de 2 a 3% resultaram num aumento de *Brochothrix thermosphacta* em carne de porco durante 4 semanas de armazenamento em mistura de 40% de CO₂ em N₂ a 4,4°C (McMullen e Stiles, 1993). Baseados nestes estudos, sugere-se que concentrações de O₂ em AM têm de ser de 2% ou superiores para que se verifique um desenvolvimento de bactérias deteriorativas em carne de porco. No entanto, AMs com elevadas concentrações de CO₂ poderão interagir com o nível de O₂ e influenciar o crescimento microbiano (Sørheim *et al.*, 1997). Petterson *et al.* (2004) verificaram a ocorrência de teores elevados de *Brochothrix thermosphacta* quando existiam concentrações de O₂ superiores a 2%, em peito de frango embalada numa atmosfera com 60% de CO₂,

39,6% de N₂ e 0,4% de CO. Nissen *et al.* (1996) verificaram um acréscimo nas contagens de bactérias em carne armazenada durante 5 semanas sob vácuo, 100% N₂ e 100% CO₂, e reacondicionamento em película permeável ao O₂, com exposição à luz e ar a 2°C durante 7 dias. A contagem total de bactérias em 100% CO₂ antes da exposição foi baixa a -1°C, mas a exposição ao ar levou a um aumento no desenvolvimento microbiano, nomeadamente de *Brochothrix thermosphacta*. A carne de bovino que foi armazenada a 2°C em 100% N₂ e sob vácuo apresentou antes da exposição contagens elevadas de *Brochothrix thermosphacta*, mas as contagens aumentaram muito pouco após exposição

Apesar de não se ter verificado uma interacção significativa entre grupo de pH_f e tipo de embalagem, pela análise da Figura 2 podemos observar que é nítida a acção do CO₂ contido nas AMs mais ricas neste gás no desenvolvimento de *Brochothrix thermosphacta* nos diferentes grupos de pH_f, sugerindo um maior efeito no atraso de desenvolvimento de *Brochothrix thermosphacta* quando se trata de carne Normal. Alguns autores referem que este microrganismo é incapaz de se multiplicar em anaerobiose quando os valores de pH são inferiores a 5,8 (Egan e Roberts, 1987, citados por Holzapfel, 1998), mas na presença de O₂ pode multiplicar-se até valores de pH tão baixos quanto 5,5 (Grau, 1980, citado por Gill, 1983). Walker e Betts (2000) referem que *Brochothrix thermosphacta* é, ocasionalmente, encontrada em carne Normal, mas raramente provoca deterioração.

III.3.1.3. *Enterobacteriaceae*

Os resultados médios da contagem de *Enterobacteriaceae* nas amostras de carne dos três grupos de pH_f e dos vários tipos de embalagem, nos diferentes tempos (dias *pm*) de armazenamento são apresentados no Quadro 7. Apresentam-se ainda, os resultados da análise de variância para os efeitos grupo de pH_f e tipo de embalagem, bem como da interacção grupo de pH_f x tipo de embalagem. Os parâmetros da análise de variância são apresentados no Quadro A.II.3 do anexo.

A Figura 3 ilustra a evolução das contagens de *Enterobacteriaceae* ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento, de acordo com os diferentes tipos de embalagem nos grupos de pH_f da carne. Os valores que sustentam esses gráficos são apresentados no anexo (Quadro A.III.3).

O pH_f da carne exerceu um efeito significativo nas contagens de *Enterobacteriaceae* nos dias 7 e 10 *pm*, um efeito muito significativo no dia 21 e um efeito altamente significativo no dia 14, enquanto o tipo de embalagem influenciou de forma no mínimo significativa os teores desta população microbiana do dia 7 ao dia 28 *pm*. Não se observou contudo um efeito significativo da interacção entre grupo de pH_f e tipo de embalagem.

Pela leitura da Figura 3, pode verificar-se que para todos os grupos de qualidade da carne, a população de *Enterobacteriaceae* exibiu um crescimento muito baixo e, por vezes, ausência de desenvolvimento, ao longo do tempo de armazenamento para os distintos tipos de embalagem, particularmente nas AMs. Os teores de *Enterobacteriaceae* obtidos em aerobiose e em vácuo foram genericamente mais elevados, embora estas contagens nunca tenham ultrapassado 2,80 log ufc/g no t₁₄ e 4,28 log ufc/g no t₂₈, respectivamente.

Quadro 7- Contagens de *Enterobacteriaceae* expressas em log ufc/g (média ± desvio padrão), de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem, antes da embalagem (t₁) e ao longo do tempo (dias pm) de armazenamento.

	Tempo (dias pm)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
pH_f									
Normal	0,00±0,00	0,14±0,44	0,00±0,00	0,13±0,44 ^a	0,45±1,09 ^a	0,69±1,26 ^a	1,12±1,64 ^a	2,21±2,25	3,43±2,16
DFDmod	0,00±0,00	0,26±0,74	0,92±1,61	0,50±0,85 ^{ab}	0,87±1,28 ^{ab}	1,25±1,70 ^b	1,34±1,53 ^a	2,32±2,49	3,44±0,86
DFD	0,25±0,60	0,43±0,86	1,15±1,62	0,73±1,23 ^b	1,36±1,83 ^b	2,65±2,41 ^b	2,75±2,25 ^b	3,15±2,99	5,63±1,91
Sig	ns	ns	ns	*	*	***	**	ns	ns
Embalagem									
Aerobiose	0,08±0,35 [▲]	0,32±0,77	0,69±1,34	1,00±1,39 ^b	1,93±2,10 ^b	2,80±2,36 ^b	-	-	-
Vácuo	«	0,48±1,04	-	0,43±0,99 ^{ab}	1,11±1,74 ^{ab}	2,60±2,28 ^b	3,20±2,34 ^b	4,28±2,33	4,17±1,95
AM _{70/20}	«	0,06±0,24	-	0,24±0,60 ^{ab}	0,66±0,97 ^a	0,96±1,57 ^a	1,54±1,89 ^a	-	-
AM _{50/40}	«	0,11±0,45	-	0,07±0,31 ^a	0,26±0,76 ^a	0,46±1,13 ^a	1,10±1,45 ^a	-	-
AM _{30/60}	«	0,42±0,73	-	0,54±0,76 ^{ab}	0,52±0,70 ^a	0,83±1,23 ^a	1,10±1,24 ^a	0,84±1,30	-
Sig	-	ns	-	*	**	***	***	***	-
pH_f x Emb									
Sig	-	ns	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Para cada efeito, na mesma coluna, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente (p<0,05).
 ns-não significativo (p≥0,05); *-significativo (p<0,05); **-muito significativo (p<0,01); ***-altamente significativo (p<0,001).
 ▲antes da embalagem

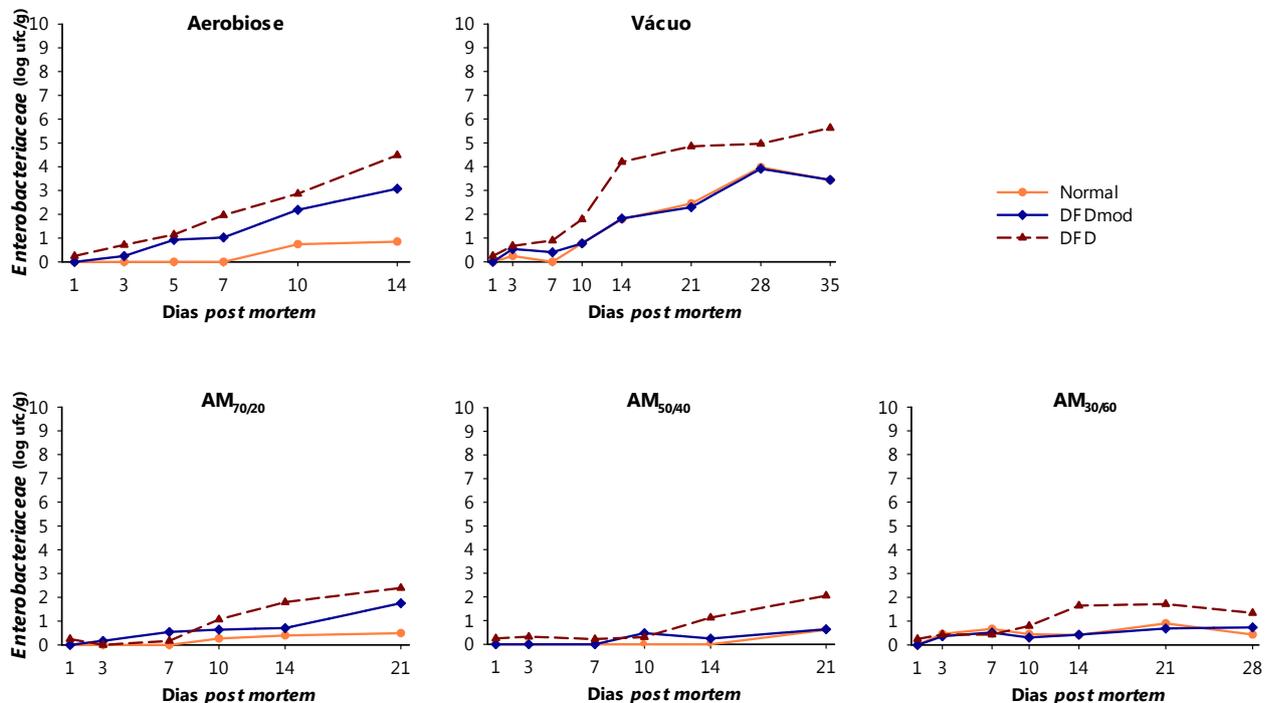


Figura 3- Evolução das contagens de *Enterobacteriaceae* expressas em log ufc/g de acordo o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD), ao longo do tempo (dias pm) de armazenamento nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40} e AM_{30/60}).

No dia 1 *pm*, a carne apresentou níveis baixos de *Enterobacteriaceae*, inferiores a uma unidade logarítmica, muitas vezes inferiores ao limite de detecção do método e, portanto, também abaixo de 10^2 ufc/g estabelecido por Encuentra e Busto (2002) para carnes refrigeradas.

De acordo com ICMSF (International Commission for Microbial Specifications in Food) (1983), a deterioração por *Enterobacteriaceae* ocorre quando as suas contagens ultrapassam as 10^7 ufc/g. Neste trabalho, quer para os diferentes tipos de embalagem, quer para o pH_f da carne as contagens de *Enterobacteriaceae* ficaram sempre aquém desses valores, atingindo-se teores máximos de cerca de 4 log ufc/g apenas para carne embalada sob vácuo e de $5,63 \pm 1,91$ log ufc/g para carne DFD.

Sendo a presença de *Enterobacteriaceae* um indicador de deficientes condições de higiene e de possível contaminação fecal, os valores baixos detectados em carne fresca parecem demonstrar a qualidade higiénica do produto (Brown e Baird-Parker, 1982, citados por Pérez-Chabela *et al.*, 1999). Neste trabalho, o cumprimento e a manutenção das temperaturas de refrigeração a que as carcaças foram sujeitas desde o 1º dia *pm* poderá ter contribuído para o baixo desenvolvimento de *Enterobacteriaceae*, já que em condições de temperaturas abusivas tende a favorecer-se o desenvolvimento destes microrganismos (ICMSF, 1998, González-Miret *et al.*, 2000; Saucier *et al.*, 2000). Ainda segundo Ridell e Korkeala (1997) qualquer aumento de temperatura durante o armazenamento, transporte e distribuição pode levar a um aumento do número de *Enterobacteriaceae*. Diferentes espécies destes microrganismos têm uma temperatura mínima de desenvolvimento diferente que varia entre 1,3 a 8,7°C, pelo que, é necessário evitar a exposição a temperaturas abusivas (Crowley *et al.*, 2005).

Efeito do grupo de pH_f

A análise de variância (Quadro A.III.3, em anexo) revelou que o pH_f teve um efeito no mínimo significativo no desenvolvimento de *Enterobacteriaceae* do t_7 ao t_{21} *pm*. Para este grupo de microrganismos verificaram-se teores mais elevados em carne DFD do que em carne Normal, com diferenças significativas nos referidos tempos. Em carne DFDmod, os valores das contagens obtidas foram genericamente intermédios e apenas diferiram significativamente dos obtidos em carne Normal no t_{14} e, dos obtidos em carne DFD no t_{21} *pm*.

Verificou-se que a fase de maior desenvolvimento bacteriano em carne DFD (para a média dos cinco tipos de embalagem) decorreu entre o t_{10} e o t_{14} , com incrementos de pelo menos um ciclo logarítmico, sendo os teores médios de $2,65 \pm 2,41$ log ufc/g no t_{14} *pm*.

A carne embalada em aerobiose, com níveis médios para os 3 grupos de pH_f , de $2,80 \pm 2,41$ log ufc/g aos 14 dias *pm* (Quadro 7) apresentou contudo um desenvolvimento manifestamente superior em carnes com pH_f mais elevado, com teores médios de 0,85 log ufc/g em carne Normal, de 3,07 log ufc/g em carne DFDmod e de 4,48 log ufc/g em carne DFD (Quadro A.III.3 em anexo).

A carne embalada sob vácuo apresentou contagens de *Enterobacteriaceae* que revelaram uma curva de crescimento semelhante em carnes Normal e DFDmod (Figura 3).

Pelo contrário, a carne DFD apresentou níveis superiores. Isto está de acordo com o referido por alguns autores (Blickstad e Molin, 1983; Dainty e Mackey, 1992; Cox *et al.*, 1998) relativamente ao facto de um pH mais elevado favorecer o desenvolvimento destes microrganismos.

Efeito do tipo de embalagem

A análise de variância (Quadro A.II.3, em anexo) para o efeito tipo de embalagem revelou diferenças no mínimo significativas a partir do t_7 , sendo altamente significativas a partir do t_{14} .

Enterobacteriaceae multiplicaram-se melhor em aerobiose, apresentando teores médios de 2,8 log ufc/g no dia 14 *pm*. Em carne embalada sob vácuo atingiram-se teores semelhantes nesse dia com 2,60 log ufc/g não ultrapassando em média os 4,28 log ufc/g até ao final do período de armazenamento. Pelo contrário, nas AMs as contagens nunca atingiram valores médios da ordem de 2 log ufc/g em qualquer tempo. Isto poderá demonstrar a sensibilidade destes microrganismos ao CO₂, revelando o seu eventual efeito inibitório. Tal facto, é também reforçado quando se comparam as contagens obtidas em carne embalada sob vácuo e em AM com elevada tensão de CO₂ (AM_{30/60}), verificando-se a ocorrência de diferenças altamente significativas ($p < 0,001$) aos 28 dias *pm*. De salientar, as contagens inferiores nesta última ($0,84 \pm 1,30$ log ufc/g), em cerca de 3 ciclos logarítmicos, comparativamente às observadas na carne embalada sob vácuo ($4,28 \pm 2,33$ log ufc/g).

Pela análise dos gráficos da Figura 3, podemos concluir que é nítido o efeito inibitório do CO₂ no desenvolvimento de *Enterobacteriaceae* em todos os tipos de AMs. Este efeito parece ser menos evidente em carne DFD, nas quais se verificaram contagens ligeiramente superiores, da ordem de uma unidade logarítmica a partir do t_{14} *pm*. No estudo de Berruga *et al.* (2004) a presença de níveis de CO₂ superiores a 40% na embalagem limitou o desenvolvimento de *Enterobacteriaceae* em contraste ao que ocorreu em vácuo (Garout *et al.*, 1989; Gill e Harrison, 1989; Sheridan *et al.*, 1997), o que é concordante com os dados obtidos neste trabalho. Também Sheridan *et al.* (1997) ao avaliarem o efeito do tipo de embalagem, em atmosferas modificadas e vácuo, na vida útil de carne de cordeiro, verificaram que, em geral, as contagens de *Enterobacteriaceae* em carne embalada em atmosferas com elevada concentração de CO₂ foram significativamente inferiores às obtidas em carne armazenada sob vácuo e em AM com 80% de O₂ e 20% de CO₂. Resultados contrários foram obtidos por Taylor *et al.* (1990) em AMs enriquecidas com CO₂, cujos teores de *Enterobacteriaceae* aumentaram até 3-4 log ufc/cm² no final de armazenamento (28 dias *pm*), o que não foi observado neste trabalho, pois as contagens foram sempre mais baixas, de $0,84 \pm 1,30$ log ufc/g no mesmo tempo. Rodríguez *et al.* (2000) num estudo efectuado em carne de bovino armazenada sob vácuo entre 0°C e 3°C, no mesmo tipo de músculo, verificou que as contagens de *Enterobacteriaceae* também não apresentaram um grande acréscimo, com valores máximos de 2,15 e 2,52 log ufc/cm² aos 30 e aos 60 dias de armazenamento, respectivamente. Resultados discordantes foram obtidos por Berruga *et al.* (2004) em carne de cordeiro armazenada a 2°C, em que níveis de 6 log ufc/cm² foram atingidos após 14 dias *pm*. Gill e Penney (1988) referem que detectaram níveis substanciais de *Enterobacteriaceae* em carne de bovino com pH Normal armazenada sob vácuo e em baixas concentrações de CO₂. Gill e Harrison (1989) referem a deterioração por elevados teores de enterobactérias em carne de porco embalada a 100% CO₂ e armazenada durante 19 semanas a -1°C. Contudo, em ambas as experiências as amostras apresentavam teores iniciais de *Enterobacteriaceae* bastante elevados (Nissen *et al.*, 1996), contrariamente ao observado no presente trabalho.

De acordo com Taylor *et al.* (1990), para carne de bovino, escasso ou nenhum desenvolvimento de *Enterobacteriaceae* foi detectado em vácuo e em AM com 75% de O₂ e 25% de CO₂. Em carne de porco, nas mesmas condições de embalagem, a população de *Enterobacteriaceae* desenvolveu-se

preferencialmente, comparativamente ao que ocorreu em carne de bovino e, com teores mais elevados, particularmente em vácuo, cujos níveis de 10^5 cm^{-2} , foram obtidos após 21 dias, correspondendo ao final do período de armazenamento (Taylor *et al.*, 1990).

III.3.1.4. *Pseudomonas* spp.

No Quadro 8 apresentam-se os resultados médios da contagem de *Pseudomonas* spp. nas amostras de carne para os três grupos de pH_f e os cinco tipos de embalagem, ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento. Apresentam-se ainda, os resultados da análise de variância para os efeitos grupo de pH_f, tipo de embalagem e sua interação (grupo de pH_f x tipo de embalagem). Os parâmetros da análise de variância são mostrados no anexo (Quadro A.II.4).

Quadro 8- Contagens de *Pseudomonas* spp. expressas em log ufc/g (média ± desvio padrão), de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem, antes da embalagem (t₁) e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
pH_f									
Normal	0,75±0,88	0,67±0,98 ^a	5,12±1,51	2,80±2,11 ^{ab}	3,50±2,56 ^a	3,93±2,75 ^a	4,38±1,68	4,14±1,77	4,21±0,49 ^a
Intermédio	1,69±2,29	1,04±1,35 ^a	4,74±1,54	2,41±2,26 ^a	3,63±2,68 ^{ab}	4,82±2,36 ^b	4,76±1,97	4,71±1,63	7,32±0,38 ^c
DFD	1,90±1,79	1,91±1,30 ^b	5,17±1,74	3,51±2,44 ^b	4,36±2,51 ^b	5,32±2,44 ^b	5,23±1,94	4,72±1,90	5,72±0,68 ^b
Sig	ns	***	ns	***	***	***	ns	ns	***
Embalagem									
Aerobiose	1,45±1,73 [▲]	2,28±1,60 ^b	5,01±1,52	6,45±1,20 ^c	7,83±0,94 ^d	8,57±0,75 ^c	-	-	-
Vácuo	«	1,11±1,20 ^a	-	2,88±1,70 ^b	4,61±1,09 ^c	5,24±1,02 ^b	5,63±0,79 ^c	5,78±0,80	5,75±1,40
AM _{70/20}	«	0,94±1,02 ^a	-	2,04±1,36 ^{ab}	3,05±1,40 ^b	4,54±1,37 ^b	6,36±1,17 ^c	-	-
AM _{50/40}	«	0,67±1,00 ^a	-	1,71±1,43 ^{ab}	2,10±1,41 ^{ab}	2,99±1,35 ^a	4,27±1,50 ^b	-	-
AM _{30/60}	«	1,04±1,16 ^a	-	1,45±1,22 ^a	1,57±1,45 ^a	2,10±1,59 ^a	2,89±1,71 ^a	3,27±1,51	-
Sig	-	***	-	***	***	***	***	***	-
pH_f x Emb									
Sig	-	ns	-	ns	ns	ns	ns	ns	-

Para cada efeito, na mesma coluna, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente (p<0,05).

ns-não significativo (p≥0,05); *-significativo (p<0,05); **-muito significativo (p<0,01); ***-altamente significativo (p<0,001).

▲antes da embalagem

A Figura 4 ilustra a evolução das contagens de *Pseudomonas* spp., ao longo do tempo de armazenamento, apresentando-se os valores médios obtidos nas amostras para cada grupo de pH_f conservadas nas diferentes embalagens. Os valores que suportam esses gráficos são apresentados no anexo (Quadro A.III.4).

A análise de variância (Quadro A.II.4, em anexo) revelou que o tipo de embalagem influenciou de forma altamente significativa os teores de *Pseudomonas* spp. em todos os tempos estudados para o efeito. O efeito do pH_f da carne foi altamente significativo na maioria dos tempos de armazenamento (t₃, t₇, t₁₀, t₁₄

e t_{35}), não se observando diferenças significativas nos restantes. Não se verificou qualquer interacção significativa entre os efeitos em quaisquer tempos estudados.

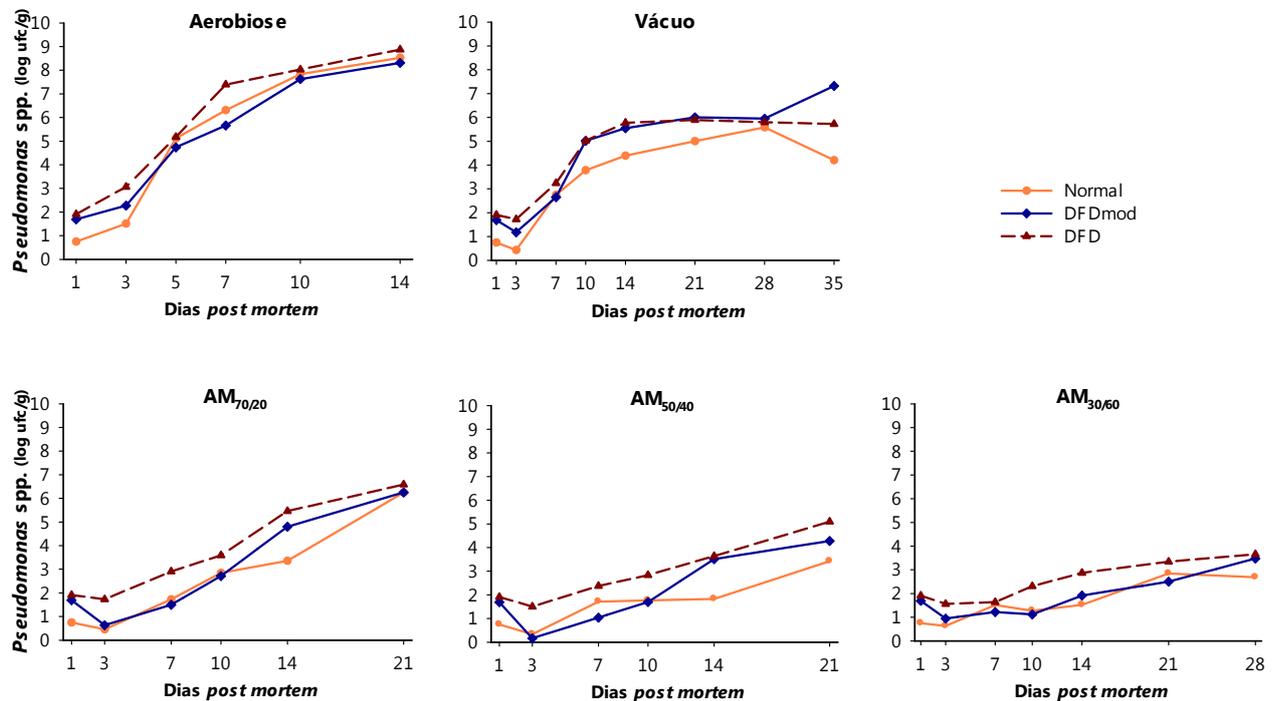


Figura 4- Evolução das contagens de *Pseudomonas* spp. expressas em log ufc/g de acordo o grupo de pH_f da carne (Normal, DF Dmod e DFD), ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40} e AM_{30/60}).

As contagens microbianas médias, para o conjunto dos três grupos de pH_f, no t_1 foram de $1,45 \pm 1,73$ log ufc/g e no t_5 foram de $5,01 \pm 1,72$ log ufc/g.

Nissen *et al.* (1996) verificaram contagens iniciais de *Pseudomonas* de $1,3 \pm 0,3$ log ufc/cm², em trabalhos realizados no mesmo tipo de músculo, com pH inferior a 5,9, embalado aos 3 dias *pm* sob vácuo e em 100% CO₂, armazenado a 2 ou a 6°C durante 5 ou 10 semanas. Rodríguez *et al.* (2000) em estudos efectuados em carne de bovino embalada sob vácuo verificaram que as contagens de *Pseudomonas* spp. aumentaram de um nível inicial de 1,92 log ufc/cm² até um teor máximo de 5,19 log ufc/cm² aos 60 dias. No presente trabalho, foram obtidos resultados semelhantes nas amostras embaladas sob vácuo aos 13 dias de armazenamento com valores médios de 5,24 log ufc/g, sendo aos 34 dias de 5,75 log ufc/g, em média dos 3 grupos de pH_f, e de 4,21 log ufc/g apenas em carne Normal (Quadro A.III.4, em anexo).

Contagens superiores foram relatadas por Foegeding *et al.* (1983) que referem que *Pseudomonas* spp. predominava no momento da embalagem com aproximadamente 3,5 e 4,5 log ufc/g em carne embalada aos 2 e aos 6 dias *pm*, respectivamente, evidenciando no entanto um ligeiro decréscimo no decorrer do período de armazenamento.

Na Figura 4 podemos observar que, independentemente da categoria de qualidade da carne, as contagens de *Pseudomonas* spp., apresentaram valores distintos nos diferentes tipos de embalagem, ao longo do tempo. É possível visualizar que as carnes embaladas em aerobiose, seguidas das embaladas

sob vácuo apresentam níveis superiores de *Pseudomonas* spp. relativamente às carnes embaladas em AMs, excepto na transição do t_{14} para o t_{21} em que as contagens obtidas em AM_{70/20} superaram as observadas sob vácuo. Em carne embalada em aerobiose observou-se um desenvolvimento muito rápido de *Pseudomonas* spp., atingindo no t_7 teores superiores a 6 log ufc/g em carne Normal, a 7 log ufc/g em carne DFD e a 5,5 log ufc/g em carne DFDmod), contudo no t_{14} os teores foram superiores a 8 log ufc/g em todos os casos (Quadro A.III.4, anexo). Em carne embalada sob vácuo observaram-se contagens de *Pseudomonas* spp. mais diferenciadas nos 3 tipos de qualidade da carne quando comparadas com os restantes tipos de embalagem. Embora este tipo de embalagem no t_{28} se verifique uma contagem de aproximadamente 6 log ufc/g para todos os grupos de pH_f da carne, na transição para o t_{35} sugere poder ter ocorrido letalidade celular (em carne Normal), crescimento bacteriano (em carne DFDmod) e paragem de desenvolvimento ou morte+desenvolvimento (em carne DFD)).

Efeito do grupo de pH_f

Os dados de análise de variância (Quadro A.III.4, em anexo) revelaram que o grupo de pH_f teve um efeito altamente significativo ($p < 0,001$) nos dias 3, 7, 10, 14 e 35 *pm*. Observou-se que o grupo de carne Normal e de carne DFD apresentaram sempre diferenças significativas entre si, nesses tempos, exceptuando no t_7 . O grupo DFDmod apresentou-se significativamente distinto do grupo Normal no t_{14} e no t_{35} . No t_{35} os três grupos revelaram diferenças significativas entre si, com a carne com pH intermédio (DFDmod) a apresentar o teor mais elevado com $7,32 \pm 0,38$ log ufc/g, seguido da carne com pH mais elevado (DFD) com $5,72 \pm 0,68$ log ufc/g, e por último, a carne Normal com $4,21 \pm 0,49$ log ufc/g.

Efeito do tipo de embalagem

O tipo de embalagem teve um efeito sempre altamente significativo ($p < 0,001$) nos teores de *Pseudomonas* spp. em todos os tempos ensaiados. As contagens de *Pseudomonas* spp. obtidas nos t_{14} e t_{21} para embalagens sob vácuo e AM_{70/20} não revelaram diferenças significativas. A carne embalada em aerobiose apresentou contagens que diferiram significativamente das observadas nas restantes embalagens. De facto, nessa embalagem este microrganismo apresenta uma taxa de desenvolvimento mais rápida, atingindo valores sempre superiores relativamente às restantes atmosferas em estudo (Figura 4) com valores médios da ordem de 8 log ufc/g a partir do t_{10} e superiores no t_{14} . Isto deve-se, em parte, ao seu carácter aeróbio e, conseqüentemente, a uma forte capacidade competitiva neste ambiente. Em 1999, Labadie referiu que *Pseudomonas* spp. foram as bactérias sempre dominantes em aerobiose independentemente do tipo de carne. Butler *et al.* (1981) verificaram que após 9 dias de armazenamento a 5°C, carne picada de bovino embalada em aerobiose com inoculação de uma mistura de bactérias das quais uma estirpe de *Pseudomonas*, que de um nível de contaminação inicial de aproximadamente 10^4 células/g, atingiram-se valores de 9,17 e 9,93 log ufc/g (em músculos estimulados electricamente) e de 8,89 e 9,86 log ufc/g em músculos não estimulados (respectivamente para os músculos. bicipede femural e infraespinhoso).

A carne submetida a embalagem sob vácuo apresentou teores bastante similares às observadas em AM_{70/20}, apenas se diferenciando significativamente desta no t_{10} , com valores médios de 4,61 log ufc/g em vácuo e de 3,05 log ufc/g em AM_{70/20}. Das AMs, a AM_{70/20} foi a que evidenciou contagens mais elevadas de

Pseudomonas spp., atingindo no t_{21} , teores da ordem de 6 log ufc/g. A AM_{50/40} apenas se diferenciou de forma significativa da AM_{70/20} a partir do t_{14} e da AM_{30/60} no t_{21} .

Sørheim *et al.* (1999) verificaram que em carne de lombo fatiada embalada em vácuo e em duas misturas gasosas com 0,4%CO/ 60%CO₂/ 40% N₂ e 70%O₂/ 30%CO₂, os níveis de *Pseudomonas* spp. não excederam os 3,5 log ufc/g em todos os tempos, não sendo observadas diferenças significativas entre as contagens nas amostras pertencentes aos diferentes tipos de embalagem ou tempos de armazenamento.

Viana *et al.* (2005) ao estudarem o efeito de AMs em carne de porco armazenada a 5°C, verificaram que as contagens de *Pseudomonas* foram da ordem de $7,4 \times 10^3$ ufc/g, aumentando 1,3 unidades logarítmicas após 20 dias de armazenamento sob vácuo. Jiménez *et al.* (1997) num estudo realizado em peito de frango embalado em aerobiose e sob vácuo e posteriormente armazenado a 4°C detectaram um aumento assinalável de *Pseudomonas* spp., sendo este suprimido em atmosferas modificadas ricas em CO₂. Também Dainty e Mackey (1992) referiram que a carne embalada em elevadas concentrações de O₂ é frequentemente deteriorada por *Pseudomonas* spp., sendo o seu desenvolvimento retardado em condições anaeróbias.

De acordo com Varnam e Sutherland (1995), *Pseudomonas* spp. podem multiplicar-se em atmosferas com baixa concentração de O₂, daí o seu comportamento sob vácuo em cuja quantidade de O₂ residual ($\approx 1\%$) poderá ser suficiente para suportar o seu desenvolvimento. Alguns trabalhos referem que concentrações superiores a 1% de O₂ residual podem estimular a multiplicação de bactérias de deterioração, em particular de *Pseudomonas* spp. (Sørheim *et al.*, 1997). Outros estudos também mostraram que níveis de O₂ residual de 2 a 3% resultaram num aumento de *Pseudomonas* spp. em carne de porco durante 4 semanas de armazenamento em mistura de 40% de CO₂ em N₂ a 4,4°C (McMullen e Stiles, 1991).

Segundo dados de Sørheim *et al.* (1999), em carne com elevada tensão de O₂, os teores de *Pseudomonas* aumentaram acima de 7 log ufc/g, mas apenas de 5 e 6 log ufc/g em carne embalada com mistura de CO ou "chub packs", respectivamente.

Com o presente trabalho verificámos que a utilização de atmosferas com elevada concentração de CO₂ (AM_{30/60}), retardou o desenvolvimento destes microrganismos, aumento a fase *lag* (Figura 4), não se observando valores superiores a 3 log ufc/g em média em todos os tempos de estudo (Quadro 8). No t_{28} , quando apenas comparamos as contagens obtidas sob vácuo e em AM_{30/60}, verifica-se que nesta última a carne apresenta teores microbianos inferiores em 2 ciclos logarítmicos. Segundo Liao (2006), o aumento de CO₂ (acima de 10%) inibe o desenvolvimento de *P. fluorescens* e *P. fragi* em carnes vermelhas e em carcaças de frango (Gill e Tan, 1980; Gill, 1990). De acordo com Nissen *et al.* (1996), o desenvolvimento de *Pseudomonas* spp. foi significativamente menor em carne de bovino em atmosfera com 100% CO₂ do que em vácuo decorridas 5 semanas de armazenamento. Em 100% CO₂, estes autores, obtiveram teores de *Pseudomonas* spp. inferiores a 1 log ufc /cm² a 2°C e de 1,7 log ufc/ cm² a 6°C e, em vácuo, teores da ordem de 3,9 log ufc/ cm² a 2°C e de 5,8 log ufc/ cm² a 6°C. Nesse estudo, os níveis mais elevados e o desenvolvimento mais rápido de *Pseudomonas* spp. foram obtidos em carne embalada em 100% N₂ e sob vácuo, comparativamente ao observado em atmosferas contendo CO₂.

Após armazenamento durante 5 semanas sob vácuo, 100% N₂ e 100% CO₂, e re-acondicionamento em película permeável ao O₂, com exposição à luz e ar a 2°C durante 7 dias, Nissen *et al.* (1996) verificaram um acréscimo nas contagens de *Pseudomonas* spp.. A contagem de bactérias totais em 100% CO₂ antes

da exposição foi baixa a -1°C , mas a exposição ao ar (aerobiose) causou um aumento microbiano, nomeadamente de *Pseudomonas*. O aparente aumento de *Pseudomonas* após 10 semanas obtido por em todas as atmosferas é difícil de explicar, dado que é vulgarmente aceite uma maior sensibilidade de bactérias Gram negativas ao CO_2 (Dixon e Kell, 1989; Lambert *et al.*, 1991).

Em carne de bovino embalada sob vácuo e em AM com 75% de O_2 e 25% de CO_2 , pouco ou nenhum desenvolvimento de *Pseudomonas* spp. foi detectado até aos 20 dias. Contudo, em carne de porco, *Pseudomonas* spp. desenvolveu-se preferencialmente e com teores mais elevados em AM (10^4 a 10^5 cm^{-2}) do que sob vácuo (10^4 cm^{-2}) comparativamente à carne de bovino. Apesar disso, para Taylor *et al.* (1990), parece pouco provável que *Pseudomonas* tenha tido qualquer papel na deterioração de amostras em AM. A 5°C , Sheridan *et al.* (1997) verificaram diferenças significativas entre as contagens de *Pseudomonas* obtidas em vácuo e em AM 80% O_2 20% CO_2 . Pelo contrário, em 100% de CO_2 não foram observadas diferenças significativas entre temperaturas de 0 e 5°C , o que parece evidenciar o efeito sinérgico de baixas temperaturas e acção inibitória do CO_2 .

Viana *et al.* (2005) referem que, em atmosferas com 100% de O_2 , a microbiota consistiu sobretudo em *Pseudomonas*, as quais aumentaram 4,1 unidades logarítmicas no final do período de conservação. Segundo o mesmo autor, *Pseudomonas* atingiu um máximo de 10^5 ufc/g em todas as restantes atmosferas estudadas, isto é, 100% CO_2 , 99% CO_2 + 1% CO , 100% CO e vácuo.

Pela análise da Figura 4 observa-se que em carne Normal e DFDmod parece que o efeito inibitório do CO_2 se faz sentir de forma mais marcada, apesar de não se ter verificado uma interacção significativa entre grupo de pH_f e tipo de embalagem.

III.3.1.5. Fungos

No Quadro 9 apresentam-se os resultados médios da contagem de fungos nas amostras de carne para os três grupos de pH_f e, para os diferentes tipos de embalagem, ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento. Apresentam-se ainda, os resultados da análise de variância para os efeitos grupo de pH_f e tipo de embalagem, bem como da interacção grupo de pH_f x tipo de embalagem. Os parâmetros da análise de variância são apresentados no anexo (Quadro A.II.5 do anexo).

Na Figura 5 ilustra-se a evolução das contagens de fungos, ao longo do tempo de armazenamento, apresentando-se os valores médios das contagens obtidas nas amostras conservadas nas diferentes embalagens e para cada grupo de pH_f . Os valores que suportam esses gráficos são mostrados no anexo (Quadro A.III.5).

Pela leitura do Quadro 9 e pelos parâmetros de análise de variância (Quadro A.II.1.5, anexo) podemos verificar que o pH_f da carne não teve um efeito significativo ($p \geq 0,05$) no desenvolvimento de fungos, em todos os tempos em estudo. Pelo contrário, o tipo de embalagem influenciou o desenvolvimento destes organismos de forma altamente significativa ($p < 0,001$) na maioria dos tempos. Nunca se verificou contudo uma interacção significativa do grupo de pH_f x tipo de embalagem.

Quadro 9- Contagens de fungos expressas em log ufc/g (média ± desvio padrão), de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem, antes da embalagem (t₁) e ao longo do tempo (dias pm) de armazenamento.

	Tempo (dias pm)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
pH_f									
Normal	0,94±1,47	0,69±1,19	3,08±1,01	1,13±1,51	1,67±2,09	2,67±2,21	2,41±1,65	2,57±1,78	2,78±1,64
Intermédio	1,19±1,85	0,74±1,19	2,53±1,51	1,12±1,64	2,29±2,06	2,34±2,11	2,35±1,60	2,35±2,21	4,29±0,61
DFD	0,83±1,28	0,77±1,13	3,27±1,82	1,57±1,40	1,89±2,32	2,65±2,40	2,13±1,79	2,76±1,70	3,61±1,93
Sig	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Embalagem									
Aerobiose	0,98±1,47 [▲]	0,99±1,46	2,96±1,43	3,20±1,25 ^b	5,26±1,08 ^c	5,75±0,93 ^d	-	-	-
Vácuo	«	0,36±0,83	-	0,81±1,19 ^a	2,30±1,54 ^b	3,28±1,26 ^c	3,54±1,12 ^b	3,72±1,57	3,56±1,55
AM _{70/20}	«	0,80±1,22	-	1,17±1,40 ^a	1,17±1,39 ^a	1,97±1,63 ^b	3,29±1,21 ^b	-	-
AM _{50/40}	«	0,87±1,15	-	0,58±0,97 ^a	0,37±0,85 ^a	1,03±1,40 ^{ab}	1,41±1,35 ^a	-	-
AM _{30/60}	«	0,64±1,07	-	0,60±1,00 ^a	0,65±1,10 ^a	0,73±1,08 ^a	0,95±1,27 ^a	1,40±1,35	-
Sig	-	ns	-	***	***	***	***	***	-
pH_f x Emb									
Sig	-	ns	-	ns	ns	ns	ns	ns	-

Para cada efeito, na mesma coluna, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente (p<0,05).
 ns-não significativo (p≥0,05); *-significativo (p<0,05); **-muito significativo (p<0,01); ***-altamente significativo (p<0,001).
 ▲antes da embalagem

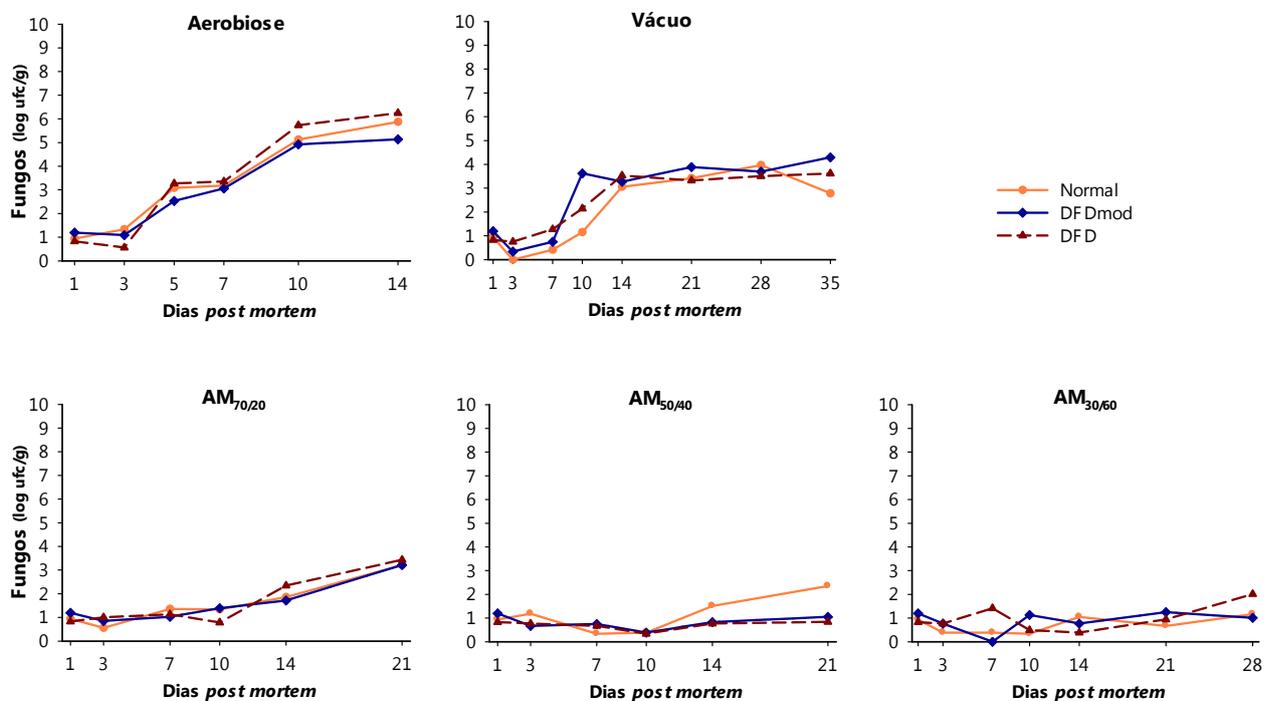


Figura 5- Evolução das contagens de fungos expressas em log ufc/g de acordo o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD), ao longo do tempo (dias pm) de armazenamento nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40} e AM_{30/60}).

Independentemente da categoria de qualidade da carne, as contagens de fungos ao longo do tempo, apresentaram-se distintos nos diferentes tipos de embalagem, sendo possível verificar que as carnes embaladas em aerobiose apresentaram contagens superiores comparativamente às restantes embalagens (Figura 5). Para além disso, a carne embalada em aerobiose apresentou um desenvolvimento de fungos relativamente rápido, atingindo teores de $3,20 \log \text{ ufc/g}$ em média de todos os tipos de carne no t_7 , enquanto nas outras atmosferas os teores foram inferiores em pelo menos 2 ciclos logarítmicos (Quadro 9).

No t_{14} , os teores foram em média de $5,75 \pm 0,83 \log \text{ ufc/g}$ em carne embalada em aerobiose, $3,28 \pm 1,26 \log \text{ ufc/g}$ em vácuo e cerca de $1 \log \text{ ufc/g}$ nas AMs com maior concentração de CO_2 (AM_{50/40} e AM_{30/60}) (Quadro 9).

Se compararmos as AMs, a carne embalada em AM_{70/20} foi a que apresentou contagens superiores com $1,97 \pm 1,63 \log \text{ ufc/g}$, pelo que parece nítido o efeito inibitório do CO_2 no desenvolvimento destes organismos, particularmente nas atmosferas mais ricas em CO_2 .

A carne embalada sob vácuo apesar de contagens iniciais muito baixas, a partir do t_{14} em todos os tipos de carne apresentou contagens da ordem de 3-4 $\log \text{ ufc/g}$ (Quadro A.III.5, em anexo).

As leveduras são menor contribuidor (<5%) para a contaminação microbiana das superfícies das carcaças, e durante todo o armazenamento em carne de borrego (Dillon e Board, 1989; Dillon, 1998). As condições de desenvolvimento dos fungos são similares às observadas para as bactérias. Tanto os bolores como as leveduras são tolerantes a ambientes ácidos, sendo o pH ótimo para o desenvolvimento entre 4,5 e 5 (Tucker, 2003). Dillon e Board (1989), em meio de cultura verificaram que a adição de sulfito, porém, favoreceu o crescimento das leveduras, de tal forma que elas dominam a microflora, até este diminuir para um nível que permita o desenvolvimento de bactérias Gram negativas sensíveis a esse composto, particularmente *Pseudomonas* e enterobacteriaceas.

Efeito do grupo de pH_f

O pH_f da carne nunca exerceu efeito significativo sobre o teor de fungos (bolores e leveduras) em todos os tempos de estudo.

No Quadro 9 pode observar-se que as contagens destes organismos em carne com pH_f Normal, apenas são inferiores, em média, nos t_3 , t_{10} e t_{35} comparativamente aos outros dois grupos de qualidade da carne. As leveduras representam uma pequena parte, embora permanente, da microbiota natural presente na carne. A capacidade de algumas leveduras para crescer a baixa temperatura, alta concentração de sal, e sob tensão reduzida de oxigénio permite-lhes proliferar no frigorífico, em produtos curados, em carne embalada a vácuo e em produtos à base de carne. As leveduras, porém, não são microrganismos considerados de grande importância na deterioração desses alimentos (Dillon e Board, 1989; Dillon, 1998).

No nosso estudo obtivemos contagens iniciais de fungos bastante baixas, em média de $0,98 \log \text{ ufc/g}$, e no t_{14} contagens de $1,67 \pm 2,09 \log \text{ ufc/g}$ em carne Normal, de $2,29 \pm 2,06 \log \text{ ufc/g}$ em carne DFDmod e de $2,65 \pm 2,40 \log \text{ ufc/g}$ em carne DFD.

Embora Comi e Cantoni (1985) relatarem nos seus estudos contagens de leveduras iniciais baixas em diversos produtos à base de carne, estes teores aumentaram para 10^5 - 10^6 ufc g^{-1} em 7 dias e de 10^7 - 10^6 cfu g^{-1} em 14 dias (autores citados por Deák, 2004)

Efeito do tipo de embalagem

O efeito tipo de embalagem influenciou o desenvolvimento de bolores e leveduras de forma altamente significativa ($p < 0,001$) a partir do t_7 e não se verificaram diferenças significativas apenas no t_3 .

A carne embalada em aerobiose apresenta teores superiores a 2-3 ciclos logarítmicos, relativamente às restantes, com ocorrência de diferenças significativas, o que provavelmente estará relacionado com o tipo respiratório destes organismos. As leveduras são anaeróbias facultativas e os bolores exclusivamente aeróbios na maioria dos casos (Tucker, 2003). A embalagem em aerobiose apresentou-se significativamente distinta das restantes nos t_7 , t_{10} e t_{14} , enquanto que a AM_{50/40} e AM_{30/60} nunca apresentaram diferenças significativas entre si. No t_{35} os três grupos revelaram diferenças significativas para a carne embalada sob vácuo. As contagens obtidas neste foram sempre significativamente diferentes das obtidas em aerobiose a partir do dia 7 *pm* e das AM_{50/40} e AM_{30/60} a partir do dia 10 *pm*. Diferem também significativamente das contagens obtidas em AM_{70/20} no t_{10} e t_{14} . As AMs com maior concentração de CO₂ (AM_{50/40} e AM_{30/60}) mostraram-se bastante eficazes no controlo do desenvolvimento de bolores e leveduras, dado que estes genericamente não aumentaram ao longo do tempo de armazenamento e apresenta teores que em média não ultrapassam os 1,41 log ufc/g em AM_{50/40} no t_{21} , enquanto em AM_{70/20} atingiram-se valores de 3,29 log ufc/g no mesmo tempo.

A operação de embalagem pode também, sendo as superfícies do equipamento as fontes principais desta contaminação. Contrastando com a embalagem a vácuo, a embalagem por N₂ é particularmente efectivo no controlo de bolores e leveduras.

III.3.1.6. Microrganismos mesófilos

No Quadro 10 apresentam-se os resultados médios da contagem de microrganismos mesófilos totais nas amostras de carne para os três grupos de pH_f e para os diferentes tipos de embalagem, ao longo dos vários tempos considerados no ensaio. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os efeitos grupo de pH_f e tipo de embalagem, bem como da interacção grupo de pH_f x tipo de embalagem. Os parâmetros da análise de variância são apresentados no anexo (Quadro A.II.6).

A Figura 6 ilustra a evolução das contagens totais de mesófilos, ao longo do tempo de armazenamento, apresentando-se os valores médios das contagens obtidas nas amostras conservadas nas cinco embalagens, para cada grupo de pH_f. Os valores que sustentam esses gráficos são mostrados no anexo (Quadro A.III.6).

A determinação dos teores de microrganismos mesófilos totais é uma componente importante na avaliação da qualidade microbiológica dos alimentos. Esta microflora é constituída por grupos mais restritos de microrganismos, incluindo-se neste grupo, os microrganismos psicrótróficos, BAL, *Enterobacteriaceae* e fungos.

Quadro 10- Contagens de microrganismos mesófilos expressas em log ufc/g (média ± desvio padrão), de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem, antes da embalagem (t₁) e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)									
	1	3	5	7	10	14	21	28	35	
pH_f										
Normal	2,44±0,41	2,57±0,51	5,18±1,24	3,38±1,49 ^a	4,29±2,11 ^a	5,37±1,94 ^a	6,04±1,48 ^a	6,48±1,27	5,22±0,80 ^a	
Intermédio	2,89±1,83	2,28±1,06	4,96±1,26	3,60±1,68 ^{ab}	5,01±1,87 ^{ab}	6,37±1,27 ^b	6,60±1,14 ^{ab}	7,17±0,72	7,42±0,64 ^b	
DFD	2,60±0,78	2,74±0,73	5,15±1,60	4,27±1,85 ^b	5,58±1,93 ^b	6,79±1,77 ^b	7,29±1,53 ^b	7,27±1,10	7,21±1,20 ^b	
Sig	ns	ns	ns	**	***	***	*	ns	**	
Embalagem										
Aerobiose	2,64±1,12 [▲]	2,98±1,03	5,10±1,29	6,3±1,33 ^b	8,04±0,98 ^c	8,66±0,69 ^c	-	-	-	
Vácuo	«	2,32±0,93	-	3,45±1,38 ^a	4,85±1,09 ^b	6,18±1,04 ^b	6,68±1,32	7,1±1,01	6,62±1,33	
AM _{70/20}	«	2,40±0,71	-	3,18±0,93 ^a	4,32±1,42 ^{ab}	5,8±1,26 ^b	7,29±1,13	-	-	
AM _{50/40}	«	2,43±0,68	-	2,96±1,02 ^a	3,99±1,45 ^{ab}	5,23±1,32 ^{ab}	6,48±1,48	-	-	
AM _{30/60}	«	2,50±0,52	-	2,84±0,81 ^a	3,60±1,29 ^a	4,92±1,50 ^a	6,12±1,73	6,76±1,14	-	
Sig	-	ns	-	***	***	***	ns	ns	-	
pH_f x Emb										
Sig	-	ns	-	ns	ns	ns	ns	ns	-	

Para cada efeito, na mesma coluna, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente (p<0,05).
 ns-não significativo (p≥0,05); *-significativo (p<0,05); **-muito significativo (p<0,01); ***-altamente significativo (p<0,001).
 ▲antes da embalagem

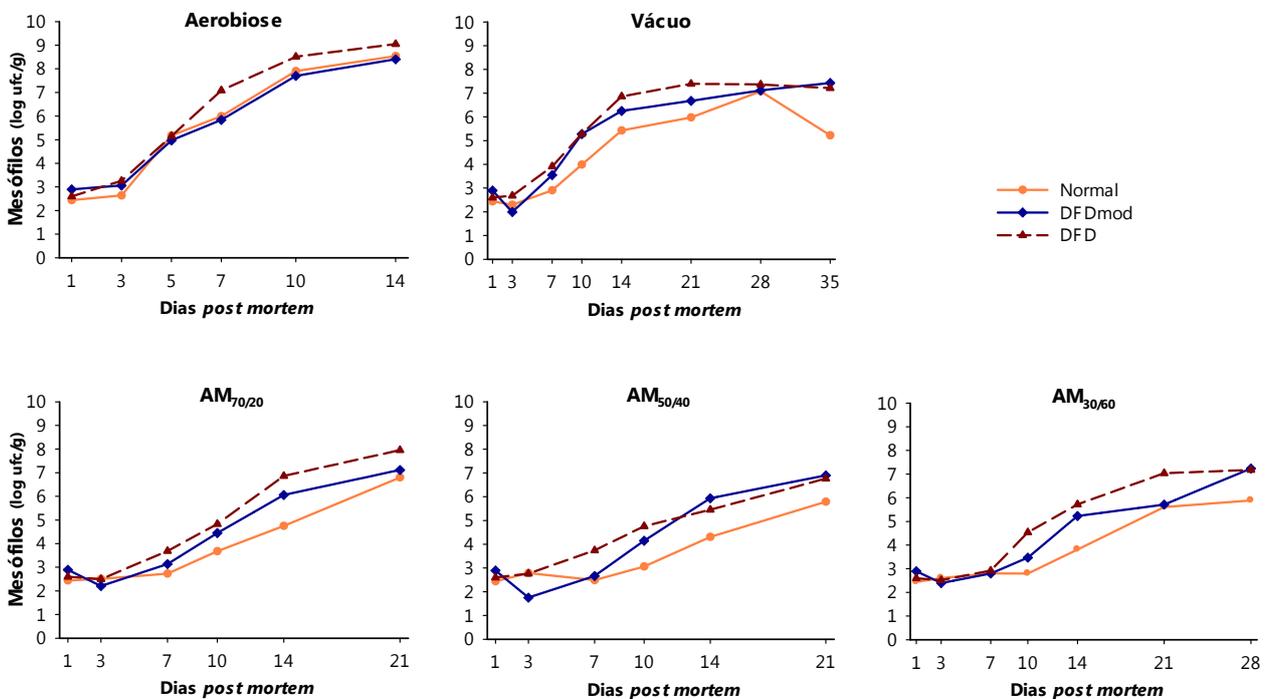


Figura 6- Evolução das contagens totais de mesófilos expressas em log ufc/g de acordo o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD), ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40} e AM_{30/60}).

Com o presente trabalho, verificou-se não existirem diferenças significativas nas contagens de mesófilos entre grupos de pH_f e entre tipos de embalagem até ao dia 5 *pm*, inclusive. A partir do dia 7 *pm* observaram-se diferenças significativas exercidas por cada um dos efeitos (pH_f e/ou embalagem) na maioria dos tempos em estudo. Não se observou qualquer interacção entre o pH_f e o tipo de embalagem.

As contagens totais de mesófilos às 24 horas *pm* (t_1), antes da embalagem foram bastante similares, variando de 2 a 3 log ufc/g nos 3 tipos de carne (com uma média de 2,64 log ufc/g) (Quadro 10).

Nissen *et al.* (1996) ao estudarem no mesmo tipo de músculo com $pH < 5,9$ embalado sob vácuo e com 100% CO_2 , armazenado a 2 ou a 6°C durante 5 ou 10 semanas, respectivamente verificaram que as contagens microbianas iniciais foram inferiores a 2 log ufc/cm². Berruga *et al.* (2004) ao avaliarem a influência de utilização de atmosferas modificadas com gás e vácuo em carne de cordeiro constataram que os níveis microbianos iniciais foram inferiores aos limites microbiológicos de 7 log ufc/g recomendados pela ICMSF (ICMSF, 1986).

Pela análise dos gráficos que compõem a Figura 6 pode concluir-se que, de uma forma geral, as contagens revelaram um desenvolvimento microbiano evidente em todas as embalagens, em todos os grupos de pH_f , contudo observam-se padrões de crescimento distintos. A aerobiose destaca-se por ser o tipo de embalagem que permite o desenvolvimento microbiano mais precoce independentemente do grupo de qualidade da carne. A leitura dos gráficos da Figura 6 sugere existir um desenvolvimento de microrganismos mesófilos mais elevado em carne DFD do que em carne Normal.

Em aerobiose, valores superiores a 7 log ufc/g foram alcançados em carne Normal (7,90 log ufc/g) e em carne DFDmod (7,7 log ufc/g) aos 10 dias *pm* e em carne DFD (7,08 log ufc/g) aos 7 dias *pm*. No t_{14} , os teores médios foram de 8,54 log ufc/g em carne Normal, de 8,41 log ufc/g em carne DFDmod e de 9,05 log ufc/g em carne DFD (Quadro A.III.6, em anexo). Na embalagem sob vácuo observaram-se na carne DFDmod e DFD contagens de mesófilos sempre mais elevadas a partir do t_7 até final do período de armazenamento. As contagens obtidas nas AMs apresentaram teores ligeiramente mais elevados em carne DFDmod e DFD a partir do t_7 , contudo este facto é mais evidente a partir do t_{10} .

De uma forma geral, as médias das contagens de mesófilos para os três grupos de pH em carne embalada sob vácuo e em AM_{70/20} foram similares. A carne embalada em AM_{50/40} apresentou teores intermédios relativamente às alcançadas em carnes embaladas nas outras duas misturas gasosas, ora apresentando-se mais próximas das obtidas em AM_{70/20}, ora mais próximas das obtidas em AM_{30/60}, contudo não se distinguindo significativamente das mesmas em qualquer tempo.

Com o presente trabalho, os teores de mesófilos obtidos revelaram que, comparativamente aos valores de referência de 7 log ufc/g propostos para uma carne deteriorada, em termos médios, independentemente do grupo de pH_f , esses valores são excedidos em carne embalada em película desde o dia 10 *pm*, em vácuo e em AMs com maior teor de O_2 desde o dia 21 *pm* e em AM_{30/60} desde o dia 28 *pm*.

Alguns autores relataram que a deterioração microbiana da carne ocorre quando os níveis de totais de mesófilos são de 7-8 log ufc/cm² ou g (Insausti *et al.*, 2001; Jeremiah, 2001). Este teor foi atingido em carne de cordeiro embalada sob vácuo após 2 semanas de armazenamento sem aparecimento de

colorações e de odores desagradáveis, permitindo portanto, a sua aceitação pelo painel. Nas AMs alcançaram-se teores de 7 log ufc/cm² após 3 ou 4 semanas (Berruga *et al.*, 2004).

Os valores obtidos não excederam 10⁸ ufc/cm², excepto em aerobiose, os quais são considerados como limite de deterioração para carne embalada sob vácuo (Bell e Garout, 1994). Neste trabalho, Rodríguez *et al.* (2000) referem também que em carne de bovino embalada sob vácuo, as contagens de microrganismos viáveis totais (TVC) não excederam os 7 log ufc/cm² aos 30, 60 e 90 dias de armazenamento a temperatura variável entre 0 e 3°C (com uma média de 1,15±0,78°C).

Efeito do grupo de pH_f

Através da análise de variância (Quadro A.II.6 em anexo) verificou-se que a partir do dia 7 *pm*, exceptuando-se o t₂₈, o pH_f teve um efeito no mínimo significativo no desenvolvimento de microrganismos mesófilos (nas atmosferas em estudo). Esse efeito foi altamente significativo (p<0,001) no t₁₀ e t₁₄, muito significativo no t₇ e t₃₅ (p<0,01) e significativo no t₂₁ (p<0,05).

As contagens microbianas foram genericamente superiores em carne DFD do que em carne Normal, o que seria de esperar e é concordante com o referido por vários autores que constataram existir um desenvolvimento superior e mais precoce em carnes com pH mais elevado. Contudo as diferenças observadas neste trabalho nunca superaram, em média, uma unidade logarítmica, excepto no t₃₅ apenas para carne embalada sob vácuo, evidenciando teores superiores em aproximadamente 2 log ufc/g. No grupo DFDmod, salvo algumas excepções (t₁, t₅ e t₃₅), as contagens microbianas corresponderam em média a teores intermédios relativamente aos outros dois grupos, nunca sendo contudo significativamente diferente do grupo DFD e apresentando-se significativamente diferente do grupo Normal apenas no t₁₄ e t₃₅.

Vários estudos referem que o desenvolvimento de microrganismos durante o armazenamento é influenciado pelo pH (Foegeding *et al.*, 1983; Gill e Newton, 1981; Rey *et al.*, 1976). Jeremiah *et al.* (1995) constataram que a população bacteriana aeróbia avaliada em carne de porco foi consideravelmente superior em carne DFD, do que em carne PSE e por último em carne Normal. Porém, segundo Gill e Newton (1977) e Rey *et al.* (1976) nem todas as bactérias deteriorativas são afectadas pela variação do pH que ocorre na carne, entre 5,5 e 7,0 (Gill, 1983). Newton e Gill (1978a) referem contudo que a fase latente é mais prolongada em carne Normal o que é concordante com o observado no presente trabalho (Figura 6). Otremba *et al.* (1999), em carne de avestruz embalada sob vácuo, observaram um aumento do pH e, simultaneamente, das contagens microbianas, detectando-se cargas microbianas inferiores em carne com pH≤5,8, verificando-se a ocorrência de diferenças significativas (p<0,05).

Efeito do tipo de embalagem

A análise de variância (Quadro A.II.6, em anexo) revelou um efeito altamente significativo (p<0,001) do tipo de embalagem nas contagens de mesófilos obtidas nos dias 7, 10 e 14 *pm*. Constatou-se ainda que em aerobiose as contagens foram sempre superiores e diferiram significativamente das observadas nas restantes embalagens, atingindo-se valores superiores a 10⁶ e a 10⁸ ufc/g nos dias 7 e 10 *pm*, respectivamente.

No t_7 , as contagens obtidas em carne embalada em vácuo não apresentaram diferenças significativas relativamente às obtidas em qualquer AM gasosa. Contudo, nos dias 10 e 14 *pm* a carne embalada sob vácuo apresenta contagens que diferiram significativamente das observadas na carne embalada em AM_{30/60}, sendo sempre inferiores nesta última, em pelo menos um ciclo logarítmico. A partir do t_{21} não se verificaram diferenças significativas ($p \geq 0,05$) nas contagens totais para as embalagens em estudo nas distintas condições de ensaio, em vácuo e/ou em AMs, atingindo-se teores da ordem de 6 a 7 log ufc/g. Berruga *et al.* (2004) verificou que, após 28 dias de armazenamento nas distintas embalagens, já referidas, as contagens totais não apresentaram diferenças significativas.

De facto, todas as embalagens com CO₂ apresentaram contagens menores de microrganismos mesófilos a partir do t_7 , excepto a AM_{70/20} no t_{21} , sendo essas contagens sempre inferiores em carne embalada em AM_{30/60}, o que poderá estar relacionado com o efeito inibitório do CO₂ ser proporcional à sua concentração na mistura gasosa presente no interior da embalagem. Isto está de acordo com o referido por Gill e Tan (1980) e Luño *et al.* (2000) que referem o facto de atmosferas ricas em CO₂ inibirem o desenvolvimento microbiano.

Gee e Brown (1978) num estudo efectuado em carne picada de bovino, armazenada a 2°C em aerobiose e em AM com 50% de CO₂ e 1% de CO, verificaram que as contagens microbianas totais após 9 dias de armazenamento em AM foram inferiores em mais de 2 ciclos logarítmicos às contagens obtidas em aerobiose (controlo), correspondendo a valores que podem ser encontrados por interpolação 4,5 dias antes no controlo, ou seja esses resultados demonstraram a ocorrência de uma forte inibição do desenvolvimento microbiano quando utilizaram a atmosfera modificada com 50% de CO₂ e 1% de CO.

Sørheim *et al.* (1999), em carne de lombo fatiada embalada sob vácuo e em duas misturas de gases com 0,4%CO/ 60%CO₂/ 40% N₂ e com 70% O₂/ 30%CO₂, verificaram que o tipo de embalagem não afectou de forma significativa os teores de microrganismos viáveis totais, contudo, as contagens foram significativamente superiores a 8°C do que a 4°C decorridos 3 e 7 dias de armazenamento.

Neste trabalho a 4°C quando comparamos a carne embalada em AM_{70/20} e em AM_{30/60}, verificamos que só se observaram diferenças significativas no t_{14} .

Níveis bacterianos superiores foram encontrados por Sheridan *et al.* (1997) em carne de cordeiro embalada sob vácuo a 0°C, quando comparada com atmosferas que contêm CO₂. Num outro trabalho experimental realizado por Nissen *et al.* (1996) foi comparado a temperaturas de -1°C e 2°C o desenvolvimento microbiano em diferentes misturas de CO₂/N₂ e em vácuo. Após 5 semanas de armazenamento a -1°C a contagem total de bactérias em 100% CO₂ foi significativamente mais baixa do que nos outros tratamentos. As contagens obtidas nas outras misturas gasosas variaram inversamente com a concentração de CO₂, revelando-se este efeito menos evidente a 2°C do que a -1°C. As contagens obtidas em 100% e 50% de CO₂ foram ligeiramente inferiores às observadas nas outras atmosfera

No presente trabalho, o efeito inibitório do CO₂ não impediu o desenvolvimento microbiano, contudo parece conduzir a um aumento da fase *lag* e reduzir as contagens obtidas nas atmosferas com concentrações de CO₂ mais elevada (AM_{30/60}) relativamente nas atmosferas com concentrações de CO₂ mais baixas (AM_{70/20}) (Figura 6). A partir do t_{10} , verifica-se que o efeito inibitório do CO₂ parece ser menos evidente em carne DFD do que em carne Normal, confirmado pelos valores médios obtidos em AM_{30/60}

no t_{28} , de 5,88 e 7,18 log ufc/g, em carne Normal e DFD, respectivamente (Quadro A.III.6, anexo), apesar de não se ter verificado uma interação significativa entre grupo de pH_f e tipo de embalagem.

Em carne de porco, as contagens de viáveis totais foram similares na carne embalada sob vácuo e em AM com 75%O₂/ 25%CO₂, alcançando níveis de 10⁷ até 10⁸ cm⁻² passados 20 dias (Taylor *et al.*, 1990).

Após armazenamento durante 5 semanas sob vácuo, 100% N₂ e 100% CO₂, e reacondicionamento em película permeável ao O₂, com exposição à luz e ar a 2°C durante 7 dias, observou-se um acréscimo nas contagens. Estas observações estão em concordância com os achados em carne de bovino armazenada sob vácuo a 1,5°C que teve uma vida útil curta, após ter sido embalada a retalho (Gill e Jones, 1994).

Estes dados estão claramente em evidência se a carne for primeiro armazenada em “masterpacks” (embalagens mestre) com CO₂ e de seguida expostas ao ar para venda a retalho (Nissen *et al.*, 1996; Venturini, 2003).

De acordo com Taylor *et al.* (1990), as amostras expostas a condições de simulação de venda a retalho apresentaram normalmente contagens mais elevadas do que amostras armazenadas sob condições ideais em armazenamento no escuro. No entanto, ocorreram pequenas diferenças no padrão de crescimento entre os dois tipos de acondicionamento.

Taylor *et al.* (1990) verificaram que em carne de bovino (*longissimus dorsi*), durante a maior parte do período de armazenamento, as contagens de viáveis totais foram mais elevadas em carne embalada em vácuo do que em AM (75% O₂/ 25%CO₂) com o mesmo tempo *pm*, entre o tempo 10 e o tempo 20. Os níveis máximos atingidos para ambos os sistemas de embalagem foram 10⁸ cm⁻² aos 34 dias (Taylor *et al.*, 1990).

Existem referências de que o efeito bacteriostático geral do CO₂ aumenta com a diminuição da temperatura (Gill, 1988; Gill e Molin, 1991; Nissen *et al.*, 1996). Dados obtidos por Sheridan *et al.* (1997) demonstraram que uma elevada concentração de CO₂ e baixa temperatura de armazenamento (0°C) causaram uma redução significativa no número total de contagens bacterianas. Contrariamente, elevados níveis de CO₂ não tiveram efeito nas contagens bacterianas totais a 5°C.

No trabalho realizado por Sørheim *et al.* (1999) a contagem de microrganismos totais em carne de bovino aumentou mais rapidamente em atmosfera com elevada tensão de O₂ sendo significativamente mais elevado ($p < 0,01$) do que nos outros dois tipos de embalagem (AM 0,4% CO/60% CO₂/40%N₂ e “chub packs”) após dois dias quer a 4 quer a 8°C. De referir ainda que da contagem total de microrganismos viáveis mais de 90% corresponderam a BAL.

III.3.1.7. Microrganismos psicrotróficos

No Quadro 11 apresentam-se os resultados médios da contagem de psicrotróficos nas amostras de carne para os três grupos de pH_f e, para os diferentes tipos de embalagem, ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os efeitos grupo de pH_f e tipo de embalagem, bem como da interação grupo de pH_f x tipo de embalagem. Os parâmetros da análise de variância são mostrados no anexo (Quadro A.II.7).

Quadro 11- Contagens de microrganismos psicrotróficos expressas em log ufc/g (média ± desvio padrão) de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem, antes da embalagem (t₁) e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
pH_f									
Normal	2,20±0,66	2,13±0,79	5,21±1,19	3,31±1,64 ^a	4,50±1,98 ^a	5,59±1,74 ^a	6,38±1,40 ^a	6,42±1,66	8,08±0,87
Intermédio	2,71±1,95	1,95±1,12	4,77±1,43	3,45±1,68 ^a	5,04±1,97 ^{ab}	6,47±1,25 ^b	7,00±0,84 ^{ab}	7,49±0,89	7,48±0,64
DFD	2,79±1,60	2,59±1,15	5,17±1,50	4,24±1,84 ^b	5,48±2,13 ^b	6,80±1,65 ^b	7,33±1,17 ^b	7,31±1,03	7,38±1,26
Sig	ns	ns	ns	**	*	***	*	ns	ns
Embalagem									
Aerobiose	2,56±1,44 [▲]	2,64±1,36	5,05±1,31	6,08±1,15 ^b	8,08±0,89 ^c	8,65±0,66 ^c	-	-	-
Vácuo	«	2,06±1,13	-	3,62±1,63 ^a	4,95±1,24 ^b	6,19±1,01 ^b	6,99±1,05	7,26±1,02	7,65±0,95
AM70/20	«	2,13±1,03	-	3,06±1,16 ^a	4,24±1,77 ^{ab}	6,06±1,05 ^b	7,36±1,02	-	-
AM50/40	«	2,10±0,88	-	2,82±1,19 ^a	4,09±1,30 ^{ab}	5,41±1,11 ^{ab}	6,83±0,83	-	-
AM30/60	«	2,18±0,80	-	2,76±1,09 ^a	3,67±1,16 ^a	5,14±1,37 ^a	6,42±1,68	6,88±1,53	-
Sig	-	ns	-	***	***	***	ns	ns	-
pH_f x Emb									
Sig	-	ns	-	ns	ns	ns	ns	ns	-

Para cada efeito, na mesma coluna, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente (p<0,05).

ns-não significativo (p≥0,05); *-significativo (p<0,05); **-muito significativo (p<0,01); ***-altamente significativo (p<0,001).

▲antes da embalagem

A Figura 7 ilustra a evolução das contagens de psicrotróficos totais, ao longo do tempo de armazenamento considerado no ensaio, apresentando-se os valores médios das contagens obtidas nas amostras conservadas nas cinco embalagens, para cada grupo de pH_f individualmente. Os valores que suportam esses gráficos são apresentados no anexo (Quadro A.III.7).

Os dados da análise de variância (Quadro A.II.7, anexo) revelaram existir nas contagens de psicrotróficos diferenças significativas entre grupos de pH_f e entre tipos de embalagem. Não se observou contudo qualquer interacção entre grupo de pH_f e tipo de embalagem.

Pela análise do Quadro 11 podemos verificar que o padrão de crescimento dos microrganismos psicrotróficos totais segue o observado para os mesófilos, excepto na ausência de diferenças significativas entre grupos de pH_f para a embalagem sob vácuo no t₃₅. Também na Figura 1 verifica-se que, de uma forma geral, as curvas de crescimento de microrganismos psicrotróficos são similares às observadas para microrganismos mesófilos. Ao longo do armazenamento, ocorreu crescimento microbiano em todas as embalagens e grupos de pH_f, no entanto observam-se taxas de crescimento distintas.

A aerobiose destaca-se das restantes embalagens por evidenciar um crescimento microbiano bastante mais rápido, acompanhado de uma menor fase *lag*, qualquer que seja o grupo de pH_f da carne. A carne embalada em AM_{50/40} apresenta teores microbianos intermédios relativamente às obtidas em carnes embaladas nas outras misturas gasosas.

Em carne Normal, as contagens detectadas em carne embalada em AM_{70/20} e AM_{50/40} superam as obtidas em carne embalada sob vácuo no t₂₁. As contagens de psicotróficos obtidas em carne embalada sob vácuo e nas AMs com gás encontram-se representadas por curvas de crescimento similares nos distintos grupos de qualidade de carne.

Regra geral, existe um desenvolvimento de microrganismos psicotróficos mais elevado em carne DFD do que em carne Normal independentemente da sua categoria de qualidade. As contagens obtidas nas AMs foram ligeiramente mais elevadas em carne DFDmod e DFD do que em carne Normal a partir do t₇. Em vácuo verificou-se que a carne DFDmod e DFD revelaram contagens sempre mais elevadas, ainda que modestas, a partir do t₃ até final do período de armazenamento.

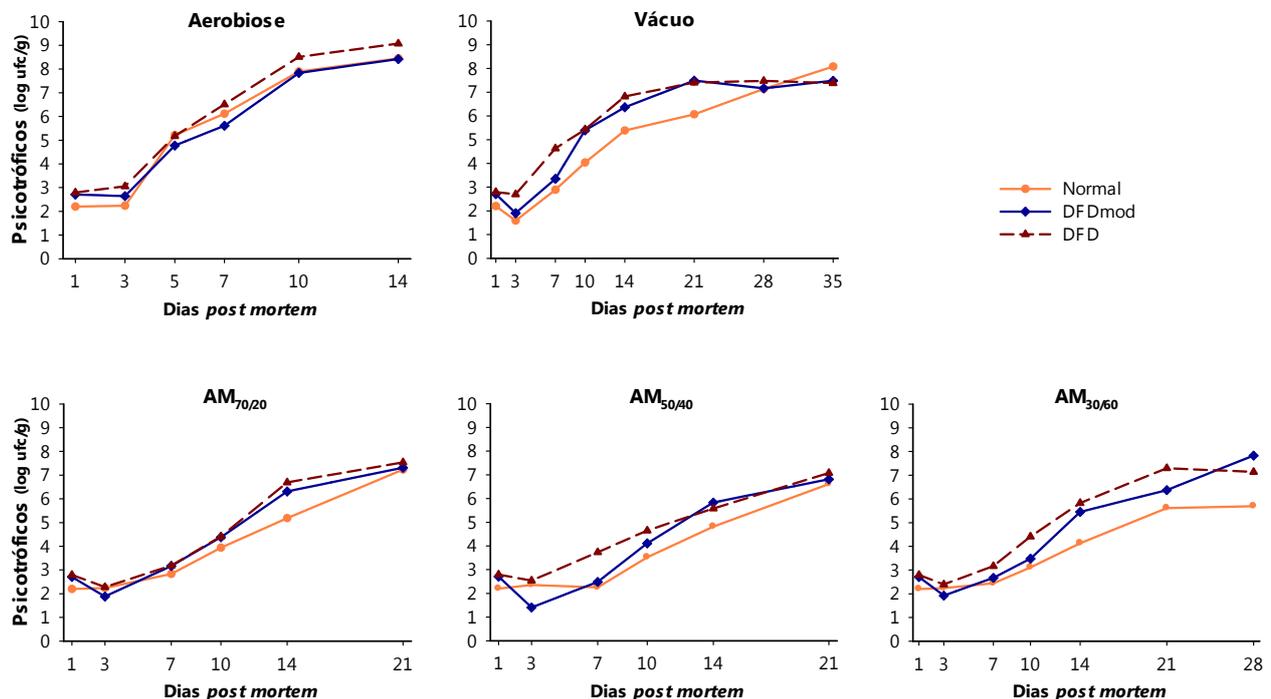


Figura 7- Evolução das contagens totais de psicotróficos expressas em log ufc/g de acordo o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD), ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40} e AM_{30/60}).

Efeito do grupo de pH_f

Até ao t₇ e nos t₂₈ e t₃₅ não se verificaram diferenças significativas para o efeito grupo de pH_f da carne. Nos restantes tempos observaram-se diferenças no mínimo significativas entre os 3 grupos de pH_f da carne. Nos t₁₀ e t₂₁ estas diferenças foram significativas (p<0,05), no t₇ muito significativas (p<0,01) e apenas no t₁₄ altamente significativas (p<0,001).

O grupo DFD difere sempre do grupo Normal e no t₇ difere também do grupo DFDmod, apresentando contagens superiores aos restantes grupos de pH_f, excepto no t₃₅ onde a carne Normal apresenta teores microbianos em média ligeiramente superiores. O grupo DFDmod apresenta valores intermédios relativamente aos outros 2 grupos de pH_f (do t₇ ao t₂₁), diferindo significativamente da carne Normal no t₁₄ e da carne DFD no t₇.

Efeito do tipo de embalagem

No t_3 , t_{21} e t_{28} não se verificaram diferenças significativas entre os distintos tipos de embalagens e nos restantes tempos estudados as diferenças foram altamente significativas ($p < 0,001$).

A carne embalada em aerobiose foi a que registou contagens de psicotróficos mais elevadas, atingindo valores da ordem de 6 log ufc/g no dia 7 *pm* e de 8 log ufc/g no dia 10 *pm*. Também este grupo de microrganismos mostrou-se bastante sensível à AM_{30/60} (com menor tensão de O₂ e maior concentração de CO₂), observando-se nessas amostras, contagens sempre inferiores a partir do dia 7 *pm*. As carnes embaladas nas restantes atmosferas registaram valores intermédios, entre a AM_{30/60} e a embalagem sob vácuo (com contagens superiores) nos t_7 , t_{10} e t_{14} , eventualmente determinados pela disponibilidade de O₂ e pela concentração de CO₂. Nos dias 10 e 14 *pm*, a carne embalada em AM_{30/60} apresentou teores que diferem de forma significativa dos obtidos em carne embalada sob vácuo.

Tal como para os mesófilos, também para os níveis de psicotróficos se verifica que, a partir do t_{10} , o efeito do CO₂ parece ser menos evidente em carne DFD do que em carne Normal, observando-se no t_{28} em AM_{30/60} teores médios de 5,69 em carne Normal e de 7,14 log ufc/g em carne DFD. Novamente, o efeito inibitório do CO₂ não impediu o crescimento microbiano, mas parece levar a um aumento da fase *lag*, mais detectável em carne Normal (Figura 7).

As contagens totais de psicotróficos no t_1 , nos 3 tipos de carne, oscilaram entre 2 a 3 log ufc/g. Viana *et al.* (2005) ao estudarem o efeito de AMs em carne de porco armazenada a 5°C, verificaram que as contagens de psicotróficos foram de $1,1 \times 10^4$ ufc/g, aumentando 2 a 3 log ufc/g aos 28 dias.

Em aerobiose, valores superiores a 7 log ufc/g foram alcançados no presente trabalho aos 10 dias *pm* em carne Normal (7,89 log ufc/g), em carne DFDmod (7,83 log ufc/g) e em carne DFD (8,51 log ufc/g). No t_{14} , os teores médios foram de 8,45 log ufc/g em carne Normal, de 8,42 log ufc/g em DFDmod e de 9,07 log ufc/g em carne DFD (Quadro A.III.7, em anexo).

III.3.1.8. Relação entre os grupos de microrganismos nas diferentes condições de ensaio

De forma a ilustrar comparativamente a evolução da distinta microflora, ao longo do período de armazenamento, em cada tipo embalagem (aerobiose, vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40}, AM_{30/60}), de acordo com o grupo de pH_f (Normal, DFDmod e DFD) são apresentados gráficos que compõem a Figura 8.

Durante o período de armazenamento em **aerobiose**, as contagens de mesófilos e de psicotróficos apresentam-se superiores relativamente aos restantes microrganismos estudados. Pode observar-se que *Pseudomonas* spp. constituíram a população predominante, apresentando teores semelhantes aos observados nas contagens de mesófilos e de psicotróficos, que decorre do facto de serem microrganismos aeróbios estritos, encontrando nesta embalagem condições adequadas para o seu desenvolvimento. Segundo Labadie (1999), *Pseudomonas* spp. são sempre dominantes, após alguns dias de armazenamento a temperaturas que variam entre 0 e 7°C, em qualquer tipo de carne nestas condições.

No t_{10} , em todos os grupos pH_f observaram-se contagens superiores a 7 log ufc/g, de mesófilos, psicotróficos e *Pseudomonas* spp., sendo ainda superiores a 8 log ufc/g em carnes DFD (Quadro A.III.6,

anexo). A família *Enterobacteriaceae* apresentou as menores contagens ao longo do tempo de armazenamento, excepto nas carnes DFD no t_3 . Isto poder-se-á dever ao facto de se tratarem na sua maioria de bactérias anaeróbias estritas e facultativas, e do pH mais elevado da carne favorecer o desenvolvimento de *Enterobacteriaceae* (Blickstad e Molin, 1983). De referir ainda que *Enterobacteriaceae* em carne Normal apresentou um tempo de arranque de 7 dias *pm* no mínimo.

Também de acordo com Dainty e Mackey (1992), a microflora da carne armazenada neste tipo de embalagem é principalmente psicrotrofica, aeróbia, bacilos Gram negativos móveis e imóveis, referidos na literatura como sendo espécies de *Pseudomonas* (Gill, 2005), *Acinetobacter* e *Psychrobacter*. *Pseudomonas* spp.. Normalmente representam mais de 50% da microflora existente e, por vezes, esta contagem ascende a 90% (Dainty e Mackey, 1992).

Brochothrix thermosphacta desenvolveram-se bem em aerobiose, apresentando-se sempre com teores mais elevados do que BAL, a partir do t_3 *pm*. Dainty e Mackey (1992) e Nychas *et al.* (2008) mencionam a ocorrência de *Brochothrix thermosphacta* e *Enterobacteriaceae* tolerantes ao frio (p. ex. *Serratia liquefaciens*, *Enterobacter agglomerans*, *Hafnia alvei*) em carne armazenada em aerobiose. Contudo, Enfors *et al.* (1979) e Blickstad e Molin (1983) referem que raramente constituem mais do que uma pequena proporção da microflora total. Estes microrganismos parecem ser mais prevalentes em carne de porco e de cordeiro, particularmente nas superfícies de gordura. Lasta *et al.* (1995) também verificou uma maior prevalência de *Pseudomonas* spp. na superfície de gordura de carne de bovino. O armazenamento a 5°C quando comparado a uma temperatura de 1°C tende a favorecer o seu desenvolvimento (Dainty e Mackey, 1992).

Enterobacteriaceae tolerantes ao frio não contribuem em termos de teores para as associações microbianas neste tipo de ambiente (Nychas *et al.*, 2008). *Brochothrix thermosphacta* e BAL foram detectadas na microflora de deterioração aeróbia da carne refrigerada mas não são consideradas importantes na deterioração, excepto eventualmente em carne de cordeiro. Estes microrganismos foram isolados das carcaças da carne de bovino durante a desossa, preparação/limpeza e refrigeração. Além disso, pêlo do bovino, conteúdo do rúmen, superfícies da nave de abate, mãos dos operadores, ar do túnel de refrigeração, garganta e pele dos animais, assim como as superfícies de corte do músculo estavam contaminados por este microrganismo (Holzapfel, 1998).

Tanto *Brochothrix thermosphacta* como BAL são a principal, senão a causa mais importante da deterioração, designada como acidificação. Este tipo de deterioração está geralmente associada a carne embalada sob o vácuo ou AMs como resultado da competição entre a microflora Gram positiva anaeróbia facultativa. A designação de putrefacção ocorre quando a competição se estabelece entre microflora Gram negativa (Nychas *et al.*, 2008)

Pseudomonas spp. não são afectadas pelos valores de pH_f da carne, pelo que se desenvolvem mais rapidamente que os seus habituais competidores (Gill, 1983). Para outros microrganismos, que podem também predominar em carne embalada em aerobiose, o seu crescimento é influenciado principalmente pela temperatura e pela sua proporção na microflora inicial. Ser psicrotrofica é um carácter certamente importante (Labadie, 1999).

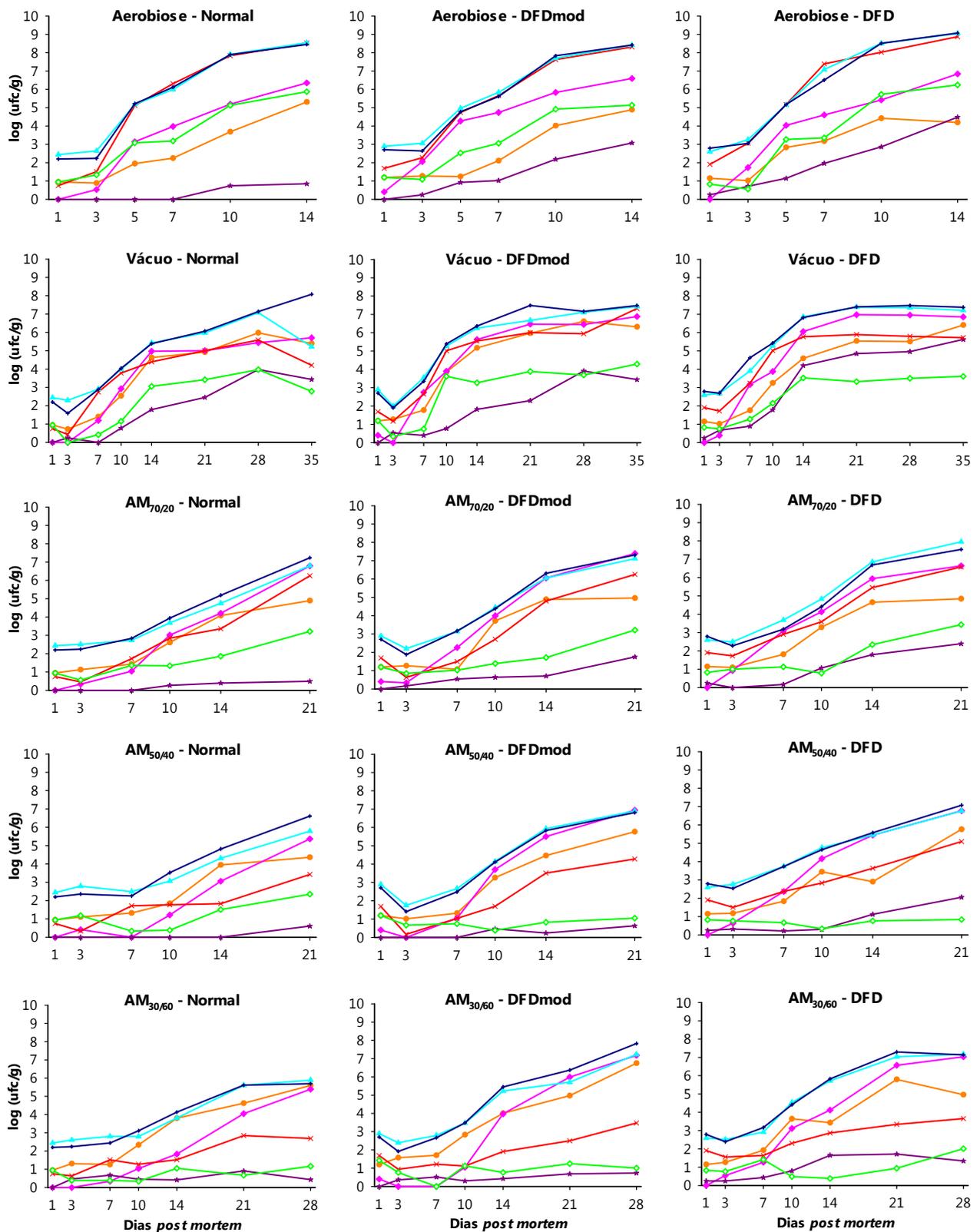


Figura 8- Evolução da microbiota, expressa em log ufc/g, de acordo o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD), ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40} e AM_{30/60}).

- BAL
- ◆— *Brochothrix thermosphacta*
- ▲— *Enterobacteriaceae*
- ×— *Pseudomonas* spp.
- ◇— Fungos
- ▲— Mesófilos
- ▲— Psicotróficos

Roseiro (1999) não observou diferenças significativas nas contagens de mesófilos e de BAL em carne de porco PSE e DFD embalada em aerobiose. Contudo verificou um desenvolvimento mais rápido de *Pseudomonas* spp. numa fase inicial de armazenamento em carnes DFD, mas o teor destes microrganismos aos 7 dias de armazenamento foi significativamente mais elevado em carnes PSE.

Relativamente a outras bactérias, tais como *Acinetobacter* spp. e *Psychrobacter* spp. pouco é conhecido, provavelmente devido à sua pequena importância na deterioração da carne (Gill, 1982; Gennari *et al.*, 1992). Muitas variedades do grupo das *Moraxella/Acinetobacter* são inibidas pelo pH baixo existente na carne Normal. Por essa razão, estes organismos são menos importantes do que as pseudomonas na carne vermelha de pH máximo Normal mantido a temperaturas de refrigeração, mas de uma grande proporção da microflora na carne de pH elevado ou quando a carne é mantida a temperaturas ambiente, porque os efeitos do pH são menos evidentes (Gill, 1983).

Estes microrganismos têm um comportamento distinto na deterioração de leite e de carnes, o que está relacionado com uma influência específica da inter-relação entre a bactéria e o seu substrato proteínico (Labadie, 1999).

Quanto às carnes embaladas sob **vácuo** o nosso estudo reportou-se até 35 dias *pm*, ou seja 34 dias de armazenamento após embalagem. Nas carnes DFD, para a generalidade dos microrganismos, pode observar-se uma fase de arranque inicial com duração de 3 dias *pm*, fase exponencial de crescimento do t_3 a t_{14} e fase estacionária do t_{21} a t_{35} . Durante o tempo de armazenamento em vácuo podemos observar que os mesófilos e psicrotópicos apresentam contagens superiores relativamente aos restantes microrganismos. Podemos observar que, para os grupos de carnes Normal e DFDmod, as contagens de *Brochothrix thermosphacta*, BAL e *Pseudomonas* spp. apresentaram valores muito aproximados, e que, na carne DFD se distanciaram, principalmente, *Brochothrix thermosphacta* e BAL.

Enterobacteriaceae embora sejam as bactérias que apresentam teores inferiores, apresentaram na carne DFD contagens superiores chegando a aproximar-se de 5 log ufc/g no t_{28} .

Na embalagem sob vácuo, a actividade respiratória dos tecidos (da carne) continuada reduz drasticamente em 1% o seu conteúdo de O_2 e aumenta cerca de 20% (v/v) a tensão de CO_2 . O desenvolvimento de bactérias Gram negativas nestas condições de armazenamento torna-se muito restrito, sendo a microflora dominante organismos Gram positivos (Kitchell e Shaw, 1975; Dainty e Mackey, 1992).

A microflora da carne em embalagem sob vácuo e armazenada em refrigeração foi estudada extensivamente por vários autores (Hitchener *et al.*, 1982; Holzapfel e Gerber, 1983; Schillingher e Lucke, 1987; Shaw e Harding, 1984, 1989) que verificaram que as BAL predominam na microflora deteriorativa (Kato, 2000; Sakala *et al.*, 2002; Schillingher e Holzapfel, 2006). Também segundo Gill e Newton (1978), carne embalada sob vácuo é geralmente muito estável a baixas temperaturas de refrigeração e quantidade limitada de O_2 , inibindo o desenvolvimento bacteriano, sendo as BAL as únicas que atingem populações consideráveis, com pelo menos 10^7 ufc/cm². O desenvolvimento de outros microrganismos, designadamente *Brochothrix thermosphacta*, *Pseudomonas* spp. e *Enterobacteriaceae* podem também atingir teores de 10^3 - 10^6 ufc/cm², mas a sua ocorrência não é um quadro consistente da microflora deteriorativa (Dainty *et al.*, 1983). Segundo Blickstad e Molin (1983) e Gill e Harrison (1989), a carne de

porco e de cordeiro é particularmente propensa ao desenvolvimento de *Brochothrix thermosphacta* e *Enterobacteriaceae*, enquanto para níveis de contaminação iniciais elevados em carne de bovino podem também ocorrer alterações devido a *Enterobacteriaceae* (Gill e Penney, 1988).

Se submetermos a carne com pH elevado a embalagem sob vácuo, *Shewanella putrefaciens* pode desenvolver-se, juntamente com *Enterobacteriaceae* tolerantes ao frio. Um tipo de deterioração particular, rápida ocorre nestas condições, associado com produção de sulfureto de hidrogénio (Dainty e Mackey, 1992). No nosso trabalho obtivemos teores de *Enterobacteriaceae* bastante superiores na carne DFD comparativamente às carnes Normal e DFDmod, apresentando estas últimas contagens semelhantes.

Uma vez que as BAL têm pouco efeito nas características organolépticas da carne, carnes embaladas sob vácuo apresentam um tempo de vida de 3 a 4 semanas a 0°C.

Para além do CO₂, vácuo e O₂ residual existem outros factores que explicam o desenvolvimento bacteriano em carne (Labadie, 1999).

Outras bactérias apresentam em condições de vácuo desenvolvimento bacteriano geralmente limitado ou mesmo muito baixo (Dainty e Mackey, 1992). Para os que não constituem uma parte importante da microflora, mas que são frequentes ou sistematicamente presentes a baixos níveis, o carácter psicotrófico é certamente o factor principal (Rosset, 1996). Isto é particularmente evidente para *Enterobacteriaceae*, ou seja, as espécies que crescem sob condições de AM e carnes embaladas sob vácuo (*Serratia liquefaciens*, *Hafnia* spp.), são sempre capazes de crescer a temperaturas entre 0° e 10°C. O facto desta família não constituir a flora dominante é devida ao fraco metabolismo nestas condições, que indica não estar especificamente adaptadas à carne. Uma vez que esta população microbiana pode ser mais facilmente isolada de outros produtos alimentares refrigerados (Blixt e Borch, 1996), a carne não constitui um nicho ecológico específico (Labadie, 1999).

A maioria das bactérias que se desenvolvem como microflora dominante, em vácuo ou AM com gás, são espécies apenas isoladas de carnes. À parte de *Brochothrix thermosphacta*, que cresce em aerobiose e em AM, várias BAL estão apenas presentes em produtos cárneos (Labadie, 1999). Blixt e Borch (2002) em estudos realizados em carne de bovino e de suíno embalada sob vácuo e armazenada a 4°C durante 8 semanas observaram que as BAL foram as bactérias predominantes.

Foegeding *et al.* (1983) ao avaliarem a contaminação inicial e o desenvolvimento dos microrganismos aeróbios totais, *Pseudomonas* spp., BAL e *Brochothrix thermosphacta* durante 35 dias de armazenamento a 1°C, de carne embalada a vácuo proveniente de carcaças de bovino com 2 e 6 dias *pm* no dia de embalagem, verificaram a existência de diferenças significativas, sendo a carne com 6 dias *pm* a que apresentava maiores contagens de microrganismos aeróbios totais, não se observando o mesmo a partir do 7º dia de armazenamento. Pelo contrário, *Pseudomonas* spp. apresentou diferenças significativas do dia 0 ao dia 21, com teores superiores em carne embalada aos 6 dias *pm*, não se observando diferenças significativas entre carnes a partir do dia 28 de armazenamento. Em cada tipo de carne, os níveis de *Pseudomonas* spp. não apresentaram diferenças significativas ao longo do período de armazenamento com teores que não atingem os 4 log ufc/g em carne embalada aos 2 dias *pm* e os 5 log ufc/g em carne embalada aos 6 dias *pm* (Foegeding *et al.*, 1983).

Carne de bovino que foi armazenada durante 5 semanas a 2°C em 100% N₂ e vácuo e recondicionada em película permeável ao O₂, apresentou inicialmente contagens elevadas de *Pseudomonas* e *Brochothrix*

thermosphacta, mas as contagens aumentaram muito pouco após exposição. Esta redução do crescimento pode ser causada pela competição pelas BAL (Gill e Jones, 1994; Nissen *et al.*, 1996).

O padrão de deterioração da carne de cordeiro embalada a vácuo armazenada a 5°C, obtida por Sheridan *et al.* (1997) foi atribuído a elevado crescimento de BAL, *Brochothrix thermosphacta*, *Pseudomonas* e *Enterobacteriaceae*. Um padrão idêntico foi observado para este produto armazenado a 7°C, excepto a detecção de BAL (Patterson e Gibbs, 1978). Gill, em 1984, obteve em carne de cordeiro armazenada em vácuo, um desenvolvimento elevado de BAL e *Enterobacteriaceae*, e em alguns casos, de *Brochothrix thermosphacta*. Outros estudos demonstram existir 2 padrões, dos quais, um consiste no desenvolvimento elevado de BAL, *Brochothrix thermosphacta* e *Pseudomonas* (Patterson e Gibbs, 1978) e outro alternativo consistindo no crescimento elevado de apenas *Brochothrix thermosphacta* (Shaw *et al.*, 1980, citado por Sheridan *et al.*, 1997).

Três padrões microbianos deteriorativos foram observados em carne de bovino embalada a vácuo. Um padrão foi observado dentro de duas variações de temperatura consistiu no crescimento elevado de BAL e crescimento baixo de outros microrganismos (Pierson *et al.*, 1970; Erichsen e Molin, 1981; Taylor *et al.*, 1990). Os restantes padrões foram registados em carne armazenada a 0-2°C. Aplicando o critério já referido, os dados de Sutherland *et al.* (1975b) podem ser interpretados como crescimento elevado de BAL, *Brochothrix thermosphacta* e *Pseudomonas*, enquanto os resultados de Rousset e Renerre (1991) foram registados como crescimento elevado de BAL e *Enterobacteriaceae*.

No nosso trabalho experimental, e tendo em consideração os padrões de crescimento referenciados por distintos autores, tal como Sutherland *et al.* (1975b), verificou-se um desenvolvimento elevado de *Brochothrix thermosphacta*, BAL e *Pseudomonas* spp..

Em carne de porco embalada a vácuo armazenada a 3°C, a deterioração foi atribuída a elevado crescimento de BAL e *Brochothrix thermosphacta* (Gill e Harrison, 1989). A -1,5-1°C, o padrão de crescimento foi devido ao elevado desenvolvimento de apenas BAL (Gill e Harrison, 1989) ou uma combinação de crescimento de BAL e *Enterobacteriaceae* (Taylor *et al.*, 1990; Sheridan *et al.*, 1997).

Em **atmosferas modificadas com gás**, podemos observar que *Enterobacteriaceae* continuam a ser em quaisquer atmosferas as bactérias que apresentaram o crescimento mais reduzido nunca chegando a atingir 2 log ufc/g. Do mesmo modo, durante o tempo de armazenamento podemos observar que os mesófilos e psicrotróficos apresentaram as contagens superiores. As contagens iniciam-se no t_1 com mesófilos e psicrotróficos entre 2-3 log ufc/g, BAL, *Pseudomonas* spp. e fungos entre 2 e 0,5 log ufc/g e *Brochothrix thermosphacta* e *Enterobacteriaceae* <0,5 log ufc/g.

Em AM_{70/20} as BAL nas carnes DFDmod e DFD parecem entrar em fase estacionária mais precocemente (t_{14}) que as restantes bactérias. No t_{21} os mesófilos apresentam contagens superiores (>7 log ufc/g) na carne DFD e *Brochothrix thermosphacta* apresenta os teores superiores (>7 log ufc/g) em carne DFDmod. As BT apresentam contagens iniciais muito baixas ou mesmo ausentes, no entanto atingem a fase *log* rapidamente, chegando mesmo a alcançar os mesófilos e psicrotróficos a partir do t_{14} na carne DFDmod.

Durante o período de armazenamento em AM_{50/40} podemos observar que os mesófilos e psicrotróficos constituem a microflora predominante. Como nos restantes tipos de embalagem, *Enterobacteriaceae* continuam a ser em AM_{50/40} as bactérias mais fastidiosas, atingindo um valor superior a 1 log ufc/g apenas

nas carnes DFD e a partir do t_{14} . *Brochothrix thermosphacta* apresentam contagens iniciais muito baixas ou mesmo ausentes, no entanto atingem a fase *log* rapidamente, chegando mesmo a alcançar os mesófilos e psicrotróficos a partir do t_{14} nas carnes DFDmod e DFD. As embalagens em AM_{50/40} e em AM_{30/60} revelaram ser os tipos de embalagem que menos favoreceram o desenvolvimento bacteriano. No entanto, a AM_{30/60} é sem dúvida o melhor tipo de embalagem para inibir o crescimento de *Pseudomonas* spp..

Neste trabalho, o efeito inibidor do CO₂ parece afectar principalmente *Pseudomonas* spp., *Enterobacteriaceae* e os fungos, aumentando a fase *lag* e o tempo de geração na primeira e evitando o crescimento das restantes. O efeito inibidor atribuído ao CO₂ (Tan e Gill, 1982; Dixon e Kell, 1989) pode demonstrar-se por um alargamento da fase de latência da curva de crescimento microbiano. A acção do CO₂ incide principalmente sobre as bactérias Gram negativas *Pseudomonas* spp. e *Enterobacteriaceae*. Um pH mais elevado favorece o desenvolvimento de *Enterobacteriaceae* (Blickstad e Molin, 1983; Dainty e Mackey, 1992).

Exceptuando a AM contendo apenas CO₂ puro, que permite, com a adição de absorvedores de O₂, períodos de conservação tão longos quanto 28 dias a 2°C (Renner, 1986; Venturini, 2003), a AM contendo 2 (O₂, CO₂) ou 3 gases (O₂, CO₂ e N₂) permitem a conservação que é consideravelmente mais reduzida (Labadie, 1999). Assim sendo, segundo Christopher *et al.* (1980) uma mistura de 66% de O₂, 25% de CO₂ e 9% de N₂ permite um período máximo de conservação de 2 semanas a +2°C. Isto ocorre devido a um baixo efeito inibitório do CO₂ sobre BT e sobre o crescimento de *Pseudomonas* spp. ou *Psychrobacter* spp., que utilizam o O₂ para crescerem, o qual se encontra sempre presente nas embalagens. De acordo com Saucier *et al.* (2000), as BAL prevalecem num ambiente anaeróbio devido à sua maior tolerância ao CO₂ do que *Pseudomonas* ou *Enterobacteriaceae*.

Neste trabalho, em carne Normal em AM_{30/60} atingiram-se níveis de Mesófilos, Psicrotróficos e *Brochothrix thermosphacta* inferiores comparativamente aos observados em carnes DFDmod e DFD.

Jeremiah *et al.* (1995), ao avaliarem a influência da qualidade do músculo no tempo de armazenamento de carne de porco a -1,5°C verificaram que esta afectou significativamente os teores de psicrotróficos e de BAL.

No estudo de Sheridan *et al.* (1997), o padrão deteriorativo de carne de cordeiro embalado em AM contendo 80% O₂/ 20% CO₂ a 0°C foi devido ao elevado crescimento de BAL, *Brochothrix thermosphacta*, *Pseudomonas* spp. e *Enterobacteriaceae*, o que é distinto do padrão obtido por Newton *et al.* (1977) quando a deterioração de costeletas de cordeiro armazenadas a -1°C foram inteiramente atribuídas ao elevado crescimento de *Brochothrix thermosphacta*. Sheridan *et al.* (1997) referem que os resultados demonstraram um desenvolvimento elevado de BAL e um desenvolvimento baixo de *Pseudomonas* spp. e *Brochothrix thermosphacta* em 100% CO₂ a 5°C. Este facto foi demonstrado por Sørheim *et al.* (1996) e Nissen *et al.* (1996), em carne de porco e de bovino, respectivamente. Um padrão similar ocorreu a 0°C, mas apenas quando o período de armazenamento se estendeu de 28 a 42 dias (Sheridan *et al.*, 1997).

Em carne de porco embalado em AM com 100% CO₂ a 3-4°C foram encontrados 3 padrões de desenvolvimento bacteriano. Num estudo, elevado crescimento de BAL e baixo crescimento de outros microrganismos foi notado (Enfors *et al.*, 1979). O 2º padrão foi obtido por Gill e Harrison (1989) e demonstrou desenvolvimento elevado de BAL e *Brochothrix thermosphacta*. O 3º padrão consistiu no

crescimento elevado de BAL e *Enterobacteriaceae* (Blickstad *et al.*, 1981; Blickstad e Molin, 1983; Grant e Patterson, 1991).

O resultado de pesquisas envolvendo o armazenamento de carne em atmosferas com elevada concentração de CO₂ a -1,5-2°C, indicaram um elevado desenvolvimento de apenas BAL, no caso de carne de bovino (Rousset e Renner, 1991) e de porco (Blickstad e Molin, 1983; Gill e Harrison, 1989).

Nychas *et al.* (2007) e Koutsoumanis *et al.* (2007) referem o padrão deteriorativo que predomina em carnes frescas armazenada 0-4°C sob diferentes condições de embalagem, considerando que em atmosferas com percentagens inferiores a 50% de CO₂ na presença de O₂, predominam *B. thermosphacta* e BAL; quando a condição de atmosfera contém 50% de CO₂, predominam *Enterobacteriaceae* e BAL e quando as percentagens de CO₂ são superiores a 50% na presença de O₂, predominam *B. thermosphacta*.

III.3.2. Parâmetros físico-químicos

III.3.2.1. pH

Os valores médios para o pH nas amostras de carne para os três grupos de pH_f e para os vários tipos de embalagem, nos distintos tempos (dias *pm*) de armazenamento, são apresentados no Quadro 12. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os efeitos grupo de pH_f e tipo de embalagem, bem como da interação (grupo de pH_f x tipo de embalagem). Os parâmetros de análise de variância são apresentados no quadro em anexo (A.II.8).

Quadro 12- Médias (\pm desvio padrão) para o pH, de acordo com o grupo de pH_f e o tipo de embalagem, no t₁ e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
pH_f									
Normal	5,56 \pm 0,04 _a	5,54 \pm 0,14 ^a	5,75 \pm 0,23 ^a	5,54 \pm 0,10 ^a	5,62 \pm 0,08 ^a	5,71 \pm 0,12 ^a	5,62 \pm 0,10 ^a	5,55 \pm 0,07 ^a	5,64 \pm 0,03 ^a
DFDmod	5,96 \pm 0,09 ^b	6,07 \pm 0,24 ^b	5,95 \pm 0,07 ^a	6,10 \pm 0,24 ^b	6,14 \pm 0,22 ^b	6,13 \pm 0,27 ^b	6,11 \pm 0,21 ^b	5,98 \pm 0,24 ^b	5,93 \pm 0,14 ^b
DFD	6,46 \pm 0,23 ^c	6,55 \pm 0,27 ^c	6,54 \pm 0,52 ^b	6,56 \pm 0,26 ^c	6,59 \pm 0,30 ^c	6,67 \pm 0,28 ^c	6,67 \pm 0,24 ^c	6,56 \pm 0,19 ^c	6,48 \pm 0,10 ^c
Sig	***	***	**	***	***	***	***	***	***
Embalagem									
Aerobiose	5,99 \pm 0,40 [▲]	6,01 \pm 0,49	6,08 \pm 0,46	6,07 \pm 0,48	6,24 \pm 0,53	6,43 \pm 0,51 ^b	-	-	-
Vácuo	«	6,09 \pm 0,49	-	6,06 \pm 0,48	6,05 \pm 0,44	6,08 \pm 0,36 ^a	6,01 \pm 0,41 ^a	6,02 \pm 0,44	6,02 \pm 0,37
AM _{70/20}	«	5,98 \pm 0,47	-	6,01 \pm 0,50	6,06 \pm 0,43	6,10 \pm 0,42 ^a	6,21 \pm 0,49 ^b	-	-
AM _{50/40}	«	6,10 \pm 0,48	-	6,11 \pm 0,45	6,13 \pm 0,43	6,13 \pm 0,46 ^a	6,19 \pm 0,48 ^b	-	-
AM _{30/60}	«	6,08 \pm 0,46	-	6,09 \pm 0,48	6,09 \pm 0,45	6,11 \pm 0,47 ^a	6,14 \pm 0,50 ^{ab}	6,04 \pm 0,49	-
Sig	-	ns	-	ns	ns	***	**	ns	-
pH_f x Emb									
Sig	-	ns	-	ns	ns	ns	ns	ns	-

Para o efeito embalagem, na mesma coluna, médias que não possuem letras iguais diferem significativamente ($p < 0,05$).

ns-não significativo ($p \geq 0,05$); *-significativo ($p < 0,05$); ***-altamente significativo ($p < 0,001$).

▲antes da embalagem.

A Figura 9 ilustra a evolução dos valores do pH nos três grupos de pH_f, para cada tipo de embalagem, ao longo do período de armazenamento (dias *pm*). Os valores integrais que suportam estes gráficos são apresentados no Quadro A.III.8 em anexo.

Os valores médios obtidos para o pH_f (avaliado no dia 1 *pm*) foram de 5,56 \pm 0,04; 5,96 \pm 0,09 e 6,46 \pm 0,23, para os grupos Normal, DFDmod e DFD, respectivamente. Pela Figura 9 observa-se que os valores mantêm-se, de uma forma geral, constantes ao longo do período de armazenamento exceptuando na embalagem em aerobiose, para os três grupos de pH_f, na AM_{70/20}, para os grupos DFD e DFDmod, e na

AM_{50/40}, para o grupo DFD. Em aerobiose, embalagem em que o incremento do pH foi mais notório, no t₁₄ alcançaram-se valores de 5,87±0,15, 6,43±0,18 e 6,99±0,27, correspondendo a aumentos médios relativamente ao t₁ de 0,31, 0,47 e 0,53 unidades de pH, para os grupos Normal, DFDmod e DFD, respectivamente. Este aumento de pH, mais evidente em carne que já exibia características de deteriorada, poder-se-á dever à actividade catabólica da microflora sobre a fracção azotada da carne (Dainty *et al.*, 1975). Nas outras embalagens, em que foi observado um aumento ao longo do tempo, os aumentos foram mais modestos. Estes resultados sugerem uma relação positiva entre a concentração de O₂ da embalagem e do pH_f no aumento do pH ao longo do período de armazenamento da carne.

Vários autores (Clark e Lentz, 1973; Daniels *et al.*, 1985 e McMullen e Styles, 1991) referem uma diminuição do pH da carne em embalagem rica em CO₂, ao longo do armazenamento, como resultante da dissolução deste gás na carne. Mais recentemente Venturini (2003) refere uma descida significativa do pH de carne bovina com pH_f normal, em embalagem com 100% de CO₂ e com absorvedores de O₂. No presente trabalho, não foi observado uma diminuição do pH na embalagem com mais CO₂ (AM_{30/60}), possivelmente devido ao facto da concentração de CO₂ presente não ser suficiente para que esse efeito se fizesse sentir, no entanto este gás pode ter contribuído para o não aumento do pH nesta embalagem. Outros autores (Doherty *et al.* 1995; López-Gálvez, 1995 e Sheridan *et al.*, 1995), referem a constância dos valores de pH, ao longo do armazenamento, de carne embalada com CO₂, possivelmente porque o poder tampão do músculo contraria o efeito da dissolução do CO₂ na descida do pH.

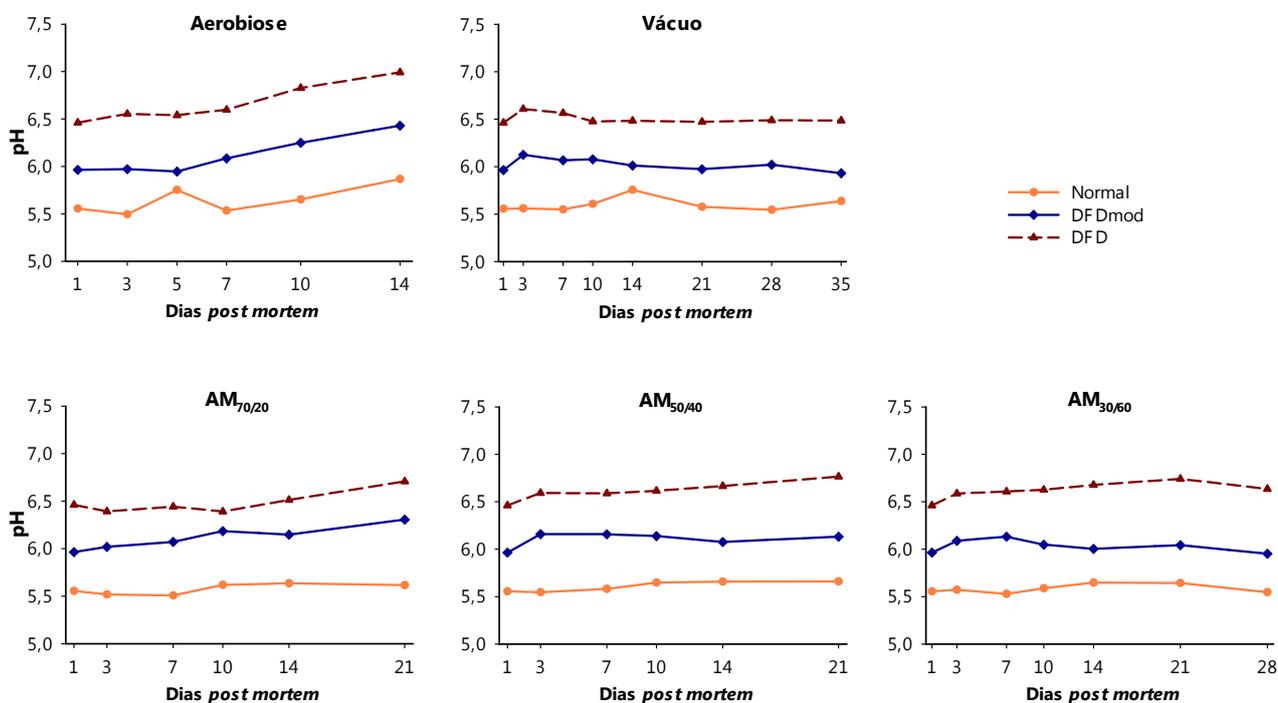


Figura 9- Evolução do pH ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40} e AM_{30/60}), de acordo com o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD).

Efeito do grupo de pH_f

Pela análise do Quadro 12 pode verificar-se que o grupo de pH_f teve um efeito altamente significativo em todos os tempos ($p < 0,001$), como seria de prever, exceptuando no t_5 ($p < 0,01$). Neste tempo o grupo Normal ainda que apresente valores médios inferiores, não se distinguiu significativamente ($p \geq 0,05$) do grupo DFDmod. Este comportamento é devido ao facto de uma das amostras de carne Normal ter apresentado neste tempo um valor anormalmente elevado (6,23).

Efeito do tipo de embalagem

A análise de variância revelou que o tipo de embalagem não influenciou de forma significativa ($p \geq 0,05$) o pH na maioria dos tempos em estudo, quando consideramos os 3 grupos de pH_f em conjunto. Contudo, no t_{14} e t_{21} foi observado um efeito significativo do tipo de embalagem (t_{14} $p < 0,001$ e t_{21} $p < 0,01$). Constata-se que no t_{14} o valor de pH em aerobiose é significativamente superior ao das outras embalagens, que não se distinguiram entre si. Tal facto deve-se ao aumento notório do pH, verificado ao longo do período de armazenamento, observado nesta embalagem e anteriormente referido. No t_{21} a carne embalada sob vácuo apresenta valores de pH significativamente menores que a AM_{70/20} e a AM_{50/40}, estando igualmente relacionado com os aumentos do valor de pH observados nessas embalagens como já mencionado.

III.3.2.2. ABVT

Os valores médios do ABVT nas amostras de carne para os três grupos de pH_f e nos vários tipos de embalagem, nos distintos tempos (dias *pm*) de armazenamento, são mostrados no Quadro 13. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os efeitos do grupo de pH_f e do tipo de embalagem, bem como da interacção (grupo de pH_f x tipo de embalagem). Os parâmetros de análise de variância são apresentados no Quadro A.II.9.

A Figura 10 ilustra a evolução dos valores do ABVT nos três grupos de pH_f, para cada tipo de embalagem, ao longo do período de armazenamento (dias *pm*). Os valores integrais que suportam estes gráficos são apresentados no Quadro A.III.9 do anexo.

Pela análise da Figura 10, verifica-se que os valores do ABVT aumentam ao longo do tempo de armazenamento de uma forma muito ligeira, nos três grupos de pH_f e em todas as embalagens, exceptuando-se em aerobiose. Nesta embalagem observa-se um aumento acentuado dos valores de ABVT no grupo DFD, de tal forma que, os valores médios quadruplicam do t_1 ($11,84 \pm 0,97$) para o t_{14} ($45,67 \pm 12,63$), ainda que com um elevado desvio padrão verificado neste último tempo. Este aumento acentuado é coerente com o observado na evolução do pH da carne DFD, que foi mais acentuado que na carne dos outros grupos de qualidade. Na carne embalada em AM_{30/60} foi observado um aumento do t_{21} para o t_{28} no grupo DFD, mas consideravelmente menor que o anteriormente referido, alcançando neste último tempo um valor médio de 26,99 mg/100g de carne. Mathews (1990) propõe o valor de 16,5 mg de NH₃/100g de carne de bovino como limite de aceitabilidade e Fraqueza *et al.* (2008) propõe como limite para carne de peru o valor de 14 de NH₃/100g de carne.

Quadro 13- Médias (\pm desvio padrão) para o ABVT (mg $\text{NH}_3/100\text{g}$), de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem, no t_1 e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
pH_f									
Normal	11,23 \pm 1,48 ^b	10,67 \pm 1,35	10,70 \pm 1,89	14,64 \pm 2,13 ^b	16,08 \pm 3,09 ^b	15,64 \pm 2,04 ^a	16,76 \pm 2,67 ^{ab}	16,76 \pm 2,82 ^a	19,18 \pm 2,22
DFDmod	7,26 \pm 1,33 ^a	11,20 \pm 2,55	10,65 \pm 2,40	12,35 \pm 2,29 ^a	12,85 \pm 2,08 ^a	15,50 \pm 3,79 ^a	14,97 \pm 3,09 ^a	16,82 \pm 3,03 ^a	17,68 \pm 2,88
DFD	11,84 \pm 0,97 ^b	11,47 \pm 2,151	12,39 \pm 1,61	15,43 \pm 2,87 ^b	17,28 \pm 6,84 ^b	21,96 \pm 13,34 ^b	18,06 \pm 2,63 ^b	24,58 \pm 8,11 ^b	20,9 \pm 0,35
Sig	***	ns	*	***	***	***	**	**	ns
Embalagem									
Aerobiose	10,11 \pm 2,41 [▲]	11,31 \pm 2,01	11,58 \pm 2,29	15,08 \pm 4,12	20,36 \pm 7,96 ^b	28,12 \pm 14,81 ^b	-	-	-
Vácuo	«	11,06 \pm 2,06	-	14,36 \pm 2,31	13,96 \pm 2,23 ^a	14,90 \pm 1,85 ^a	17,07 \pm 3,36	18,79 \pm 4,14	19,27 \pm 2,42
AM _{70/20}	«	10,75 \pm 1,92	-	13,98 \pm 1,71	14,24 \pm 2,58 ^a	15,58 \pm 1,39 ^a	16,28 \pm 2,72	-	-
AM _{50/40}	«	11,62 \pm 2,13	-	13,10 \pm 2,45	14,17 \pm 2,92 ^a	15,21 \pm 2,58 ^a	16,36 \pm 2,81	-	-
AM _{30/60}	«	10,83 \pm 2,38	-	14,18 \pm 2,54	14,29 \pm 2,44 ^a	14,70 \pm 2,72 ^a	16,68 \pm 3,43	19,98 \pm 8,02	-
Sig	-	ns	-	ns	***	***	ns	ns	-
pH_f x Emb									
Sig	-	ns	-	*	***	***	ns	ns	-

Para cada efeito, na mesma coluna, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente ($p < 0,05$).

ns-não significativo ($p \geq 0,05$); *-significativo ($p < 0,05$); ***-altamente significativo ($p < 0,001$).

▲antes da embalagem.

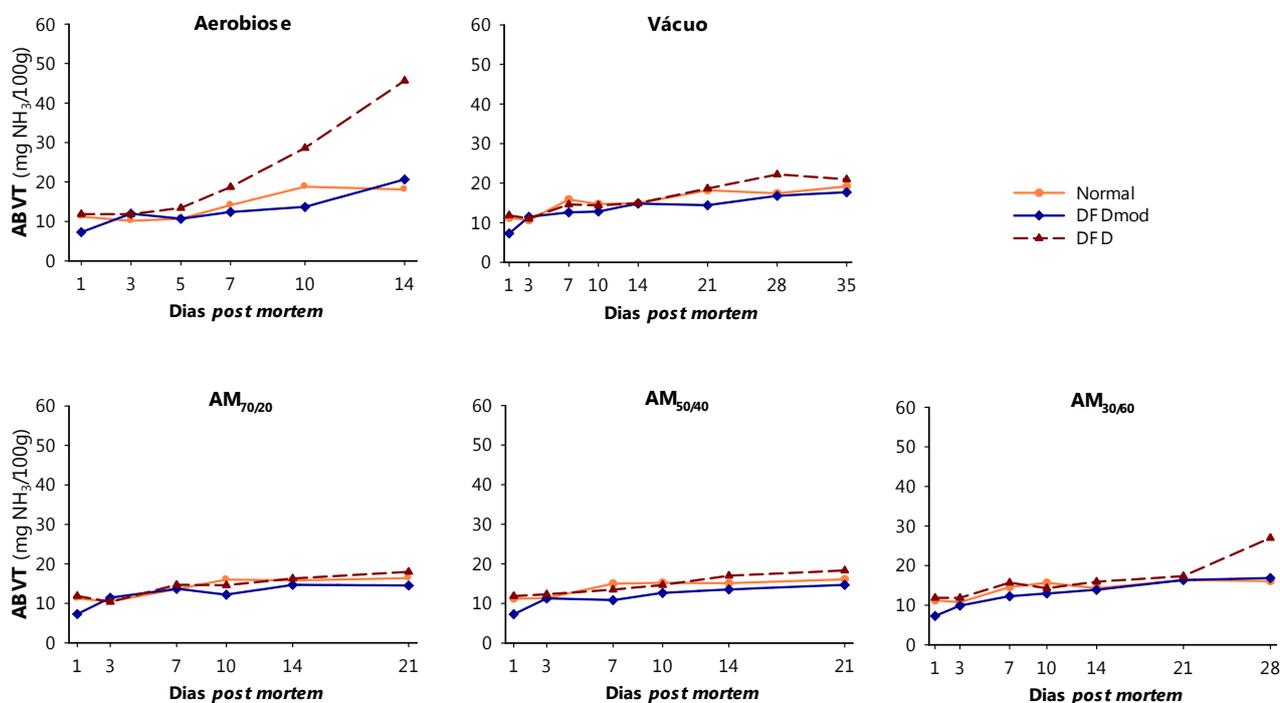


Figura 10- Evolução do ABVT ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40} e AM_{30/60}), de acordo com o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD).

Efeito do grupo de pH_f

Verificou-se que o grupo de pH_f teve um efeito significativo em vários dos tempos *pm*. No t₁, t₇ e t₁₀ as diferenças foram altamente significativas (p≥0,001) devido ao facto de a carne DFDmod apresentar um valor inferior ao dos outros dois grupos. Nos t₁₄ a t₂₈ os grupos Normal e DFD apresenta valores significativamente inferiores aos do grupo DFD, surgindo assim, ao longo do tempo de armazenamento, como o grupo a apresentar os maiores valores de ABVT. Esta relação entre o pH e o ABVT está patente na significância do coeficiente de correlação obtido, ainda que o coeficiente seja modesto (0,25; p<0,001, anexo A.IV).

O ABVT revelou estar correlacionado de forma significativa (p<0,001) com vários dos parâmetros estudados (anexo A.IV), positivamente com a contagem de microrganismos e cheiro a deteriorado (0,50) e negativamente com apreciação global avaliada pelo painel (-0,52).

Os limites propostos por Mathews (1990) foram em média ultrapassados neste trabalho em carne DFD no t₁₀, em carne Normal no t₂₁ e em carne DFDmod no t₂₈, para o conjunto das diferentes condições de embalagem nos tempos ensaiados.

Efeito do tipo de embalagem

Em todos os tempos analisados apenas no t₁₀ e t₁₄ foi observado um efeito significativo (p<0,001) do tipo de embalagem (Quadro 13). Em ambos os tempos constata-se que a carne embalada em aerobiose apresenta os valores mais elevados de ABVT, distinguindo-se de forma significativa de todas as outras embalagens. Entre a embalagem sob vácuo e as AMs não foram observadas diferenças significativas (p≥0,05). O limite proposto por Mathews (1990) foi ultrapassado neste trabalho em carne embalada em aerobiose a partir do t₁₀ e de carne embalada em vácuo e em AM_{30/60} a partir do t₂₁, para o conjunto dos três grupos de pH_f.

Interação grupo de pH_f e tipo de embalagem

Observou-se um efeito significativo da interação pH_f e tipo de embalagem para o ABVT em três dos tempos: t₇, t₁₀ e t₁₄ no Quadro 13 e ilustrados na Figura 11.

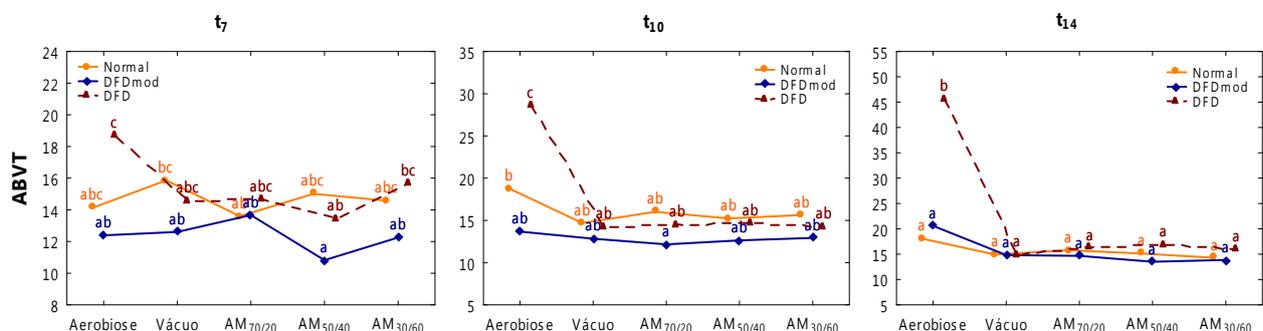


Figura 11- Interação grupo de pH_f e tipo de embalagem para o ABVT no t₇, t₁₀ e t₁₄ (médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; p<0,05).

É de realçar, em particular, os dias t_{10} e t_{14} nos quais o efeito da interacção foi altamente significativo, devido ao facto da carne DFD se distinguir dos outros dois grupos, por apresentar valores de ABVT superiores, na carne embalada em aerobiose, não se diferenciando nas restantes embalagens (Figura 11).

III.3.2.3. Coordenadas de cor $L^*a^*b^*$

III.3.2.3.1. Parâmetro L^* (L_0^* , L_{60}^* e ΔL^*)

Os valores médios obtidos para o parâmetro L_0^* para os três grupos de pH_f e para os vários tipos de embalagem, ao longo do armazenamento (dias pm), são mostrados no Quadro 14. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os efeitos do grupo de pH_f e do tipo de embalagem, bem como da interacção (grupo de pH_f x tipo de embalagem). Os valores da análise de variância são apresentados no Quadro A.II.10, em anexo.

Quadro 14- Médias (\pm desvio padrão) para o parâmetro L_0^* , de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem, no t_1 e ao longo do tempo (dias pm) de armazenamento.

	Tempo (dias pm)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
pH_f									
Normal	36,42 \pm 0,99 ^b	40,23 \pm 1,97 ^b	41,15 \pm 1,22 ^b	40,61 \pm 1,56 ^c	41,03 \pm 1,74 ^c	41,54 \pm 1,76 ^c	42,30 \pm 2,27 ^c	43,04 \pm 3,91 ^c	39,79 \pm 0,74 ^c
DFDmod	34,38 \pm 2,99 ^{ab}	39,31 \pm 2,63 ^b	38,80 \pm 1,49 ^b	38,86 \pm 2,78 ^b	38,21 \pm 2,74 ^b	38,35 \pm 2,45 ^b	38,78 \pm 2,59 ^b	38,73 \pm 3,50 ^b	36,39 \pm 2,23 ^b
DFD	32,87 \pm 2,30 ^a	36,80 \pm 3,06 ^a	35,96 \pm 2,36 ^a	36,34 \pm 2,64 ^a	36,19 \pm 2,91 ^a	36,15 \pm 2,79 ^a	36,67 \pm 2,96 ^a	36,60 \pm 3,02 ^a	33,84 \pm 1,15 ^a
Sig	*	***	***	***	***	***	***	***	***
Embalagem									
Aerobiose	34,55 \pm 2,59 [▲]	38,69 \pm 3,07 ^b	38,64 \pm 2,74	38,40 \pm 2,77 ^b	37,53 \pm 3,36 ^a	37,79 \pm 3,54 ^{ab}	-	-	-
Vácuo	«	35,50 \pm 2,92 ^a	-	35,86 \pm 3,13 ^a	36,02 \pm 3,40 ^a	36,51 \pm 3,23 ^a	36,37 \pm 3,26 ^a	36,74 \pm 3,01	36,68 \pm 2,88
AM _{70/20}	«	40,07 \pm 1,99 ^b	-	39,81 \pm 2,57 ^b	39,69 \pm 2,60 ^b	39,50 \pm 2,55 ^{bc}	39,90 \pm 3,14 ^b	-	-
AM _{50/40}	«	39,80 \pm 2,11 ^b	-	39,42 \pm 2,10 ^b	39,51 \pm 2,45 ^b	39,53 \pm 2,63 ^{bc}	40,06 \pm 2,70 ^b	-	-
AM _{30/60}	«	39,84 \pm 1,93 ^b	-	39,51 \pm 2,42 ^b	39,64 \pm 2,50 ^b	40,09 \pm 3,00 ^c	40,67 \pm 3,31 ^b	42,17 \pm 3,76	-
Sig	-	***	-	***	***	***	***	***	-
pH_f x Emb									
Sig	-	ns	-	ns	ns	ns	ns	ns	-

Para cada efeito, na mesma coluna, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente ($p < 0,05$).

ns-não significativo ($p \geq 0,05$); *-significativo ($p < 0,05$); ***-altamente significativo ($p < 0,001$).

▲antes da embalagem.

O aspecto visual da carne é um factor que influencia notavelmente as decisões de compra e consumo por parte do consumidor de carne com qualidade (Faustman e Cassens, 1990). A cor da carne não só influencia a eleição e aceitação por parte do consumidor, como reflecte também as suas expectativas de qualidade (Bredahl *et al.*, 1998).

A Figura 12 ilustra a evolução dos valores de L_0^* nos três grupos de pH_f , para cada tipo de embalagem, ao longo do período de armazenamento (dias *pm*). Os valores integrais que suportam estes gráficos são apresentados no Quadro A.III em anexo.

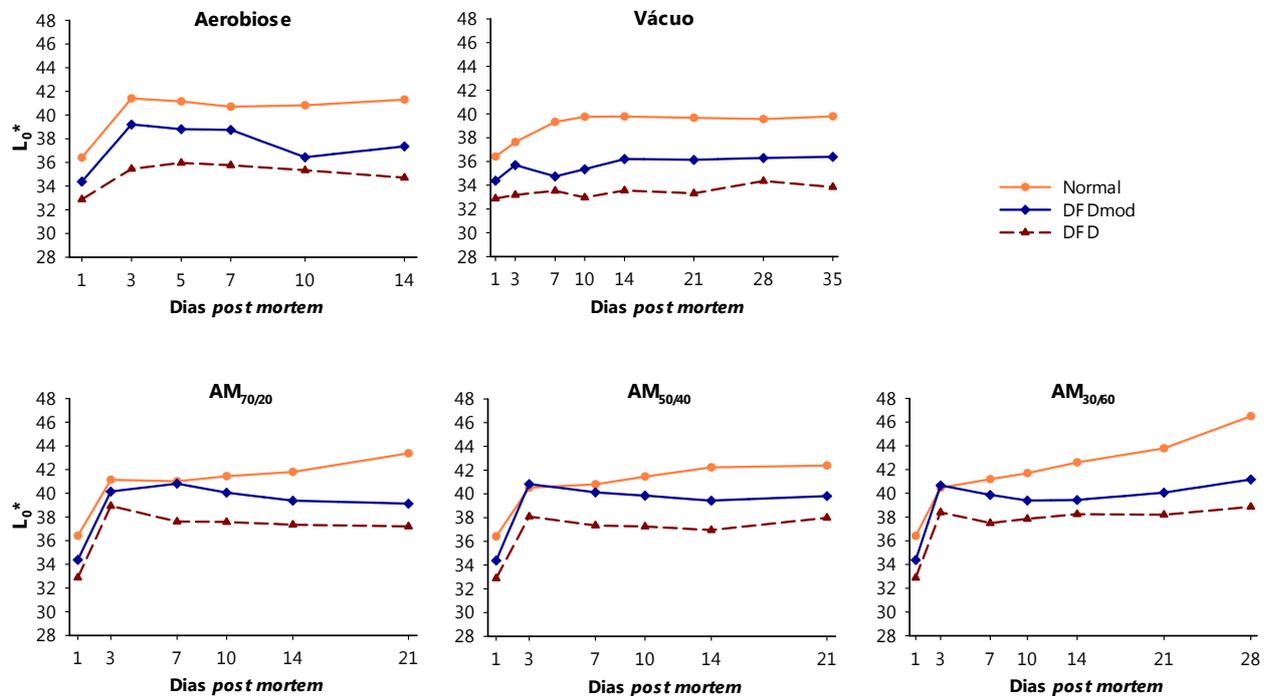


Figura 12- Evolução do parâmetro L_0^* ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40} e AM_{30/60}), de acordo com o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD).

Pela análise da Figura 12 podemos verificar que a carne Normal evidenciou, na globalidade, valores de L_0^* mais elevados do que os outros dois grupos de qualidade, com a carne DFD apresentou sempre valores inferiores. Do t_1 para o t_3 , é nítido o aumento deste parâmetro, sendo que a partir desse tempo, os valores se mantiveram sensivelmente os mesmos, exceptuando-se os casos de um acréscimo de quase 2 unidades observado do t_3 para o t_7 em carne Normal embalada sob vácuo e do ligeiro aumento observado a partir do t_7 em carnes embaladas em atmosferas modificadas. Outros autores (Zakrys e tal. (2008), referem um aumento do parâmetro L^* ao longo do armazenamento de carne bovina embalada em AMs com 50% e 80% de oxigénio. Em carne de bovino embalada sob vácuo e em AM com 100% de CO_2 foi referido o não aumento do L^* ao longo do armazenamento (Jeremiah e Gibson, 2001). O aumento mais exacerbado observado do t_1 para o t_3 poderá ser explicado por se tratar, no t_1 , de um corte fresco e a medição da cor ser realizada de imediato.

Este parâmetro correlacionou-se de forma particular com o pH (-0,57; $p < 0,001$), b_0^* (0,65; $p < 0,001$) e com a avaliação sensorial da cor (cor vermelho-escuro, púrpura e castanha). Com o parâmetro de cor a_0^* o coeficiente não foi significativo ($p \geq 0,05$).

A análise de variância revelou que o grupo de pH_f e o tipo de embalagem influenciaram significativamente o parâmetro L_0^* em todos os tempos em estudo, não se tendo verificado contudo uma interação significativa entre grupo de pH_f e tipo de embalagem.

Efeito do grupo de pH_f

Pela análise do Quadro 14 verificar-se que o grupo de pH_f teve um efeito sempre altamente significativo ($p < 0,001$) sobre o parâmetro L_0^* em todos os tempos de armazenamento, excepto no t_1 em que esse efeito foi apenas significativo ($p < 0,05$). A carne do grupo Normal distinguiu-se sempre da carne do grupo DFD, facto constatado pela existência de diferenças significativas, apresentando comparativamente valores de L_0^* sempre mais elevados, logo menos escura, como seria de esperar (Purchas, 1990; Wulf *et al.*, 2002). Estes dados são concordantes com os observados por Silva (1997), em amostras de carne da mesma raça bovina e no mesmo tipo de músculo, apresentando valores médios similares no t_1 (36,88 em carne normal, 34,18 em carne DFDmod e 32,35 em carne DFD), com existência de diferenças significativas ($p < 0,05$). Estudos comparativos com o mesmo autor, cujo trabalho distinto deste, consistiu na avaliação da qualidade da carne de bovino ao longo do processo de maturação, apenas poderão ser efectuados relativamente aos 7 e 14 dias *pm* e em carne embalada sob vácuo. De qualquer forma ao compararmos as médias individuais para as amostras embaladas em vácuo (Quadro A.III.10, em anexo), nos três grupos de qualidade da carne, verificámos que os dados foram concordantes nesses tempos, particularmente em carnes do grupo Normal e DFD, sendo segundo Silva (1997) os valores médios no t_{14} de 39,46 em carne normal e 33,25 em carne DFD. Em carne DFDmod os valores médios foram 34,73, enquanto os obtidos neste trabalho foram ligeiramente mais elevados com valores de 36,20 em média. Almeida (2008) num estudo de carne Mertolenga relata valores da ordem de 31,92 em carne DFD e de 38,08 em carne Normal. O autor refere também a existência de diferenças significativas ($p < 0,001$) para o efeito da qualidade intrínseca dos músculos, ainda que nesse trabalho as amostras de carne tenham sido agrupadas em apenas dois tipos (carne Normal com $pH_f < 6,0$ e carne DFD com $pH_f \geq 6,0$) e que também esta média represente os valores obtidos para três tipos de músculo, *longissimus dorsi*, *semitendinosus* e *supraspinatus*, ainda que refira que *longissimus dorsi* é o mais escuro (33,23), sendo este valor a média para os dois grupos de pH_f .

No t_{14} a diferença média entre os dois grupos Normal e DFD atingiu 5,39 unidades (41,54 e 36,15 para o grupo Normal e DFD respectivamente). No t_{35} , em carne embalada sob vácuo, os valores para carne Normal e DFD, foram de 39,79 e 33,84, respectivamente, com diferenças de 5,9 unidades.

O grupo DFDmod apresentou sempre valores em média intermédios aos outros dois grupos de pH_f , não evidenciando diferenças significativas relativamente aos outros dois grupos de pH_f no t_1 . Distinguiu-se, contudo, do grupo DFD a partir do t_3 e do grupo Normal a partir do t_7 .

Efeito do tipo de embalagem

Pela análise do Quadro 14 pode verificar-se que o tipo de embalagem exerceu um efeito sempre altamente significativo ($p < 0,001$) sobre o parâmetro L_0^* em todos os tempos. A carne embalada sob vácuo apresentou, em média, valores inferiores às restantes, diferindo da carne embalada em aerobiose

no t_3 e t_7 e de todas as AMs em todos os tempos. Estes valores inferiores em carne embalada sob vácuo correspondem ao esperado, uma vez que nesta condição predomina a mioglobina na forma reduzida conferindo à carne uma cor púrpura, logo mais escura (Renerre, 1990; Smulders *et al.*, 1991). A carne embalada em aerobiose, não apresenta diferenças significativas relativamente às AMs no t_3 e t_7 , mas distinguindo-se de todas no t_{10} e da AM_{30/60} no t_{14} .

As carnes embaladas em AMs são as que apresentam valores de L_0^* mais elevados em todos os tempos, devido provavelmente à maior disponibilidade de O_2 para a formação de oximioglobina, conferindo à carne uma cor mais brilhante.

Os valores médios para o parâmetro L_{60}^* nas amostras de carne para os três grupos de pH_f e para os vários tipos de embalagem, nos distintos tempos (dias *pm*) de armazenamento, são mostrados no Quadro 15. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os efeitos do grupo de pH_f e do tipo de embalagem, bem como da interação (grupo de pH_f x tipo de embalagem). Os parâmetros de análise de variância são apresentados no Quadro A.II.2.1.2 do anexo A.

Quadro 15- Médias (\pm desvio padrão) para o parâmetro L_{60}^* , de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem, no t_1 e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
pH_f									
Normal	38,43 \pm 1,09 ^b	40,00 \pm 2,25 ^b	41,17 \pm 1,31 ^b	40,73 \pm 1,36 ^c	40,84 \pm 1,68 ^c	41,40 \pm 1,44 ^c	42,38 \pm 1,94 ^c	43,36 \pm 3,10 ^b	40,88 \pm 1,26 ^c
DFDmod	35,35 \pm 2,86 ^{ab}	39,16 \pm 1,98 ^b	39,02 \pm 1,77 ^b	38,63 \pm 1,93 ^b	38,02 \pm 2,26 ^b	38,15 \pm 2,24 ^b	38,14 \pm 2,65 ^b	38,46 \pm 3,19 ^a	36,83 \pm 2,03 ^b
DFD	32,96 \pm 2,74 ^a	36,60 \pm 2,69 ^a	36,04 \pm 2,32 ^a	35,90 \pm 2,59 ^a	35,66 \pm 2,66 ^a	35,79 \pm 2,46 ^a	36,29 \pm 2,69 ^a	36,47 \pm 2,74 ^a	34,20 \pm 1,14 ^b
Sig	**	***	***	***	***	***	***	***	***
Embalagem									
Aerobiose	35,58 \pm 3,20 [▲]	38,76 \pm 3,08 ^b	38,74 \pm 2,78	38,29 \pm 2,79 ^{ab}	37,22 \pm 3,35 ^{ab}	37,84 \pm 3,41 ^{ab}	-	-	-
Vácuo	«	36,63 \pm 3,04 ^a	-	36,94 \pm 3,26 ^a	36,75 \pm 3,54 ^a	37,15 \pm 3,57 ^a	36,73 \pm 3,73 ^a	37,31 \pm 3,37	37,30 \pm 3,17
AM _{70/20}	«	39,34 \pm 2,26 ^b	-	39,19 \pm 2,84 ^b	38,99 \pm 2,77 ^b	38,90 \pm 2,52 ^{ab}	39,32 \pm 3,34 ^b	-	-
AM _{50/40}	«	39,00 \pm 2,31 ^b	-	38,76 \pm 2,34 ^b	38,87 \pm 2,56 ^b	38,86 \pm 2,71 ^{ab}	39,47 \pm 2,77 ^b	-	-
AM _{30/60}	«	39,21 \pm 2,07 ^b	-	38,90 \pm 2,52 ^b	39,03 \pm 2,49 ^b	39,50 \pm 2,93 ^b	40,22 \pm 3,43 ^b	41,55 \pm 3,82	-
Sig	-	***	-	**	**	**	***	***	-
pH_f x Emb									
Sig	-	ns	-	ns	ns	ns	ns	ns	-

Para cada efeito, na mesma coluna, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente ($p < 0,05$).

ns-não significativo ($p \geq 0,05$); **-muito significativo ($p < 0,01$); ***-altamente significativo ($p < 0,001$).

▲antes da embalagem.

A Figura 13 ilustra a evolução dos valores de L_{60}^* nos três grupos de pH_f , para cada tipo de embalagem, ao longo do período de armazenamento. Os valores integrais que suportam estes gráficos são apresentados no Quadro A.II.11 em anexo.

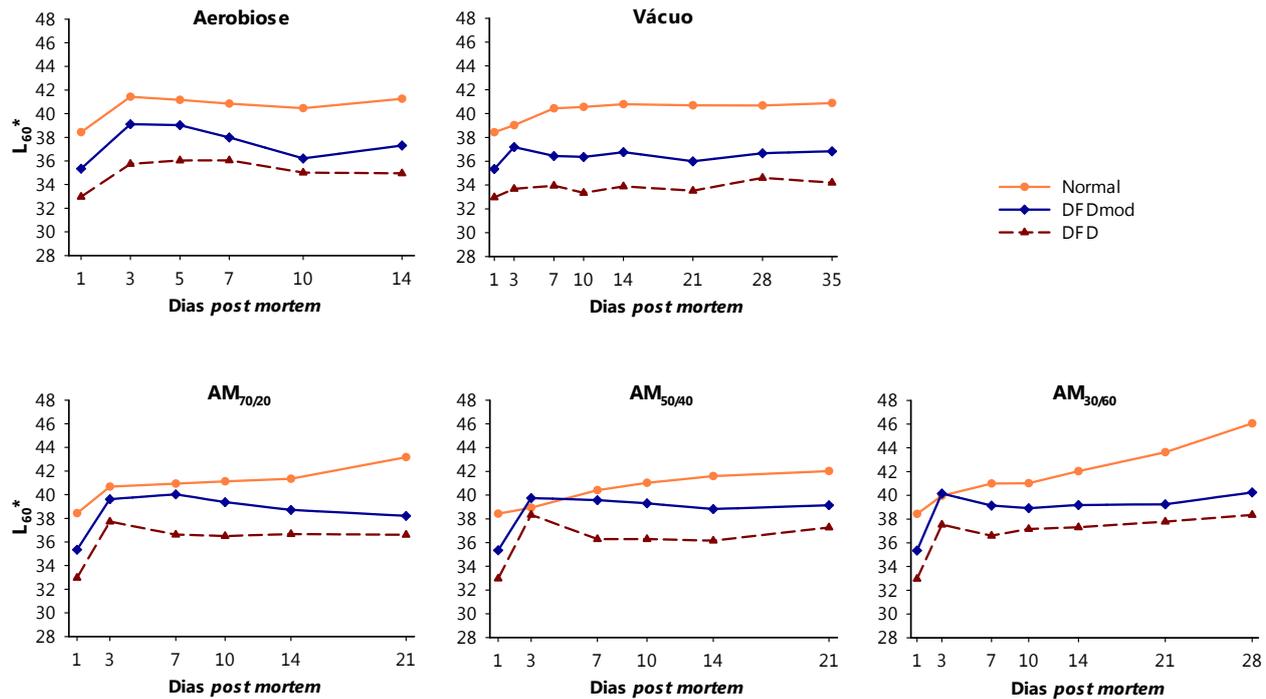


Figura 13- Evolução do parâmetro L_{60}^* ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40} e AM_{30/60}), de acordo o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD).

Pela análise da Figura 13 podemos verificar que a carne do grupo com pH_f Normal evidenciou valores de L_{60}^* mais elevados do que os outros dois grupos de qualidade, excepto no t_3 nas AM_{50/40} e AM_{30/60}, em que as amostras de carne do grupo DFDmod apresentam valores ligeiramente superiores a esta. Nos restantes tempos a carne do grupo DFDmod mostra-se sempre numa posição intermédia relativamente aos outros dois grupos de qualidade, sendo que a carne DFD apresentou sempre valores inferiores, tal como o observado para o parâmetro L_0^* . Do t_1 para o t_3 , é nítido o aumento deste parâmetro, principalmente em carne DFDmod e DFD. A partir desse tempo, os aumentos dos valores de L_{60}^* são mais expressivos para a carne Normal embalada nas AMs.

Estes resultados estão concordantes com os obtidos por outros autores em carne de bovino com pH_f normal (Insausti *et al.*, 1999). Estes autores, referem um aumento mais acentuado do parâmetro L^* , após uma hora de exposição ao ar, na carne embalada em AM com 60% O₂/ 20% CO₂ do que quando embalada sob vácuo.

Como anteriormente, este parâmetro correlacionou-se de forma particular com o pH (-0,66; $p < 0,001$), b_0^* (0,69; $p < 0,001$) e com a avaliação sensorial da cor (cor vermelho-escuro, púrpura e castanha). Com o parâmetro de cor a_{60}^* o coeficiente não foi significativo ($p \geq 0,05$).

A análise de variância revelou que o grupo de pH_f e o tipo de embalagem influenciaram significativamente o parâmetro L_{60}^* , não se tendo verificado contudo uma interacção significativa entre grupo de pH_f e tipo de embalagem.

Efeito do grupo de pH_f

Pela análise do Quadro 15 pode verificar-se que o grupo de pH_f teve um efeito sempre altamente significativo ($p < 0,001$) sobre o parâmetro L_{60}^* em todos os tempos de armazenamento, sendo que no t_1 esse efeito foi muito significativo ($p < 0,01$). A carne do grupo Normal distinguiu-se sempre da carne do grupo DFD, facto constatado pela existência de diferenças significativas, apresentando comparativamente valores de L_{60}^* sempre mais elevados, logo menos escura, como seria de esperar (Purchas, 1990; Wulf *et al.*, 2002). Estes dados são também concordantes com os observados por Silva (1997), em amostras de carne da mesma raça bovina e no mesmo tipo de músculo, apresentando valores médios similares no t_1 (38,47 em carne Normal, 35,21 em carne DFDmod e 33,74 em carne DFD). Abril *et al.* (2001) referem, igualmente, uma relação inversa entre o parâmetro L^* e o pH_f em carne de bovino, mesmo após a oxigenação da carne em película permeável ao O₂ durante 9 dias.

No t_{14} a diferença média entre os dois grupos Normal e DFD atingiu 5,59 unidades (41,40 e 35,79 para o grupo Normal e DFD respectivamente). O grupo DFDmod apresentou sempre valores em média intermédios aos outros dois grupos de pH_f, evidenciando diferenças significativas relativamente ao grupo DFD, excepto no t_1 e t_{28} . Relativamente à carne Normal, a carne DFDmod não revela diferenças significativas até ao t_7 , sendo que a partir desse tempo as diferenças são sempre altamente significativas. A presença de uma cor mais escura em carne com pH_f elevado pode dever-se essencialmente ao facto da formação de oximioglobina de cor vermelho-brilhante ser mais reduzida, devido ao consumo de oxigénio pelas mitocôndrias estar favorecido a pH_f elevado. Sendo assim, a camada vermelho brilhante de oximioglobina que se forma à superfície é reduzida, predominando a mioglobina de cor púrpura (Ashmore *et al.*, 1972). Ainda que a relação entre a actividade respiratória mitocondrial e o pH do musculo seja referida em vários estudos (Ashmore *et al.*, 1972; Bendall, 1972; Bendall e Taylor, 1972; Cornforth e Egbert, 1985), outros não encontraram uma relação entre a cor escura do músculo *longissimus dorsi* DFD (pH_f > 6,6) de bovino e a actividade respiratória mitocondrial (Gäsperlin *et al.*, 2000). Adicionalmente, a carne com pH_f elevado tem uma estrutura "fechada" com poucos espaços extracelulares e uma maior capacidade de retenção de água, permitindo, desta forma, uma maior absorção da luz incidente e uma menor dispersão da luz na superfície da carne (Renner, 1990; Cornforth, 1994; Warriss, 1996).

Efeito do tipo de embalagem

Pela análise do Quadro 15 pode verificar-se que o tipo de embalagem exerceu um efeito significativo ($p < 0,05$) sobre o parâmetro L_{60}^* nos tempos t_1 , t_{10} e t_{10} , muito significativo ($p < 0,01$) no tempo t_7 e altamente significativo ($p < 0,001$) no tempo t_{21} .

A carne embalada sob vácuo apresenta, em média, valores inferiores às restantes, tal como observado para o parâmetro L_0^* , mas não de forma tão pronunciada, pois já ocorreu o avermelhamento, o que tornou a carne menos púrpura, logo mais clara. Nesta condição, verificaram-se diferenças significativas relativamente à carne embalada em aerobiose no t_3 e relativamente à carne embalada em AMs em todos os casos, excepto para as AM_{70/20} e AM_{50/40} no t_{14} .

Em aerobiose constata-se que a carne nunca apresentou diferenças significativas relativamente às AMs, contrariamente ao observado para o parâmetro L_0^* , devido provavelmente à exposição ao ar durante 60 min, com esbatimento ligeiro da cor nestas amostras.

Apesar disso, as carnes embaladas em AMs são as que continuam a apresentar os valores de L_{60}^* mais elevados em todos os tempos.

Os valores médios para o parâmetro ΔL^* nas amostras de carne para os três grupos de pH_f e para os vários tipos de embalagem, nos distintos tempos (dias *pm*) de armazenamento, são mostrados no Quadro 16. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os efeitos do grupo de pH_f e do tipo de embalagem, bem como da interação (grupo de pH_f x tipo de embalagem). Os parâmetros de análise de variância são apresentados no Quadro A.II.12 em anexo.

Quadro 16- Médias (\pm desvio padrão) para o parâmetro ΔL^* , de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem, no t_1 e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
pH_f									
Normal	2,01 \pm 1,43 ^b	-0,23 \pm 1,58	0,02 \pm 0,12	0,12 \pm 0,64 ^b	-0,19 \pm 0,63 ^b	-0,14 \pm 0,73	0,07 \pm 0,77 ^b	0,33 \pm 1,02 ^b	1,09 \pm 1,04
DFDmod	0,97 \pm 0,83 ^{ab}	-0,15 \pm 1,00	0,22 \pm 0,34	-0,23 \pm 1,24 ^{ab}	-0,19 \pm 0,82 ^b	-0,20 \pm 0,65	-0,63 \pm 0,72 ^a	-0,27 \pm 0,83 ^a	0,44 \pm 0,31
DFD	0,09 \pm 0,66 ^a	-0,21 \pm 1,26	0,08 \pm 0,36	-0,44 \pm 0,97 ^a	-0,53 \pm 0,74 ^a	-0,36 \pm 0,69	-0,38 \pm 0,55 ^a	-0,13 \pm 0,57 ^{ab}	0,36 \pm 0,54
Sig	*	ns	ns	**	*	ns	***	*	ns
Embalagem									
Aerobiose	1,03 \pm 1,26 [▲]	0,07 \pm 0,47 ^a	0,11 \pm 0,29	-0,11 \pm 1,07 ^a	-0,31 \pm 0,44 ^a	0,05 \pm 0,36 ^b	-	-	-
Vácuo	«	1,12 \pm 0,73 ^b	-	1,08 \pm 0,74 ^b	0,72 \pm 0,69 ^b	0,63 \pm 0,56 ^c	0,36 \pm 0,86 ^b	0,58 \pm 0,63	0,63 \pm 0,74
AM _{70/20}	«	-0,73 \pm 0,56 ^a	-	-0,62 \pm 0,68 ^a	-0,70 \pm 0,53 ^a	-0,60 \pm 0,60 ^a	-0,57 \pm 0,51 ^a	-	-
AM _{50/40}	«	-0,80 \pm 2,14 ^a	-	-0,66 \pm 0,44 ^a	-0,64 \pm 0,50 ^a	-0,67 \pm 0,29 ^a	-0,58 \pm 0,51 ^a	-	-
AM _{30/60}	«	-0,63 \pm 0,43 ^a	-	-0,61 \pm 0,72 ^a	-0,61 \pm 0,44 ^a	-0,58 \pm 0,48 ^a	-0,45 \pm 0,62 ^a	-0,63 \pm 0,55	-
Sig	-	***	-	***	***	***	***	***	-
pH_f x Emb									
Sig	-	ns	-	*	ns	ns	ns	ns	-

Para cada efeito, na mesma coluna, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente ($p < 0,05$).

ns-não significativo ($p \geq 0,05$); *-significativo ($p < 0,05$); **-muito significativo ($p < 0,01$); ***-altamente significativo ($p < 0,001$).

▲antes da embalagem.

A Figura 14 ilustra a evolução dos valores de ΔL^* nos três grupos de pH_f , para cada tipo de embalagem, ao longo do período de armazenamento. Os valores integrais que suportam estes gráficos são apresentados no Quadro A.III.12 do anexo.

Pela análise da Figura 14 podemos verificar que, genericamente, os valores para ΔL^* são próximos entre os diferentes grupos de pH_f nas várias condições de embalagem. No t_1 , verifica-se contudo uma diferença de aproximadamente 2 unidades entre grupo normal (2,01) e grupo DFD (0,09), ocupando o grupo DFDmod uma posição intermédia (0,97). Observa-se ao longo do tempo *pm* um aumento ligeiro deste parâmetro no grupo Normal, do t_3 para o t_7 e do t_{14} para o t_{21} em AM_{70/20} e, a partir do t_{14} em carne embalada sob vácuo.

Relações destacadas deste parâmetro com outras variáveis são: com Δa^* (0,69; $p < 0,001$), b_0^* (-0,60;

$p < 0,001$), Δb^* (0,72; $p < 0,001$), cor vermelho-vivo (E) (-0,46; $p < 0,001$) e cor púrpura (E) (0,54; $p < 0,001$) (anexo A.IV).

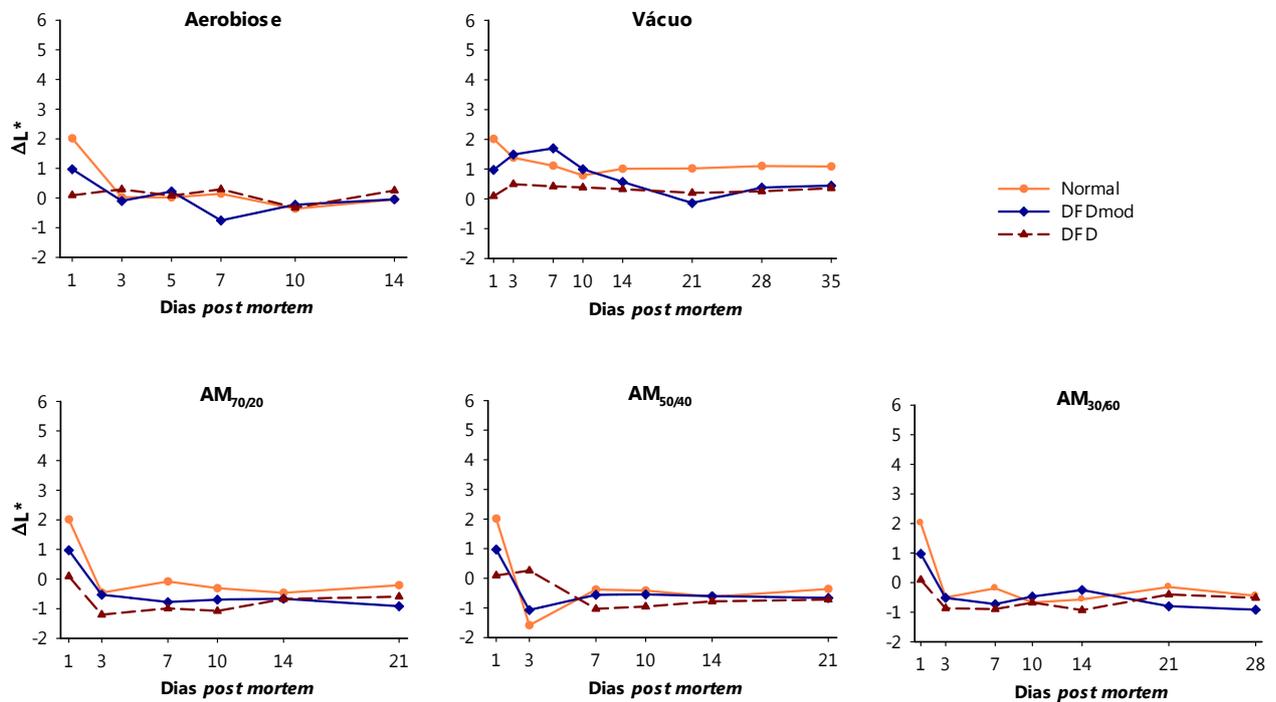


Figura 14- Evolução do parâmetro ΔL^* ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, $AM_{70/20}$, $AM_{50/40}$ e $AM_{30/60}$), de acordo o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD).

A análise de variância revelou que o tipo de embalagem influenciou significativamente o parâmetro ΔL^* em todos os tempos, enquanto o grupo de pH_f não teve o mesmo efeito em todos os tempos, verificando-se a ausência de diferenças significativas em quatro tempos. Apenas se observou uma interação significativa entre grupo de pH_f e tipo de embalagem, no t_7 .

Efeito do grupo de pH_f

O grupo de pH_f teve um efeito sobre o parâmetro ΔL^* altamente significativo ($p < 0,001$) no t_{21} , muito significativo ($p < 0,01$) no t_7 e significativo ($p < 0,05$) no t_1 , t_{10} e t_{28} , com ausência de diferenças significativas nos restantes tempos. Os valores de ΔL^* para carne DFDmod e Normal nunca se diferenciam, excepto no t_{28} , apresentando a carne Normal valores superiores. A carne DFDmod e a DFD também apenas se diferenciam no t_{10} . A carne Normal e DFD, apenas se distinguem no t_1 , t_7 , t_{10} e t_{21} , com a carne DFD a apresentar sempre valores inferiores.

De acordo com dados de Silva (2006), a comparação entre grupos de pH_f , em carne maturada em vácuo durante 14 dias *pm*, revelou que, para este parâmetro, apenas nos dias 1 e 14 *pm* foram encontradas diferenças significativas ($p < 0,01$), com o grupo DFD a apresentar também valores significativamente menores ($p < 0,05$) do que os restantes grupos.

Efeito do tipo de embalagem

Pela análise do Quadro 16 pode verificar-se que o tipo de embalagem exerceu um efeito sobre o parâmetro ΔL^* altamente significativo ($p < 0,001$) em todos os tempos, com a embalagem sob vácuo a distinguir-se das restantes, como seria de esperar. Os valores obtidos para a carne embalada em aerobiose não se diferenciaram dos obtidos em AMs, excepto no t_{14} . As carnes embaladas em AMs nunca se diferenciaram entre si ($p \geq 0,05$).

De acordo com Hood (1980) e O'Keeffe e Hood (1982), a formação da oximioglobina durante a exposição da carne ao ar, responsável pelo "avermelhamento" da carne, logo mais clara e brilhante, deverá ser superior na carne embalada sob vácuo, reflectindo-se num "avermelhamento" mais intenso. De facto a carne embalada sob vácuo é normalmente púrpura, devido ao estado reduzido da mioglobina, logo mais escura antes do "avermelhamento", o que justifica estes valores de ΔL^* mais elevados em carne embalada sob vácuo. Este fenómeno é mais evidente em carne Normal, dado que em carne com pH_f elevado a formação de oximioglobina está diminuída, devido ao consumo de oxigénio pelas mitocôndrias estar favorecido (Ashmore *et al.*, 1972).

Interacção grupo de pH_f e tipo de embalagem

Verificou-se uma interacção significativa grupo de pH_f e tipo de embalagem ($p < 0,05$) no t_7 , ilustrada pela Figura 15, verificando-se que a carne DFDmod embalada em aerobiose apresenta valores ΔL^* inferiores aos outros dois grupos de carne, enquanto que para a embalada sob vácuo os valores obtidos nesse tipo de carne são os mais elevados. Nas restantes embalagens este grupo de qualidade revela uma posição intermédia não se distinguindo significativamente ($p \geq 0,05$).

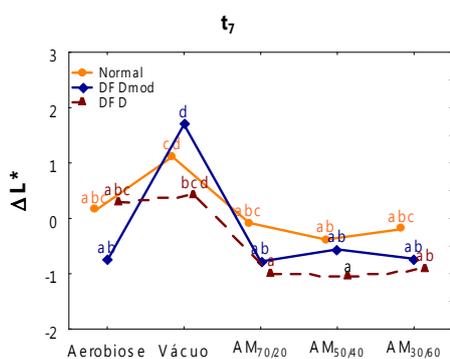


Figura 15- Interacção grupo de pH_f e tipo de embalagem para o parâmetro ΔL^* no t_7 (médias que não possuem letras iguais diferem significativamente; $p < 0,05$).

A Figura 15 parece então ilustrar a tendência para um maior ΔL^* , logo um maior incremento da luminosidade em carne embalada sob vácuo, particularmente em carnes Normal e DFDmod, sendo esse aumento superior em carne DFDmod do que em carne Normal. A carne DFDmod embalada sob vácuo é a única que se distingue significativamente da carne de todos os grupos de qualidade nas restantes condições de embalagem.

III.3.2.3.2. Parâmetro a_0^* (a_0^* , a_{60}^* e Δa^*)

Os valores médios para o parâmetro a_0^* nas amostras de carne para os três grupos de pH_f e para os vários tipos de embalagem, nos distintos tempos (dias *pm*) de armazenamento, são mostrados no Quadro 17. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os efeitos do grupo de pH_f e do tipo de embalagem, bem como da interacção (grupo de pH_f x tipo de embalagem). Os parâmetros de análise de variância são apresentados no Quadro A.II.13 do anexo.

Quadro 17- Médias (\pm desvio padrão) para o parâmetro a_0^* , de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem, no t_1 e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
pH_f									
Normal	19,49 \pm 0,92	22,53 \pm 2,70 ^b	17,62 \pm 1,29 ^a	19,78 \pm 1,80 ^a	18,74 \pm 2,30 ^a	17,05 \pm 2,54 ^a	14,24 \pm 4,08 ^a	13,58 \pm 6,51 ^a	19,25 \pm 0,29 ^b
DFDmod	18,74 \pm 0,99	23,74 \pm 3,57 ^c	22,67 \pm 1,33 ^b	22,97 \pm 3,70 ^c	22,32 \pm 3,24 ^b	21,86 \pm 3,89 ^b	21,32 \pm 3,85 ^b	15,70 \pm 4,25 ^{ab}	18,44 \pm 1,00 ^{ab}
DFD	17,80 \pm 2,06	21,45 \pm 3,81 ^a	20,54 \pm 2,20 ^b	21,58 \pm 3,38 ^b	21,97 \pm 3,38 ^b	20,72 \pm 4,33 ^b	21,16 \pm 3,10 ^b	17,81 \pm 3,92 ^b	18,00 \pm 0,82 ^a
Sig	ns	***	***	***	***	***	***	*	*
Embalagem									
Aerobiose	18,68 \pm 1,52 [▲]	20,33 \pm 1,99 ^b	20,28 \pm 2,64	19,81 \pm 2,46 ^b	19,13 \pm 3,38 ^a	17,59 \pm 5,13 ^a	-	-	-
Vácuo	«	18,41 \pm 1,91 ^a	-	18,20 \pm 1,53 ^a	18,94 \pm 1,78 ^a	18,49 \pm 1,40 ^a	18,61 \pm 1,38 ^b	18,73 \pm 1,21	18,56 \pm 0,89
AM _{70/20}	«	26,54 \pm 1,59 ^e	-	24,70 \pm 2,64 ^c	24,26 \pm 3,32 ^c	22,69 \pm 4,46 ^c	21,48 \pm 5,97 ^c	-	-
AM _{50/40}	«	24,99 \pm 1,94 ^d	-	23,47 \pm 2,38 ^c	22,36 \pm 2,61 ^b	21,48 \pm 3,23 ^{bc}	19,28 \pm 5,14 ^b	-	-
AM _{30/60}	«	22,60 \pm 1,78 ^c	-	21,04 \pm 2,57 ^b	20,36 \pm 2,42 ^a	19,13 \pm 3,65 ^b	16,26 \pm 4,82 ^a	12,66 \pm 5,86	-
Sig	-	***	-	***	***	***	***	***	-
pH_f x Emb									
Sig	-	*	-	***	***	***	***	***	-

Para cada efeito, na mesma coluna, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente ($p < 0,05$).

ns-não significativo ($p \geq 0,05$); *-significativo ($p < 0,05$); ***-altamente significativo ($p < 0,001$).

▲antes da embalagem.

A Figura 16 ilustra a evolução dos valores de a_0^* nos três grupos de pH_f , para cada tipo de embalagem, ao longo do período de armazenamento. Os valores integrais que suportam estes gráficos são apresentados no Quadro A.III.13 do anexo.

Pela análise da Figura 16 podemos verificar que a evolução do parâmetro a_0^* ao longo do tempo foi variável com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem. Em vácuo os teores parecem manter-se mais ou menos constantes ao longo do tempo para os três grupos de qualidade da carne, sendo a carne Normal a que apresenta valores médios mais elevados, o que seria de esperar, dado que a carne DFD tem uma menor componente vermelha (a_0^* menor) do que a carne Normal, situação que é referida por vários autores (Purchas, 1990; Wulf *et al.*, 2002). Contrariamente, em aerobiose, tal facto não se verificou, excepto no t_1 , com a carne DFDmod a apresentar valores de a_0^* mais elevados, ocupando a carne Normal uma posição inferior a partir do t_5 . Observa-se a partir do t_7 um decréscimo dos valores de a_0^* ,

particularmente notório na carne Normal nas três AMs e em menor grau na carne DFDmod e DFD na AM_{30/60}.

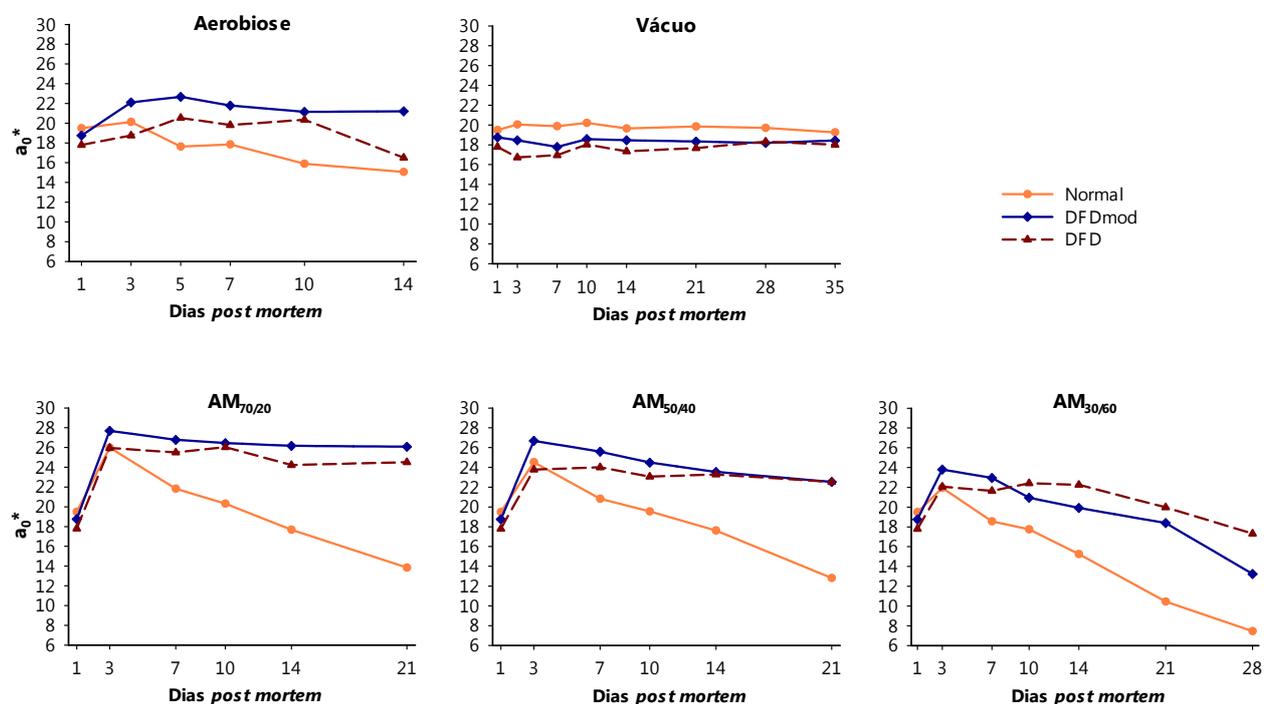


Figura 16- Evolução do parâmetro a_0^* ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40} e AM_{30/60}), de acordo o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD).

A deterioração da cor da carne embalada em AMs com elevado teor de oxigénio, é referida noutros trabalhos, variando contudo, o período de armazenamento necessário para que a deterioração seja evidente, tendo sido observado que a partir do dia 3 inicia-se o processo de descoloração da carne, com a diminuição do parâmetro a^* , como observado no presente trabalho. Recentemente, Zakrys *et al.* (2008) referem, em carne de bovino, o decréscimo de a^* ao longo do tempo de armazenamento, mantendo a carne embalada em AM com 50% de O_2 , um elevado a^* até ao dia 3. Jayasingh *et al.* (2002) referem que carne picada de bovino e embalada em AM com elevado teor em oxigénio, mantém a cor vermelha por 10 dias. Uma redução acentuada do parâmetro a^* , ao longo de 10 dias de armazenamento, em carne embalada em AMs com O_2 é igualmente referida por Jakobsen e Bertelsen (2000).

O parâmetro a_0^* correlaciona-se de uma forma mais notória com os parâmetros de cor b_0^* (0,50; $p < 0,001$), vermelho-vivo (E) (0,74; $p < 0,001$), cor castanha (E) (-0,49; $p < 0,001$), superfície de descoloração (E) (-0,53; $p < 0,001$) e apreciação global (E) (0,64; $p < 0,001$) (anexo A.IV).

A análise de variância revelou que o grupo de pH_f e o tipo de embalagem influenciaram significativamente o parâmetro a_0^* , tendo-se verificado uma interação significativa entre grupo de pH_f e tipo de embalagem em todos os tempos comuns aos dois efeitos.

Efeito do grupo de pH_f

Pela análise do Quadro 17 pode verificar-se que para a coordenada de cor a_0^* , o efeito do grupo de pH_f foi sempre significativo excepto no t₁. ($p < 0,001$ no t₃ a t₂₁; $p < 0,05$ no t₂₈ e t₃₅). A partir desse tempo, o grupo Normal distinguiu-se sempre significativamente do grupo DFD em todos os dias *pm*, com valores sempre inferiores, exceptuando os dias t₃ e t₃₅, indicando que a carne Normal é menos vermelha do que a carne DFD. Contudo, isto não acontece quando se compara a carne embalada sob vácuo, apresentando nestes casos a carne Normal valores de a_0^* mais elevados, logo menos escura, com diferenças significativas entre si (t₃₅) (Quadro 17). O grupo DFDmod apenas se distinguiu dos outros dois grupos em simultâneo, no t₃ e t₇, revelando-se diferente do grupo Normal do t₃ ao t₂₁, inclusive.

A menor componente vermelha, menor a^* , na carne com elevado pH_f é referida noutros trabalhos, em que carne de bovino da mesma raça foi embalada sob vácuo (Silva, 1997, 2006).

Efeito do tipo de embalagem

Pela análise do Quadro 17 pode verificar-se que o tipo de embalagem exerceu um efeito sempre altamente significativo ($p < 0,001$). As amostras embaladas sob vácuo apresentam os valores de a_0^* mais baixos distinguindo-se de todas as restantes no t₃ e t₇. Os valores obtidos para a carne embalada em aerobiose não se diferenciaram dos obtidos em vácuo, no t₁₀ e no t₁₄, nem dos obtidos em AM_{30/60} no t₇ e t₁₀. As carnes embaladas em AMs diferenciaram-se entre si no t₃, t₁₀ e t₂₁. A AM_{30/60}, distingue-se sempre das restantes AMs, excepto da AM_{50/40} no t₂₁. A AM_{70/20} é aquela que apresenta valores deste parâmetro mais elevados, logo mais componente vermelha do que as restantes, quando a comparação engloba os três grupos de pH_f em conjunto. Sørheim *et al.* (1999), referem igualmente valores de a^* mais elevados em amostras de carne de bovino embaladas em AM com elevado teor em oxigénio (70% O₂) comparativamente com a embalada sob vácuo.

Os resultados revelam que o aumento da concentração de CO₂ na embalagem tem um efeito marcante na diminuição da componente vermelha da carne, particularmente se o pH_f for Normal. Estes resultados são concordantes com os obtidos por outros autores, que referem um valor de a^* menor na carne embalada em AM com 100% de CO₂, comparativamente com a embalada sob vácuo (Jeremiah e Gibson, 2001).

Interacção grupo de pH_f e tipo de embalagem

Verificou-se uma interacção significativa grupo de pH_f e tipo de embalagem ($p < 0,05$) nos vários tempos, ilustrada pela Figura 17.

Na Figura 17 observa-se que no t₃ a carne DFD embalada em aerobiose apresenta valores a_0^* inferiores aos outros dois grupos de carne, ocupando a carne Normal uma posição intermédia. Na carne embalada sob vácuo, isto não acontece porque, embora a carne DFD apresente, igualmente, os valores mais baixos, a carne DFDmod passa a ocupar a posição intermédia. Esta tendência em vácuo, mantém-se constante nos restantes tempos. Nas restantes embalagens a partir do t₇, o grupo de qualidade Normal apresenta sempre os valores mais baixos comparativamente aos outros dois grupos. A Figura 17 parece então ilustrar a tendência para um maior valor de a_0^* , logo mais vermelha, em carnes embaladas em AM_{70/20} e AM_{50/40} e com pH_f mais elevado (DFDmod e DFD). Esse aumento é muitas vezes superior em carne

DFDmod. A carne Normal embalada em AM_{30/60} é a que apresenta os valores inferiores, logo menos vermelha, provavelmente devido ao acastanhamento que sofre esta carne, nesta condição de embalagem. De acordo com Ledward *et al.* (1986), apesar da carne com pH_f elevado ser mais escura que a carne com um pH_f normal, possui uma menor tendência para a formação de metamioglobina e logo uma melhor estabilidade da cor. Este facto poderá explicar as variações observadas entre carnes de diferentes grupos de pH_f, nomeadamente pelo menor valor de a₀* na carne Normal e pelo decréscimo mais acentuado deste parâmetro ao longo do tempo nas AMs, principalmente naquelas que possuem mais O₂, possivelmente porque estarão favorecidos, nestes tipos de embalagens, os fenómenos oxidativos. Hutchins *et al.* (1967) referem uma correlação positiva significativa entre a oxidação dos lípidos e a formação de metamioglobina em carne de bovino picada.

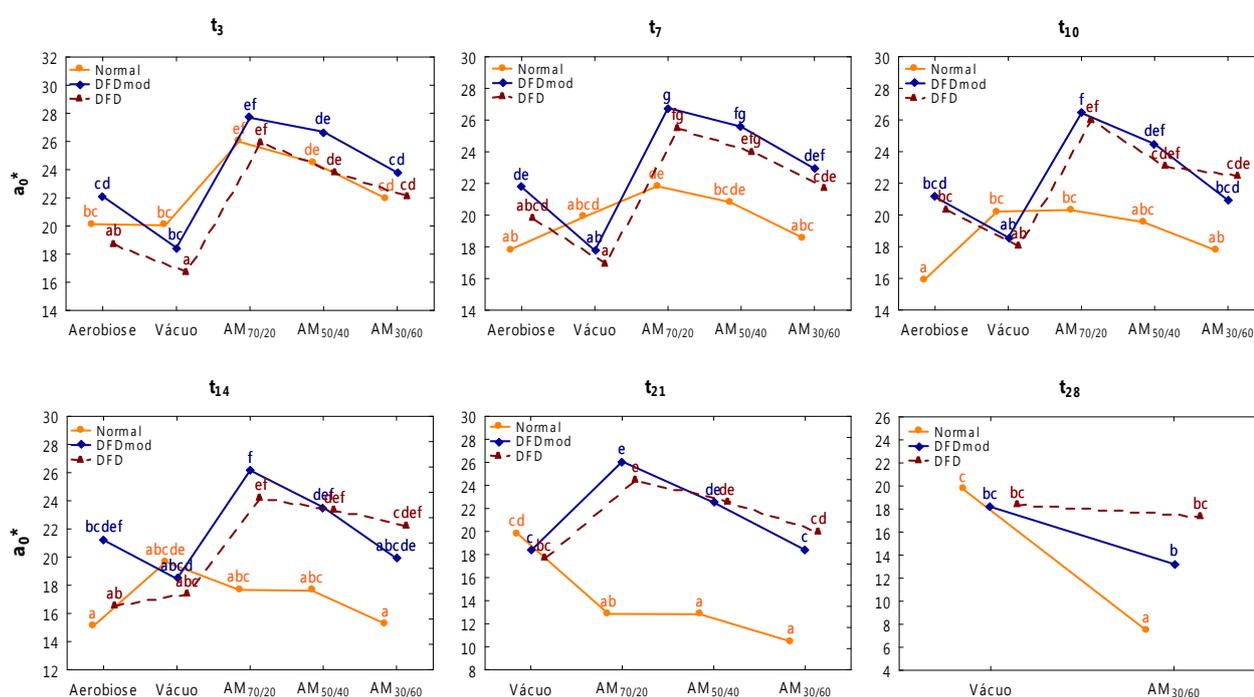


Figura 17- Interação grupo de pH_f e tipo de embalagem para o parâmetro a₀* no t₃, t₇, t₁₀, t₁₄, t₂₁ e t₂₈ (em cada tempo, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; p<0,05).

No Quadro 18 apresenta-se os valores médios para o parâmetro a₆₀* nas amostras de carne para os três grupos de pH_f e para os vários tipos de embalagem, nos distintos tempos (dias pm) de armazenamento, são mostrados. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os efeitos do grupo de pH_f e do tipo de embalagem, bem como da interação (grupo de pH_f x tipo de embalagem). Os parâmetros de análise de variância são apresentados no Quadro A.II.14 do anexo.

A Figura 18 ilustra a evolução dos valores de a₆₀* nos três grupos de pH_f, para cada tipo de embalagem, ao longo do período de armazenamento. Os valores integrais que suportam estes gráficos são apresentados no Quadro A.III.2.1 do anexo.

Quadro 18- Médias (\pm desvio padrão) para o parâmetro a_{60}^* , de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem, no t₁ e ao longo do tempo (dias pm) de armazenamento.

	Tempo (dias pm)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
pH_f									
Normal	21,55 \pm 1,43 ^b	22,28 \pm 2,40 ^b	17,49 \pm 1,35 ^a	20,38 \pm 2,53 ^a	19,65 \pm 3,41 ^a	17,95 \pm 3,67 ^a	15,34 \pm 5,76 ^a	15,79 \pm 8,73 ^b	23,66 \pm 0,96 ^b
DFDmod	20,09 \pm 0,84 ^{ab}	23,26 \pm 2,42 ^b	23,01 \pm 1,57 ^c	22,67 \pm 2,58 ^b	22,26 \pm 2,68 ^b	22,06 \pm 3,26 ^c	21,58 \pm 3,31 ^b	16,79 \pm 4,86 ^a	20,81 \pm 1,55 ^a
DFD	18,47 \pm 2,2 ^a	21,17 \pm 2,83 ^a	20,44 \pm 1,96 ^b	21,37 \pm 2,71 ^a	21,67 \pm 2,75 ^b	20,39 \pm 3,74 ^b	21,15 \pm 2,31 ^b	18,74 \pm 4,23 ^a	20,25 \pm 1,39 ^a
Sig	*	***	***	***	***	***	***	ns	***
Embalagem									
Aerobiose	20,04 \pm 1,98 [▲]	20,45 \pm 1,91 ^a	20,31 \pm 2,79	19,91 \pm 2,62 ^a	19,06 \pm 3,29 ^a	17,92 \pm 5,04 ^a	-	-	-
Vácuo	«	20,26 \pm 2,31 ^a	-	20,29 \pm 2,47 ^a	21,39 \pm 2,99 ^b	20,70 \pm 2,69 ^{bc}	21,16 \pm 2,68 ^c	21,43 \pm 2,36	21,57 \pm 1,98
AM _{70/20}	«	24,95 \pm 2,05 ^b	-	23,74 \pm 2,47 ^c	23,37 \pm 3,16 ^c	22,22 \pm 3,86 ^c	20,92 \pm 5,60 ^c	-	-
AM _{50/40}	«	23,73 \pm 1,95 ^b	-	22,54 \pm 1,91 ^{bc}	21,81 \pm 2,28 ^{bc}	21,06 \pm 2,92 ^{bc}	18,96 \pm 4,87 ^b	-	-
AM _{30/60}	«	21,80 \pm 1,62 ^a	-	20,91 \pm 2,39 ^{ab}	20,33 \pm 2,37 ^{ab}	18,77 \pm 3,30 ^{ab}	16,39 \pm 4,85 ^a	12,79 \pm 5,85	-
Sig	-	***	-	***	***	***	***	***	-
pH_f x Emb									
Sig	-	ns	-	***	***	***	***	***	-

Para cada efeito, na mesma coluna, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente ($p < 0,05$).

ns-não significativo ($p \geq 0,05$); *-significativo ($p < 0,05$); ***-altamente significativo ($p < 0,001$).

▲antes da embalagem.

Pela análise da Figura 18 podemos verificar que, de igual forma ao observado para o parâmetro a_0^* , a evolução de a_{60}^* ao longo do tempo variou bastante com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem. Em vácuo os teores parecem manter-se mais ou menos constantes ao longo do tempo para os três grupos de qualidade da carne, sendo a carne Normal a que apresenta valores médios mais elevados, o que seria de esperar, pois a carne DFD tem uma menor componente vermelha (a_{60}^* menor) do que a carne Normal (Purchas, 1990; Wulf *et al.*, 2002). Em aerobiose, e à semelhança do a_0^* , tal facto não se verificou, excepto no t₁, com a carne DFDmod a apresentar valores de a_{60}^* mais elevados, ocupando a carne Normal também a partir do t₅ uma posição inferior. Estes resultados estão discordantes com os observados por Abril *et al.* (2001) que constataram, em *longissimus dorsi thoracis* de bovino embalado em aerobiose durante 9 dias a 4°C, valores superiores de a^* na carne com pH < 6,1 comparativamente a pH \geq 6,1. No entanto, nesse trabalho as diferenças entre os dois grupos vão se atenuando ao longo do tempo, de modo que no dia 9 os dois grupos não se distinguiram. Nas AMs, em carne Normal, verifica-se que do t₃ para o t₇ ocorre um decréscimo acentuado nos valores de a_{60}^* , e que continua ao longo do tempo de armazenamento. Em carnes DFDmod e DFD, isto não se verifica, excepto em situações pontuais em AM_{30/60}, particularmente do t₂₁ para o t₂₈.

O parâmetro a_{60}^* correlaciona-se de uma forma relevante com os parâmetros de cor b_{60}^* (0,50; $p < 0,001$), vermelho-vivo (0,67; $p < 0,001$), cor castanha (-0,58; $p < 0,001$), superfície de descoloração (-0,59; $p < 0,001$) e apreciação global (0,55; $p < 0,001$) (anexo A.IV).

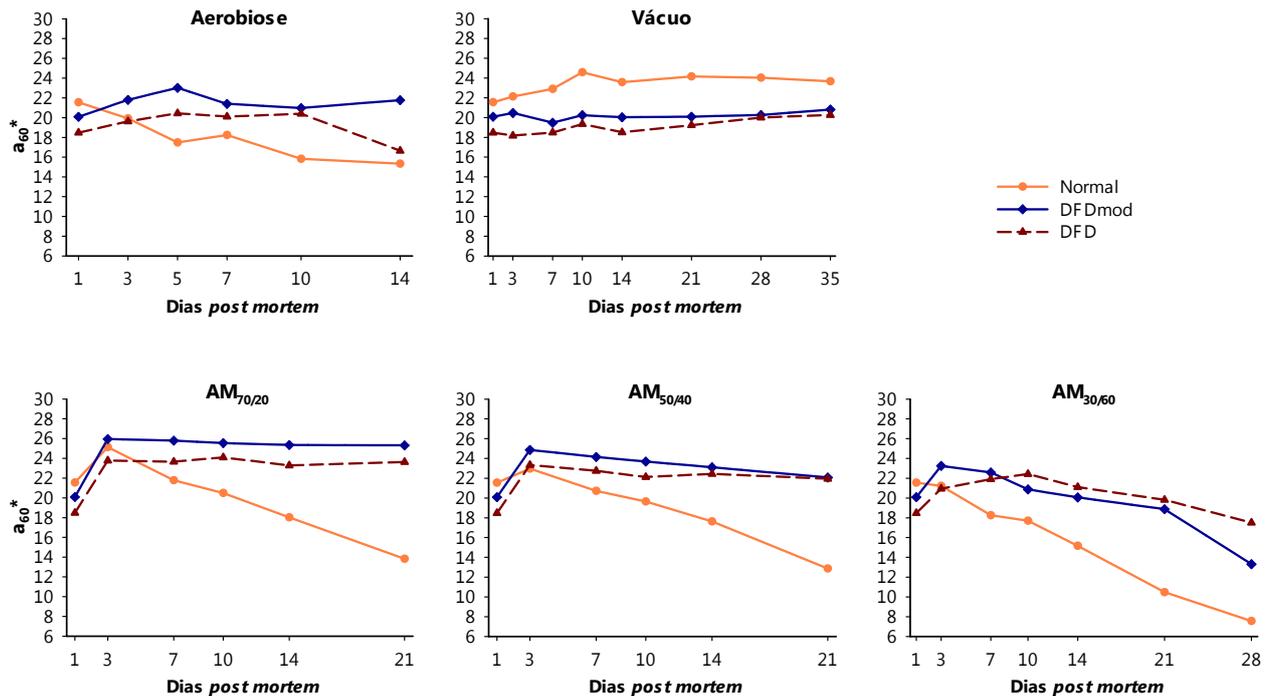


Figura 18- Evolução do parâmetro a_{60}^* ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40} e AM_{30/60}), de acordo o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD).

A análise de variância revelou que o grupo de pH_f e o tipo de embalagem influenciaram significativamente o parâmetro a_{60}^* , tendo-se verificado a existência de interações significativas entre grupo de pH_f e tipo de embalagem a partir do t₇.

Efeito do grupo de pH_f

Pela análise do Quadro 18 pode verificar-se que para a coordenada de cor a_{60}^* , o efeito do grupo de pH_f foi significativo ($p < 0,05$) no t₁, não significativo ($p \geq 0,05$) no t₂₈ e altamente significativo ($p < 0,001$) nos restantes tempos. O grupo Normal distinguiu-se sempre significativamente do grupo DFD em todos os dias *pm*, excepto no t₇, com valores inferiores aos do grupo DFD, do t₅ ao t₂₈, indicando que a carne Normal é menos vermelha do que a carne DFD nesses tempos. Contudo, isto não acontece quando se compara a carne no t₁ e a carne embalada sob vácuo no t₃₅, apresentando nestes casos a carne Normal valores de a_{60}^* mais elevados, com diferenças significativas entre si, logo mais vermelha. No t₅ parece existir uma inversão, com a carne Normal a apresentar os valores mais baixos e significativamente distintos dos outros dois grupos. Estes por sua vez também se distinguem, apresentando a carne DFDmod os valores mais elevados, logo mais vermelha. Como se pode observar pela leitura da Figura 18, esta situação em aerobiose mantém-se constante ao longo do tempo.

Também neste caso, tal facto poderá estar relacionado com uma maior estabilidade da cor e menor tendência para a formação de metamioglobina, de cor castanha, em carne com pH_f elevado (Ledward *et al.*, 1986).

O grupo DFDmod apenas se distinguiu dos outros dois grupos em simultâneo, no t_5 , t_7 e t_{14} , revelando-se diferente do grupo Normal a partir do t_5 , inclusive.

Efeito do tipo de embalagem

O tipo de embalagem exerceu um efeito sempre altamente significativo ($p < 0,001$) sobre a coordenada de cor a_{60}^* . Contrariamente ao observado para os valores de a_0^* , as amostras embaladas sob vácuo não apresentaram os valores de a_{60}^* mais baixos, o que é previsível, uma vez que esta medição refere-se aos 60 min após abertura da embalagem, para que ocorra avermelhamento, adquirindo a carne, decorrido esse tempo, uma cor vermelho-vivo mais intenso, devido à formação de oximioglobina quando exposta ao ar.

Os valores da carne embalada em aerobiose distinguiram-se apenas dos obtidos em vácuo, no t_{10} e no t_{14} , não se diferenciando dos da $AM_{30/60}$ em todos os tempos. As carnes embaladas em AMs diferenciaram entre si no t_{21} , com valores mais baixos. A $AM_{30/60}$, distingue-se sempre das restantes AMs do t_7 ao t_{21} , apresentando valores inferiores. A $AM_{70/20}$ é aquela que apresenta genericamente valores deste parâmetro mais elevados, logo mais vermelha do que as restantes. No t_{21} , não se diferencia da carne embalada sob vácuo.

A carne embalada sob vácuo difere da carne embalada em $AM_{30/60}$, quando se comparam apenas estas duas embalagens no t_{28} , com uma diferença média de 11,24 unidades (21,43 em vácuo e 12,79 em $AM_{30/60}$), logo mais vermelha em vácuo.

Como referido para o parâmetro a_0^* , após abertura da embalagem o efeito negativo do CO_2 na componente vermelha e em particular na carne Normal, persistiu de uma forma notória. Jeremiah e Gibson (2001) referem uma redução acentuada do valor de a^* , em carne de bovino, ao longo do período de armazenamento e após a oxigenação da carne, ainda que no estudo efectuado por esses autores, a redução de a^* ocorre de igual forma em vácuo ou em AM com 100% de CO_2 .

Interacção grupo de pH_f e tipo de embalagem

Verificou-se uma interacção significativa entre o grupo de pH_f e tipo de embalagem ($p < 0,05$) nos vários tempos ilustrados pela Figura 19, observando-se que a carne Normal apresenta os valores mais baixos de a_{60}^* em todas as embalagens, excepto quando esteve embalada sob vácuo. Nesta última, a carne DFD apresenta os valores os mais baixos, passando a carne DFDmod a ocupar a posição intermédia, e a carne Normal a apresentar os valores superiores, o que é esperado e concordante com os dados de Silva (1997). Esta tendência em vácuo, mantém-se constante nos restantes tempos.

Verifica-se também que a carne DFD apresenta valores inferiores aos obtidos em carne DFDmod em todas as condições, excepto na $AM_{30/60}$, a partir do t_{10} , ocupando a carne Normal uma posição intermédia. Nas restantes embalagens a partir do t_7 , o grupo de qualidade Normal apresenta sempre os valores mais baixos comparativamente aos outros dois grupos. A Figura 19 parece mostrar a tendência para um maior a_{60}^* , logo mais vermelha, em carnes embaladas em $AM_{70/20}$ e $AM_{50/40}$ e com pH_f mais elevado. Esse aumento é muitas vezes superior em carne DFDmod. A carne Normal embalada em $AM_{30/60}$ é a que apresenta os valores inferiores, logo menos vermelha, provavelmente devido ao acastanhamento que sofre esta carne, nesta condição de embalagem.

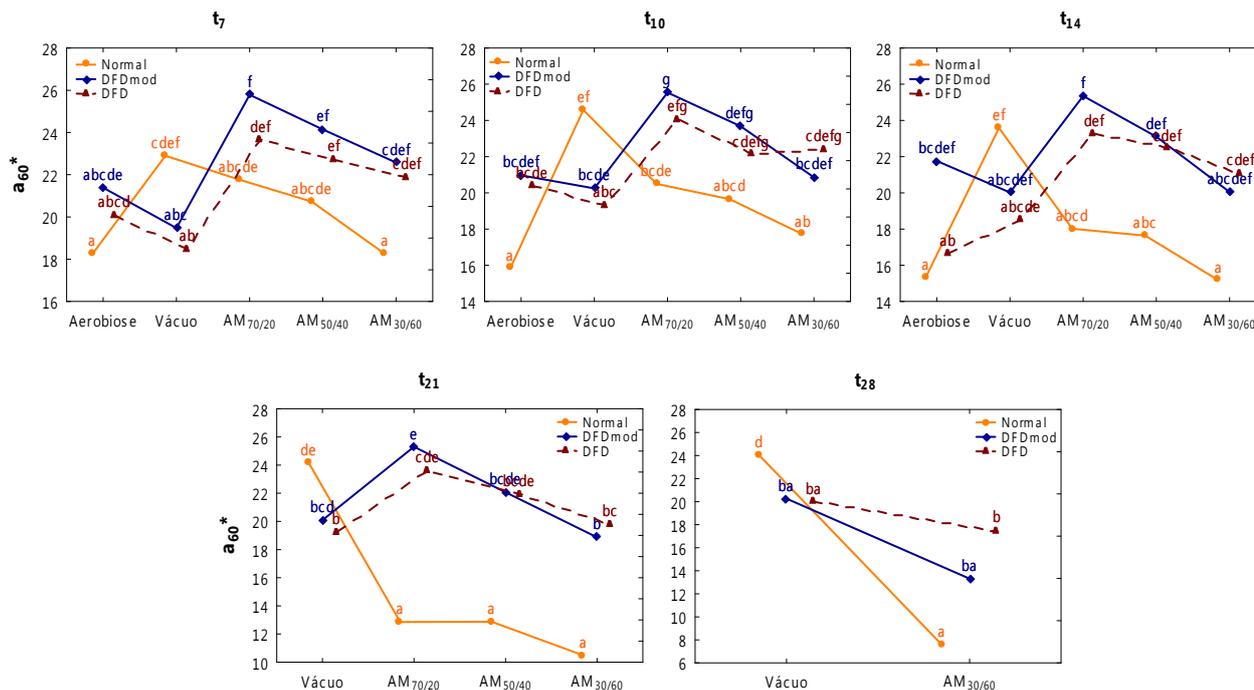


Figura 19- Interação grupo de pH_f e tipo de embalagem para o parâmetro a₆₀* no t₇, t₁₀, t₁₄, t₂₁ e t₂₈ (em cada tempo, médias que não possam letras iguais diferem significativamente; p < 0,05).

Os valores médios para o parâmetro Δa* nas amostras de carne para os três grupos de pH_f e para os vários tipos de embalagem, nos distintos tempos (dias *pm*) de armazenamento, são mostrados no Quadro 19. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os efeitos do grupo de pH_f e do tipo de embalagem, bem como da interação (grupo de pH_f x tipo de embalagem). Os parâmetros de análise de variância são apresentados no Quadro A.II.15 do anexo.

A Figura 20 ilustra a evolução dos valores de Δa* nos três grupos de pH_f, para cada tipo de embalagem, ao longo do período de armazenamento. Os valores integrais que suportam estes gráficos são apresentados no Quadro A.III.15 em anexo.

Pela análise da Figura 20 podemos verificar que todas as embalagens, à exceção do vácuo, revelam um comportamento semelhante dos valores de Δa* ao longo dos dias *pm*. Este comportamento é caracterizado por uma diminuição da capacidade de “avermelhamento” do t₁ ao t₃, resultante da oxigenação prévia da mioglobina no t₃ e, pela constância dos valores a partir do t₇. Excluindo a embalagem sob vácuo, os diferentes grupos de qualidade apresentam um comportamento similar, salientando, contudo, a maior capacidade de “avermelhamento” da carne Normal na AM_{70/20}. Na embalagem sob vácuo os valores de Δa* obtidos são superiores aos das restantes embalagens, particularmente para a carne Normal que evidencia uma capacidade de “avermelhamento” marcadamente superior à dos outros dois grupos de qualidade.

Quadro 19- Médias (\pm desvio padrão) para o parâmetro Δa^* , de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem, no t_1 e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
pH_f									
Normal	2,07 \pm 0,75 ^b	-0,25 \pm 1,59	-0,13 \pm 0,32	0,59 \pm 1,58 ^b	0,91 \pm 1,81 ^a	0,90 \pm 1,64 ^b	1,10 \pm 1,95 ^b	2,21 \pm 2,29 ^b	4,41 \pm 0,74 ^b
DFDmod	1,34 \pm 0,55 ^{ab}	-0,48 \pm 1,61	0,34 \pm 0,37	-0,29 \pm 1,60 ^a	-0,06 \pm 1,32 ^b	0,20 \pm 1,09 ^a	0,26 \pm 1,46 ^a	1,08 \pm 1,16 ^a	2,38 \pm 0,64 ^a
DFD	0,67 \pm 0,81 ^a	-0,28 \pm 1,73	-0,10 \pm 0,78	-0,20 \pm 1,60 ^a	-0,31 \pm 1,38 ^b	-0,33 \pm 1,40 ^a	-0,01 \pm 1,32 ^a	0,93 \pm 1,11 ^a	2,25 \pm 0,87 ^a
Sig	*	ns	ns	**	***	***	**	***	***
Embalagem									
Aerobiose	1,36 \pm 0,89 [▲]	0,12 \pm 0,78 ^b	0,04 \pm 0,55	0,10 \pm 1,09 ^b	-0,07 \pm 0,81 ^b	0,33 \pm 0,88 ^a	-	-	-
Vácuo	«	1,85 \pm 0,72 ^c	-	2,09 \pm 1,27 ^c	2,45 \pm 1,54 ^c	2,21 \pm 1,47 ^b	2,55 \pm 1,55 ^b	2,69 \pm 1,43	3,01 \pm 1,24
AM _{70/20}	«	-1,59 \pm 1,07 ^a	-	-0,96 \pm 1,54 ^a	-0,89 \pm 1,37 ^a	-0,47 \pm 1,21 ^a	-0,56 \pm 1,37 ^a	-	-
AM _{50/40}	«	-1,27 \pm 1,75 ^a	-	-0,93 \pm 0,96 ^{ab}	-0,55 \pm 0,85 ^{ab}	-0,42 \pm 0,68 ^a	-0,32 \pm 0,50 ^a	-	-
AM _{30/60}	«	-0,79 \pm 0,71 ^{ab}	-	-0,13 \pm 1,11 ^{ab}	-0,04 \pm 0,52 ^b	-0,36 \pm 0,94	0,12 \pm 0,59 ^a	0,13 \pm 0,48	-
Sig	-	***	-	***	***	***	***	***	-
pH_f x Emb									
Sig	-	*	-	ns	***	**	**	***	-

Para cada efeito, na mesma coluna, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente ($p < 0,05$).
 ns-não significativo ($p \geq 0,05$); *-significativo ($p < 0,05$); **-muito significativo ($p < 0,01$); ***-altamente significativo ($p < 0,001$).
 ▲antes da embalagem.

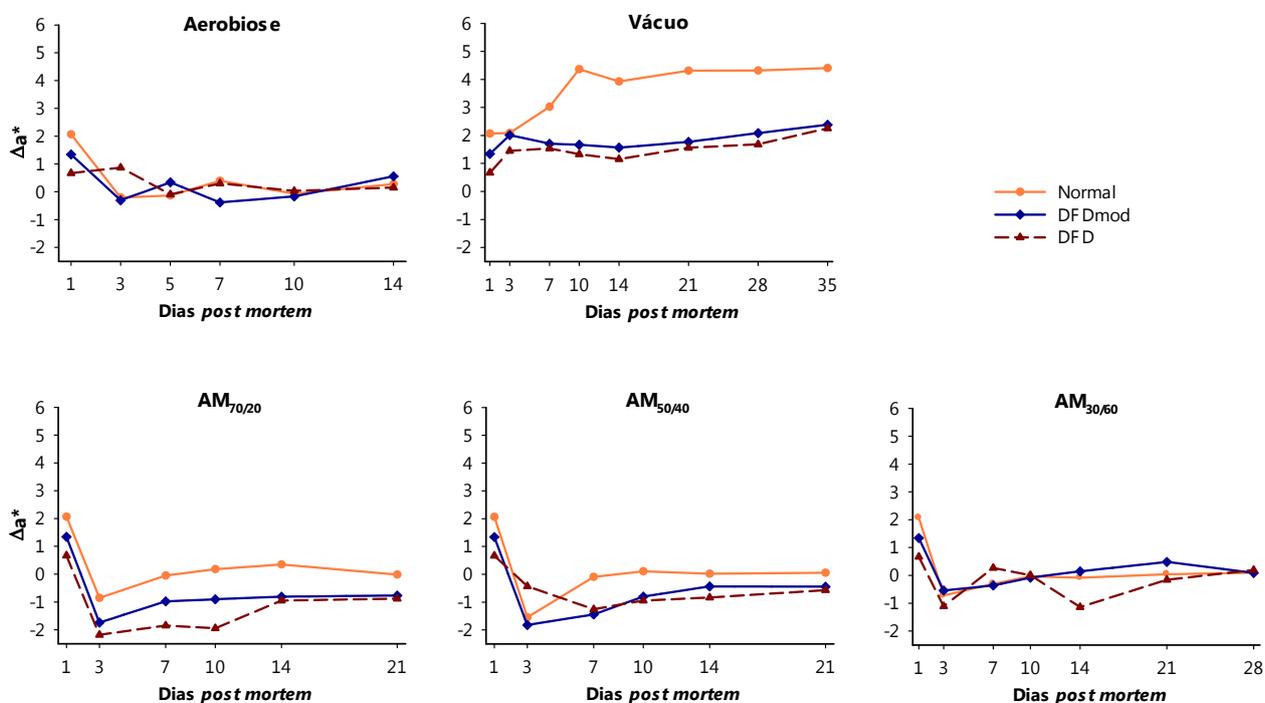


Figura 20- Evolução do parâmetro Δa^* ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40} e AM_{30/60}), de acordo o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD).

Os coeficientes de correlação mais elevados foram encontrados com ΔL^* (0,69; $p < 0,001$), b_0^* (-0,69; $p < 0,001$), Δb^* (0,93; $p < 0,001$), cor vermelho-vivo (E) (-0,57; $p < 0,001$) e cor púrpura (E) (0,63; $p < 0,001$) (anexo A.IV).

A análise de variância revelou que o grupo de pH_f e o tipo de embalagem influenciaram significativamente o parâmetro Δa^* , verificando-se a existência de interações significativas entre grupo de pH_f e tipo de embalagem, excepto no t_7 .

Efeito do grupo de pH_f

Pelo Quadro 19 pode verificar-se que o grupo de pH_f teve um efeito significativo nos valores de Δa^* obtidos, excepto no t_3 e t_5 .

Para este parâmetro, os valores foram inferiores no grupo DFD e DFDmod em todos os dias pm , não revelando diferenças significativas entre si, mas que diferem do grupo Normal no t_1 e a partir do t_7 . A carne com pH_f elevado (DFDmod e DFD) apresenta então um menor nível de "avermelhamento", após exposição ao ar, quando comparada com a carne de pH_f Normal, estando em concordância com trabalhos anteriores efectuados na mesma raça e músculo (Silva, 1997, 2006). Este deficiente "avermelhamento" é devido à elevada taxa de consumo de oxigénio, por parte das mitocôndrias, verificado na carne com pH superior a 6,0 (Ashmore *et al.*, 1972).

Os valores de Δa^* no t_{35} obtidos em carne Normal ($4,41 \pm 0,74$) e em carne DFDmod ($2,38 \pm 0,64$) e DFD ($2,25 \pm 0,87$), parecem admitir a possibilidade da actividade respiratória dos tecidos ocorrer de uma forma mais rápida e/ou a redução da actividade do sistema redutor da metamioglobina ser mais lenta, em carne normal. Um maior desenvolvimento microbiano na carne com pH_f elevado poderá, também, contribuir para o aumento do consumo do oxigénio, resultando numa menor capacidade de "avermelhamento" da carne com o tempo.

Efeito do tipo de embalagem

Pela análise do Quadro 19 pode verificar-se que o tipo de embalagem exerceu um efeito sobre o parâmetro Δa^* altamente significativo ($p < 0,001$) em todos os tempos, com a embalagem sob vácuo a distinguir-se das restantes, como seria de esperar, com valores mais elevados de 2 a 3 unidades. Segundo Hood (1980) e O'Keeffe e Hood (1982), a carne embalada sob vácuo quando exposta ao ar manifesta um "avermelhamento" mais intenso, por formação de oximioglobina, logo mais clara, mais brilhante. De facto, a carne embalada sob vácuo é normalmente púrpura, devido ao estado reduzido da mioglobina, logo mais escura antes do "avermelhamento". Este fenómeno é mais evidente em carne Normal, pois em carne com pH_f elevado a formação de oximioglobina está reduzida, devido ao consumo de oxigénio pelas mitocôndrias estar favorecido (Ashmore *et al.*, 1972).

Interação grupo de pH_f e tipo de embalagem

Verificou-se a existência de interações significativas grupo de pH_f e tipo de embalagem nos vários tempos ilustrados pela Figura 21.

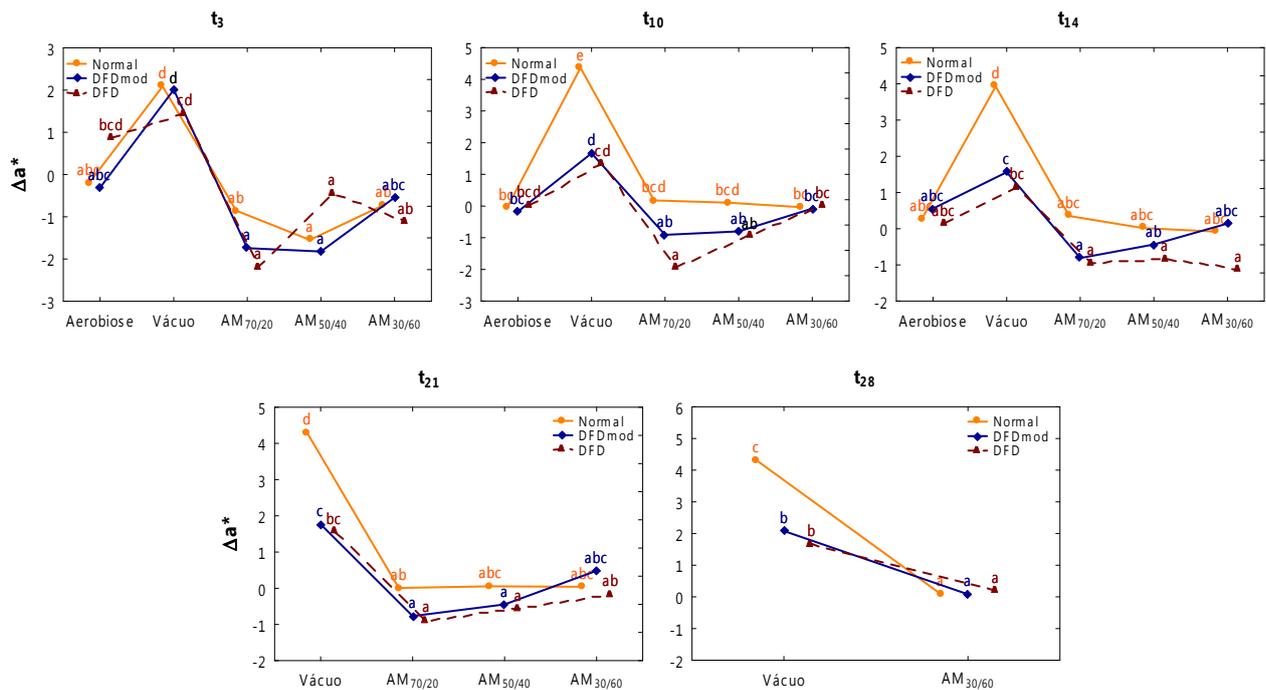


Figura 21- Interação grupo de pH_f e tipo de embalagem para o parâmetro Δa^* no t_3 , t_{10} , t_{14} , t_{21} e t_{28} (em cada tempo, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; $p < 0,05$).

Verifica-se, pela leitura da Figura 21, uma tendência para um maior Δa^* , logo maior “avermelhamento” em carne embalada sob vácuo. Para além disso, a partir do t_7 é muito evidente o efeito do pH_f no processo de avermelhamento, o qual é muito superior em carne Normal.

Em AMs, os valores de Δa^* são baixos, particularmente em carne com pH_f mais elevado, revelando a carne normal valores levemente superiores, excepto na $AM_{30/60}$ em todos os tempos e na $AM_{50/40}$ no t_3 .

III.3.2.3.3. Parâmetro b^* (b_0^* , b_{60}^* e Δb^*)

Os valores médios para o parâmetro b_0^* nas amostras de carne para os três grupos de pH_f e para os vários tipos de embalagem, nos distintos tempos (dias *pm*) de armazenamento, são mostrados no Quadro 20. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os efeitos do grupo de pH_f e do tipo de embalagem, bem como da interação (grupo de pH_f x tipo de embalagem). Os dados de análise de variância são apresentados no Quadro A.II.16 do anexo.

A Figura 22 ilustra a evolução dos valores de b_0^* nos três grupos de pH_f , para cada tipo de embalagem, ao longo do período de armazenamento. Os valores integrais que suportam estes gráficos são apresentados no Quadro A.II.16 do anexo.

Quadro 20- Médias (\pm desvio padrão) para o parâmetro b_0^* , de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem, no t₁ e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
pH_f									
Normal	3,26 \pm 0,42	9,07 \pm 2,57 ^b	9,00 \pm 0,75 ^{ab}	8,20 \pm 2,00 ^a	8,25 \pm 1,77 ^{ab}	8,21 \pm 1,83 ^{ab}	8,32 \pm 2,10	8,06 \pm 3,53 ^b	4,42 \pm 0,72 ^b
DFDmod	3,17 \pm 0,94	9,98 \pm 3,46 ^c	10,33 \pm 0,87 ^b	9,60 \pm 3,49 ^b	8,94 \pm 3,12 ^b	8,79 \pm 3,10 ^b	8,52 \pm 2,95	6,50 \pm 3,02 ^a	3,99 \pm 0,91 ^{ab}
DFD	2,68 \pm 0,88	8,05 \pm 3,49 ^a	7,61 \pm 2,11 ^a	8,06 \pm 3,06 ^a	8,22 \pm 3,04 ^a	7,75 \pm 2,98 ^a	7,82 \pm 3,11	6,32 \pm 3,13 ^a	3,21 \pm 0,38 ^a
Sig	ns	***	*	***	*	**	ns	**	*
Embalagem									
Aerobiose	3,04 \pm 0,78 [▲]	8,74 \pm 2,00 ^b	8,98 \pm 1,73	8,45 \pm 1,78 ^b	8,46 \pm 1,45 ^b	8,21 \pm 2,16 ^b	-	-	-
Vácuo	«	3,54 \pm 1,20 ^a	-	3,69 \pm 1,13 ^a	3,93 \pm 1,15 ^a	3,87 \pm 1,08 ^a	4,08 \pm 1,22 ^a	4,04 \pm 1,05	3,87 \pm 0,84
AM _{70/20}	«	11,71 \pm 1,10 ^d	-	10,94 \pm 1,43 ^d	10,67 \pm 1,47 ^d	10,18 \pm 1,59 ^c	10,05 \pm 1,70 ^b	-	-
AM _{50/40}	«	11,14 \pm 1,45 ^d	-	10,48 \pm 1,40 ^{cd}	9,93 \pm 1,35 ^{cd}	9,67 \pm 1,13 ^c	9,61 \pm 1,03 ^b	-	-
AM _{30/60}	«	10,03 \pm 1,28 ^c	-	9,55 \pm 1,26 ^c	9,37 \pm 0,97 ^{bc}	9,31 \pm 0,99 ^{bc}	9,16 \pm 1,03 ^b	9,88 \pm 1,57	-
Sig	-	***	-	***	***	***	***	***	-
pH_f x Emb									
Sig	-	***	-	***	***	**	**	ns	-

Para cada efeito, na mesma coluna, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente ($p < 0,05$).

ns-não significativo ($p \geq 0,05$); *-significativo ($p < 0,05$); **-muito significativo ($p < 0,01$); ***-altamente significativo ($p < 0,001$).

▲antes da embalagem.

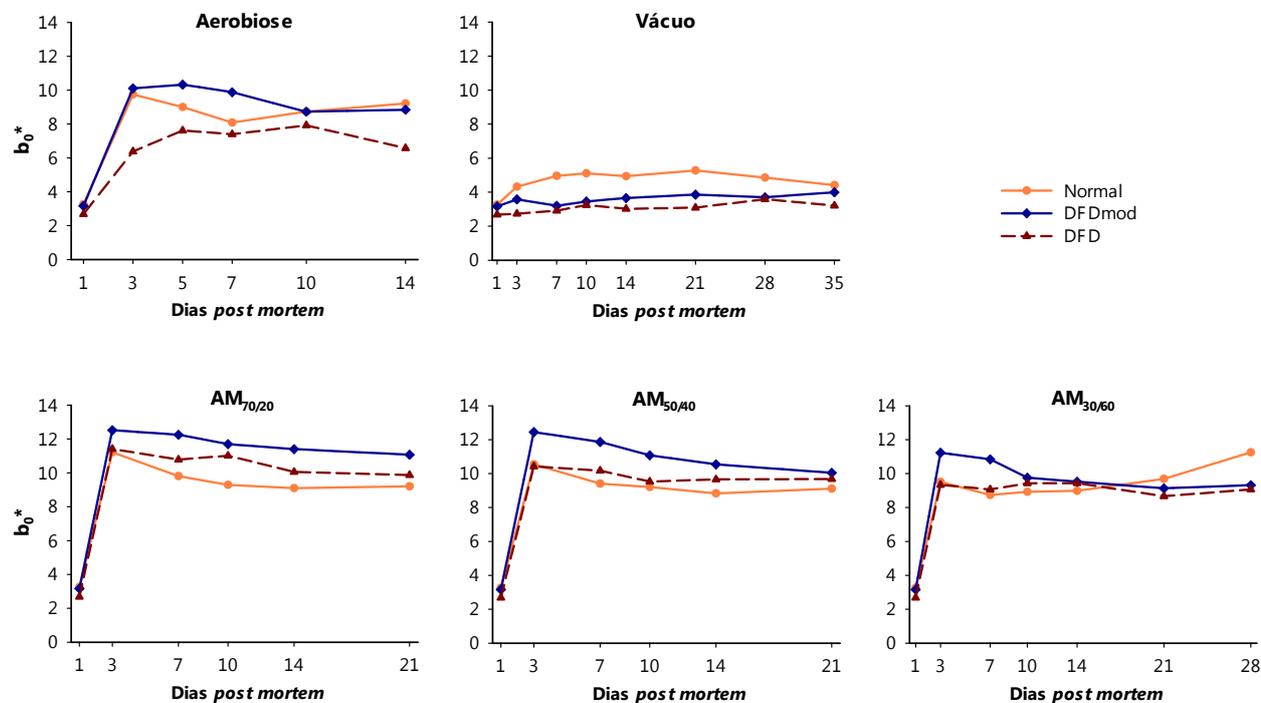


Figura 22- Evolução do parâmetro b_0^* ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40} e AM_{30/60}), de acordo o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD).

Pela análise da Figura 22 podemos verificar que a evolução do parâmetro b_0^* ao longo do tempo foi variável com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem. Em vácuo os teores parecem manter-se mais ou menos constantes ao longo do tempo para os três grupos de qualidade da carne, sendo que a carne Normal apresenta valores médios mais elevados, o que seria de esperar, pois a carne DFD apresenta uma menor componente amarela (b_0^* menor) do que a carne com pH_f Normal (Purchas, 1990; Wulf *et al.*, 2002). Contrariamente, em aerobiose e em AMs, tal facto não se verificou com a carne DFDmod a apresentar valores de b_0^* tendencialmente mais elevados. A carne Normal apresenta nas AMs valores inferiores, excepto na AM_{30/60} a partir do t_{21} revelando níveis superiores.

Correlações a destacar foram encontradas entre este parâmetro e os seguintes; L_0^* (0,65; $p < 0,001$), ΔL^* (-0,60; $p < 0,001$), a_0^* (0,50; $p < 0,001$), Δa^* (-0,69; $p < 0,001$), Δb^* (-0,76; $p < 0,001$), cor vermelho-vivo (E) (0,65; $p < 0,001$), e cor púrpura (E) (-0,85; $p < 0,001$) (anexo A.IV).

A análise de variância revelou que o grupo de pH_f (na maioria dos casos) e o tipo de embalagem influenciaram significativamente o parâmetro b_0^* , tendo-se verificado uma interacção significativa entre grupo de pH_f e tipo de embalagem em todos os tempos comuns aos dois efeitos, excepto no t_{28} .

Efeito do grupo de pH_f

Pela análise do Quadro 20 pode verificar-se que para a coordenada de cor b_0^* , o efeito do grupo de pH_f foi sempre significativo, excepto no t_1 e t_{21} .

O grupo Normal distinguiu-se significativamente dos outros dois grupos apenas no t_3 e do grupo DFD no t_3 , t_{28} e t_{35} , com valores de b_0^* mais elevados, indicando que a carne Normal é mais amarela do que a carne DFD. Guignot *et al.* (1994) e Purchas *et al.* (1999) referem correlações negativas significativas entre o pH_f de músculo *longissimus* de bovino e este parâmetro de cor.

O grupo DFDmod apenas se distinguiu dos outros dois grupos em simultâneo, no t_3 e t_7 , revelando-se diferente do grupo DFD, do t_3 ao t_{14} , revelando a carne DFDmod valores superiores comparativamente às outras carnes.

Efeito do tipo de embalagem

O tipo de embalagem exerceu um efeito sempre altamente significativo ($p < 0,001$) nos valores de b_0^* ao longo do tempo. As amostras embaladas sob vácuo apresentaram os valores de b_0^* significativamente mais baixos, logo menos amarela, distinguindo-se de todas as embalagens, em todos os tempos.

Os valores obtidos para a carne embalada em aerobiose diferenciaram-se dos obtidos nas outras embalagens, por apresentar valores inferiores em todos os tempos, excepto na AM_{30/60} no t_{10} e no t_{14} .

As carnes embaladas em AM_{70/20} e AM_{50/40} nunca se diferenciaram entre si, apresentando os valores mais elevados, logo com mais componente amarela. A AM_{30/60} distingue-se das restantes AMs no t_3 e da AM_{70/20} no t_7 e t_{10} , apresentando valores mais baixos.

Os menores valores de b_0^* observados na carne embalada sob vácuo, estão concordantes com os obtidos noutros estudos (Sørheim *et al.*, 1995) onde é referido um b^* menor em carne de bovino embalada sob vácuo do que em AM com 100 % de CO₂.

Interação grupo de pH_f e tipo de embalagem

Verificou-se uma interação significativa grupo de pH_f e tipo de embalagem ($p < 0,05$) nos tempos ilustrados pela Figura 23.

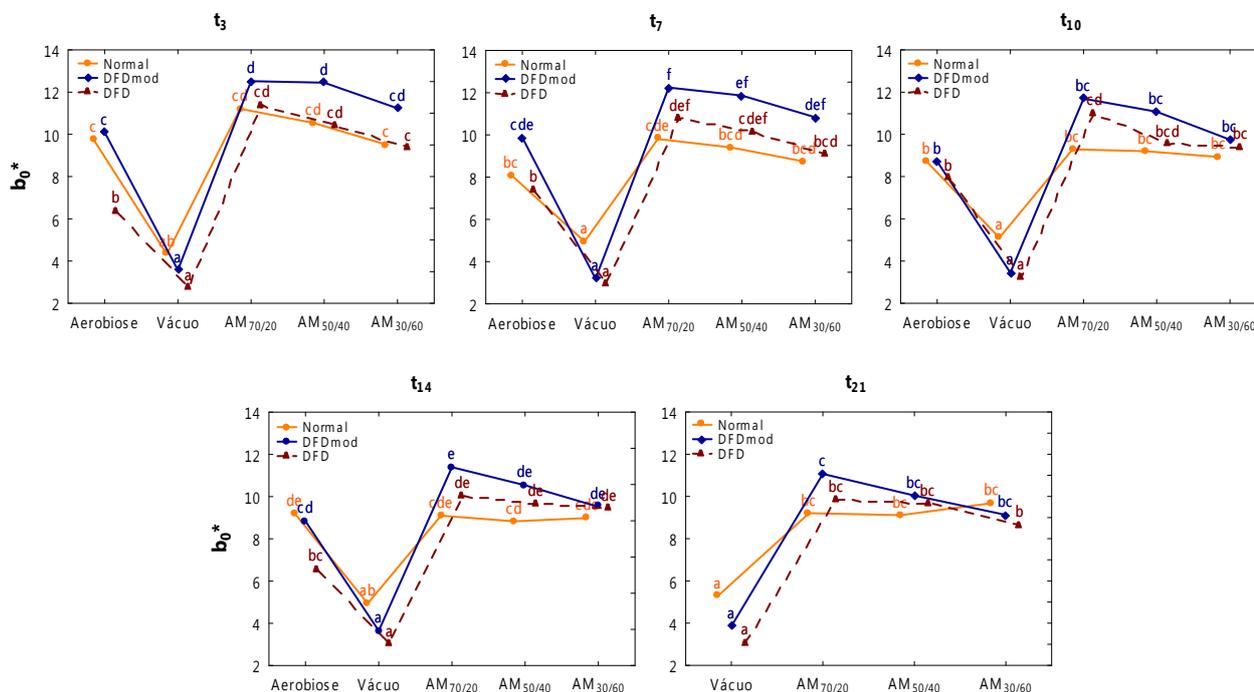


Figura 23- Interação grupo de pH_f e tipo de embalagem para o parâmetro b₀* no t₃, t₇, t₁₀, t₁₄ e t₂₁ (em cada tempo, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; $p < 0,05$).

Na Figura 23 observa-se que, a carne embalada em vácuo apresenta os valores b₀* inferiores às restantes embalagens, diferenciando significativamente das mesmas na maioria dos casos e em todos os casos, no t₇, t₁₀ e t₂₁. No t₃ e t₁₄, as carnes DFDmod e DFD embalada em vácuo diferenciam-se das restantes condições de embalagem. Nesta embalagem é a carne Normal a que apresenta os valores superiores ainda que não se apresentem significativamente diferentes nestes tempos ($p \geq 0,05$). Nas AMs o grupo de qualidade Normal apresenta os valores mais baixos comparativamente aos outros dois grupos.

No t₇, a carne DFDmod embalada nas três AMs apresenta valores que diferem significativamente dos observados em carne Normal nas mesmas condições de embalagem.

A Figura 23 parece então ilustrar a tendência para um b₀* maior, logo mais amarela, em carnes embaladas em AM_{70/20} e AM_{50/40} e com pH_f mais elevado. Os valores são muitas vezes superiores em carne DFDmod.

Os valores médios para o parâmetro b₆₀* nas amostras de carne para os três grupos de pH_f e para os vários tipos de embalagem, nos distintos tempos (dias *pm*) de armazenamento, são mostrados no Quadro 21. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os efeitos do grupo de pH_f e do tipo de embalagem, bem como da interação (grupo de pH_f x tipo de embalagem). Os parâmetros de análise de variância são apresentados no Quadro A.II.17 do anexo.

Quadro 21- Médias (\pm desvio padrão) para o parâmetro b_{60}^* , de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem, no t_1 e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
pH_f									
Normal	7,11 \pm 1,04 ^b	9,44 \pm 1,53 ^b	8,96 \pm 0,66 ^{ab}	9,20 \pm 0,97 ^b	9,31 \pm 0,97 ^b	9,27 \pm 0,94 ^b	9,36 \pm 1,39 ^b	10,74 \pm 1,61 ^b	9,68 \pm 0,67 ^b
DFDmod	5,58 \pm 1,04 ^{ab}	10,16 \pm 2,11 ^b	10,50 \pm 0,93 ^b	9,78 \pm 2,22 ^b	9,34 \pm 2,09 ^b	9,33 \pm 2,17 ^b	9,09 \pm 2,12 ^b	8,05 \pm 1,63 ^a	7,16 \pm 1,24 ^a
DFD	4,72 \pm 1,52 ^a	8,16 \pm 2,44 ^a	7,63 \pm 1,81 ^a	8,12 \pm 2,40 ^a	8,28 \pm 2,32 ^a	7,86 \pm 2,19 ^a	8,12 \pm 2,15 ^a	7,63 \pm 2,08 ^a	6,21 \pm 1,13 ^a
Sig	*	***	**	***	**	***	**	***	*
Embalagem									
Aerobiose	5,80 \pm 1,53 [▲]	9,08 \pm 1,71 ^b	9,03 \pm 1,67	8,80 \pm 1,43 ^b	8,51 \pm 1,48 ^b	8,48 \pm 1,97 ^b	-	-	-
Vácuo	«	6,34 \pm 1,76 ^a	-	6,52 \pm 2,14 ^a	7,11 \pm 2,46 ^a	6,86 \pm 2,41 ^a	7,04 \pm 2,49 ^a	7,55 \pm 2,09	7,69 \pm 1,80
AM _{70/20}	«	10,85 \pm 1,40 ^d	-	10,43 \pm 1,66 ^c	10,23 \pm 1,55 ^c	10,00 \pm 1,31 ^c	9,93 \pm 1,39 ^b	-	-
AM _{50/40}	«	10,42 \pm 1,54 ^{cd}	-	9,94 \pm 1,30 ^c	9,68 \pm 1,31 ^{bc}	9,57 \pm 1,14 ^{bc}	9,53 \pm 1,00 ^b	-	-
AM _{30/60}	«	9,57 \pm 1,32 ^{bc}	-	9,47 \pm 1,18 ^{bc}	9,36 \pm 0,96 ^{bc}	9,19 \pm 1,05 ^{bc}	8,93 \pm 1,35 ^b	10,06 \pm 1,58	-
Sig	-	***	-	***	***	***	***	***	-
pH_f x Emb									
Sig	-	*	-	***	***	***	***	ns	-

Para cada efeito, na mesma coluna, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente ($p < 0,05$).
 ns-não significativo ($p \geq 0,05$); *-significativo ($p < 0,05$); **-muito significativo ($p < 0,01$); ***-altamente significativo ($p < 0,001$).
 ▲antes da embalagem.

A Figura 24 ilustra a evolução dos valores de b_{60}^* nos três grupos de pH_f , para cada tipo de embalagem, ao longo do período de armazenamento. Os valores integrais que suportam estes gráficos são apresentados no Quadro A.III.17 em anexo.

Pela análise da Figura 24 podemos verificar que a evolução de b_{60}^* ao longo do tempo variou com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem. Em vácuo os teores parecem manter-se mais ou menos constantes ao longo do tempo para os grupos DFDmod e DFD e inferiores aos obtidos em carne Normal, como referido por vários autores (Purchas, 1990; Wulf *et al.*, 2002). Em carne Normal, verificou-se um aumento até ao t_{10} , apresentando nesse tempo os valores médios mais elevados, mantendo-se os níveis mais ou menos constantes a partir desse dia. Ao contrário da carne Normal, na carne com pH_f elevado não foi observado o aumento notório deste parâmetro ao longo do período *pm*. Possivelmente, nesta carne a diminuição da actividade respiratória dos tecidos ocorre de uma forma mais lenta e/ou a redução da actividade do sistema reductor da metamioglobina é mais rápida, comparativamente à carne Normal. Nas restantes embalagens, tal facto não se verificou, excepto no t_1 , com a carne DFDmod a apresentar valores de b_{60}^* mais elevados a partir do t_3 , ocupando a carne Normal muitas vezes uma posição inferior, excepto na AM_{30/60} no t_{28} .

Correlações a destacar foram encontradas entre este parâmetro e os seguintes; L_{60}^* (0,69; $p < 0,001$), a_{60}^* (0,43; $p < 0,001$), cor vermelho-vivo (0,52; $p < 0,001$), cor vermelho-escuro (-0,62; $p < 0,001$) e cor púrpura (-0,55; $p < 0,001$) (anexo A.IV).

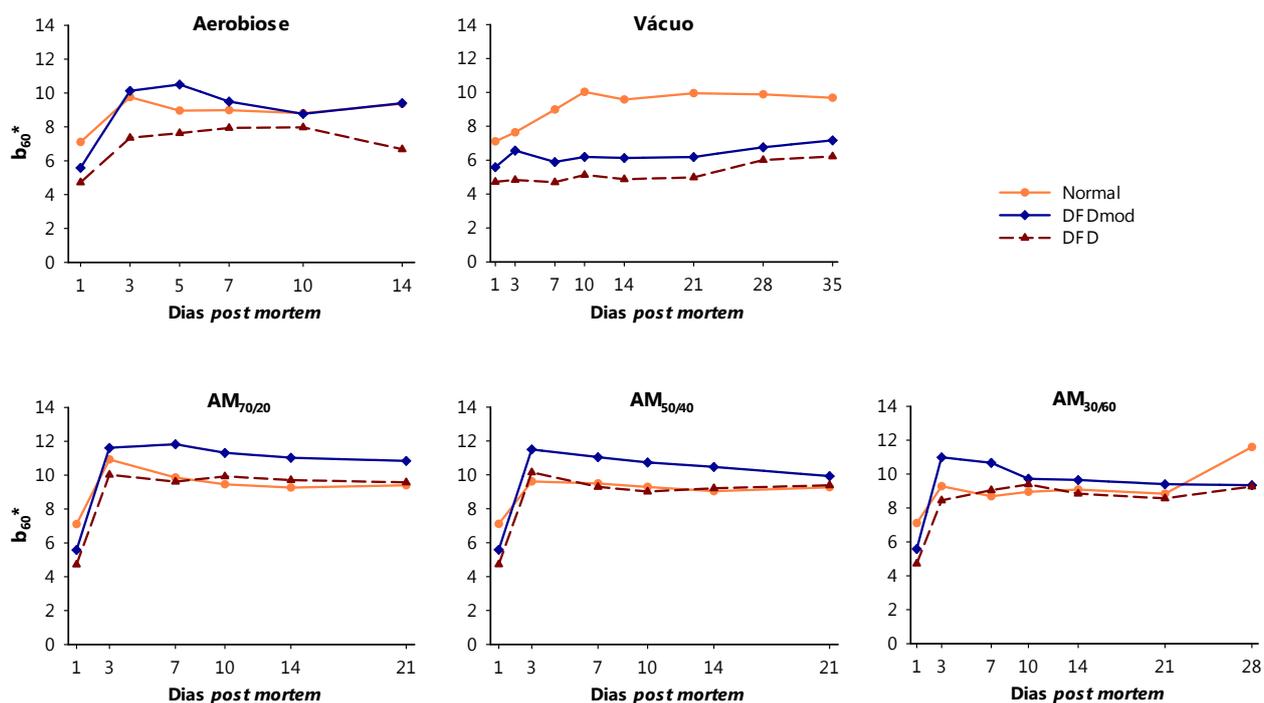


Figura 24- Evolução do parâmetro b_{60}^* ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40} e AM_{30/60}), de acordo o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD).

A análise de variância revelou que o grupo de pH_f e o tipo de embalagem influenciaram significativamente o parâmetro b_{60}^* , verificando-se a existência de interações significativas entre grupo de pH_f e tipo de embalagem em todos os tempos, excepto no t_{28} .

Pela análise do Quadro 21 pode verificar-se que para a coordenada de cor b_{60}^* , o efeito do grupo de pH_f foi sempre significativo. O grupo Normal distinguiu-se sempre significativamente do grupo DFD em todos os dias *pm*, com valores superiores aos do grupo DFD, indicando que a carne Normal é mais amarela do que a carne DFD. Isto poderá estar relacionado com uma maior estabilidade da cor e menor tendência para a formação de metamioglobina, de cor castanha, em carne com pH_f elevado (Ledward *et al.*, 1986). O grupo DFDmod apenas se distinguiu do Normal no t_{28} e t_{35} , não se revelando diferente do grupo DFD nesses tempos.

Efeito do tipo de embalagem

O tipo de embalagem exerceu um efeito sempre altamente significativo ($p < 0,001$) sobre a coordenada de cor b_{60}^* . As amostras embaladas sob vácuo apresentaram os valores de b_{60}^* mais baixos relativamente às restantes, logo menos amarela. Também estes valores se apresentam superiores aos observados no momento da abertura (b_0^*) desta embalagem, devido ao facto desta medição ser realizada aos 60 min após abertura da embalagem (b_{60}^*), com a resultante formação de oximioglobina. Os valores obtidos para a carne embalada em aerobiose apenas se diferenciaram, em todos os tempos simultaneamente, dos

obtidos em vácuo e em AM_{70/20}, apresentando valores sempre inferiores aos das outras duas embalagens. Não se observaram diferenças significativas entre as carnes embaladas em aerobiose e as embaladas em AM_{30/60} em todos os tempos, bem como entre aerobiose e AM_{50/40} no t₁₀ e no t₁₄.

Interação grupo de pH_f e tipo de embalagem

Verificou-se uma interação significativa entre o grupo de pH_f e tipo de embalagem ($p < 0,05$) nos tempos ilustrados pela Figura 25.

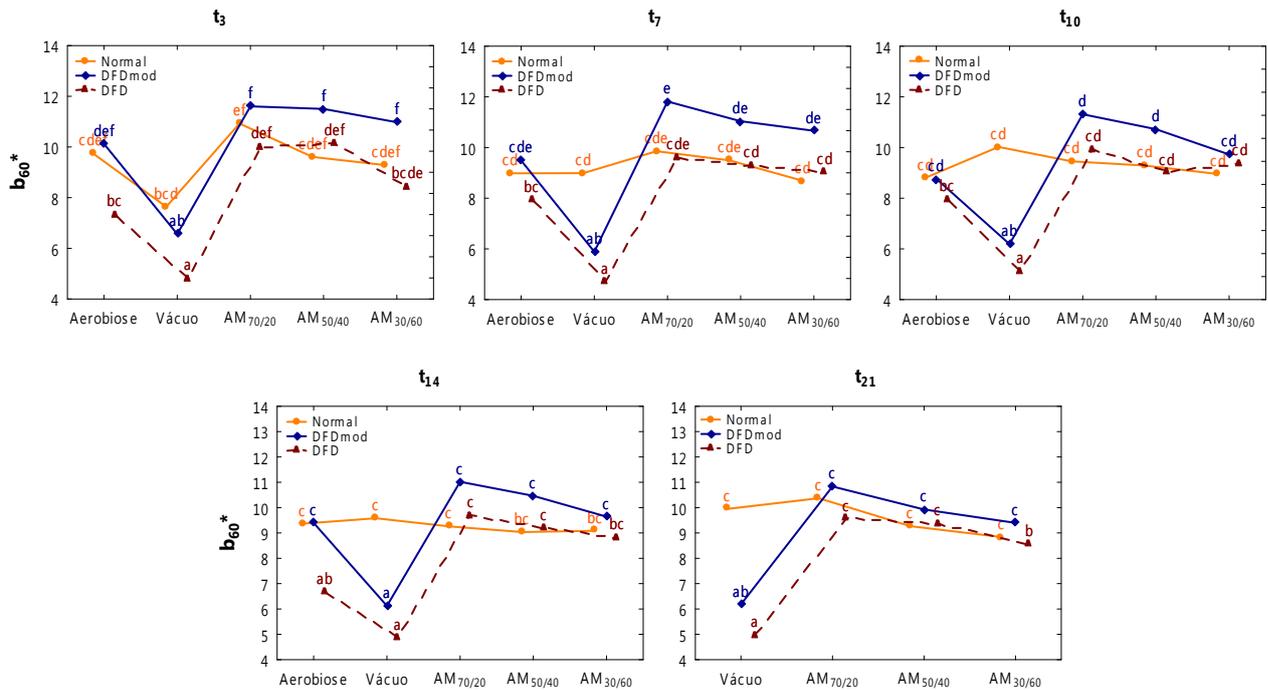


Figura 25- Interação grupo de pH_f e tipo de embalagem para o parâmetro b₆₀* no t₁₀, t₁₄, t₂₁ e t₂₈ (em cada tempo, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; $p < 0,05$).

Na Figura 25 constata-se uma tendência para um b₆₀* mais ou menos constante em todas as embalagens em carne Normal, com ausência de diferenças significativas entre todas as embalagens, a partir do t₇. Observa-se que sob vácuo, esta carne é a que apresenta os valores de b₆₀* superiores, diferenciando significativamente das carnes DFDmod e DFD, excepto no t₃ no qual a carne Normal se distingue da DFD. Esta interação explica a maior dificuldade de avermelhamento que foi observada em carnes de pH_f elevado, que permanecem com uma cor mais púrpura (com valores de b₆₀* mais reduzidos).

Nas AMs, o grupo de qualidade DFDmod apresenta os valores mais elevados comparativamente aos outros dois grupos, nunca se diferenciando deles, exceptuando-se um caso de diferença significativa no t₂₁ relativamente a carne DFD embalada em AM_{30/60}.

Em aerobiose, a carne DFD apresenta os valores mais baixos, diferenciando apenas da DFDmod no t₃ e de ambas no t₁₄.

Os valores médios para o parâmetro Δb* nas amostras de carne para os três grupos de pH_f e para os vários tipos de embalagem, nos distintos tempos (dias *pm*) de armazenamento, são mostrados no Quadro

22. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os efeitos do grupo de pH_f e do tipo de embalagem, bem como da interação (grupo de pH_f x tipo de embalagem). Os parâmetros de análise de variância são apresentados no Quadro A.II.18 do anexo.

Quadro 22- Médias (± desvio padrão) para o parâmetro Δb*, de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem, no t₁ e ao longo do tempo (dias pm) de armazenamento.

	Tempo (dias pm)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
pH_f									
Normal	3,85±1,12 ^b	0,37±1,76	-0,04±0,25	1,00±1,88 ^b	1,05±2,00 ^b	1,06±1,90 ^c	1,04±2,48 ^b	2,68±2,59 ^b	5,26±1,34 ^b
DFDmod	2,41±0,57 ^a	0,18±1,57	0,17±0,24	0,18±1,51 ^a	0,41±1,35 ^a	0,54±1,16 ^b	0,56±1,28 ^{ab}	1,55±1,65 ^a	3,17±0,37 ^a
DFD	2,04±0,75 ^a	0,10±1,58	0,02±0,71	0,05±1,27 ^a	0,06±1,16 ^a	0,11±1,15 ^a	0,30±1,14 ^a	1,31±1,34 ^a	3,01±0,78 ^a
Sig	**	ns	ns	***	***	***	*	***	**
Embalagem									
Aerobiose	2,77±1,13 [▲]	0,33±0,62 ^b	0,05±0,44	0,35±1,46 ^b	0,05±0,60 ^a	0,27±0,74 ^a	-	-	-
Vácuo	«	2,80±0,92 ^c	-	2,84±1,14 ^c	3,18±1,45 ^b	2,99±1,45 ^b	2,96±1,46 ^b	3,50±1,43	3,81±1,36
AM _{70/20}	«	-0,86±0,75 ^a	-	-0,51±1,05 ^a	-0,44±0,80 ^a	-0,18±0,71 ^a	-0,12±0,85 ^a	-	-
AM _{50/40}	«	-0,72±1,40 ^a	-	-0,54±0,68 ^a	-0,26±0,50 ^a	-0,11±0,46 ^a	-0,08±0,30 ^a	-	-
AM _{30/60}	«	-0,46±0,59 ^{ab}	-	-0,08±0,51 ^{ab}	-0,01±0,37 ^a	-0,12±0,51 ^a	-0,22±1,43 ^a	0,19±0,38	-
Sig	-	***	-	***	***	***	***	***	-
pH_f x Emb									
Sig	-	*	-	ns	***	***	***	***	-

Para cada efeito, na mesma coluna, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente (p<0,05).
 ns-não significativo (p≥0,05); *-significativo (p<0,05); **-muito significativo (p<0,01); ***-altamente significativo (p<0,001).
 ▲antes da embalagem.

A Figura 26 ilustra a evolução dos valores de Δb* nos três grupos de pH_f, para cada tipo de embalagem, ao longo do período de armazenamento. Os valores integrais que suportam estes gráficos são apresentados no Quadro A.III.18 do anexo.

Pela análise da Figura 26 destaca-se o facto da carne pertencente aos grupo Normal apresentar em vácuo sempre valores superiores aos restantes grupos, com a carne DFD a apresentar a menor capacidade de "avermelhamento". De igual forma ao observado para o Δa*, os valores de Δb* são particularmente elevados no t₁, comparativamente aos outros tempos, em todas as embalagens exceptuando o vácuo.

Correlações a destacar foram encontradas entre este parâmetro e os seguintes: ΔL* (0,72; p<0,001), Δa* (0,93; p<0,001), b₀* (-0,76; p<0,001), cor vermelho-vivo (E) (-0,54; p<0,001), e cor púrpura (E) (0,73; p<0,001) (anexo A.IV).

A análise de variância revelou que o grupo de pH_f e o tipo de embalagem influenciaram significativamente o parâmetro Δb*, tendo-se verificado uma interação significativa entre grupo de pH_f e tipo de embalagem em todos os tempos, excepto no t₃.

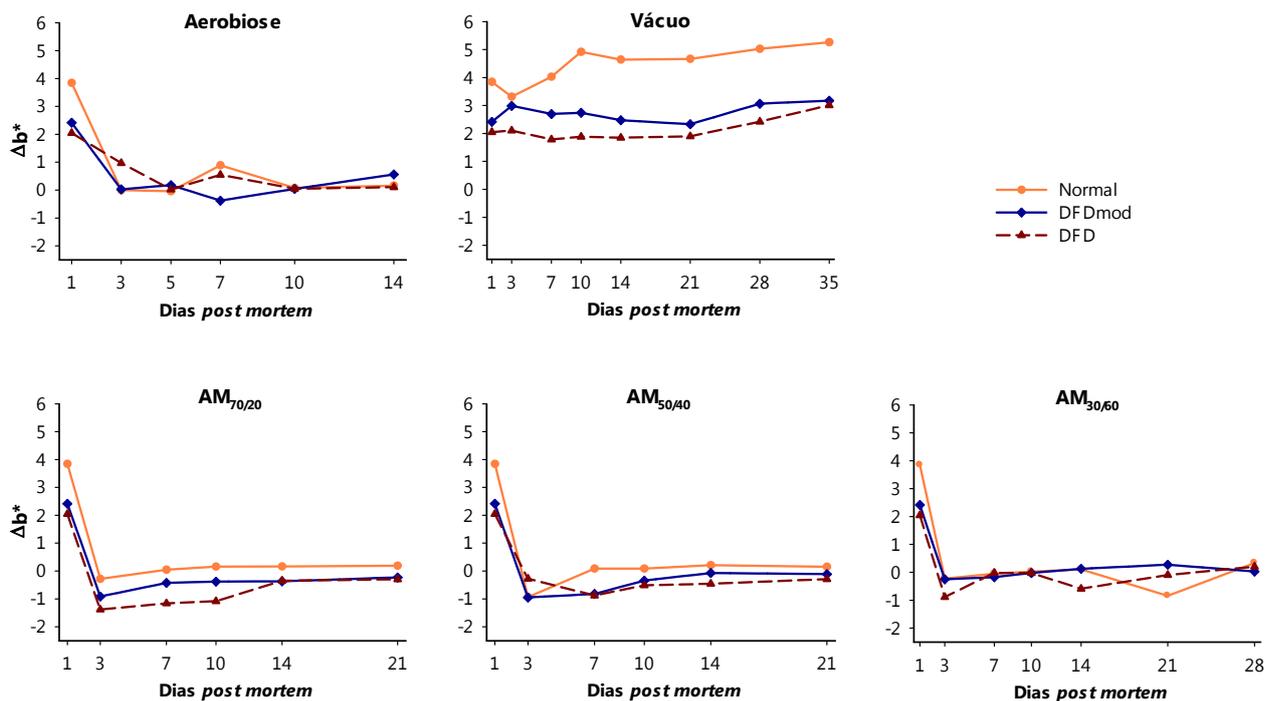


Figura 26- Evolução do parâmetro Δb^* ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40} e AM_{30/60}), de acordo o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD).

Efeito do grupo de pH_f

Pela análise do Quadro 22 pode verificar-se que o grupo de pH_f teve um efeito significativo em todos os tempos, excepto no t₃ e t₅. Em todos os dias *pm* a carne DFD obteve os menores valores, distinguindo-se ($p < 0,05$) do grupo Normal. No dia 35 *pm* a capacidade de “avermelhamento” da carne Normal é, para este parâmetro, próxima do dobro da capacidade verificada em carne DFD. Exceptuando no dia 14 *pm*, o grupo DFDmod não se distinguiu do grupo DFD, ainda que apresente valores médios superiores ao mesmo.

Efeito do tipo de embalagem

O tipo de embalagem exerceu um efeito sempre altamente significativo ($p < 0,001$) sobre o parâmetro Δb^* , em todos os dias *pm*.

As amostras embaladas sob vácuo apresentaram os valores de Δb^* mais elevados relativamente às restantes, logo com uma maior capacidade de oxigenação. No t₇, a carne embalada sob vácuo distinguiu-se de todas as outras condições de embalagem, com valores de 2,84 em média. Segundo alguns autores (Hood, 1980; O’Keeffe e Hood, 1982), a carne maturada sob vácuo apresenta, quando exposta ao ar, um “avermelhamento” mais intenso. Esta observação é apoiada pelos resultados apresentados, mas apenas em carne com pH_f Normal e ligeiramente em carne DFDmod, sendo portanto evidência da interacção pH_f e tipo de embalagem. Estes resultados estão em concordância com os obtidos em trabalhos anteriores no mesmo músculo e raça bovina (Silva, 1997, 2006).

Do t_3 ao t_{21} , a carne embalada em AMs apresentou valores de Δb^* sempre negativos, o que poderá estar relacionado com um ligeiro esbatimento da cor quando ocorre exposição das amostras ao ar, o qual tem menos concentração de O_2 do que o interior das AMs.

Interação grupo de pH_f e tipo de embalagem

Verificou-se uma interação significativa entre o grupo de pH_f e o tipo de embalagem ($p < 0,05$) nos tempos ilustrados pela Figura 27.

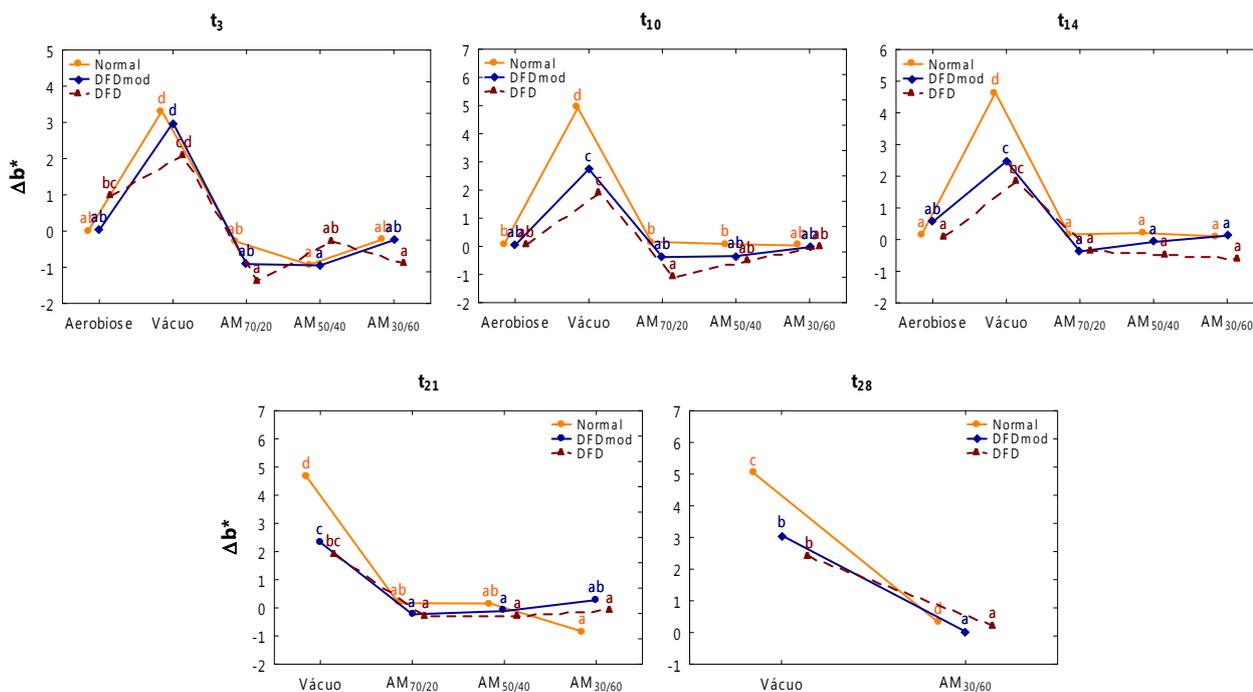


Figura 27- Interação grupo de pH_f e tipo de embalagem para o parâmetro Δb^* no t_{10} , t_{14} , t_{21} e t_{28} (em cada tempo, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; $p < 0,05$).

Na Figura 27 constata-se uma tendência para um Δb^* mais elevado em carne embalada sob vácuo. Observa-se que sob vácuo, em carne Normal os valores de Δb^* são superiores relativamente aos outros grupos de qualidade, diferindo significativamente dos mesmos, a partir do t_{10} . Nas restantes embalagens, não se observam diferenças significativas, apresentando-se os valores de Δb^* mais ou menos constantes em todos os tempos. Observam-se contudo diferenças significativas em AM_{70/20} entre carne Normal e DFD e em AM_{30/60} entre carne Normal e os outros dois grupos de qualidade.

Pela comparação dos valores ΔL^* , Δa^* e Δb^* , na embalagem sob vácuo, observou-se que este "avermelhamento" é caracterizado pelo aumento acentuado dos valores a^* e b^* enquanto o parâmetro L^* aumenta apenas ligeiramente, tal como referido por MacDougall (1994). A formação da oximioglobina durante a exposição da carne ao ar, responsável pelo "avermelhamento" da carne é referida como estando correlacionada com as coordenadas de cor a^* e b^* (Johansson, 1989; McKenna *et al.*, 2005) ou apenas com a coordenada a^* (Okeudo e Moss, 2005).

III.3.3. Parâmetros sensoriais

III.3.3.1. Aspecto da carne avaliada pelo painel

III.3.3.1.1. Cor

Do Quadro 23 ao Quadro 30 apresentam-se os valores médios para os atributos de cor (vermelho-vivo, vermelho-escuro, púrpura e castanha) nas amostras de carne embalada (E) e 60 min após abertura da embalagem, para os três grupos de pH_f e para os vários tipos de embalagem, nos distintos tempos (dias *pm*) de armazenamento. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os efeitos do grupo de pH_f e do tipo de embalagem, bem como da interação (grupo de pH_f x tipo de embalagem). Os parâmetros de análise de variância são apresentados nos Quadros A.II.19 a A.II.26 do anexo.

No Quadro 23 apresentam-se os valores médios para a **cor vermelho-vivo** (E), avaliada pelo painel, nas amostras de carne embalada para os três grupos de pH_f e para os vários tipos de embalagem, nos distintos tempos (dias *pm*) de armazenamento. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os efeitos do grupo de pH_f e do tipo de embalagem, bem como da interação (grupo de pH_f x tipo de embalagem). Os parâmetros de análise de variância são apresentados no Quadro A.II.19 em anexo.

Quadro 23- Médias (\pm desvio padrão) para a cor vermelho-vivo avaliada pelo painel, na carne embalada (E), de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem, no t₁ e ao longo do tempo de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
pH_f									
Normal	0,49 \pm 0,75	2,19 \pm 1,57 ^b	0,53 \pm 0,72	0,63 \pm 0,91 ^a	0,30 \pm 0,66 ^a	0,22 \pm 0,38 ^a	0,03 \pm 0,07 ^a	0,02 \pm 0,06 ^a	0,05 \pm 0,07 ^{ab}
DFDmod	0,00 \pm 0,00	2,74 \pm 1,83 ^c	1,69 \pm 1,05	2,21 \pm 1,57 ^b	1,91 \pm 1,63 ^b	1,88 \pm 1,73 ^b	1,81 \pm 1,69 ^b	0,31 \pm 0,43 ^{ab}	0,28 \pm 0,30 ^b
DFD	0,00 \pm 0,00	1,55 \pm 1,44 ^a	1,11 \pm 0,57	2,38 \pm 1,74 ^b	2,11 \pm 1,64 ^b	2,04 \pm 1,75 ^b	2,01 \pm 1,68 ^b	0,70 \pm 1,21 ^b	0,00 \pm 0,00 ^a
Sig	ns	***	ns	***	***	***	***	*	*
Embalagem									
Aerobiose	0,17 \pm 0,48 [▲]	1,22 \pm 1,09 ^b	1,08 \pm 0,94	1,25 \pm 1,38 ^b	0,92 \pm 1,04 ^b	1,22 \pm 1,33 ^b	-	-	-
Vácuo	«	0,03 \pm 0,11 ^a	-	0,00 \pm 0,00 ^a	0,01 \pm 0,05	0,08 \pm 0,23			
AM _{70/20}	«	3,94 \pm 0,78 ^d	-	3,02 \pm 1,28 ^c	2,74 \pm 1,72 ^c	2,66 \pm 1,92 ^c	2,64 \pm 1,92 ^d	-	-
AM _{50/40}	«	3,35 \pm 1,10 ^d	-	2,76 \pm 1,40 ^c	2,32 \pm 1,53 ^c	2,15 \pm 1,61 ^c	1,83 \pm 1,49 ^c	-	-
AM _{30/60}	«	2,28 \pm 1,03 ^c	-	1,66 \pm 1,49 ^b	1,22 \pm 1,36 ^b	0,88 \pm 1,18 ^b	0,66 \pm 0,83 ^b	0,67 \pm 1,00	-
Sig	-	***	-	***	***	***	***	**	-
pH_f x Emb									
Sig	-	ns	-	***	***	***	***	*	-

Para cada efeito, na mesma coluna, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente ($p < 0,05$).
 ns-não significativo ($p \geq 0,05$); *-significativo ($p < 0,05$); **-muito significativo ($p < 0,01$); ***-altamente significativo ($p < 0,001$).
 ▲antes da embalagem.

A Figura 28 ilustra a evolução da cor vermelho-vivo, avaliada pelo painel, na carne embalada (E), nos três grupos de pH_f , para cada tipo de embalagem, ao longo do período de armazenamento. Os valores integrais que suportam estes gráficos são apresentados no Quadro A.II.2.1 do anexo.

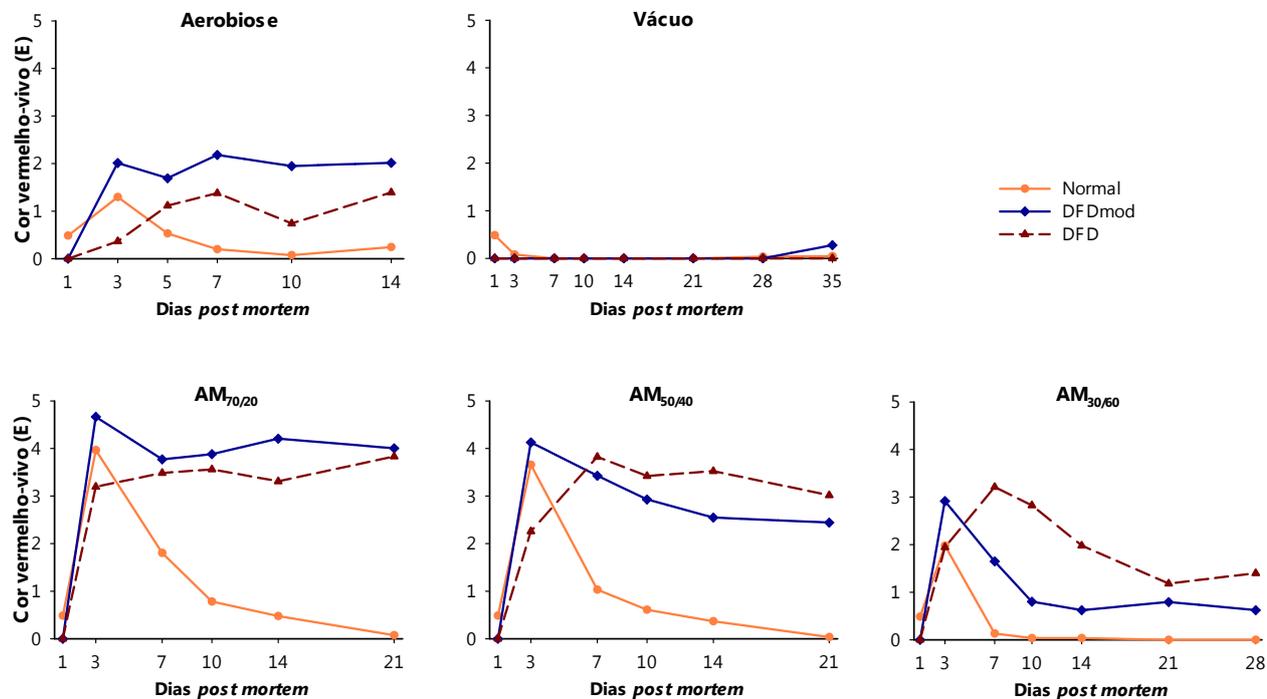


Figura 28- Evolução da cor vermelho-vivo (E) ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40} e AM_{30/60}), de acordo o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD).

Pela análise da Figura 28 podemos verificar que a evolução ao longo do tempo da cor vermelho-vivo em carne embalada (E) variou bastante com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem. Em carne embalada sob vácuo, praticamente não se utilizou o atributo de cor vermelho-vivo, que se mantém constantes ao longo do tempo, para os três grupos de qualidade da carne, o que seria de esperar pois esta carne apresenta uma cor púrpura devido à formação de mioglobina reduzida e não uma cor vermelho-vivo. De acordo com o painel de provadores, as carnes DFD e DFDmod apresentam-se mais vermelho-vivo do que a carne Normal, a partir do t_5 em aerobiose e a partir do t_7 nas AMs, comportamento semelhante ao observado para o parâmetro a_0^* anteriormente descrito. Nestas, os valores mais baixos são observados em carne embalada na embalagem com maior concentração de CO_2 .

Este parâmetro correlacionou-se de forma mais evidente e significativa ($p < 0,001$) com o a_0^* (0,74), b_0^* (0,65), apresentando ainda correlações significativas com outros parâmetros analisados (anexo A.IV).

A análise de variância revelou que o grupo de pH_f e o tipo de embalagem influenciaram significativamente a cor vermelho-vivo (E), tendo-se verificado a existência de interações significativas entre grupo de pH_f e tipo de embalagem em todos os tempos, excepto no t_3 .

Efeito do grupo de pH_f

Pela análise do Quadro 23 pode verificar-se que o grupo de pH_f teve um efeito significativo nos valores atribuídos para a cor vermelho-vivo (E), excepto no t₁ e t₅.

Para este atributo de cor, no t₃ os valores foram inferiores no grupo DFD, seguidos do grupo Normal e depois do DFDmod, com os valores mais elevados, com ocorrência de diferenças significativas entre si. Após este tempo e até ao t₂₁ o grupo Normal apresentou, sempre, valores médios significativamente inferiores aos dos outros dois grupos de pH_f.

No t₃₅, em carne DFDmod obteve-se uma média de 0,38, enquanto em carne DFD nunca foi atribuída esta cor. Neste tempo a carne Normal nunca se diferenciou das outras, com uma média de 0,05.

Efeito do tipo de embalagem

Pela análise do Quadro 23 pode verificar-se que o tipo de embalagem exerceu um efeito significativo para a cor vermelho-vivo (E) ($p < 0,01$ no t₂₈ e $p < 0,001$ nos restantes). Em vácuo, verificou-se praticamente uma ausência de utilização desta escala, com valores médios de 0,0 ao longo do tempo, sendo significativamente distintos dos restantes casos, devendo-se a formação preferencial de metamioglobina reduzida que confere à carne uma coloração púrpura (Renerre, 1990; Smulders *et al.*, 1991). Depois destas, as médias mais baixas foram obtidas em carne embalada em aerobiose e em AM_{30/60}, não revelando diferenças entre si, mas que diferiram estatisticamente das obtidas nas restantes embalagens. As carnes embaladas em AM_{70/20} e em AM_{50/40}, são as que apresentam os valores médios para este atributo mais elevados, não se distinguindo, excepto no t₂₁. A AM_{70/20} é a que apresenta os valores mais elevados ($2,64 \pm 1,92$ no t₂₁). A classificação como mais vermelho-vivo nestas atmosferas é compreensível, uma vez que a presença de elevadas concentrações de O₂ no interior da embalagem tende a favorecer a formação de oximioglobina.

Interação grupo de pH_f e tipo de embalagem

Verificou-se a ocorrência de interação significativa em cinco tempos ilustrados pela Figura 29 Observou-se que na maioria dos casos o efeito do pH_f fez-se sentir de acordo com o tipo de embalagem. Em vácuo, não se observaram diferenças significativas entre grupos de pH_f, com valores médios de zero em todos os grupos de pH_f em todos os tempos. Contrariamente, em aerobiose a carne Normal, com os menores valores, distinguiu-se significativamente da carne DFDmod, com os valores mais altos, no t₇ e t₁₀.

Em carne Normal, apenas se detectaram diferenças significativas entre embalagens no t₇ em carne embalada em AM_{70/20} e as restantes condições.

As carnes DFDmod e DFD embaladas em AM_{70/20} e AM_{50/40}, não se diferenciaram entre si do t₇ ao t₁₄, mas revelaram sempre diferenças significativas relativamente à carne Normal, apresentando esta última os valores mais baixos e que se mantêm em zero no t₂₁. Em AM_{30/60}, a carne DFD é a que apresenta os valores mais elevados, a distinguir-se sempre da carne Normal em todos os tempos e da DFDmod no t₁₀. Nos outros tempos, nesta condição de embalagem a carne DFDmod não se distingue de ambas.

Esta interação decorre fundamentalmente da ausência de cor vermelho-vivo em carne Normal embalada em em aerobiose ou em AMs.

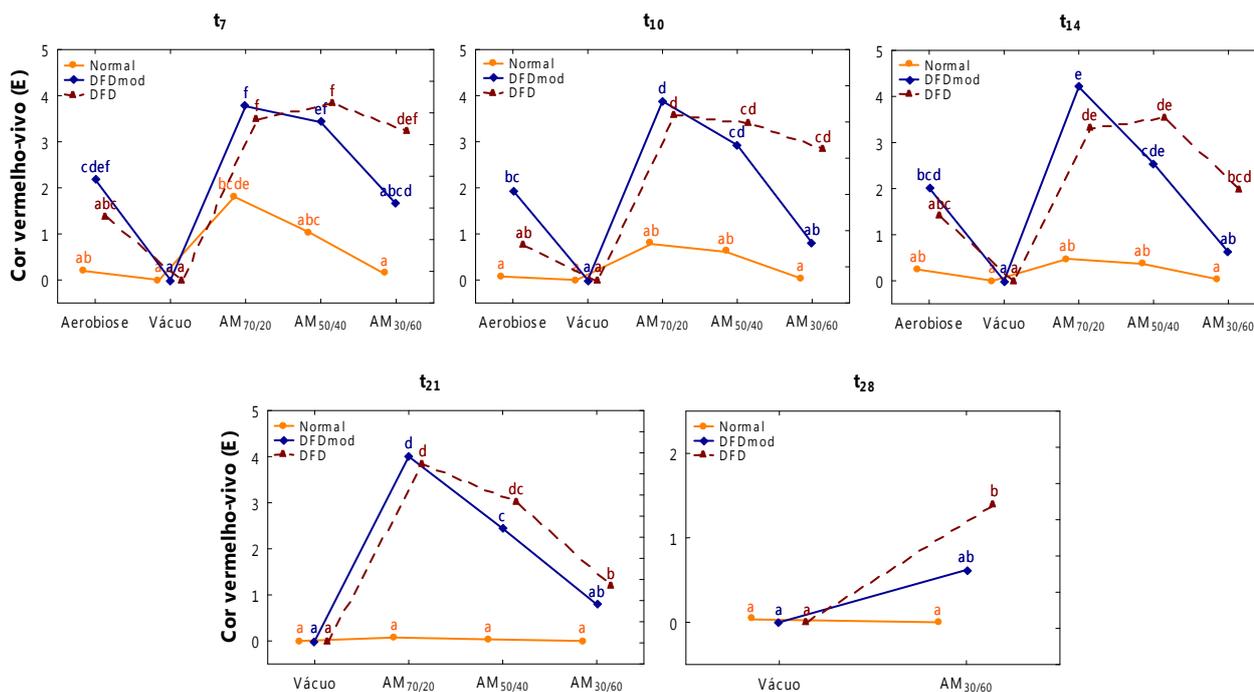


Figura 29- Interação grupo de pH_f e tipo de embalagem para a cor vermelho-vivo (E) no t₇, t₁₀, t₁₄, t₂₁ e t₂₈ (em cada tempo, médias que não possuem letras iguais diferem significativamente; p < 0,05).

Os valores médios para a cor vermelho-vivo avaliada pelo painel, 60 min após abertura da embalagem, nas amostras de carne para os três grupos de pH_f e para os vários tipos de embalagem, nos distintos tempos (dias *pm*) de armazenamento, são mostrados no Quadro 24. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os efeitos do grupo de pH_f e do tipo de embalagem, bem como da interação (grupo de pH_f x tipo de embalagem). Os parâmetros de análise de variância são apresentados no Quadro A.II.20 do anexo.

A Figura 30 ilustra a evolução da cor vermelho-vivo, avaliada pelo painel, após abertura de embalagem, nos três grupos de pH_f, para cada tipo de embalagem, ao longo do período de armazenamento. Os valores integrais que suportam estes gráficos são apresentados no Quadro A.III.20 do anexo.

Pela análise da Figura 30 podemos verificar que a evolução ao longo do tempo da cor vermelho-vivo, após abertura da embalagem, variou bastante de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem. Em carne embalada sob vácuo, é nítida a diferença de valores relativamente à carne embalada, passando a carne a apresentar-se mais vermelho vivo, após abertura de embalagem e o respectivo período de "avermelhamento". Este facto é mais evidente em carne Normal, a qual apresenta os valores mais elevados, superando as 3 unidades no t₁₀. Estes resultados são concordantes com os obtidos para o parâmetro Δa* em que foi evidenciado um "avermelhamento" superior na carne do grupo Normal embalada sob vácuo.

Quadro 24- Médias (\pm desvio padrão) para a cor vermelho-vivo avaliada pelo painel, 60 min após abertura da embalagem, de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem, no t₁ e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
pH_f									
Normal	1,38 \pm 1,16 ^b	2,15 \pm 1,16 ^b	0,47 \pm 0,69	1,23 \pm 1,06	0,97 \pm 1,34 ^a	0,77 \pm 1,21 ^a	0,60 \pm 1,08 ^a	1,17 \pm 1,31	2,45 \pm 0,79 ^b
DFDmod	0,25 \pm 0,50 ^a	2,04 \pm 1,06 ^b	1,77 \pm 1,22	1,65 \pm 1,09	1,58 \pm 1,13 ^b	1,52 \pm 1,14 ^b	1,61 \pm 1,16 ^b	0,66 \pm 0,90	0,52 \pm 0,48 ^a
DFD	0,00 \pm 0,00 ^a	0,95 \pm 0,96 ^a	1,05 \pm 0,39	1,31 \pm 1,28	1,22 \pm 1,01 ^{ab}	1,33 \pm 1,36 ^b	1,04 \pm 1,02 ^a	0,48 \pm 0,57	0,27 \pm 0,23 ^a
Sig	*	***	ns	ns	**	**	***	ns	***
Embalagem									
Aerobiose	0,56 \pm 0,95 [▲]	1,37 \pm 0,97 ^{ab}	1,10 \pm 0,96	0,97 \pm 1,06 ^a	0,70 \pm 0,81 ^a	0,66 \pm 0,90 ^a	-	-	-
Vácuo	«	1,28 \pm 1,13 ^a	-	1,17 \pm 1,31 ^a	1,38 \pm 1,50 ^{bc}	1,26 \pm 1,40 ^{ab}	1,02 \pm 1,14 ^{ab}	1,12 \pm 1,20	1,02 \pm 1,17
AM _{70/20}	«	2,46 \pm 1,24 ^c	-	2,14 \pm 1,13 ^b	1,97 \pm 1,22 ^c	1,79 \pm 1,45 ^b	1,62 \pm 1,42 ^b	-	-
AM _{50/40}	«	2,17 \pm 1,12 ^{bc}	-	1,71 \pm 1,02 ^{ab}	1,48 \pm 1,06 ^c	1,65 \pm 1,33 ^b	1,11 \pm 1,06 ^{ab}	-	-
AM _{30/60}	«	1,30 \pm 0,98 ^a	-	0,99 \pm 0,81 ^a	0,74 \pm 0,78 ^{ab}	0,67 \pm 0,79 ^a	0,58 \pm 0,71 ^a	0,42 \pm 0,58	-
Sig	-	**	-	***	***	***	***	***	-
pH_f x Emb									
Sig	-	ns	-	***	***	***	***	***	-

Para cada efeito, na mesma coluna, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente ($p < 0,05$).
 ns-não significativo ($p \geq 0,05$); *-significativo ($p < 0,05$); **-muito significativo ($p < 0,01$); ***-altamente significativo ($p < 0,001$).
 ▲antes da embalagem.

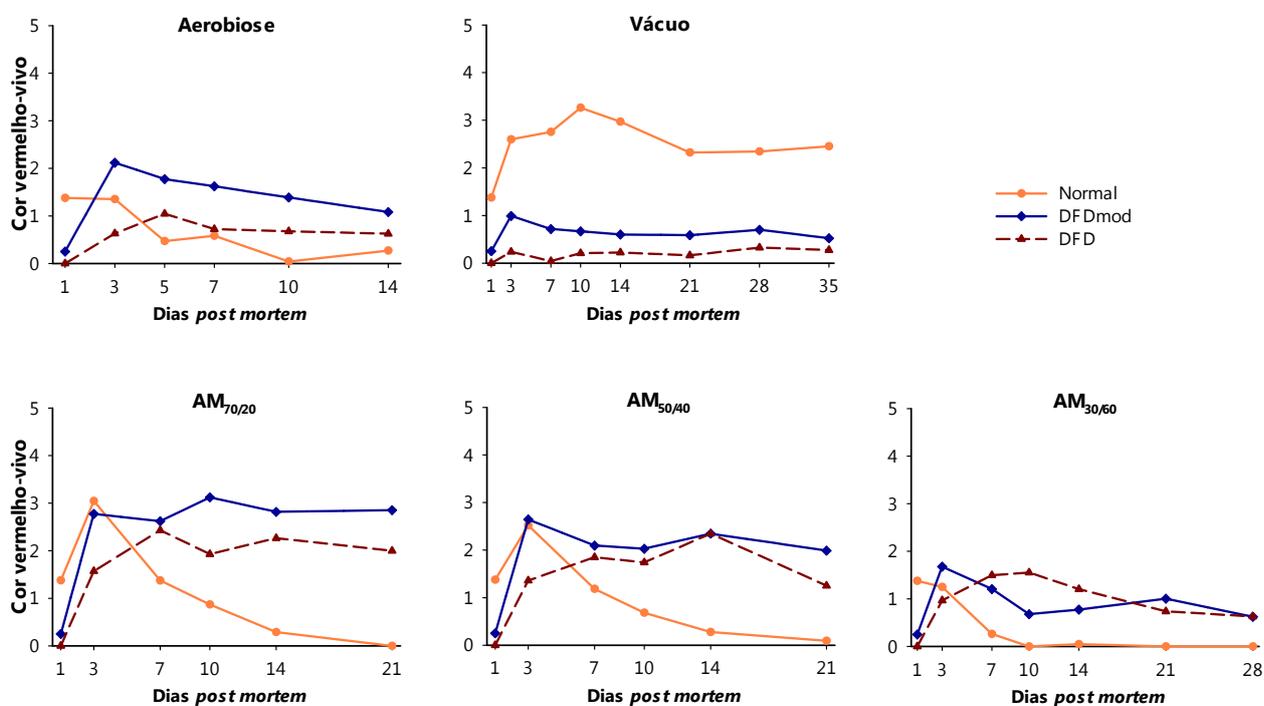


Figura 30- Evolução da cor vermelho-vivo ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40} e AM_{30/60}), de acordo o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD).

Com a exposição ao ar, a carne desenvolve uma cor vermelho-vivo devido à formação de oximioglobina. De acordo com o painel de provadores, as carnes DFD e DFDmod embalada sob vácuo apresentam-se menos vermelho-vivo do que a carne Normal, em todos os tempos, o que é de esperar, uma vez que a formação de oximioglobina é inferior em carne com pH_f mais elevado (Ashmore *et al.*, 1972). A carne DFD é a que apresenta os valores mais baixos. Nas restantes embalagens, isto não se verifica, sendo que a partir do t_3 em aerobiose e do t_7 nas AMs, os valores mais baixos são observados em carne Normal. Estes resultados sugerem que a utilização de AMs com incorporação de O_2 é particularmente vantajosa na carne com pH_f elevado ao favorecer o desenvolvimento de uma cor mais vermelho-vivo.

Este parâmetro correlacionou-se de forma mais evidente e significativa ($p < 0,001$) com o a_0^* (0,67), b_0^* (0,52), apresentando ainda correlações significativas com outros parâmetros analisados (anexo A.IV).

A análise de variância revelou que o grupo de pH_f e o tipo de embalagem influenciaram significativamente a cor vermelho-vivo, tendo-se verificado a existência de interações significativas entre grupo de pH_f e tipo de embalagem, a partir do t_7 .

Efeito do grupo de pH_f

Pela análise do Quadro 24 pode verificar-se que o grupo de pH_f teve um efeito significativo nos valores atribuídos para a cor vermelho-vivo, excepto nos t_5 , t_7 e t_{28} . Para este atributo de cor, no t_3 os valores foram inferiores no grupo DFD, diferenciando-se de forma altamente significativa das restantes ($p < 0,001$). Os grupos Normal e DFDmod, com os valores mais elevados, não evidenciaram diferenças significativas entre si. No t_{35} , a carne Normal mostra uma média de 2,45, diferenciando-se ($p < 0,001$) do grupo DFDmod e DFD, com média respectivas de 0,52 e 0,27, que não se diferenciam estatisticamente.

Efeito do tipo de embalagem

Pela análise do Quadro 24 pode verificar-se que o tipo de embalagem exerceu um efeito significativo para a cor vermelho-vivo em todos os tempos. Em vácuo, verificou-se a ocorrência de valores superiores aos observados antes da abertura da embalagem. No t_3 as médias mais baixas foram obtidas em carne embalada em aerobiose, em vácuo e em $AM_{30/60}$, não revelando diferenças entre si. As carnes embaladas em $AM_{70/20}$ e em $AM_{50/40}$, são as que apresentam valores médios para este atributo mais elevados, não se distinguindo entre si. A classificação como mais vermelho-vivo nestas atmosferas é compreensível, uma vez que a presença de elevadas concentrações de O_2 , no interior da embalagem, tendem a favorecer a formação de oximioglobina. Importa realçar que isto verifica-se quando são considerados os três grupos de pH_f em conjunto. Considerando apenas a carne Normal, observa-se uma redução da intensidade da cor vermelho-vivo, ao longo do armazenamento, marcadamente mais intensa na carne embalada nas AMs, e particularmente na que apresenta uma maior concentração de O_2 , do que na carne embalada sob vácuo. Estes resultados estão concordantes com os obtidos por outros autores (Insausti *et al.*, 1999), que observaram uma descoloração (redução de vermelho-vivo) mais acentuada na carne embalada em AM com 60% O_2 / 20% CO_2 comparativamente à embalada sob vácuo. Contrariamente Cornforth e Hunt (2008) referem que carnes embaladas em AM com elevada concentração de O_2 , mantêm a cor vermelho-vivo aceitável durante 10-14 dias, comparativamente com os 3 a 7 dias obtidos em aerobiose.

Interação grupo de pH_f e tipo de embalagem

Verificou-se a ocorrência de interação significativa em cinco tempos ilustrados pela Figura 31. Observou-se que na maioria dos casos o efeito do pH_f fez-se sentir de acordo com o tipo de embalagem.

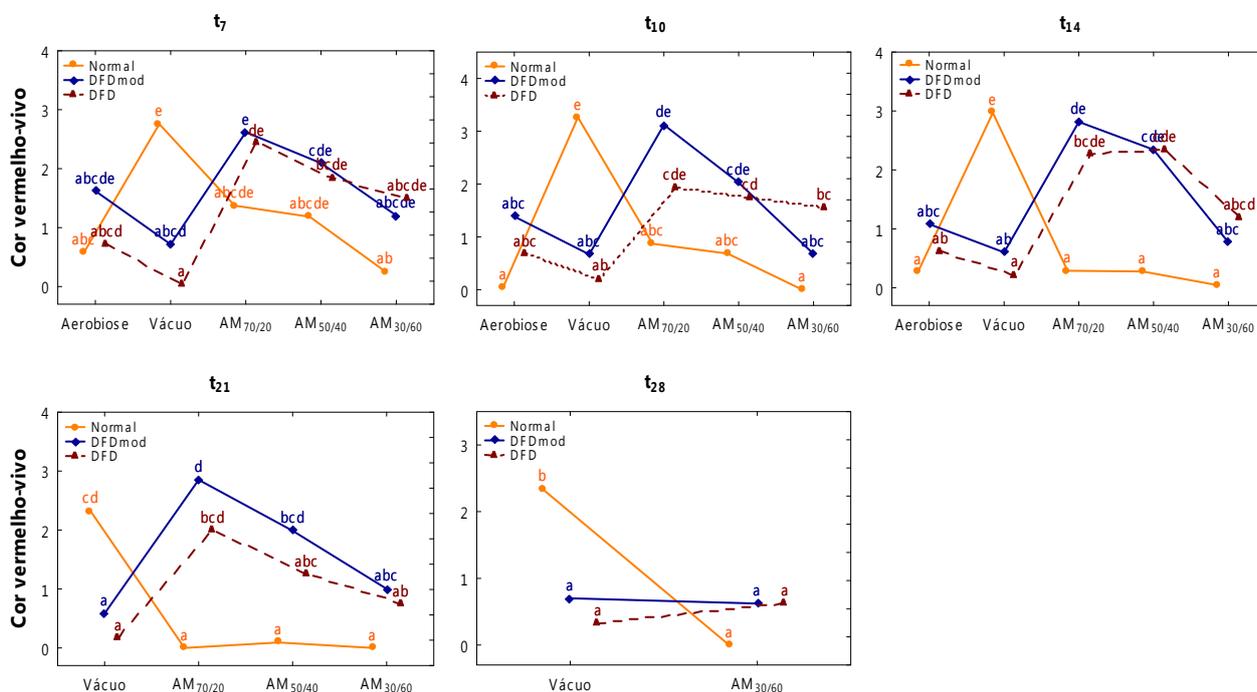


Figura 31- Interação grupo de pH_f e tipo de embalagem para a cor vermelho-vivo no t₇, t₁₀, t₁₄, t₂₁ e t₂₈ (em cada tempo, médias que não possuem letras iguais diferem significativamente; p < 0,05).

Em vácuo, a carne Normal apresentou os valores mais elevados e diferenciou-se significativamente das carnes DFDmod e DFD, enquanto entre estas últimas não se observaram diferenças significativas. Contrariamente, em aerobiose a carne Normal, com os menores valores, não se distinguiu das restantes.

Em carne Normal, apenas se detectaram diferenças significativas entre embalagens no t₇ em carne embalada em AM_{70/20} e as restantes condições.

As carnes DFDmod e DFD embaladas em AM_{70/20} e AM_{50/40}, não se diferenciaram entre si do t₇ ao t₁₄, mas revelaram sempre diferenças significativas relativamente à carne Normal, apresentando esta última, os valores mais baixos e que se mantêm em zero no t₂₁. Em AM_{30/60}, a carne DFD e DFDmod são as que apresentam os valores mais elevados, contudo não se distinguem da carne Normal, excepto a diferença significativa observada entre carne Normal e DFD no t₁₀. Nos outros tempos, nesta condição de embalagem a carne DFDmod não se distingue de ambas.

No t₂₈, a interação verifica-se porque a carne Normal embalada em vácuo apresenta os valores mais elevados e estatisticamente diferentes dos outros grupos de pH_f enquanto na embalagem AM_{30/60} a carne Normal não se diferenciou dos restantes grupos.

Em síntese, da interpretação desta interação depreende-se que a carne Normal tem um comportamento distinto das demais, pois é mais vermelho-vivo quando esteve embalada sob vácuo, mas menos em qualquer outra condição de embalagem.

Os valores médios para a **cor vermelho-escuro** avaliada pelo painel, na carne embalada (E), para os três grupos de pH_f e para os vários tipos de embalagem, nos distintos tempos (dias *pm*) de armazenamento, são mostrados no Quadro 25. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os efeitos do grupo de pH_f e do tipo de embalagem, bem como da interação (grupo de pH_f x tipo de embalagem). Os parâmetros de análise de variância são apresentados no Quadro A.II.22 do anexo.

Quadro 25- Médias (± desvio padrão) para a cor vermelho-escuro avaliada pelo painel, na carne embalada (E), de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem, no t₁ e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
pH_f									
Normal	0,52±0,90	0,14±0,34 ^a	0,00±0,00 ^a	0,10±0,23 ^a	0,00±0,00 ^a	0,06±0,20 ^a	0,04±0,12 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00
DFDmod	1,50±0,77	0,19±0,45 ^a	0,77±0,96 ^{ab}	0,39±0,59 ^b	0,42±0,58 ^b	0,54±0,92 ^b	0,32±0,44 ^b	0,18±0,28 ^{ab}	0,00±0,00
DFD	1,53±1,35	0,83±0,96 ^b	1,72±1,13 ^b	0,52±0,74 ^b	0,66±1,02 ^c	0,77±1,08 ^b	0,45±0,55 ^b	0,49±0,80 ^b	0,00±0,00
Sig	ns	***	*	**	***	***	***	*	ns
Embalagem									
Aerobiose	1,16±1,12 [▲]	1,09±1,13 ^b	0,78±1,13	0,82±0,94 ^b	1,14±1,23 ^c	1,25±1,33 ^b	-	-	-
Vácuo	«	0,05±0,14 ^a	-	0,09±0,22 ^a	0,01±0,06 ^a	0,06±0,18 ^a	0,12±0,23 ^a	0,05±0,15	0,00±0,00
AM _{70/20}	«	0,14±0,26 ^a	-	0,18±0,28 ^a	0,17±0,29 ^{ab}	0,24±0,74 ^a	0,11±0,24 ^a	-	-
AM _{50/40}	«	0,25±0,44 ^a	-	0,17±0,28 ^a	0,13±0,28 ^{ab}	0,20±0,36 ^a	0,36±0,38 ^{ab}	-	-
AM _{30/60}	«	0,40±0,56 ^a	-	0,42±0,56 ^{ab}	0,35±0,44 ^b	0,52±0,73 ^a	0,50±0,66 ^b	0,39±0,69	-
Sig	-	***	-	***	***	***	**	*	-
pH_f x Emb									
Sig	-	***	-	**	***	ns	*	ns	-

Para cada efeito, na mesma coluna, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente (p<0,05).

ns-não significativo (p≥0,05); *-significativo (p<0,05); **-muito significativo (p<0,01); ***-altamente significativo (p<0,001).

▲antes da embalagem.

A Figura 32 ilustra a evolução da cor vermelho-escuro na carne embalada (E), nos três grupos de pH_f, para cada tipo de embalagem, ao longo do período de armazenamento. Os valores integrais que suportam estes gráficos são apresentados no Quadro A.III.21 do anexo.

Podemos verificar que a evolução ao longo do tempo da cor vermelho-escuro em carne embalada (E), variou bastante de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem. Em aerobiose é nítida a diferença de valores de acordo com o grupo de pH_f. Nesta embalagem, a carne DFD apresenta os valores mais elevados, com 2,56 em média no t₁₀ (Quadro A.III.21, em anexo), enquanto a carne DFDmod ocupa uma posição intermédia com 0,84 em média no mesmo tempo. Em vácuo são muito baixos, quase sempre nulos ou próximos deste nível, o que é normal uma vez que se trata de carne embalada que é normalmente púrpura. Nas AMs, os valores mais baixos são observados em carne Normal, excepto na AM_{70/20} no t₇.

Os coeficientes de correlação mais elevados e de realçar foram obtidos com os parâmetros: L_0^* (-0,35; $p < 0,001$), L_{60}^* (-0,36; $p < 0,001$) e pH (0,37; $p < 0,001$) (anexo A.IV).

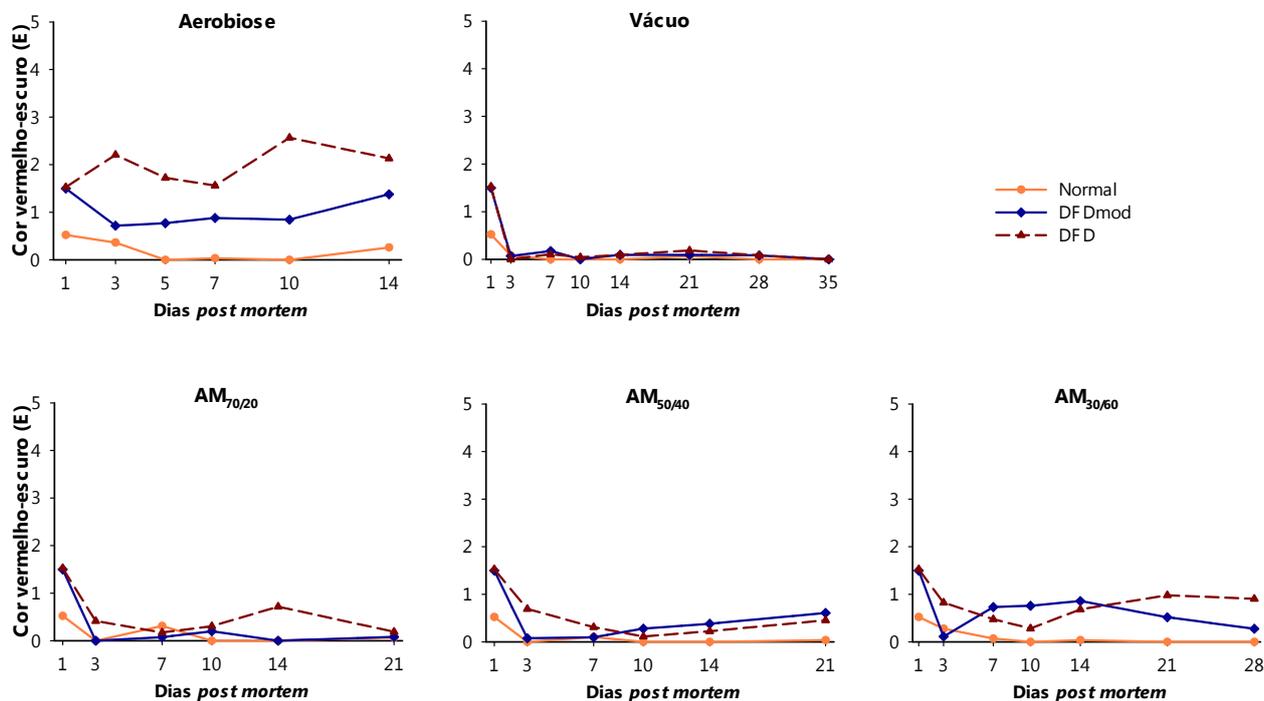


Figura 32- Evolução da cor vermelho-escuro (E) ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40} e AM_{30/60}), de acordo o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD).

A análise de variância revelou que o grupo de pH_f e o tipo de embalagem influenciaram significativamente a cor vermelho-escuro (E), tendo-se verificado a existência de interações significativas entre grupo de pH_f e tipo de embalagem, excepto no t_{14} e t_{28} .

Efeito do grupo de pH_f

Pela análise do Quadro 25 pode verificar-se que o grupo de pH_f teve um efeito significativo nos valores atribuídos para a cor vermelho-escuro (E), excepto nos t_1 e t_{35} . Em geral, a carne DFD foi a que apresentou os valores superiores, diferenciando-se sempre da carne Normal nos tempos em que o efeito do pH foi significativo.

No t_{14} , a carne Normal mostra uma média de 0,06, diferenciando-se ($p < 0,001$) do grupo DFDmod e DFD, com média respectivas de 0,54 e 0,77, que não se diferenciam estatisticamente. No t_{28} , a carne Normal mostra uma média nula, diferenciando-se ($p < 0,001$) do grupo DFD, com média de 0,49. A carne DFDmod, ocupa uma posição intermédia com uma média de 0,18 que não se diferenciam estatisticamente dos outros dois grupos de qualidade.

No t_{35} verifica-se que ocorreu uma ausência de utilização deste atributo em todos os grupos de qualidade..

Efeito do tipo de embalagem

Pela análise do Quadro 25 pode verificar-se que o tipo de embalagem exerceu um efeito significativo para a cor vermelho-escuro (E) em todos os tempos. Em vácuo, verificou-se a ocorrência de valores mais baixos, mas que se diferenciam sempre da carne embalada em aerobiose e da carne embalada em AM_{30/60} nos t₁₀, t₂₁ e t₂₈.

No t₁₄, as médias mais elevadas foram obtidas em carne embalada em aerobiose, que se diferenciaram das restantes ($p < 0,001$), as quais por sua vez não revelaram diferenças entre si.

Interação grupo de pH_f e tipo de embalagem

Verificou-se a ocorrência de interação significativa em quatro tempos ilustrados pela Figura 33.

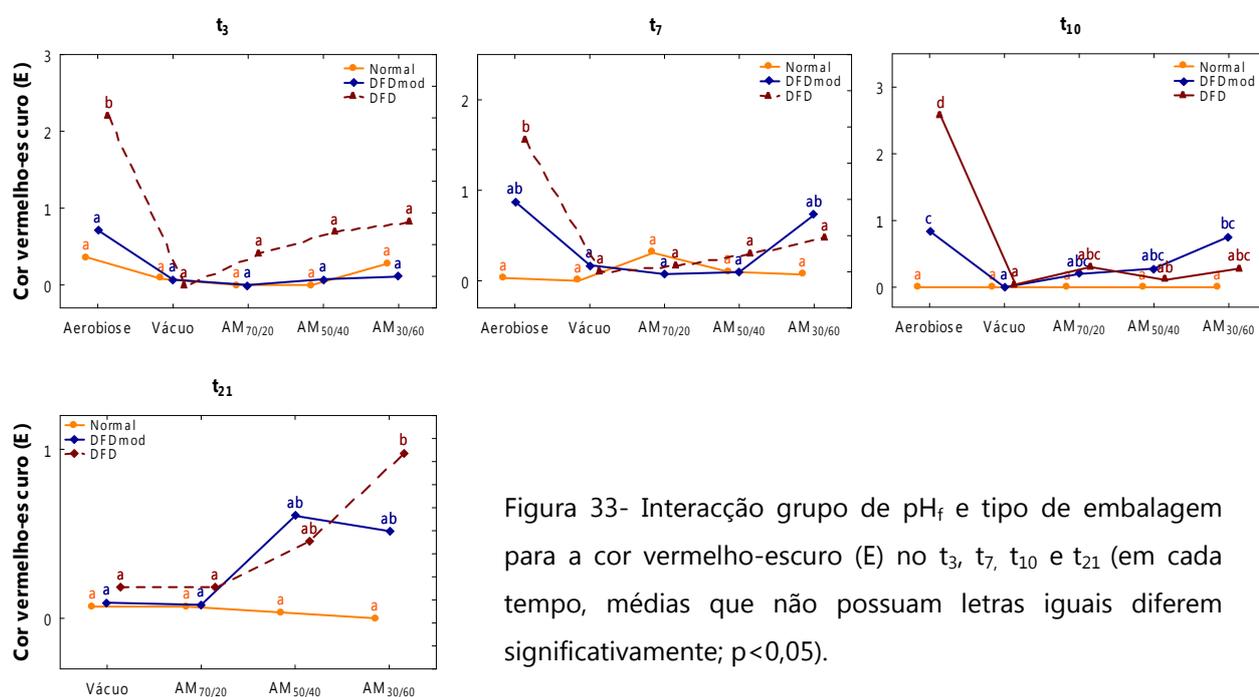


Figura 33- Interação grupo de pH_f e tipo de embalagem para a cor vermelho-escuro (E) no t₃, t₇, t₁₀ e t₂₁ (em cada tempo, médias que não possuem letras iguais diferem significativamente; $p < 0,05$).

Pela observação da Figura 33, verifica-se que, no t₃, a interação ocorre porque a carne DFD embalada em aerobiose apresenta os valores médios mais altos e significativamente distintos dos observados para os outros grupos de qualidade nesta embalagem e para outras condições de embalagem qualquer que seja o grupo de pH_f, não se distinguindo nestes casos. No t₇, a carne DFDmod nunca se distingue dos outros dois grupos, qualquer que seja o tipo de embalagem, contudo no t₁₀, distingue-se da carne Normal e DFD embaladas em aerobiose e da carne Normal em AM_{30/60}. No t₂₁, em carnes Normal e DFDmod nunca se observaram diferenças significativas em qualquer embalagem, enquanto em carne DFD verificaram-se diferenças em AM_{30/60} relativamente à carne Normal.

Os valores médios para a cor vermelho-escuro avaliada pelo painel, 60 min após abertura da embalagem, nas amostras de carne para os três grupos de pH_f e para os vários tipos de embalagem, nos distintos tempos (dias *pm*) de armazenamento, são mostrados no Quadro 26. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os efeitos do grupo de pH_f e do tipo de embalagem, bem como da interação

(grupo de pH_f x tipo de embalagem). Os parâmetros de análise de variância são apresentados no Quadro A.II.22 do anexo.

Quadro 26- Médias (\pm desvio padrão) para a cor vermelho-escuro avaliada pelo painel, 60 min após abertura da embalagem, de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem, no t₁ e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
pH_f									
Normal	0,58 \pm 0,97	0,29 \pm 0,50 ^a	0,12 \pm 0,29 ^a	0,06 \pm 0,15 ^a	0,03 \pm 0,11 ^a	0,08 \pm 0,27 ^a	0,08 \pm 0,26 ^a	0,10 \pm 0,30 ^a	0,00 \pm 0,00 ^a
DFDmod	1,62 \pm 0,76	0,55 \pm 0,58 ^a	0,88 \pm 1,09 ^{ab}	0,80 \pm 0,80 ^b	0,87 \pm 0,80 ^b	0,88 \pm 1,01 ^b	0,81 \pm 1,01 ^b	0,92 \pm 1,19 ^b	2,67 \pm 0,79 ^b
DFD	1,91 \pm 1,22	1,82 \pm 1,13 ^b	1,85 \pm 1,12 ^b	1,78 \pm 1,20 ^c	1,86 \pm 1,16 ^c	1,75 \pm 1,10 ^c	1,52 \pm 1,03 ^c	1,62 \pm 0,87 ^c	2,87 \pm 0,45 ^b
Sig	ns	***	*	***	***	***	***	***	***
Embalagem									
Aerobiose	1,35 \pm 1,14 [▲]	0,90 \pm 1,20 ^{ab}	0,95 \pm 1,13	1,14 \pm 1,26	1,37 \pm 1,28 ^b	1,47 \pm 1,18 ^b	-	-	-
Vácuo	«	1,34 \pm 1,18 ^b	-	1,23 \pm 1,22	1,45 \pm 1,33 ^b	1,47 \pm 1,34 ^b	1,62 \pm 1,31 ^b	1,42 \pm 1,18	1,93 \pm 1,46
AM _{70/20}	«	0,58 \pm 0,85 ^a	-	0,54 \pm 0,81	0,47 \pm 0,67 ^a	0,50 \pm 0,96 ^a	0,57 \pm 0,73 ^a	-	-
AM _{50/40}	«	0,64 \pm 0,84 ^a	-	0,75 \pm 1,23	0,68 \pm 1,05 ^a	0,40 \pm 0,66 ^a	0,59 \pm 0,78 ^a	-	-
AM _{30/60}	«	1,00 \pm 0,91 ^{ab}	-	0,75 \pm 0,76	0,63 \pm 0,71 ^a	0,68 \pm 0,83 ^a	0,43 \pm 0,74 ^a	0,35 \pm 0,53	-
Sig	-	*	-	ns	***	***	***	***	-
pH_f x Emb									
Sig	-	ns	-	ns	ns	ns	ns	*	-

Para cada efeito, na mesma coluna, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente ($p < 0,05$).
 ns-não significativo ($p \geq 0,05$); *-significativo ($p < 0,05$); **-muito significativo ($p < 0,01$); ***-altamente significativo ($p < 0,001$).
 ▲antes da embalagem.

A Figura 34 ilustra a evolução da cor vermelho-escuro, avaliada pelo painel, após abertura de embalagem, nos três grupos de pH_f, para cada tipo de embalagem, ao longo do período de armazenamento. Os valores integrais que suportam estes gráficos são apresentados no Quadro A.III.22 do anexo.

Pela análise da Figura 34 podemos verificar que a evolução ao longo do tempo da cor vermelho-escuro, após abertura da embalagem, variou bastante com o grupo de pH_f, sendo que a carne DFD mais vermelho-escuro e a carne Normal a menos vermelho-escuro em todas as embalagens, excepto no t₃ nas AM_{50/40} e AM_{30/60}, com valores semelhantes à DFDmod.

Nas AMs e principalmente na carne embalada sob vácuo, é nítida a diferença de valores relativamente à carne antes da abertura da embalagem, passando esta a apresentar-se mais vermelho escuro, após abertura de embalagem e o respectivo período de "avermelhamento". Este facto é mais evidente em carne DFD, a qual apresenta os valores mais elevados.

Os coeficientes de correlação mais elevados e de realçar foram obtidos com os parâmetros: L₀* (-0,76; $p < 0,001$), L₆₀* (-0,76; $p < 0,001$), b₀* (-0,47; $p < 0,001$), b₆₀* (-0,61; $p < 0,001$) e pH (0,60; $p < 0,001$) (anexo A.IV).

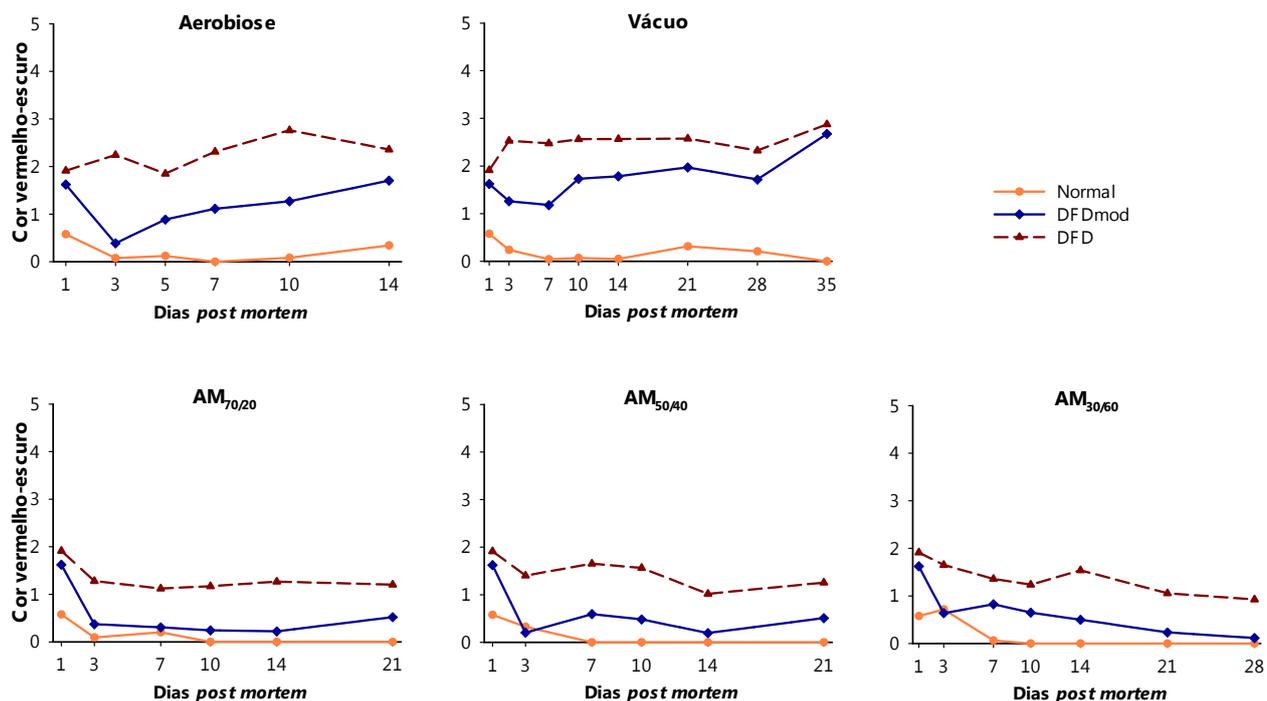


Figura 34- Evolução da cor vermelho-escuro, ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40} e AM_{30/60}), de acordo o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD).

A análise de variância revelou que o grupo de pH_f e o tipo de embalagem influenciaram significativamente a cor vermelho-escuro, tendo-se verificado uma interação significativa entre grupo de pH_f e tipo de embalagem, no t₂₈.

Efeito do grupo de pH_f

Pela análise do Quadro 26 pode verificar-se que o grupo de pH_f teve um efeito significativo nos valores atribuídos para a cor vermelho-escuro, excepto no t₁.

Para este atributo de cor, do t₇ a t₂₈, os valores foram inferiores no grupo Normal, seguidos do DFDmod e do DFD, diferenciando-se todos de forma altamente significativa entre si (p<0,001). Os grupos Normal e DFDmod, com os valores mais baixos, não evidenciaram diferenças significativas entre si, no t₃ e t₅. Nestes tempos a carne Normal, diferencia-se sempre da carne DFD, enquanto no t₅ a carne DFDmod não se distingue das restantes carnes.

No t₃₅, a carne Normal mostra uma média de 0,0, diferenciando-se (p<0,001) do grupo DFDmod e DFD, com médias respectivas de 2,67 e 2,87, que não se diferenciam estatisticamente.

Efeito do tipo de embalagem

Pela análise do Quadro 26 pode verificar-se que o tipo de embalagem influenciou significativamente o atributo de cor vermelho-escuro em todos os tempos, excepto no t₇. Em vácuo, verificou-se a ocorrência de valores superiores aos observados antes da abertura da embalagem.

No t_3 as médias mais baixas foram obtidas em carne embalada em AM_{70/20} e em AM_{50/40}, revelando diferenças significativas relativamente à carne embalada sob vácuo. Nesta última embalagem, observaram-se as médias mais elevadas, mas não se verificaram diferenças significativas relativamente à carne embalada em aerobiose e em AM_{30/60}.

A partir do t_{10} , as médias obtidas em carnes embaladas em aerobiose e vácuo distinguem-se das obtidas em AMs, não se distinguindo entre si. As carnes embaladas em AMs nunca se diferenciam em qualquer dos tempos em estudo.

Interacção grupo de pH_f e tipo de embalagem

Verificou-se a ocorrência de interacção significativa no t_{28} ilustrado pela Figura 35.

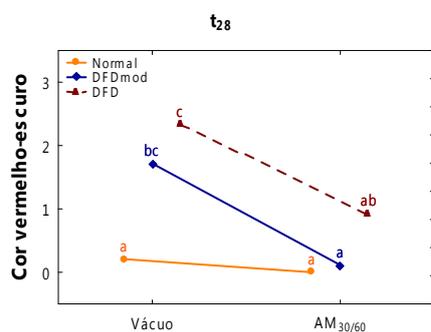


Figura 35- Interacção grupo de pH_f e tipo de embalagem para a cor vermelho-escuro no t_{28} (médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; $p < 0,05$).

Este gráfico indica que a carne Normal não apresenta diferenças significativas nas duas condições de embalagem, nem diferindo da carne dos outros dois grupos de pH_f embalada em AM_{30/60}, ao contrário do observado sob vácuo, no qual revela diferenças significativas relativamente a ambos os grupos de qualidade. Em carnes DFDmod e DFD, observaram-se diferenças significativas consoante o tipo de embalagem, com os valores superiores a serem observados em vácuo.

Os valores médios para a **cor púrpura** avaliada pelo painel, na carne embalada (E), nas amostras de carne para os três grupos de pH_f e para os vários tipos de embalagem, nos distintos tempos (dias *pm*) de armazenamento, são mostrados no Quadro 27, bem como os resultados da análise de variância para os efeitos do grupo de pH_f e do tipo de embalagem e da interacção (grupo de pH_f x tipo de embalagem). Os parâmetros de análise de variância são apresentados no Quadro A.II.23 do anexo.

A Figura 36 ilustra a evolução da cor púrpura, avaliada pelo painel, na carne embalada (E), nos três grupos de pH_f, para cada tipo de embalagem, ao longo do período de armazenamento. Os valores integrais que suportam estes gráficos são apresentados no Quadro A.III.23 do anexo.

Pela análise da Figura 36 podemos verificar que em vácuo observam-se médias mais elevadas, o que é confirmativo da cor púrpura de carne embalada nesta condição, o que não ocorre nas restantes. Observam-se ainda sempre médias superiores em carne DFD e inferiores em carne Normal ao longo do tempo. A carne DFDmod ocupa uma posição intermédia. Nas restantes embalagens, os valores são 0,0 ou próximos de 0,0 a partir do t_3 .

Este parâmetro apresenta coeficientes de correlação particularmente elevados com os três parâmetros de L* e de b* (anexo A.IV).

Quadro 27- Médias (\pm desvio padrão) para a cor púrpura avaliada pelo painel, na carne embalada (E), de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem, no t₁ e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
pH_f									
Normal	1,48±1,16	0,45±0,95 ^a	0,00±0,00	0,49±1,03 ^a	0,45±0,94 ^a	0,45±0,92 ^a	0,50±0,93 ^a	1,03±1,14 ^a	1,83±0,09 ^a
DFDmod	1,91±0,45	0,60±1,24 ^b	0,00±0,00	0,58±1,15 ^{ab}	0,61±1,21 ^b	0,57±1,13 ^a	0,70±1,26 ^b	1,34±1,45 ^{ab}	2,51±0,47 ^b
DFD	1,90±0,96	0,75±1,31 ^c	0,23±0,47	0,68±1,29 ^b	0,66±1,27 ^b	0,72±1,27 ^b	0,81±1,41 ^b	1,56±1,64 ^b	3,14±0,24 ^c
Sig	ns	***	ns	*	***	***	***	**	***
Embalagem									
Aerobiose	1,75±0,90 [▲]	0,05±0,17 ^a	0,07±0,29	0,10±0,30 ^a	0,05±0,14 ^a	0,10±0,24 ^a	-	-	-
Vácuo	«	2,85±0,60 ^b	-	2,81±0,56 ^b	2,79±0,55 ^b	2,72±0,53 ^b	2,67±0,67 ^b	2,62±0,63	2,59±0,68
AM _{70/20}	«	0,01±0,05 ^a	-	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,02±0,10 ^a	0,00±0,00 ^a	-	-
AM _{50/40}	«	0,02±0,10 ^a	-	0,00±0,00 ^a	0,02±0,10 ^a	0,03±0,15 ^a	0,02±0,10 ^a	-	-
AM _{30/60}	«	0,06±0,18 ^a	-	0,00±0,00 ^a	0,01±0,05 ^a	0,02±0,10 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00	-
Sig	-	***	-	***	***	***	***	***	-
pH_f x Emb									
Sig	-	***	-	*	***	***	***	**	-

Para cada efeito, na mesma coluna, médias que não possuem letras iguais diferem significativamente ($p < 0,05$).
 ns-não significativo ($p \geq 0,05$); *-significativo ($p < 0,05$); **-muito significativo ($p < 0,01$); ***-altamente significativo ($p < 0,001$).
 ▲antes da embalagem

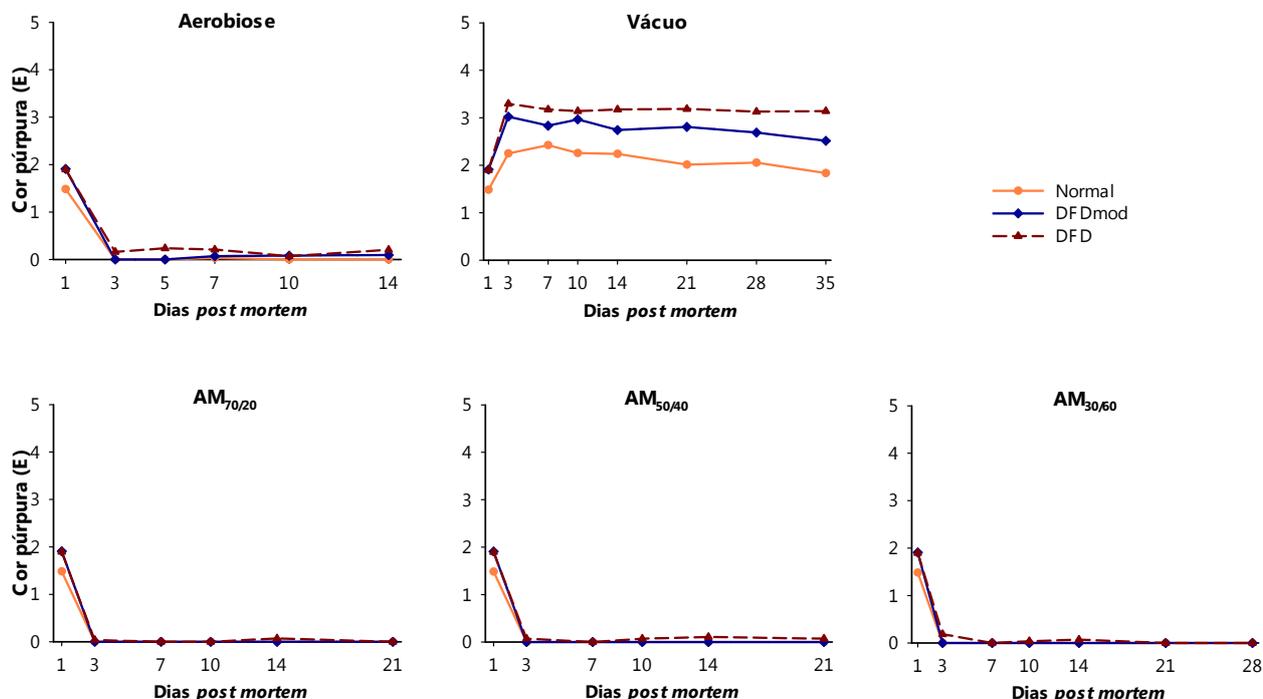


Figura 36- Evolução da cor púrpura (E) ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40} e AM_{30/60}), de acordo o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD).

A análise de variância revelou que o grupo de pH_f e o tipo de embalagem influenciaram significativamente a cor púrpura (E), tendo-se verificado uma interação significativa entre grupo de pH_f e tipo de embalagem em todos os tempos.

Efeito do grupo de pH_f

Pela análise do Quadro 27 pode verificar-se que o grupo de pH_f influenciou significativamente a cor púrpura (E), excepto no t₁ e t₅. Em geral, obtiveram-se notas de cor púrpura (E) mais elevadas em carne DFD e que diferem significativamente de carne Normal no t₃ e a partir do t₇. A carne DFDmod ocupa uma posição intermédia, revelando diferenças quer relativamente à carne Normal (t₃, t₁₀, t₂₁ e t₃₅), quer à carne DFD (t₃, t₁₄ e t₃₅).

Efeito do tipo de embalagem

Pela análise do Quadro 27 pode verificar-se que o tipo de embalagem exerceu um efeito sempre significativo (p<0,001) para este atributo, com a carne sob vácuo a apresentar valores sempre mais elevados, logo mais púrpura, e que diferem significativamente das restantes condições, as quais por sua vez não se distinguem. Nesta embalagem forma-se preferencialmente a mioglobina no estado reduzido conferindo á carne uma cor púrpura. Giddings (1974) sugere que as mitocôndrias ou partículas submitocôndriais poderão desempenhar um papel na redução da metamioglobina, em carne embalada sob vácuo, através da deplecção do oxigénio residual, eliminando deste modo a possibilidade de reduzidas pressões parciais de oxigénio promoverem a oxidação da mioglobina.

Interação grupo de pH_f e tipo de embalagem

Verificou-se a ocorrência de interação significativa nos tempos ilustrados pela Figura 37.

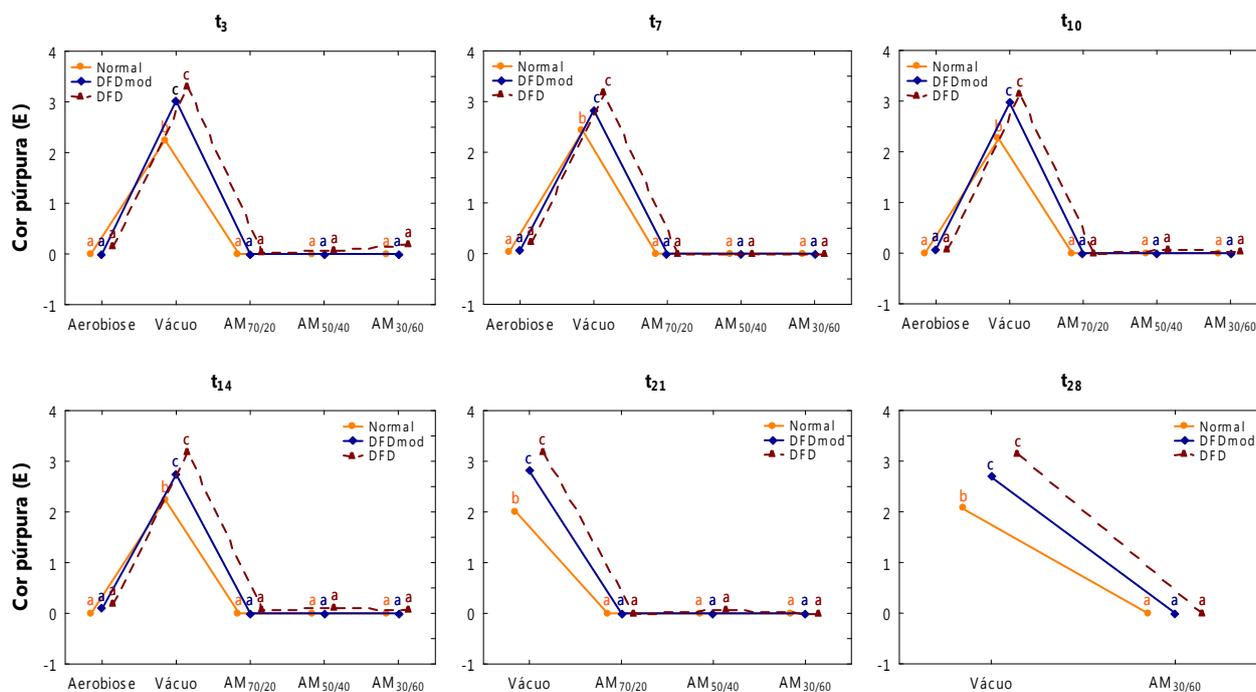


Figura 37- Interação grupo de pH_f e tipo de embalagem para a cor púrpura (E) no t₃, t₇, t₁₀, t₁₄, t₂₁ e t₂₈ (em cada tempo, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; p<0,05).

As médias obtidas em carne embalada sob vácuo são sempre superiores e significativamente distintas das obtidas nas restantes embalagens, as quais não revelam diferenças significativas entre si. Entre carnes DFDmod e DFD nunca se observaram diferenças significativas, mas estas foram sempre diferentes da carne Normal, com os valores mais baixos.

Os valores médios para a cor púrpura avaliada pelo painel nas amostras de carne, após abertura da embalagem, para os três grupos de pH_f e para os vários tipos de embalagem, nos distintos tempos (dias *pm*) de armazenamento, são mostrados no Quadro 28. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os efeitos do grupo de pH_f e do tipo de embalagem, bem como da interacção (grupo de pH_f x tipo de embalagem). Os parâmetros de análise de variância são apresentados no Quadro A.II.24 do anexo.

Quadro 28- Médias (± desvio padrão) para a cor púrpura avaliada pelo painel, 60 min após abertura da embalagem, de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem, no t₁ e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
pH_f									
Normal	0,48±0,80	0,01±0,04 ^a	0,00±0,00	0,01±0,08 ^a	0,01±0,05 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00	0,05±0,07
DFDmod	0,74±0,97	0,06±0,27 ^a	0,00±0,00	0,10±0,28 ^a	0,07±0,21 ^a	0,11±0,32 ^{ab}	0,09±0,23 ^{ab}	0,18±0,49	0,00±0,00
DFD	1,15±1,35	0,27±0,39 ^b	0,24±0,60	0,30±0,46 ^b	0,24±0,42 ^b	0,20±0,31 ^b	0,24±0,52 ^b	0,35±0,53	0,22±0,44
Sig	ns	***	ns	**	**	**	**	ns	ns
Embalagem									
Aerobiose	0,79±1,06 [▲]	0,05±0,14 ^a	0,08±0,34	0,10±0,27 ^a	0,06±0,13 ^a	0,16±0,32 ^{ab}	-	-	-
Vácuo	«	0,34±0,47 ^b	-	0,41±0,52 ^b	0,35±0,52 ^b	0,30±0,42 ^b	0,43±0,57 ^b	0,35±0,56	0,10±0,31
AM _{70/20}	«	0,01±0,05 ^a	-	0,06±0,26 ^a	0,04±0,11 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	-	-
AM _{50/40}	«	0,08±0,26 ^a	-	0,05±0,22 ^a	0,05±0,20 ^a	0,04±0,14 ^a	0,01±0,04 ^a	-	-
AM _{30/60}	«	0,07±0,25 ^a	-	0,05±0,15 ^a	0,02±0,10 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00	-
Sig	-	**	-	***	***	***	***	**	-
pH_f x Emb									
Sig	-	ns	-	ns	ns	ns	***	ns	-

Para cada efeito, na mesma coluna, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente (p<0,05).
 ns-não significativo (p≥0,05); *-significativo (p<0,05); **-muito significativo (p<0,01); ***-altamente significativo (p<0,001).
 ▲antes da embalagem.

A Figura 38 ilustra a evolução da cor púrpura, avaliada pelo painel, após abertura da embalagem, nos três grupos de pH_f, para cada tipo de embalagem, ao longo do período de armazenamento. Os valores integrais que suportam estes gráficos são apresentados no Quadro A.III.24 do anexo.

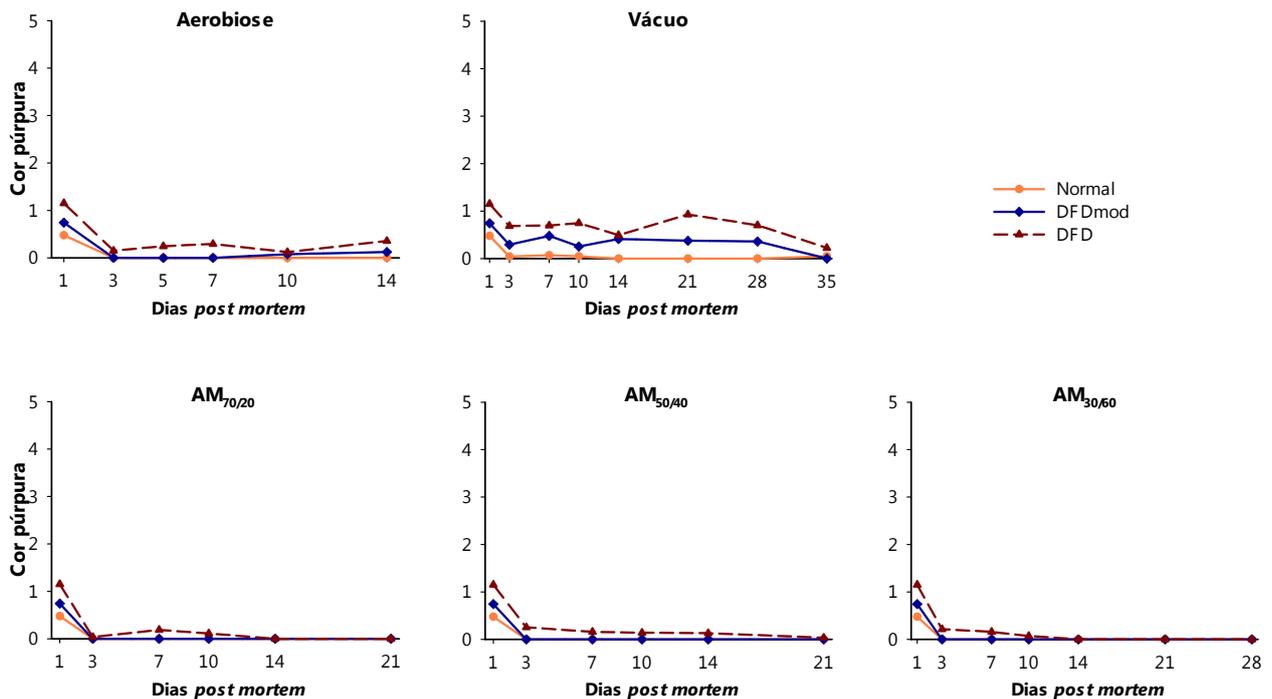


Figura 38- Evolução da cor púrpura ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40} e AM_{30/60}), de acordo o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD).

Pela análise da Figura 38 podemos verificar que as médias para a cor púrpura são baixas a partir do t₃, mas superiores em vácuo, principalmente em carnes DFD e DFDmod.

A análise de variância revelou que o grupo de pH_f e o tipo de embalagem influenciaram significativamente a cor púrpura, tendo-se verificado uma interacção significativa entre grupo de pH_f e tipo de embalagem no t₂₁.

Efeito do grupo de pH_f

Pela análise do Quadro 28 pode verificar-se que o grupo de pH_f influenciou significativamente a cor púrpura no t₃ e do t₇ ao t₂₁. Em geral, obtiveram-se notas de cor púrpura muito baixas contudo mais elevadas em carne DFD e que diferem significativamente das obtidas em carne Normal nos tempos referidos. A carne DFDmod ocupa uma posição intermédia, revelando diferenças relativamente à carne DFD nos t₃, t₇ e t₁₀.

Efeito do tipo de embalagem

Pela leitura do Quadro 28 pode verificar-se que o tipo de embalagem exerceu um efeito significativo sobre este atributo de cor, com a carne embalada sob vácuo a apresentar valores que, apesar de baixos são ligeiramente mais elevados e que diferem significativamente dos obtidos nas restantes condições, as quais por sua vez não se distinguem.

Interação grupo de pH_f e tipo de embalagem

Pela análise da Figura 39 verifica-se que em carne DFD embalada sob vácuo, observam-se médias mais elevadas, que se diferenciam significativamente das obtidas nas restantes carnes, qualquer que seja o tipo de embalagem, não se observando mais diferenças significativas neste tempo. Esta interação reflecte o facto, já enunciado previamente, da carne com valores de pH_f mais elevados ter maior dificuldade de avermelhamento, mantendo assim a sua tonalidade púrpura.

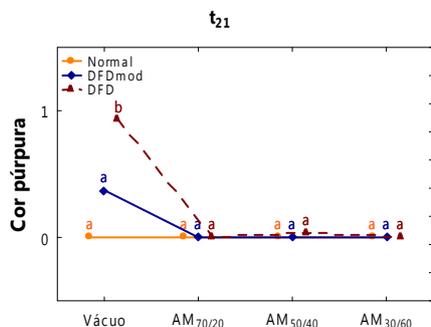


Figura 39- Interação grupo de pH_f e tipo de embalagem para a cor púrpura no t₂₁ (médias que não possuem letras iguais diferem significativamente; p<0,05).

Os valores médios para a **cor castanha** (E) nas amostras de carne para os três grupos de pH_f e para os vários tipos de embalagem, nos distintos tempos (dias *pm*) de armazenamento, são mostrados no Quadro 29. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os efeitos do grupo de pH_f e do tipo de embalagem, bem como da interação (grupo de pH_f x tipo de embalagem). Os parâmetros de análise de variância são apresentados no Quadro A.II.25 do anexo.

Quadro 29- Médias (± desvio padrão) para a cor castanha (E) avaliada pelo painel, na carne embalada, de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem, no t₁ e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
pH_f									
Normal	0,00±0,00	0,08±0,29	1,44±1,16 ^b	0,94±0,87 ^b	1,53±0,98 ^b	1,34±0,85 ^b	1,40±0,93 ^b	0,81±1,08	0,00±0,00
DFDmod	0,00±0,00	0,03±0,15	0,06±0,11 ^a	0,02±0,09 ^a	0,16±0,39 ^a	0,18±0,48 ^a	0,18±0,46 ^a	0,52±0,69	0,00±0,00
DFD	0,00±0,00	0,02±0,07	0,00±0,00 ^a	0,01±0,04 ^a	0,02±0,07 ^a	0,01±0,05 ^a	0,12±0,35 ^a	0,17±0,31	0,00±0,00
Sig	ns	ns	**	***	***	***	***	*	ns
Embalagem									
Aerobiose	0,00±0,00 [▲]	0,18±0,40 ^b	0,56±0,97	0,67±1,03 ^c	0,81±1,14 ^{cd}	0,51±0,79 ^b	-	-	-
Vácuo	«	0,00±0,00 ^a	-	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	0,01±0,05 ^a	0,00±0,00	0,00±0,00
AM _{70/20}	«	0,00±0,00 ^a	-	0,12±0,33 ^{ab}	0,47±0,80 ^b	0,43±0,70 ^b	0,63±0,95 ^b	-	-
AM _{50/40}	«	0,01±0,06 ^{ab}	-	0,28±0,46 ^b	0,54±0,82 ^{bc}	0,62±0,93 ^b	0,63±0,95 ^b	-	-
AM _{30/60}	«	0,02±0,07 ^{ab}	-	0,56±0,77 ^c	1,03±1,06 ^d	1,00±0,98 ^c	1,01±0,86 ^c	1,00±0,86	-
Sig	-	*	-	***	***	***	***	***	-
pH_f x Emb									
Sig	-	ns	-	***	***	***	***	*	-

Para cada efeito, na mesma coluna, médias que não possuem letras iguais diferem significativamente (p<0,05). ns-não significativo (p≥0,05); *-significativo (p<0,05); **-muito significativo (p<0,01); ***-altamente significativo (p<0,001).
 ▲antes da embalagem.

A Figura 40 ilustra a evolução da cor castanha (E), avaliada pelo painel, na carne embalada, nos três grupos de pH_f , para cada tipo de embalagem, ao longo do período de armazenamento. Os valores integrais que suportam estes gráficos são apresentados no Quadro A.III.25 em anexo.

Pela análise da Figura 40 podemos verificar que em vácuo não se observaram médias que revelem a ocorrência de cor castanha (E). Esta cor é evidente em carne Normal a partir do t_5 em aerobiose e do t_7 em AMs. Em $AM_{30/60}$, observam-se valores mais elevados a partir do t_7 em carne Normal, do t_{10} em carne DFDmod e do t_{21} em carne DFD.

Este parâmetro apresentou coeficientes de correlação inferiores aos anteriormente referidos (anexo A.IV).

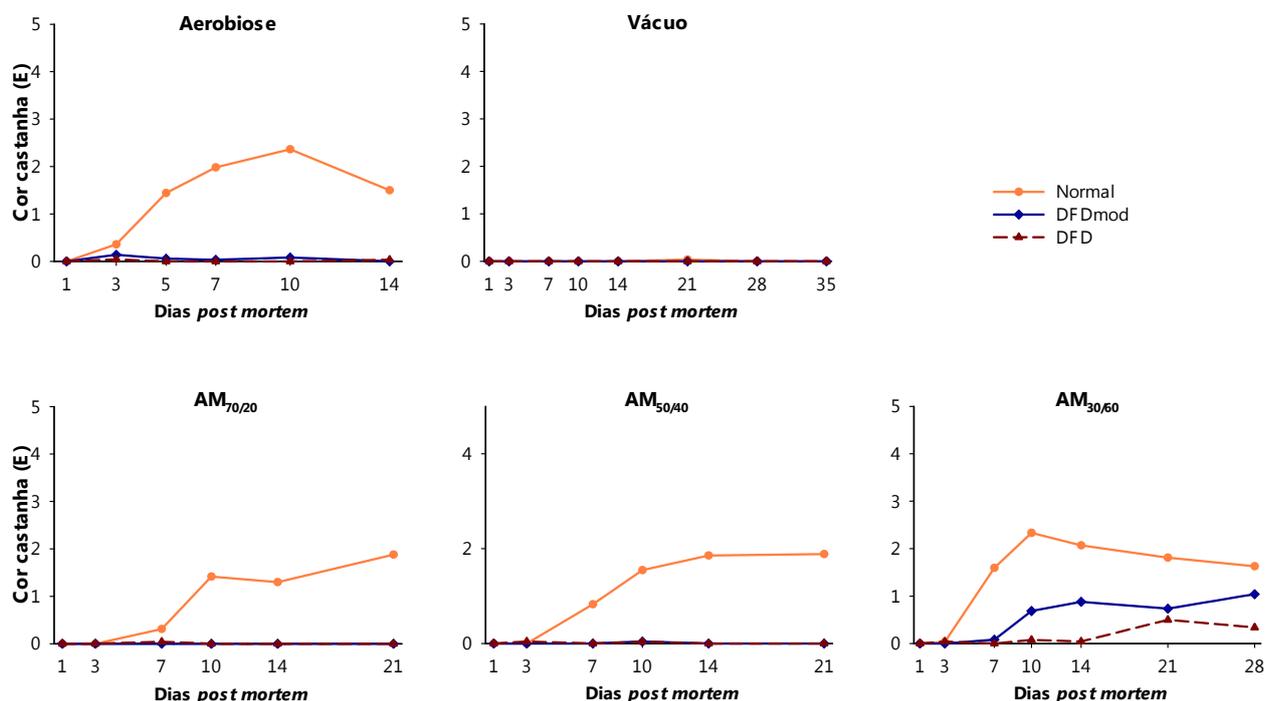


Figura 40- Evolução da cor castanha (E) longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, $AM_{70/20}$, $AM_{50/40}$ e $AM_{30/60}$), de acordo o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD).

A análise de variância revelou que o grupo de pH_f e o tipo de embalagem influenciaram significativamente a cor castanha (E), tendo-se verificado a existência de interação significativa entre grupo de pH_f e tipo de embalagem, a partir do t_7 .

Efeito do grupo de pH_f

Pela análise do Quadro 29 pode verificar-se que o grupo de pH_f influenciou significativamente a cor castanha (E), do t_5 ao t_{28} . Em geral, obtiveram-se notas de cor castanha (E) mais elevadas em carne Normal e que diferem significativamente de carne DFDmod e DFD, as quais não se distinguem.

Embora a carne com pH_f elevado seja mais escura que a carne com um pH_f normal, é referida como possuindo uma menor tendência para a formação de metamioglobina e logo uma melhor estabilidade da

cor (Ledward *et al.*, 1986), o que poderá explicar os resultados obtidos, uma vez que as carnes DFDmod e DFD apresentam menores médias para este atributo, logo menos castanha. Vários autores (Cutaia e Ordal, 1964; Stewart *et al.*, 1965; Ledward, 1970) referem que a actividade redutora da metamioglobina aumenta com o aumento do pH. Reddy e Carpenter (1991) observaram, em extractos de músculo *longissimus dorsi* de bovino, que a actividade redutora metamioglobina era óptima a pH de 6,4. Nesse sentido, o coeficiente de correlação encontrado, no presente trabalho, entre este parâmetro e o pH da carne foi de -0,44 ($p < 0,001$).

Efeito do tipo de embalagem

Pela análise do Quadro 29 pode verificar-se que o tipo de embalagem exerceu um efeito sempre significativo para este atributo, com a carne embalada sob vácuo a apresentar valores sempre mais baixos, quase sempre 0,0, logo a não apresentar cor castanha, e que diferem significativamente de todas as restantes embalagens a partir do t_{10} . No t_3 , as médias obtidas foram muito baixas, sendo que a carne embalada sob vácuo, apenas se diferencia da carne embalada em aerobiose, enquanto esta última e as AMs não se diferenciam entre si. No t_7 , a aerobiose é a que apresenta as médias mais elevadas conjuntamente com a AM_{30/60}.

Durante o armazenamento em aerobiose, a microflora presente pode acelerar a descoloração pelo consumo de oxigénio, conduzindo à formação de metamioglobina na superfície da carne. Entretanto, é improvável que a cor da carne seja afectada até que o número de bactérias presentes originem outros sinais que a deterioração (Faustman e Cassens, 1990). O oxigénio da embalagem poderá também condicionar a cor da carne pela sua ação na actividade redutora da metamioglobina, contudo os estudos efectuados são contraditórios (Bekhit e Faustman, 2005). Vários autores referem que a redução da metamioglobina é favorecida em condições de anaerobiose (Shimizu e Matsuura, 1968; O'Keeffe e Hood, 1982). Watts *et al.* (1966) e Ledward (1985) referem que quando a pressão parcial de oxigénio é baixa a taxa de oxidação da mioglobina é superior à taxa de redução. Contrariamente, outros autores não encontraram diferenças significativas na actividade redutora da metamioglobina entre condições de anaerobiose ou aerobiose em músculos de bovino (Echevarne *et al.*, 1990). Lanier *et al.* (1978), em carne bovina picada observaram uma significativa redução da metamioglobina tanto em condições de aerobiose como em anaerobiose.

Interacção grupo de pH_f e tipo de embalagem

Verificou-se a ocorrência de interacção significativa em cinco tempos ilustrados pela Figura 41.

Em aerobiose, a carne Normal apresenta os valores mais elevados, que se distinguem dos obtidos em carnes DFDmod e DFD, as quais não se diferenciam. Em vácuo, a carne dos três grupos de qualidade não se distinguem, em qualquer dos tempos. Em AMs a carne Normal distingue-se das restantes no t_{10} e t_{21} , enquanto em AM_{70/20} no t_7 a carne Normal não se distingue dos outros grupos de qualidade; e no t_{14} não se distingue da carne DFDmod embalada em AM_{30/60}.

Em AM_{30/60}, a carne DFD com os valores mais baixos, distingue-se sempre da Normal, e diferencia-se da DFDmod apenas no t_{14} . No t_{28} a carne DFDmod apresenta uma posição intermédia, não se diferenciando dos outros 2 grupos de qualidade.

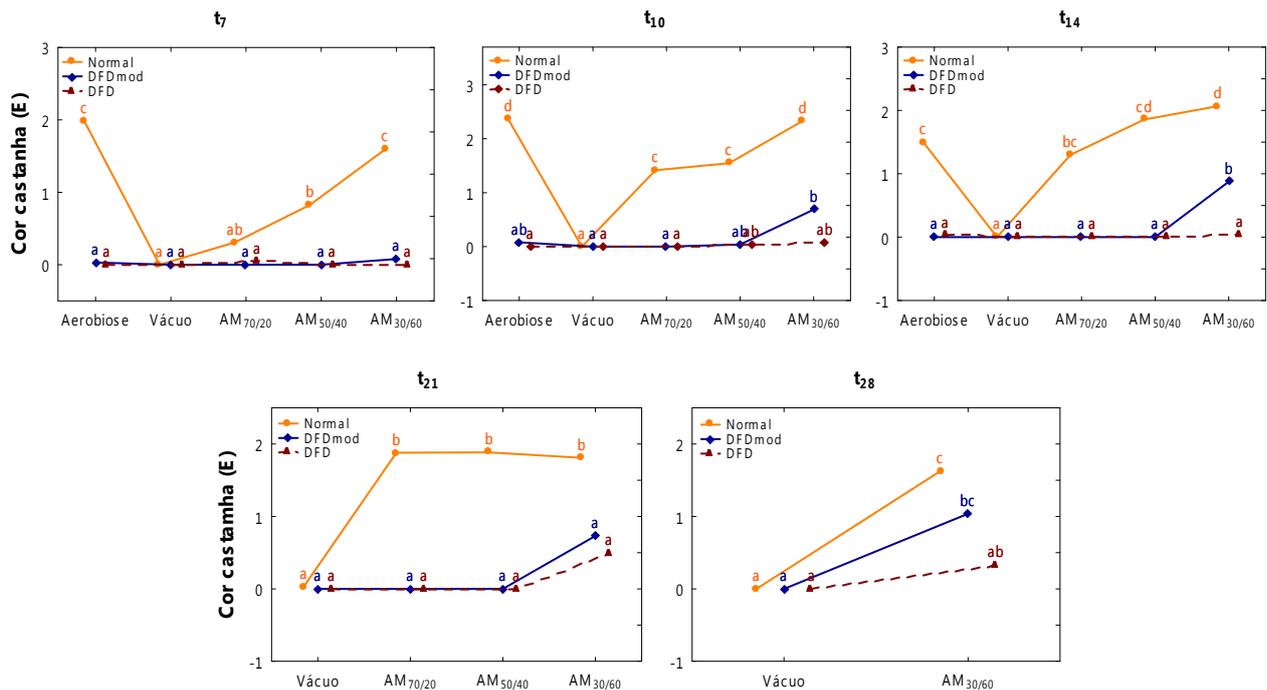


Figura 41- Interação grupo de pH_f e tipo de embalagem para a cor castanha (E) no t₇, t₁₀, t₁₄, t₂₁ e t₂₈ (em cada tempo, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; p < 0,05).

Os valores médios para a cor castanha nas amostras de carne, após abertura da embalagem, para os três grupos de pH_f e para os vários tipos de embalagem, nos distintos tempos (dias *pm*) de armazenamento, são mostrados no Quadro 30. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os efeitos do grupo de pH_f e do tipo de embalagem, bem como da interação (grupo de pH_f x tipo de embalagem). Os parâmetros de análise de variância são apresentados no Quadro A.II.26 do anexo.

A Figura 42 ilustra a evolução da cor castanha, avaliada pelo painel, após abertura da embalagem, nos três grupos de pH_f, para cada tipo de embalagem, ao longo do período de armazenamento. Os valores integrais que suportam estes gráficos são apresentados no Quadro A.II.26 do anexo.

Pela análise da Figura 42 podemos observar que em vácuo não se observaram médias que revelem a ocorrência de cor castanha. Esta cor continua a ser evidente em carne Normal a partir do t₃ em aerobiose e do t₇ em AMs. Tal como obtido, para carne embalada, em AM_{30/60}, observam-se valores mais elevados a partir do t₇ em carne Normal, do t₁₀ em carne DFDmod e do t₂₁ em carne DFD.

A análise de variância revelou que o grupo de pH_f e o tipo de embalagem influenciaram significativamente a cor castanha, tendo-se verificado a existência de interação significativa entre grupo de pH_f e tipo de embalagem, do t₇ ao t₂₁.

Quadro 30- Médias (\pm desvio padrão) para a cor castanha avaliada pelo painel, após 60 min da abertura da embalagem, de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem, no t₁ e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
pH_f									
Normal	0,00 \pm 0,00	0,10 \pm 0,38	1,56 \pm 1,20 ^b	0,85 \pm 0,85 ^b	1,29 \pm 0,93 ^b	1,50 \pm 1,02 ^b	1,57 \pm 0,99 ^b	0,83 \pm 1,21	0,00 \pm 0,00
DFDmod	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,05 \pm 0,11 ^a	0,04 \pm 0,12 ^a	0,16 \pm 0,33 ^a	0,15 \pm 0,43 ^a	0,21 \pm 0,54 ^a	0,59 \pm 0,77	0,00 \pm 0,00
DFD	0,00 \pm 0,00	0,02 \pm 0,06	0,00 \pm 0,00 ^a	0,02 \pm 0,07 ^a	0,00 \pm 0,00 ^a	0,01 \pm 0,05 ^a	0,12 \pm 0,29 ^a	0,21 \pm 0,43	0,00 \pm 0,00
Sig	ns	ns	**	***	***	***	***	ns	ns
Embalagem									
Aerobiose	0,00 \pm 0,00 [▲]	0,17 \pm 0,49	0,54 \pm 0,99	0,52 \pm 0,84 ^{bc}	0,69 \pm 0,98 ^{bc}	0,49 \pm 0,97 ^b	-	-	-
Vácuo	«	0,00 \pm 0,00	-	0,02 \pm 0,06 ^a	0,00 \pm 0,00 ^a	0,00 \pm 0,00 ^a	0,00 \pm 0,00 ^a	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00
AM _{70/20}	«	0,00 \pm 0,00	-	0,15 \pm 0,33 ^a	0,38 \pm 0,73 ^b	0,57 \pm 0,89 ^b	0,65 \pm 0,95 ^b	-	-
AM _{50/40}	«	0,00 \pm 0,00	-	0,21 \pm 0,43 ^{ab}	0,40 \pm 0,61 ^b	0,66 \pm 0,98 ^{bc}	0,71 \pm 0,96 ^b	-	-
AM _{30/60}	«	0,03 \pm 0,08	-	0,62 \pm 0,88 ^c	0,94 \pm 1,01 ^c	1,03 \pm 1,10 ^c	1,17 \pm 1,06 ^c	1,09 \pm 0,98	-
Sig	-	ns		***	***	***	***	***	-
pH_f x Emb									
Sig	-	ns		***	***	***	***	ns	-

Para cada efeito, na mesma coluna, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente (p<0,05).
 ns-não significativo (p \geq 0,05); *-significativo (p<0,05); **-muito significativo (p<0,01); ***-altamente significativo (p<0,001).
 ▲antes da embalagem.

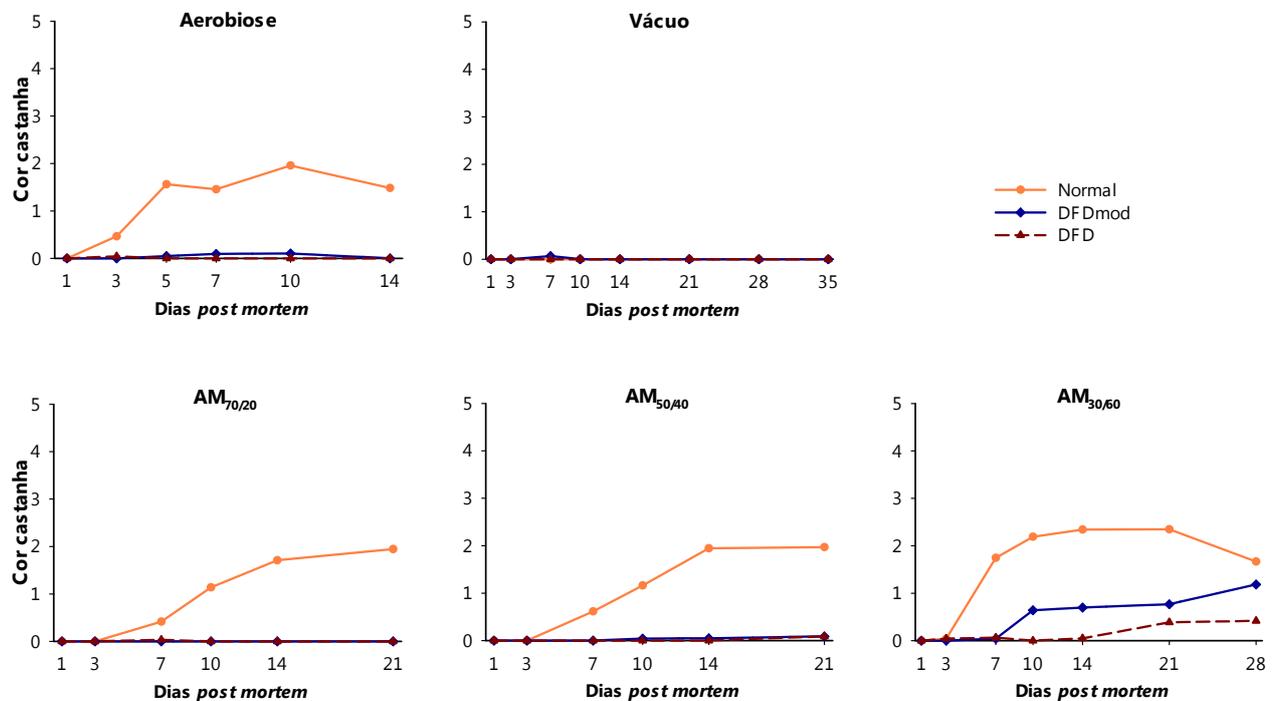


Figura 42- Evolução da cor castanha ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40} e AM_{30/60}), de acordo o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD).

Efeito do grupo de pH_f

Pela análise do Quadro 30 pode verificar-se que o grupo de pH_f influenciou significativamente a cor castanha, do t₅ ao t₂₁. Tal como observado em carne embalada, em geral, obtiveram-se notas de cor castanha mais altas em carne Normal e que diferem significativamente das obtidas em carne DFDmod e DFD, as quais não se distinguem. Como anteriormente referido, a carne com um pH_f elevado possui uma menor tendência para a formação de metamioglobina e logo uma melhor estabilidade da cor (Ledward *et al.*, 1986), o que poderá explicar os resultados obtidos.

O coeficiente de correlação entre este parâmetro e o pH da carne (-0,43; p<0,001) foi semelhante ao anteriormente referido (anexo A.IV).

Efeito do tipo de embalagem

Pela análise do Quadro 30 pode verificar-se que o tipo de embalagem exerceu um efeito sempre significativo (p<0,001) para este atributo, a partir do t₇. A carne embalada sob vácuo continua a apresentar valores sempre mais baixos, quase sempre 0,0, logo a não apresentar cor castanha, diferindo significativamente de todas as restantes embalagens a partir do t₁₀. No t₂₈, as médias obtidas foram 0,0 em vácuo e de 1,09 em AM_{30/60}, diferindo significativamente. O maior e mais precoce acastanhamento da carne Normal na AM_{30/60}, comparativamente às outras AMs, está de acordo com outros trabalhos que referem que o uso de elevadas concentrações de CO₂ e conseqüentemente baixas concentrações de O₂, favorecem a descoloração da carne de bovino e suíno, resultante da conversão da oximioglobina em metamioglobina (Ledward, 1970; Silliker *et al.*, 1977).

Interacção grupo de pH_f e tipo de embalagem

Verificou-se a ocorrência de interacção significativa em cinco tempos ilustrados pela Figura 43.

No t₇, a carne Normal embalada em aerobiose e em AM_{30/60} apresentam as médias mais elevadas, logo mais castanhas, não se diferenciando entre si, mas que se distinguem significativamente das restantes, as quais não revelam diferenças, em qualquer embalagem, qualquer que seja o grupo de pH_f. Nos tempos subsequentes, a carne Normal embalada em AM_{70/20} e AM_{50/40}, passam a distinguir-se também das carnes DFDmod e DFD nestas condições, não se distinguindo contudo de carne DFDmod embalada em AM_{30/60}. Em vácuo, a carne dos três grupos de qualidade não se distinguem, em qualquer dos tempos. Em AMs a carne Normal distingue-se das restantes no t₁₄ e t₂₁. Em AM_{30/60}, a carne DFD com os valores mais baixos, distingue-se sempre da Normal, mas não da DFDmod. No t₂₈ a carne DFDmod apresenta uma posição intermédia, não se diferenciando dos outros 2 grupos de qualidade.

Esta interacção, no mesmo sentido que a observada para esta cor na carne embalada, traduz um fenómeno que foi observado em diferentes variáveis, que reflecte um comportamento distinto da carne Normal quando embalada em aerobiose ou em AMs.

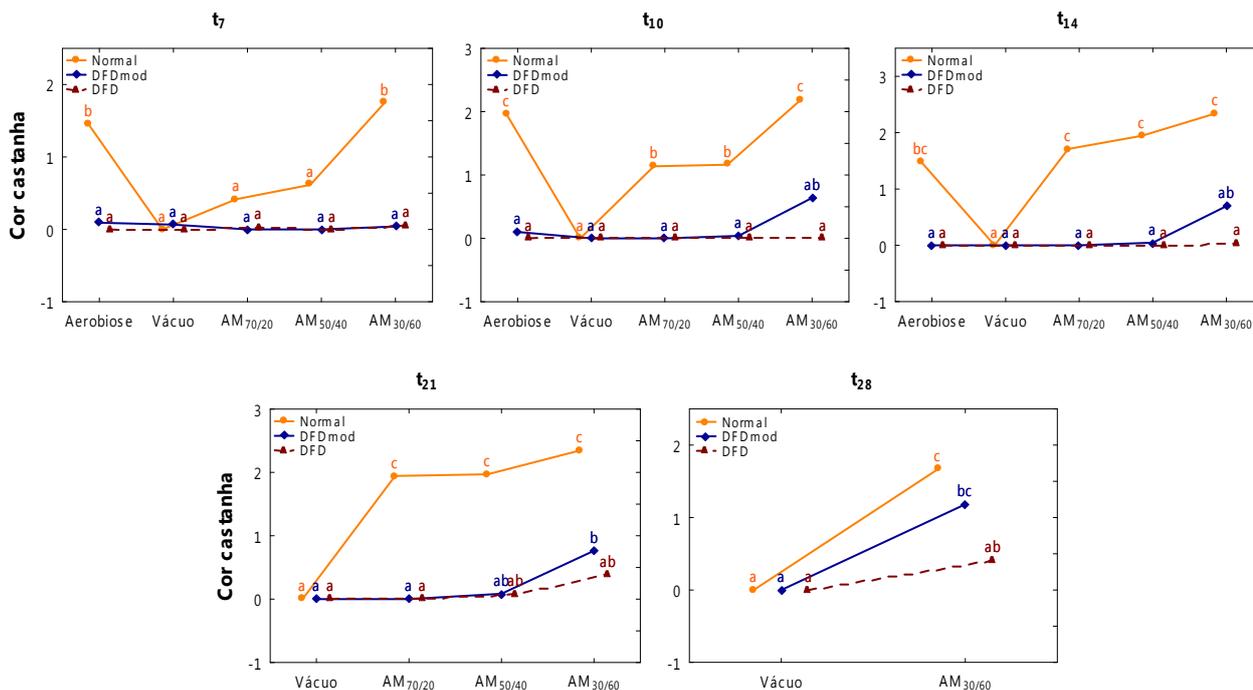


Figura 43- Interação grupo de pH_f e tipo de embalagem para a cor castanha no t₇, t₁₀, t₁₄, t₂₁ e t₂₈ (em cada tempo, médias que não possuíam letras iguais diferem significativamente; p < 0,05).

III.3.3.1.2. Superfície de descoloração

A superfície de descoloração foi avaliada pelo painel nas amostras de carne embalada (E) e, após 60 min da abertura da embalagem.

Os valores médios para a superfície de descoloração nas amostras da carne embalada (E) para os três grupos de pH_f e para os vários tipos de embalagem, nos distintos tempos (dias *pm*) de armazenamento, são mostrados no Quadro 31. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os efeitos do grupo de pH_f e do tipo de embalagem, bem como da interação (grupo de pH_f x tipo de embalagem). Os parâmetros de análise de variância são apresentados no Quadro A.II.27 do anexo.

A Figura 44 ilustra a evolução da superfície de descoloração (E), avaliada pelo painel, nos três grupos de pH_f, para cada tipo de embalagem, ao longo do período de armazenamento. Os valores integrais que suportam estes gráficos são apresentados no Quadro A.III.27 do anexo.

A Figura 44 revela que em vácuo não foi observada a ocorrência de descoloração da carne, uma vez que valores de 1,0 indicam ausência de descoloração.

A descoloração da carne passa a ser evidente em aerobiose nos três tipos de carne a partir do t₁₀ e do t₁₄ em AMs. Em AM_{70/20} e em AM_{50/40}, os valores mais elevados foram observados em carne Normal no t₂₁. Em AM_{30/60}, observam-se os valores mais elevados que aumentam em carne DFDmod e DFD, contudo no t₁₄ e t₂₁ é a carne Normal a que apresenta os valores mais elevados.

Quadro 31- Médias (\pm desvio padrão) para a superfície de descoloração (E), avaliada pelo painel, na carne embalada, de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem, no t₁ e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
pH_f									
Normal	1,00 \pm 0,00	1,01 \pm 0,04	1,07 \pm 0,16	1,00 \pm 0,00	1,19 \pm 0,48	1,99 \pm 1,34	2,92 \pm 1,45 ^b	2,51 \pm 2,21	1,00 \pm 0,00
DFDmod	1,00 \pm 0,00	1,00 \pm 0,00	1,00 \pm 0,00	1,03 \pm 0,12	1,22 \pm 0,52	1,55 \pm 0,97	1,77 \pm 0,91 ^a	2,67 \pm 1,96	1,00 \pm 0,00
DFD	1,00 \pm 0,00	1,03 \pm 0,10	1,79 \pm 1,22	1,04 \pm 0,18	1,27 \pm 0,67	1,55 \pm 1,28	1,39 \pm 0,66 ^a	2,14 \pm 1,71	1,03 \pm 0,07
Sig	ns	ns	ns	ns	ns	ns	***	ns	ns
Embalagem									
Aerobiose	1,00 \pm 0,00 [▲]	1,01 \pm 0,03	1,28 \pm 0,76	1,07 \pm 0,24	1,93 \pm 0,93 ^b	3,24 \pm 1,63 ^b	-	-	-
Vácuo	«	1,00 \pm 0,00	-	1,00 \pm 0,00	1,00 \pm 0,00 ^a	1,00 \pm 0,00 ^a	1,03 \pm 0,06 ^a	1,01 \pm 0,03	1,01 \pm 0,04
AM _{70/20}	«	1,00 \pm 0,00	-	1,00 \pm 0,00	1,01 \pm 0,04 ^a	1,29 \pm 0,66 ^a	2,17 \pm 1,37 ^b	-	-
AM _{50/40}	«	1,04 \pm 0,12	-	1,01 \pm 0,03	1,04 \pm 0,12 ^a	1,15 \pm 0,35 ^a	2,18 \pm 1,13 ^b	-	-
AM _{30/60}	«	1,03 \pm 0,07	-	1,04 \pm 0,16	1,14 \pm 0,26 ^a	1,79 \pm 0,94 ^a	2,72 \pm 1,25 ^b	3,88 \pm 1,81	-
Sig	-	ns	-	ns	***	***	***	***	-
pH_f x Emb									
Sig	-	ns	-	ns	ns	ns	**	ns	-

Para cada efeito, na mesma coluna, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente ($p < 0,05$).
 ns-não significativo ($p \geq 0,05$); *-significativo ($p < 0,05$); **-muito significativo ($p < 0,01$); ***-altamente significativo ($p < 0,001$).
 ▲antes da embalagem.

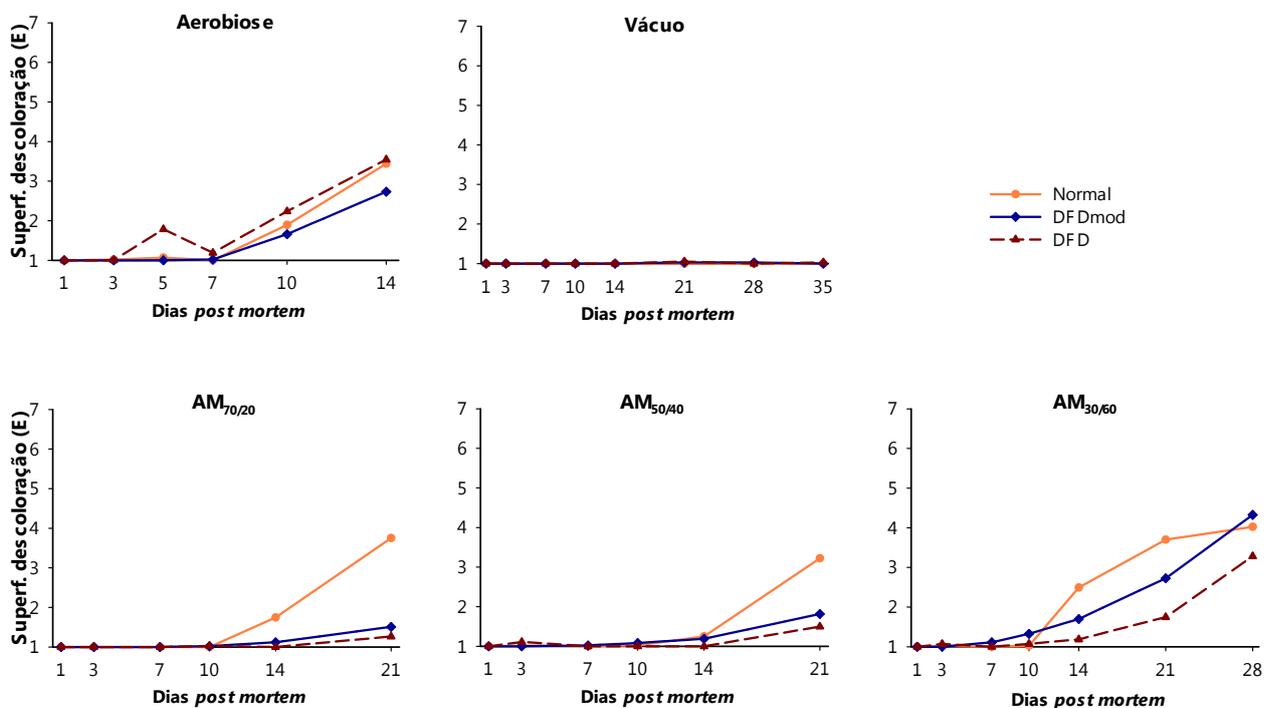


Figura 44- Evolução da superfície de descoloração (E), ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40} e AM_{30/60}), de acordo o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD).

Outros autores (Sørheim *et al.*, 1995; Jeremiah, 2001; Jeremiah e Gibson, 2001), referem o aumento da superfície de descoloração em carne de bovino, ao longo do armazenamento, em AM com 100% de CO₂ bem como em vácuo, o que não se verifica no presente trabalho para esta última embalagem. Contrariamente, Erichsen *et al.* (1981) referem a não descoloração de carne de bovino em AM com 100% de CO₂.

Este parâmetro está correlacionado de uma forma particular com o parâmetro a_0^* (-0,53; $p < 0,001$) e com a cor castanha (E) (0,34; $p < 0,001$) (anexo A.IV).

A análise de variância revelou que o grupo de pH_f teve um efeito significativo ($p < 0,001$) sobre este parâmetro apenas no t₂₁, enquanto que o tipo de embalagem exerceu influência a partir do t₁₀. Verificou-se a existência de interação significativa entre grupo de pH_f e tipo de embalagem, no t₂₁.

Efeito do grupo de pH_f

Para a superfície de descoloração (E) na carne embalada não se observaram diferenças significativas para o efeito do pH_f, excepto no t₂₁. Neste tempo, obtiveram-se médias mais elevadas em carne Normal e que diferem significativamente das obtidas em carne DFDmod e DFD, as quais não se distinguem. Isto é indicativo que a carne Normal apresenta maior percentagem de superfície de descoloração (E) do que as restantes, o que será referido posteriormente, quando se falar da interação observada neste tempo.

Efeito do tipo de embalagem

Pela análise do Quadro 31 pode verificar-se que o tipo de embalagem exerceu um efeito sempre altamente significativo ($p < 0,001$) para este atributo, a partir do t₁₀, não tendo sido observadas diferenças nos tempos anteriores. As médias obtidas em aerobiose são das mais elevadas e aumentam ao longo do tempo, atingindo os 3,24 no t₁₄. Do t₁₀ ao t₁₄, distinguem-se das observadas nas restantes embalagens. Nas AMs, as médias nunca se diferenciam entre si.

A carne embalada sob vácuo continua a apresentar valores sempre mais baixos, quase sempre 1,0, logo a não apresentar descoloração da carne, diferindo significativamente de todas as restantes atmosferas no t₂₁ e no t₂₈. No t₂₈, as médias obtidas foram 1,01 em vácuo e de 3,88 em AM_{30/60}, diferindo significativamente. Como anteriormente referido, os dados obtidos não confirmam os de Eriksen *et al.* (1981) que referem a não descoloração de carne de bovino em AM com 100% de CO₂.

Interação grupo de pH_f e tipo de embalagem

Na Figura 45, verifica-se que a carne Normal embalada em AMs apresenta, neste tempo, os valores mais elevados para a superfície de descoloração, os quais não se diferenciam entre si, mas revelando diferenças significativas relativamente à carne embalada sob vácuo. Em carne DFD, isto não acontece, pois não se observam diferenças qualquer que seja a embalagem. Em carne DFDmod, a carne embalada sob vácuo distingue-se da embalada em AM_{30/60}.

Em vácuo e em AM_{50/40}, nunca se observaram diferenças, entre os diferentes grupos de qualidade. Em AM_{70/20} a carne Normal diferencia-se das restantes e em AM_{30/60} a Normal diferencia-se da DFD, ocupando a DFDmod uma posição intermédia, não se distinguindo.

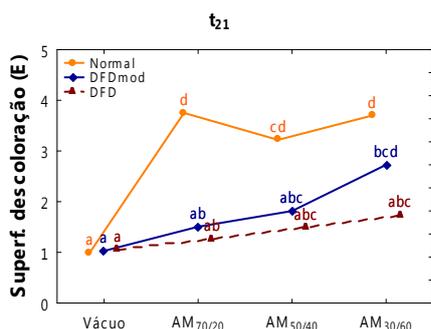


Figura 45- Interação grupo de pH_f e embalagem para a superfície de descoloração (E) no t₂₁ (médias que não possuem letras iguais diferem significativamente; p<0,05).

Os valores médios para a superfície de descoloração, após abertura da embalagem, nas amostras de carne para os três grupos de pH_f e para os vários tipos de embalagem, nos distintos tempos (dias *pm*) de armazenamento, são mostrados no Quadro 32.

Quadro 32- Médias (\pm desvio padrão) para a superfície de descoloração, avaliada pelo painel, após 60 min da abertura da embalagem, de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem, no t₁ e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
pH_f									
Normal	1,00 \pm 0,00	1,03 \pm 0,09	1,13 \pm 0,21	1,05 \pm 0,26	1,33 \pm 0,83	1,94 \pm 1,38	3,11 \pm 1,59 ^b	2,30 \pm 1,91	1,00 \pm 0,00
DFDmod	1,00 \pm 0,00	1,00 \pm 0,03	1,00 \pm 0,00	1,06 \pm 0,26	1,20 \pm 0,55	1,61 \pm 1,09	1,62 \pm 0,91 ^a	2,68 \pm 1,94	1,11 \pm 0,16
DFD	1,00 \pm 0,00	1,01 \pm 0,05	1,00 \pm 0,00	1,03 \pm 0,13	1,31 \pm 0,75	1,53 \pm 1,30	1,33 \pm 0,59 ^a	1,78 \pm 1,19	1,00 \pm 0,00
Sig	ns	ns	ns	ns	ns	ns	***	ns	ns
Embalagem									
Aerobiose	1,00 \pm 0,00 [▲]	1,03 \pm 0,10	1,04 \pm 0,13	1,21 \pm 0,48 ^b	2,13 \pm 1,12 ^b	3,35 \pm 1,65 ^b	-	-	-
Vácuo	«	1,01 \pm 0,03	-	1,00 \pm 0,00 ^a	1,01 \pm 0,04 ^a	1,02 \pm 0,05 ^a	1,01 \pm 0,04 ^a	1,03 \pm 0,06	1,04 \pm 0,10
AM _{70/20}	«	1,00 \pm 0,00	-	1,00 \pm 0,00 ^a	1,18 \pm 0,63 ^a	1,23 \pm 0,71 ^a	2,12 \pm 1,55 ^b	-	-
AM _{50/40}	«	1,03 \pm 0,08	-	1,02 \pm 0,05 ^{ab}	1,01 \pm 0,04 ^a	1,18 \pm 0,48 ^a	2,32 \pm 1,38 ^b	-	-
AM _{30/60}	«	1,00 \pm 0,00	-	1,00 \pm 0,00 ^a	1,06 \pm 0,13 ^a	1,69 \pm 0,99 ^a	2,62 \pm 1,31 ^b	3,49 \pm 1,68	-
Sig	-	ns	-	*	***	***	***	***	-
pH_f x Emb									
Sig	-	ns	-	ns	ns	ns	**	ns	-

Para cada efeito, na mesma coluna, médias que não possuem letras iguais diferem significativamente (p<0,05). ns-não significativo (p \geq 0,05); *-significativo (p<0,05); **-muito significativo (p<0,01); ***-altamente significativo (p<0,001).
 ▲antes da embalagem.

A Figura 46 ilustra a evolução da superfície de descoloração, avaliada pelo painel, nos três grupos de pH_f, para cada tipo de embalagem, ao longo do período de armazenamento. Os valores integrais que suportam estes gráficos são apresentados no Quadro A.III.2.1 em anexo.

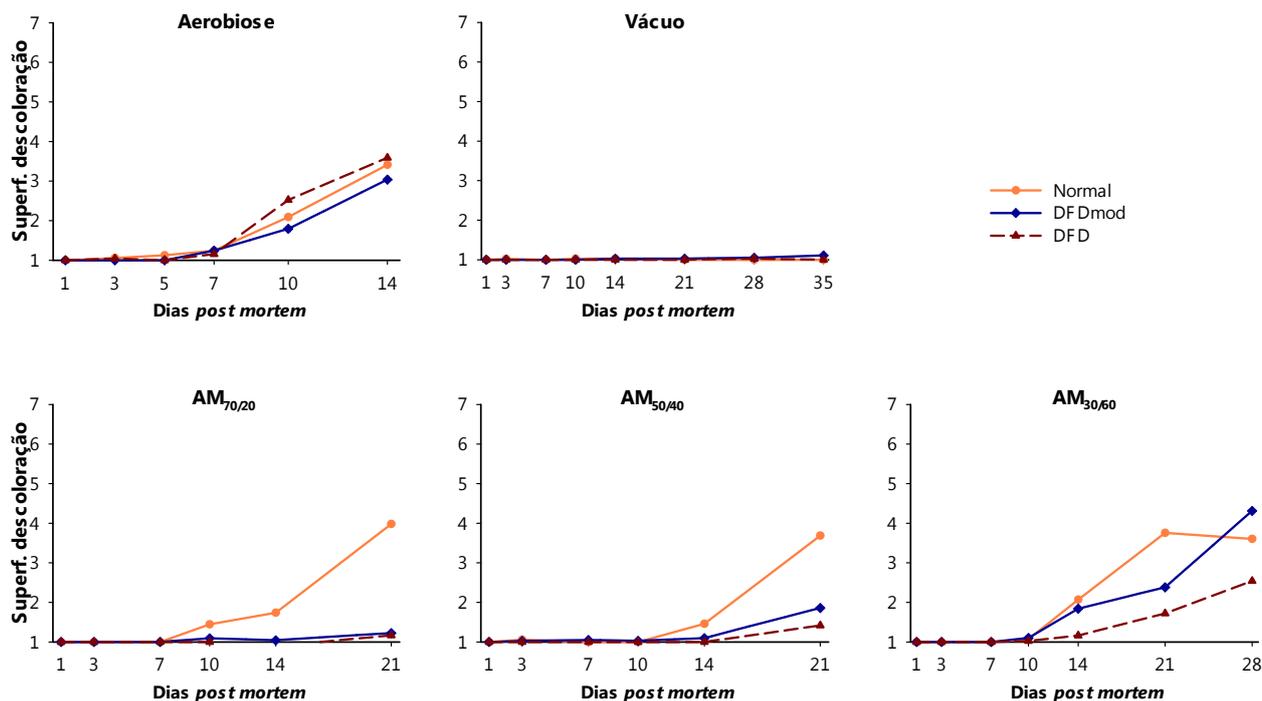


Figura 46- Evolução da superfície de descoloração ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40} e AM_{30/60}), de acordo o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD).

Pela análise da Figura 46 podemos constatar que a descoloração observada foi semelhante à referida antes da abertura da embalagem. Em vácuo, após abertura da embalagem, continuamos a obter médias que revelam a ausência de descoloração da carne.

A descoloração da carne passa a ser evidente em aerobiose nos três tipos de carne a partir do t_7 . Em AM_{70/20}, começa a ser evidente a descoloração da carne a partir do t_{10} , mas apenas em carne Normal, enquanto em AM_{50/40}, a partir do t_{14} . Tal como verificado na carne embalada, em AM_{30/60}, observam-se os valores mais elevados que aumentam em carne DFDmod e DFD, contudo nos t_{14} e t_{21} é, novamente, a carne Normal a que apresenta os valores mais elevados.

Este parâmetro está correlacionado de uma forma particular com o parâmetro a_{60}^* (-0,59; $p < 0,001$) e com a cor castanha (E) (0,35; $p < 0,001$) (anexo A.IV).

A análise de variância revelou que o grupo de pH_f teve um efeito significativo ($p < 0,001$) sobre este parâmetro apenas no t_{21} , como anteriormente, enquanto que o tipo de embalagem exerceu uma influência significativa a partir do t_7 . Verificou-se a existência de interação significativa entre grupo de pH_f e tipo de embalagem, no t_{21} .

Efeito do grupo de pH_f

Para a superfície de descoloração não se observaram diferenças significativas para o efeito do pH_f, excepto no t_{21} . Neste tempo, obtiveram-se médias mais elevadas em carne Normal e significativamente

diferentes das obtidas em carne DFDmod e DFD, as quais não se distinguem. Isto é indicativo que a carne Normal apresenta maior percentagem de superfície de descoloração do que as restantes.

Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os efeitos do grupo de pH_f e do tipo de embalagem, bem como da interacção (grupo de pH_f x tipo de embalagem). Os parâmetros de análise de variância são apresentados no Quadro A.II.27 do anexo.

Efeito do tipo de embalagem

Pela análise do Quadro 32 pode verificar-se que o tipo de embalagem exerceu um efeito significativo para este atributo, a partir do t₇. As médias obtidas em aerobiose foram das mais elevadas e aumentaram ao longo do tempo, atingindo os 3,35 no t₁₄, valor semelhante ao observado antes da abertura da embalagem. Do t₁₀, ao t₁₄, distinguem-se das observadas nas restantes embalagens, enquanto no t₇, não se diferenciam das obtidas em AM_{50/40}. Nas AMs, as médias nunca se diferenciam entre si. A carne embalada sob vácuo continua a apresentar os valores sempre mais baixos, quase sempre 1,0, logo a não apresentar descoloração da carne, diferindo significativamente de todas as restantes atmosferas no t₂₁ e no t₂₈. No t₂₈, as médias obtidas foram 1,03 em vácuo e de 3,49 em AM_{30/60}, diferindo de forma significativa.

Interacção grupo de pH_f e tipo de embalagem

Na Figura 47, verifica-se que a carne Normal embalada em AMs apresenta os valores mais elevados para a superfície de descoloração, os quais não se diferenciam entre si, mas revelando diferenças significativas relativamente a todas as restantes condições (pH_f x tipo de embalagem), excepto no caso da carne DFDmod embalada em AM_{30/60}. Não se observam diferenças significativas entre embalagens em carne DFDmod e DFD. Esta interacção apresenta uma tendência similar à observada com a cor castanha, demarcando-se as amostras de carne Normal nas AMs.

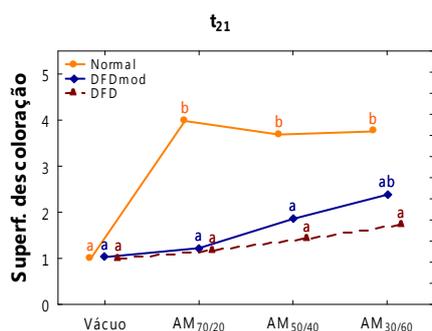


Figura 47- Interacção grupo de pH_f e tipo embalagem para a superfície de descoloração da carne no t₂₁ (médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; p<0,05).

III.3.3.3. Cheiro avaliado pelo painel

Os resultados obtidos com a avaliação do cheiro a fresco não são apresentados neste trabalho, optando-se por apresentar apenas os dados relativos à intensidade de cheiro a deteriorado, pois estas duas variáveis mostraram o mesmo tipo de variação (inversa), sendo complementares uma da outra.

III.3.3.3.1. Intensidade de cheiro a deteriorado

Os valores médios para o cheiro a deteriorado nas amostras de carne para os três grupos de pH_f e para os vários tipos de embalagem, nos distintos tempos (dias *pm*) de armazenamento, são mostrados no Quadro 33. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os efeitos do grupo de pH_f e do tipo de embalagem, bem como da interação (grupo de pH_f x tipo de embalagem). Os parâmetros de análise de variância são apresentados no Quadro A.II.28 do anexo.

A Figura 48 ilustra a evolução do cheiro a deteriorado, avaliado pelo painel, nos três grupos de pH_f, para cada tipo de embalagem, ao longo do período de armazenamento. Os valores integrais que suportam estes gráficos são apresentados no Quadro A.III.28 do anexo.

Quadro 33- Médias (\pm desvio padrão) para o cheiro a deteriorado, avaliado pelo painel, de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem, no t₁ e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
pH_f									
Normal	1,00±0,00	1,40±1,15	1,89±1,09	1,83±0,69	2,44±1,06 ^a	3,83±1,63 ^b	4,27±1,71 ^b	3,86±1,92	2,65±0,87
DFDmod	1,17±0,41	1,31±0,32	1,28±0,27	1,94±1,01	2,06±1,10 ^a	2,92±1,52 ^a	3,15±0,93 ^a	4,42±1,50	4,41±1,72
DFD	1,76±1,14	1,57±0,51	1,74±0,71	2,03±0,69	3,04±1,34 ^b	3,25±1,67 ^{ab}	3,52±1,23 ^a	4,41±1,20	4,28±1,62
Sig	ns	ns	ns	ns	***	**	***	ns	ns
Embalagem									
Aerobiose	1,31±0,74 [▲]	1,34±0,48	1,64±0,77	2,60±1,11 ^b	4,09±1,78 ^b	5,63±1,10 ^c	-	-	-
Vácuo	«	1,34±0,43	-	1,72±0,89 ^a	1,82±0,52 ^a	1,79±0,48 ^a	2,20±0,84 ^a	3,05±1,24	3,78±1,59
AM _{70/20}	«	1,67±1,41	-	1,93±0,62 ^{ab}	2,26±0,62 ^a	3,46±1,30 ^b	4,47±1,33 ^b	-	-
AM _{50/40}	«	1,41±0,53	-	1,70±0,45 ^a	2,15±0,64 ^a	2,81±1,04 ^b	4,01±1,14 ^b	-	-
AM _{30/60}	«	1,35±0,40	-	1,73±0,42 ^a	2,24±0,43 ^a	2,98±1,12 ^b	3,90±1,08 ^b	5,41±0,68	-
Sig	-	ns	-	**	***	***	***	***	-
pH_f x Emb									
Sig	-	ns	-	ns	ns	ns	**	*	-

Para cada efeito, na mesma coluna, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente ($p < 0,05$).

ns-não significativo ($p \geq 0,05$); *-significativo ($p < 0,05$); **-muito significativo ($p < 0,01$); ***-altamente significativo ($p < 0,001$).

▲antes da embalagem.

Pela análise da Figura 48 podemos observar que a evolução do cheiro a deteriorado variou de acordo com o grupo de qualidade e com o tipo de embalagem, observando-se um cheiro a deteriorado mais precocemente em carne embalada em aerobiose. Em vácuo, obtiveram-se os valores mais baixos nos tempos correspondentes, com a carne DFDmod e DFD a apresentarem um valor sempre mais elevado a partir do t₂₁. Contrariamente, nas AMs, a partir do t₁₄, é a carne Normal que apresenta um cheiro a deteriorado mais intenso, excepto na AM_{30/60} no t₂₈.

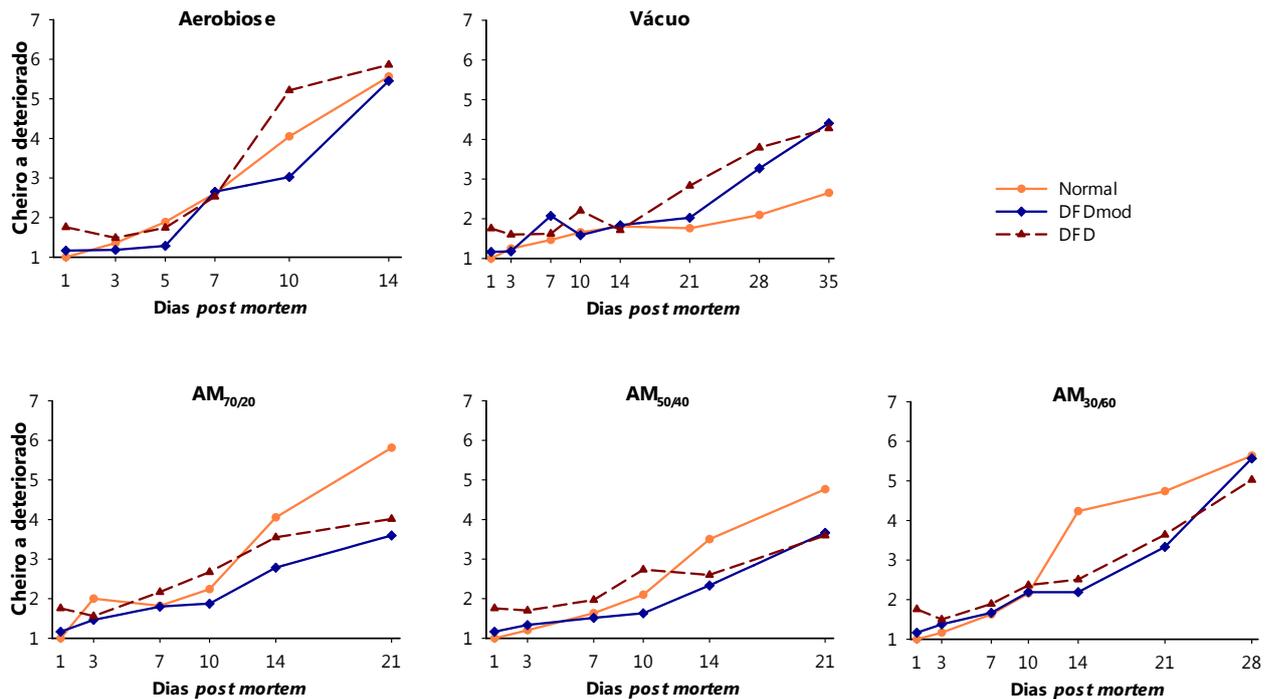


Figura 48- Evolução do cheiro a deteriorado ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40} e AM_{30/60}), de acordo o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD).

O cheiro a deteriorado correlacionou-se significativamente ($p < 0,001$) de forma negativa com o parâmetro a_{60}^* , revelando que as amostras com maior componente vermelha, possuem menor cheiro a deteriorado. Pelo contrário, este parâmetro correlacionou-se positivamente com o teor em ABVT, com a cor castanha e superfície de descoloração antes e após abertura da embalagem, assim como com a microflora, particularmente com BAL, *B. thermosphacta*, *Pseudomonas* spp., mesófilos e psicrotóxicos com coeficientes superiores a 0,5 (anexo A.IV). Este conjunto de correlação sugere que o cheiro a deteriorado decorre, por um lado da actividade de determinados microrganismos e da sua actividade catabólica da fracção azotada (ABVT), e por outro, de fenómenos que determinam a cor castanha da carne.

A análise de variância revelou que o grupo de pH_f teve um efeito significativo no cheiro a deteriorado do t_{10} ao t_{21} , enquanto o tipo de embalagem exerceu um efeito significativo a partir do t_7 . Verificou-se a existência de interacção significativa entre grupo de pH_f e tipo de embalagem, no t_{21} ($p < 0,01$) e t_{28} ($p < 0,001$).

Efeito do grupo de pH_f

Para o cheiro a deteriorado não foram observadas diferenças significativas entre grupos de pH_f até ao t_7 . No t_{10} observaram-se diferenças significativas entre carne DFD, com os valores mais elevados, e os outros dois grupos, que não se distinguiram estatisticamente. No t_{14} , obtiveram-se médias mais baixas em carne

DFDmod e significativamente diferentes das obtidas em carne Normal, mas não se distinguiram da DFD. Por sua vez a carne DFD não se distingue de ambas nesse tempo.

Efeito do tipo de embalagem

Pela análise do Quadro 33 pode verificar-se que o tipo de embalagem exerceu um efeito significativo para este parâmetro, a partir do t_7 . As médias obtidas em aerobiose foram das mais elevadas e aumentaram ao longo do tempo, atingindo os 5,63 no t_{14} . Do t_{10} ao t_{14} , distinguem-se das observadas nas restantes embalagens, enquanto no t_7 , não se diferenciam das obtidas em AM_{70/20}. Nas AMs, as médias nunca se diferenciam entre si. Neste trabalho, embora não tenham sido encontradas diferenças significativas entre as AMs, em termos médios a AM_{70/20} foi referida pelo painel como apresentando um cheiro a deteriorado mais intenso que as outras duas AMs, com menor percentagem de O₂. Zakrys *et al.* (2008) referem, em carne grelhada de bovino, uma maior percepção de *flavour* a oxidado nas embalagens com maior percentagem de O₂. Ainda segundo estes autores, a deterioração do *flavour* é particularmente evidente a partir do dia 12 de armazenamento, coincidindo sensivelmente, com o incremento na intensidade do cheiro a deteriorado observado no presente trabalho a partir do dia 14.

A carne embalada sob vácuo é a que apresenta os valores sempre mais baixos, diferindo significativamente de todas as restantes atmosferas no t_{14} ao t_{28} . No t_{28} , as médias obtidas foram 3,05 em vácuo e de 5,41 em AM_{30/60}, diferindo significativamente ($p < 0,001$). Sørheim *et al.* (1999), em carne de bovino armazenada a 4°C, referem o aparecimento de odores desagradáveis mais precocemente em AM com 70% O₂/ 30% CO₂, comparativamente à embalagem sob vácuo. Nesse estudo, foram detectados odores desagradáveis na AM com O₂ após 14 dias, observando-se um paralelismo com os dados obtidos no presente trabalho. Em carne de avestruz foi observado o aparecimento de odores desagradáveis de uma forma mais intensa em aerobiose comparativamente com a embalagem sob até aos 12 dias de armazenamento a 2°C (Fernández-López *et al.*, 2008).

Interacção grupo de pH_f e tipo de embalagem

Verificou-se a ocorrência de interacção significativa em dois tempos ilustrados pela Figura 49.

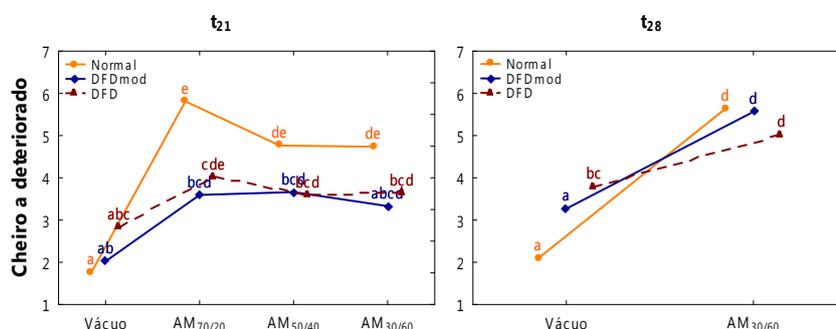


Figura 49- Interacção grupo de pH_f e tipo de embalagem para o cheiro a deteriorado no t_{21} e t_{28} (em cada tempo, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; $p < 0,05$).

No t_{21} , verifica-se que a carne Normal embalada em AM_{70/20} apresenta os valores o cheiro a deteriorado mais intenso, diferenciando-se da carne embalada sob vácuo, qualquer que seja o grupo de qualidade.

Também revela diferenças significativas relativamente à carne DFDmod em todas as AMs e relativamente à carne DFD embalada em AM_{50/40} e em AM_{30/60}.

No t₂₈, verificam-se sempre diferenças entre as embalagens consideradas. Em AM_{30/60} os três grupos comportam-se de igual forma, sem diferenças significativas. Em vácuo isto não se verifica, pois a carne Normal e a DFDmod não se diferenciam, mas ambos se distinguem da carne DFD.

Considerando as correlações entre o cheiro a deteriorado e as variáveis previamente referidas, seria expectável que o este cheiro fosse mais intenso nas amostras que suportaram um maior desenvolvimento microbiano. Como se pode observar no gráfico da Figura 49, foi na carne de pH_f Normal – a que apresentou menores contagens de microrganismos - que se detectou um cheiro a deteriorado mais intenso, sugerindo que possam ser outras as vias envolvidas na origem desse cheiro.

A capacidade para produzir compostos responsáveis pelo cheiro a deteriorado varia com o tipo de microrganismo (Pittard *et al.*, 1982). Herbert *et al.* (1971) referem que apenas 10 a 20% da microbiota total são responsáveis pela putrefacção, a que McMeekin *et al.* (1975), citado por Stutz *et al.* (1991) acrescentam que essa percentagem aumenta ao longo do tempo de armazenamento. Freeman *et al.* (1976), referiram a dificuldade em identificar os compostos responsáveis pelos aromas específicos da deterioração. O aparecimento de cheiro a deteriorado em carne de bovino tem sido atribuído ao desenvolvimento de uma microflora variada (Dainty *et al.*, 1975).

III.3.3.3.2. Tipo de cheiro detectado

Dos Quadros 34 ao Quadro 40 apresentam-se as frequências de ocorrência dos vários cheiros detectados pelo painel sensorial, respectivamente, cheiro a pútrido, ácido/fermentado, amoniacal, a ranço, a manteiga e adocicado.

No Quadro 34 podem observar-se os resultados da distribuição do qualificativo “cheiro pútrido” identificado pelos provadores nas amostras de carne de bovino. Os resultados referem-se ao número de vezes que este cheiro foi referido nas 6 repetições do ensaio pelo grupo de provadores (pelo menos 6 elementos). Como se pode observar o cheiro pútrido foi pouco mencionado até ao t₅, não se fazendo sentir o efeito do grupo de pH_f, nem do tipo de embalagem.

Efeito do grupo de pH_f

O efeito do grupo de pH_f na distribuição da referência ao qualificativo “cheiro pútrido” mostrou-se significativo (p<0,05) nos t₇, t₁₀ e t₂₈, e, altamente significativo (p<0,001) nos t₂₁ e t₃₅. Nestes tempos de amostragem destaca-se a distribuição deste tipo de cheiro em carnes embaladas em aerobiose, verificando-se uma referência mais frequente ao cheiro pútrido naquelas com pH_f mais elevado (associação muito significativa no t₁₀). No mesmo sentido, observou-se que ao fim de 28 e de 35 dias *pm* de armazenamento sob vácuo, as carnes DFD apresentaram uma maior frequência (p<0,001) de referência ao qualificativo “pútrido”. Em sentido inverso observou-se que a carne de pH_f normal foi mais

frequentemente indicada como apresentando cheiro pútrido quando embalada nas atmosferas modificadas, em particular na AM_{70/20} no t₂₁. Neste tempo, a carne em AM_{30/60} é referenciada como tendo cheiro pútrido apenas em carne Normal.

Quadro 34- Frequências (%) e significâncias do teste Qui-quadrado para o cheiro a pútrido detectado pelo painel, para cada tipo de embalagem e grupo de pH_f, no t₁ e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
FREQUÊNCIAS									
Aerobiose									
Normal	2,6 (38)	2,8 (36)	2,6 (39)	5,0 (40)	17,9 (39)	67,5 (40)	-	-	-
DFDmod	0,0 (36)	2,4 (41)	5,6 (36)	14,0 (43)	22,5 (40)	65,9 (44)	-	-	-
DFD	2,8 (36)	0,0 (44)	6,4 (47)	4,8 (42)	50,0 (44)	77,5 (40)	-	-	-
Vácuo									
Normal	-	2,8 (36)	-	0,0 (40)	0,0 (40)	2,6 (39)	0,0 (41)	2,4 (42)	0,0 (36)
DFDmod	-	13,9 (36)	-	2,2 (46)	0,0 (41)	2,3 (44)	2,4 (42)	19 (42)	61,1 (36)
DFD	-	0,0 (44)	-	0,0 (44)	0,0 (41)	0,0 (41)	4,7 (43)	30,6 (36)	55,6 (36)
AM_{70/20}									
Normal	-	2,8 (36)	-	0,0 (38)	0,0 (41)	11,6 (43)	20,5 (39)	-	-
DFDmod	-	2,9 (42)	-	6,7 (45)	4,8 (42)	2,3 (44)	0,0 (42)	-	-
DFD	-	0,0 (44)	-	0,0 (43)	0,0 (41)	17,9 (39)	12,5 (40)	-	-
AM_{50/40}									
Normal	-	2,8 (36)	-	0,0 (36)	0,0 (40)	7,3 (41)	12,2 (41)	-	-
DFDmod	-	4,8 (42)	-	4,4 (45)	0,0 (42)	2,3 (44)	2,3 (43)	-	-
DFD	-	4,8 (42)	-	0,0 (42)	0,0 (43)	2,6 (39)	17,4 (39)	-	-
AM_{30/60}									
Normal	-	0,0 (36)	-	0,0 (39)	0,0 (42)	7,3 (41)	12,8 (39)	12,2 (41)	-
DFDmod	-	2,3 (43)	-	0,0 (46)	0,0 (42)	0,0 (44)	0,0 (41)	12,5 (40)	-
DFD	-	4,5 (44)	-	2,3 (44)	0,0 (44)	2,5 (40)	0,0 (38)	13,9 (36)	-
SIGNIFICÂNCIAS									
Efeito Embalagem									
<i>Geral</i>	-	ns	-	**	***	***	**	ns	-
<i>Em cada grupo de pH_f</i>									
Normal	-	ns	-	ns	***	***	*	ns	-
DFDmod	-	ns	-	*	***	***	ns	ns	-
DFD	-	ns	-	ns	***	***	**	ns	-
Efeito Grupo de pH_f									
<i>Geral</i>	ns	ns	ns	*	*	ns	***	*	***
<i>Em cada embalagem:</i>									
Aerobiose	-	ns	-	ns	**	ns	-	-	-
Vácuo	-	*	-	ns	-	ns	ns	**	-
AM _{70/20}	-	ns	-	ns	ns	ns	**	-	-
AM _{50/40}	-	ns	-	ns	-	ns	ns	-	-
AM _{30/60}	-	ns	-	ns	-	ns	**	ns	-

ns-não significativo (p≥0,05); *-significativo (p<0,05); **-muito significativo (p<0,01); ***-altamente significativo (p<0,001).

▲antes da embalagem.

Efeito do tipo de embalagem

A partir dos seis dias de armazenamento (t₇), o efeito do tipo de embalagem começou a evidenciar-se, demarcando-se, a partir desse momento de amostragem, a carne embalada em aerobiose, com uma proporção maior de referências ao “cheiro pútrido”, que determinaram a significância (p<0,001) do valor de Qui-quadrado calculado. As frequências mais elevadas deste cheiro, com valores iguais ou superiores a 50% de ocorrência, foram detectadas em carne DFD embalada em aerobiose no t₁₀, para todos os tipos

de qualidade de carne embalada neste tipo no t_{14} e em carnes com pH_f elevado (DFD e DFDmod) embaladas sob vácuo no t_{35} .

Ainda que seja aceite a associação entre o desenvolvimento de odores a pútrido, frutado, a vegetal e sulfurados à deterioração de carne refrigerada por *Pseudomonas* spp. e outros microrganismos Gram negativos, Stutz *et al.* (1991) não estabeleceu uma relação clara entre a identidade desses microrganismos e o seu papel na deterioração. Porém, aqueles autores, verificaram que os microrganismos Gram positivos não são considerados os principais responsáveis pelo cheiro a pútrido associado à deterioração em carne de bovino.

Um outro cheiro que foi identificado nas amostras pelos provadores foi o “**cheiro ácido/fermentado**”. A distribuição da referência a este cheiro nas diferentes condições de ensaio encontra-se apresentada no Quadro 35. Genericamente a distribuição de proporções foi influenciada pelos factores em estudo, ainda que nem sempre seja possível deduzir um padrão coerente dessa distribuição.

Efeito do grupo de pH_f

O efeito do grupo de pH_f mostrou-se significativo na distribuição da referência a este cheiro, tendo sido nas amostras embaladas sob vácuo, e em tempos de armazenamento mais longos (21 e 35 dias) que se observou uma relação mais previsível, ou seja, uma maior proporção mencionada nas carnes com características DFD ($p < 0,01$ e $p < 0,001$, respectivamente). Contrariamente, nas amostras embaladas com a atmosfera modificada mais rica em CO_2 ($AM_{30/60}$) observou-se, entre os 14 e os 21 dias *pm*, uma indicação mais frequente do cheiro ácido/fermentado nas amostras com pH_f Normal, sendo que essa distribuição apenas se revela significativa no t_{14} .

Efeito do tipo de embalagem

Tal como observado no cheiro pútrido, até aos 5 dias de armazenamento *pm*, a referência a este cheiro foi apenas pontual. A partir dos 7 dias *pm* destacam-se as amostras embaladas em aerobiose com uma maior proporção ($p < 0,05$) de referências ao cheiro ácido/fermentado. Entre os tempos 14 e 21 aumentou consideravelmente a referência a este qualificativo de cheiro anormal entre as amostras embaladas sob vácuo e com as diferentes atmosferas modificadas, observando-se ao fim de 21 dias de armazenamento uma tendência para a referência a este, ser pontualmente mais frequente quanto maior o teor em O_2 da embalagem.

Dainty *et al.* (1985) referem microrganismos Gram positivos, tais como *Leuconostoc* spp. como responsáveis pelo odor ácido, semelhante ao leiteinho.

Quadro 35- Frequências (%) e significâncias do teste Qui-quadrado para o cheiro ácido/fermentado detectado pelo painel, para cada tipo de embalagem e grupo de pH_f, no t₁ e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
FREQUÊNCIAS									
Aerobiose									
Normal	0,0 (38)	8,3 (36)	0,0 (39)	22,5 (40)	28,2 (39)	30,0 (40)	-	-	-
DFDmod	0,0 (36)	2,4 (41)	0,0 (36)	4,7 (43)	35,5 (40)	45,5 (44)	-	-	-
DFD	0,0 (36)	3,0 (44)	8,5 (47)	19,0 (42)	34,0 (44)	20,0 (40)	-	-	-
Vácuo									
Normal	-	6,6 (36)	-	0,0 (40)	0,0 (40)	2,6 (39)	0,0 (41)	16,7 (42)	30,6 (36)
DFDmod	-	0,0 (36)	-	0,0 (46)	8,4 (41)	6,8 (44)	16,7 (42)	23,8 (42)	0,0 (36)
DFD	-	0,0 (44)	-	0,0 (44)	0,0 (41)	2,4 (41)	25,6 (43)	36,1 (36)	44,4 (36)
AM_{70/20}									
Normal	-	0,0 (36)	-	2,6 (38)	9,8 (41)	20,9 (43)	35,9 (39)	-	-
DFDmod	-	0,0 (42)	-	4,4 (45)	2,4 (42)	9,1 (44)	31,0 (42)	-	-
DFD	-	4,5 (44)	-	7,0 (43)	12,2 (41)	17,9 (39)	30,0 (40)	-	-
AM_{50/40}									
Normal	-	0,0 (36)	-	2,8 (36)	2,5 (40)	12,1 (41)	39,0 (41)	-	-
DFDmod	-	0,0 (42)	-	0,0 (45)	2,4 (42)	2,3 (44)	32,6 (43)	-	-
DFD	-	0,0 (42)	-	0,0 (42)	11,6 (43)	12,8 (39)	17,9 (39)	-	-
AM_{30/60}									
Normal	-	2,8 (36)	-	0,0 (39)	11,9 (42)	17,1 (41)	25,6 (39)	39,0 (41)	-
DFDmod	-	0,0 (43)	-	4,3 (46)	11,9 (42)	4,5 (44)	19,6 (41)	41,5 (40)	-
DFD	-	0,0 (44)	-	6,8 (44)	4,5 (44)	0,0 (40)	18,4 (38)	47,2 (36)	-
SIGNIFICÂNCIAS									
Efeito Embalagem									
<i>Geral</i>	-	*	-	***	***	***	**	**	-
<i>Em cada grupo de pH_f</i>									
Normal	-	ns	-	***	**	*	***	*	-
DFDmod	-	ns	-	ns	***	***	ns	ns	-
DFD	-	ns	-	**	***	**	ns	ns	-
Efeito Grupo de pH_f									
<i>Geral</i>	-	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	***
<i>Em cada embalagem:</i>									
Aerobiose	-	ns	-	ns	ns	*	-	-	-
Vácuo	-	ns	-	-	ns	ns	**	ns	-
AM _{70/20}	-	ns	-	ns	ns	ns	ns	-	-
AM _{50/40}	-	-	-	ns	ns	ns	ns	-	-
AM _{30/60}	-	ns	-	ns	ns	**	ns	ns	-

ns-não significativo (p≥0,05); *-significativo (p<0,05); **-muito significativo (p<0,01); ***-altamente significativo (p<0,001).
 ▲antes da embalagem.

No Quadro 36 podem observar-se os resultados da distribuição do qualificativo “cheiro amoniacal” identificado pelos provadores nas amostras de carne de bovino, verificando-se que a referência ao cheiro amoniacal foi pontual. Face à estrutura do ensaio, não era expectável que a referência a este cheiro fosse muito frequente, pois as condições experimentais estabelecidas não permitiam que pudesse ocorrer uma putrefacção avançada – associada ao cheiro amoniacal, a não ser no caso de carne embalada em aerobiose.

Efeito do grupo de pH_f

Foi notado pelos provadores algum cheiro amoniacal, particularmente mais frequente naquelas amostras de carne com características DFD. Essa associação entre o cheiro amoniacal e as amostras com pH_f mais

elevado, no tempo 21, só se mostrou significativa ($p < 0,05$) nas amostras embaladas com a atmosfera AM_{50/40}, revelando neste tempo a frequência de ocorrência mais elevada (20,5%), comparativamente às restantes condições experimentais. Em carne embalada sob vácuo as frequências deste qualitativo foram também superiores em carne DFDmod e DFD, com 16% e 18,1% respectivamente.

Efeito do tipo de embalagem

As amostras embaladas em aerobiose foram aquelas em que ocorreu uma referência mais frequente a este cheiro, o que está de acordo com o observado para o cheiro pútrido. Nas amostras embaladas em atmosfera modificada, ao fim de 21 dias de armazenamento *pm*, verificou-se uma frequência de ocorrência deste ligeiramente mais alta em carne DFDmod dos t_{10} ao t_{14} .

Quadro 36- Frequências (%) e significâncias do teste Qui-quadrado para o cheiro amoniacal detectado pelo painel, para cada tipo de embalagem e grupo de pH_f, no t_1 e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
FREQUÊNCIAS									
Aerobiose									
Normal	0,0 (38)	0,0 (36)	12,8 (39)	12,5 (40)	12,8 (39)	7,5 (40)	-	-	-
DFDmod	0,0 (36)	0,0 (41)	5,6 (36)	16,3 (43)	15,0 (40)	11,9 (44)	-	-	-
DFD	0,0 (36)	2,0 (44)	2,1 (47)	7,1 (42)	11,4 (44)	7,5 (40)	-	-	-
Vácuo									
Normal	-	0,0 (36)	-	5,0 (40)	5,8 (40)	0,0 (39)	2,4 (41)	9,5 (42)	5,6 (36)
DFDmod	-	0,0 (36)	-	2,2 (46)	2,4 (41)	0,0 (44)	4,8 (42)	2,4 (42)	16,0 (36)
DFD	-	0,0 (44)	-	4,5 (44)	7,3 (41)	2,4 (41)	7,0 (43)	13,9 (36)	18,1 (36)
AM_{70/20}									
Normal	-	2,8 (36)	-	0,0 (38)	0,0 (41)	4,7 (43)	5,1 (39)	-	-
DFDmod	-	2,9 (42)	-	2,2 (45)	2,4 (42)	2,3 (44)	7,1 (42)	-	-
DFD	-	0,0 (44)	-	2,3 (43)	7,3 (41)	12,8 (39)	10,0 (40)	-	-
AM_{50/40}									
Normal	-	2,8 (36)	-	5,6 (36)	2,5 (40)	0,0 (41)	2,4 (41)	-	-
DFDmod	-	2,4 (42)	-	2,2 (45)	2,4 (42)	0,0 (44)	7,0 (43)	-	-
DFD	-	0,0 (42)	-	0,0 (42)	2,3 (43)	2,6 (39)	20,5 (39)	-	-
AM_{30/60}									
Normal	-	0,0 (36)	-	2,7 (39)	7,1 (42)	7,3 (41)	7,7 (39)	14,6 (41)	-
DFDmod	-	2,3 (43)	-	0,0 (46)	2,4 (42)	4,5 (44)	9,8 (41)	10,0 (40)	-
DFD	-	0,0 (44)	-	4,5 (44)	13,6 (44)	5,0 (40)	15,5 (38)	13,9 (36)	-
SIGNIFICÂNCIAS									
Efeito Embalagem									
<i>Geral</i>	-	ns	-	***	**	**	ns	ns	-
<i>Em cada grupo de pH_f</i>									
Normal	-	ns	-	ns	ns	ns	ns	ns	-
DFDmod	-	ns	-	**	*	*	ns	ns	-
DFD	-	ns	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Efeito Grupo de pH_f									
<i>Geral</i>	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	-
<i>Em cada embalagem:</i>									
Aerobiose	-	ns	-	ns	ns	ns	-	-	-
Vácuo	-	ns	-	ns	ns	ns	ns	ns	-
AM _{70/20}	-	ns	-	ns	ns	ns	ns	-	-
AM _{50/40}	-	ns	-	ns	ns	ns	*	-	-
AM _{30/60}	-	ns	-	ns	ns	ns	ns	ns	-

ns-não significativo ($p \geq 0,05$); *-significativo ($p < 0,05$); **-muito significativo ($p < 0,01$); ***-altamente significativo ($p < 0,001$).
 ▲antes da embalagem.

No Quadro 37 apresentam-se os resultados da distribuição das menções ao qualificativo “cheiro a ranço” nas amostras analisadas pelo grupo de provadores. Pode observar-se que a referência a este cheiro foi quase ausente até aos 10 dias de armazenamento.

Quadro 37- Frequências (%) e significâncias do teste Qui-quadrado para o cheiro a ranço detectado pelo painel, para cada tipo de embalagem e grupo de pH_f, no t₁ e ao longo do tempo (dias pm) de armazenamento.

	Tempo (dias pm)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
FREQUÊNCIAS									
Aerobiose									
Normal	0,0 (38)	0,0 (36)	0,0 (39)	2,5 (40)	2,6 (39)	0,0 (40)	-	-	-
DFDmod	0,0 (36)	0,0 (41)	0,0 (36)	0,0 (43)	0,0 (40)	0,0 (44)	-	-	-
DFD	2,8 (36)	0,0 (44)	0,0 (47)	2,4 (42)	2,3 (44)	2,5 (40)	-	-	-
Vácuo									
Normal	-	0,0 (36)	-	0,0 (40)	0,0 (40)	0,0 (39)	0,0 (41)	0,0 (42)	0,0 (36)
DFDmod	-	0,0 (36)	-	0,0 (46)	0,0 (41)	2,3 (44)	0,0 (42)	2,4 (42)	0,0 (36)
DFD	-	2,3 (44)	-	0,0 (44)	0,0 (41)	0,0 (41)	0,0 (43)	2,8 (36)	0,0 (36)
AM_{70/20}									
Normal	-	0,0 (36)	-	0,0 (38)	2,4 (41)	27,9 (43)	38,5 (39)	-	-
DFDmod	-	2,4 (42)	-	0,0 (45)	0,0 (42)	0,0 (44)	2,4 (42)	-	-
DFD	-	2,3 (44)	-	2,3 (43)	0,0 (41)	2,6 (39)	2,5 (40)	-	-
AM_{50/40}									
Normal	-	2,8 (36)	-	0,0 (36)	0,0 (40)	7,3 (41)	12,2 (41)	-	-
DFDmod	-	0,0 (42)	-	0,0 (45)	0,0 (42)	2,3 (44)	2,3 (43)	-	-
DFD	-	0,0 (42)	-	2,4 (42)	0,0 (43)	2,6 (39)	17,4 (39)	-	-
AM_{30/60}									
Normal	-	0,0 (36)	-	0,0 (39)	2,4 (42)	26,8 (41)	43,6 (39)	11,5 (41)	-
DFDmod	-	0,0 (43)	-	2,2 (46)	2,4 (42)	4,5 (44)	7,3 (41)	20,0 (40)	-
DFD	-	0,0 (44)	-	2,3 (44)	2,3 (44)	7,5 (40)	2,5 (38)	13,9 (36)	-
SIGNIFICÂNCIAS									
Efeito Embalagem									
<i>Geral</i>	-	ns	-	ns	ns	***	***	***	-
<i>Em cada grupo de pH_f</i>									
Normal	-	ns	-	ns	ns	***	***	***	-
DFDmod	-	ns	-	ns	ns	ns	ns	*	-
DFD	-	ns	-	ns	ns	ns	ns	ns	-
Efeito Grupo de pH_f									
<i>Geral</i>	ns	ns	-	ns	ns	***	***	ns	-
<i>Em cada embalagem:</i>									
Aerobiose	-	-	-	ns	ns	ns	-	-	-
Vácuo	-	ns	-	-	-	ns	-	ns	-
AM _{70/20}	-	ns	-	ns	ns	***	***	-	-
AM _{50/40}	-	ns	-	ns	ns	***	***	-	-
AM _{30/60}	-	-	-	ns	ns	**	***	*	-

ns-não significativo (p≥0,05); *-significativo (p<0,05); **-muito significativo (p<0,01); ***-altamente significativo (p<0,001).
 ▲antes da embalagem.

Efeito do grupo de pH_f

Aos 14 dias começou a revelar-se sensorialmente o cheiro a ranço nas amostras embaladas em atmosfera modificada, particularmente mais marcado nas amostras com pH_f Normal, tendo essas diferenças na distribuição determinado diferenças muito ou altamente significativas. Este destaque das amostras de pH_f Normal embaladas em atmosfera modificada acentuou-se aos 21 dias de armazenamento, continuando a determinar diferenças de distribuição com elevado significado estatístico (p<0,001).

Efeito do tipo de embalagem

Durante o período de ensaio em que as amostras embaladas em aerobiose e sob vácuo foram mantidas, o cheiro a ranço só foi referido pontualmente.

No Quadro 38 apresentam-se os resultados da distribuição das menções ao qualificativo “cheiro a manteiga” nas amostras analisadas pelo grupo de provadores. Pode observar-se que a referência a este cheiro foram identificados em numerosas amostras.

Quadro 38- Frequências (%) e significâncias do teste Qui-quadrado para o cheiro a manteiga detectado pelo painel, para cada tipo de embalagem e grupo de pH_f, no t₁ e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
FREQUÊNCIAS									
Aerobiose									
Normal	18,4 (38)	13,9 (36)	20,5 (39)	20,0 (40)	15,4 (39)	10,0 (40)	-	-	-
DFDmod	0,0 (36)	24,4 (41)	24,4 (36)	16,3 (43)	15,0 (40)	2,3 (44)	-	-	-
DFD	0,0 (36)	29,5 (44)	31,9 (47)	21,4 (42)	6,8 (44)	7,5 (40)	-	-	-
Vácuo									
Normal	-	11,1 (36)	-	17,5 (40)	30,0 (40)	33,3 (39)	9,3 (41)	28,6 (42)	44,4 (36)
DFDmod	-	19,4 (36)	-	21,7 (46)	24,4 (41)	34,4 (44)	23,8 (42)	50,0 (42)	22,2 (36)
DFD	-	29,5 (44)	-	43,2 (44)	51,2 (41)	43,9 (41)	30,2 (43)	8,3 (36)	13,9 (36)
AM_{70/20}									
Normal	-	19,4 (36)	-	52,6 (38)	41,5 (41)	23,3 (43)	23,1 (39)	-	-
DFDmod	-	38,1 (42)	-	26,7 (45)	47,6 (42)	68,2 (44)	57,1 (42)	-	-
DFD	-	29,5 (44)	-	60,5 (43)	65,8 (41)	33,3 (39)	42,5 (40)	-	-
AM_{50/40}									
Normal	-	11,1 (36)	-	19,4 (36)	45,0 (40)	36,5 (41)	24,4 (41)	-	-
DFDmod	-	23,9 (42)	-	24,4 (45)	26,2 (42)	38,6 (44)	60,5 (43)	-	-
DFD	-	38,1 (42)	-	61,9 (42)	60,5 (43)	46,2 (39)	35,4 (39)	-	-
AM_{30/60}									
Normal	-	13,9 (36)	-	38,5 (39)	35,7 (42)	14,5 (41)	25,6 (39)	12,2 (41)	-
DFDmod	-	23,3 (43)	-	34,8 (46)	33,3 (42)	36,4 (44)	46,3 (41)	12,5 (40)	-
DFD	-	43,2 (44)	-	43,2 (44)	47,7 (44)	50,0 (40)	34,2 (38)	13,9 (36)	-
SIGNIFICÂNCIAS									
Efeito Embalagem									
<i>Geral</i>	-	ns	-	***	***	***	**	ns	-
<i>Em cada grupo de pH_f</i>									
Normal	-	ns	-	*	*	ns	ns	ns	-
DFDmod	-	ns	-	ns	*	***	**	ns	-
DFD	-	ns	-	**	***	***	ns	ns	-
Efeito Grupo de pH_f									
<i>Geral</i>	**	***	ns	***	**	*	***	***	*
<i>Em cada embalagem:</i>									
Aerobiose	-	ns	-	ns	ns	ns	-	-	-
Vácuo	-	ns	-	*	*	ns	ns	***	-
AM _{70/20}	-	ns	-	**	ns	***	**	-	-
AM _{50/40}	-	*	-	***	**	ns	**	-	-
AM _{30/60}	-	*	-	ns	ns	*	ns	**	-

ns-não significativo ($p \geq 0,05$); *-significativo ($p < 0,05$); **-muito significativo ($p < 0,01$); ***-altamente significativo ($p < 0,001$).

*antes da embalagem.

Efeito do grupo de pH_f

Excepto em situações pontuais, a menção "cheiro a manteiga" foi utilizada com mais frequência nas carnes DFD, sendo que o efeito do grupo de pH_f se mostrou estatisticamente significativo em todos os tempos analisados. A proporção com que este cheiro é mencionado encontra semelhança na distribuição dos valores médios das contagens de *Brochothrix thermosphacta*, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp., que foi sempre superior, significativamente diferente, nas amostras de carne DFD. A abundância relativa desta microflora pode estar na origem da nota aromática a manteiga, pois é conhecido que do metabolismo de *Brochothrix thermosphacta* é produzida acetoína e diacetilo (Pin *et al.*, 2002) e do metabolismo de *Enterobacteriaceae* pode também formar-se diacetilo (Gottschalk, 1986).

Efeito do tipo de embalagem

O efeito do tipo de embalagem também se revelou um importante determinante da frequência com que o "cheiro a manteiga" foi detectado pelos provadores, sendo altamente significativo ($p < 0,001$) nos tempos 7, 10 e 14, e muito significativo ($p < 0,01$) no tempo 21.

O registo desta nota aromática foi aquele que maior frequência obteve no presente trabalho, revelando que esse cheiro, que começa a ser detectado numa proporção considerável de amostras logo aos 3 dias de armazenamento, ascendendo a cerca de 43% das situações de prova (amostra x provador), está quase sempre presente ao longo do período de armazenamento. Nesse sentido, um segmento do trabalho posterior a este (ver item III.5.2) revelou que alguns compostos voláteis associados ao cheiro a manteiga, e com um reduzido limiar de percepção olfactiva, como a 2,3-butanodiona, estavam presentes em todas as amostras de um subgrupo do ensaio, sendo a sua abundância relativa influenciada também quer pelo grupo de pH_f quer pelo tipo de embalagem.

No Quadro 39 apresentam-se os resultados da distribuição das menções ao qualificativo "**cheiro adocicado**" nas amostras analisadas pelo grupo de provadores. Este cheiro apresentou-se frequentemente relacionado ao cheiro a manteiga, ainda que não apresente um padrão de associação tão evidente como esse.

Efeito do grupo de pH_f

O grupo de pH_f não influenciou a frequência com que este cheiro foi mencionado em nenhum dos tempos de armazenamento analisados.

Efeito do tipo de embalagem

O efeito do tipo de embalagem fez-se sentir a partir dos 10 dias de armazenamento, e particularmente nas amostras DFD, não se verificando contudo um padrão constante ao longo do tempo *pm*.

Quadro 39- Frequências (%) e significâncias do teste Qui-quadrado para o cheiro a adocicado detectado pelo painel, para cada tipo de embalagem e grupo de pH_f, no t₁ e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
FREQUÊNCIAS									
Aerobiose									
Normal	28,9 (38)	25,0 (36)	48,7 (39)	20,0 (40)	20,5 (39)	10,0 (40)	-	-	-
DFDmod	0,0 (36)	34,1 (41)	36,1 (36)	20,9 (43)	20,0 (40)	11,9 (44)	-	-	-
DFD	22,2 (36)	38,6 (44)	34,0 (47)	16,7 (42)	4,5 (44)	2,5 (40)	-	-	-
Vácuo									
Normal	-	25,0 (36)	-	32,5 (40)	30 (40)	33,3 (39)	41,5 (41)	33,3 (42)	36,1 (36)
DFDmod	-	30,6 (36)	-	30,4 (46)	43,9 (41)	36,4 (44)	35,7 (42)	19,0 (42)	11,1 (36)
DFD	-	31,8 (44)	-	34,1 (44)	29,3 (41)	41,5 (41)	20,9 (43)	30,6 (36)	19,4 (36)
AM_{70/20}									
Normal	-	22,2 (36)	-	31,6 (38)	24,4 (41)	32,6 (43)	12,8 (39)	-	-
DFDmod	-	31,6 (42)	-	22,2 (45)	31,0 (42)	29,5 (44)	23,8 (42)	-	-
DFD	-	40,9 (44)	-	18,6 (43)	24,4 (41)	28,2 (39)	7,5 (40)	-	-
AM_{50/40}									
Normal	-	53,3 (36)	-	13,9 (36)	35,0 (40)	29,3 (41)	29,3 (41)	-	-
DFDmod	-	38,1 (42)	-	40,0 (45)	35,7 (42)	31,8 (44)	18,6 (43)	-	-
DFD	-	38,1 (42)	-	26,2 (42)	32,6 (43)	35,9 (39)	25,6 (39)	-	-
AM_{30/60}									
Normal	-	38,4 (36)	-	25,6 (39)	33,3 (42)	34,1 (41)	23,1 (39)	12,2 (41)	-
DFDmod	-	37,2 (43)	-	23,9 (46)	23,8 (42)	31,8 (44)	39,0 (41)	7,5 (40)	-
DFD	-	43,2 (44)	-	27,3 (44)	22,7 (44)	32,5 (40)	36,8 (38)	5,5 (36)	-
SIGNIFICÂNCIAS									
Efeito Embalagem									
<i>Geral</i>	-	ns	-	ns	**	***	**	**	-
<i>Em cada grupo de pH_f</i>									
Normal	-	ns	-	ns	ns	ns	*	*	-
DFDmod	-	ns	-	ns	ns	ns	ns	ns	-
DFD	-	ns	-	ns	*	***	*	ns	-
Efeito Grupo de pH_f									
<i>Geral</i>	**	ns							
<i>Em cada embalagem:</i>									
Aerobiose	-	ns	-	ns	ns	ns	-	-	-
Vácuo	-	ns	-	ns	ns	ns	ns	ns	-
AM _{70/20}	-	ns	-	ns	ns	ns	ns	-	-
AM _{50/40}	-	ns	-	ns	ns	ns	ns	-	-
AM _{30/60}	-	ns	-	ns	ns	ns	ns	ns	-

ns-não significativo (p≥0,05); *-significativo (p<0,05); **-muito significativo (p<0,01); ***-altamente significativo (p<0,001).
 *antes da embalagem.

No Quadro 40, em "outros cheiros" associou-se um grupo residual de termos que foram utilizados para descrever o cheiro da carne por alguns provadores, que não encontravam nos descritores estabelecidos essa característica, como por exemplo, cheiro a sangue, cheiro floral. Como se trata de um conjunto de notas aromáticas que foram agrupadas arbitrariamente, sem terem um denominador comum, não foram encontrados efeitos que mereçam destaque, nem do grupo de pH_f, nem do tipo de embalagem.

Quadro 40- Frequências (%) e significâncias do teste Qui-quadrado para o cheiro a outros detectado pelo painel, para cada tipo de embalagem e grupo de pH_f, no t₁ e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
FREQUÊNCIAS									
Aerobiose									
Normal	2,6 (38)	0,0 (36)	2,6 (39)	0,0 (40)	0,0 (39)	0,0 (40)	-	-	-
DFDmod	0,0 (36)	0,0 (41)	0,0 (36)	2,3 (43)	0,0 (40)	65,9 (44)	-	-	-
DFD	0,0 (36)	0,0 (44)	0,0 (47)	2,4 (42)	0,0 (44)	0,0 (40)	-	-	-
Vácuo									
Normal	-	0,0 (36)	-	0,0 (40)	0,0 (40)	0,0 (39)	0,0 (41)	0,0 (42)	0,0 (36)
DFDmod	-	0,0 (36)	-	0,0 (46)	0,0 (41)	2,3 (44)	0,0 (42)	2,4 (42)	0,0 (36)
DFD	-	0,0 (44)	-	2,3 (44)	0,0 (41)	0,0 (41)	2,3 (43)	2,8 (36)	0,0 (36)
AM_{70/20}									
Normal	-	0,0 (36)	-	5,3 (38)	0,0 (41)	2,3 (43)	2,6 (39)	-	-
DFDmod	-	0,0 (42)	-	0,0 (45)	0,0 (42)	0,0 (44)	2,4 (42)	-	-
DFD	-	0,0 (44)	-	2,3 (43)	0,0 (41)	0,0 (39)	2,5 (40)	-	-
AM_{50/40}									
Normal	-	0,0 (36)	-	5,6 (36)	0,0 (40)	0,0 (41)	2,4 (41)	-	-
DFDmod	-	0,0 (42)	-	0,0 (45)	2,4 (42)	0,0 (44)	0,0 (43)	-	-
DFD	-	0,0 (42)	-	0,0 (42)	0,0 (43)	0,0 (39)	0,0 (39)	-	-
AM_{30/60}									
Normal	-	2,8 (36)	-	5,1 (39)	0,0 (42)	0,0 (41)	0,0 (39)	2,4 (41)	-
DFDmod	-	0,0 (43)	-	0,0 (46)	0,0 (42)	0,0 (44)	7,3 (41)	5,0 (40)	-
DFD	-	0,0 (44)	-	2,3 (44)	0,0 (44)	0,0(40)	2,5 (38)	5,6 (36)	-
SIGNIFICÂNCIAS									
Efeito Embalagem									
<i>Geral</i>	-	ns	-	ns	ns	ns	*	ns	-
<i>Em cada grupo de pH_f</i>									
Normal	-	ns	-	ns	-	ns	ns	ns	-
DFDmod	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	-
DFD	-	-	-	ns	-	-	ns	ns	-
Efeito Grupo de pH_f									
<i>Geral</i>	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-
<i>Em cada embalagem:</i>									
Aerobiose	-	-	-	ns	-	-	-	-	-
Vácuo	-	-	-	ns	-	ns	ns	ns	-
AM _{70/20}	-	-	-	ns	-	ns	ns	-	-
AM _{50/40}	-	-	-	ns(0,032)	ns	-	ns	-	-
AM _{30/60}	-	ns	-	ns	-	-	ns	ns	-

ns-não significativo (p≥0,05); *-significativo (p<0,05); **-muito significativo (p<0,01); ***-altamente significativo (p<0,001).
 ▲antes da embalagem.

Os cheiros que foram identificados pelos provadores com mais frequência foram o cheiro pútrido, a ranço, a manteiga e adocicado. O cheiro amoniacal e ácido/fermentado tiveram uma frequência de utilização mais discreta.

Em aerobiose, a carne apresentou um cheiro a adocicado e a manteiga durante o período de armazenamento, sendo nos nos tempos de análise abusivos (a partir dos 7-10 dias *pm*) substituído por cheiro pútrido e ácido/fermentado. Estas notas aromáticas são comuns entre carnes de bovino embalada nestas condições, que Dainty *et al.* (1985) apontam para começarem a ser detectadas a partir dos 3 dias de armazenamento cheiro a leite cru, a manteiga, gorduroso e a queijo. Em armazenamentos mais longos, esses autores também observaram uma mudança do odor para pútrido, adocicado.

A carne embalada sob vácuo apresentou fundamentalmente cheiro adocicado e a manteiga ao longo de todo o tempo de armazenamento. Nos tempos mais longos (28 e 35 dias *pm*) observou-se que a carne de pH_f mais elevado apresentava algum cheiro a pútrido. Foi também nesta embalagem que o cheiro a pútrido foi detectado mais tarde. Considerando que a principal diferença observada na microflora destas amostras (em comparação à carne Normal) foi uma contagem mais elevada de *Enterobacteriaceae*, poder-se-á admitir ter sido esta diferença quantitativa a determinar a maior frequência de detecção do cheiro a pútrido, que – como sugerem Edwards *et al.* (1987) – é decorrente da actividade catabólica de bactérias deteriorativas Gram negativas.

As AMs tiveram o seu cheiro caracterizado pelo cheiro a manteiga e adocicado detectado praticamente em todas as amostras nas fases iniciais do ensaio, tendo depois evoluído para notas aromáticas mais desagaveis, em função do tipo de carne e do teor em CO₂ da embalagem, nomeadamente o cheiro a ranço na carne Normal e o cheiro ácido/fermentado em todos os tipos de carne. O cheiro a manteiga detectado, poderá ter na sua origem a actividade de *B. thermosphacta*, que evidenciou ter uma boa adaptação a qualquer das condições de embalagem testadas (Dainty e MacKey, 1992). Os aromas desagradáveis que vieram a desenvolver-se em fases mais avançadas do armazenamento (14-21 dias *pm*), nomeadamente o cheiro a ranço, parece ter uma origem diversa da actividade da microflora, pois não foi encontrado nheum padrão nessa relação, sugerindo alguns resultados que a oxidação lipídica terá estado relacionada com a mudança de estado de oxidação dos pigmentos da carne, conforme indicado por Singh e Anderson (2004).

III.3.3.4. Apreciação global avaliada pelo painel

Os valores médios para a apreciação global nas amostras de carne embalada (E) e, após 60 min da abertura da embalagem, para os três grupos de pH_f e para os vários tipos de embalagem, nos distintos tempos (dias *pm*) de armazenamento, são mostrados no Quadro 41. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os efeitos do grupo de pH_f e do tipo de embalagem, bem como da interação (grupo de pH_f x tipo de embalagem). Os parâmetros de análise de variância são apresentados no Quadro A.II.30 do anexo.

Quadro 41- Médias (\pm desvio padrão) para a apreciação global (E) avaliada pelo painel, na carne embalada, de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem, no t₁ e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
pH_f									
Normal	6,50 \pm 0,52	6,28 \pm 0,60	4,46 \pm 1,11	4,91 \pm 0,89 ^a	3,95 \pm 1,19 ^a	3,13 \pm 1,51 ^a	2,48 \pm 2,00 ^a	3,39 \pm 2,44	5,49 \pm 0,49
DFDmod	6,55 \pm 0,28	6,54 \pm 0,45	6,13 \pm 0,37	6,27 \pm 0,54 ^b	5,78 \pm 1,07 ^b	4,92 \pm 1,76 ^b	4,63 \pm 1,75 ^b	3,72 \pm 2,17	5,35 \pm 0,19
DFD	6,49 \pm 0,44	6,40 \pm 0,44	4,56 \pm 2,39	6,33 \pm 0,46 ^b	5,83 \pm 1,34 ^b	5,41 \pm 1,93 ^b	5,32 \pm 1,64 ^b	4,17 \pm 2,27	5,54 \pm 0,44
Sig	ns	ns	ns	***	***	***	***	ns	ns
Embalagem									
Aerobiose	6,51 \pm 0,40 [▲]	5,92 \pm 0,73 ^a	5,05 \pm 1,64	5,39 \pm 1,26 ^a	3,87 \pm 1,77 ^a	2,10 \pm 1,51 ^a	-	-	-
Vácuo	«	6,24 \pm 0,21 ^{ab}	-	5,94 \pm 0,25 ^{bc}	5,86 \pm 0,29 ^c	5,88 \pm 0,36 ^c	5,88 \pm 0,34 ^c	5,74 \pm 0,29	5,46 \pm 0,38
AM _{70/20}	«	6,80 \pm 0,17 ^d	-	6,18 \pm 0,79 ^c	5,72 \pm 1,31 ^c	5,26 \pm 1,77 ^c	4,25 \pm 2,33 ^b	-	-
AM _{50/40}	«	6,65 \pm 0,28 ^{cd}	-	6,06 \pm 0,85 ^{bc}	5,55 \pm 1,34 ^{bc}	5,13 \pm 1,58 ^c	3,75 \pm 2,25 ^{ab}	-	-
AM _{30/60}	«	6,41 \pm 0,41 ^{bc}	-	5,61 \pm 1,03 ^{ab}	4,91 \pm 1,38 ^b	4,07 \pm 1,78 ^b	2,70 \pm 1,80 ^a	1,78 \pm 1,43	-
Sig	-	***	-	***	***	***	***	***	-
pH_f x Emb									
Sig	-	ns	-	***	***	***	***	ns	-

Para cada efeito, na mesma coluna, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente ($p < 0,05$).
 ns-não significativo ($p \geq 0,05$); *-significativo ($p < 0,05$); **-muito significativo ($p < 0,01$); ***-altamente significativo ($p < 0,001$).
 ▲antes da embalagem.

A Figura 50 ilustra a evolução da apreciação global (E), avaliada pelo painel, nos três grupos de pH_f, para cada tipo de embalagem, ao longo do período de armazenamento. Os valores integrais que suportam estes gráficos são apresentados no Quadro A.III.30 do anexo.

Observar que a evolução da apreciação global (E) variou de acordo com o tipo de embalagem e com o grupo de qualidade da carne, sendo na embalagem em vácuo que se verificam valores mais constantes para os três grupos de pH_f e relativamente elevados. Contrariamente, nas AMs, a partir do t₁₄, é a carne Normal a que apresenta uma menor apreciação global (E), a partir do t₇, enquanto a carne DFDmod e DFD

apresenta ainda uma boa apreciação nas AM_{70/20} e AM_{50/40} até ao t₂₁ e a carne DFD na AM_{30/60} até ao mesmo tempo.

A diminuição da aceitabilidade de carne de bovina embalada sob vácuo e em AM com 100% de CO₂ é igualmente referida por outros autores (Jeremiah, 2001). Contudo, nesse estudo a diminuição da aceitabilidade ao longo do tempo, ocorre de uma forma consideravelmente menos acentuada, tendo a carne sido pontuada, após 24 semanas de armazenamento, acima do valor médio da escala. Esta discrepância poderá dever-se às temperaturas baixas de armazenamento utilizadas no referido estudo (-1,5; 2,0 e 5°C).

A apreciação global (E) mostrou estar correlacionada positivamente e de uma forma particular com os parâmetros de cor a₀* (0,64; p<0,001) e vermelho-vivo (E) (0,43; p<0,001) e correlacionada negativamente com a cor castanha (E) (-0,67; p<0,001), superfície de descoloração (E) (-0,80; p<0,001) e com o cheiro a deteriorado (-0,68; p<0,001). Ainda que apresentando coeficientes menores foram encontradas relações negativas, altamente significativas, com as contagens de microrganismos e com o ABVT (anexo A.IV).

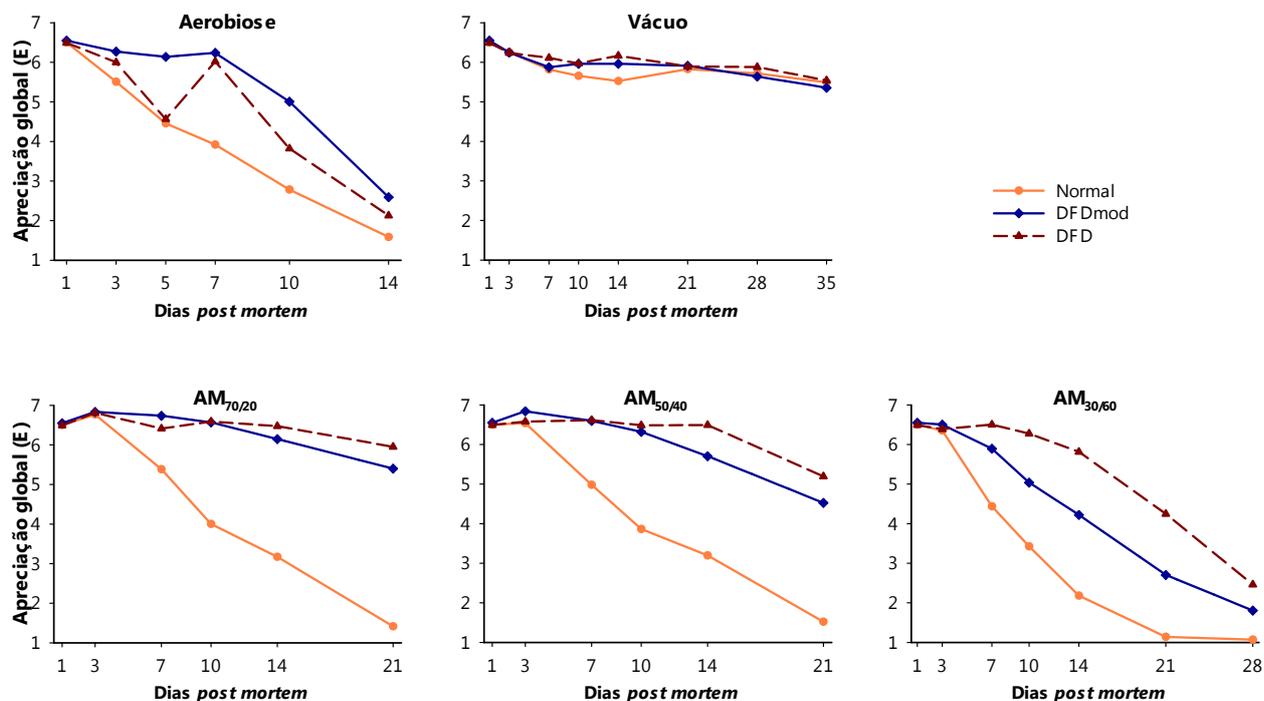


Figura 50- Evolução da apreciação global (E) longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40} e AM_{30/60}), de acordo o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD).

A análise de variância revelou que o grupo de pH_f teve um efeito significativo na apreciação global (E) do t₇ ao t₂₁, enquanto o tipo de embalagem exerceu um efeito sempre altamente significativo. Verificou-se a existência de interacção significativa entre grupo de pH_f e tipo de embalagem, do t₇ ao t₂₁.

Efeito do grupo de pH_f

Verifica-se pela leitura do Quadro 41 que, a apreciação global (E) é superior em carne DFD e DFDmod, do que em carne Normal, com existência de diferenças significativas ($p < 0,001$) em vários dos tempos *pm* (t_7 , t_{10} , t_{14} , t_{21}). Quando as diferentes embalagens são consideradas na sua globalidade, o painel não discriminou os diferentes grupos de pH_f, quanto à apreciação global, nos tempos iniciais de embalagem (até ao t_5) e nos tempos finais (t_{21} e t_{38}) mas, para os tempos intermédios a preferência do painel recaiu para os dois grupos de pH_f mais elevado.

Efeito do tipo de embalagem

Pela análise do Quadro 41 pode verificar-se que as médias obtidas em aerobiose foram das mais baixas e diminuíram ao longo do tempo, atingindo os 2,10 no t_{14} . Do t_{10} ao t_{14} , distinguem-se das observadas nas restantes embalagens, enquanto no t_3 , não se diferenciam das obtidas em vácuo e no t_7 das obtidas em AM_{30/60}.

No t_{28} , as médias obtidas foram 5,74 em vácuo e de 1,78 em AM_{30/60}, diferindo significativamente, logo considerando que a carne embalada em vácuo foi ainda bem apreciada neste tempo, ao contrário do observado naquela atmosfera modificada.

Interação grupo de pH_f e tipo de embalagem

Na Figura 51 observa-se que uma tendência diferente consoante o grupo de qualidade da carne e o tipo de embalagem, sendo que em embalagem sob vácuo os valores médios nunca se diferenciam nos três grupos de pH_f. Contudo revelam diferenças relativamente em carnes embaladas noutras embalagens, principalmente no que diz respeito à carne Normal, cujas médias são muitas vezes menores e significativamente distintas das observadas em carnes com pH_f elevado.

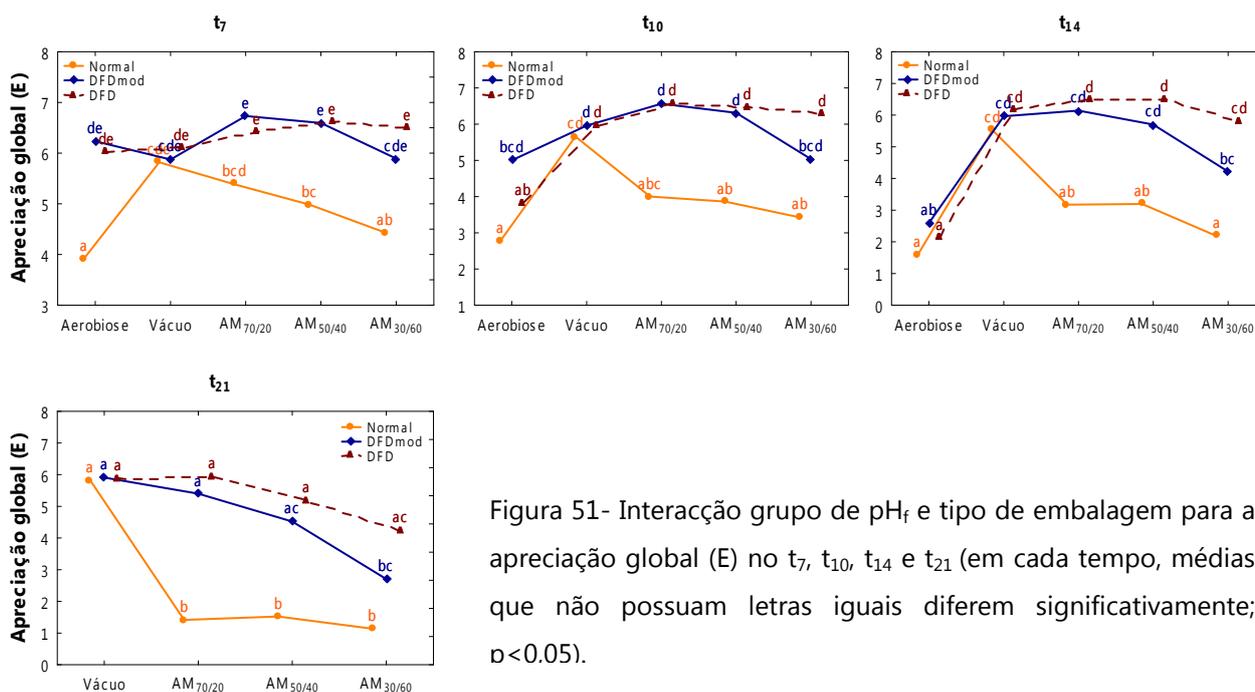


Figura 51- Interação grupo de pH_f e tipo de embalagem para a apreciação global (E) no t₇, t₁₀, t₁₄ e t₂₁ (em cada tempo, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; $p < 0,05$).

Assim sendo, em AM_{70/20} e em AM_{50/40}, as carnes DFDmod e DFD, diferenciam-se sempre da carne Normal em todos os tempos, o que não se verifica em AM_{30/60}. Nesta última, a carne DFDmod ocupa uma posição intermédia, não se diferenciando das outras duas, que se diferenciam significativamente. A carne Normal embalada em película com os valores mais baixos nunca se diferencia da embalada em AM_{30/60} em todos os tempos e das restantes AMs a partir do t₁₀.

Os valores médios para a apreciação global nas amostras de carne para os três grupos de pH_f e para os vários tipos de embalagem, nos distintos tempos (dias *pm*) de armazenamento, são mostrados no Quadro 42. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os efeitos do grupo de pH_f e do tipo de embalagem, bem como da interacção (grupo de pH_f x tipo de embalagem). Os parâmetros de análise de variância são apresentados no Quadro A.II.31 do anexo.

Quadro 42- Médias (± desvio padrão) para a apreciação global avaliada pelo painel, 60 min após abertura da embalagem, de acordo com o grupo de pH_f e com o tipo de embalagem, no t₁ e ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento.

	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
pH_f									
Normal	6,55±0,52	6,05±0,49	4,36±1,05 ^a	4,71±1,11 ^a	4,05±1,25 ^a	2,93±1,49 ^a	2,45±1,86 ^a	3,07±1,95	4,35±0,62 ^b
DFDmod	6,45±0,32	6,06±0,53	5,89±0,56 ^b	5,51±0,86 ^b	5,01±1,16 ^b	4,14±1,57 ^b	3,84±1,08 ^b	2,67±1,65	2,75±1,45 ^{ab}
DFD	6,49±0,48	5,85±0,52	5,64±0,55 ^b	5,22±0,71 ^b	4,48±1,44 ^a	3,93±1,53 ^b	3,73±1,27 ^b	2,55±1,27	2,44±1,08 ^a
Sig	ns	ns	**	***	***	***	***	ns	*
Embalagem									
Aerobiose	6,50±0,42 [▲]	5,75±0,71	5,30±0,99	4,26±1,41 ^a	2,73±1,50 ^a	1,49±0,72 ^a	-	-	-
Vácuo	«	6,15±0,37	-	5,68±0,41 ^b	5,59±0,37 ^c	5,28±0,40 ^d	5,07±0,63 ^b	4,02±1,30	3,18±1,35
AM _{70/20}	«	6,17±0,45	-	5,35±0,71 ^b	4,84±0,86 ^b	3,73±1,30 ^{bc}	2,77±1,46 ^a	-	-
AM _{50/40}	«	6,02±0,45	-	5,38±0,53 ^b	4,95±0,69 ^{bc}	4,28±1,14 ^c	2,80±1,31 ^a	-	-
AM _{30/60}	«	5,83±0,48	-	5,07±0,77 ^b	4,46±0,89 ^b	3,55±1,26 ^b	2,73±1,29 ^a	1,50±0,57	-
Sig	-	ns	-	***	***	***	***	***	-
pH_f x Emb									
Sig	-	ns	-	ns	*	***	***	*	-

Para cada efeito, na mesma coluna, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente (p<0,05).
 ns-não significativo (p≥0,05); *-significativo (p<0,05); **-muito significativo (p<0,01); ***-altamente significativo (p<0,001).
 ▲antes da embalagem.

A Figura 52 ilustra a evolução da apreciação global, avaliada pelo painel, nos três grupos de pH_f, para cada tipo de embalagem, ao longo do período de armazenamento. Os valores integrais que suportam estes gráficos são apresentados no Quadro A.III.31 do anexo.

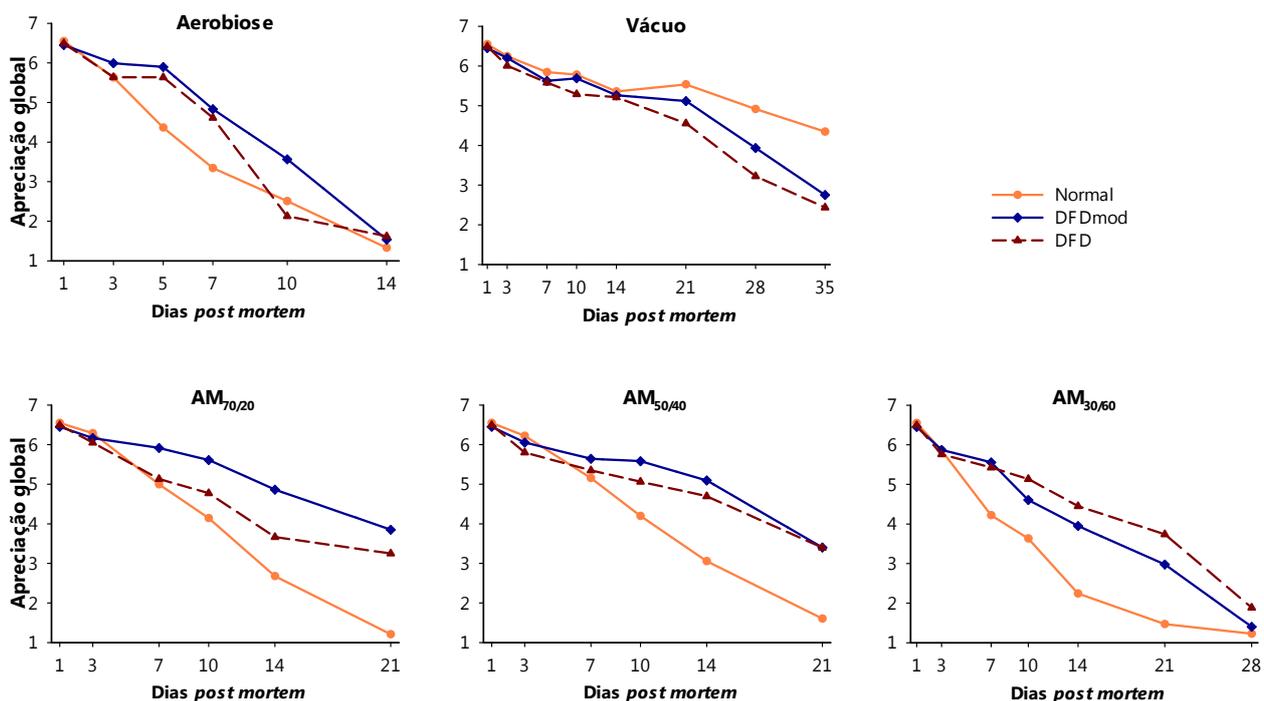


Figura 52- Evolução da apreciação global ao longo do tempo (dias *pm*) de armazenamento, nos diferentes tipos de embalagem (Aerobiose, Vácuo, AM_{70/20}, AM_{50/40} e AM_{30/60}), de acordo o grupo de pH_f da carne (Normal, DFDmod e DFD).

Pela análise da Figura 52 podemos observar que a evolução da apreciação global variou de acordo com o tipo de embalagem e com o grupo de qualidade da carne, com valores decrescentes ao longo do tempo para todas as carnes, apresentando um comportamento semelhante à apreciação global antes da abertura da embalagem, com exceção de na carne embalada sob vácuo onde foi observado um decréscimo notório ao longo do tempo *pm*. Em aerobiose, a carne normal torna-se a menos apreciada, a partir do t_5 , com a carne DFDmod a apresentar a melhor apreciação e superior à média até ao t_{10} . Em carne embalada sob vácuo que se verificam valores mais constantes para os três grupos de pH_f até ao t_{14} , passam a partir do t_{21} a ser sempre mais elevados em carne normal e sempre superiores à média inclusive no t_{35} . Contrariamente, nas AMs, a partir do t_7 , é a carne Normal a que apresenta uma menor apreciação global, a partir do t_7 , enquanto a carne DFDmod e DFD apresenta ainda uma apreciação positiva até ao t_{14} em todas as situações. No t_{21} , a carne DFDmod embalada em AM_{70/20} e a DFD embalada em AM_{30/60}, apresentam médias de 3,66 e 3,74, respectivamente, logo ainda consideradas aceitáveis pelo painel.

A apreciação global mostrou estar correlacionada positivamente e de uma forma particular com os parâmetros de cor a_{60}^* (0,55; $p < 0,001$) e vermelho-vivo (E) (0,39; $p < 0,001$) e correlacionada negativamente com a cor castanha (E) (-0,52; $p < 0,001$), superfície de descoloração (E) (-0,70; $p < 0,001$) e com o cheiro a deteriorado (-0,88; $p < 0,001$). De forma semelhante à apreciação global (E) foram ainda encontradas relações negativas, altamente significativas, com as contagens de microrganismos e com o ABVT (anexo A.IV).

A análise de variância revelou que o grupo de pH_f e o tipo de embalagem tiveram um efeito significativo na apreciação global na maioria dos tempos. Verificou-se a existência de interação significativa entre grupo de pH_f e tipo de embalagem, a partir do t₁₀.

Efeito do grupo de pH_f

À semelhança do observado para a apreciação global (E), verifica-se pela leitura do Quadro 42 que o grupo de pH_f a apreciação global é superior em carne DFD e DFDmod, do que em carne Normal, com existência de diferenças significativas ($p < 0,001$) nos tempos intermédios, com uma interação significativa ($p < 0,001$) nesses tempos, que se comentará posteriormente. Num trabalho realizado na mesma raça bovina (Silva, 1997) foi referida, igualmente, uma pontuação superior em termos de apreciação global na carne com pH_f mais elevado, contudo, nesse trabalho a avaliação pelo painel foi efectuada em carne cozinhada, incluindo a avaliação da tenrura.

Efeito do tipo de embalagem

Pela análise do Quadro 42 pode verificar-se que as médias obtidas em aerobiose foram das mais baixas e diminuíram ao longo do tempo, atingindo os 1,49 no t₁₄. Do t₁₀ ao t₁₄, distinguem-se das observadas nas restantes embalagens, enquanto no t₃, não se diferenciam das obtidas em vácuo e no t₇ das obtidas em AM_{30/60}. No presente trabalho, a apreciação global nas AMs não se diferenciaram estatisticamente entre si. Zakrys *et al.* (2008) referem que a carne de bovino, embalada em 50% de O₂, e posteriormente grelhada, é melhor pontuada em termos de aceitação global do que a carne embalada em 70% de O₂. Segundo os autores as elevadas percentagens de O₂, ao favorecerem os processos oxidativos dos lípidos, conduzem a uma depreciação da carne. Brewer (2006) refere também que a utilização de AM mantém o *flavour* próprio da carne de bovino se o O₂ for excluído da atmosfera.

No t₂₈, as médias obtidas foram 4,02 em vácuo e de 1,50 em AM_{30/60}, diferindo significativamente, logo considerando que a carne embalada em vácuo foi ainda bem apreciada neste tempo, ao contrário do observado naquela atmosfera modificada, à semelhança da apreciação global antes da abertura da embalagem.

Interação grupo de pH_f e tipo de embalagem

Verificou-se a ocorrência de interação significativa no t₂₈ ilustrado pela Figura 53.

Nesta figura observa-se que uma tendência diferente consoante o grupo de qualidade da carne e o tipo de embalagem. Em embalagem sob vácuo a apreciação efectuada pelo painel não diferencia os três grupos de pH_f, do t₁₀ ao t₂₁. No t₁₀, revelam diferenças relativamente à carne embalada em aerobiose em todos os grupos de qualidade, e da carne Normal embalada em AM_{70/20} e em AM_{30/60}. No t₂₈, sob vácuo a carne Normal diferencia-se da carne DFD e também da carne de todos os grupos de qualidade em AM_{30/60}.

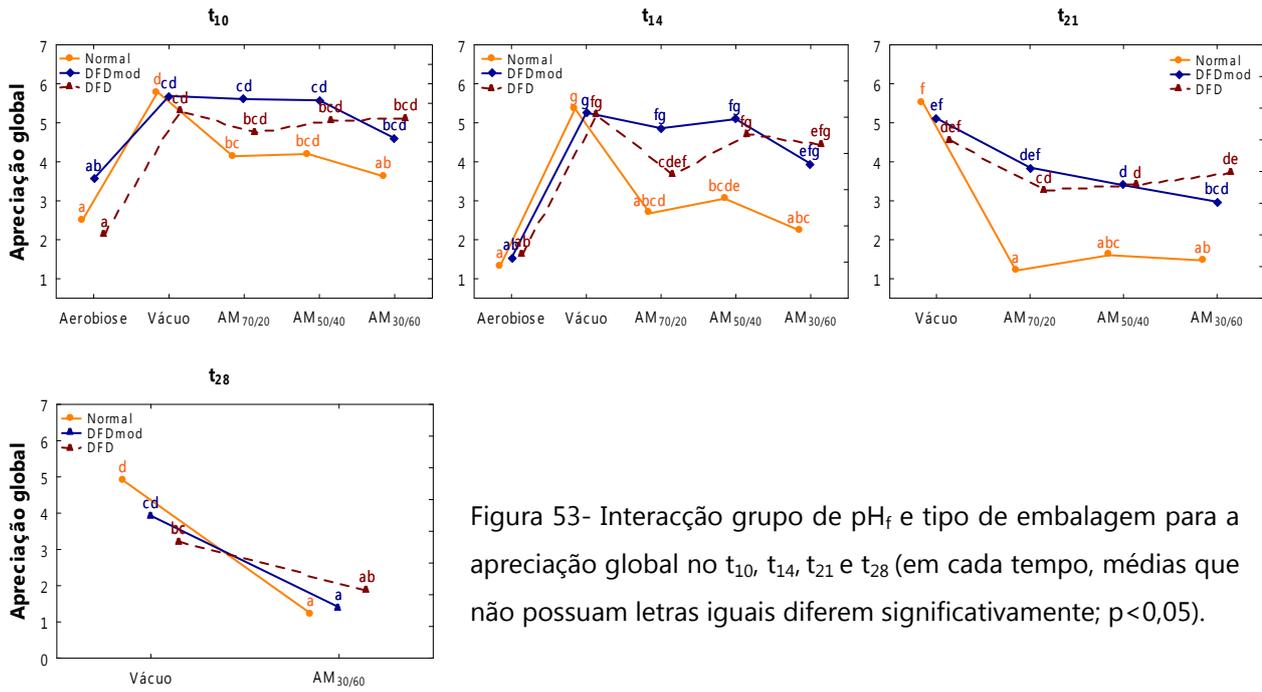


Figura 53- Interação grupo de pH_f e tipo de embalagem para a apreciação global no t₁₀, t₁₄, t₂₁ e t₂₈ (em cada tempo, médias que não possuem letras iguais diferem significativamente; p < 0,05).

III.3.3.5. Relação entre o tipo de cheiro detectado com o cheiro a deteriorado e a apreciação global

No sentido de averiguar qual o contributo da frequência com que foram referidos os qualificativos de cheiro para as características contínuas analisadas em todas as amostras "cheiro a deteriorado" e "apreciação global" procedeu-se à análise multivariada dos resultados, através de regressão logística, utilizando a frequência de utilização dos diferentes cheiros como estimadores e o cheiro a deteriorado e a apreciação global como variável dependente. Dado que esta metodologia, que permite utilizar dados descontínuos como variáveis independentes, exige que a variável dependente seja categórica, com valores possíveis de 0 ou 1, procedeu-se à categorização do cheiro a deteriorado e da apreciação global, utilizando como limite a mediana (2 e 5, respectivamente).

No Quadro 43 apresenta-se o modelo de regressão logística para o cheiro a deteriorado (classe de valores superiores à mediada em relação à dos inferiores), considerando os cheiros qualitativos como estimadores. O cheiro adocicado revelou-se não significativo para o modelo.

Quadro 43- Resultados do modelo de regressão logística para o cheiro a deteriorado (classe de valores superiores à mediada em relação à dos inferiores) considerando os cheiros qualitativos como estimadores (classe de referência é a ausência do cheiro qualitativo)

Variável Cheiro a:	Beta	EP¹	p	OR²	95% IC³
Pútrido	3,20	0,21	< 0,001	24,52	16,15 - 37,24
Amoniactal	2,13	0,19	< 0,001	8,40	5,76 - 12,24
Acídico/fermentado	3,20	0,18	< 0,001	24,58	17,19 - 35,15
Ranço	3,59	0,28	< 0,001	36,37	21,12 - 62,64
Manteiga	1,31	0,11	< 0,001	3,69	3,00 - 4,54
Outros	1,47	0,37	< 0,001	4,36	2,12 - 8,97

¹ EP. Erro Padrão; ² Odds ratio ³IC Intervalo de Confiança

Como se pode observar no Quadro 43 todos os qualificativos de cheiro contribuíram positivamente para o cheiro a deteriorado. Destaca-se o cheiro a ranço com uma maior probabilidade da amostra ser classificada com cheiro a deteriorado (OR=36,37; IC 95%, 21,12-62,64) comparativamente com os restantes cheiros.

Também com uma importância considerável na definição do cheiro a deteriorado apresentam-se os cheiros pútrido e ácido/fermentado, representando a sua ocorrência (individual) um aumento em cerca de 25 vezes nessa variável de cheiro. O cheiro amoniactal apresenta um OR de 8,4, mais modesto que os anteriores, provavelmente devido à reduzida frequência com que este cheiro foi utilizado pelos provadores, resultando globalmente num menor contributo para o cheiro a deteriorado.

O menor contributo para o cheiro a deteriorado foi trazido pelo cheiro a manteiga, representando a sua detecção pelos provadores um aumento da probabilidade de classificar as amostras com um elevado cheiro a deteriorado em 3,69 vezes. Este facto é facilmente compreensível por se tratar de uma nota

aromática menos repulsiva, mas também por ser encontrada em carnes ainda bastante frescas (ver Quadro 38), e logo classificadas com uma baixa intensidade de cheiro a deteriorado.

No Quadro 44 são apresentados os resultados do modelo de regressão logística para a apreciação global (classe de valores superiores à mediana em relação à dos inferiores), considerando os cheiros qualitativos como estimadores. Ao contrário do observado no modelo de regressão logística para o cheiro a deteriorado, em que os valores de OR são todos superiores a 1, implicando que a ocorrência do cheiro represente um aumento da probabilidade de ocorrência do estimado, no caso da apreciação global, o valores de OR são sempre inferiores à unidade, indicando que a ocorrência do cheiro qualitativo conduz a uma menor probabilidade da amostra vir a ter uma elevada apreciação global.

Quadro 44- Resultados do modelo de regressão logística para a apreciação global (classe de valores superiores à mediada em relação à dos inferiores) considerando os cheiros qualitativos como estimadores (classe de referência é a ausência do cheiro qualitativo).

Variável	Beta	EP ¹	p	OR ²	95% CI ²
Cheiro a:					
Pútrido	-2,90	0,18	< 0,001	0,06	0,04 - 0,08
Amoniacal	-2,55	0,20	< 0,001	0,08	0,05 - 0,11
Acídico/fermentado	-3,57	0,19	< 0,001	0,03	0,02 - 0,04
Ranço	-3,91	0,29	< 0,001	0,02	0,01 - 0,04
Manteiga	-1,13	0,09	< 0,001	0,32	0,27 - 0,38
Adocicado	-0,54	0,09	< 0,001	0,58	0,49 - 0,70
Outros	-2,13	0,34	< 0,001	0,12	0,06 - 0,23

¹ EP. Erro Padrão; ² Odds ratio ³IC Intervalo de Confiança

Considerando a relação previamente estabelecida entre a apreciação global e o cheiro a deteriorado, os resultados obtidos com este modelo de regressão logística vão no mesmo sentido. Os cheiros pútrido, amoniacal, ácido/fermentado e ranço são aqueles que produzem uma redução mais acentuada na probabilidade das amostras de carne de bovino serem classificadas com uma apreciação global superior à mediana. O cheiro a pútrido corresponde a uma aumento de 0,06 nessa probabilidade, que corresponde a uma redução em cerca de 17 vezes. Essa redução ascende a cerca de 33 vezes para a ocorrência do cheiro ácido/fermentado e a 50 vezes para o cheiro a ranço.

O cheiro a manteiga e adocicado têm um contributo negativo menor para a apreciação global, apresentando valores de OR de 0,32 e 0,58 respectivamente, a que corresponde uma redução de probabilidade de pertencer ao escalão superior de apreciação global de 3 e 1,7 vezes respectivamente.

O cheiro a manteiga é frequentemente apontado como uma das notas aromáticas da carne no início do processo de deterioração (Jackson *et al.*, 1992) que é depreciado pelos consumidores. Porém, e como se deduz dos resultados do presente trabalho, para além dos cheiros pútrido e ácido/fermentado, o cheiro a ranço foi aquele que mais contribuiu para o cheiro a deteriorado e para a reduzida apreciação global das amostras em estudo.

III.3.4. Análise multifactorial de dados microbiológicos, físico-químicos e sensoriais

Neste trabalho, tem-se procedido à apresentação dos resultados obtidos, em carne de bovino de três grupos de pH_f embalada em diferentes tipos de embalagem de forma independente para cada variável em estudo, referente aos aspectos microbiológicos, físico-químicos e sensoriais, apenas fazendo algumas referências a relações e/ou correlações detectadas entre as mesmas. No sentido de obter uma visão mais abrangente dos resultados, procedeu-se à sua abordagem por análise de componentes principais (ACP), com o objectivo de conhecer a relação global entre as variáveis em estudo, quais as variáveis que apresentaram uma maior contribuição para as variações observadas, assim como o relacionamento global entre as amostras quando analisadas sob essa perspectiva multifactorial (Quadro 45).

Quadro 45- Pesos factoriais, comunalidades e valores próprios da análise de componentes principais (ACP) estudada com 26 variáveis do ensaio.

Variável	PF sem rotação			PF Rotação Varimax			CM
	CP 1	CP 2	CP 3	CP 1	CP 2	CP 3	
Teste de esfericidade de Bartlett				***			
Medida de adequação de KMO				0,82			
Bactérias do Ácido Láctico (BAL)	-0,61	-0,14	0,39	-0,73	-0,01	-0,11	0,54
<i>Brochothrix thermosphacta</i> (BT)	-0,69	-0,16	0,54	-0,89	0,02	-0,06	0,79
<i>Enterobacteriaceae</i> (Ent.)	-0,38	-0,44	0,37	-0,61	-0,29	0,12	0,47
<i>Pseudomonas</i> spp. (Pseud.)	-0,66	-0,30	0,49	-0,86	-0,13	-0,04	0,76
Fungos (Fung.)	-0,55	-0,28	0,36	-0,70	-0,16	-0,05	0,51
Mesófilos Totais (Mes.)	-0,77	-0,21	0,52	-0,94	-0,03	-0,11	0,91
Psicotróficos totais (Psi.)	-0,78	-0,20	0,50	-0,94	-0,03	-0,14	0,90
Azoto Básico Volátil Total (ABVT)	-0,56	-0,16	0,21	-0,58	-0,09	-0,19	0,39
L ₀ *	-0,11	0,90	0,07	0,07	0,86	-0,26	0,82
L ₆₀ *	-0,12	0,83	0,02	0,08	0,78	-0,29	0,70
a ₀ *	0,70	0,12	0,60	0,15	0,33	0,85	0,86
a ₆₀ *	0,68	-0,04	0,61	0,10	0,19	0,89	0,84
b ₀ *	0,17	0,80	0,35	0,07	0,88	0,14	0,79
b ₆₀ *	0,19	0,80	0,46	0,02	0,91	0,23	0,88
Vermelho-vivo (V-vivo)(E)	0,48	0,29	0,59	0,04	0,48	0,65	0,66
Vermelho-vivo (V-vivo)	0,49	0,24	0,59	0,04	0,44	0,68	0,65
Vermelho-escuro (V-esc)(E)	-0,07	-0,76	-0,05	-0,19	-0,73	0,12	0,58
Púrpura (Pur)(E)	-0,02	-0,76	-0,19	-0,06	-0,78	0,06	0,61
Púrpura (Pur)	0,01	-0,57	-0,27	0,05	-0,63	-0,03	0,40
Catanho (Cast) (E)	-0,47	0,54	-0,47	0,07	0,34	-0,78	0,74
Catanho (Cast)	-0,48	0,54	-0,48	0,08	0,34	-0,79	0,75
Superfície de Descoloração (SD) (E)	-0,72	0,28	-0,10	-0,40	0,22	-0,63	0,60
Superfície de Descoloração (SD)	-0,73	0,29	-0,08	-0,42	0,23	-0,62	0,62
Cheiro a Deteriorado (ChD)	-0,81	0,16	0,17	-0,67	0,19	-0,47	0,70
Apreciação Global (AG)(E)	0,81	-0,39	0,26	0,35	-0,26	0,83	0,87
Apreciação Global (AG)	0,87	-0,25	-0,04	0,61	-0,23	0,63	0,83
Valores próprios	8,33	5,91	3,94	6,41	5,68	6,08	
% variância explicada	32,03	22,72	15,14	24,65	21,84	23,39	Σ = 69,89

PF pesos factoriais; CM comunalidade; KMO Kaiser-Meyer-Olkin; Σ é relativo aos três valores que o precedem (em linha), ou seja, é a % de variância explicada acumulada das três CP em estudo.

Numa primeira fase, o cálculo foi efectuado com a maioria das variáveis determinadas na totalidade de amostras em estudo ($n=522$) com as diferentes combinações grupo de pH_f/ tipo de embalagem. Exceptuaram-se as variáveis de cor (ΔL^* , Δa^* e Δb^*), pois são derivadas das coordenadas de cor L^* , a^* e b^* , que foram estudadas, evitando-se assim a sobrevalorização que essas coordenadas teriam na solução de análise de componentes principais. A variável Vermelho-escuro (E) também não foi considerada por apresentar pesos factoriais muito reduzidos no conjunto das 3 primeiras componentes principais ($CM \leq 0,1$).

Consideraram-se apenas as três primeiras componentes principais (CP), dada a possibilidade de fazer uma interpretação dos resultados num espaço tridimensional, que passa a ser menos clara quando se aumenta o número de componentes principais. Para o conjunto de 26 variáveis consideradas, as três primeiras componentes principais explicam cerca de 70% da variância total da matriz de resultados (Quadro 45) e a medida de Kaiser-Meyer-Olkin (0,82) indica que a matriz de dados tem uma boa adequação a este tipo de cálculo. Os pesos factoriais e as comunalidades de cada variável, assim como os valores próprios de cada componente principal, antes e após rotação varimax normalizada de Kaiser, são apresentados no Quadro 45. A representação gráfica dos pesos factoriais, após rotação, das variáveis originais com as três componentes principais em estudo é apresentada na Figura 54. A projecção das amostras, de acordo com a combinação grupo de pH_f/ tipo de embalagem, no espaço definido por essas componentes é ilustrada na Figura 55.

Pela análise da parte superior da Figura 54, relativa aos pesos factoriais das duas primeiras componentes principais, que, em conjunto, sintetizam cerca de 47% da variância explicada na solução, pode observar-se que a CP1 é definida principalmente pelas variáveis microbiológicas situadas do lado esquerdo do plano, e pela apreciação global do lado oposto do plano, confirmando a relação inversa existente entre a quantidade de microrganismos e aquela variável sensorial. Observa-se ainda que das variáveis microbiológicas, a contagem de mesófilos e psicotróficos totais, *Pseudomonas* spp. e *Brochothrix thermosphacta* são as que apresentam pesos factoriais absolutos superiores na CP1, respectivamente de 0,94, 0,94, 0,86 e 0,89 (Quadro 45). A família *Enterobacteriaceae* foi aquela que, não só na CP1, mas no conjunto da solução com 3 CP calculada, apresentou uma das comunalidades menores do conjunto de variáveis estudadas (0,47), indicando a sua menor representação neste espaço tridimensional. Associados às contagens microbianas do mesmo lado do plano, logo correlacionados positivamente, encontram-se o cheiro deteriorado, com um PF de -0,67, e o teor em ABVT, com um PF de -0,58. Esta associação confirma dois aspectos importantes: o ABVT, indicador de catabolismo da fracção azotada, encontra-se manifestamente associado ao desenvolvimento microbiano, e, o cheiro deteriorado parece ser consequência desse desenvolvimento microbiano e da sua actividade catabólica.

A segunda componente principal detém uma percentagem de variância de cerca de 22% sendo definida principalmente por parâmetros de cor associados à luminosidade e parâmetro b^* e, por outro lado à cor púrpura. Assim, de um dos lados do plano encontram-se os parâmetros de luminosidade imediatamente após a abertura da embalagem (L_0^*) e após uma hora de *blooming* (avermelhamento) (L_{60}^*), com PF de 0,86 e 0,78, respectivamente. Desse mesmo lado, variando no mesmo sentido, encontram-se os parâmetros b_0^* e b_{60}^* , com de PF 0,88 e 0,91, respectivamente. No lado oposto do plano (metade inferior) estão projectadas as variáveis de avaliação sensorial da cor vermelho-escuro (PF -0,73), púrpura na carne

embalada (PF -0,78) e púrpura após *blooming* (avermelhamento) (PF -0,63). As relações entre variáveis explicadas por esta componente principal podem ser explicadas pelo menor brilho que habitualmente a carnes DFD apresentam, ou seja uma relação inversa entre a coordenada de cor L^* e a cor vermelho-escuro. Por outro lado, a coordenada de cor amarelo-azul (b^*) encontra-se também inversamente relacionada com a cor púrpura, o que ocorre por uma maior abundância de azul (valores de b^* negativos) nas carnes com cor púrpura. Este eixo, muito associado à cor púrpura, tem um PF reduzido da apreciação global (-0,26 nas amostras ainda embaladas e -0,23 nas amostras após uma hora de oxigenação), revelando que a cor púrpura, típica de amostras embaladas sob vácuo, não foi determinante na decisão da apreciação global realizada pelos provadores.

A terceira componente principal, projectada em conjunto com a CP1 no gráfico inferior da Figura 54, explica 23% da variância do conjunto dos dados originais. Esta componente é também explicada por variáveis de cor, contudo neste caso, é mostrada a relação existente entre as variações sensoriais da cor vermelho-vivo, com PF de 0,65 e 0,68 para as amostras embaladas e após avermelhamento, respectivamente e da cor castanha, com PF de -0,78 e -0,79 para as amostras embaladas e após avermelhamento, respectivamente. Correlacionados positivamente, o que seria de esperar, com a avaliação sensorial de vermelho-vivo encontram-se as coordenadas de cor a_0^* e a_{60}^* , ambas com um contributo importante para a formação desta componente principal (PF a_0^* 0,85 e PF a_{60}^* 0,89). Associada à região do plano com cor castanha (em carne embalada (E) e desembalada), encontra-se a superfície de descoloração (em carne embalada (E) e desembalada), indicando que as manchas na carne ocorriam em condições também favoráveis à ocorrência de cor castanha. Esta componente principal tem um importante contributo da apreciação global (PF 0,83 e 0,63 para as amostras embaladas e após avermelhamento, respectivamente), o maior nas três componentes estudadas, confirmando que a cor vermelho-vivo da carne, e a ausência de cor castanha ou manchas de descoloração, foram critérios importantes na apreciação global feita pelo grupo de provadores que acompanhou o presente estudo.

Em síntese, poder-se-á considerar que a CP1 é determinada por aspectos microbiológicos em oposição à apreciação global, a CP2 por aspectos relacionados com a luminosidade e o parâmetro b^* da carne em oposição à cor púrpura, em grande impacto na apreciação global, e a CP3, compreendeu a informação das avaliações de cor vermelho-vivo e castanho, com forte impacto na apreciação global.

Quando as amostras são projectadas nos planos definidos pelas componentes principais em estudo (Figura 55), demonstram-se algumas das tendências que foram observadas ao longo da discussão que precedeu esta abordagem de cálculo. Assim, pode observar-se que sobre a CP1 há uma tendência clara para que amostras embaladas em aerobiose (losangos) ocupem a parte mais à esquerda do plano, sugerindo que essas amostras são as que apresentam uma microflora mais abundante, e características de cheiro a deteriorado e teores em ABVT mais elevados. Este facto é justificável por terem sido nestas condições de embalagem que os tempos de armazenamento foram mais abusivos, tendo-se demonstrado que aos 14 dias, a carne já se encontrava em estado de deterioração considerável. Ainda considerando o mesmo tipo de embalagem, pode observar-se alguma predominância de símbolos de cor acastanhada ou azul, representantes das amostras com características DFD ou DFDmod. Quanto aos restantes tipos de embalagem, não é clara a existência de um eventual padrão de distribuição em relação à CP1.

A projecção das observações sobre a CP2 (gráfico superior da Figura 55) destaca-se uma separação clara, na parte inferior do plano, das amostras embaladas sob vácuo (quadrado), em particular aquelas com características DFD (símbolos acastanhados) ou DFD moderado (símbolos azuis). Considerando que esta CP reunia variáveis relacionadas com brilho e com cor púrpura, esta projecção das observações confirma-se coerente, pois as amostras DFD e DFDmod serão aquelas com uma superfície mais seca, logo com menos brilho (L^* menor), e que apresentam uma coloração púrpura mais intensa quando embaladas sob vácuo. Note-se que, as amostras de carne normal embalada sob vácuo (quadrados alaranjados), ainda que estejam do mesmo lado do plano que aquelas com características DFD (parte inferior), encontra-se muito próximas da origem do eixo, indicando a sua pobre relação com essas variações, logo, a sua menor coloração púrpura quando privadas de oxigénio. No lado oposto do plano encontram-se as amostras embaladas nas diferentes atmosferas modificadas.

A distribuição das amostras sobre o plano definido pela CP1 e CP3 (gráfico inferior da Figura 55) mostra que há uma discriminação evidente de alguns tipos de amostras em função da sua coloração vermelho-vivo e castanho. Assim, conforme observado na Figura 54, a CP3, inclui informação relativa à cor vermelho vivo e apreciação global (parte superior) e castanho (parte inferior). Na parte inferior da Figura 55 observam-se claramente isoladas as amostras de carne normal embalada na AM_{30/60} (estrelas alaranjadas) logo seguidas por aquelas embaladas na AM_{50/40} (círculos alaranjados) e na AM_{70/20}. Este aspecto, que já fora discutido na secção de avaliação sensorial da cor, sintetiza a importância que a escolha do tipo de AM pode representar para os diferentes tipos de qualidade da carne, sendo claro, pela análise destes resultados que a utilização de elevadas concentrações de CO₂ em AM para embalar carne Normal não é recomendável, pois esta desenvolve uma coloração acastanhada que foi claramente preterida pelos provadores.

Se considerarmos os pesos factoriais da apreciação global com a CP1 e a CP3, positivo em ambos os casos, infere-se que o quadrante superior direito do plano definido por essas duas CP é aquele onde se encontram as amostras mais apreciadas. Assim, e considerando que a projecção das amostras inclui as determinações feitas em todos os tempos de análise estudados, observa-se que neste quadrante estão projectadas amostras de todas as combinações grupo de pH_f/embalagem estudados, mas parece haver alguma predominância de carnes embaladas em AM dos grupos de pH_f DFD e DFDmod (triângulos, círculos e estrelas acastanhadas e azuis). Estas amostras são caracterizadas por uma cor vermelho vivo, pouco cheiro deteriorado e contagens de microflora mais reduzidas.

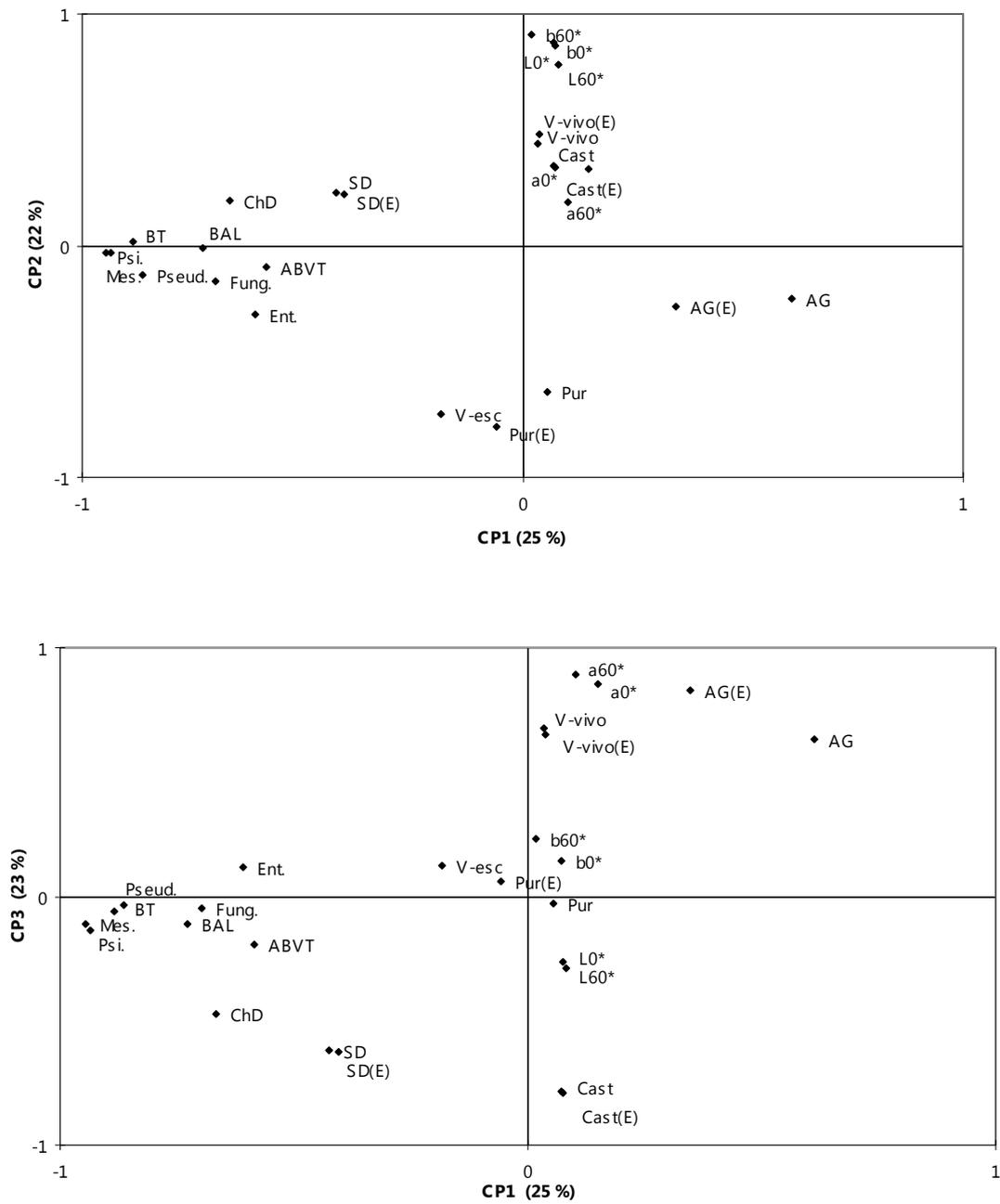


Figura 54- Pesos factoriais, após rotação, das variáveis originais para as duas primeiras CPs (parte superior) e primeira e terceira CPs (parte inferior).

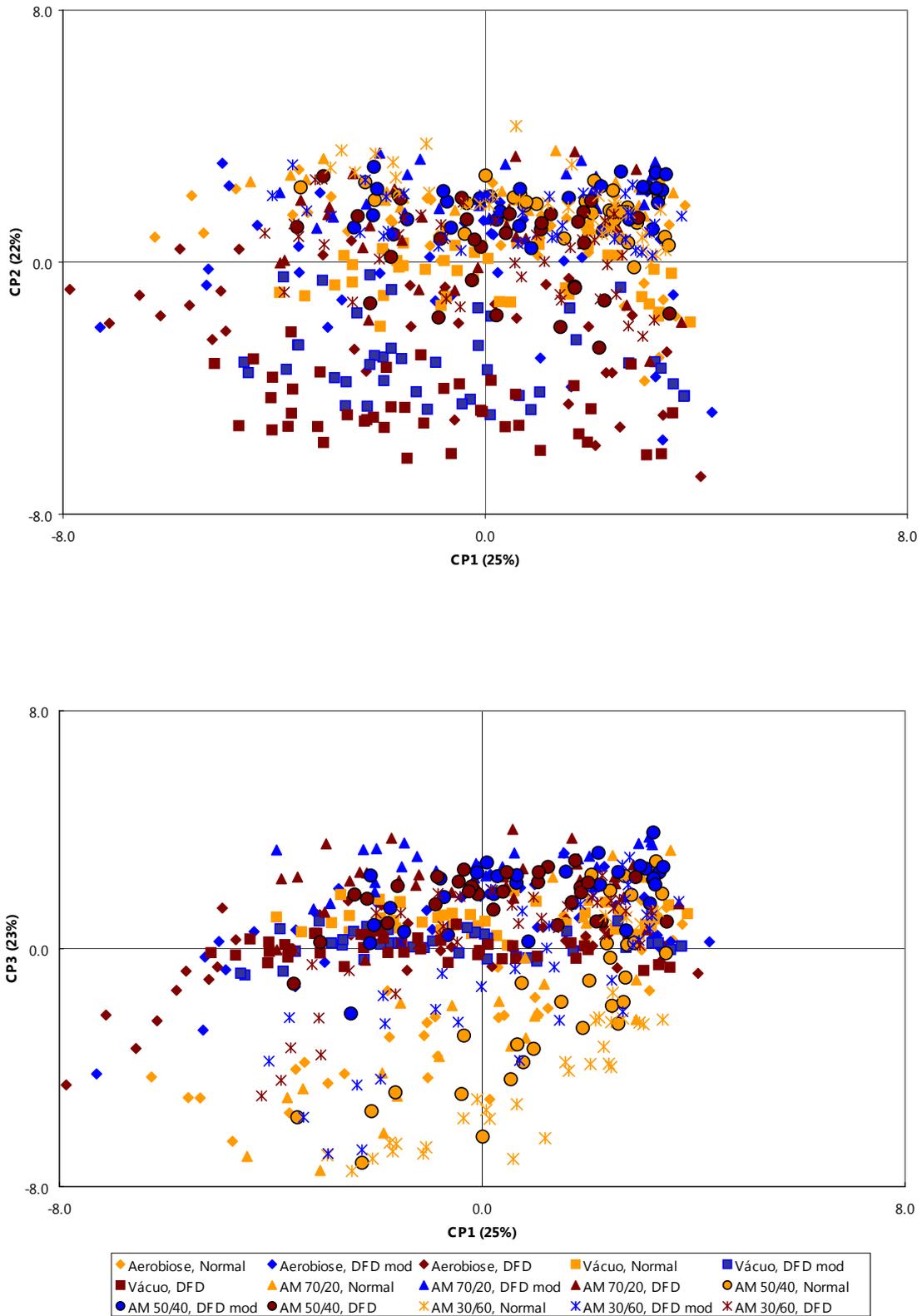


Figura 55- Projecção das observações no espaço definido pelas 3 primeiras componentes principais; parte superior CP 1 vs CP 2; parte inferior CP 1 vs CP 3.

III.3.5. Composição da fracção volátil

Neste trabalho foi efectuado o estudo do perfil de compostos voláteis e de alguns compostos com odor activo em carne de bovino (*longissimus dorsi*) proveniente de dois grupos de qualidade (Normal $pH_f < 5,8$; carne DFD, $pH_f > 6,2$) embalada sob vácuo e em AM_{70/20}, armazenada durante 10 e 21 dias *post mortem*.

De acordo com a bibliografia consultada, a avaliação do perfil de compostos voláteis em carnes frescas, com vista à obtenção de dados associados às características microbiológicas e/ou (bio)químicas é escassa, apesar de algumas experiências com amostras naturalmente contaminadas, ou inoculadas, terem fornecido alguma informação para carne de bovino embalada em aerobiose (Dainty *et al.*, 1984, Dainty *et al.*, 1985; Edwards *et al.*, 1987; Stutz *et al.*, 1991), em vácuo e em atmosfera modificada (Jackson *et al.*, 1992), para carne de suíno embalada sob vácuo (Edwards e Dainty, 1987) e para carne de aves embalada em aerobiose (Pittard *et al.*, 1982; Viehweg *et al.*, 1989a,b, citado por Dainty, 1996) e em atmosferas modificadas (Eilamo *et al.*, 1998). Em carne crua sujeita a irradiação são vários os trabalhos publicados em carne de bovino, suíno e de aves (Ahn *et al.*, 2000; Ahn *et al.*, 2001; Du *et al.*, 2000; Du *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2002; Nam e Ahn, 2003a e b; Rababah *et al.*, 2006), com o objectivo de avaliar os compostos voláteis particularmente associados à irradiação e suas implicações em termos organolépticos, nomeadamente do cheiro. Também em carne cozinhada, a avaliação dos compostos voláteis tem sido objecto de vários trabalhos, nomeadamente para avaliar o efeito da raça, do tipo de alimentação e do peso ao abate no perfil aromático de carne de bovino, de cordeiro e de suíno (Young e Baumeister, 1999; Elmore *et al.*, 2000; Estévez *et al.*, 2003a e b; Machiels *et al.*, 2003; Raes *et al.*, 2003; Machiels *et al.*, 2004; Elmore *et al.*, 2005; Insausti *et al.*, 2005; Stetzer *et al.*, 2008).

A microextracção em fase sólida (SPME) é uma técnica que foi desenvolvida por Pawliszyn e colaboradores em 1990 (Zhang *et al.*, 1994) e tem sido utilizada para a análise de compostos voláteis numa grande variedade de alimentos (Chin *et al.*, 1996; Elmore *et al.*, 1997; Bazemore *et al.*, 1999; Marsilli, 1999; Elmore *et al.*, 2000; Kataoka *et al.*, 2000; Frank *et al.*, 2004). Em amostras de carne, esta técnica tem sido utilizada principalmente para a análise de produtos da oxidação lipídica como, por exemplo, a detecção de hexanal (Brunton *et al.*, 2000; Fernando *et al.*, 2003) ou no estudo de *flavour* em carne de bovino (Moon e Li-Chan, 2004; Moon *et al.*, 2006). Segundo alguns autores, a detecção de hexanal tem apresentado elevadas correlações com os valores de TBARs (Nielsen *et al.*, 1997; Brunton *et al.*, 2000; Fernando *et al.*, 2003). Esta técnica tem sido também bastante utilizada para o estudo de produtos cárneos curados (García-Esteban *et al.*, 2004; Muriel *et al.*, 2004) e tem sido referido como um método válido para a extracção de compostos voláteis no espaço de cabeça do presunto ibérico (Ruíz *et al.*, 1998). A utilização de cromatografia gasosa e espectrometria de massa (GC-MS) é uma técnica utilizada para identificação e quantificação (dependendo da metodologia utilizada) dos compostos do aroma de vários produtos alimentares, contudo não permite estabelecer quais desses compostos possuem ou não odor activo (Curioni e Bosset, 2002). Daí que, de forma complementar, a técnica de cromatografia gasosa-olfactometria (GC-O), constitui uma ferramenta válida para pesquisa do padrão de substâncias odoríferas de um produto, avaliadas quer pela descrição do odor, quer pela sua actividade odorífera. A GC-O pode ser definida como uma colecção de técnicas que combinam a olfactometria, ou seja utilizam o nariz humano como um detector de forma a aceder a actividade odorífera dos compostos, associada a uma

técnica bastante frequente de separação de compostos voláteis que é a cromatografia gasosa (Friedrich e Acree, 1998). Teoricamente, o nariz humano possui um limite de detecção abaixo de 10^{-19} moles de determinados odores (Reineccius, 1994), podendo ser utilizado com sucesso para análise de efluentes cromatográficos, e, em muitos casos, mais sensível do que um detector instrumental (Pollien *et al.*, 1997; Curioni e Bosset, 2002). Esta técnica pode ser utilizada para detectar diferenças no cheiro entre amostras, uma vez que amostras com diferentes perfis sensoriais apresentam diferenças em termos de compostos com odor activo. Para além disso, os odores detectados podem ser relacionados com os atributos sensoriais (Le Guen *et al.*, 2001), servindo assim para a sua caracterização.

III.3.5.1. Compostos voláteis detectados por HS-SPME-GC-MS

No Quadro 46 mostram-se os compostos voláteis identificados na totalidade de amostras analisadas por HS-SPME-GC-MS, constituindo um total de 54, dos quais 8 foram detectados em coeluição de 2 compostos (2-propanona+pentano, 1-propanol+2-metilpropanal, pentanal+heptano; hexanal+octano), apresentando os mesmos tempos de retenção na coluna.

Quadro 46- Compostos voláteis identificados por HS-SPME-CG-MS na totalidade das amostras de carne de bovino analisadas (n=32), de acordo com o índice de Kovats (IK)

Composto	IK ¹	Identificação ²	Composto	IK ¹	Identificação ²
Acetaldeído	<500	EM	1-pentanol	770	EM
Etanol	<500	EM	2-etil-hexeno	790	EM
2-propanona+pentano	500	EM+IK	2,3-butanodiol	782	EM+IK
Sulfureto de dimetilo	519	EM	Hexanal+octano	800	EM+IK+PR
Dissulfureto de carbono	542	EM+IK	2-octeno	809	EM+IK
1-propanol+2-metilpropanal	550	EM+IK	2-hexenal	853	EM+IK+PR
2-metilpentano	560	EM+IK	1-hexanol	872	EM+IK
Ácido acético	572	EM	Etilbenzeno	873	EM
3-metilpentano	579	EM+IK	p-xileno	879	EM+IK
2,3-butanodiona	588	EM+IK+PR	2-heptanona	892	EM+IK+PR
2-butanona	595	EM+IK	Heptanal	902	EM+IK+PR
Hexano	600	EM+IK+PR	Gama-butirolactona	914	EM+IK
Acetato de etilo	607	EM+IK	alfa-pineno	945	EM+IK
3-metilbutanal	647	EM+IK+PR	Heptenal	962	EM+IK+PR
2-metilbutanal	657	EM+IK+PR	Ácido hexanóico	974	EM+IK
Benzeno	660	EM+IK	1-octen-3-ol	982	EM+IK+PR
1-penten-3-ol	676	EM+IK	2,3-octanodiona	984	EM+IK
2-pentanona	683	EM+IK+PR	3-octanona	989	EM+IK
2,3-pentanodiona	691	EM+IK	2-pentil-furano	995	EM+IK
Pentanal+heptano	700	EM+IK+PR	Octanal	1004	EM+IK+PR
2-etilfurano	703	EM+IK	delta-careno	1021	EM+IK
3-hidroxi-2-butanona	708	EM+IK+PR	Limoneno	1040	EM+IK
3-metilbutanol	727	EM+IK	2-nonanona	1093	EM+IK
2-metilbutanol	734	EM+IK	3,5-octanodiona	1098	EM+IK
Piridina	741	EM+IK	Nonanal	1104	EM+IK+PR

¹IK, calculado pelo tempo de retenção numa coluna capilar de tipo HP-5.
 Identificação² por: EM (espectro de massa); IK; PR (padrões de referência).

Os 54 compostos identificados corresponderam a 11 aldeídos, 11 cetonas, 11 hidrocarbonetos, 9 álcoois, 2 ácidos, 1 éster, 2 compostos sulfurados, 1 composto azotado, 2 furanos, 1 lactona e 3 terpenos, apresentando-se agrupados por famílias ou por associação de compostos (Quadro 47 ao Quadro 54). Os dados apresentam-se de acordo com as médias obtidas, expressas em UAA x 10⁶, de acordo com o grupo de pH_f da carne (Normal e DFD), com o tipo de embalagem (vácuo e AM_{70/20}) ou com o tempo de armazenamento *post mortem* (t₁₀ e t₂₁). Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os efeitos do grupo de pH_f, do tipo de embalagem (E), do tempo de armazenamento, bem como das interações entre estes factores (grupo de pH_f x tipo de embalagem; grupo de pH_f x tempo; tipo de embalagem x tempo e grupo de pH_f x tipo de embalagem x tempo). Os parâmetros de análise de variância para cada composto são apresentados no Quadro A.V do anexo.

III.3.5.1.1. Ácidos e ésteres

No Quadro 47 mostram-se os valores médios (UAAx10⁶) para os ácidos e ésteres identificados por SPME-GC-MS nas amostras de carne embalada, para os grupos de pH_f, os tipos de embalagem e os tempos (dias *post mortem*) de armazenamento. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os vários efeitos (grupo de pH_f, tipo de embalagem, tempo de armazenamento), bem como das suas interações.

Quadro 47- Ácidos e ésteres detectados por SPME-GC-MS em amostras de carne, expressos em UAA x 10⁶ (média ± desvio padrão), de acordo com o grupo de pH_f, o tipo de embalagem (E) e o tempo (t) (dias *pm*) de armazenamento.

Composto	Grupo de pH _f		Embalagem		Tempo (dias <i>pm</i>)		pH _f	E	t	pH _f xE	pH _f xt	E xt	pH _f xExt
	Normal	DFD	Vácuo	AM _{70/20}	t ₁₀	t ₂₁							
Ácido acético	67±63	124±373	147±366	44±70	32±44	159±366	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Acetato de etilo	22±29	33±47	32±32	23±45	26±41	29±38	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Ácido hexanóico	9±26	1±2	0±0	10±26	1±3	9±26	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns-não significativo (p≥0,05).

A análise de variância revelou que o grupo de pH_f, o tipo de embalagem e o tempo de armazenamento não exerceram qualquer efeito sobre a ocorrência destes ácidos e deste éster. Verificou-se também a ausência de interações significativas.

Efeito do grupo de pH_f

Apesar de não se terem observado diferenças significativas para o efeito do grupo de pH_f para as áreas dos picos identificados como compostos referenciados no Quadro 47, verifica-se que dos ácidos identificados, o ácido acético foi o que apresentou as UAA mais elevadas e o ácido hexanóico as UAA mais baixas. Para o ácido acético, as UAA foram em média superiores em carne DFD comparativamente às obtidas em carne Normal, embora também não se tenham observado diferenças significativas.

O único éster identificado, o acetato de etilo, apresentou valores de UAA mais ou menos similares em ambas as condições em estudo.

Efeito do tipo de embalagem

O ácido acético apresentou UAA mais elevadas em vácuo do que em AM_{70/20} enquanto o ácido hexanóico não foi identificado em vácuo.

O acetato de etilo apresentou valores de UAA mais ou menos similares em ambas as embalagens.

Efeito do tempo de armazenamento

No t₂₁, os ácidos identificados apresentaram áreas dos picos superiores às detectadas no t₁₀, com ausência de diferenças significativas. O acetato de etilo apresentou áreas mais ou menos idênticas em ambos os tempos.

No trabalho realizado por Jackson *et al.* (1992), o pico identificado como ácido acético estava presente no espaço de cabeça das amostras de carne de bovino armazenadas em vácuo, 100% CO₂ e 80%O₂/20%CO₂ no dia 0, não sendo contudo detectado em vácuo e 100% CO₂ nos restantes dias de armazenamento (7 a 28 dias). Na carne embalada em AM com 40%CO₂/60%N₂, não foi detectado no dia 0, mas foi detectado no 14º dia, não sendo detectado ao 21º e ao 28º dia de armazenamento. Também estava presente em amostras embaladas em AM com 80%O₂/20%CO₂, armazenadas durante 14-28 dias, tendo sido detectado pela 1ª vez no 14º dia (Jackson *et al.*, 1992).

O acetato de etilo pode ter origem na actividade microbiana (Barbieri *et al.*, 1992). Embora Jackson *et al.* (1992) refiram não ser possível no seu trabalho atribuir a presença de um determinado composto à predominância de uma determinada espécie bacteriana. Dainty *et al.* (1984) associaram o acetato de etilo à presença de *Pseudomonas* e detectaram, além deste éster, butanoato de etilo em amostras de carne de bovino estéril, inoculada com várias estirpes dessa bactéria e embalada em aerobiose. Este tipo de associação tem-se vindo a mostrar difícil de estabelecer quando se trata de carne naturalmente contaminada, como o revelam os resultados de Jackson *et al.* (1992), que detectaram o éster etílico do ácido butanóico no espaço de cabeça de todas as amostras de carne embalada nas 4 condições de acondicionamento que testaram (vácuo, 100% CO₂; 40%CO₂/60%N₂ e 80%O₂ /20%CO₂), à semelhança do que se observou no presente trabalho.

Edwards e Dainty (1987) também detectaram no seu trabalho alguns ésteres etílicos de ácidos gordos de cadeia curta, semelhantes aos detectados no armazenamento em aerobiose por Dainty *et al.* (1984) mas apenas em amostras de carne de suíno com pH elevado, o que poderá ser devido a uma maior população microbiana, que quando excede 10⁹ células/g sintetiza ésteres etílicos de ácidos com odores adocicados e frutados (Brewer, 2006).

Devido ao seu limiar de percepção olfativa, os ésteres são normalmente considerados compostos com pouca importância no cheiro dos produtos ricos em gordura (Takeoka *et al.*, 1995). Contudo, Barbieri *et al.* (1992) referem que a sua presença, mesmo em baixas concentrações, pode influenciar de forma significativa o *flavour* de produtos cárneos. Essa influência pode ocorrer devido à capacidade que estes compostos têm em modificar, ou mesmo anular, odores associados a compostos sulfurados (Herbert *et al.*, 1971; Stutz *et al.*, 1991).

Dos ácidos detectados no presente trabalho, o acético pode ter a sua origem associada à actividade fermentativa da microflora presente na carne. García *et al.* (2000) refere no seu trabalho em presuntos

deteriorados e não deteriorados, que o ácido acético não foi detectado nos últimos, sendo que a maior quantidade de ácidos em presuntos deteriorados pode ser explicada de acordo com Gottschalk (1986) pela fermentação microbiana de aminoácidos livres que, via de Stickland, os microrganismos fermentam os aminoácidos por reacções de oxidação com acoplamento de pares de aminoácidos. Os aminoácidos podem ser libertados por microrganismos com elevada actividade proteolítica tais como *Enterobacteriaceae* (Stanhke, 1995b; García *et al.*, 2000). O ácido acético é produzido concomitantemente com ácido láctico por BAL, *Brochothrix thermosphacta* e *Enterobacteriaceae*, podendo a sua abundância relativa ser estimulada pela carência de glúcidos fermentescíveis (Thompson e Gentry-Weeks, 1994).

A contribuição dos ácidos no aroma, não parece ser muito relevante, dado que apresentam limiares de percepção elevados e odor fraco. Apenas os ácidos gordos de cadeia curta, como o acético ou o propiónico e em concentrações elevadas, podem ter alguma repercussão no cheiro. Estes compostos podem também transformar-se nos ésteres correspondentes, surgindo assim odores frutados (Stanhke, 1994).

III.3.5.1.2. Aldeídos

No Quadro 48 mostram-se os valores médios (UAAx10⁶) para os aldeídos identificados por SPME-GC-MS nas amostras de carne embalada, para os grupos de pH_f, os tipos de embalagem e os tempos (dias *post mortem*) de armazenamento. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os vários efeitos (grupo de pH_f, tipo de embalagem (E), tempo de armazenamento (t), bem como da interacção (grupo de pH_f x tipo de embalagem).

Quadro 48- Aldeídos detectados por SPME-GC-MS em amostras de carne, expressos em UAA x 10⁶ (média ± desvio padrão), de acordo com o grupo de pH_f, o tipo de embalagem (E) e o tempo (t) (dias *pm*) de armazenamento.

Composto	Grupo de pH _f		Embalagem		Tempo (dias <i>pm</i>)		pH _f	E	t	pH _f xE	pH _f xt	E xt	pH _f xExt
	Normal	DFD	Vácuo	AM _{70/20}	t ₁₀	t ₂₁							
Acetaldeído	128±49	261±136	171±131	218±109	204±143	185±98	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
3-metilbutanal	9±19	15±34	3±9	21±36	0±1	24±36	ns	*	**	ns	ns	*	ns
2-metilbutanal	3±7	4±12	0±0	7±12	0±0	7±12	ns	*	*	ns	ns	*	ns
Pentanal+heptano	18±37	2±6	1±2	19±37	2±4	18±37	*	*	*	*	ns	*	ns
Hexanal+octano	214±475	4±4	18±33	200±480	23±42	196±481	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
2-hexenal	1±4	0±0	0±0	1±4	0±0	1±4	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Heptanal	8±21	0±0	0±1	8±21	1±2	8±21	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Heptenal	1±2	0±0	0±0	1±2	0±0	1±2	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Octanal	4±11	0±0	0±0	4±11	0±0	4±11	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Nonanal	10±17	2±5	1±3	10±18	2±4	9±17	*	*	*	ns	ns	*	ns

ns-não significativo (p≥0,05); *-significativo (p<0,05); **-muito significativo (p<0,01).

Pela análise do Quadro 48, verifica-se que do conjunto de aldeídos identificados, o acetaldeído foi o mais abundante, apresentando, na globalidade dos casos, as áreas dos picos mais elevadas (Quadro A.IV do anexo). O pico correspondente ao hexanal+octano também se destacou por apresentar, em algumas condições, UAA bastante elevadas.

A análise de variância revelou que o grupo de pH_f, o tipo de embalagem e o tempo de armazenamento não exerceram qualquer efeito no 2-hexenal, heptanal, heptenal e octanal, com ocorrência de algumas diferenças significativas para os restantes aldeídos identificados.

Efeito do grupo de pH_f

Pela análise do Quadro 48, verifica-se que o pH_f influenciou de forma significativa a área correspondente ao pico de acetaldeído, com a carne Normal a apresentar as UAA mais reduzidas. Os picos correspondentes ao pentanal+heptano, ao hexanal+octano e ao nonanal, apresentaram-se superiores, significativamente diferentes, em carne Normal.

O teor em acetaldeído foi maior nas amostras de pH_f mais elevado, sugerindo uma associação deste composto a uma origem microbiana, pois essas carnes apresentaram genericamente contagens microbianas mais elevadas. Está descrita a presença generalizada de treonina-acetaldeído-liase em BAL, a enzima responsável pelo início do processo catabólico da treonina em acetaldeído (Christensen *et al.*, 1999).

Efeito do tipo de embalagem

O tipo de embalagem influenciou de forma significativa a abundância de 3-metilbutanal e de 2-metilbutanal, com a carne embalada sob vácuo a apresentar as menores áreas. As áreas dos picos correspondentes ao pentanal+heptano e ao nonanal, apresentaram-se significativamente distintas nos dois tipos de condições de embalagem, apresentando a carne embalada em AM_{70/20} os valores (UAA) mais elevados.

Segundo Spanier *et al.* (1992), o armazenamento de carne de bovino sob vácuo retarda o desenvolvimento de marcadores químicos de deterioração, tais como o hexanal e/ou pentanal. Brewer (2006) refere também a importância da exclusão do O₂ da embalagem em atmosferas modificadas para que se mantenha o *flavour* característico da carne de bovino, com menor formação de compostos indicadores de oxidação lipídica.

Jackson *et al.* (1992) detectaram nonanal no espaço de cabeça de todas as amostras da carne embalada nas 4 condições de embalagem (vácuo, 100% CO₂, 40%CO₂/60%N₂ e 80%O₂/20%CO₂). Dainty *et al.* (1984) detectaram também nonanal no perfil de compostos voláteis identificados a partir de amostras de carne de bovino estéril, inoculada com várias estirpes de *Pseudomonas* embalada em aerobiose.

Efeito do tempo de armazenamento

O tempo de armazenamento influenciou significativamente a presença de alguns aldeídos. No t₂₁, as áreas dos picos correspondentes ao 3-metilbutanal, 2-metilbutanal, pentanal+heptano e ao nonanal, apresentaram-se significativamente distintas das obtidas no t₁₀, apresentando neste tempo as UAA mais baixas.

Interações dos efeitos

No primeiro gráfico da Figura 56, no qual se encontra representada a interacção dos efeitos pH_f×tipo de embalagem detectada pelas UAAx10⁶ do pico pentanal+heptano, observa-se que a carne Normal

embalada em AM_{70/20} apresenta valores de aproximadamente 35 UAAx10⁶, enquanto que nas restantes condições experimentais os valores são tendencialmente nulos. Nos restantes gráficos, representam-se as interacções dos efeitos tipo de embalagem x tempo, verificando-se que as UAAx10⁶ dos referidos compostos voláteis são muito superiores em carne embalada em AM_{70/20} no t₂₁, distinguindo-se significativamente das áreas obtidas no t₁₀ para o mesmo tipo de embalagem, bem como das obtidas em carne embalada sob vácuo nos dois tempos. Nessas outras condições não se observam diferenças significativas, sendo os valores sempre próximos de zero, ainda que no caso do 3-metilbutanal, os valores sejam de aproximadamente 5 UAAx10⁶.

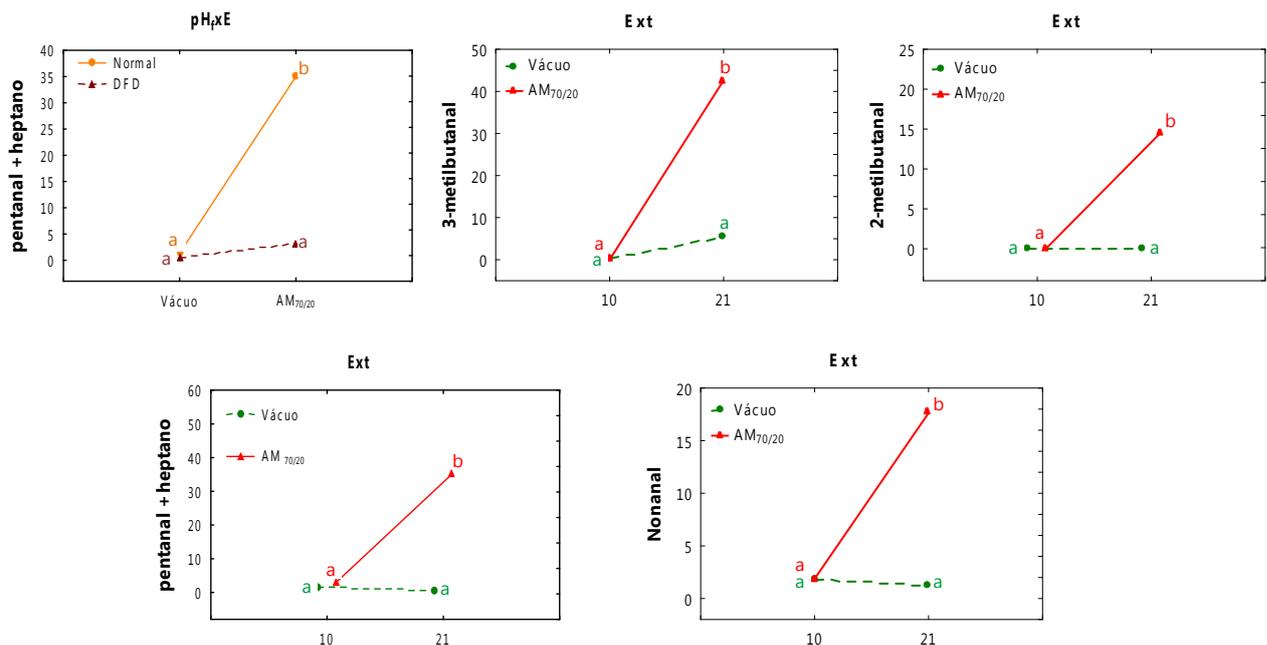


Figura 56- Interações: 3-metilbutanal (Ext); 2-metilbutanal (Ext); pentanal+heptano (pH_ixE; Ext) e nonanal (Ext), valores expressos em UAA x 10⁶ (em cada caso, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; p<0,05).

Neste conjunto de interações destaca-se a ilustrada no primeiro gráfico, que sintetiza o fenómeno que tem vindo a ser detectado ao longo do presente trabalho, de ocorrerem sinais de oxidação lipídica mais evidentes em carnes normais embaladas em AM_{70/20}, o que provavelmente estará relacionado com o estado de oxidação-redução da mioglobina (Bekhit e Faustman, 2005). Esta maior estabilidade à oxidação lipídica em carne DFD fora também observada por Kim *et al.* (2002) em carne de suíno DFD irradiada.

As interações observadas nos aldeídos ramificados indicam serem mais abundantes nas amostras embaladas com mais oxigénio aos 21 dias, o que poderá ser decorrente da actividade da microflora que era mais abundante nessas condições.

Segundo Brewer (2006), a oxidação lipídica produz uma grande variedade de aldeídos (hexanal, heptenal, pentanal e 2,4-decadienal) a partir dos fosfolípidos e dos ácidos gordos polinsaturados. A oxidação pode ser iniciada pela luz, calor, metais (ferro e cobre), mioglobina que contém ferro e outros factores (Brewer, 2006). Este autor refere, em carne de bovino, o hexanal como um indicador de oxidação lipídica.

O baixo limiar de detecção olfactiva dos aldeídos faz com que sejam potenciais fontes de odores, embora em alguns casos, estejam presentes em quantidades muito baixas (Insausti *et al.*, 2005). Porém, alguns dos aromas imputados aos produtos cárneos pelos aldeídos, como o hexanal, não são normalmente agradáveis. Outros aldeídos, tais como o pentanal e o heptanal apresentam aromas frutados ou herbáceos. No presunto Ibérico tem sido demonstrado que os aldeídos são o grupo maioritário dentro dos compostos voláteis (García *et al.*, 1991; López *et al.*, 1992).

Para além da associação à oxidação lipídica, alguns aldeídos têm uma origem dependente da actividade da microflora presente no alimento, como o são os aldeídos ramificados 3-metilbutanal, 2-metilbutanal e 2-metilpropanal, obtidos a partir do catabolismo da leucina, isoleucina e valina respectivamente. Para além dessa via microbiana, uma das origens destas moléculas pode ser produto da descarboxilação-desaminação oxidativa não enzimática daqueles aminoácidos, conhecida como degradação de Strecker. Para que qualquer uma destas vias ocorra, é necessária a disponibilidade desses aminoácidos livres, pelo que, o aumento daqueles compostos voláteis aconteceria depois de um aumento dos aminoácidos devido a processos proteolíticos (Masson, 1998).

Os aldeídos ramificados 3-metilbutanal, 2-metilbutanal e 2-metilpropanal relacionam-se com o odor a curado, típico dos produtos cárneos como o presunto (Careri *et al.*, 1993; Stanhke, 1995a,b; Ruíz *et al.*, 1998), sendo pela sua abundância e pelos seus baixos limiares de detecção olfactiva uma das principais razões da grande aceitabilidade do presunto ibérico (Flores *et al.*, 1997; Ruíz *et al.*, 1999; Carrapiso *et al.*, 2002). Estes aldeídos, podem ser oxidados ou reduzidos aos ácidos e alcóois correspondentes, respectivamente (Ha e Lindsay, 1990; Berdagué *et al.*, 1991). Porém, no presente trabalho, apenas foram detectados o 3-metilbutanol e o 2-metilbutanol.

III.3.5.1.3. Cetonas

No Quadro 49 mostram-se os valores médios (UAAx10⁶) para as cetonas identificadas por SPME-GC-MS nas amostras de carne embalada, para os grupos de pH_f, os tipos de embalagem e os tempos (dias *post mortem*) de armazenamento. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os vários efeitos (grupo de pH_f, tipo de embalagem (E), tempo de armazenamento (t), bem como da interacção (grupo de pH_f x tipo de embalagem).

A análise de variância revelou que o grupo de pH_f, o tipo de embalagem e o tempo de armazenamento não exerceram qualquer efeito sobre as áreas dos picos da 2-propanona+pentano e da 2-butanona, com ocorrência de algumas diferenças significativas nas restantes cetonas identificadas. De salientar que para a 2,3-octanodiona e a 3,5-octanodiona se observaram sempre diferenças significativas em qualquer dos efeitos ou interacções em estudo.

As cetonas que apresentaram áreas cromatográficas mais elevadas, em qualquer dos efeitos estudados, foram a 2,3-butanodiona, a 3-hidroxi-2-butanona e o pico correspondente à 2-propanona+pentano. A 2-propanona foi o composto volátil mais abundante em carne de bovino crua no estudo realizado por Insausti *et al.* (2002) e em carne cozinhada nos trabalhos de Gorraiz *et al.* (2002) e Insausti *et al.* (2005).

Quadro 49- Cetonas detectadas por SPME-GC-MS em amostras de carne, expressos em UAA x 10⁶ (média ± desvio padrão), de acordo com o grupo de pH_f, o tipo de embalagem (E) e o tempo (t) (dias *pm*) de armazenamento.

Composto	Grupo de pH _f		Embalagem		Tempo (dias <i>pm</i>)		pH _f	E	t	pH _f x E	pH _f x t	E x t	pH _f x E x t
	Normal	DFD	Vácuo	AM _{70/20}	t ₁₀	t ₂₁							
2-propanona+ pentano	402±264	555±232	474±260	483±262	525±253	432±260	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
2,3-butanodiona	173±207	313±161	171±132	315±225	204±184	282±205	*	*	ns	ns	ns	ns	ns
2-butanona	43±34	66±78	57±72	52±49	54±50	55±71	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
2-pentanona	9±15	7±7	1±1	15±13	7±8	9±15	ns	***	ns	ns	ns	ns	ns
2,3-pentanodiona	42±67	0±0	0±0	42±67	11±22	31±69	**	**	ns	**	ns	ns	ns
3-hidroxi-2-butanona	278±553	409±286	216±232	471±555	260±311	427±534	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns
2-heptanona	5±9	3±5	0±0	7±9	3±6	5±8	ns	**	ns	ns	ns	ns	ns
2,3-octanodiona	65±129	0±1	2±7	64±129	8±12	58±132	*	*	*	*	*	*	*
3-octanona	9±23	4±7	0±0	13±23	2±7	11±23	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns
2-nonanona	0±0	2±4	0±1	2±4	1±2	2±4	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
3,5-octanodiona	1±4	0±0	0±0	1±4	0±0	1±4	*	*	*	*	*	*	*

ns-não significativo (p≥0,05); *-significativo (p<0,05); **-muito significativo (p<0,01); ***-altamente significativo (p<0,001).

Efeito do grupo de pH_f

Pela análise do Quadro 49 verifica-se que o pH_f influenciou de forma significativa a presença de 2,3-butanodiona (diacetilo), com a carne DFD a apresentar as áreas mais elevadas. Este facto pode estar relacionado com o maior número de microrganismos que essas amostras apresentavam, particularmente *Brochothrix thermosphacta*, que se desenvolve bem naquelas condições, e ao qual é atribuída uma elevada capacidade para produzir este composto (Dainty, 1996).

Das cetonas em que se verificou o efeito do pH_f, a 2-nonanona não foi detectada em carne Normal, enquanto que a 2,3-pentanodiona, a 3,5-octanodiona e a 2,3-octanodiona não foram detectadas em carne DFD.

Efeito do tipo de embalagem

O tipo de embalagem influenciou de forma significativa a presença de várias cetonas. Em carne embalada em AM_{70/20} observaram-se UAA mais elevadas, para as 2,3-butanodiona, 2-pentanona, 2,3-octanodiona, 3-octanona, 3,5-octanodiona, 2,3-pentanodiona e 2-heptanona, diferindo significativamente das carnes embaladas em vácuo. As quatro últimas cetonas referidas nunca foram detectadas nessa condição de embalagem.

Segundo Brewer (2006), o número de compostos carbonílicos é superior e o odor a gordura é mais forte em gordura de bovino aquecida em aerobiose do que em atmosfera com N₂, o que indica que a oxidação dos ácidos gordos a compostos carbonilo pode ser afectada pela atmosfera e contribui para os odores desagradáveis.

Efeito do tempo de armazenamento

O tempo de armazenamento influenciou significativamente a presença de algumas cetonas. No t₂₁, as áreas dos picos correspondentes à 2,3-pentanodiona são em média superiores às obtidas no t₁₀ e

significativamente diferentes. A 3,5-octanodiona nunca foi detectada em amostras do t_{10} , com valores médios de 1 UAA no t_{21} .

Interações dos efeitos

No primeiro gráfico da Figura 57, no qual se encontra representada a interacção dos efeitos $pH_f \times$ tipo de embalagem detectada pelas $UAA \times 10^6$ do pico 2,3-pentanodiona, observa-se que a carne Normal embalada em $AM_{70/20}$ apresenta valores próximos de 90 $UAA \times 10^6$, enquanto nas restantes condições experimentais os valores são zero ou praticamente nulos. Nos restantes gráficos, representam-se as interacções dos efeitos tipo de embalagem \times tempo (Ext), verificando-se que as $UAA \times 10^6$ das referidas cetonas são muito superiores em carne embalada em $AM_{70/20}$ no t_{21} , distinguindo-se significativamente das áreas obtidas no t_{10} para o mesmo tipo de embalagem, bem como das obtidas em carne embalada sob vácuo nos dois tempos. Nessas outras condições não se observam diferenças significativas, sendo os valores sempre próximos de zero, ainda que no caso 2,3-octanodiona, os valores sejam de aproximadamente 20 $UAA \times 10^6$ na $AM_{70/20}$ no t_{10} .

As cetonas são compostos com um grupo funcional carbonilo procedentes da autoxidação dos lípidos e das fermentações produzidas por determinados microrganismos. Os estudos realizados sobre os compostos voláteis dos presuntos ibéricos apontam para uma origem química destes compostos. Num estudo realizado por García *et al.* em 2000 sobre presuntos deteriorados, observa-se um aumento destes compostos em comparação com o observado em presuntos não deteriorados. Algumas das cetonas identificadas apresentam limiares de detecção olfactiva muito baixos com aromas característicos (2-butanona, 2-octanona, 2-octen-3-ona).

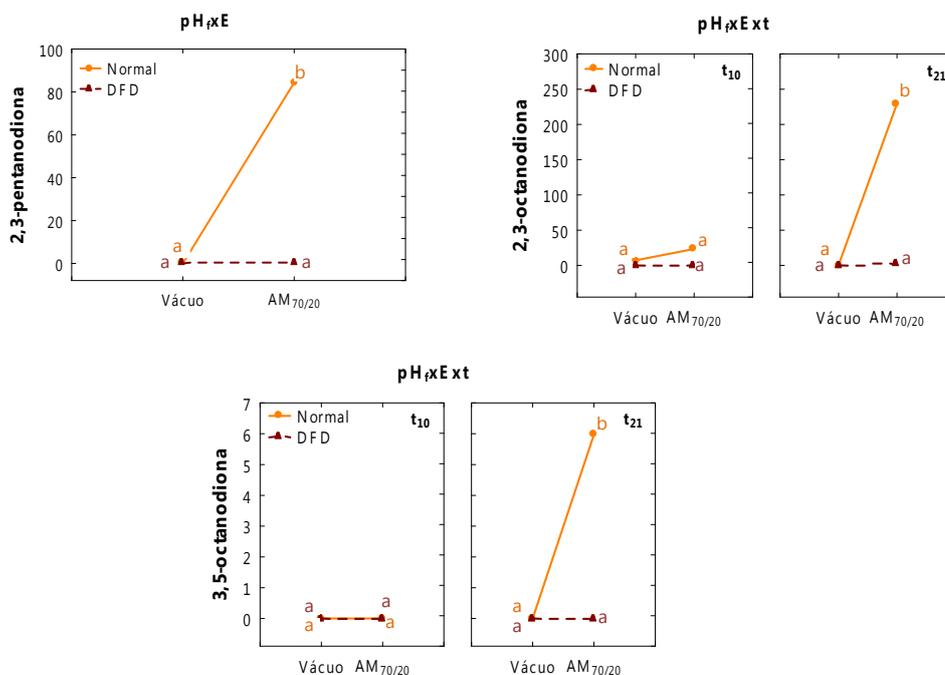


Figura 57- Interações: 2,3-pentanodiona ($pH_f \times E$); 2,3-octanodiona ($pH_f \times Ext$) e 3,5-octanodiona ($pH_f \times Ext$), valores expressos em $UAA \times 10^6$ (em cada caso, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; $p < 0,05$).

III.3.5.1.4. Álcoois

No Quadro 50 mostram-se os valores médios (UAAx10⁶) para os álcoois identificados por SPME-GC-MS nas amostras de carne embalada, para os grupos de pH_f, os tipos de embalagem e os tempos (dias *post mortem*) de armazenamento. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os vários efeitos (grupo de pH_f, tipo de embalagem (E), tempo de armazenamento (t), bem como da interacção (grupo de pH_f x tipo de embalagem).

Quadro 50- Álcoois detectados por SPME-GC-MS em amostras de carne, expressos em UAA x 10⁶ (média ± desvio padrão), de acordo com o grupo de pH_f, o tipo de embalagem (E) e o tempo (t) (dias *pm*) de armazenamento.

Composto	Grupo de pH _f		Embalagem		Tempo (dias <i>pm</i>)		pH _f	E	t	pH _f xE	pH _f xt	E xt	pH _f xExt
	Normal	DFD	Vácuo	AM _{70/20}	t ₁₀	t ₂₁							
Etanol	292±179	554±435	473±457	373±208	397±217	449±458	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
1-propanol+ 2-metilpropanal	20±43	24±47	20±45	25±45	6±24	39±54	ns	ns	*	ns	*	ns	ns
1-penten-3-ol	30±41	9±19	4±7	36±41	14±16	26±44	*	**	ns	ns	ns	ns	ns
3-metilbutanol	26±65	9±19	1±2	34±64	0±0	35±64	ns	*	*	ns	ns	*	ns
2-metilbutanol	13±31	1±5	0±0	14±31	0±0	14±31	*	*	*	*	*	*	*
1-pentanol	47±96	5±9	1±2	51±94	11±20	41±97	*	*	ns	*	ns	ns	ns
2,3-butanodiol	0±0	3±7	1±6	1±4	2±6	1±3	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
1-hexanol	21±50	0±0	0±0	21±50	0±0	21±50	*	*	*	*	*	*	*
1-octeno-3-ol	6±10	10±23	1±2	15±22	3±5	13±24	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns

ns-não significativo (p≥0,05); *-significativo (p<0,05).

Pela análise do Quadro 50, verifica-se que o etanol foi o álcool que apresentou picos cromatográficos com elevadas UAAx10⁶.

A análise de variância revelou que o grupo de pH_f, o tipo de embalagem e o tempo de armazenamento não exerceram qualquer efeito sobre as áreas dos picos de 2,3-butanodiol, com ocorrência de algumas diferenças significativas dos efeitos e/ou das interacções dos mesmos sobre os restantes álcoois identificados. O 2,3-butanodiol não foi detectado em carne Normal e o 1-hexanol em carne DFD.

Efeito do grupo de pH_f

Pela análise do Quadro 50, verifica-se que o pH_f influenciou de forma significativa a presença de etanol, com a carne DFD a apresentar as áreas mais elevadas.

Contrariamente, o efeito do pH_f fez-se sentir relativamente às áreas dos picos do 1-penten-3-ol, 2-metilbutanol, 1-pentanol e 1-hexanol (já referido), sendo as áreas superiores em carne Normal. Este conjunto de álcoois, por ter uma origem provável relacionada com a oxidação lipídica, e segue o padrão que tem sido abordado noutros compostos com essa origem.

Edwards e Dainty (1987) em carne embalada sob vácuo com de diferentes valores de pH, não observaram diferenças entre grupos de pH antes do armazenamento. Em carnes armazenadas a 5°C., apenas o 3-metilbutanol, apresentou diferenças de acordo com o grupo de pH_f, sendo superior em carne com pH_f mais elevado.

Efeito do tipo de embalagem

O tipo de embalagem influenciou de forma significativa a presença de vários alcoóis detectados. Na carne embalada em AM_{70/20} observaram-se UAA mais elevadas, para o 1-penten-3-ol, 2-metilbutanol, 3-metilbutanol, 1-pentanol, 1-hexanol e 1-octen-3-ol, diferindo significativamente das carnes embaladas em vácuo. O 2-metilbutanol e o 1-hexanol nunca foram detectados nessa condição de embalagem.

Efeito do tempo de armazenamento

No t₂₁, os álcoois identificados apresentaram áreas dos picos superiores às detectadas no t₁₀, que representaram diferenças significativas no 1-propanol+2-metilpropanal, 3- e 2-metilbutanol e 1-hexanol. Os três últimos não foram detectados no tempo 10.

Interações dos efeitos

No primeiro gráfico da Figura 58, no qual se encontra representada a interação dos efeitos tipo de embalagem x tempo sobre as UAA do 3-metilbutanol, verifica-se que estas se mantêm constantes ao longo do tempo de armazenamento na carne embalada sob vácuo, ao contrário do observado em AM_{70/20}, onde foi registado um acentuado aumento deste álcool.

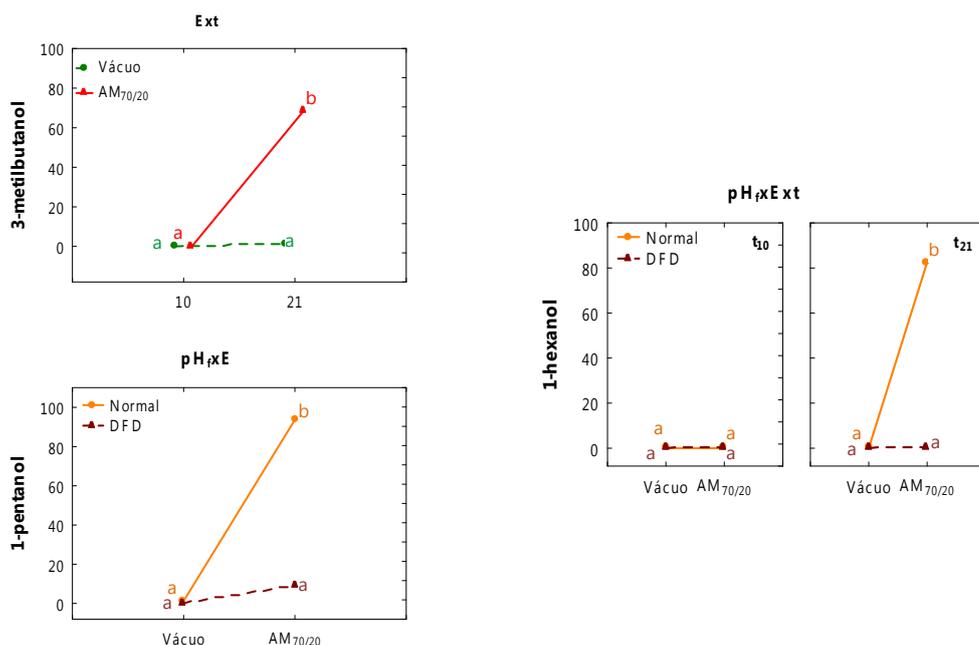


Figura 58- Interações: 3-metilbutanol (Ext); 1-pentanol (pH_f x E) e 1-hexanol (pH_f x Ext), valores expressos em UAA x 10⁶ (em cada caso, médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; p<0,05).

O 1-pentanol foi simultaneamente influenciado pelo tipo de embalagem e pelo pH_f. Quando a carne apresentava características DFD, a área o pico deste composto foi similar em qualquer condição de embalagem. Pelo contrário, em carne Normal, quando embalada em AM_{70/20}, os valores observados foram muito superiores. No mesmo sentido que as duas interações referidas, encontra-se a interação significativa entre os três efeitos na área do pico do 1-hexanol, que se destaca somente aos 21 dias *pm*, em carne Normal embalada em AM_{70/20}.

O 1-pentanol e o 1-hexanol, por terem uma origem provável relacionada com a oxidação lipídica, seguem o padrão que tem sido abordado noutros compostos com essa origem.

O etanol, detectado na fracção volátil de enchidos e presuntos curados, pode resultar da fermentação dos açúcares, embora também possa ter origem no catabolismo de lípidos e proteínas (Berdagué *et al.*, 1993a).

Os álcoois ramificados como o 3-metilbutanol e o 2-metilpropanol têm-se detectado em meios de cultura e em produtos cárneos associados ao desenvolvimento microbiano (Berdagué *et al.*, 1991; Montel *et al.*, 1996). O 2-metilbutanol pode estar implicado no aroma de presuntos deteriorados, uma vez que nestes aparece numa maior proporção (García *et al.*, 2000).

Os álcoois alifáticos saturados de cadeia curta têm pouca importância no aroma, no entanto ao aumentar o número de carbonos da cadeia, o seu odor aumenta, diminuindo o seu limiar de percepção. Os álcoois insaturados apresentam limiares de percepção variáveis.

Os álcoois também se encontram frequentemente entre os componentes voláteis dos produtos cárneos atribuindo aromas característicos a herbáceos, florais, a gordura e a madeira (Barbieri *et al.*, 1992). O 1-octen-3-ol tem um odor característico a cogumelos, possui um baixo limiar de detecção (Raes *et al.*, 2003).

Dainty (1996) refere que algumas espécies contribuem para notas aromáticas associadas à deterioração de produtos cárneos refrigerados embalados em aerobiose e sob vácuo. *B. thermosphacta* contribui para a formação de 3-metilbutanol e 2-metilpropanol (Dainty *et al.*, 1985).

III.3.5.1.5. Hidrocarbonetos

No Quadro 51 mostram-se os valores médios (UAAx10⁶) para os hidrocarbonetos identificados por SPME-GC-MS nas amostras de carne embalada, para os grupos de pH_f, os tipos de embalagem e os tempos (dias *post mortem*) de armazenamento. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os vários efeitos (grupo de pH_f, tipo de embalagem (E), tempo de armazenamento (t), bem como da interacção (grupo de pH_f x tipo de embalagem).

Quadro 51- Hidrocarbonetos detectados por SPME-CG-MS em amostras de carne, expressos em UAA x 10⁶ (média ± desvio padrão), de acordo com o grupo de pH_f, o tipo de embalagem (E) e o tempo (t) (dias *pm*) de armazenamento.

Composto	Grupo de pH _f		Embalagem		Tempo (dias <i>pm</i>)		pH _f	E	t	pH _f xE	pH _f xt	E xt	pH _f xExt
	Normal	DFD	Vácuo	AM _{70/20}	t ₁₀	t ₂₁							
2-metilpentano	115±233	43±87	62±83	97±239	122±233	36±82	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns
3-metilpentano	20±26	6±24	17±33	9±17	20±26	6±24	ns	ns	ns	ns	**	ns	ns
Hexano	58±72	72±114	50±72	80±113	83±108	47±78	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*
Benzeno	1±4	0±1	0±0	1±4	0±1	1±4	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
2-etil-hexeno	2±4	3±5	0±0	5±6	1±3	4±6	ns	***	ns	ns	ns	ns	ns
2-octeno	2±5	1±2	0±0	2±5	2±5	1±2	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Etilbenzeno	2±5	0±0	0±1	2±5	1±1	1±5	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
p-xileno	9±14	0±1	2±3	8±14	4±5	6±14	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns-não significativo (p≥0,05); *-significativo (p<0,05); **-muito significativo (p<0,01); ***-altamente significativo (p<0,001).

Pela análise Quadro 51 verifica-se que dos hidrocarbonetos, o 2-metilpentano foi o mais abundante, seguido do hexano.

A análise de variância revelou que o grupo de pH_f , o tipo de embalagem e o tempo de armazenamento não exerceram qualquer efeito sobre as áreas detectadas relativamente benzeno, 2-octeno e etilbenzeno, com ocorrência de algumas diferenças significativas de alguns dos efeitos e/ou das interações dos mesmos sobre os restantes aldeídos identificados.

Efeito do grupo de pH_f

Pela análise Quadro 51 verifica-se que o pH_f influenciou significativamente a presença de p-xileno, com a carne Normal a apresentar as áreas mais elevadas. Em carne DFD, nunca foi detectado etilbenzeno.

Efeito do tipo de embalagem

O pico correspondente ao 2-etil-hexeno nunca foi detectado em vácuo, o que levou à existência de diferenças significativas para as UAA obtidas para este hidrocarboneto.

Efeito do tempo de armazenamento

O efeito do tempo por si só, nunca se revelou significativo, na área dos picos detectada para este grupo de compostos.

Interação dos efeitos

Na Figura 59 ilustra-se a interação pH_f x tempo de armazenamento para o 3-metilpentano.

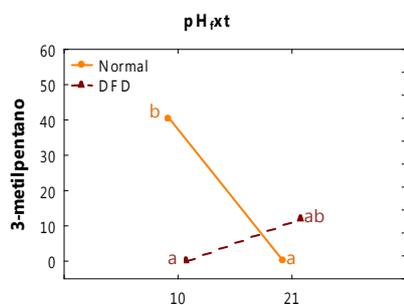


Figura 59- Interação: 3-metilpentano (pH_{fxt}), valores expressos em $UAA \times 10^6$ (médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; $p < 0,05$).

A média das áreas do pico identificado como 3-metilpentano foi de, aproximadamente, $40 UAA \times 10^6$ em carne Normal no t_{10} , ou seja superior às observadas nos restantes casos, resultando em diferenças significativas relativamente à carne Normal aos 21 dias e à carne DFD aos 10 dias, não se diferenciando da carne DFD aos 21 dias. Neste último caso as áreas foram de aproximadamente $10 UAA \times 10^6$, enquanto nas restantes condições experimentais os valores foram praticamente nulos.

A importância dos hidrocarbonetos no aroma depende do tipo de composto. Os alcanos lineares saturados têm uma repercussão escassa ou nula sobre o aroma, dado que os seus limiares de detecção olfactiva são muito elevados (1000 a 2000 ppm). Embora ao aumentar o grau de insaturação na cadeia, diminuem os limiares de detecção, chegando a ser relativamente baixos (Carrapiso *et al.*, 2002). Os odores dos alcanos lineares são muito diversos. Assim, o do nonano tem sido definido como a manteiga, queimado e ácido (Forss, 1972) e o do octano como carne (MacLeod e Coppock, 1976). Os

hidrocarbonetos não lineares e apresentam odores variados como a pinheiro, madeira ou limão. (García *et al.*, 1991; Barbieri *et al.*, 1992).

Em qualquer caso, diferentes autores referem que os hidrocarbonetos saturados e insaturados não parecem contribuir de forma significativa para o *flavour* dos produtos cárneos, incluindo os presuntos.

III.3.5.1.6. Compostos sulfurados e compostos azotados

No Quadro 52 mostram-se os valores médios (UAAx10⁶) para os compostos sulfurados e compostos azotados identificados por SPME-GC-MS nas amostras de carne embalada, para os grupos de pH_f, os tipos de embalagem e os tempos (dias *post mortem*) de armazenamento. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os vários efeitos (grupo de pH_f, tipo de embalagem (E), tempo de armazenamento (t), bem como da interacção (grupo de pH_f x tipo de embalagem).

Pela análise do Quadro 52, verifica-se que o dissulfureto de carbono apresentou áreas dos picos bastante elevadas em todas as condições, contudo a análise de variância revelou que o grupo de pH_f, o tipo de embalagem e o tempo de armazenamento não exerceram qualquer efeito sobre as áreas detectadas para este composto.

Para o pico identificado como piridina, cujas médias de área são muito mais baixas, também não se verificou a ocorrência de diferenças significativas.

A análise de variância revelou que o grupo de pH_f, o tipo de embalagem influenciaram a área do pico correspondente ao sulfureto de dimetilo, não se tendo observado contudo qualquer tipo de interacção.

Quadro 52- Compostos sulfurados e compostos azotados detectados por SPME-GC-MS em amostras de carne, expressos em UAA x 10⁶ (média ± desvio padrão), de acordo com o grupo de pH_f, o tipo de embalagem (E) e o tempo (t) (dias *pm*) de armazenamento.

Composto	Grupo de pH _f		Embalagem		Tempo (dias <i>pm</i>)		pH _f	E	t	pH _f xE	pH _f xt	E xt	pH _f xExt
	Normal	DFD	Vácuo	AM _{70/20}	t ₁₀	t ₂₁							
Sulfureto de dimetilo	30±34	68±42	66±37	32±42	57±42	41±42	**	*	ns	ns	ns	ns	ns
Dissulfureto de carbono	334±239	377±255	359±276	352±217	370±275	341±217	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Piridina	0±1	5±14	5±14	0±1	0±1	5±14	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns-não significativo (p≥0,05); *-significativo (p<0,05); **-muito significativo (p<0,01).

Efeito do grupo de pH_f

Pela análise do Quadro 52, verifica-se que o pH_f influenciou de forma muito significativa a presença de sulfureto de dimetilo, com a carne DFD a apresentar as áreas mais elevadas e estatisticamente distintas das obtidas em carne Normal.

Em estudos realizados por Edwards e Dainty (1987), para diferenciar quais os compostos voláteis associados a carne de porco com pH normal e elevado naturalmente contaminada e embalada sob vácuo, detectaram alguns compostos sulfurados, entre os quais o sulfureto de dimetilo. Dos compostos detectados por estes autores, apenas alguns foram observados em amostras de carne com pH normal, e em concentrações muito mais baixas (20 a 500 vezes) do que as observadas em carne de pH elevado, neste caso incluía-se o sulfureto de dimetilo. Os compostos sulfurosos foram claramente os maiores

contribuintes para os cheiros desagradáveis que se encontraram em carnes com pH elevado

Efeito do tipo de embalagem

Relativamente ao efeito do tipo de embalagem sobre as UAA do pico referente ao sulfureto de dimetilo, verificou-se que estas eram superiores em carne embalada sob vácuo, contrariamente ao que tem sido observado para outros compostos.

O sulfureto de dimetilo foi detectado no espaço de cabeça das amostras armazenadas nas quatro condições (vácuo, 100% CO₂, 80%O₂/ 20%CO₂, 40%CO₂/ 60%N₂) em todas as amostras ensaiadas, durante 28 dias de armazenamento (Jackson *et al.*, 1992)

Edwards e Dainty (1987), após 20 dias de armazenamento, verificaram que os compostos sulfurados representavam uma pequena proporção de carne com pH normal (5,5-5,6) e foram os principais constituintes em carne com pH mais elevados (6,3-6,6), sendo mais numerosos e em concentrações superiores. Dos compostos sulfurados detectados por esses autores, alguns foram encontrados apenas em carnes com pH_f elevado, nomeadamente o sulfureto de dimetilo que são também as amostras que possuem maiores de microrganismos produtores deste compostos, *Pseudomonas* spp..

Efeito do tempo de armazenamento

Os compostos sulfurados e a piridina apresentaram picos que revelaram áreas mais ou menos similares em ambos os tempos de armazenamento, com ausência de diferenças significativas entre os mesmos.

Segundo Brewer (2006), os compostos sulfurados podem não ser detectados até as populações microbianas excederem 5x10⁹ células/g, revelando a carne nesta altura sinais evidentes de deterioração e exibe um odor adocicado, pútrido. Jackson *et al.*, (1992) detectaram compostos sulfurados a partir do 14^o dias de armazenamento em amostras de carne de bovino embaladas numa atmosfera modificada com 80%O₂/ 20%CO₂. Outros compostos sulfurados, para além do sulfureto de dimetilo não foram detectados no espaço de cabeça das amostras armazenadas em vácuo, a 100% CO₂, ou a 40%CO₂/60% N₂ (excepto no dia 14). Stutz *et al.* (1991) sugeriram que o sulfureto de dimetilo é um bom indicador da deterioração de carne de bovino, sendo improvável, segundo Insausti *et al.* (2002), encontrar dissulfureto de dimetilo em carne crua.

Os aminoácidos sulfurados, como a metionina e a cisteína, formam por degradação de Strecker derivados sulfurados, como o metional, o 2-metilpropanal e o 2-mercaptoacetaldeído respectivamente (Baines e Mlotkiewicz, 1984), além de sulfureto de hidrogénio, sulfureto de dimetilo e trissulfureto de dimetilo (Edwards e Dainty, 1987; Berdagué *et al.*, 1993b). Este tipo de compostos sulfurados encontram-se em todos os alimentos que contêm proteínas, quando armazenados durante longos períodos de tempo (Barbieri *et al.*, 1992). Muitos destes compostos têm um baixo limiar de percepção, pelo que são muito importantes na formação do cheiro e do *flavour* (Chang e Petterson, 1977).

III.3.5.1.7. Furanos e lactonas

No Quadro 53 mostram-se os valores médios (UAAx10⁶) para os furanos e lactonas identificados por SPME-GC-MS nas amostras de carne embalada, para os grupos de pH_f, os tipos de embalagem e os

tempos (dias *post mortem*) de armazenamento. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os vários efeitos (grupo de pH_f, tipo de embalagem (E), tempo de armazenamento (t), bem como da interacção (grupo de pH_f x tipo de embalagem).

Quadro 53- Furanos e lactonas detectados por SPME-GC-MS em amostras de carne, expressos em UAA x 10⁶ (média ± desvio padrão), de acordo com o grupo de pH_f, o tipo de embalagem (E) e o tempo (t) (dias *pm*) de armazenamento.

Composto	Grupo de pH _f		Embalagem		Tempo (dias <i>pm</i>)		pH _f	E	t	pH _f xE	pH _f xt	E xt	pH _f xExt
	Normal	DFD	Vácuo	AM _{70/20}	t ₁₀	t ₂₁							
2-etilfurano	13±29	0±0	0±2	12±29	1±2	12±29	*	*	ns	*	ns	*	*
gama-butirolactona	1±4	0±1	1±2	1±3	0±0	2±4	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
2-pentil-furano	15±42	0±0	1±3	14±42	1±3	14±42	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns-não significativo (p≥0,05); *-significativo (p<0,05).

A análise de variância revelou que o grupo de pH_f, o tipo de embalagem e o tempo de armazenamento não exerceram qualquer efeito sobre as áreas detectadas para o 2-pentilfurano e a gama-butirolactona. Também não se observaram qualquer tipo de interacção de efeitos nestes casos.

Efeito do grupo de pH_f

Pela análise do Quadro 53, verifica-se que o pH_f influenciou de forma significativa a presença de 2-etilfurano, sendo o pico correspondente a este composto apenas detectado em carne Normal.

Efeito do tipo de embalagem

O pico correspondente ao 2-etilfurano apresentou áreas superiores em carne embalada em AM_{70/20} com ocorrência de diferenças significativas.

Efeito do tempo de armazenamento

O tempo de armazenamento não revelou qualquer efeito significativo para a média das UAAx10⁶ detectadas para o 2-etilfurano.

Interacção dos efeitos

No gráfico da Figura 60, no qual se encontra representada a interacção dos efeitos pH_fxtipo de embalagem x tempo de armazenamento detectada pelas UAAx10⁶ do pico 2-etilfurano, observa-se que a carne Normal embalada em AM_{70/20} apresenta valores próximos de 50 UAAx10⁶, enquanto que nas restantes condições experimentais os valores foram praticamente nulos.

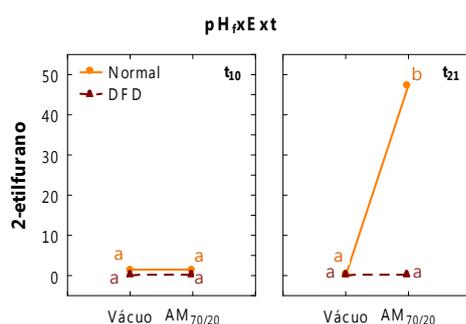


Figura 60- Interacção: 2-etilfurano (pH_fxExt), valores expressos em UAA x 10⁶ (médias que não possuam letras iguais diferem significativamente; p<0,05).

Os furanos aparecem em menor número ou concentração, embora tenham uma grande importância uma vez que muitos deles exibem aromas muito característicos a carne, possuindo concentrações limiares muito reduzidas. Este baixo limiar de detecção olfactiva tem-se confirmado, em estudos de avaliação dos compostos voláteis de carne de bovino cozinhada (Specht e Baltes, 1994).

As lactonas conferem um aroma típico à carne. Os limiares de detecção olfactiva das lactonas presentes no presunto são baixos (Specht e Baltes, 1994). As lactonas obtêm-se a partir dos correspondentes hidroxiácidos. Tem-se detectado uma quantidade relevante no presunto Ibérico (García *et al.*, 1991), sem que apareçam descritas em outros tipos de presuntos ou produtos curados, pelo que poderiam ser compostos responsáveis do aroma característico deste produto.

III.3.5.1.8. Terpenos

No Quadro 54 mostram-se os valores médios (UAAx10⁶) para os terpenos identificados por SPME-GC-MS nas amostras de carne embalada, para os grupos de pH_f, os tipos de embalagem e os tempos (dias *post mortem*) de armazenamento. Apresentam-se ainda os resultados da análise de variância para os vários efeitos (grupo de pH_f, tipo de embalagem (E), tempo de armazenamento (t), bem como da interacção (grupo de pH_f x tipo de embalagem).

Quadro 54- Terpenos detectados por SPME-GC-MS em amostras de carne, expressos em UAA x 10⁶ (média ± desvio padrão), de acordo com o grupo de pH_f, o tipo de embalagem (E) e o tempo (t) (dias *pm*) de armazenamento.

Composto	Grupo de pH _f		Embalagem		Tempo (dias <i>pm</i>)		pH _f	E	t	pH _f xE	pH _f xt	E xt	pH _f xEt
	Normal	DFD	Vácuo	AM _{70/20}	t ₁₀	t ₂₁							
alfa-pineno	3±6	0±1	1±4	2±5	0±1	3±6	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
delta-careno	2±4	0±0	1±3	1±3	1±2	1±3	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Limoneno	2±2	3±9	3±9	1±2	1±2	3±9	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns-não significativo (p≥0,05).

A análise de variância revelou que o grupo de pH_f, o tipo de embalagem e o tempo de armazenamento não exerceram qualquer efeito sobre as áreas dos picos identificados como compostos deste grupo.

III.3.5.2. Compostos com odor activo detectados por HS-SPME-GC-MS/ GC-O

A contribuição de cada substância volátil para o cheiro de um produto depende da sua quantidade, assim como do seu limiar de percepção olfactiva. A importância relativa de cada uma das substâncias para o cheiro é difícil de estabelecer, pois não há uma relação directa entre a quantidade e a sua contribuição para o cheiro. Tal pode ser devido á ausência de cheiro do composto, ter limiares de percepção muito elevados ou ser mascarado pelo aroma de outros compostos. Os compostos com baixos limiares de detecção como os aldeídos e alguns ésteres têm um grande impacto no *flavour* (Stahnke, 1994), contudo outros compostos como os álcoois, ácidos e cetonas podem também ter um efeito modular no *flavour* final do produto (Stahnke, 1995a; Stahnke 1995b). Têm-se identificado alguns ésteres como os ésteres

etílicos, os quais têm sido propostos como fundamentais pela produção de aromas frutados e por mascararem a rancificação. Por outra parte, compostos como o 2-metil-propanoato de etilo e o 2-3-metilbutanoato de etilo têm um baixo limiar de percepção e um grande impacto no aroma (Stahnke, 1994; Schmidt e Berger, 1998).

Os compostos voláteis com odor activo ou odoríferos detectados em carne Normal e DFD, embalada sob vácuo e em AM_{70/20}, aos 10 e 21 dias de armazenamento *post mortem*, são apresentados-se no Quadro 55 por ordem de eluição na coluna HP-5.

Quadro 55- Odores activos e compostos associados detectados por HS-SPME-GC-MS/GC-O na totalidade das amostras de carne de bovino analisadas (n=32).

Descritores do odor ¹	IK	Identificação	Composto	FD	% (n=32)
Sulfuroso, ovos cozidos ou podres	517	EM+IK	ni	10	31,3
Fresco, floral	548	EM+IK	ni	5	15,6
Manteiga, adocicado, baunilha, caramelo	588	EM+IK+PR	2,3-butanodiona	24	75,0
Manteiga	595	EM+IK	ni	21	65,6
Tostado, frutos secos, alcoólico, floral	647	EM+IK+PR	3-metilbutanal	9	28,1
Tostado, frutos secos	657	EM+IK+PR	2-metilbutanal	5	15,6
Frutado, adocicado	683	EM+IK+PR	2-pentanona	12	37,5
Manteiga, ranço, adocicado	691	EM+IK	2,3-pentanodiona	7	21,9
Manteiga	708	EM+IK+PR	3-hidroxi-2-butanona	3	9,4
Floral, herbáceo	727	EM+IK	3-metilbutanol	3	9,4
Frutos secos, amêndoas, licor, floral	770	EM+IK	1-pentanol	6	18,8
Herbáceo, erva recém-cortada, ranço	800	EM+IK+PR	hexanal	15	46,9
Frutado, floral, amêndoa amarga	853	EM+IK+PR	2-hexenal	4	12,5
Tostado, frutos secos, curado	892	EM+IK+PR	2-heptanona	7	21,9
Frutado, amêndoas amargas, alcoólico	902	EM+IK+PR	heptanal	6	18,8
Tostado, carne cozinhada, batatas cozidas	912	IK+PR	ni (Metional)	18	56,3
Milho tostado, pipocas, frutos secos	926	EM+IK	ni	5	15,6
Frutos secos	960	EM+IK	ni	7	21,9
Cogumelos, metal oxidado	982	EM+IK+PR	1-octen-3-ol	25	78,1
Cogumelos	989	EM+IK	ni	14	43,8
Floral, vegetal, carne curada	1004	EM+IK+PR	octanal	8	25,0
Nozes, humidade, adegas, bolores	1090	EM+IK	ni	4	12,5
Carne cozinhada, gordura	1096	EM+IK	ni	4	12,5
Químico, laboratório, carne curada	1104	EM+IK+PR	nonanal	9	28,1

¹pela ordem de eluição numa coluna capilar de tipo HP-5

Identificação por: EM (espectro de massa); IK (índice de Kovats); PR (padrões de referência).

ni-não identificado

Os odores detectados pela técnica de olfactometria dos efluentes cromatográficos das amostras de carne de bovino em estudo (n=32) foram identificadas 24 regiões com odor pelo menos por três indivíduos do painel. Foram detectados vários odores, como por exemplo, a manteiga, adocicado, frutado, herbáceo, tostados, frutos secos, cogumelos e carne cozinhada. Os odores que foram detectados com maior frequência foram a manteiga e a cogumelos. Em 15 das 24 regiões odoríferas identificou-se o composto

associado por espectrometria de massa e pelo seu índice de Kovats. Destes, 12 foram comparados com o efluxo de um composto padrão (PR) tratado nas mesmas condições de ensaio.

Alguns dos compostos detectados por esta técnica foram já descritos por Machiels *et al.* (2004) como compostos activos no odor de carne cozinhada: 2,3-butanediona (doce, amanteigado), 2-metilbutanal e 3-metilbutanal (pungente, verde, doce, tostado), 2,3-pentanediona (a manteiga, limão, adocicado, frutado), hexanal (herbáceo), heptanal (frutado, herbáceo, oleoso), metional (batata cozida), octanal (frutado, vegetal) (Gasser e Grosch, 1988; Specht e Baltes, 1994). O acetato de etilo (caramelo, doce) e a 2-butanona (químico, queimado) foram comprovados como contribuintes para o aroma de carne de vitela Irlandesa cozinhada, quando os compostos voláteis foram isolados com um sistema de “boca artificial” (Machiels *et al.*, 2003). O sulfureto de hidrogénio (ovos podres, água residual), metanetiol (ovos podres, carne, queijo) e 2-metilpropanal (tostado, frutado, pungente) participam no aroma do presunto Ibérico (Carrapiso *et al.*, 2002a), sendo a sua actividade odorífera relatada em carne de vaca cozinhada (Machiels *et al.*, 2004). Foram também identificados no perfil do aroma de produtos cárneos (Berdagué *et al.*, 1993b).

Alguns compostos com odor não foram identificados no presente trabalho. O sinal da EM foi muito fraco ou pouco claro para poder ser analisado, sendo que os seus índices de retenção e as características do seu odor não foram associados a compostos conhecidos, o que também ocorreu no trabalho realizado por Machiels *et al.* (2003). O baixo limiar olfactivo de alguns compostos odoríferos poderá explicar tal facto. Apesar da baixa concentração e da correspondente ausência de sinal nos cromatogramas, mesmo assim um odor foi percebido e considerado neste trabalho como composto não identificado (ni).

No Quadro 56 apresenta-se a distribuição de frequência da detecção de odores nas amostras de acordo com o grupo de pH_f, o tipo de embalagem e o tempo de armazenamento, assim como os resultados do teste do teste do Qui-quadrado para esses efeitos.

Efeito do grupo de pH_f

Pela análise do Quadro 56 verifica-se que o pH_f influenciou de forma significativa a presença de 2 regiões cromatográficas com odor activo com os descritores “herbáceo/erva recém-cortada/ranço” e “floral/vegetal/carne curada”, correspondendo, de acordo com o referido no Quadro 55, aos picos do hexanal e do octanal, respectivamente. Verifica-se que a frequência destes compostos foi superior em carne Normal, o que está de acordo com o que tem vindo a ser referido para este tipo de carnes, que se apresentam mais rancificadas. Este facto vem reforçar o referido para alguns aldeídos, em particular o hexanal como possíveis indicadores de oxidação lipídica (Ross e Smith, 2006).

Efeito do tipo de embalagem

Da leitura do Quadro 56 observa-se o efeito do tipo de embalagem para os odores detectados em 4 regiões odoríferas “manteiga/ranço/adocicado”, “frutos secos/amêndoas/licor/floral”, “frutado/doce” e “a cogumelos”. Os dois primeiros conjuntos de odores activos foram apenas detectados na carne embalada em AM_{70/20} e poderão corresponder a 2,3-pentanediona e 1-pentanol, respectivamente. O odor a frutado/adocicado foi atribuído à 2-pentanona.

O tempo de armazenamento estudado nunca exerceu um efeito sobre o tipo de odores activos detectados nas condições de ensaio do presente trabalho.

Quadro 56- Frequências de detecção e significâncias do teste do Qui-quadrado para os odores activos em efluentes de GC, de acordo com o grupo de pH_f, o tipo de embalagem (E) e o tempo (t) (dias *pm*) de armazenamento.

Descritores do odor ¹	Vácuo		AM _{70/20}		Normal		DFD		t ₁₀		t ₂₁		Qui-quadrado		
	FD	%	FD	%	FD	%	FD	%	FD	%	FD	%	Em	pH	t
Sulfuroso, ovos cozidos ou podres	7	43,8	3	18,8	2	12,5	8	50,0	7	43,8	3	18,8	ns	ns	ns
Fresco, floral	3	18,8	2	12,5	2	12,5	3	18,8	2	12,5	3	18,8	ns	ns	ns
Manteiga, adocicado, baunilha, caramelo	13	81,3	11	68,8	10	62,5	14	87,5	10	62,5	14	87,5	ns	ns	ns
Manteiga	11	68,8	10	62,5	11	68,8	10	62,5	11	68,8	10	62,5	ns	ns	ns
Tostado, frutos secos, alcoólico, floral	3	18,8	6	37,5	6	37,5	3	18,8	2	12,5	7	43,8	ns	ns	ns
Tostado, frutos secos	0	0,0	5	31,3	3	18,8	2	12,5	0	0,0	5	31,3	ns	ns	ns
Frutado, adocicado	2	12,5	10	62,5	8	50,0	4	25,0	7	43,8	5	31,3	*	ns	ns
Manteiga, ranço, adocicado	0	0,0	7	43,8	6	37,5	1	6,3	4	25,0	3	18,8	*	ns	ns
Manteiga	0	0,0	3	18,8	2	12,5	1	6,3	1	6,3	2	12,5	ns	ns	ns
Floral, herbáceo	0	0,0	3	18,8	3	18,8	0	0,0	0	0,0	3	18,8	ns	ns	ns
Frutos secos, amêndoas, licor, floral	0	0,0	6	37,5	4	25,0	2	12,5	2	12,5	4	25,0	*	ns	ns
Herbáceo, erva recém-cortada, ranço	6	37,5	9	56,3	12	75,0	3	18,8	5	31,3	10	62,5	ns	**	ns
Frutado, floral, amêndoa amarga	2	12,5	2	12,5	1	6,3	3	18,8	1	6,3	3	18,8	ns	ns	ns
Tostado, frutos secos, curado	1	6,3	6	37,5	4	25,0	3	18,8	4	25,0	3	18,8	ns	ns	ns
Frutado, amêndoas amargas, alcoólico	2	12,5	4	25,0	5	31,3	1	6,3	2	12,5	4	25,0	ns	ns	ns
Tostado, carne cozinhada, batatas cozidas	9	56,3	9	56,3	12	75,0	6	37,5	8	50,0	10	62,5	ns	ns	ns
Milho tostado, pipocas, frutos secos	2	12,5	3	18,8	3	18,8	2	12,5	4	25,0	1	6,3	ns	ns	ns
Frutos secos	2	12,5	5	31,3	3	18,8	4	25,0	4	25,0	3	18,8	ns	ns	ns
Cogumelos, metal oxidado	11	68,8	14	87,5	12	75,0	13	81,3	12	75,0	13	81,3	ns	ns	ns
Cogumelos	3	18,8	11	68,8	8	50,0	6	37,5	6	37,5	8	50,0	*	ns	ns
Floral, vegetal, carne curada	3	18,8	5	31,3	7	43,8	1	6,25	3	18,8	5	31,3	ns	*	ns
Nozes, humidade, adega, bolores	1	6,3	3	18,8	1	6,3	3	18,8	1	6,3	3	18,8	ns	ns	ns
Carne cozinhada, gordura	0	0,0	4	25,0	4	25,0	0	0,0	1	6,3	3	18,8	ns	ns	ns
Químico, laboratório, carne curada	3	18,8	6	37,5	7	43,8	2	12,5	3	18,8	6	37,5	ns	ns	ns

¹pela ordem de eluição numa coluna capilar de tipo HP-5
 ns-não significativo (p>0,05); *-significativo (p<0,05); **-muito significativo (p<0,01).

Em síntese, os resultados da análise da composição da fracção volátil neste subgrupo de amostras permitiu detectar compostos quer de origem microbiana quer indicadores possíveis de oxidação lípidica. O efeito do grupo de pH_f, embalagem e tempo de análise revelou-se na abundância de diferentes compostos, nomeadamente o 3-metilbutanal e 2-metilbutanal e a 2,3-butanodiona, e noutros, cuja origem provável terá sido a oxidação lípidica, como o pentanal, hexanal e nonanal e alguns álcoois. Esses compostos, corresponderam a notas aromáticas que variaram entre cheiros herbáceos, frutados dos aldeídos, cheiro característicos de manteiga de alguma cetonas, e cheiros florais de alguns álcoois. Dos efeitos em estudo, observou-se que as principais diferenças eram devidas às amostras de pH_f Normal embaladas na AM_{70/20}, com uma maior abundância de compostos conotados com o cheiro a ranço.

III.3.6. Análise multifactorial da composição da fracção volátil com variáveis contínuas

No sentido de obter uma perspectiva global da relação entre os diferentes compostos voláteis identificados por SPME-GC-MS, e entre estes e alguns aspectos microbiológicos, químicos e sensoriais, procedeu-se à análise dos resultados por análise de componentes principais (ACP). Numa primeira abordagem consideraram-se todas as variáveis microbiológicas, a determinação de ABVT, as variáveis sensoriais da carne não embalada (cor vermelho-vivo, vermelho-escuro, púrpura e castanho, cheiro a deteriorado e apreciação global) e todos os compostos voláteis identificados. Quando se seleccionaram as três primeiras componentes principais, 24 variáveis demonstraram ter uma reduzida relação com o espaço por elas definido, apresentando comunalidades inferiores a 0,4, pelo que foram eliminadas das fases posteriores de cálculo. O conjunto dessas 24 variáveis excluídas inclui a avaliação sensorial da cor vermelho-vivo, vermelho-escuro e púrpura, e os compostos voláteis acetaldeído; etanol; 2-propanona+pentano; sulfureto de dimetilo; dissulfureto de carbono; 1-propanol+2-metilpropanal; 2-metilpentano; ácido acético; 3-metilpentano; 2,3-butanodiona; 2-butanona, hexano; acetato de etilo; piridina; 2-etil-hexeno; 2,3-butanodiol; 2-octeno; 1-octen-3-ol; 2-nonanona; delta-careno; limoneno.

A solução que é apresentada no Quadro 57 e na Figura 61 que inclui 40 variáveis, que foram estudadas em 32 amostras, correspondentes à carne embalada sob vácuo e em AM_{70/20}, dos grupos de carne com pH Normal e DFD, analisados em 2 tempos de armazenamento (10 e 21 dias *pm*). No seu conjunto, as 3 primeiras CP explicam 77% da variância dos dados originais, o que é uma boa representação, principalmente se considerarmos que a matriz tem mais variáveis do que observações, que é apontado por Naes *et al.* (1996) como uma limitação à utilização da ACP, por estar associada a uma reduzida proporção de variância explicada na solução final.

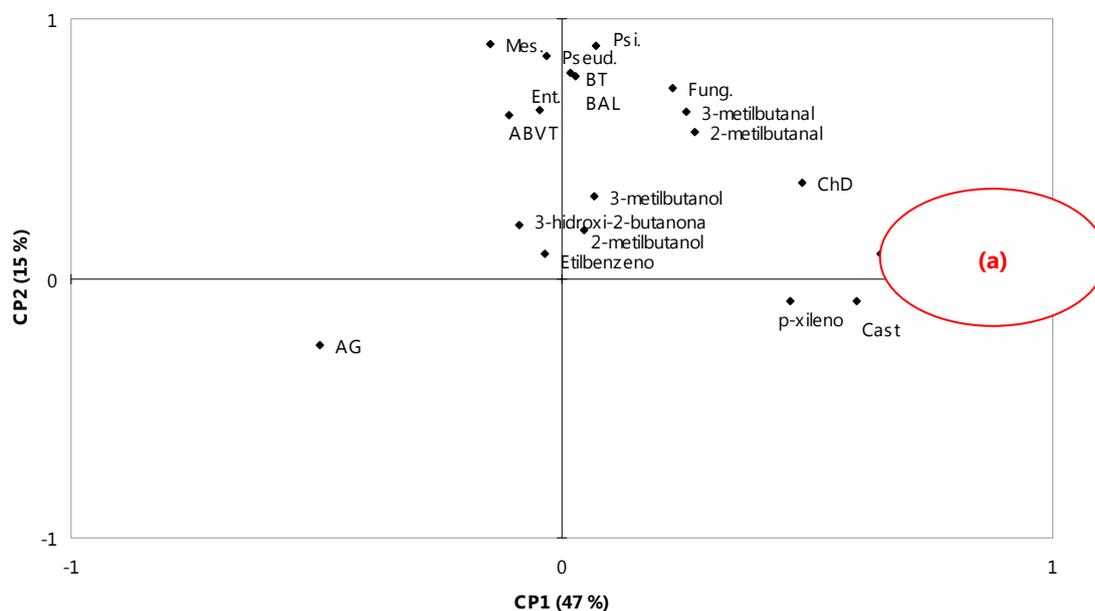
Analisando a parte superior da Figura 61, onde estão projectadas as variáveis originais no espaço definido pela CP1 e CP2, e que sintetizam cerca de 63% da variância, observa-se que há uma elevada correlação de um conjunto de compostos voláteis - assinalados na figura com (a) - entre si e, entre estes e a primeira CP, como se infere pela sua posição na Figura 61 e pelos elevados PF (Quadro 57) que essas variáveis apresentam. A partilhar a mesma zona do espaço com esse conjunto de composto voláteis encontra-se a avaliação sensorial da cor castanha e o cheiro a deteriorado, confirmando a associação que tem vindo a ser discutida ao longo do presente trabalho entre a ocorrência de colorações acastanhadas e notas aromáticas desagradáveis, como a quantificação do cheiro a deteriorado, ou a frequência de indiciação de notas aromáticas qualitativas como o cheiro a ranço. Nesse sentido, observa-se que vários dos compostos que compõem este grupo (a), de entre os quais o hexanal, o heptanal, o nonanal e o octanal são apontados por Frankel (1984) como provenientes de processos de oxidação lipídica com importante impacto no aroma da carne de bovino. Destes compostos, Gray e Crackel (1992) e Ross e Smith (2006) destacam a importância do hexanal como responsável pelo cheiro a ranço da carne, baseando-a em determinações sensoriais e na elevada correlação entre a ocorrência desse aldeído e a concentração de substâncias reactivas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs).

A corroborar a associação entre a avaliação sensorial da cor castanha e os compostos voláteis com uma origem provável associada ao cheiro a ranço, encontra-se a elevada capacidade de algumas formas activadas da metamioglobina - de cor castanha - para iniciar a oxidação lipídica (Pradhan *et al.*, 2000).

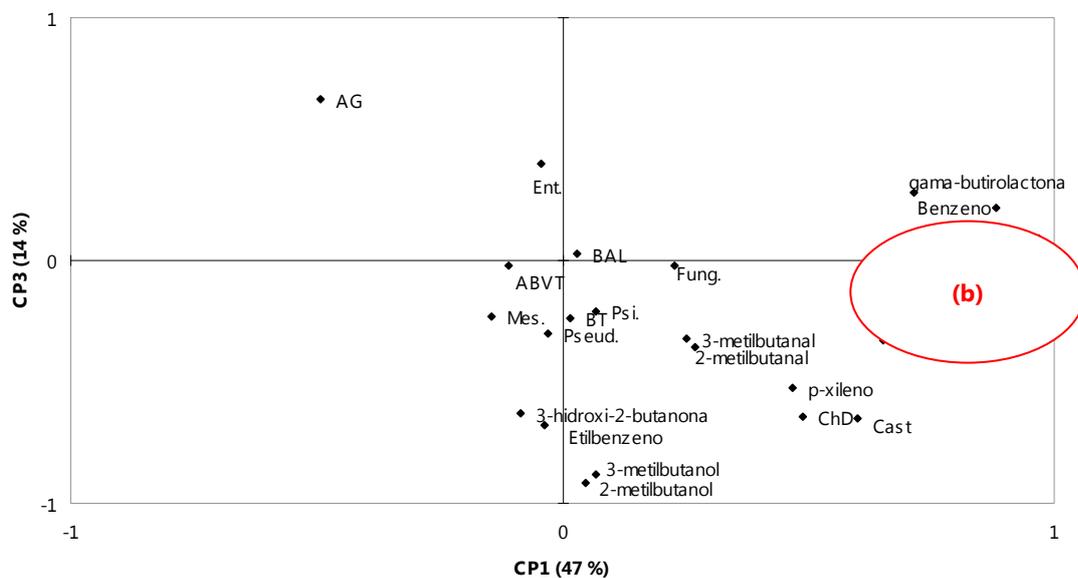
Quadro 57- Pesos factoriais, comunalidades e valores próprios da análise de componentes principais (ACP) estudada com 40 variáveis do ensaio.

Variável	PF sem rotação			PF Rotação Varimax			CM
	CP1	CP2	CP3	CP1	CP2	CP3	
Bactérias do Ácido Láctico (BAL)	0,13	0,61	0,47	0,03	0,78	0,03	0,60
<i>Brochothrix thermosphacta</i> (BT)	0,19	0,76	0,25	0,02	0,79	-0,24	0,68
<i>Enterobacteriaceae</i> (Ent.)	-0,06	0,33	0,68	-0,05	0,65	0,40	0,58
<i>Pseudomonas</i> spp. (Pseud.)	0,17	0,86	0,23	-0,03	0,86	-0,30	0,82
Fungos (Fung.)	0,32	0,55	0,43	0,23	0,73	-0,02	0,59
Mesófilos Totais (Mes.)	0,05	0,89	0,30	-0,14	0,90	-0,23	0,89
Psicotróficos totais (Psi.)	0,24	0,82	0,35	0,07	0,90	-0,21	0,85
Azoto Básico Volátil Total (ABVT)	-0,01	0,55	0,32	-0,11	0,63	-0,02	0,41
Castanho (Cast)	0,73	0,11	-0,49	0,60	-0,09	-0,65	0,79
Cheiro a Deteriorado (ChD)	0,69	0,51	-0,25	0,49	0,37	-0,65	0,79
Apreciação Global (AG)	-0,68	-0,42	0,33	-0,49	-0,26	0,66	0,75
3-metilbutanal	0,41	0,62	0,14	0,25	0,64	-0,32	0,58
2-metilbutanal	0,43	0,57	0,07	0,27	0,56	-0,36	0,51
Benzeno	0,80	-0,26	0,36	0,88	0,10	0,21	0,84
1-penten-3-ol	0,93	-0,09	-0,02	0,91	0,04	-0,21	0,88
2-pentanona	0,69	-0,24	0,03	0,73	-0,08	-0,03	0,54
2,3-pentanodiona	0,95	-0,07	-0,17	0,90	-0,02	-0,35	0,93
Pentanal+heptano	0,98	-0,01	-0,02	0,94	0,11	-0,27	0,97
2-etilfurano	0,97	-0,09	0,00	0,95	0,06	-0,21	0,95
3-hidroxi-2-butanona	0,11	0,52	-0,41	-0,09	0,21	-0,63	0,44
3-metilbutanol	0,34	0,70	-0,53	0,07	0,32	-0,88	0,88
2-metilbutanol	0,31	0,61	-0,64	0,05	0,18	-0,92	0,88
1-pentanol	0,97	-0,18	0,02	0,98	0,00	-0,15	0,98
Hexanal+octano	0,97	-0,18	0,06	0,98	0,02	-0,12	0,97
2-hexenal	0,91	-0,24	0,26	0,97	0,08	0,09	0,95
1-hexanol	0,92	0,01	-0,13	0,86	0,06	-0,36	0,87
Etilbenzeno	0,16	0,44	-0,50	-0,04	0,10	-0,68	0,47
p-xileno	0,57	0,08	-0,41	0,47	-0,08	-0,53	0,50
2-heptanona	0,73	-0,26	0,08	0,78	-0,06	0,01	0,61
Heptanal	0,96	-0,21	0,12	0,99	0,03	-0,04	0,98
gama-butirolactona	0,64	-0,17	0,44	0,72	0,20	0,28	0,63
alfa-pineno	0,73	-0,22	0,17	0,78	0,02	0,06	0,62
Heptenal	0,95	-0,22	0,14	0,98	0,03	-0,02	0,96
Ácido hexanóico	0,94	-0,24	0,21	0,99	0,05	0,05	0,98
2,3-octanodiona	0,98	-0,09	-0,06	0,95	0,03	-0,25	0,97
3-octanona	0,72	0,08	-0,12	0,65	0,10	-0,33	0,54
2-pentil-furano	0,93	-0,23	0,16	0,98	0,03	0,01	0,95
Octanal	0,88	-0,03	-0,10	0,83	0,04	-0,30	0,78
3,5-octanodiona	0,93	0,01	-0,13	0,86	0,06	-0,36	0,88
Nonanal	0,97	-0,04	0,06	0,94	0,14	-0,19	0,94
Valores próprios	20,12	6,99	3,63	12,28	4,02	3,69	
% variância explicada	50,30	17,48	9,08	47,21	15,44	14,20	Σ =76,86

PF pesos factoriais; CM comunalidade; KMO Kaiser-Meyer-Olkin; Σ é relativo aos três valores que o precedem (em linha), ou seja, é a % de variância explicada acumulada das três CP em estudo.



- (a)** 1-hexanol; 1-pentanol; 1-penten-3-ol; 2,3-octanodiona; 2,3-pentanodiona; 2-etilfurano; 2-heptanona; 2-hexenal; 2-pentanona; 2-pentil-furano; 3,5-octanodiona; 3-octanona; ácido hexanóico; alfa-pineno; benzeno; gama-butirolactona; heptanal; heptenal; hexanal+octano; nonanal; octanal; pentanal+heptano



- (b)** 1-hexanol; 1-pentanol; 1-penten-3-ol; 2,3-octanodiona; 2,3-pentanodiona; 2-etilfurano; 2-heptanona; 2-hexenal; 2-pentanona; 2-pentil-furano; 3,5-octanodiona; 3-octanona; ácido hexanóico; alfa-pineno; heptanal; heptenal; hexanal+octano; nonanal; octanal; pentanal+heptano

Figura 61- Pesos factoriais, após rotação varimax, das variáveis da composição da fracção volátil, microbiológicas, químicas e sensoriais para as duas primeiras CPs (parte superior) e primeira e terceira CPs (parte inferior).

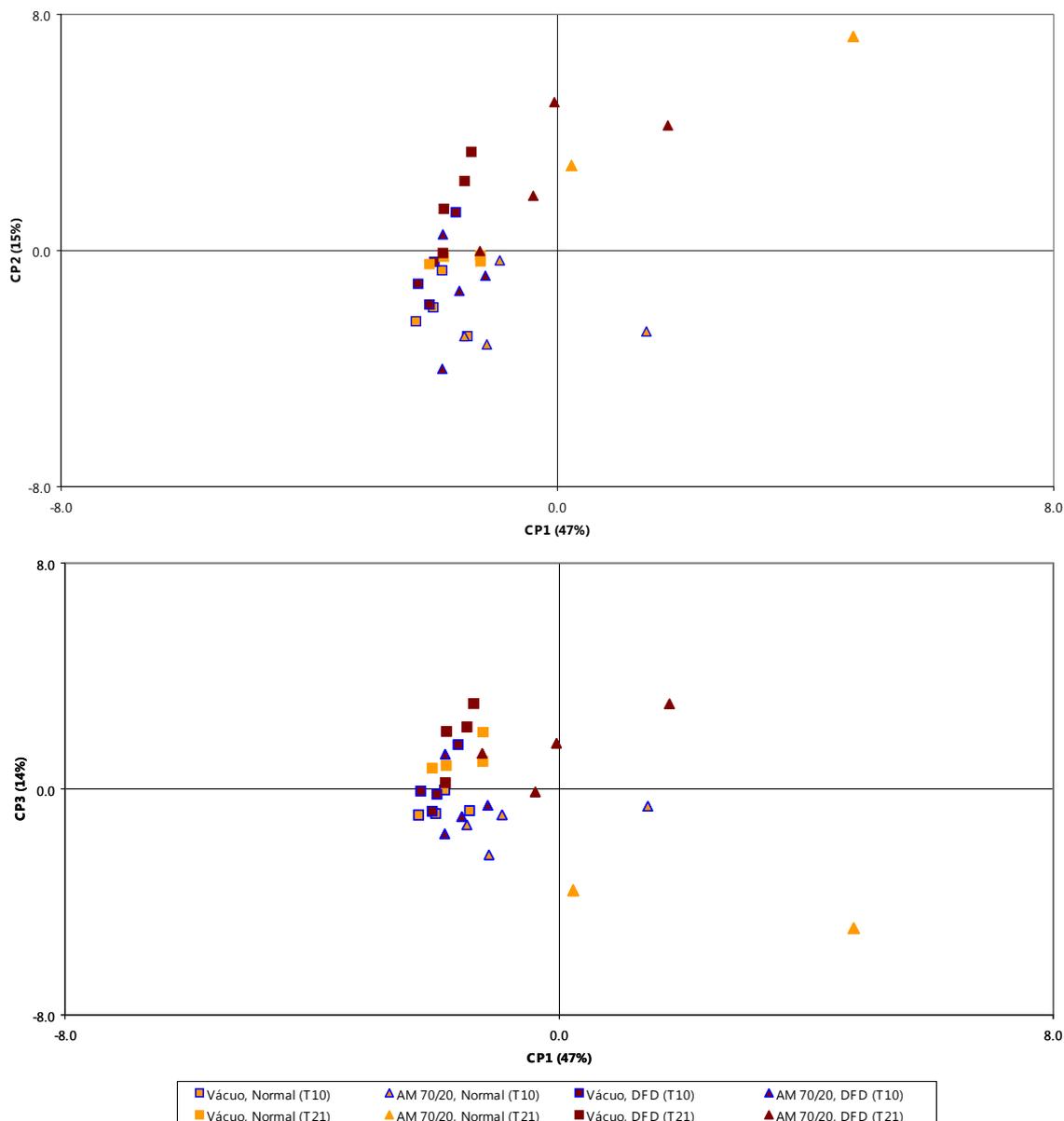


Figura 62- Projecção das observações no espaço definido pelas 3 primeiras componentes principais obtidas a partir das variáveis da composição da fracção volátil, microbiológicas, químicas e sensoriais; parte superior CP 1 vs CP 2; parte inferior CP 1 vs CP 3 (os símbolos fora do referencial correspondem a localizações com coordenadas superiores à escala apresentada).

Ainda sobre a CP1 observa-se que a apreciação global tem um PF de -0,49, que sendo modesto em termos absolutos, é o maior do lado esquerdo do plano definido pela CP1 vs CP2. A observação deste plano permite-nos ainda inferir que do conjunto de variáveis incluídas nesta ACP, nenhuma contribui positivamente para a apreciação global.

A CP2 é definida fundamentalmente por variáveis microbiológicas, apresentando a maioria pesos factoriais superiores a 0,60. Também associado a esta CP estão o 3-metilbutanal e o 2-metilbutanal, cuja

origem provável é o catabolismo dos aminoácidos ramificados leucina e isoleucina, assim como os álcoois correspondentes obtidos pela redução desses aldeídos, o 3-metilbutanol e o 2-metilbutanol. A associação daqueles aldeídos ao catabolismo de aminoácidos pela microflora tem sido vastamente estudada em produtos cárneos fermentados, mas também tem sido associada à actividade de microflora deteriorativa em carnes frescas (Masson, 1998). Ainda que esses aldeídos sejam responsáveis por um aroma característico e apreciado de produtos cárneos curado/fermentados (Berdagué *et al.*, 1993; Montel *et al.*, 1996; Stahnke, 1996), no presente trabalho observou-se que a apreciação global se encontra modestamente correlacionada com a PC2 (PF -0,26), mas no segmento oposto ao daqueles compostos, sugerindo que esses aldeídos e os respectivos álcoois têm um efeito negativo no aroma da carne fresca.

A demarcação inequívoca entre a AG (PF 0,66) e o 3-metilbutanal, o 2-metilbutanal e os respectivos álcoois é evidente na projecção das variáveis no plano definido pela CP1 vs CP3, sendo que o efeito negativo dos álcoois é consideravelmente mais notório (PF -0,88 e -0,92, respectivamente).

Outra variável que contribuiu para a formação da CP3 é a 3-hidroxi-2-butanona, que confere uma nota aromática a manteiga. Na presente ACP este composto aparece também associado negativamente à apreciação global, como aliás já tinha sido observado quando foram discutidos os resultados da avaliação qualitativa do cheiro da carne, e do seu contributo para o cheiro a deteriorado e apreciação global.

Na Figura 62 são apresentadas as projecções das observações nos planos definidos pela CP1 vs CP2 e CP1 vs CP3, respectivamente. Da análise desses resultados pode inferir-se que esta solução de ACP tem capacidade para discriminar as amostras pelo tempo de armazenamento, observando-se que na CP2 e na CP3 as amostras com 10 dias de armazenamento (símbolos contornados a azul) se encontram do mesmo lado do plano que a apreciação global, em oposição às com 21 dias de armazenamento.

Outro aspecto que fica claro pela análise da Figura 62 é demarcação das amostras de carne normal embaladas na AM_{70/20} (triângulos alaranjados). Estas amostras situam-se na parte do plano definida pelos compostos potencialmente associados à oxidação lipídica, ao cheiro a deteriorado e à cor castanha, comprovando o que se observou nas partes anteriores do trabalho, em que esta combinação grupo de pH_f da carne e tipo de embalagem se mostrou desvantajoso em numerosos aspectos. As restantes amostras analisadas apresentam uma considerável uniformidade entre si, reflectindo contudo alguns dos aspectos centrais já discutidos anteriormente, como a maior associação entre a microflora e as amostras de pH_f mais elevado - símbolos de cor castanha mais abundantes na parte superior do plano definido pela CP1 vs CP2.

Estudos realizados no âmbito da deterioração de carnes frescas estabeleceram que os compostos voláteis que causam odores desagradáveis eram consequência do desenvolvimento de microrganismos, assinalando o final da vida útil da carne (Dainty *et al.*, 1984; Scholler *et al.*, 1997). Uma grande variedade de compostos voláteis tais como ácidos, alcoóis, aldeídos, ésteres, hidrocarbonetos e compostos sulfurados têm sido referidos metabolitos bacterianos (Edwards *et al.*, 1987; Scholler *et al.*, 1997; Blix e Borch, 1999). Dainty *et al.* (1985) registaram uma sequência temporal na produção de voláteis em amostras de carne crua naturalmente contaminadas. Dos compostos voláteis detectados inicialmente - os que apresentam maior potencial para detecção precoce de deterioração - encontravam-se a acetoína e o diacetilo, apesar da sua detecção ser rapidamente seguida pela de ésteres e dos compostos sulfurosos

(Stutz *et al.*, 1991). No presente trabalho observou-se uma sequência semelhante, pois nos primeiros tempos as amostras apresentavam um cheiro a manteiga e adocicado - associado ao diacetilo e à acetoína - que evoluiu para o cheiro pútrido em fases posteriores. A acetoína e o diacetilo, foram também sugeridos como indicadores úteis da qualidade/deterioração microbiana de carne de porco armazenado em atmosfera enriquecida em O₂ e CO₂ (de Pablo *et al.*, 1989; Ordóñez *et al.*, 1991). Ambos os compostos estavam presentes, sendo os componentes iniciais e maioritários que surgem em carne de vitela, porco e cordeiro armazenadas em 75%O₂/ 25%CO₂ (Dainty, 1996). No presente trabalho estes compostos foram detectados em todas as condições de ensaio, contudo para o diacetilo não se observaram diferenças em termos de abundância nos dois tempos estudados. Este facto parece estar de acordo com Dainty *et al.* (1985) que referem que muitos compostos voláteis estão presentes desde fases precoces de armazenamento, ainda que não sejam conotados com odores característicos de carne deteriorada. Entre estes compostos encontravam-se a acetoína e o diacetilo e o 3-metilbutanol. Stutz *et al.* (1991) sugeriram que a 2-propanona, a 2-butanona, o sulfureto de dimetilo e o dissulfureto de dimetilo podem ser indícios de deterioração de carne de bovino. O H₂S que é frequentemente isolado da fracção volátil de carne deteriorada (Dainty, 1996), não foi identificado no presente trabalho, ainda que alguma microflora a que se atribuí a sua produção, nomeadamente *Enterobacteriaceae* tenha sido enumerada nas amostras do presente trabalho.

O uso de etanol, como um indicador de deterioração em carne embalada em vácuo já foi sugerido que poderia ser utilizado como um indicador potencial de deterioração, dado que é detectado com facilidade na análise da atmosfera que rodeia a carne dentro das embalagens. Para além disso foi também referido como indicador de fuga na atmosfera modificada em embalagens de peito de frango marinado e de truta (Randell *et al.*, 1995, citado por Dainty, 1996).

Para além dos compostos identificados no presente trabalho, cuja origem está associada à actividade da microflora, há um conjunto assinalável de compostos cuja origem poderá ser atribuída à oxidação da fracção lípidica. A qualidade da carne de bovino degrada-se durante o armazenamento principalmente em atmosferas com maior concentração de O₂, sendo acompanhada por aumento de compostos com implicação no aroma dos produtos (Jakobsen e Bertelsen, 2000; Cornforth e Hunt, 2008) tais como aldeídos e cetonas (Insausti *et al.*, 2002; Jackson *et al.*, 1992; Jayasingh *et al.* 2002).

III.4. CONCLUSÕES

- A contagem de BAL não foi influenciada por nenhum dos efeitos em estudo em qualquer dos tempos de armazenamento estudados, ascendendo a valores próximos de 5 log (ufc/g) aos 14 dias, e cerca de 6 log (ufc/g) aos 35 dias na carne embalada sob vácuo. Pelo contrário, *Brochothrix thermosphacta* revelou contagens superiores em carne com pH_f mais elevado, em todos os tempos estudados. O efeito da embalagem também se revelou importante, destacando-se aquelas com elevado teor em CO₂, onde se detectou algum atraso no crescimento. As enterobactérias apresentaram ao longo de todo o período estudado um desenvolvimento moderado. Ambos os efeitos influenciaram a contagem desta microflora, sendo os teores mais elevados observados em carne DFD. As embalagens em atmosfera modificada (AM) revelaram ser uma boa estratégia inibir o desenvolvimento desta microflora. As contagens de *Pseudomonas* spp. também foram menores em AM com elevado teor em CO₂, ainda que esse efeito seja mais evidente em armazenamentos mais prolongados, e superior em carnes com pH_f mais elevado. A contagem de fungos revelou-se independente do grupo de pH_f da carne. Pelo contrário, as AM determinaram a inibição do seu crescimento, que atingiu 5,8 log (ufc/g) na carne em aerobiose aos 14 dias *pm*. A microflora total mesófila e a psicrotrófica variaram sempre no mesmo sentido, e demonstram os principais efeitos que foram detectados nos restantes grupos de microrganismos pesquisados - contagens mais elevadas em carne com pH_f elevado e nas carne embalada em aerobiose. Em síntese, a microflora foi influenciada pelos efeitos em estudo, não se verificando nenhuma interacção entre esses. Confirma-se a importância do pH_f da carne no comportamento de alguns microrganismos - ainda que, em termos absolutos, essas diferenças se situem entre 1 e 2 log (ufc/g). O teor em CO₂ mostrou ser importante na inibição da maioria dos microrganismos.
- O indicador químico de deterioração da fracção azotada da carne - ABVT - evoluiu ao longo do tempo de forma mais moderada nas carnes embaladas sob vácuo e em AM. Particularmente na embalagem em aerobiose, foi muito evidente o efeito negativo da condição DFD, determinando valores de ABVT que atingiram 45,67 mg NH₃/100g de carne.
- A luminosidade (L*) da carne foi sempre influenciada pelo grupo de pH_f e pelo tipo de embalagem, apresentando a carne DFD e a embalagem sob vácuo os valores mais baixos imediatamente após a abertura da embalagem e após 60 minutos. O parâmetro a* foi marcadamente influenciado pelo pH_f, pelo tipo de embalagem e pela interacção entre ambos. Genericamente, este parâmetro revela dois aspectos fundamentais: a carne Normal embalada nas três AM revelou-se menos vermelha, quer na abertura da embalagem, quer após os 60 minutos de avermelhamento, ao contrário do que aconteceu na carne embalada sob vácuo; O avermelhamento produzido pelos 60 minutos de exposição ao ar após a abertura da embalagem só foi significativo na carne de condição Normal embalada sob vácuo, sendo muito discreto naquelas com condição DFD e intermédia. Esta evolução é coerente com os resultados

do parâmetro b^* , que se mostrou menos azul, associado à cor púrpura característica da carne embalada sob vácuo, nas amostras de carne Normal.

- Os parâmetros de cor avaliados sensorialmente em 4 escalas, correspondentes às cores expectáveis na carne armazenada nas condições presente ensaio: vermelho-vivo, vermelho-escuro, púrpura e castanho, variaram genericamente de acordo os parâmetros instrumentais de cor. A cor vermelho-vivo (imediatamente e 60 minutos após a abertura da embalagem), seguiu uma distribuição semelhante à do parâmetro a^* , destacando-se a demarcação das amostras de carne Normal nas embalagens em aerobiose e em AM, com menor intensidade neste atributo. Nessas amostras, a tonalidade vermelho-vivo foi substituída pela castanha. A cor vermelho-escuro, característica das carnes DFD, raramente foi utilizada para avaliar a cor da carne Normal. O avermelhamento, que na carne de pH_f normal determinou um aumento na cor vermelho vivo, nas carnes de pH_f mais elevado correspondeu a um aumento na cor vermelho-escuro. Essa recuperação da cor, substituindo a cor púrpura, nem sempre foi observada nas carnes DFD e DFDmod. Na avaliação sensorial da cor destacam-se as amostras de pH_f intermédio com um comportamento bastante estável da cor, quando comparado com as carnes normais, sem que porém apresentem uma tonalidade vermelho-escuro tão frequente como as DFD. A superfície de descoloração aumentou com o tempo de armazenamento, mostrando uma tendência de evolução semelhante à da avaliação da cor castanha, principalmente nas AM com menos CO_2 . Na carne embalada sob vácuo, nunca se observaram manchas de descoloração.
- A avaliação sensorial do cheiro a deteriorado apresentou-se correlacionado com o teor em ABVT e com a maioria da microflora quantificada, permitindo-nos inferir que a via microbiana será determinante no desenvolvimento do cheiro a deteriorado. Nesse sentido, observou-se que o cheiro pútrido foi identificado em proporções mais significativas nas amostras que apresentavam contagens de microrganismos mais elevadas, nomeadamente naquelas embaladas em aerobiose e nos tempos mais avançados da embalagem sob vácuo, em particular nas carnes de pH_f mais elevado. Porém, para a ocorrência de valores elevados na avaliação do cheiro a deteriorado, avaliada por regressão logística, o cheiro a ranço foi o que mais contribuiu, só depois seguido de notas aromáticas conotadas com a actividade microbiana, como o cheiro pútrido e o ácido/fermentado. O cheiro a ranço mostrou-se tendencialmente independente da quantificação da microflora, e associado a amostras de carne Normal embaladas em AM. Esta associação coincide com a das amostras que apresentam uma coloração acastanhada, sugerindo que essa cor e o cheiro a ranço têm uma origem comum. Este conjunto de características sensoriais contribuiu para a definição da apreciação global da frescura da carne. Tal como esperado, a apreciação global foi sendo progressivamente menor à medida que aumentava o tempo de armazenamento. Contudo, a contribuição das características de cor ou de cheiro foi diferente em função do grupo de pH_f e tipo de embalagem. Assim, nas amostras de carne Normal embaladas em AM, a cor castanha terá sido um dos principais factores que determinaram a depreciação da sua frescura, juntamente com o cheiro a ranço detectado em tempos mais tardios. Nas amostras embaladas em aerobiose e sob vácuo, os cheiros pútrido e ácido/fermentado terão sido dos principais critérios que

conduziram a uma menor apreciação global de frescura, sendo no vácuo a única situação em que as amostras de carne com pH_f mais elevado foram as menos apreciadas.

- A análise da fracção volátil do subgrupo de amostras estudado (correspondente aos t_{10} e t_{21} das amostras embaladas sob vácuo e em $AM_{70/20}$ dos grupos de carne Normal e DFD foram identificados 54 compostos, destacando-se pela sua abundância relativa os aldeídos e as cetonas. O efeito do grupo de pH_f , embalagem e tempo de análise fez-se sentir na quantificação de diferentes compostos, nomeadamente em alguns com uma origem provável associada à actividade da microflora, como o 3- e o 2-metilbutanal e a 2,3-butanodiona, e noutros, cuja origem provável terá sido a oxidação lipídica, como o pentanal, hexanal e nonanal e alguns álcoois. Esses compostos, corresponderam a notas aromáticas que variaram entre cheiros herbáceos, frutados e a tostado dos aldeídos, cheiro característicos de manteiga de alguma cetonas, e cheiros florais, com notas a produto químico/medicamento de alguns álcoois e aldeídos. Dos efeitos em estudo, observou-se que as principais diferenças eram devidas às amostras de pH_f Normal embaladas na $AM_{70/20}$, com uma maior abundância de compostos conotados com a oxidação lipídica e o cheiro a ranço.
- Face aos resultados obtidos no presente trabalho, demonstrou-se que o grupo de pH_f e o tipo de embalagem da carne de bovino de raça Maronesa tiveram uma marcada influência em diversos parâmetros associados à sua frescura. A deterioração foi marcada por dois tipos de fenómenos. Nas carnes embaladas em aerobiose e vácuo, os aspectos microbiológicos terão estado na origem da sua deterioração, particularmente nas carnes de pH_f mais elevado. Nas carnes embaladas em AM, e particularmente nas carnes de pH_f Normal, os fenómenos associados à instabilidade da cor vermelha e de oxidação lipídica foram os que determinaram a depreciação do seu estado de frescura. As soluções de embalagem que se mostraram mais eficazes foram o vácuo, para todo o tipo de carnes, e as atmosferas modificadas somente para as carnes com pH_f elevado.

BIBLIOGRAFIA

- Abee, T., Krockel, L., Hill, C. (1996). Bacteriocins: modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning. *International Journal of Food Microbiology*, 28: 169-185.
- Abril, M., Campo, M.M., Onenç, A., Sañudo, C., Albertí, P., Negueruela, A.I. (2001). Beef colour evolution as a function of ultimate pH. *Meat Science*, 58: 69-78.
- Ahn, D.U., Jo, C., Olson, D.G. (2000). Analysis of volatile components and the sensory characteristics of irradiated raw pork. *Meat Science*, 54: 209-215.
- Ahn, D.U., Nam, K.C., Du, M., Jo, C. (2001). Volatile production in irradiated normal, pale soft exudative (PSE) and dark firm dry (DFD) pork under different packaging and storage conditions. *Meat Science*, 57: 419-426.
- Almeida, J.A.M. (2008). Produção de carne de bovino Mertolenga. Influência do fenótipo da raça de factores de produção e de manejo *ante e postmortem* na variação da qualidade intrínseca e comercial de carne. Dissertação de Doutoramento apresentada à Universidade de Évora, Évora.
- Alonso-Calleja, C., Martínez-Fernández, B., Prieto, M., Capita, R. (2004). Microbiological quality of vacuum-packed retail ostrich meat in Spain. *Food Microbiology*, 21: 241-246.
- Alves, V. (1993). Estudo sobre a "Raça Bovina Maronesa" - Situação actual e perspectivas zootécnicas, Dissertação de Doutoramento apresentado à Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, UTAD, Vila Real.
- AMSA (1991). Guidelines for meat color evaluation. *American Meat Science Association Committee*. 44: 1-16.
- Ansary, S.E., Darling, K.A., Kaspar, C.W. (1999). Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in ground-beef patties during storage at 2, -2, 15 and then -2 degrees C, and -20 degrees C. *Journal of Food Protection*, 62: 1243-1247.
- Ashmore, C.R., Parker, W., Doerr, L. (1972). Respiration of mitochondria isolated from dark-cutting beef: Postmortem changes. *Journal of Animal Science*, 34: 46-48.
- Avery, S.M., Rogers, A.R., Bell, R.G. (1995). Continued inhibitory effects of carbon dioxide packaging on *Listeria monocytogenes* and other microorganisms on normal pH beef during abusive retail display. *International Journal of Food Science and Technology*, 30: 725-735.
- Babji, Y., Murthy, T.R.K., Anjaneyulu, A.S.R. (2000). Microbial and sensory quality changes in refrigerated minced goat meat stored under vacuum and in air. *Small Ruminant Research*, 36: 75-84.
- Baines, D.A., Mloztiewicz, J.A. (1984). The chemistry of meat flavour. Recent advances in the chemistry of meat. Ed: Bailey, A.J., The Royal Society of Chemistry, Cambridge, England, pp. 118-164.
- Barbieri, G., Bolzon, L., Parolari, G., Virgili, R., Careri, M., Mangia, A. (1992). Flavour compounds of dry-cured ham. *Journal Food Chemistry*, 40: 2389-2394.
- Baylis, C.L. (2006). Enterobacteriaceae. In: *Food spoilage microorganisms*. Ed: C. W. Blackburn, Woodhead Publishing, pp. 625-667.
- Bazemore, R., Goodner, K., Rouseff, R. (1999). Volatiles from unpasteurized and excessively heated orange juice analyzed with solid phase microextraction and GC-olfactometry. *Journal of Food Science*, 68: 800-803.
- Beggan, M., Allen, P., Butler, F. (2004). Shelf-life of retail beef muscles following storage in a low oxygen environment. *Journal of Muscle Foods*, 15: 269-285.
- Bekhit, A. E. D., Faustman, C. (2005). Metmyoglobin reducing activity. *Meat Science*, 71: 407-439.
- Bell, R.G., Garout, A.M. (1994). The effective product life of vacuum packaged beef imported into Saudi Arabia by sea, as assessed by chemical, microbiological, and organoleptic criteria. *Meat Science*, 36: 381-396.
- Bell, R.G., Penney, N., Moorhead, S.M. (1997). Comparison of aerobic and anaerobic methods for the microbiological monitoring of chilled packaged meat during storage. *Letters in Applied Microbiology*, 24: 265-268.
- Bendall, J.R. (1972). Consumption of oxygen by the muscles of beef animals and related species and its effect on the colour of meat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 23: 61-72.
- Bendall, J.R., Taylor, A.A. (1972). Consumption of oxygen by the muscles of beef animals and related species. II. Consumption of oxygen by post-rigor muscle. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 23: 707-719.

- Berdagué, J.L., Bonnaud, N., Rousset, S., Tourraile, C. (1993a). Influence of pig crossbred on the composition volatile compound content and flavour of dry cured ham. *Meat Science*, 34: 119-124.
- Berdagué, J.L., Denoyer, C., Le Quere, J.L. y Semon, E. (1991). Volatile components of dry-cured ham. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39: 1257-1261.
- Berdagué, J.-L., Montel, P., Montel, M.C., Talon, R. (1993b). Effects of starter cultures on the formation of flavour compounds in dry sausage. *Meat Science*, 35: 275-287.
- Berruga, M.I., Vergara, H., Gallego, L. (2004). Influence of packaging conditions on microbial and lipid oxidation in lamb meat. *Small Ruminant Research*, 57: 257-264.
- Bertelsen, G., Jakobsen, M., Juncher, D., Moller, J., Kroger-Ohlsen, M., Weber, C., Skibsted, L.H., (2000). Oxidation, shelf-life and stability of meat and meat products. *Proceedings of 46th International Congress of Meat Science and Technology*, vol. II, 27 August-1 Sept, Buenos Aires, Argentina, pp. 516-524.
- Betts, G. (2006). Other spoilage bacteria. In: *Food spoilage microorganisms*. Ed: C. W. Blackburn, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, pp: 668-693.
- Betts, G., Everis, L. (2000). Shelf-life determination and challenge testing. In: *Chilled foods*, second edition. (cap.10). Ed: M. Stringer, C. Dennis, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, pp. 264, 266-267.
- Blickstad, E., Enfors, S.-O., Molin, G. (1981). Effect of hyperbaric carbon dioxide pressure on the microbial flora of pork stored at 4 or 14°C. *Journal of Applied Microbiology*, 50:493-504.
- Blickstad, E., Molin, G. (1983). Carbon dioxide as a controller of the spoilage flora of pork, with special reference to temperature and sodium chloride. *Journal of Food Protection*, 46: 758-766.
- Blixt, Y. & Borch, E. (1999). Using an electronic nose for determining the spoilage of vacuum-packaged beef. *International Journal of Food Microbiology*, 46: 123-134.
- Blixt, Y., Borch, E. (2002). Comparison of shelf life of vacuum-packed pork and beef. *Meat Science*, 60: 371-378.
- Boccard, R., Buchter, L., Casteels, E., Cosentino, E., Dransfield, E., Hood, D. E., Joseph, R. L., MacDougall, D. B., Rhodes, D. N., Schön, I., Tinbergen, B. J., Tourraile, C. (1981). Procedures for measuring meat quality characteristics in beef production experiments, report of a working group in the comission of the European Communities (CEC) Beef Production Research Programme. *Livestock Production Science*, 8: 385-397.
- Boers, R.H., Dijkman, K.E., Wijngaards, G. (1994). Shelf-life of vacuum-packaged wild boar meat in relation to that of vacuum-packaged pork: relevance of intrinsic factors. *Meat Science*, 37: 91-102.
- Borch, E., Agerhem, H. (1992). Chemical, microbial and sensory changes during the anaerobic cold storage of beef inoculated with a homofermentative *Lactobacillus* sp. or a *Leuconostoc* sp.. *International Journal of Food Microbiology*, 15: 99-108.
- Borch, E., Kant-Muermans, M., Blixt, Y. (1996). Bacterial spoilage of meat and cured meat products. *International Journal of Food Microbiology*, 33: 103-120.
- Braun, P., Sutherland, J.P. (2004). Predictive modelling of growth and measurement of enzymatic synthesis and activity by a cocktail of *Brochothrix thermosphacta*. *International Journal of Food Microbiology*, 86: 271-282.
- Bredahl, L., Grunert, K.G., Fertin, C. (1998). Relating consumer perceptions of pork quality to physical product characteristics. *Food Quality and Preference*, 9: 273-281.
- Brenner, D.J. (1986). Enterobacteriaceae (section V, vol. 1). In: *Bergey's manual of systematic bacteriology*, 8th edition. Ed: P. Sneath, N. Mair, M. Sharpe., pp. 408-426.
- Brewer, M.S. (2006). The chemistry of beef flavour. Executive Summary Prepared for the National Cattlemen's Beef Association. Copyright Cattlemen's Beef Boards (<http://www.beefresearch.org/CMDocs/BeefResearch/The%20Chemistry%20of%20Beef%20Flavour.pdf>).
- Brunton, N.P., Cronin, D.A., Monahan, F.J., Durcan, R. (2000). A comparison of solid-phase microextraction (SPME) fibres for measurement of hexanal and pentanal in cooked turkey. *Food Chemistry*, 68: 339-345.
- Butler, J.L., Smith, G.C., Savell, J.W., Vanderzant, C. (1981). Bacterial growth in ground beef prepared from electrically stimulated and non stimulated muscles. *Applied and Environmental Microbiology*, 41: 915-918.

- Byun, J.S., Park, K.S., Oh, D.H., Kim, J.W., Lee, M. (2000). Comparison of indicators for microbial quality of meat during aerobic cold storage. *Proceedings of 46th International Congress of Meat Science and Technology*, vol. II, 27 August-1 Sept, Buenos Aires, Argentina, pp. 734-735.
- Capita, R., Díaz-Rodríguez, N., Prieto, M., Alonso-Calleja, C. (2006). Effects of temperature, oxygen exclusion, and storage on the microbial loads and pH of packed ostrich steaks. *Meat Science*, 73: 498-502.
- Careri, M., Mangia, A., Barbieri, G., Bolzoni, L., Virgili, R., Parolari, G. (1993). Sensory property relationships to chemical data of Italian-type dry-cured ham. *Journal of Food Science* 58, 968-972.
- Carrapiso, A.I., Jurado, A., García, C. (2003). Effect of Crossbreeding and Rearing System on Iberian Ham Volatile Compounds. *Food Science and Technology International*, 9: 0421-6..
- Carrapiso, A.I., Jurado, A., Timon, M.L., García, C. (2002a). Odor-Active Compounds of Iberian Hams with Different Aroma Characteristics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 22: 6453-6458.
- Carrapiso, A.I., Ventanas, J., García. (2002b). Characterization of the Most Odor- Active Compounds of Iberian Ham Headspace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 1996-2000.
- Cassens, R. G., Demeyer, D., Eikelenboom, G., Honikel, K. O., Johansson, G., Nielson, T., Richardson, I. e Saka, K. (1995). Recommendation of reference method for assessment of meat colour. *Proceedings of 41st International Congress of Meat Science and Technology*, San Antonio, Texas, USA, pp. 410-411.
- Cassin, M.H., Lammerding, A.M., Todd, E.C.D., Ross, W., McColl, R.S. (1998). Quantitative risk assessment for *Escherichia coli* O157:H17 in ground beef hamburgers. *International Journal of Food Microbiology*, 41: 21-44.
- CDC (Centres for Diseases Control and prevention). (2002). Preliminary foodNetdata on the incidence of foodborne illnesses - Selected sites. United States MMWR 52:340-343.
- Chang, S.S., Petterson, R.J. (1977). Recent development in the flavour of meat. *Journal of Food Science*, 42: 298-305.
- Chin, H.W., Bernahard, R.A., Rosenberg, M. (1996). Solid phase microextraction for the cheese volatile compound analysis. *Journal of Food Science*, 61: 1118-2641.
- Christensen, J.E., Dudley, E.G., Pederson, J.A., Steele, J.L. (1999). Peptidases and amino acid catabolism in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 76, 217-246.
- Christopher, F.M., Smith, G.C., Dill, C.W., Carpenter, Z.L., Vanderzant, C. (1980). Effect of CO₂-N₂ atmospheres on the microbial flora of pork. *Journal of Food Protection*, 43: 265-271.
- Church, I. J., Parsons A. (1995). Modified atmosphere packaging technology: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 67: 143-152.
- Clark, D.S., Lentz, C.P. (1973). Use of mixtures of carbon dioxide and oxygen for extending shelf-life of pre-packaged fresh beef. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 6: 194-196.
- Clark, D.S., Lentz, C.P., Roth, L.A. (1976). Use of carbon monoxide for extending shelf-life of prepackaged fresh beef. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 9: 114-117.
- Coates, K. J., Beattie, J. C., Morgan, I.R., Widders, P.R. (1995). The contribution of carcass contamination and the boning process to microbial spoilage of aerobically stored pork. *Food Microbiology*, 12: 49-54.
- Cornforth, D. (1994). Color - basis and importance. In: *Quality attributes and their measurement in meat, poultry and fish products*, vol. 9. Ed: A. M. Pearson e T. R. Dutson, Blackie Academic & Professional, London, pp. 34-78.
- Cornforth, D.P., Egbert, W.R. (1985). Effect of rotenone and pH on the color of pre-rigor muscle. *Journal of Food Science*, 50: 34-35, 44.
- Cornforth, D.P., Hunt, M.C. (2008). Low-oxygen packaging of fresh meat and carbon monoxide: Meat quality, microbiology, and safety. American Meat Science Association White Paper Series, 2: 1-10.
- Correia, A.A.D., Correia, J.H.D. (1985). *Bioquímica Animal*, Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa.
- Cox, N.A., Russell, S.M., Bailey, J.S. (1998). The microbiology of stored poultry (cap.8). In: *The microbiology of meat and poultry*. Ed: A. Davies, R. Board, Springer, pp. 266-287.

- Crowley, H., Cagney, C., Sheridan, J. J., Anderson, W., MacDowell, D.A., Blair, I.S., Bishop, R.H., Duffy, G. (2005). *Enterobacteriaceae* in beef products from retail outlets in the Republic of Ireland and comparison of the presence and counts of *E. coli* O157:H7 in these products. *Food Microbiology*, 22: 409-414.
- Curioni, P M. G., Bosset, J.O. (2002). Key odorants in various cheese types as determined by gas chromatography-olfactometry. *International Dairy Journal*, 12: 959-984.
- Cutaia, A.J., Ordal, Z. J. (1964). Pigments changes in anaerobically packaged ground beef. *Food Technology*, 18: 757-760.
- Cutter, C.N. (2002). Microbial control by packaging: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 42: 151-161.
- Dainty, R.H. (1996). Chemical/biochemical detection of spoilage. *International Journal of Food Microbiology*, 33: 19-33.
- Dainty, R.H., Edwards, R.A., Hibbard, C.M. (1984). Volatile compounds associated with the aerobic growth of some *Pseudomonas* species on beef. *Journal of Applied Bacteriology*, 57: 75-81.
- Dainty, R.H., Edwards, R.A., Hibbard, C.M. (1985). Time course of volatile compound formation during refrigerated storage of naturally contaminated beef in air. *Journal of Applied Bacteriology*, 59: 303-309.
- Dainty, R.H., Hibbard, C.M. (1980). Aerobic Metabolism of *Brochothrix thermosphacta* growing on meat surfaces and in laboratory media. *Journal of Applied Bacteriology*, 48: 387-396.
- Dainty, R.H., Hibbard, C.M. (1983). Precursors of the major end products of aerobic metabolism of *Brochothrix thermosphacta*. *Journal of Applied Bacteriology*, 54: 127-133.
- Dainty, R.H., Mackey, B.M. (1992). The relationship between the fenotypic properties of bacteria from chilled-stored meat and spoilage processes. *Journal of Applied Bacteriology, symposium supplement*, 73:103S-114S.
- Dainty, R.H., Shaw, B.G., DeBoer, K.A., Scheps, E.S.J. (1975). Protein changes caused by bacterial growth on beef. *Journal of Applied Bacteriology*, 39: 73-81.
- Dainty, R.H., Shaw, B.G., Harding, C.D., Michanie, S. (1979). The spoilage of vacuum-packed beef by cold tolerant bacteria. In: *Cold Tolerant microbes in spoilage and the environment*. Ed: A.D. Russel, R. Fuller, Soc. Appl. Bact., Techn. Ser. 13, pp. 83-98.
- Dainty, R.H., Shaw, B.G., Roberts, T.A. (1983). Microbial and chemical changes in chill-stored red meats. In: *Food microbiology: Advances and Prospects*. Ed.: T. A. Roberts, F. A. Skinner, Academic Press, London, pp. 151-178.
- Daniels, J.A., Krishnamurthi, R., Rizvi, S S.H. (1985). A review of effects of carbon dioxide on microbial growth and food quality. *Journal of Food Protection*, 48: 532-537.
- De Pablo, B., Asensio, M. A., Sanz, B., Ordóñez, J. A. (1989). The D(-) lactic acid and acetoin/diacetyl as potential indicators of the microbial quality of vacuum-packed pork and meat products, *Journal of Applied Bacteriology*, 66: 185-190.
- Deak, T. (2004). Spoilage yeasts (cap. 5). In: *Understanding and measuring the shelf-life of food*. Ed: R. Steel, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England.
- Devlieghere, F., Debevere, J. (2000). Influence of dissolved carbon dioxide on the growth of spoilage bacteria. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 33: 531-537.
- Devlieghere, F., Debevere, J., van Impe, J. (1998). Effect of dissolved carbon dioxide and temperature on the growth of *Lactobacillus sake* in modified atmospheres. *International Journal of Food Microbiology*, 41: 231-238.
- Dillon, V.M. (1998). Yeasts and moulds associated with meat and meat products (cap. 3). In: *The microbiology of meat and poultry*, first edition. Ed: A. Davies, R. Board, Blackie Academic & Professional, London.
- Dixon, N.M. and D.B. Kell. (1989). The inhibition of CO₂ of the growth and metabolism of micro-organisms. *Journal of Applied Bacteriology*, 67: 109-136.
- Doherty, A., Sheridan, J.J., Allen, P., Mcdowell, D.A., Blair, Y.S., Harrington, D. (1995). Growth of *Yersinia enterocolitica* O:3 on modified atmosphere packaged lamb. *Food Microbiology*, 12: 251-157.
- Doyle, M.E. (2007). Microbial food spoilage-losses and control strategies. A brief review of the literature. Fri Briefings. Food Research Institute (www.wisc.edu/frei/).

- Doyle, M.P., Schoeni, J.L. (1987). Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from retail fresh meats and poultry. *Applied Environmental Microbiology*, 53: 2394-2396.
- Drosinos, E.H., Board, R.G. (1995). Microbial and physicochemical attributes of minced lamb: sources of contamination with pseudomonads. *Food Microbiology*, 12: 189-197.
- Drosinos, E.H., Lambropoulou, K., Mitre, E., Nychas, G.J.E. (1997). Attributes of fresh gilt Seabream (*Sparus aurata*) fillets treated with potassium sorbate, sodium gluconate and stored under a modified atmosphere at 0 ± 1 °C. *Journal of Applied Microbiology*, 83: 569-575.
- Du, M., Ahn, D.U., Nam, K.C., Sell, J.L. (2000). Influence of dietary conjugated linoleic acid on volatile profiles, color and lipid oxidation of irradiated raw chicken meat. *Meat Science*, 56: 387-395.
- Du, M., Nam, K.C., Hur, S.J., Ismail, H., Ahn, D.U. (2002). Effect of dietary conjugated linoleic acid, irradiation, and packaging conditions on the quality characteristics of raw broiler breast fillets. *Meat Science*, 60: 9-15.
- Duffy, G., Garvey, P., McDowell, D. A. (2001). Emergence of verocytotoxigenic E. Coli. In: *Verocytotoxigenic E Coli*. Ed: G. Duffy, P Garvey, D. A Mcdowell, C.T. Trumbull, Food & Nutrition Press, pp. 1-10.
- Duffy, G., Garvey, P., McDowell, D.A. (2001). Emergence of verocytotoxigenic E. Coli. In: *Verocytotoxigenic E Coli*. Ed: G. Duffy, P Garvey, D. A Mcdowell, C.T. Trumbull, Food & Nutrition Press, pp. 1-10.
- Duffy, L. L., Vanderlinde, P. B., Grau, F. H. (1994). Growth of *Listeria monocytogenes* on vacuum-packed cooked meats: effect of pH, a_w , nitrite and ascorbate. *International Journal of Food Microbiology*, 23: 377-390.
- Duffy, L.L., Vanderlinde, P.B., Grau, F.H. (1994). Growth of *Listeria monocytogenes* on vacuum-packed cooked meats: effect of pH, a_w , nitrite and ascorbate. *International Journal of Food Microbiology*, 23: 377-390.
- Echevarne, C., Renerre, M., Labas, R. (1990). Metmyoglobin reductase activity in bovine muscles. *Meat Science*, 27: 161-172.
- Edwards, R.A., Dainty, R.H. (1987). Volatile compounds associated with the spoilage of normal and high pH vacuum-packed pork. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 38: 57-66.
- Edwards, R.A., Dainty, R.H., Hibbard, C.M. (1987). Volatile compounds produced by meat pseudomonads and related reference strains during growth on beef stored in air at chill temperatures. *Journal of Applied Bacteriology*, 62: 403-4012.
- Egan, A.F. (1983). Lactic acid bacteria of meat and meat products. *Antonie van Leeuwenhoek*, 49: 327 -336.
- Egan, A.F., Shay, B.J., Rogers, P.J., (1989). Factors affecting the production of hydrogen sulphide by *Lactobacillus sake* L13 growing on vacuum-packaged beef. *International Journal of Food Microbiology*, 67:255-262.
- Eilamo, M., Kinnunen, A., Latva-Kala, K., Ahvenainen, R. (1998). Effects of packaging and storage conditions on volatile compounds in gas-packed poultry meat. *Food Additives and Contaminants*, 15: 217-228.
- Eklund, T., Jarmund, T. (1983). Microculture model studies on the effect of various gas atmospheres on microbial growth at different temperatures. *Journal of Applied Bacteriology*, 55: 119-125.
- Elmore, J.S., Cooper, S.L., Enser, M., Mottram, D.S., Sinclair, L.A., Wilkinson, R.G., Wood, J.D. (2005). Dietary manipulation of fatty acid composition in lamb meat and its effect on the volatile aroma compounds of grilled lamb. *Meat Science*, 69: 233-242.
- Elmore, J.S., Erbahadir, M.A., Mottram, D.S. (1997), Comparison of dynamic headspace concentration on tenax with solid phase microextraction for the analysis of aroma volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 2638-2641.
- Elmore, J.S., Mottram, D.S., Hierro, E. (2000). Two-fibre solid-phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry for the analysis of volatile aroma compounds in cooked pork. *Journal of Chromatography A*, 905: 233-240.
- Encuentra, M.M., Busto, M.B.P. (2002). Recopilación de normas microbiológicas de los alimentos y asimilados y de otros parámetros físico-químicos de interés sanitario. *Alimentaria*, 333: 11-32.
- Enfors, S.O, Molin, G. (1984). Carbon dioxide evolution of refrigerated meat. *Meat Science*, 10: 197-206.

- Enfors, S.O., Molin, G. (1978). The influence of high concentrations of CO₂ on the germination of bacterial spores. *Journal of Applied Bacteriology*, 45: 279-285.
- Enfors, S.O., Molin, G. (1980). Effect of high concentrations of carbon dioxide on growth rate of *Pseudomonas fragi*, *Bacillus cereus* and *Streptococcus cremoris*. *Journal of Applied Microbiology*, 48:409-416.
- Enfors, S.O., Molin, G., Ternström, A. (1979). Effect of packaging under carbon dioxide, nitrogen or air on the microbial flora of pork stored at 4°C. *Journal of Applied Bacteriology*: 47: 197-208.
- Ercolini, D., Russo, F., Torrieri, E., Masi, P., Villani, F. (2006). changes in the spoilage-related microbiota of beef during refrigerated storage under different packaging conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 72: 4663-4671.
- Erichsen, I., Molin, G. (1981). Microbial Flora of normal and high pH beef stored at 4°C in different gas environments. *Journal of Food Protection*, 44: 866-869.
- Erichsen, I., Molin, G., Molin, S.M. (1981). Carbon dioxide packaging as a means of controlling the spoilage flora of DFD meat. *Proceedings of the 27th European Meeting of Meat Research Work*, 27: 683-687.
- Erkmen, O. (2000). Antimicrobial effects of pressurised carbon dioxide on *Brochothrix thermosphacta* in broth and foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 1365-1370.
- Estévez, M., Morcuende, D., Ventanas, S., Cava, R. (2003a). Analysis of volatiles in meat from iberian pigs and lean pigs after refrigeration and cooking by using SPME-GC-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 3429-3435.
- Estévez, M., Ventanas, S., Ramírez, R., Cava, R. (2003b). Deterioro de la carne fresca de cerdo durante la refrigeración: cambios en el perfil de ácidos grasos y generación de compuestos volátiles. *Alimentaria*, Septiembre 03/47.
- Fang, T.J., Lin, L.W. (1994). Growth of *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas fragi* on cooked pork in a modified atmosphere packaging nisin combination system. *Journal of Food Protection*, 57: 479-485.
- Farber, J. M., Cai, Y., Ross, W. H. (1996). Predictive modeling of the growth of *Listeria monocytogenes* in CO₂ environments, *International Journal of Food. Microbiology*, 32: 133-144.
- Farber, J.M. (1991). Microbiological aspects of modified-atmosphere packaging technology – a review. *Journal of Food Protection*, 54: 58-70.
- Farber, J.M., Cai, Y., Ross, W.H. (1996). Predictive modeling of the growth of *Listeria monocytogenes* in CO₂ environments. *International Journal of Food. Microbiology*, 32: 133-144.
- Farmer, L.J. (1992). Meat flavor. In: *The chemistry of muscle-based foods*. Ed: D.E. Johnston, M.K. Knight, D.A. Ledward, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, pp. 169-182.
- Faustman, C., Cassens, R.G. (1990). The biochemical basis for discoloration in fresh meat. *Journal of Muscle Foods*, 1: 217-243.
- Fernández-López, J., Sayas-Barberá, E., Muñoz, T., Sendra, E., Navarro, C., Pérez-Alvarez, J.A. (2008). Effect of packaging conditions on shelf-life of ostrich steak. *Meat Science*, 78: 143-152.
- Fernando, L.N., Berg, E.P., Grün, I.U. (2003). Quantitation of hexanal by automated SPME for studying dietary influences on the oxidation of pork. *Journal of Food Composition and Analysis*, 16: 179-188.
- Flores, M., Grimm, C.C., Toldrá, F., Spanair, A.M. (1997). Correlation of sensory and volatile compounds of Spanish "Serrano" dry-cured ham as a function of two processing times. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 2178-2186.
- Foegeding, E.A., Naumann, H.D., Stringer, W.C. (1983). Effect of aerobic storage before vacuum packaging on the pH, color and bacterial flora of beef. *Journal of Food Protection*, 46: 287-291.
- Forss, D.A. (1972). Odor and flavour compounds from lipids. Pergamon Press, Ltd. Oxford.
- Forsythe, S.J., Hayes, P.R. (1999). Deterioro alimenticio. In: *Higiene de los alimentos, microbiología y HACCP*, segunda edición (cap. 3), Acribia, Zaragoza, pp. 95-97 e 101.
- Frank, D.C., Owen, C.M., Patterson, J. (2004). Solid phase microextraction (SPME) combined with gas-chromatography and olfactometry-mass spectrometry for characterization of cheese aroma compounds. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.*, 37: 139-154.

- Frankel, E.N. (1984). Recent advances in the chemistry of rancidity of fats. In: *Recent advances in the chemistry of meat*. Ed: A.J. Bailey, The Royal Society of Chemistry, London, pp. 87-118.
- Fraqueza, M.J. (2006). Estudo das características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais de carne de peru embalada em atmosfera modificada. Dissertação de Doutoramento apresentada à faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.
- Fraqueza, M.J., Ferreira, M.C., Barreto, A.S. (2008). Spoilage of light (PSE-like) and dark turkey meat under aerobic or modified atmosphere package: microbial indicators and their relationship with total volatile basic nitrogen. *British Poultry Science*, 49:12-20.
- Freeman, L.R., Silverman, G.J., Angelini, P., Merritt, JR C., Esselen, W. B. (1976). Volatiles produced by microorganisms isolated from refrigerated chicken at spoilage. *Applied and Environmental Microbiology*, 32: 222-231.
- Friedrich, J.E., Acree, T. E. (1998). Gas chromatography olfactometry (GC/O) of dairy products. *International Dairy Journal*, 8: 235-241.
- García de Fernando, G.D., Nychas, G.J.E., Peck, M.W., Ordóñez, J.A. (1995). Growth/ survival of psychrotrophic pathogens on meat packaged under modified atmospheres. *International Journal of Food Microbiology*, 28: 221-231.
- García, C., Berdagué, J.J., Antequera, T., López-Bote, C., Córdoba, J.J., Ventanas, J. (1991). Volatile components of dry cured iberian ham. *Food Chemistry*, 41: 23-32.
- García, C., Martín, A., Timón, M.L., Córdoba, J.J. (2000). Microbial populations and volatile compounds in the "bone taint" spoilage of dry cured ham. *Letters in Applied Microbiology*, 30: 61-66.
- García-Esteban, M., Ansorena, D., Astiasarán, I. (2004). Comparison of modified atmosphere packaging and vacuum packaging for long period storage of dry-cured ham: effects on colour, texture and microbiological quality. *Meat Science*, 67: 57-63.
- García-López, M.L., Prieto, M., Otero, A. (1998). The physiological attributes of Gram-negative bacteria associated with spoilage of meat and meat products. The microbiology of meat and poultry, first edition, (cap. 1). Ed: A. Davies, R. Board, Springer-Verlag, pp. 1-18.
- Garout, A.M., A.A. Al-Rashed, R.G. Bell. (1989). Storage life of vacuum- and carbon dioxide-packed New Zealand chilled lamb imported into Saudi Arabia, *Proceedings of the 35th International Congress of Meat Science and Technology*, 20-25 August, Copenhagen, Denmark, pp. 376-388.
- Gäspelin, L., Žlender, B. e Abram, V. (2000). Colour of normal and high pH beef heated to different temperatures as related to oxygenation. *Meat Science*, 54: 391-398.
- Gasser, U., Grosch, W. (1988). Identification of volatile flavour compounds with high aroma values from cooked beef. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 186: 489-494.
- Gee, D.L., Brown, W.D. (1978). Extension of shelf life in refrigerated ground beef stored under an atmosphere containing carbon dioxide and carbon monoxide. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 26: 274-276.
- Genigeorgis, C. (1985). Microbial and safety implications of the use of modified atmospheres to extend the storage life of fresh meat and fish. *International Journal of Food Microbiology*, 1: 237-251.
- Gennari, M., Parini, M., Volpon, D., Serio, M. (1992). Isolation and characterization by conventional methods and genetic transformation of *Psychrobacter* and *Acinetobacter* from fresh and spoiled meat, milk and cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 15: 61-75.
- Giddings, G.G. (1974). Reduction of ferrimyoglobin in meat. *CRC Critical Reviews in Food Technology*, 5: 143-173.
- Gill, C.O. (1976). Substrate limitation of bacterial growth at meat surfaces. *Journal of Applied Bacteriology*, 41: 401-410.
- Gill, C.O. (1979). A review intrinsic bacteria in meat. *Journal of Applied Bacteriology*, 47: 367-378.
- Gill, C.O. (1980). Controlled atmospheres packaging of chilled meat. *Food Control*, 1:74:78.
- Gill, C.O. (1982). Microbial interaction with meats. In: *Meat Microbiology*. Ed: M.H. Brown, Applied Science Publishers, London, pp. 225.

- Gill, C.O. (1983). Meat spoilage and evaluation of the potential storage life of fresh meat. *Journal of Food Protection*, 46: 444-452.
- Gill, C.O. (1986). The control of microbial spoilage in fresh meats. In: *Advances in meat research* Ed: A.M.Pearson, T.R. Dutson, (vol 2), Westport, CT: AVI Publishing Co., pp. 49-88.
- Gill, C.O. (1988). Packaging meat under carbon dioxide: the Captech system. *Proceedings of 34th International Congress of Meat Science and Technology*, Industry Day, Brisbane, Australia, 76-77.
- Gill, C.O. (1996). Extending the storage life of raw chilled meats. *Meat Science*, 43: 99-109.
- Gill, C.O. (1998). Microbial contamination of meat slaughter and butchering of cattle, sheep and pigs (cap.1) In: *The Microbiology of Meat and Poultry*, first edition Ed: A. Davies, R. Board, pp. 1-28.
- Gill, C.O. (2005). Sources of microbial contamination at slaughtering plants. In: *Improving the safety of fresh meat*. Ed: J.N. Sofos, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England.
- Gill, C.O., Harrison, J.C.L. (1989). The storage life of chilled pork packaged under carbon dioxide. *Meat Science*, 26: 313-324.
- Gill, C.O., Jones, T. (1994). The display life of retail-packaged beef steaks after their storage in master packs under various atmospheres. *Meat Science*, 38: 385-396.
- Gill, C.O., Molin, G. (1991). Modified atmospheres and vacuum packing. In *Food preservatives*. Ed: N. Russel, G. W.Gould,. Springer-Verlag, pp. 172-199.
- Gill, C.O., Newton, K.G. (1977). The development of aerobic spoilage flora on meat stored at chill temperatures. *Journal of Applied Bacteriology*, 43:189-195.
- Gill, C.O., Newton, K.G. (1978). The ecology of bacterial spoilage of fresh meat at chill temperatures. *Meat Science*, 2: 207-217.
- Gill, C.O., Newton, K.G. (1979). Spoilage of vacuum-packaged dark, firm, dry meat at chill temperatures. *Applied and Environmental Microbiology*, 37: 362-364.
- Gill, C.O., Newton, K.G. (1981). Microbiology of DFD beef. In: *The problem of dark-cutting in beef*. Ed: D.E. Hood, P.V. Tarrant, Springer-Verlag, pp. 305-321.
- Gill, C.O., Penney, N. (1977). Penetration of bacteria into meat. *Applied and Environmental Microbiology*, 33: 1284-1286.
- Gill, C.O., Penney, N. (1979). Survival of bacteria in carcasses. *Applied and Environmental Microbiology*, 37: 667-669.
- Gill, C.O., Penney, N. (1988). The effect of the fresh red meats: a place to apply modified initial gas volume to meat weight ratio on the atmospheres. *Food Technology*, 42: 65-69.
- Gill, C.O., Reichel, M.P. (1989). Growth of the cold tolerant pathogens *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila* and *Listeria monocytogenes* on high-pH beef packaged under vacuum or carbon dioxide. *Food Microbiology*, 6: 223-230.
- Gill, C.O., Tan, K.H. (1980). Effect of carbon dioxide on growth of meat spoilage bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 39: 237-240.
- González-Miret, M.L., Alonso, S. and Heredia, F.J. (2000). Sistemas Continuos de Control en la Producción de alimentos. (II). Efecto del refrigerado en el control de calidad de carne de ave. *Alimentaria*, Marzo, pp. 31-35.
- Gordon, M.H. (2004). Factors affecting lipid oxidation (cap. 7). In: *Understanding and measuring the shelf-life of food*. Ed: R. Steel, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England.
- Gorraiz, C., Beriain, M.J., Chasco, J., Insausti, K. (2002). Effect of aging time on volatile compounds, odor, and flavor of cooked beef from Pirenaica and Friesian bulls and heifers. *Journal of Food Science*, 67: 916-922.
- Gottschalk, G. (1986). Bacterial metabolism. Springer-Verlag, New York.
- Gould, G. W. (1996). Methods for preservation and extension of shelf life. *International Journal of Food Microbiology*, 33: 51-64.

- Gram, L., Christensen, A.B., Ravn, L., Molin, S., Givskov, M. (1999). Production of acylated homoserine lactones by psychrotrophic members of the *Enterobacteriaceae* Isolated from foods. *Applied and Environmental Microbiology*, 65: 3458-3463.
- Gram, L., Dalgaard, P. (2002). Fish spoilage bacteria-problems and solutions. *Current Opinion in Biotechnology*, 13: 262-266.
- Gram, L., Ravn, L., Rasch, M., Bruhn, J. B., Christensen, A. B., Givskov, M. (2002). Food spoilage-interactions between food spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 78: 79-97.
- Grant, I.R., Patterson, M.F. (1991). A numerical taxonomic study of lactic acid bacteria isolated from irradiated pork and chicken packaged under various gas atmospheres. *Journal of Applied Microbiology*, 70: 302-307.
- Grau, F.H. (1981). Role of pH, lactate, and anaerobiosis in controlling the growth of some fermentative Gram-negative bacteria on beef. *Applied and Environmental Microbiology*, 42: 1043-1050.
- Grau, F.H. (1983). End products of glucose fermentation by *Brochothrix thermosphacta*. *Applied and Environmental Microbiology*, 45: 84-90.
- Grau, F.H., Vanderlinde, P.B. (1990). Growth of *Listeria monocytogenes* on vacuum-packaged beef. *Journal of Food Protection*, 53: 739-741, 746.
- Gray, J.I., Crackel, R.L. (1992). Oxidative flavour changes in meats: Their origin and prevention. In: *The chemistry of muscle-based foods*. Ed: D.E. Johnston, M.K. Knight, D.A. Ledward, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, pp. 145-168.
- Gray, J.I., Pearson, A.M. (1994). Lipid-derived off-flavours in meat - formation and inhibition. In: *Flavour of meat and meat products*. Ed: B.F. Shahidi, Blackie Academic and Professional, Glasgow, pp. 116-143.
- Gray, R.J.H., Elliot, P.H., Tomlins, R.I. (1984). Control of two major pathogens on fresh poultry using a combination potassium sorbate/CO₂ packaging treatment. *Journal of Food Science*, 49: 142-145, 179.
- Gustavsson, P., Borch, E. (1993). Contamination of beef carcasses by psychrotrophic *Pseudomonas* and *Enterobacteriaceae* at different stages along the processing line. *International Journal of Food Microbiology*, 20: 67-83.
- Guynot, M.E., Marín, S., Sanchis, V., Ramos, A.J. (2003). Modified atmosphere packaging for prevention of mold spoilage of bakery products with different pH and water activity levels. *Journal of Food Protection*, 66: 1864-1872.
- Ha, J., Lindsay, R.C. (1990). Distribution of volatile branched chain fatty acids in perinephric fats of various red meat species. *Lebensmittel Wissenschaft and Technologie*, 23: 433-440.
- Hamilton, R.J. (1994). The chemistry of rancidity in foods. In: *Rancidity in Foods*. Ed: J.C. Allen, R.J. Hamilton, Blackie Academic and Professional, Glasgow, pp. 1-21.
- Hancock, D., Besser, T., Lejeune, J., Davis, M., Rice, D. (2001). The control of VTEC in the animal reservoir. *International Journal of Food Microbiology*, 66: 71-78
- Hanna, M.O., Stewart, J.C., Zinc, D.L., Carpenter, Z.L., Vanderzant, C. (1977). Development of *Yersinia enterocolitica* in raw and cooked beef and pork at different temperatures. *Journal of Food Science*, 42: 1180-1184.
- Herbert, R.A., Hendrie, M.S., Gibson, D.M., Shewan, J.M. (1971). Bacteria active in the spoilage of certain seafoods. *Journal of Applied Microbiology*, 34: 41-50.
- Hintlian, C.B., Hotchkiss, J.H. (1986). The safety of modified atmosphere packaging: a review. *Food Technology*, 40: 70-76.
- Hintlian, C.B., Hotchkiss, J.H. (1987). Comparative growth of spoilage and pathogenic organisms on modified atmosphere-packaged cooked beef. *Journal of Food Protection*, 50: 218-223.
- Hitchener, B.J., Egan, A.F. Rogers, P.J. (1982). Characteristics of lactic acid bacteria isolated from vacuum-packaged beef. *Journal of Applied Bacteriology*, 52: 31-37.
- Holley, R.A. (2000). *Brochothrix*. In: *Encyclopedia of Food Microbiology* (vol. 1). Ed: K. Robinson, C.A. Batt, P.D. Patel, Academic Press.
- Holzappel, W.H. (1998). The Gram-positive bacteria associated with meat and meat products. In: *The microbiology of meat and poultry*, first edition. Ed: A. Davies, R. Board, (cap. 2), Springer-Verlag, pp. 35-45, 48-49, 62-64.

- Holzappel, W.H., Gerber, E.S. (1983). *Lactobacillus divergens* sp. nov., a new heterofermentative *Lactobacillus* species producing L(+)-lactate. *Systematic and Applied Microbiology*, 4: 522-534.
- Hood, D.E. (1980). Factors affecting the rate of metmyoglobin accumulation in pre-packaged beef. *Meat Science*, 4: 247-265.
- Huis in't Veld, Jos H. J. (1996). Microbial and biochemical spoilage of foods: an overview. *International Journal of Food Microbiology*, 33: 1-18.
- Hutchins, B.K., Liu, T.H.P., e Watts, B.M. (1967). Effect of additives and refrigeration on reducing activity, metmyoglobin and malonaldehyde in raw ground beef. *Journal of Food Science*, 32: 214-217.
- ICMSF (International Commission for Microbial Specifications in Food) (1983). *Microrganismos de los alimentos: técnicas de análisis microbiológico*. Zaragoza, Acribia, pp. 231.
- ICMSF (International Commission for Microbial Specifications in Food) (1998). *Microorganisms in Foods: 6. Microbial ecology of food commodities*. Blackie Academic e Professional, Baltimore.
- ICMSF (International Commission for Microbial Specifications in Food) (1986). *Microorganisms in Foods: 2. Sampling for microbiological analysis: principles and specific applications*. Blackwell Scientific Publications, London.
- Ingram, M., Dainty, R.H. (1971). Changes caused by microbes in spoilage of meats. *Journal of Applied Bacteriology*, 34: 21-39.
- Insausti, K., Beriain, M.J., Gorraiz, C., Purroy, A. (2002). Volatile compounds of raw beef from five local Spanish cattle breeds stored under modified atmosphere. *Journal of Food Science*, 67: 1580-1589.
- Insausti, K., Beriain, M.J., Purroy, A., Alberty, P, Gorraiz, C., Alzueta, M.J. (2001). Shelf life of beef from local Spanish cattle breeds stored under modified atmosphere. *Meat Science*, 57: 273-281.
- Insausti, K., Beriain, M.J., Purroy, A., Alberty, P, Lizaso, L., Hernandez, B. (1999). Colour stability of beef from different Spanish native cattle breeds stored under vacuum and modified atmosphere. *Meat Science*, 53: 241-249.
- Insausti, K., Gõni, V., Petri, E., Gorraiz, C., Beriain, M J. (2005). Effect of weight at slaughter on the volatile compounds of cooked beef from Spanish cattle breeds. *Meat Science*, 70: 83-90.
- Jackson, T.C., Acuff, G.R., Vanderzant, C., Sharp, T.R., Savell, J.W. (1992). Identification and evaluation of volatile compounds of vacuum and modified atmosphere packaged beef strip loins. *Meat Science*, 31: 175-190.
- Jakobsen, M., Bertelsen, G. (2000). Colour stability and lipid oxidation of fresh beef. Development of a response surface model for predicting the effects of temperature, storage time, and modified atmosphere composition. *Meat Science*, 54: 49-57.
- James, S.J., James, C. (2002). Microbiology of refrigerated meat. In: *Meat refrigeration*, first edition, (cap. 1), Woodhead Publishing, Limited, London, pp. 3-11.
- Jay, J.M. (2000). Habitats, taxonomy and growth parameters. In: *Modern food microbiology*, 6th Edition, (cap. 2), Springer-Verlag, pp. 19.
- Jay, J.M., Shelef, L.A. (1976). Effect of microorganisms on meat proteins at low temperatures. *Journal of the Agriculture and Food Chemistry*, 24: 1113-1116.
- Jayas, D.S., Jeyamkondan, S. (2002). Modified atmosphere storage of grains meats fruits and vegetables. *Biosystems Engineering*, 82: 235-251.
- Jayasingh, P., Cornforth, D. P., Brennand, C. P., Carpenter, C. E., Whittier, D. R. (2002). Sensory evaluation of ground beef stored in high-oxygen modified atmosphere packaging. *Journal of Food Science*, 67: 3493-3496.
- Jayasingh, P., Cornforth, D.P., Carpenter, C.E., Whittier, D. (2001). Evaluation of carbon monoxide treatment in modified atmosphere packaging or vacuum packaging to increase color stability of fresh beef. *Meat Science*, 59: 317-324.
- Jeremiah, L.E. (2001). Packaging alternatives to deliver fresh meats using short-or long-term distribution. *Food Research International*, 34: 749-772.
- Jeremiah, L.E., Gibson, L. L., Argonosa, G. (1995). The influence of inherent muscle quality upon the storage life of chilled pork stored in CO₂ at -1.5°C. *Food Research International*, 28 (1): 51-59.

- Jeremiah, L.E., Gibson, L.L. (2001). The influence of packaging and storage time on the retail properties and case-life of retail-ready beef. *Food Research International*, 34: 621-631.
- Jeremiah, L.E., Gill, C.O., Penney, N. (1992a). The effects on pork storage life of oxygen contamination in nominally anoxic packaging. *Journal of Muscle Foods*, 3: 263-281.
- Jeremiah, L.E., Penney, N., Gill, C.O. (1992b). The effects of prolonged storage under vacuum or CO₂ on the flavour and texture profiles of chilled pork. *Food Research International*, 25: 9-19.
- Jericho, K.W.F., Bradley, J.A., Kozub, G.C. (1994). Bacteriological evaluation of groups of beef carcasses before the wash at six Alberta abattoirs. *Journal of Applied Bacteriology*, 77: 631-634.
- Jiménez, S M., Salsi, M.S., Tiburzi, M.C., Rafaghelli, R.C., Tessi, M.A., Coutaz, V.R. (1997). Spoilage microflora in fresh chicken breast stored at 4°C: influence of packaging methods. *Journal of Applied Microbiology*, 83: 613-618.
- Johansson, G. (1989). Relationships between different colour parameters from reflectance measurements on bovine muscle. *Proceedings of 35th International Congress of Meat Science and Technology*, 20-25 August, Copenhagen, Denmark, vol. 1, pp. 601-607.
- Jones, R.J. (2004). Observations on the succession dynamics of lactic acid bacteria populations in chill-stored vacuum-packaged beef. *International Journal of Food Microbiology*, 90: 273-282.
- Jones, R.J., Hussein, H.M., Zagorec, M., Brightwell, G., Tagg, J. R. (2008). Isolation of lactic acid bacteria with inhibitory activity against pathogens and spoilage organisms associated with fresh meat. *Food Microbiology*, 25: 228-234.
- Kakouri, A., Nychas, G.J.E. (1994). Storage of poultry meat under modified atmospheres or vacuum packs: possible role of microbial metabolites as indicator of spoilage. *Journal of Applied Bacteriology*, 76: 163-172.
- Kandler, O., Weiss, N. (1986). Regular, nonsporng Gram-positive rods. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 8th edition. (cap. 14, vol. 2). Ed: P. Sneath, N. Mair, M. Sharpe, Springer, pp. 1208-1215, 1249-1253.
- Kataoka, H., Lord, H.L., Pawliszyn, J. (2000). Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *Journal of Chromatography*, A880: 35-62.
- Katikou, P., Ambrosiadis, I., Georgantelis, D., Koidis, P., Georgakis, S.A. (2005). Effect of *Lactobacillus*-protective cultures with bacteriocin-like inhibitory substances' producing ability on microbiological, chemical and sensory changes during storage of refrigerated vacuum-packaged sliced beef. *Journal of Applied Microbiology*, 99: 1303-1313.
- Kato, Y., Sakala, R.M., Hayashidani, H., Kiuchi, A., Kaneuci, C., Ogawa, M. (2000). *Lactobacillus algidus* sp. Nov., a psychrophilic lactic acid bacterium isolated from vacuum-packaged refrigeratd beef. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50: 1143-1149.
- Kaya, M., Smith, U. (1991). Behaviour of *Listeria monocytogenes* on vacuum-packed beef. *Fleischwirtschaft*, 71: 424-426.
- Kennedy, C., Buckley, D.J., Kerry, J.P. (2004). Display life of sheep meats retail packaged under atmospheres of various volumes and compositions. *Meat Science*, 68: 649-658.
- Kilcast, D., Subramaniam, P. (2000). The stability and shelf-life of food, first edition (cap. 1), Springer, pp.17 e 18.
- Kim, Y.H, Nam, K.C., Ahn, D.U. (2002). Volatile profiles, lipid oxidation and sensory characteristics of irradiated meat from different animal species. *Meat Science*, 61: 257-265.
- Kitchell, A.G., Shaw, B.G. (1975). Lactic acid bacteria in fresh and cured meat. In: *Lactic acid bacteria in beverages and food*. Ed: J.G Carr, C.V. Cutting, G. Whiting, Academic Press, London, pp. 209-220.
- Kondjoyan, N., Berdagué, J.L. (1996). A compilation of relative retention indices for the analysis of aromatic compounds. Ed. Laboratoire Flaveur, Station de Reserches sur la viande, INRA de Theix, Saint Genes de Champanelle, France.
- Koohmaraie, M. (1994). Muscle proteinases and meat aging. *Meat Science*, 36: 93-104.
- Koutsoumanis, K., Nychas, G.-J. E. (1999). Chemical and sensory changes associated with microbial flora of Mediterranean boque (Boops boops) stored aerobically at 0, 3, 7 and 10 °C. *Applied and Environmental Microbiology*, 65: 698-706.

- Kropf, D.H. (1980). Effects of retail display conditions on meat color. *Proceedings of the 33rd Annual Reciprocal Meat Conference*, 24-29 August, Ghent, Belgium, 33: 15-32.
- Labadie, J. (1999). Consequences of packaging on bacterial growth. Meat is an ecological niche. *Meat Science*, 52: 299-305.
- Lambert, A.D., James, P., Smith, Karen, L. (1991). Shelf life extension and microbiological safety of fresh meat-a review. *Food Microbiology*, 8: 267-297.
- Lambropoulou, K.A., Drosinos, E.H., Nychas, G.J.E. (1996). The effect of glucose supplementation on the spoilage microflora and chemical composition of minced beef stored aerobically or under a modified atmosphere at 4 °C. *International Journal of Food Microbiology*, 30: 281-291.
- Lanier, T.C., Carpenter, J.A., Toledo, R.T., Reagan, J.O. (1978). Metmyoglobin reduction in beef systems as affected by aerobic, anaerobic and carbon monoxide-containing environments. *Journal of Food Science*, 43: 1788-1992.
- Larick, D.K., Turner, B.E., Schoenherr, W.D., Coffey, M.T., Pilkington, D.H. (1992). Volatile compound contents and fatty acid composition of pork as influenced by linoleic acid content of the diet. *Journal of Animal Science*, 70: 1397-1403.
- Lasta, J.A., Pensel, N., Masana, M., Rodríguez, H.R., García, P.T. (1995). Microbial growth and biochemical changes on naturally contaminated chilled-beef subcutaneous adipose tissue stored aerobically. *Meat Science*, 39: 149-158.
- Lawrence, T.E., Dikeman, M.E., Hunt, M.C., Kastner, C.L., Johnson, D.E. (2003a). Staged injection marination with calcium lactate, phosphate, and salt may improve beef water-binding ability and palatability traits. *Meat Science*, 65: 967-972.
- Lawrence, T.E., Dikeman, M.E., Hunt, M.C., Kastner, C.L., Johnson, D.E. (2003b). Effects of calcium salts on beef longissimus quality. *Meat Science*, 64: 299-308.
- Lawrie, R.A. (1985). Meat science, 4th edition, Pergamon Press, Oxford, pp. 44.
- Le Guen, S., Prost, C., Demaimay, M. (2001). Evaluation of the representativeness of the odor of cooked mussel extracts and the relationship between sensory descriptors and potent odorants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 1321-1327.
- Lebert, I., Begot, C., Lebert, A. (1998). Growth of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas fragi* in a meat medium as affected by pH (5.8-7.0), water activity (0.97-1.00) and temperature (7-25°C). *International Journal of Food Microbiology*, 39: 53-60.
- Ledward, D.A. (1970). Metmyoglobin formation in beef stored in carbon dioxide enriched and oxygen depleted atmospheres. *Journal of Food Science*, 35: 33-37.
- Ledward, D.A. (1985). Post-slaughter influences on the formation of metmyoglobin in beef muscles. *Meat Science*, 15: 149-171.
- Ledward, D.A., Dickinson, R.F., Powell, V.H., Shorthose, W. R. (1986). The colour and colour stability of beef *longissimus dorsi* and *semimembranosus* muscles after effective electrical stimulation. *Meat Science*, 16: 245-265.
- Leistner, L. (1992). Food preservation by combined methods. *Food Research International*, 25, 151-158.
- Liao, C.H. (2006). Pseudomonas and related genera. In: *Food spoilage microorganisms*. Ed: C. W. Blackburn, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, pp. 507-540.
- Liu, F., Yang, R.-Q., Li, Y.-F. (2006). Correlations between growth parameters of spoilage micro-organisms and shelf-life of pork stored under air and modified atmosphere at -2, 4 and 10 °C. *Food Microbiology*, 23: 578-583.
- Livingston, M., Brewer, M.S., Kilifer, J., Bidner, B., McKeith, F. (2004). Shelf life characteristics of enhanced modified atmosphere packaged pork. *Meat Science*, 68: 115-122.
- López, M.O., de la Hoz, L., Cambero, M.I., Gallardo, E., Reglero, G., Ordoñez, J.A. (1992). Volatile compounds of dry hams from iberian pigs. *Meat Science*, 31: 267-273.
- Lowry, P.D., Gill, C.O. (1984). Temperature and water activity minima for growth of spoilage moulds from meat. *Journal of Applied Bacteriology*, 56: 193-199.
- Lucke, F.K. (2000). Utilization of microbes to process and preserve meat. *Meat Science*, 56: 105-115.

- Luño, M., Beltrán, J.A., Roncalés, P. (1998). Shelf-life extensión and colour stabilisation of beef packaged in a low O₂ atmosphere containing CO: loin steaks and ground meat. *Meat Science*, 48: 75-84.
- Luño, M., Roncalés, P., Beltrán, J.A. (2000). Beef shelf life in low O₂ and high CO₂ atmospheres containing different low CO concentrations. *Meat Science*, 55: 413-419.
- Macaskie, L.E., Sheard, A.G.M., Dainty, R.H., Hendersen, P.J.F. (1984). Glycerol utilization by *Brochothrix thermosphacta*. *Journal of Applied Bacteriology*, 56: 137-143.
- MacDougall, D.B. (1994). Colour of meat. In: *Quality attributes and their measurement in meat, poultry and fish products*, vol. 9. Ed: A. M. Pearson, T. R. Dutson, Blackie Academic & Professional, London, pp. 79-83.
- Machiels, D., Istasse, L., Ruth, S.M.V. (2004). Gas chromatography-olfactometry analysis of beef meat originating from differently fed Belgian Blue, Limousin and Aberdeen Angus bulls. *Food Chemistry*, 86: 377-383.
- Machiels, D., Ruth, S.M.V., Posthumus, M.A., Istasse, L., (2003). Gas chromatography-olfactometry analysis of the volatile compounds of two commercial Irish beef meats. *Talanta*, 60: 755-764.
- MacLeod, G., Coppock, B. (1976). Volatile flavour components of beef boiled conventionally and by microwave radiation. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 24: 835-841.
- Mancini, R. A., Hunt, M. C. (2005). Current research in meat color. *Meat Science*: 71: 100-121.
- Mano, S.B., Ordoñez, J.A., Garcia de Fernando, G.D. (2000). Growth/survival of natural flora and *Aeromonas hydrophila* on refrigerated uncooked pork and turkey packaged in modified atmospheres. *Food Microbiology*, 17: 657-669.
- Mano, S.B., Pereda, J.A.O., Garcia de Fernando, G.D. (2002). Aumento da vida útil e microbiológica da carne suína embalada em atmosfera modificada. *Ciência e Tecnologia Alimentar*, 22: 1-10.
- Manu-Tawiah, W., Myers, D.J., Olson, D.G., Molins, R.A. (1993). Survival and growth of *Listeria monocytogenes* and *Yersinia enterocolitica* in pork chops packaged under modified gas atmospheres, *Journal of Food Science*, 58: 475-479.
- Marshall, D.L., Andrews, L.S., Wells, J.H., Farr, A.J. (1992). Influence of modified atmosphere packaging on the competitive growth of *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonads fluorescens* on precooked chicken, *Food Microbiology*, 9: 303-309.
- Marsilli, R.T. (1999). Comparison of solid-phase microextraction and dynamic headspace methods for the gas chromatographic-mass spectrometric analysis of light-induced lipid oxidation products in milk. *Journal of Chromatographic Science*, 37: 17-23.
- Martin, L., Timon, M.L., Petron, M.J., Ventanas, J., Antequera, T. (2000). Evolution of volatile aldehydes in Iberian ham matured under different processing conditions. *Meat Science*, 54: 333-337.
- Masson, F., (1998). Catabolisme des acides aminés par les ferments bactériens du saucisson. Insertação de Doutorado apresentada à Université D'Auvergne, Université Blaise Pascal, SRV-URM-INRA, Clermont-Ferrand.
- Mathews, S., Singhal, R.S., Kulkarni, P.R. (1990). Chemical indices of food decomposition. *Trends in Food Science and Technology*, 1:89-91.
- Matos, AC. (2005). Influência do tipo de embalagem no perfil microbiológico e nos indicadores de frescura em carne de avestruz. Dissertação de Mestrado apresentada à Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro. UTAD, Vila Real.
- McKenna, D.R., Mies, P.D., Baird, B.E., Pfeiffer, K.D., Ellebracht, J.W. e Savell, J.W. (2005). Biochemical and physical factors affecting discoloration characteristics of 19 bovine muscles. *Meat Science*, 70: 665-682.
- McMeekin, T.A. (1982). Microbial spoilage of meats. In: *Developments in Food Microbiology-1*. Ed: R. Davies, London, Applied Science Publishers, pp. 1-40.
- McMillin, K.W. (2008). Where is MAP going? a review and future potential of modified atmosphere packaging for meat. *Meat Science*, 80: 43-65.
- McMullen, L.M. and Stiles, M.E. (1991). Changes in microbial parameters and gas composition during modified atmosphere of fresh pork loins cuts. *Journal of Food Protection*, 54: 778-783.
- McMullen, L.M., Stiles, M.E. (1993). Microbial ecology of fresh pork stored under modified atmosphere at -1, 4.4 and 10°C. *International Journal of Food Microbiology*, 18: 1-14.

- Mead, G.C. (1983). Effect of packaging, gaseous environment on the microbiology and shelf-life of processed poultry products. In: *Food microbiology: advances and prospects*. Ed: T. A. Roberts, F. A. Skinner, Academic Press, London, pp. 203-216.
- Molin, G., Tenstrom, A. (1986). Phenotypically based taxonomy of psychrotrophic *Pseudomonas* isolated from spoiled meat, water and soil. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 36: 257-274.
- Molin, G., Ternström, A. (1982). Numerical taxonomy of psychrotrophic *Pseudomonas*. *Journal of General Microbiology*, 128, 1249-1264.
- Montel, M.C., Masson, F., Talon, R., (1998). Bacterial role in flavour development. *Meat Science*, 49, S111-S123.
- Montel, M.C., Reitz, J., Talon, R., Berdagué, J.-L., Rousset-Akrim, S. (1996). Biochemical activities of Micrococcaceae and their effects on the aromatic profiles and odours of a dry sausage model. *Food Microbiology*, 13: 489-499.
- Moon, S.-Y., Cliff, M.A., Li-Chan, E.C.Y. (2006). Odour-active components of simulated beef flavour analysed by solid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry and-olfactometry. *Food Research International*, 39: 294-308.
- Moon, S.-Y., Li-Chan, E.C.Y. (2004). Development of solid-phase microextraction methodology for analysis of headspace volatile compounds in simulated beef flavour. *Food Chemistry*, 88: 141-149.
- Mossel, D.A.A., Corry, J.E.L., Struijk, C.B., Baird, R.M. (1995) Essentials of the microbiology of foods – A textbook for advanced studies. John Wiley & Sons, Chichester, UK.
- Mullan, M., McDowell, D. (2003). Modified atmosphere packaging. In: *Food Packaging Technology*. Ed: R. Coles, D. McDowell, M. J. Kirwan, WileyBlackwell, pp: 303-334.
- Muriel, E., Antequera, T., Petró, M.J., Andrés, A.I., Ruiz, J. (2004). Volatile compounds in Iberian dry-cured loin. *Meat Science*, 68: 391-400.
- Naes, T., Baardseth, P., Helgensen, H., Isaksson, T. (1996). Multivariate techniques in the analysis of meat quality. *Meat Science*, 43: S135-S149.
- Nam, K.C., Ahn, D.U. (2003a). Combination of aerobic and vacuum packaging to control lipid oxidation and off-odor volatiles of irradiated raw turkey breast. *Meat Science*, 63: 389-395.
- Nam, K.C., Ahn, D.U. (2003b). Use of antioxidants to reduce lipid oxidation and off-odor volatiles of irradiated pork homogenates and patties. *Meat Science*, 63: 1-8.
- Nawar, W.W. (1993). Lípidos. In: *Química de los alimentos*. Ed: O.R. Fennema, Acribia, Zaragoza, pp. 157-274.
- Nawar, W.W. (1998). Biochemical processes: lipid instability (cap. 4). In: *Food storage stability*. Ed: I.A. Taub, R.P. Singh, CRC Press, Washington, USA.
- Nesbakken, T. (2005). Biological pathogens in animals (cap. 1). In: *Improving the safety of fresh meat*. Ed: J.N Sofos, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England.
- Newton, K.G., Gill, C.O. (1978a). Storage quality of dark, firm, dry meat. *Applied and Environmental Microbiology*, 36: 375-376.
- Newton, K.G., Gill, C.O. (1978b). The development of the anaerobic spoilage flora of meat stored at chill temperatures. *Journal of Applied Bacteriology*, 44: 91-95.
- Newton, K.G., Harrison, J.C.L., Smith, K.M. (1977). The effect of storage in various gaseous atmospheres on the microflora of lamb chops held at -1 °C. *Journal of Applied Bacteriology*, 43: 53-59.
- Newton, K.G., Harrison, J.C.L., Wauters, A.M. (1978). Sources of psychrotrophic bacteria on meat at the abattoir. *Journal of Applied Bacteriology*, 45: 75-82.
- Newton, K.G., Rigg, W J. (1979). The effect of film permeability on the storage life and microbiology of vacuum-packed meat. *Journal of Applied Bacteriology*, 47: 433-441.
- Nicol, D.J., Shaw, M.K., Ledward, D.A. (1970). Hydrogen sulfide production by bacteria and sulfmyoglobin formation in repacked chilled beef. *Journal of Applied Microbiology*, 19: 937-939.

- Nielsen, J.H., Sørensen, B., Skibsted, L.H., Bertelsen, G. (1997). Oxidation in pre-cooked minced pork as influenced by chill storage of raw muscle. *Meat Science*, 49: 191-197.
- Niku-Paavola, M.L., Laitila, A., Mattila-Sandholm, T., Haikara, A. (1999). New types of antimicrobial compounds produced by *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Applied Microbiology*, 86: 29-35.
- Nissen H, Alvseike O, Bredholt S, Holck A, Nesbakken T. (2000). Comparison between the growth of *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. in ground beef packed by three commercially used packaging techniques. *International Journal of Food Microbiology*, 59:211-20.
- Nissen, H., Sørheim, O., Dainty, R. (1996). Effects of vacuum, modified atmospheres and storage temperature on the microbial flora of packaged beef. *Food Microbiology*, 13: 183-191.
- Norma Francesa V 04-503 (AFNOR) (1988). Viandes et produits à base des viande - Dénombrement des Bactéries lactiques.
- Norma Francesa V 04-504 (AFNOR) (1998). Microbiologie des aliments - Dénombrement des *Pseudomonas* spp. dans les viandes et produits à base des viandes.
- Norma ISO 13681 (1995). Meat and meat products. Enumeration of Yeasts and Moulds - Colony-count technique.
- Norma ISO 13722 (1996). Meat and meat products. Enumeration of *Brochothrix thermosphacta* - Colony-count technique.
- Norma ISO 4833 (1991). Microbiology. General guidance for the enumeration of microorganisms - colony-count technique at 30° C.
- Norma ISO 5552 (1997). Meat and meat products. Detection and enumeration of *Enterobacteriaceae* without resuscitation- MPN technique and colony-count technique.
- Norma Portuguesa 1848 (1979). Carnes, derivados e produtos cárneos. Determinação do teor de azoto básico volátil total.
- Norma Portuguesa 2307 (1987). Microbiologia Alimentar. Regras gerais para contagem de microrganismos psicrotróficos.
- Nortjé, G.L., Nel, L., Jordaan, E., Badenhorst, K., Goedhart, E., Holzapfel, W.H. (1990). The aerobic psychrotrophic populations on meat and meat contact surfaces in a meat production system and on meat stored at chill temperatures. *Journal of Applied Bacteriology*, 68: 335-344.
- Nottingham, P.M. (1982). Microbiology of meat carcasses. In: *Meat Microbiology*. Ed: M.H. Brown, Applied Science Publishers, London, pp. 13-65.
- Nychas, G J.E., Tassou, C.C. (1996). Growth/survival of *Salmonella enteritidis* on fresh poultry and fish stored under vacuum or modified atmosphere. *Letters in Applied Microbiology*, 23: 115-119.
- Nychas, G.-J.E., Arkoudelos, J.S. (1990). Microbiological and physicochemical changes in minced meat under carbon dioxide, nitrogen or air at 3 °C. *International Journal of Food Science Technology*, 25: 389-398.
- Nychas, G.-J.E., Dillon, V.M., Board, R.G. (1988). Glucose the key substrate in the microbiological changes occurring in meat and certain meat products. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 10: 203-231.
- Nychas, G.-J.E., Drosinos, E.H., Board, R.G. (1998). Chemical changes in stored meat (cap.9). In: *The microbiology of meat and poultry*. Ed: A. Davies, R. Board, Springer, pp. 288-320.
- Nychas, G.-J.E., Skandamis, P.N. (2005). Fresh meat spoilage and modified atmosphere packaging (MAP). In: *Improving the safety of fresh meat*. Ed: J. N. Sofos, CRC Press, pp. 461-502.
- Nychas, G.-J.E., Skandamis, P.N., Tassou, C.C., Koutsoumanis, K.P. (2008). Meat spoilage during distribution. *Meat Science*, 78: 77-89.
- Nychas, G.-J.E., Tassou, C.C. (1997). Spoilage Processes and Proteolysis in Chicken as Detected by HPLC. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 74: 199-208.
- Nychas, G-J E., Marshall, D., Sofos, J. (2007). Meat poultry and seafood (cap. 6). In: *Food Microbiology fundamentals and frontiers*. Ed: M.P. Doyle, L.R. Beuchat, T.J. Montville, ASM press.

- O'Keeffe, M., Hood, D.E. (1982). Biochemical factors influencing metmyoglobin formation on beef from muscles of differing colour stability. *Meat Science*, 7: 209-228.
- Okeudo, N.J., Moss, B.W. (2005). Interrelationships amongst carcass and meat quality characteristics of sheep. *Meat Science*, 69: 1-8.
- Olhero, M., Alves, V. (2004). A Carne Maronesa - DOP. Cooperativa Agrícola de Vila Real, Associação de Criadores do Maronês, Vila Real.
- O'Neill, D.J., Troy, D.J. e Mullen, A.M. (2004). Determination of potential inherent variability when measuring beef quality. *Meat Science*, 66: 765-770.
- Ooraikul, B. (2000). Modified atmosphere packaging (MAP) (cap.17). In: *Food preservation techniques*. Ed: P. Zeuthen, L. Bøgh-Sørensen, Woodhead Publishing.
- Ordóñez, J.A., Hierro, E., Bruna, J.M., de la Hoz, L. (1999). Changes in the components of dry-fermented sausage during ripening. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 39: 329-367.
- Ordóñez, J.A., Pablo, B., Pérez de Castro, B., Asensio, M.A., Sanz, B. (1991). Selected chemical and microbiological changes in refrigerated pork stored in carbon dioxide and oxygen enriched atmospheres. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39: 668-672.
- Otrembra, M.M., Dikeman, M.E., Boyle, E.A.E. (1999). Refrigerated shelf life of vacuum-packaged, previously frozen ostrich meat. *Meat Science*, 52: 279-283.
- Palleroni, N.J. (1986). *Pseudomonaceae* (cap.4). In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (vol. 1), 8th edition. Ed: P. Sneath, N. Mair, M. Sharpe, pp. 141-142 e 343.
- Palumbo, S.A. (1986). Is refrigeration enough to restrain foodborne pathogens? *Journal of Food Protection*, 49: 1003-1009.
- Palumbo, S.A. (1988). The growth of *Aeromonas hydrophila* K144 in ground pork at 5°C. *International Journal of Food Microbiology*, 7: 41: 48.
- Patterson, J.T., Gibbs, P.A. (1977). Incidence and spoilage potential of isolates from vacuum-packaged meat of high pH value. *Journal of Applied Bacteriology*, 43: 25-38.
- Patterson, J.T., Gibbs, P.A. (1978). Sources and properties of some organisms isolated in two abattoirs. *Meat Science*, 2: 263-273.
- Pérez-Chabela, M.L., Rodriguez-Serrano, G.M., Laracalderon, P., Guerrero, I. (1999). Microbial spoilage of meats offered for retail sale in Mexico city. *Meat Science*, 51: 279-282.
- Petherson, M.K., Nissen, H., Eie, T., Nilsson, A. (2004). Effect of packaging materials and storage conditions on bacterial growth, off-odour, pH and colour in chicken breast fillets. *Packaging Technology and Science*, 17: 166-174.
- Phillips, C.A. (1996). Modified atmosphere packaging and its effects on the microbiological quality and safety produce. *International Journal of Food Science and Technology*, 31: 463-479.
- Pierson, M.D., Collins-Thompson, D.L., Ordal, Z.J. (1970). Microbiological, sensory, and pigment changes of aerobically and anaerobically packaged beef. *Food Technology*, 24:129-133.
- Pin, C., Garcia de Fernando, G., Ordóñez, J.A. (2002). Effect of modified atmosphere composition on the metabolism of glucose by *Brochothrix thermosphacta*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68: 4441-4447.
- Pittard, B.T., Freeman, L.R., Later, D.W., Lee, M.L. (1982). Identification of volatile organic compounds produced by fluorescent pseudomonads on chicken breast muscle. *Applied and Environmental Microbiology*, 43:1504-1506.
- Pollien, P., Ott, A., Montigon, F., Baumgartner, M., Muñoz-Box, R., Chaintreau, A. (1997). Headspace-gas chromatography-sniffing technique: screening of impact odorants and quantitative aromagram comparisons. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 2630-2637.
- Pradhan, A.A., Rhee, K.S., Hernandez, P. (2000). Stability of catalase and its potential role in lipid oxidation in meat. *Meat Science*, 54: 385-390.
- Purchas, R.W. (1990). An assessment of the role of pH differences in determining the relative tenderness of meat from bulls and steers. *Meat Science*, 27: 129-140.

- Purchas, R.W., Yan, X., Hartley, D.G. (1999). The influence of a period of ageing on the relationship between ultimate pH and shear values of beef *m. longissimus thoracis*. *Meat Science*, 51: 135-141.
- Rababah, T., Hettiarachchy, N.S., Horax, R., Cho, M.J., Davis, B., Dickson, J. (2006). Thiobarbituric acid reactive substances and volatile compounds in chicken breast meat infused with plant extracts and subjected to electron beam irradiation. *Poultry Science*, 85: 1107-1113
- Raes, K., Balcaen, A., Dirinck, P., De Winne, A., Claeys, E., Demeyer, D., De Smet, S. (2003). Meat quality, fatty acid composition and flavour analysis in Belgian retail beef. *Meat Science*, 65: 1237-1246.
- Ranken, M.D. (1994). Rancidity in meats. In: *Rancidity in foods*. Ed: J.C. Allen, R.J. Hamilton, Blackie Academic and Professional, Glasgow, pp. 191-202.
- Rao, D.N., Sachindra, N.M. (2002). Modified atmosphere and vacuum packaging of meat and poultry products. *Food Reviews international*, 18: 263-293.
- Ratledge, C. (1992). Microbial oxidations of fatty alcohols and fatty acids. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 55: 399-400.
- Reddy, I.M., Carpenter, C.E. (1991). Determination of metmyoglobin reductase activity in bovine skeletal muscles. *Journal of Food Science*, 56: 1161-1164.
- Reineccius, G. (1994). Flavour and aroma chemistry. In: *Quality attributes and their measurement in meat, poultry and fish products* (vol. 9). Ed: A. M. Pearson, T. R. Dutson, Blackie Academic & Professional, London, pp. 184-201.
- Reis, E. (1997). Estatística multivariada aplicada, Edições Sílabo, Lisboa.
- Renerre, M (1986). Effect of various gas atmospheres on colour and bacterial growth of fresh beef. In: *Recent advances and developments in the refrigeration of meat by chilling*. Proceedings of meeting of the Commission C2, 10-12 September, Bristol, United Kingdom.
- Renerre, M. (1990). Factors involved in the discoloration of beef meat. *International Journal of Food Science and Technology*, 25: 613-630.
- Rey, C.R., Kraft, A.A., Topel, D.G., Parrish, F.C., Hotchkiss, D.K. (1976). Microbiology of pale, dark and pork. *Journal of Food Science*, 41: 111-116.
- Ridell, J., Korkeala, H. (1997). Minimum growth temperatures of *Hafnia alvei* and other *Enterobacteriaceae* isolated from refrigerated meat determined with a temperature gradient incubator. *International Journal of Food Microbiology*, 35: 287-292.
- Roberts, T.A. (1987). Microbiology and hygiene of red meats. *Proceedings of 33th International Congress of Meat Science and Technology*, 2-7 August, Helsingfors, Finland.
- Rodríguez, H.R., Meichtri, L.H., Margaría, C.A., Pensel, N.A., Rivi, A., Masana, M.O. (2000). Shelf life evaluation of refrigerated vacuum packaged beef kept for extended storage. *Proceedings of 46th International Congress of Meat Science and Technology*, Argentina. 6.I: pp. 668-669.
- Rodríguez, H.R., Suárez Rebollo, M.P., Rivi, A., Lasta, J.A. (1996). Microbiology and kipping quality of refrigerated vacuum packaged beef kept for extended storage. *Proceedings of 42th International Congress of Meat Science and Technology*: pp. 170-171.
- Roseiro, I.C.P. (1999). Caracterização microbiológica físico-química e sensorial das carnes de porco PSE, Normal e DFD. Influencia da tecnologia de desmancha, tipo de embalagem e condições de armazenagem. Dissertação de Doutoramento apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.
- Ross, C.F., Smith, D.M. (2006). Use of volatile as indicators of lipid oxidation in muscle foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5: 18-25.
- Rossel, J.B. (1992). Chemistry of lipids. In: *The chemistry of muscle-based foods*. Ed: D.E. Johnston, M.K. Knight, D.A. Ledward, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, pp. 193-202.
- Rosset, R. (1996). Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. In: *Microbiologie alimentaire* (tome 1). Ed. Lavoisier Tec-doc, London, New York.

- Rousset, S., Renerre, M. (1991). Effect of CO₂ or vacuum packaging on normal and high pH meat shelf-life, *International Journal of Food Science and Technology* 26: 641-652.
- Ruíz, J., Cava, R., Ventanas, J. y Mogens T. Jensen (1998). Headspace solid phase microextraction for the análisis of volatiles in a meat product: dry cured Iberian ham. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 46: 4688-4694.
- Ruíz, J., Cava, R., Ventanas, J., Andrés, A., García, C. (1999). Volatile compounds of dry-cured ham as affected by the length of the curing process. *Meat Science* 52: 19-27.
- Russo, F., Ercolini, D., Mauriello, G., Villani, F. (2006). Behaviour of *Brochothrix thermosphacta* in presence of other meat spoilage microbial groups. *Food Microbiology*, 23: 797-802
- Sakala, R.M., Hayashidani, H., Kato, Y., Hirata, T., Makino, Y.F.A., Yamada, T., Kaneuchi, C., Ogawa, M. (2002). Change in the composition of the microflora on vacuum-packaged beef during chiller storage. *International Journal of Food Microbiology*, 74: 87-99.
- Santé, V.S., Renerre, M., Lacourt, A. (1994). Effect of modified atmosphere packaging on color stability and on microbiology of turkey breast meat. *Journal of Food Quality*, 17: 177-195.
- Saucier, L., Gendron, C., Gariépy, C. (2000). Shelf life of ground poultry meat stored under modified atmospheres. *Poultry Science*, 79: 1851-1856.
- Schillinger, U., Holzapfel, W.H. (2006). Lactic acid bacteria. In *Food spoilage microorganisms*. Ed: C. W. Blackburn, Woodhead Publishing, pp. 541-578.
- Schillinger, U., Lucke, F.-K. (1987). Identification of *lactobacilli* from meat and meat products. *Food Microbiology*, 4: 199-208.
- Schmidt, S., Berger, R.G. (1998). Aroma compounds in fermented sausages of different origins. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 31: 559-567.
- Scholler, U., Molin, S., Wilkins, K. (1997). Volatile metabolites from some Gram-negative bacteria. *Chemosphere*, 35: 1487-1495.
- Sehlegel, H.G.L. (1997). *Microbiologia general*, nueva edición, Ed. Omega, SA, Barcelona, pp. 235-296, 319-320.
- Seydim, A.C., Acton, J.C., Hall, M. A., Dawson, P.L. (2006). Effects of packaging atmospheres on shelf-life quality of ground ostrich meat. *Meat Science*, 73: 503-510.
- Seymour, I.J., Cole, M.B., Coote, P.J. (1994). A substrate-mediated assay of bacterial proton efflux/influx to predict the degree of spoilage of beef mince stored at chill temperatures. *Journal of Applied Bacteriology*, 76: 608-615.
- Shaw, B.G., Harding, C.D. (1984). A numerical taxonomic study of lactic acid bacteria from vacuum packed beef, pork lamb and bacon. *Journal of Applied Bacteriology*, 56: 25-40.
- Shaw, B.G.; Harding, C.D. (1989). *Leuconostoc gelidum* sp. nov. and *Leuconostoc carnosum* sp. nov. from chill-stored meat. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 39: 217-223.
- Shay, B.J., Egan, A.F. (1987). The packaging of chilled red meats. *Food Technology in Australia*, 39: 283-285.
- Shay, B.J., Egan, A.F. (1986). Studies of possible techniques for extending the storage life of chilled pork. *Food Technology in Australia*, 38: 144-146.
- Sheridan, J.J., Doherty, A., Allen, P., McDowell, D.A., Blair, I.S., Harrington, D. (1995). Investigations on the growth of *Listeria monocytogenes* on lamb packaged under modified atmospheres. *Food Microbiology*, 12: 521-521.
- Sheridan, J.J., Doherty, A.M., Allen, P., McDowell, D.A., Blair, I.S., Harrington, D. (1997). The effect of vacuum and modified atmosphere packaging on the shelf-life of lamb primals at different temperatures. *Meat Science*, 45: 107-117.
- Shimizu, C., Matsuura, F. (1968). Purification and some properties of metmyoglobin reductase. *Agricultural and Biological Chemistry*, 32: 587-592.
- Signorini, M., Ponce-Alquicira, Guerrero-Legarreta, I. (2003). Proteolytic and lipolytic changes in beef inoculated with spoilage microorganisms and bioprotective lactic acid bacteria. *International Journal of Food Properties*, 6: 147-163.
- Silla H., Simonsen, B. (1985). Shelf-life of cured, cooked and sliced meat products. I. Influence of composition, vacuum packaging and modified atmospheres. *Fleischwirtschaft*, 65: 66-69.

- Silliker, J.H., Wolfe, S.K. (1980). Microbiological safety considerations in controlled-atmosphere storage of meats. *Food Technology*, 34: 59-63.
- Silliker, J.H., Woodruff, R. E., Lugg, J.R., Wolfe, S.K., Brown, W.D. (1977). Preservation of refrigerated meats with controlled atmospheres: Treatment and post-treatment effects of carbon dioxide on pork and beef. *Meat Science*, 1: 195-204.
- Silva, J.A. (1997). Avaliação da qualidade da carne por métodos objectivos: influência do pH final e tempo de maturação na carne de bovino da raça Maronesa. Dissertação de Mestrado apresentada à Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, UTAD, Vila Real.
- Silva, J.A. (2006). Processos proteolíticos e características sensoriais em carne de bovino da raça Maronesa: influência do pH final e tempo de maturação. Dissertação de Doutoramento apresentada à Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, UTAD, Vila Real.
- Silva, J.A., Patarata, L., Martins, C. (1999). Influence of ultimate pH on bovine meat tenderness during ageing. *Meat Science*, 52: 453-459.
- Singh, R.P., Anderson, B.A. (2004). The major types of food spoilage: an overview (cap. 1). In: *Understanding and measuring the shelf-life of food*. Ed: R. Steel, R., Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England.
- Skandamis, P.N., Nychas, G-J.E. (2002a). Preservation of fresh meat with active and modified atmosphere packaging conditions. *International Journal of Food Science and Technology*, 79: 35-43.
- Skandamis, P.N., Tsigarida, E., Nychas, G-J.E. (2002b). The effect of oregano essential oil on survival/death of *Salmonella typhimurium* in meat stored at 5 °C under aerobic, VP/MAP conditions. *Food Microbiology*, 19: 97-103.
- Smith, J.L., Fratamico, P. M., Novak, J.S. (2004). Quorum sensing: a primer for food microbiologists. *Journal of Food Protection*, 67: 1053-1070.
- Smulders, F.J.M., Van Laack, R.L.J.M. e Eikelenboom, G. (1991). Muscle and meat quality: Biological basis, processing, preparation. In: *The european meat industry in the 1990's*. Ed: F.J.M. Smulders, ECCEAMST, Utrecht, pp. 121-165.
- Sneath, P.H., Jones, D. 1986. Genus *Brochothrix*. section 14-regular, nonsporng Gram-positive rods. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (vol. 2). Ed: P.H. Sneath, N.S. Mair, M.E Sharpe, J.G. Holt, Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 1249-1254.
- Sørheim, O., Erlandsen, T., Nissen, H., Lea, P., Høyem, T. (1997). Effects of Modified Atmosphere Storage on Colour and Microbiological Shelf Life of Normal and Pale, Soft and Exsudative Pork. *Meat Science*, 47: 147-155.
- Sørheim, O., Grini, J.A., Nissen, H., Andersen, H.J., Lea, P. (1995). Pork loins stored in carbon dioxide. Color and microbiological shelf-life. *Fleischwirtschaft*, 75: 679-681.
- Sørheim, O., Kropf, D.H., Hunt, M.C., Karwoski, M.T., Warren, K E. (1996). Effects of modified gas atmosphere packaging on pork loin colour, display life and drip loss. *Meat Science*, 43: 203-212.
- Sørheim, O., Nissen, H., Aune, T., Nesbakken, T. (2001). The use of carbon monoxide in retail meat packaging. Manuscript for IAAFSC, Indianapolis.
- Sørheim, O., Nissen, H., Nesbakken, T. (1999). The storage life of beef and pork packaged in an atmosphere with low carbon monoxide and high carbon dioxide. *Meat Science*, 52: 157-164.
- Spanier, A.M., Vercellotti, J.R., James, J.R. (1992). Correlation of sensory, instrumental and chemical attributes of beef as influenced by meat structure and oxygen exclusion. *Journal of Food Science*, 57: 10-15.
- Specht, K., Baltes, W. (1994). Identification of volatile flavor compounds with high aroma values from shallow-fried beef. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 42: 2246-2251.
- Stahnke, L.H. (1994). Aroma components from dried sausages fermented with *Staphylococcus xylosus*. *Meat Science*, 38: 39-53.
- Stahnke, L.H. (1996) Volatile produced by *Staphylococcus xylosus* growing in meat/fat systems. Simulating fermented sausage minced with different ingredient levels. *Proceedings of the Eighth Weurman Flavour Research Symposium*, 23-26 July, Reading, UK.

- Stanbridge, L.H., Davies, A.R. (1998). The microbiology of chill-stored meat (cap. 6). In: *The microbiology of meat and poultry*, first edition. Ed: A. Davies, R. Board, Springer, pp.174-194.
- Stanhke, L.H. (1995a). Dried sausages fermented with *Staphylococcus xylosus* at different temperatures and with different ingredients levels. Part II. Volatile components. *Meat Science*, 41: 193-209.
- Stanhke, L.H. (1995b). Dried sausages fermented with *Staphylococcus xylosus* at different temperatures and with different ingredients levels. Part III. Sensory evaluation. *Meat Science*, 41: 211-223.
- Stetzer, A.J., Cadwallader, K., Singh, T.K., Mckeith, F.K., Brewer, M.S. (2008). Effect of enhancement and ageing on flavor and volatile compounds in various beef muscles. *Meat Science*, 79: 13-19.
- Stewart, M.R., Hutchins, B. K., Zipser, M.W., Watts, B.M. (1965). Enzymatic reduction of metmyoglobin by ground beef. *Journal of Food Science*, 30: 487-491.
- Stiles, M.E. (1991). Characterization of leucocin A-UAL 187 and cloning of the bacteriocin gene from *Leuconostoc gelidum*. *Journal of Bacteriology*. 173:7491-7500.
- Stiles, M.E., Hastings, J.W. (1991). Bacteriocin production by lactic acid bacteria: potential for use in meat preservation. *Trends in Food Science and Technology*, 2: 247-251.
- Stutz, H.K., Silverman, G J., Angelini, P., Levin, R.E. (1991). Bacteria and volatile compounds associated with ground beef spoilage. *Journal of Food Science*, 56: 1147-1153.
- Sutherland, J., Bayliss, A., Braxton, D., Beumont, A. (1997). Predictive modelling of *Escherichia coli* O157:H7. Inclusion of carbon dioxide as a fourth factor in a pre-existing model. *International Journal of Food Microbiology*, 37: 113-120.
- Sutherland, J.P., Patterson, J.T., Gibbs, P.A., Murray, J.G. (1975a). Some metabolic and biochemical characteristics of representative microbial isolates from vacuum-packaged beef. *Journal of Applied Microbiology*, 39: 139-249.
- Sutherland, J.P., Patterson, J.T., Murray, J.G. (1975b). Changes in the microbiology of vacuum-packaged beef. *Journal of Applied Bacteriology* 39: 227-237.
- Takeoka, G., Buttery, R., Turnbaugh, J., Benson, M. (1995). Odor thresholds of various branched esters. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 28: 153-160.
- Tan, K.H., Gill, C.O. (1982). Physiological basis of CO₂ inhibition of a meat spoilage bacterium, *Pseudomonas fluorescens*. *Meat Science*, 7: 9-17.
- Tassou, C.C., Drosinos, E.H., Nychas, G.J.E. (1996). Inhibition of resident microbial flora and pathogen inocula on cold fresh fish fillets in olive oil, oregano, and lemon juice under modified atmosphere or air. *Journal of Food Protection*, 59: 31-34.
- Taylor, A.A., Down, N.F., Shaw, B.G. (1990). A comparison of modified atmosphere and vacuum skin packing for the storage of red meats. *International Journal of Food Science and Technology*, 25: 98-109.
- Tewari, G., Jayas, D.S., Holley, R.A. (1999). Centralized packaging of retail meat cuts: a review. *Journal of Food Protection*, 62: 418-425.
- Thompson, J., Gentry-Weeks, C.R. (1994). Partie I. Taxonomie, métabolisme, croissance, et génétique des bactéries lactiques, chap. 1-6: Métabolisme des sucres par les bactéries lactiques. In: *Bactéries Lactiques* (vol.1). Ed: H. Roissart, F.M. Luquet, Uriage, Loriga.
- Timón, M.L., Carrapiso A.I., Jurado, Á., van de Lagemaat, J. (2004). A study of the aroma of fried bacon and fried pork loin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84: 825-831.
- Todd, W.A.T., Dundas, S. (2001). The management of VTEC O157 infection. *International Journal of Food Microbiology*, 66: 103-110.
- Tsigarida, E., Boziaris, I.S., Nychas, G.-J.E. (2003). Bacterial synergism or antagonism in a gel cassette system. *Applied Environmental Microbiology*, 69: 7204-7209.
- Tsigarida, E., Nychas, G.-J. E. (2001). Ecophysiological attributes of a *Lactobacillus* sp. and a *Pseudomonas* sp. on a sterile beef fillets in relation to storage temperature and film permeability. *Journal of Applied Microbiology*, 90: 696-705.

- Tucker, G.S. (2003). Food biodeterioration and methods of preservation. In: *Food packaging technology*. Ed: R. Coles, D. McDowel, M. J. Kirwan, Wiley Blackwell, pp: 32-42.
- Valin, C., Ouali, A. (1992). Proteolytic muscle enzymes and post mortem meat tenderisation. In: *New technologies for meat and meat products*. Ed: F.J.M Smulders., F. Toldrá, J. Flores, M. Prieto, ECCEAMST, Nijmegen.
- Vanderzant, C. (1986). Retail appearance, odor, and micropounds of vacuum and modified atmosphere packaged beef strip loins. *Meat Science*, 32: 175-190.
- Varnam, A.H., Sutherland, L. (1995). Meat and meat products - technology, chemistry and microbiology. Food Products Series (vol.3), Chapman and Hall, London.
- Venturini, A.C. (2003). Embalagens de transporte (masterpack) com atmosfera modificada e absorvedores de oxigênio para aumento da vida útil de carne bovina. Dissertação de Mestrado apresentada à Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Viana, E.S., Gomide, L.A.M., Vanetti, M C D. (2005). Effect of modified atmospheres on microbiological, color and sensory properties of refrigerated pork. *Meat Science*, 75: 696-705.
- Vignolo, G.M, Holgado, A.P.R., Oliver, G. (2000). Growth of *Brochothrix thermosphacta* and *Lactobacillus sakei* strains in refrigerated vacuum-packaged meats. *Proceedings of 46th International Congress of Meat Science and Technology*, Argentina. 6.I: 652-653.
- Walker S.J., Betts, G. (2000). Chilled foods microbiology (cap.7). In: *Chilled foods*, second edition. Ed: M. Stringer, C. Dennis, Woodhead Publishing Limited, England, pp. 162-166.
- Warriss, P.D. (1996). Instrumental measurement of colour. In: *Meat quality and meat packaging*. Ed: S. A. Taylor, A. Raimundo, M. Severini, F. J. M. Smulders, ECCAMST, Utrecht, pp. 221-232.
- Watts, B.M., Kendrick, J., Zipser, M.W., Hutchins, B., Saleh, B. (1966). Enzymatic reducing pathways in meat. *Journal of Food Science*, 32: 855-862.
- Widders, P.R., Coates, K.J., Warner, S., Beattie, J.C., Morgan, I.R., Hickey, M.W., (1995). Controlling microbial contamination on beef and lamb meat during processing. *Australian Veterinary Journal*, **72**: 208-211.
- Williams-Campbell, A.M., Jay, J.M. (2002). Effects of diacetyl and carbon dioxide on spoilage microflora in ground beef. *Journal of Food Protection*, 65: 523-527.
- Wimpfheimer, L., Altman, N.S., Hotchkiss, J.H. (1990). Growth of *Listeria monocytogenes* Scott A, serotype 4 and competitive spoilage organism in raw chicken packaged under modified atmospheres and in air. *International Journal of Food Microbiology*, 11: 205-214.
- Wulf, D.M., Emmett, R S., Leheska, J.M. e Moeller, S.J. (2002). Relationships among glycolytic potential, dark cutting (dark, firm, and dry) beef, and cooked beef palatability. *Journal of Animal Science*, 80: 1895-1903.
- Young, L.L., Reviere, R.D., Cole, A.B. (1988). Fresh red meats: a place to apply modified atmospheres. *Food Technology*, 42: 65-69.
- Young, O.A., Baumeister, B.M.B. (1999). The effect of diet on the flavour of cooked beef and the odour compounds in beef fat. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 42: 297-304.
- Zakrys, P.I., Hogan, S.A., O'Sullivan, M.G., Allen, P. e Kerry, J.P. (2008). Effects of oxygen concentration on the sensory evaluation and quality indicators of beef muscle packed under modified atmosphere. *Meat Science*, 79: 648-655.
- Zhang Z., Yang M.-J., Pawliszyn, J. (1994), Solid phase microextraction: a new solvent-free alternative for sample preparation. *Analytical Chemistry*, 66: A844-A853.

ANEXOS

ANEXO A.I. Fichas de análise sensorial

ANÁLISE SENSORIAL DE CARNE FRESCA DE BOVINO EMBALADA

Nome _____

Código da Amostra

Data _____

COR

Vermelho-vivo				
1	2	3	4	5
Vermelho-escuro				
1	2	3	4	5
Púrpura				
1	2	3	4	5
Castanho				
1	2	3	4	5

SUPERFÍCIE DE DESCOLORAÇÃO (Presença de MANCHAS)

1	2	3	4	5	6	7
Ausência (0%)	Leve (1-19%)	Pequena (20-39%)	Modesta (40-59%)	Moderada (60-79%)	Extensa (80-99%)	Total (100%)

APRECIÇÃO GLOBAL

1	2	3	4	5	6	7
Não aceitável						Aceitável

ANÁLISE SENSORIAL DE CARNE FRESCA DE BOVINO APÓS ABERTURA DA EMBALAGEM

Nome _____

Código da Amostra

Data _____

COR

Vermelho-vivo				
1	2	3	4	5
Vermelho-escuro				
1	2	3	4	5
Púrpura				
1	2	3	4	5
Castanho				
1	2	3	4	5

SUPERFÍCIE DE DESCOLORAÇÃO (Presença de MANCHAS)

1	2	3	4	5	6	7
Ausência (0%)	Leve (1-19%)	Pequena (20-39%)	Modesta (40-59%)	Moderada (60-79%)	Extensa (80-99%)	Total (100%)

CHEIRO a carne fresca

1	2	3	4	5	6	7
Pouco intenso						Muito intenso

CHEIRO a carne deteriorada

1	2	3	4	5	6	7
Pouco intenso						Muito intenso

Qual o CHEIRO que detectou

1	2	3	4	5	6	7
Pútrido	Acídico/ Fermentado	Amoniacal	Ranço	Manteiga	Adocicado	Outro

APRECIÇÃO GLOBAL

1	2	3	4	5	6	7
Não aceitável						Aceitável

ANEXO A.II. Análise de variância para os parâmetros microbiológicos, físico-químicos e sensoriais

Quadro AII.1 Análise de variância para BAL						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	0,21	2	0,11	0,07	0,9356
	Resíduo	23,76	15	1,58		
t ₃	pH _f	0,98	2	0,49	0,44	0,6446
	Embalagem	1,55	4	0,39	0,35	0,8424
	pH _f x emb	0,92	8	0,11	0,10	0,9990
	Resíduo	82,89	75	1,11		
t ₅	pH _f	7,58	2	3,79	1,05	0,3728
	Resíduo	53,93	15	3,60		
t ₇	pH _f	5,84	2	2,92	1,10	0,3388
	Embalagem	13,80	4	3,45	1,30	0,2790
	pH _f x emb	2,85	8	0,36	0,13	0,9975
	Resíduo	199,56	75	2,66		
t ₁₀	pH _f	18,91	2	9,45	2,66	0,0763
	Embalagem	15,99	4	4,00	1,13	0,3504
	pH _f x emb	6,12	8	0,77	0,22	0,9872
	Resíduo	266,15	75	3,55		
t ₁₄	pH _f	7,98	2	3,99	1,07	0,3472
	Embalagem	20,44	4	5,11	1,37	0,2512
	pH _f x emb	7,76	8	0,97	0,26	0,9764
	Resíduo	279,01	75	3,72		
t ₂₁	pH _f	9,13	2	4,57	1,23	0,3004
	Embalagem	3,31	3	1,10	0,30	0,8280
	pH _f x emb	6,49	6	1,08	0,29	0,9390
	Resíduo	223,22	60	3,72		
t ₂₈	pH _f	12,85	2	6,43	2,04	0,1472
	Embalagem	0,65	1	0,65	0,21	0,6537
	pH _f x emb	0,76	2	0,38	0,12	0,8861
	Resíduo	94,34	30	3,14		
t ₃₅	pH _f	3,78	2	1,89	1,76	0,2058
	Resíduo	16,09	15	1,07		

Quadro AII.2 Análise de variância para <i>B. thermosphacta</i>						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	0,64	2	0,32	1,50	0,2548
	Resíduo	3,20	15	0,21		
t ₃	pH _f	5,29	2	2,65	2,45	0,0932
	Embalagem	20,55	4	5,14	4,76	0,0018
	pH _f x emb	6,87	8	0,86	0,79	0,6088
	Resíduo	81,04	75	1,08		
t ₅	pH _f	4,27	2	2,14	0,72	0,5037
	Resíduo	44,62	15	2,97		
t ₇	pH _f	37,97	2	18,99	7,27	0,0013
	Embalagem	160,53	4	40,13	15,36	0,0000
	pH _f x emb	11,76	8	1,47	0,56	0,8050
	Resíduo	195,91	75	2,61		
t ₁₀	pH _f	33,89	2	16,94	3,87	0,0252
	Embalagem	131,72	4	32,93	7,51	0,0000
	pH _f x emb	23,02	8	2,88	0,66	0,7277
	Resíduo	328,68	75	4,38		
t ₁₄	pH _f	47,20	2	23,60	10,68	0,0001
	Embalagem	106,71	4	26,68	12,07	0,0000
	pH _f x emb	13,11	8	1,64	0,74	0,6548
	Resíduo	165,76	75	2,21		
t ₂₁	pH _f	32,19	2	16,10	8,52	0,0006
	Embalagem	18,15	3	6,05	3,20	0,0295
	pH _f x emb	12,21	6	2,03	1,08	0,3868
	Resíduo	113,40	60	1,89		
t ₂₈	pH _f	17,98	2	8,99	11,03	0,0003
	Embalagem	0,58	1	0,58	0,71	0,4061
	pH _f x emb	1,04	2	0,52	0,64	0,5350
	Resíduo	24,46	30	0,82		
t ₃₅	pH _f	5,42	2	2,71	3,28	0,0657
	Resíduo	12,38	15	0,83		

Quadro AII.3 Análise de variância para <i>Enterobacteriaceae</i>						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	0,24	2	0,12	1,00	0,3911
	Resíduo	1,82	15	0,12		
t ₃	pH _f	1,22	2	0,61	1,17	0,3153
	Embalagem	2,56	4	0,64	1,23	0,3044
	pH _f x emb	1,44	8	0,18	0,35	0,9442
	Resíduo	38,97	75	0,52		
t ₅	pH _f	4,43	2	2,21	1,28	0,3072
	Resíduo	25,96	15	1,73		
t ₇	pH _f	5,48	2	2,74	3,97	0,0231
	Embalagem	8,92	4	2,23	3,23	0,0168
	pH _f x emb	9,80	8	1,22	1,77	0,0957
	Resíduo	51,78	75	0,69		
t ₁₀	pH _f	12,57	2	6,29	3,39	0,0389
	Embalagem	31,04	4	7,76	4,19	0,0041
	pH _f x emb	8,99	8	1,12	0,61	0,7695
	Resíduo	138,99	75	1,85		
t ₁₄	pH _f	61,10	2	30,55	11,87	0,0000
	Embalagem	85,20	4	21,30	8,28	0,0000
	pH _f x emb	18,84	8	2,35	0,92	0,5088
	Resíduo	192,96	75	2,57		
t ₂₁	pH _f	37,81	2	18,91	6,75	0,0023
	Embalagem	53,85	3	17,95	6,41	0,0008
	pH _f x emb	9,79	6	1,63	0,58	0,7427
	Resíduo	167,97	60	2,80		
t ₂₈	pH _f	6,41	2	3,20	0,84	0,4422
	Embalagem	106,99	1	106,99	28,00	0,0000
	pH _f x emb	0,34	2	0,17	0,04	0,9569
	Resíduo	114,64	30	3,82		
t ₃₅	pH _f	19,20	2	9,60	3,19	0,0703
	Resíduo	45,22	15	3,01		

Quadro AII.4 Análise de variância para <i>Pseudomonas</i> spp.						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	4,59	2	2,29	0,74	0,4919
	Resíduo	46,22	15	3,08		
t ₃	pH _f	24,41	2	12,20	9,25	0,0003
	Embalagem	27,90	4	6,98	5,29	0,0008
	pH _f x emb	2,53	8	0,32	0,24	0,9819
	Resíduo	98,95	75	1,32		
t ₅	pH _f	0,67	2	0,33	0,13	0,8792
	Resíduo	38,51	15	2,57		
t ₇	pH _f	18,52	2	9,26	4,89	0,0101
	Embalagem	303,83	4	75,96	40,10	0,0000
	pH _f x emb	4,55	8	0,57	0,30	0,9637
	Resíduo	142,06	75	1,89		
t ₁₀	pH _f	12,75	2	6,37	4,01	0,0221
	Embalagem	455,76	4	113,94	71,76	0,0000
	pH _f x emb	6,45	8	0,81	0,51	0,8467
	Resíduo	119,09	75	1,59		
t ₁₄	pH _f	29,94	2	14,97	11,90	0,0000
	Embalagem	449,43	4	112,36	89,32	0,0000
	pH _f x emb	9,38	8	1,17	0,93	0,4952
	Resíduo	94,34	75	1,26		
t ₂₁	pH _f	8,65	2	4,32	2,42	0,0977
	Embalagem	126,75	3	42,25	23,63	0,0000
	pH _f x emb	5,87	6	0,98	0,55	0,7703
	Resíduo	107,28	60	1,79		
t ₂₈	pH _f	2,69	2	1,35	0,88	0,4254
	Embalagem	56,45	1	56,45	36,86	0,0000
	pH _f x emb	0,87	2	0,43	0,28	0,7557
	Resíduo	45,93	30	1,53		
t ₃₅	pH _f	29,05	2	14,53	52,22	0,0000
	Resíduo	4,17	15	0,28		

Quadro AII.5 Análise de variância para Fungos						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	0,42	2	0,21	0,09	0,9163
	Resíduo	36,07	15	2,40		
t ₃	pH _f	0,09	2	0,05	0,03	0,9688
	Embalagem	4,29	4	1,07	0,74	0,5696
	pH _f x emb	5,54	8	0,69	0,48	0,8693
	Resíduo	109,15	75	1,46		
t ₅	pH _f	1,74	2	0,87	0,39	0,6811
	Resíduo	33,10	15	2,21		
t ₇	pH _f	3,92	2	1,96	1,37	0,2612
	Embalagem	87,55	4	21,89	15,26	0,0000
	pH _f x emb	5,94	8	0,74	0,52	0,8396
	Resíduo	107,56	75	1,43		
t ₁₀	pH _f	5,94	2	2,97	2,19	0,1194
	Embalagem	285,41	4	71,35	52,56	0,0000
	pH _f x emb	18,21	8	2,28	1,68	0,1181
	Resíduo	101,82	75	1,36		
t ₁₄	pH _f	2,04	2	1,02	0,59	0,5588
	Embalagem	300,70	4	75,18	43,16	0,0000
	pH _f x emb	7,15	8	0,89	0,51	0,8429
	Resíduo	130,62	75	1,74		
t ₂₁	pH _f	1,01	2	0,51	0,32	0,7250
	Embalagem	92,16	3	30,72	19,58	0,0000
	pH _f x emb	9,27	6	1,54	0,98	0,4439
	Resíduo	94,16	60	1,57		
t ₂₈	pH _f	0,99	2	0,50	0,22	0,8061
	Embalagem	48,64	1	48,64	21,25	0,0001
	pH _f x emb	3,16	2	1,58	0,69	0,5092
	Resíduo	68,66	30	2,29		
t ₃₅	pH _f	6,82	2	3,41	1,50	0,2544
	Resíduo	34,07	15	2,27		

Quadro AII.6 Análise de variância para Mesófilos						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	0,62	2	0,31	0,23	0,7992
	Resíduo	20,58	15	1,37		
t ₃	pH _f	3,23	2	1,61	2,58	0,0824
	Embalagem	5,00	4	1,25	2,00	0,1034
	pH _f x emb	3,98	8	0,50	0,80	0,6085
	Resíduo	46,87	75	0,62		
t ₅	pH _f	0,16	2	0,08	0,04	0,9575
	Resíduo	28,32	15	1,89		
t ₇	pH _f	12,72	2	6,36	5,34	0,0068
	Embalagem	150,98	4	37,74	31,67	0,0000
	pH _f x emb	4,20	8	0,52	0,44	0,8930
	Resíduo	89,38	75	1,19		
t ₁₀	pH _f	25,31	2	12,66	9,14	0,0003
	Embalagem	228,27	4	57,07	41,21	0,0000
	pH _f x emb	5,65	8	0,71	0,51	0,8454
	Resíduo	103,85	75	1,38		
t ₁₄	pH _f	32,00	2	16,00	15,02	0,0000
	Embalagem	157,50	4	39,37	36,97	0,0000
	pH _f x emb	9,32	8	1,17	1,09	0,3768
	Resíduo	79,87	75	1,06		
t ₂₁	pH _f	18,62	2	9,31	4,77	0,0120
	Embalagem	12,98	3	4,33	2,22	0,0955
	pH _f x emb	3,68	6	0,61	0,31	0,9270
	Resíduo	117,14	60	1,95		
t ₂₈	pH _f	4,43	2	2,22	2,06	0,1456
	Embalagem	1,59	1	1,59	1,48	0,2333
	pH _f x emb	2,84	2	1,42	1,32	0,2825
	Resíduo	32,33	30	1,08		
t ₃₅	pH _f	17,72	2	8,86	10,67	0,0013
	Resíduo	12,45	15	0,83		

Quadro AII.7 Análise de variância para Psicrotróficos						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	1,22	2	0,61	0,27	0,7670
	Resíduo	33,86	15	2,26		
t ₃	pH _f	6,54	2	3,27	2,94	0,0587
	Embalagem	4,05	4	1,01	0,91	0,4615
	pH _f x emb	5,05	8	0,63	0,57	0,8008
	Resíduo	83,28	75	1,11		
t ₅	pH _f	0,72	2	0,36	0,19	0,8301
	Resíduo	28,62	15	1,91		
t ₇	pH _f	15,28	2	7,64	5,09	0,0085
	Embalagem	138,95	4	34,74	23,13	0,0000
	pH _f x emb	6,69	8	0,84	0,56	0,8094
	Resíduo	112,63	75	1,50		
t ₁₀	pH _f	14,43	2	7,22	4,31	0,0169
	Embalagem	227,84	4	56,96	34,03	0,0000
	pH _f x emb	4,78	8	0,60	0,36	0,9397
	Resíduo	125,55	75	1,67		
t ₁₄	pH _f	23,30	2	11,65	12,92	0,0000
	Embalagem	139,00	4	34,75	38,53	0,0000
	pH _f x emb	4,98	8	0,62	0,69	0,6985
	Resíduo	67,64	75	0,90		
t ₂₁	pH _f	11,08	2	5,54	4,21	0,0195
	Embalagem	8,09	3	2,70	2,05	0,1168
	pH _f x emb	6,01	6	1,00	0,76	0,6041
	Resíduo	79,06	60	1,32		
t ₂₈	pH _f	7,96	2	3,98	2,79	0,0774
	Embalagem	1,27	1	1,27	0,89	0,3535
	pH _f x emb	6,67	2	3,34	2,34	0,1138
	Resíduo	42,80	30	1,43		
t ₃₅	pH _f	1,72	2	0,86	0,93	0,4144
	Resíduo	13,77	15	0,92		

Quadro AII.8 Análise de variância para o pH						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	2,47	2	1,24	60,11	0,0000
	Resíduo	0,31	15	0,02		
t ₃	pH _f	15,26	2	7,63	142,40	0,0000
	Embalagem	0,24	4	0,06	1,10	0,3633
	pH _f x emb	0,12	8	0,01	0,28	0,9710
	Resíduo	4,02	75	0,05		
t ₅	pH _f	2,02	2	1,01	9,18	0,0025
	Resíduo	1,65	15	0,11		
t ₇	pH _f	15,63	2	7,82	155,79	0,0000
	Embalagem	0,11	4	0,03	0,53	0,7119
	pH _f x emb	0,06	8	0,01	0,15	0,9962
	Resíduo	3,76	75	0,05		
t ₁₀	pH _f	13,96	2	6,98	155,49	0,0000
	Embalagem	0,43	4	0,11	2,38	0,0595
	pH _f x emb	0,41	8	0,05	1,15	0,3410
	Resíduo	3,37	75	0,04		
t ₁₄	pH _f	13,69	2	6,84	178,98	0,0000
	Embalagem	1,53	4	0,38	10,01	0,0000
	pH _f x emb	0,42	8	0,05	1,37	0,2235
	Resíduo	2,87	75	0,04		
t ₂₁	pH _f	13,16	2	6,58	215,29	0,0000
	Embalagem	0,44	3	0,15	4,81	0,0045
	pH _f x emb	0,28	6	0,05	1,55	0,1788
	Resíduo	1,83	60	0,03		
t ₂₈	pH _f	6,23	2	3,11	92,98	0,0000
	Embalagem	0,01	1	0,01	0,19	0,6697
	pH _f x emb	0,07	2	0,04	1,07	0,3545
	Resíduo	1,00	30	0,03		
t ₃₅	pH _f	2,67	2	1,33	32,06	0,0000
	Resíduo	0,62	15	0,04		

Quadro AII.9 Análise de variância para o ABVT						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	74,21	2	37,11	22,69	0,0000
	Resíduo	24,53	15	1,64		
t ₃	pH _f	9,87	2	4,94	1,08	0,3448
	Embalagem	9,26	4	2,32	0,51	0,7310
	pH _f x emb	24,07	8	3,01	0,66	0,7261
	Resíduo	342,81	75	4,57		
t ₅	pH _f	29,58	2	14,79	3,72	0,0489
	Resíduo	59,69	15	3,98		
t ₇	pH _f	153,32	2	76,66	14,92	0,0000
	Embalagem	36,59	4	9,15	1,78	0,1416
	pH _f x emb	101,46	8	12,68	2,47	0,0197
	Resíduo	385,31	75	5,14		
t ₁₀	pH _f	315,27	2	157,63	16,24	0,0000
	Embalagem	554,15	4	138,54	14,27	0,0000
	pH _f x emb	478,62	8	59,83	6,16	0,0000
	Resíduo	727,94	75	9,71		
t ₁₄	pH _f	814,74	2	407,37	25,24	0,0000
	Embalagem	2451,47	4	612,87	37,97	0,0000
	pH _f x emb	2033,97	8	254,25	15,75	0,0000
	Resíduo	1210,43	75	16,14		
t ₂₁	pH _f	115,30	2	57,65	6,86	0,0021
	Embalagem	6,91	3	2,30	0,27	0,8441
	pH _f x emb	31,06	6	5,18	0,62	0,7170
	Resíduo	504,55	60	8,41		
t ₂₈	pH _f	485,34	2	242,67	8,70	0,0010
	Embalagem	12,83	1	12,83	0,46	0,5029
	pH _f x emb	62,01	2	31,01	1,11	0,3423
	Resíduo	837,09	30	27,90		
t ₃₅	pH _f	32,58	2	16,29	3,66	0,0509
	Resíduo	66,85	15	4,46		

Quadro AII.11 Análise de variância para L* ₆₀						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	90,08	2	45,04	8,01	0,0043
	Resíduo	84,38	15	5,63		
t ₃	pH _f	188,87	2	94,43	21,89	0,0000
	Embalagem	90,01	4	22,50	5,22	0,0009
	pH _f x emb	56,59	8	7,07	1,64	0,1278
	Resíduo	323,50	75	4,31		
t ₅	pH _f	79,71	2	39,86	11,65	0,0009
	Resíduo	51,32	15	3,42		
t ₇	pH _f	351,83	2	175,91	48,09	0,0000
	Embalagem	56,84	4	14,21	3,88	0,0064
	pH _f x emb	24,78	8	3,10	0,85	0,5651
	Resíduo	274,37	75	3,66		
t ₁₀	pH _f	403,85	2	201,92	48,11	0,0000
	Embalagem	87,00	4	21,75	5,18	0,0010
	pH _f x emb	32,03	8	4,00	0,95	0,4783
	Resíduo	314,76	75	4,20		
t ₁₄	pH _f	476,68	2	238,34	58,85	0,0000
	Embalagem	63,97	4	15,99	3,95	0,0058
	pH _f x emb	12,78	8	1,60	0,39	0,9202
	Resíduo	303,75	75	4,05		
t ₂₁	pH _f	467,24	2	233,62	50,74	0,0000
	Embalagem	124,81	3	41,60	9,04	0,0001
	pH _f x emb	12,92	6	2,15	0,47	0,8297
	Resíduo	276,27	60	4,60		
t ₂₈	pH _f	302,10	2	151,05	34,02	0,0000
	Embalagem	161,33	1	161,33	36,34	0,0000
	pH _f x emb	5,95	2	2,97	0,67	0,5193
	Resíduo	133,20	30	4,44		
t ₃₅	pH _f	135,79	2	67,90	29,04	0,0000
	Resíduo	35,07	15	2,34		

Quadro AII.10 Análise de variância para L* ₀						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	37,92	2	18,96	3,74	0,0482
	Resíduo	76,08	15	5,07		
t ₃	pH _f	188,64	2	94,32	25,13	0,0000
	Embalagem	262,44	4	65,61	17,48	0,0000
	pH _f x emb	40,88	8	5,11	1,36	0,2273
	Resíduo	281,49	75	3,75		
t ₅	pH _f	80,90	2	40,45	13,07	0,0005
	Resíduo	46,41	15	3,09		
t ₇	pH _f	275,88	2	137,94	38,26	0,0000
	Embalagem	188,93	4	47,23	13,10	0,0000
	pH _f x emb	37,49	8	4,69	1,30	0,2568
	Resíduo	270,42	75	3,61		
t ₁₀	pH _f	355,22	2	177,61	41,30	0,0000
	Embalagem	194,47	4	48,62	11,30	0,0000
	pH _f x emb	34,29	8	4,29	1,00	0,4457
	Resíduo	322,55	75	4,30		
t ₁₄	pH _f	440,73	2	220,36	52,23	0,0000
	Embalagem	159,93	4	39,98	9,48	0,0000
	pH _f x emb	14,14	8	1,77	0,42	0,9062
	Resíduo	316,44	75	4,22		
t ₂₁	pH _f	388,75	2	194,38	44,72	0,0000
	Embalagem	204,53	3	68,18	15,69	0,0000
	pH _f x emb	8,99	6	1,50	0,34	0,9103
	Resíduo	260,77	60	4,35		
t ₂₈	pH _f	257,82	2	128,91	30,53	0,0000
	Embalagem	266,12	1	266,12	63,02	0,0000
	pH _f x emb	10,18	2	5,09	1,21	0,3137
	Resíduo	126,69	30	4,22		
t ₃₅	pH _f	106,92	2	53,46	23,41	0,0000
	Resíduo	34,25	15	2,28		

Quadro AII.12 Análise de variância para ΔL*						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	11,12	2	5,56	5,24	0,0188
	Resíduo	15,93	15	1,06		
t ₃	pH _f	0,10	2	0,05	0,05	0,9533
	Embalagem	47,73	4	11,93	10,90	0,0000
	pH _f x emb	17,29	8	2,16	1,97	0,0613
	Resíduo	82,11	75	1,09		
t ₅	pH _f	0,13	2	0,06	0,74	0,4931
	Resíduo	1,30	15	0,09		
t ₇	pH _f	4,84	2	2,42	5,29	0,0071
	Embalagem	39,33	4	9,83	21,46	0,0000
	pH _f x emb	9,72	8	1,21	2,65	0,0129
	Resíduo	34,36	75	0,46		
t ₁₀	pH _f	2,31	2	1,16	4,42	0,0153
	Embalagem	25,41	4	6,35	24,28	0,0000
	pH _f x emb	1,80	8	0,23	0,86	0,5535
	Resíduo	19,62	75	0,26		
t ₁₄	pH _f	0,80	2	0,40	1,95	0,1498
	Embalagem	23,15	4	5,79	28,06	0,0000
	pH _f x emb	2,69	8	0,34	1,63	0,1301
	Resíduo	15,47	75	0,21		
t ₂₁	pH _f	6,14	2	3,07	9,14	0,0003
	Embalagem	11,03	3	3,68	10,94	0,0000
	pH _f x emb	1,37	6	0,23	0,68	0,6665
	Resíduo	20,17	60	0,34		
t ₂₈	pH _f	2,35	2	1,18	4,09	0,0268
	Embalagem	13,04	1	13,04	45,46	0,0000
	pH _f x emb	0,94	2	0,47	1,64	0,2106
	Resíduo	8,61	30	0,29		
t ₃₅	pH _f	1,91	2	0,95	1,95	0,1772
	Resíduo	7,34	15	0,49		

Quadro AII.13 Análise de variância para a^*_{60}						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	8,63	2	4,31	2,12	0,1542
	Resíduo	30,48	15	2,03		
t ₃	pH _f	79,21	2	39,61	17,45	0,0000
	Embalagem	791,41	4	197,85	87,17	0,0000
	pH _f x emb	40,27	8	5,03	2,22	0,0352
	Resíduo	170,23	75	2,27		
t ₅	pH _f	77,06	2	38,53	14,00	0,0004
	Resíduo	41,28	15	2,75		
t ₇	pH _f	152,98	2	76,49	30,92	0,0000
	Embalagem	505,10	4	126,28	51,05	0,0000
	pH _f x emb	131,52	8	16,44	6,65	0,0000
	Resíduo	185,51	75	2,47		
t ₁₀	pH _f	233,26	2	116,63	34,75	0,0000
	Embalagem	371,74	4	92,93	27,69	0,0000
	pH _f x emb	165,13	8	20,64	6,15	0,0000
	Resíduo	251,73	75	3,36		
t ₁₄	pH _f	378,28	2	189,14	25,43	0,0000
	Embalagem	327,17	4	81,79	11,00	0,0000
	pH _f x emb	285,76	8	35,72	4,80	0,0001
	Resíduo	557,75	75	7,44		
t ₂₁	pH _f	842,47	2	421,24	88,38	0,0000
	Embalagem	219,27	3	73,09	15,34	0,0000
	pH _f x emb	488,10	6	81,35	17,07	0,0000
	Resíduo	285,97	60	4,77		
t ₂₈	pH _f	107,15	2	53,57	5,24	0,0112
	Embalagem	331,73	1	331,73	32,46	0,0000
	pH _f x emb	195,39	2	97,70	9,56	0,0006
	Resíduo	306,60	30	10,22		
t ₃₅	pH _f	4,87	2	2,44	4,19	0,0358
	Resíduo	8,72	15	0,58		

Quadro AII.14 Análise de variância para a^*_{60}						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	28,64	2	14,32	5,61	0,0152
	Resíduo	38,29	15	2,55		
t ₃	pH _f	66,02	2	33,01	11,11	0,0001
	Embalagem	303,62	4	75,90	25,54	0,0000
	pH _f x emb	43,73	8	5,47	1,84	0,0829
	Resíduo	222,94	75	2,97		
t ₅	pH _f	91,60	2	45,80	16,88	0,0001
	Resíduo	40,71	15	2,71		
t ₇	pH _f	79,60	2	39,80	12,45	0,0000
	Embalagem	188,07	4	47,02	14,71	0,0000
	pH _f x emb	163,79	8	20,47	6,40	0,0000
	Resíduo	239,80	75	3,20		
t ₁₀	pH _f	112,01	2	56,00	13,96	0,0000
	Embalagem	188,61	4	47,15	11,75	0,0000
	pH _f x emb	276,47	8	34,56	8,61	0,0000
	Resíduo	300,96	75	4,01		
t ₁₄	pH _f	256,16	2	128,08	18,47	0,0000
	Embalagem	221,17	4	55,29	7,97	0,0000
	pH _f x emb	362,01	8	45,25	6,53	0,0000
	Resíduo	520,08	75	6,93		
t ₂₁	pH _f	631,97	2	315,98	62,51	0,0000
	Embalagem	246,80	3	82,27	16,27	0,0000
	pH _f x emb	649,10	6	108,18	21,40	0,0000
	Resíduo	303,31	60	5,06		
t ₂₈	pH _f	54,12	2	27,06	2,56	0,0944
	Embalagem	671,59	1	671,59	63,45	0,0000
	pH _f x emb	305,82	2	152,91	14,45	0,0000
	Resíduo	317,55	30	10,59		
t ₃₅	pH _f	40,11	2	20,05	11,39	0,0010
	Resíduo	26,42	15	1,76		

Quadro AII.15 Análise de variância para Δa^*						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	5,85	2	2,93	5,79	0,0137
	Resíduo	7,58	15	0,51		
t ₃	pH _f	0,95	2	0,48	0,45	0,6393
	Embalagem	137,46	4	34,36	32,44	0,0000
	pH _f x emb	18,59	8	2,32	2,19	0,0372
	Resíduo	79,46	75	1,06		
t ₅	pH _f	0,84	2	0,42	1,47	0,2604
	Resíduo	4,28	15	0,29		
t ₇	pH _f	14,33	2	7,16	5,55	0,0056
	Embalagem	110,88	4	27,72	21,49	0,0000
	pH _f x emb	13,41	8	1,68	1,30	0,2569
	Resíduo	96,74	75	1,29		
t ₁₀	pH _f	24,75	2	12,37	18,80	0,0000
	Embalagem	124,91	4	31,23	47,44	0,0000
	pH _f x emb	26,03	8	3,25	4,94	0,0001
	Resíduo	49,37	75	0,66		
t ₁₄	pH _f	22,64	2	11,32	15,07	0,0000
	Embalagem	93,58	4	23,39	31,13	0,0000
	pH _f x emb	18,79	8	2,35	3,13	0,0042
	Resíduo	56,36	75	0,75		
t ₂₁	pH _f	16,30	2	8,15	9,97	0,0002
	Embalagem	109,60	3	36,53	44,70	0,0000
	pH _f x emb	17,33	6	2,89	3,54	0,0046
	Resíduo	49,03	60	0,82		
t ₂₈	pH _f	11,65	2	5,82	12,24	0,0001
	Embalagem	59,32	1	59,32	124,71	0,0000
	pH _f x emb	12,63	2	6,32	13,28	0,0001
	Resíduo	14,27	30	0,48		
t ₃₅	pH _f	17,55	2	8,78	15,43	0,0002
	Resíduo	8,53	15	0,57		

Quadro AII.16 Análise de variância para b^*_{60}						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	1,18	2	0,59	0,96	0,4054
	Resíduo	9,20	15	0,61		
t ₃	pH _f	55,39	2	27,70	24,61	0,0000
	Embalagem	770,64	4	192,66	171,21	0,0000
	pH _f x emb	37,53	8	4,69	4,17	0,0004
	Resíduo	84,40	75	1,13		
t ₅	pH _f	22,06	2	11,03	5,74	0,0141
	Resíduo	28,81	15	1,92		
t ₇	pH _f	43,56	2	21,78	19,42	0,0000
	Embalagem	613,72	4	153,43	136,82	0,0000
	pH _f x emb	43,19	8	5,40	4,81	0,0001
	Resíduo	84,11	75	1,12		
t ₁₀	pH _f	9,81	2	4,90	3,91	0,0243
	Embalagem	510,36	4	127,59	101,66	0,0000
	pH _f x emb	37,79	8	4,72	3,76	0,0009
	Resíduo	94,13	75	1,26		
t ₁₄	pH _f	16,33	2	8,16	5,14	0,0081
	Embalagem	469,20	4	117,30	73,92	0,0000
	pH _f x emb	45,28	8	5,66	3,57	0,0015
	Resíduo	119,02	75	1,59		
t ₂₁	pH _f	8,43	2	4,22	2,99	0,0580
	Embalagem	443,35	3	147,78	104,68	0,0000
	pH _f x emb	16,82	6	2,80	1,99	0,0818
	Resíduo	84,71	60	1,41		
t ₂₈	pH _f	21,78	2	10,89	8,75	0,0010
	Embalagem	306,19	1	306,19	246,09	0,0000
	pH _f x emb	1,48	2	0,74	0,60	0,5571
	Resíduo	37,33	30	1,24		
t ₃₅	pH _f	4,53	2	2,26	4,58	0,0280
	Resíduo	7,41	15	0,49		

Quadro AII.17 Análise de variância para b^*_{60}						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	17,57	2	8,78	5,86	0,0131
	Resíduo	22,47	15	1,50		
t ₃	pH _f	61,49	2	30,74	19,97	0,0000
	Embalagem	225,08	4	56,27	36,56	0,0000
	pH _f x emb	28,93	8	3,62	2,35	0,0260
	Resíduo	115,43	75	1,54		
t ₅	pH _f	24,70	2	12,35	8,11	0,0041
	Resíduo	22,83	15	1,52		
t ₇	pH _f	42,88	2	21,44	15,60	0,0000
	Embalagem	167,83	4	41,96	30,53	0,0000
	pH _f x emb	65,58	8	8,20	5,97	0,0000
	Resíduo	103,06	75	1,37		
t ₁₀	pH _f	21,74	2	10,87	6,79	0,0020
	Embalagem	106,07	4	26,52	16,56	0,0000
	pH _f x emb	83,85	8	10,48	6,55	0,0000
	Resíduo	120,10	75	1,60		
t ₁₄	pH _f	41,61	2	20,80	13,67	0,0000
	Embalagem	108,88	4	27,22	17,89	0,0000
	pH _f x emb	78,58	8	9,82	6,46	0,0000
	Resíduo	114,10	75	1,52		
t ₂₁	pH _f	27,19	2	13,60	8,45	0,0006
	Embalagem	102,55	3	34,18	21,24	0,0000
	pH _f x emb	61,96	6	10,33	6,42	0,0000
	Resíduo	96,58	60	1,61		
t ₂₈	pH _f	68,07	2	34,04	22,67	0,0000
	Embalagem	56,90	1	56,90	37,89	0,0000
	pH _f x emb	3,64	2	1,82	1,21	0,3119
	Resíduo	45,05	30	1,50		
t ₃₅	pH _f	38,50	2	19,25	17,67	0,0001
	Resíduo	16,34	15	1,09		

Quadro AII.19 Análise de variância para a cor Vermelho-vivo (E)						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	0,16	2	0,08	1,64	0,2422
	Resíduo	0,49	10	0,05		
t ₃	pH _f	21,36	2	10,68	20,16	0,0000
	Embalagem	180,42	4	45,10	85,15	0,0000
	pH _f x emb	8,35	8	1,04	1,97	0,0618
	Resíduo	39,73	75	0,53		
t ₅	pH _f	3,67	2	1,84	2,46	0,1239
	Resíduo	9,69	13	0,75		
t ₇	pH _f	55,54	2	27,77	41,83	0,0000
	Embalagem	107,12	4	26,78	40,34	0,0000
	pH _f x emb	25,81	8	3,23	4,86	0,0001
	Resíduo	49,80	75	0,66		
t ₁₀	pH _f	59,05	2	29,52	52,92	0,0000
	Embalagem	87,36	4	21,84	39,15	0,0000
	pH _f x emb	38,57	8	4,82	8,64	0,0000
	Resíduo	41,84	75	0,56		
t ₁₄	pH _f	60,60	2	30,30	36,61	0,0000
	Embalagem	79,51	4	19,88	24,02	0,0000
	pH _f x emb	37,84	8	4,73	5,71	0,0000
	Resíduo	62,07	75	0,83		
t ₂₁	pH _f	57,06	2	28,53	89,40	0,0000
	Embalagem	75,02	3	25,01	78,36	0,0000
	pH _f x emb	36,45	6	6,07	19,03	0,0000
	Resíduo	19,15	60	0,32		
t ₂₈	pH _f	2,81	2	1,40	3,77	0,0347
	Embalagem	3,94	1	3,94	10,57	0,0028
	pH _f x emb	3,09	2	1,54	4,14	0,0258
	Resíduo	11,18	30	0,37		
t ₃₅	pH _f	0,16	2	0,08	1,64	0,2422
	Resíduo	0,49	10	0,05		

Quadro AII.18 Análise de variância para Δb^*						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	10,89	2	5,44	7,64	0,0052
	Resíduo	10,69	15	0,71		
t ₃	pH _f	1,17	2	0,58	0,81	0,4501
	Embalagem	165,28	4	41,32	57,13	0,0000
	pH _f x emb	14,29	8	1,79	2,47	0,0197
	Resíduo	54,24	75	0,72		
t ₅	pH _f	0,15	2	0,07	0,35	0,7115
	Resíduo	3,14	15	0,21		
t ₇	pH _f	15,88	2	7,94	9,76	0,0002
	Embalagem	141,89	4	35,47	43,62	0,0000
	pH _f x emb	12,73	8	1,59	1,96	0,0637
	Resíduo	60,99	75	0,81		
t ₁₀	pH _f	15,26	2	7,63	23,84	0,0000
	Embalagem	163,63	4	40,91	127,83	0,0000
	pH _f x emb	19,93	8	2,49	7,79	0,0000
	Resíduo	24,00	75	0,32		
t ₁₄	pH _f	13,42	2	6,71	16,55	0,0000
	Embalagem	133,78	4	33,45	82,47	0,0000
	pH _f x emb	17,52	8	2,19	5,40	0,0000
	Resíduo	30,42	75	0,41		
t ₂₁	pH _f	6,64	2	3,32	3,77	0,0287
	Embalagem	130,51	3	43,50	49,37	0,0000
	pH _f x emb	25,28	6	4,21	4,78	0,0005
	Resíduo	52,87	60	0,88		
t ₂₈	pH _f	12,88	2	6,44	13,05	0,0001
	Embalagem	99,10	1	99,10	200,87	0,0000
	pH _f x emb	9,55	2	4,77	9,67	0,0006
	Resíduo	14,80	30	0,49		
t ₃₅	pH _f	18,99	2	9,49	11,24	0,0010
	Resíduo	12,67	15	0,84		

Quadro AII.20 Análise de variância para a cor Vermelho-vivo						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	12,01	2	6,00	13,17	0,0016
	Resíduo	4,56	10	0,46		
t ₃	pH _f	26,26	2	13,13	15,47	0,0000
	Embalagem	22,41	4	5,60	6,60	0,0001
	pH _f x emb	12,28	8	1,54	1,81	0,0888
	Resíduo	62,80	74	0,85		
t ₅	pH _f	5,10	2	2,55	3,62	0,0521
	Resíduo	10,57	15	0,70		
t ₇	pH _f	2,97	2	1,49	1,89	0,1581
	Embalagem	18,75	4	4,69	5,97	0,0003
	pH _f x emb	37,73	8	4,72	6,01	0,0000
	Resíduo	58,10	74	0,79		
t ₁₀	pH _f	5,54	2	2,77	5,56	0,0056
	Embalagem	20,74	4	5,18	10,41	0,0000
	pH _f x emb	61,03	8	7,63	15,32	0,0000
	Resíduo	37,36	75	0,50		
t ₁₄	pH _f	9,16	2	4,58	6,59	0,0023
	Embalagem	20,32	4	5,08	7,30	0,0001
	pH _f x emb	61,72	8	7,72	11,09	0,0000
	Resíduo	52,16	75	0,70		
t ₂₁	pH _f	12,14	2	6,07	12,71	0,0000
	Embalagem	9,76	3	3,25	6,81	0,0005
	pH _f x emb	43,51	6	7,25	15,18	0,0000
	Resíduo	28,66	60	0,48		
t ₂₈	pH _f	3,12	2	1,56	3,20	0,0551
	Embalagem	4,49	1	4,49	9,22	0,0049
	pH _f x emb	12,27	2	6,14	12,59	0,0001
	Resíduo	14,62	30	0,49		
t ₃₅	pH _f	12,01	2	6,00	13,17	0,0016
	Resíduo	4,56	10	0,46		

Quadro AII.21 Análise de variância para a cor Vermelho-escuro						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	0,00	2	0,00		
	Resíduo	0,00	10	0,00		
t ₃	pH _f	8,68	2	4,34	19,81	0,0000
	Embalagem	12,50	4	3,13	14,26	0,0000
	pH _f x emb	6,90	8	0,86	3,93	0,0006
	Resíduo	16,44	75	0,22		
t ₅	pH _f	8,09	2	4,04	4,82	0,0272
	Resíduo	10,91	13	0,84		
t ₇	pH _f	2,77	2	1,39	6,86	0,0018
	Embalagem	6,39	4	1,60	7,90	0,0000
	pH _f x emb	6,00	8	0,75	3,71	0,0011
	Resíduo	15,16	75	0,20		
t ₁₀	pH _f	6,67	2	3,33	27,15	0,0000
	Embalagem	14,62	4	3,66	29,77	0,0000
	pH _f x emb	16,12	8	2,02	16,41	0,0000
	Resíduo	9,21	75	0,12		
t ₁₄	pH _f	7,88	2	3,94	8,29	0,0006
	Embalagem	16,39	4	4,10	8,62	0,0000
	pH _f x emb	7,52	8	0,94	1,98	0,0607
	Resíduo	35,64	75	0,48		
t ₂₁	pH _f	2,07	2	1,04	7,98	0,0008
	Embalagem	1,98	3	0,66	5,08	0,0034
	pH _f x emb	1,94	6	0,32	2,49	0,0325
	Resíduo	7,79	60	0,13		
t ₂₈	pH _f	1,49	2	0,74	3,85	0,0324
	Embalagem	1,04	1	1,04	5,38	0,0274
	pH _f x emb	1,11	2	0,56	2,89	0,0714
	Resíduo	5,79	30	0,19		
t ₃₅	pH _f	0,00	2	0,00		
	Resíduo	0,00	10	0,00		

Quadro AII.22 Análise de variância para a cor Vermelho-escuro						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	21,56	2	10,78	25,86	0,0001
	Resíduo	4,17	10	0,42		
t ₃	pH _f	39,74	2	19,87	35,88	0,0000
	Embalagem	6,51	4	1,63	2,94	0,0259
	pH _f x emb	6,04	8	0,75	1,36	0,2270
	Resíduo	40,98	74	0,55		
t ₅	pH _f	9,02	2	4,51	5,37	0,0174
	Resíduo	12,59	15	0,84		
t ₇	pH _f	43,99	2	21,99	33,19	0,0000
	Embalagem	6,10	4	1,52	2,30	0,0666
	pH _f x emb	5,59	8	0,70	1,05	0,4048
	Resíduo	49,03	74	0,66		
t ₁₀	pH _f	50,24	2	25,12	53,38	0,0000
	Embalagem	14,99	4	3,75	7,96	0,0000
	pH _f x emb	7,61	8	0,95	2,02	0,0552
	Resíduo	35,29	75	0,47		
t ₁₄	pH _f	41,93	2	20,96	39,49	0,0000
	Embalagem	19,81	4	4,95	9,33	0,0000
	pH _f x emb	7,11	8	0,89	1,67	0,1189
	Resíduo	39,82	75	0,53		
t ₂₁	pH _f	25,00	2	12,50	26,18	0,0000
	Embalagem	16,31	3	5,44	11,38	0,0000
	pH _f x emb	4,29	6	0,72	1,50	0,1943
	Resíduo	28,65	60	0,48		
t ₂₈	pH _f	13,85	2	6,93	18,71	0,0000
	Embalagem	10,31	1	10,31	27,84	0,0000
	pH _f x emb	3,40	2	1,70	4,60	0,0181
	Resíduo	11,11	30	0,37		
t ₃₅	pH _f	21,56	2	10,78	25,86	0,0001
	Resíduo	4,17	10	0,42		

Quadro AII.23 Análise de variância para a cor Púrpura (E)						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	4,13	2	2,06	14,32	0,0012
	Resíduo	1,44	10	0,14		
t ₃	pH _f	1,34	2	0,67	13,74	0,0000
	Embalagem	114,32	4	28,58	586,90	0,0000
	pH _f x emb	2,46	8	0,31	6,32	0,0000
	Resíduo	3,65	75	0,05		
t ₅	pH _f	0,19	2	0,09	1,12	0,3567
	Resíduo	1,09	13	0,08		
t ₇	pH _f	0,51	2	0,26	3,71	0,0290
	Embalagem	111,62	4	27,91	402,76	0,0000
	pH _f x emb	1,27	8	0,16	2,30	0,0291
	Resíduo	5,20	75	0,07		
t ₁₀	pH _f	0,72	2	0,36	8,74	0,0004
	Embalagem	110,16	4	27,54	665,77	0,0000
	pH _f x emb	1,94	8	0,24	5,87	0,0000
	Resíduo	3,10	75	0,04		
t ₁₄	pH _f	1,14	2	0,57	11,94	0,0000
	Embalagem	102,89	4	25,72	537,03	0,0000
	pH _f x emb	1,67	8	0,21	4,37	0,0002
	Resíduo	3,59	75	0,05		
t ₂₁	pH _f	1,19	2	0,59	10,00	0,0002
	Embalagem	95,51	3	31,84	536,25	0,0000
	pH _f x emb	3,13	6	0,52	8,79	0,0000
	Resíduo	3,56	60	0,06		
t ₂₈	pH _f	1,75	2	0,87	8,04	0,0016
	Embalagem	61,86	1	61,86	569,67	0,0000
	pH _f x emb	1,75	2	0,87	8,04	0,0016
	Resíduo	3,26	30	0,11		
t ₃₅	pH _f	4,13	2	2,06	14,32	0,0012
	Resíduo	1,44	10	0,14		

Quadro AII.24 Análise de variância para a cor Púrpura						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	0,13	2	0,06	0,62	0,5560
	Resíduo	1,01	10	0,10		
t ₃	pH _f	1,13	2	0,56	9,02	0,0003
	Embalagem	1,16	4	0,29	4,64	0,0021
	pH _f x emb	0,67	8	0,08	1,34	0,2397
	Resíduo	4,63	74	0,06		
t ₅	pH _f	0,24	2	0,12	1,00	0,3911
	Resíduo	1,77	15	0,12		
t ₇	pH _f	1,25	2	0,62	7,30	0,0013
	Embalagem	1,75	4	0,44	5,13	0,0011
	pH _f x emb	0,60	8	0,08	0,88	0,5361
	Resíduo	6,33	74	0,09		
t ₁₀	pH _f	0,84	2	0,42	7,36	0,0012
	Embalagem	1,36	4	0,34	5,97	0,0003
	pH _f x emb	0,89	8	0,11	1,96	0,0632
	Resíduo	4,26	75	0,06		
t ₁₄	pH _f	0,57	2	0,29	5,80	0,0045
	Embalagem	1,21	4	0,30	6,12	0,0003
	pH _f x emb	0,72	8	0,09	1,82	0,0871
	Resíduo	3,70	75	0,05		
t ₂₁	pH _f	0,70	2	0,35	6,97	0,0019
	Embalagem	2,49	3	0,83	16,58	0,0000
	pH _f x emb	1,92	6	0,32	6,37	0,0000
	Resíduo	3,01	60	0,05		
t ₂₈	pH _f	0,73	2	0,37	2,82	0,0756
	Embalagem	1,11	1	1,11	8,58	0,0064
	pH _f x emb	0,73	2	0,37	2,82	0,0756
	Resíduo	3,90	30	0,13		
t ₃₅	pH _f	0,13	2	0,06	0,62	0,5560
	Resíduo	1,01	10	0,10		

Quadro AII.25 Análise de variância para a cor Castanha (E)						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	0,00	2	0,00		
	Resíduo	0,00	10	0,00		
t ₃	pH _f	0,06	2	0,03	0,82	0,4448
	Embalagem	0,42	4	0,10	3,09	0,0206
	pH _f x emb	0,27	8	0,03	1,01	0,4386
	Resíduo	2,54	75	0,03		
t ₅	pH _f	7,49	2	3,75	7,21	0,0078
	Resíduo	6,76	13	0,52		
t ₇	pH _f	17,19	2	8,60	124,40	0,0000
	Embalagem	5,86	4	1,46	21,20	0,0000
	pH _f x emb	11,03	8	1,38	19,94	0,0000
	Resíduo	5,18	75	0,07		
t ₁₀	pH _f	41,74	2	20,87	188,45	0,0000
	Embalagem	10,92	4	2,73	24,66	0,0000
	pH _f x emb	13,32	8	1,67	15,03	0,0000
	Resíduo	8,31	75	0,11		
t ₁₄	pH _f	31,62	2	15,81	147,45	0,0000
	Embalagem	9,23	4	2,31	21,53	0,0000
	pH _f x emb	10,18	8	1,27	11,86	0,0000
	Resíduo	8,04	75	0,11		
t ₂₁	pH _f	25,00	2	12,50	81,01	0,0000
	Embalagem	9,26	3	3,09	20,00	0,0000
	pH _f x emb	9,24	6	1,54	9,98	0,0000
	Resíduo	9,26	60	0,15		
t ₂₈	pH _f	2,50	2	1,25	4,90	0,0144
	Embalagem	9,01	1	9,01	35,33	0,0000
	pH _f x emb	2,50	2	1,25	4,90	0,0144
	Resíduo	7,65	30	0,26		
t ₃₅	pH _f	0,00	2	0,00		
	Resíduo	0,00	10	0,00		

Quadro AII.26 Análise de variância para a cor Castanha						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	0,00	2	0,00		
	Resíduo	0,00	10	0,00		
t ₃	pH _f	0,17	2	0,09	1,93	0,1528
	Embalagem	0,38	4	0,10	2,11	0,0875
	pH _f x emb	0,62	8	0,08	1,72	0,1077
	Resíduo	3,33	74	0,05		
t ₅	pH _f	9,46	2	4,73	9,75	0,0019
	Resíduo	7,28	15	0,49		
t ₇	pH _f	13,02	2	6,51	55,78	0,0000
	Embalagem	4,58	4	1,15	9,82	0,0000
	pH _f x emb	8,24	8	1,03	8,82	0,0000
	Resíduo	8,64	74	0,12		
t ₁₀	pH _f	29,72	2	14,86	126,92	0,0000
	Embalagem	9,08	4	2,27	19,39	0,0000
	pH _f x emb	10,48	8	1,31	11,19	0,0000
	Resíduo	8,78	75	0,12		
t ₁₄	pH _f	40,46	2	20,23	106,20	0,0000
	Embalagem	9,85	4	2,46	12,92	0,0000
	pH _f x emb	11,62	8	1,45	7,62	0,0000
	Resíduo	14,29	75	0,19		
t ₂₁	pH _f	31,48	2	15,74	120,00	0,0000
	Embalagem	12,46	3	4,15	31,67	0,0000
	pH _f x emb	10,84	6	1,81	13,77	0,0000
	Resíduo	7,87	60	0,13		
t ₂₈	pH _f	2,38	2	1,19	3,09	0,0601
	Embalagem	10,67	1	10,67	27,71	0,0000
	pH _f x emb	2,38	2	1,19	3,09	0,0601
	Resíduo	11,55	30	0,38		
t ₃₅	pH _f	0,00	2	0,00		
	Resíduo	0,00	10	0,00		

Quadro AII.27 Análise de variância para a Superf. descoloração(E)						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	0,00	2	0,00		
	Resíduo	0,00	15	0,00		
t ₃	pH _f	0,02	2	0,01	2,26	0,1111
	Embalagem	0,03	4	0,01	1,67	0,1659
	pH _f x emb	0,04	8	0,00	1,10	0,3731
	Resíduo	0,30	75	0,00		
t ₅	pH _f	2,28	2	1,14	2,25	0,1394
	Resíduo	7,60	15	0,51		
t ₇	pH _f	0,02	2	0,01	0,74	0,4803
	Embalagem	0,06	4	0,02	1,01	0,4061
	pH _f x emb	0,16	8	0,02	1,22	0,3009
	Resíduo	1,20	75	0,02		
t ₁₀	pH _f	0,09	2	0,05	0,23	0,7934
	Embalagem	11,42	4	2,85	14,45	0,0000
	pH _f x emb	1,25	8	0,16	0,79	0,6101
	Resíduo	14,82	75	0,20		
t ₁₄	pH _f	3,87	2	1,93	2,42	0,0962
	Embalagem	60,20	4	15,05	18,80	0,0000
	pH _f x emb	5,84	8	0,73	0,91	0,5113
	Resíduo	60,04	75	0,80		
t ₂₁	pH _f	30,42	2	15,21	25,40	0,0000
	Embalagem	27,60	3	9,20	15,36	0,0000
	pH _f x emb	13,69	6	2,28	3,81	0,0028
	Resíduo	35,92	60	0,60		
t ₂₈	pH _f	1,79	2	0,90	0,52	0,6027
	Embalagem	74,01	1	74,01	42,50	0,0000
	pH _f x emb	1,67	2	0,83	0,48	0,6244
	Resíduo	52,25	30	1,74		
t ₃₅	pH _f	0,003	2	0,002	1,00	0,3911
	Resíduo	0,023	15	0,002		

Quadro AII.28 Análise de variância para a Superf. descoloração						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	0,00	2	0,00		
	Resíduo	0,00	15	0,00		
t ₃	pH _f	0,01	2	0,00	1,16	0,3195
	Embalagem	0,02	4	0,00	1,15	0,3390
	pH _f x emb	0,01	8	0,00	0,45	0,8842
	Resíduo	0,27	75	0,00		
t ₅	pH _f	0,06	2	0,03	2,17	0,1492
	Resíduo	0,22	15	0,01		
t ₇	pH _f	0,01	2	0,01	0,11	0,8980
	Embalagem	0,63	4	0,16	3,03	0,0226
	pH _f x emb	0,03	8	0,00	0,07	0,9998
	Resíduo	3,87	75	0,05		
t ₁₀	pH _f	0,27	2	0,14	0,39	0,6785
	Embalagem	16,81	4	4,20	12,08	0,0000
	pH _f x emb	2,03	8	0,25	0,73	0,6655
	Resíduo	26,10	75	0,35		
t ₁₄	pH _f	2,86	2	1,43	1,57	0,2156
	Embalagem	65,97	4	16,49	18,04	0,0000
	pH _f x emb	3,89	8	0,49	0,53	0,8294
	Resíduo	68,59	75	0,91		
t ₂₁	pH _f	43,65	2	21,82	32,07	0,0000
	Embalagem	26,64	3	8,88	13,05	0,0000
	pH _f x emb	17,75	6	2,96	4,35	0,0010
	Resíduo	40,83	60	0,68		
t ₂₈	pH _f	4,85	2	2,42	1,90	0,1668
	Embalagem	54,47	1	54,47	42,75	0,0000
	pH _f x emb	4,69	2	2,35	1,84	0,1761
	Resíduo	38,23	30	1,27		
t ₃₅	pH _f	0,11	2	0,06	0,36	0,7040
	Resíduo	2,35	15	0,16		

Quadro AII.29 Análise de variância para o Cheiro a deteriorado						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	1,89	2	0,95	1,93	0,1791
	Resíduo	7,34	15	0,49		
t ₃	pH _f	1,05	2	0,52	0,87	0,4236
	Embalagem	1,47	4	0,37	0,61	0,6574
	pH _f x emb	1,95	8	0,24	0,40	0,9157
	Resíduo	45,29	75	0,60		
t ₅	pH _f	1,19	2	0,60	1,01	0,3871
	Resíduo	8,83	15	0,59		
t ₇	pH _f	0,62	2	0,31	0,52	0,5949
	Embalagem	10,48	4	2,62	4,41	0,0029
	pH _f x emb	2,03	8	0,25	0,43	0,9007
	Resíduo	44,52	75	0,59		
t ₁₀	pH _f	14,49	2	7,25	10,07	0,0001
	Embalagem	58,59	4	14,65	20,35	0,0000
	pH _f x emb	6,99	8	0,87	1,21	0,3024
	Resíduo	53,98	75	0,72		
t ₁₄	pH _f	12,83	2	6,42	7,04	0,0016
	Embalagem	145,19	4	36,30	39,82	0,0000
	pH _f x emb	11,70	8	1,46	1,60	0,1380
	Resíduo	68,37	75	0,91		
t ₂₁	pH _f	15,49	2	7,74	8,97	0,0004
	Embalagem	53,26	3	17,75	20,55	0,0000
	pH _f x emb	16,55	6	2,76	3,19	0,0087
	Resíduo	51,82	60	0,86		
t ₂₈	pH _f	2,41	2	1,20	1,54	0,2306
	Embalagem	49,94	1	49,94	63,94	0,0000
	pH _f x emb	7,99	2	4,00	5,12	0,0122
	Resíduo	23,43	30	0,78		
t ₃₅	pH _f	11,47	2	5,73	2,72	0,0983
	Resíduo	31,65	15	2,11		

Quadro AII.30 Análise de variância para a Apreciação global						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	0,03	2	0,01	0,07	0,9305
	Resíduo	2,98	15	0,20		
t ₃	pH _f	0,82	2	0,41	1,54	0,2213
	Embalagem	2,53	4	0,63	2,37	0,0604
	pH _f x emb	0,64	8	0,08	0,30	0,9640
	Resíduo	20,03	75	0,27		
t ₅	pH _f	8,06	2	4,03	7,08	0,0068
	Resíduo	8,54	15	0,57		
t ₇	pH _f	9,85	2	4,92	8,74	0,0004
	Embalagem	21,15	4	5,29	9,39	0,0000
	pH _f x emb	8,28	8	1,03	1,84	0,0831
	Resíduo	42,22	75	0,56		
t ₁₀	pH _f	13,77	2	6,88	10,75	0,0001
	Embalagem	83,24	4	20,81	32,51	0,0000
	pH _f x emb	13,02	8	1,63	2,54	0,0166
	Resíduo	48,01	75	0,64		
t ₁₄	pH _f	24,90	2	12,45	20,92	0,0000
	Embalagem	138,72	4	34,68	58,27	0,0000
	pH _f x emb	19,84	8	2,48	4,17	0,0004
	Resíduo	44,64	75	0,60		
t ₂₁	pH _f	28,45	2	14,22	18,72	0,0000
	Embalagem	71,72	3	23,91	31,46	0,0000
	pH _f x emb	26,31	6	4,38	5,77	0,0001
	Resíduo	45,59	60	0,76		
t ₂₈	pH _f	1,78	2	0,89	1,10	0,3451
	Embalagem	57,06	1	57,06	70,63	0,0000
	pH _f x emb	8,28	2	4,14	5,13	0,0122
	Resíduo	24,24	30	0,81		
t ₃₅	pH _f	12,59	2	6,29	5,17	0,0195
	Resíduo	18,25	15	1,22		

Quadro AII.29 Análise de variância para a Apreciação global (E)						
	Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
t ₁	pH _f	0,01	2	0,01	0,03	0,9664
	Resíduo	2,69	15	0,18		
t ₃	pH _f	0,97	2	0,49	2,99	0,0563
	Embalagem	8,55	4	2,14	13,15	0,0000
	pH _f x emb	1,24	8	0,15	0,95	0,4797
	Resíduo	12,19	75	0,16		
t ₅	pH _f	10,57	2	5,28	2,24	0,1408
	Resíduo	35,37	15	2,36		
t ₇	pH _f	38,66	2	19,33	76,53	0,0000
	Embalagem	7,68	4	1,92	7,60	0,0000
	pH _f x emb	11,20	8	1,40	5,54	0,0000
	Resíduo	18,95	75	0,25		
t ₁₀	pH _f	68,87	2	34,44	46,94	0,0000
	Embalagem	48,40	4	12,10	16,49	0,0000
	pH _f x emb	23,11	8	2,89	3,94	0,0006
	Resíduo	55,02	75	0,73		
t ₁₄	pH _f	86,48	2	43,24	45,21	0,0000
	Embalagem	159,00	4	39,75	41,56	0,0000
	pH _f x emb	32,72	8	4,09	4,28	0,0003
	Resíduo	71,73	75	0,96		
t ₂₁	pH _f	105,75	2	52,88	36,56	0,0000
	Embalagem	94,78	3	31,59	21,84	0,0000
	pH _f x emb	42,53	6	7,09	4,90	0,0004
	Resíduo	86,78	60	1,45		
t ₂₈	pH _f	3,63	2	1,81	1,81	0,1804
	Embalagem	141,56	1	141,56	141,56	0,0000
	pH _f x emb	2,35	2	1,17	1,17	0,3231
	Resíduo	30,00	30	1,00		
t ₃₅	pH _f	0,11	2	0,06	0,36	0,7040
	Resíduo	2,35	15	0,16		

ANEXO A.III. Estatística descritiva para os parâmetros microbiológicos físico-químicos e sensoriais (média±DP)

BAL	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	0,94 ± 1,07	0,88 ± 1,02	1,95 ± 1,81	2,25 ± 1,94	3,68 ± 2,43	5,31 ± 0,96	-	-	-
DFDmod	1,19 ± 1,35	1,27 ± 1,02	1,24 ± 2,03	2,11 ± 2,13	4,02 ± 2,25	4,89 ± 1,91	-	-	-
DFD	1,15 ± 1,34	1,02 ± 0,86	2,83 ± 1,84	3,18 ± 1,83	4,42 ± 2,44	4,20 ± 2,07	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	0,72 ± 0,83	-	1,40 ± 1,40	2,54 ± 1,50	4,63 ± 0,50	4,92 ± 0,81	5,98 ± 1,10	5,40 ± 0,35
DFDmod	«	1,27 ± 0,90	-	1,77 ± 1,70	3,86 ± 0,25	5,17 ± 2,70	5,97 ± 3,02	6,62 ± 1,28	6,32 ± 1,54
DFD	«	1,02 ± 1,26	-	1,76 ± 2,30	3,25 ± 1,82	4,59 ± 1,14	5,54 ± 1,83	5,51 ± 1,94	6,41 ± 0,85
AM_{70/20}									
Normal	«	1,13 ± 1,02	-	1,43 ± 1,36	2,61 ± 2,06	4,08 ± 1,12	4,89 ± 1,05	-	-
DFDmod	«	1,27 ± 1,13	-	1,07 ± 1,66	3,72 ± 1,45	4,89 ± 1,85	4,96 ± 2,93	-	-
DFD	«	1,10 ± 1,28	-	1,81 ± 1,56	3,29 ± 2,27	4,65 ± 2,52	4,85 ± 2,74	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	1,10 ± 1,22	-	1,32 ± 1,21	1,84 ± 1,98	3,94 ± 1,18	4,36 ± 1,26	-	-
DFDmod	«	1,01 ± 0,85	-	1,32 ± 1,73	3,26 ± 1,79	4,46 ± 2,31	5,77 ± 1,73	-	-
DFD	«	1,17 ± 1,31	-	1,83 ± 1,20	3,44 ± 1,94	2,91 ± 2,85	5,77 ± 0,88	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	1,31 ± 1,06	-	1,25 ± 1,05	2,34 ± 0,98	3,80 ± 1,04	4,62 ± 0,78	5,60 ± 0,97	-
DFDmod	«	1,57 ± 0,86	-	1,71 ± 1,61	2,83 ± 1,75	4,01 ± 1,37	4,97 ± 1,81	6,75 ± 0,81	-
DFD	«	1,27 ± 0,99	-	1,93 ± 1,21	3,64 ± 2,06	3,43 ± 3,04	5,80 ± 2,25	4,96 ± 3,27	-

<i>Brochothrix thermosphacta</i>	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	0,00 ± 0,00	0,53 ± 1,30	3,14 ± 1,80	3,97 ± 1,98	5,19 ± 2,70	6,35 ± 1,43	-	-	-
DFDmod	0,40 ± 0,80	2,06 ± 1,86	4,27 ± 0,85	4,74 ± 1,34	5,83 ± 1,23	6,59 ± 1,08	-	-	-
DFD	0,00 ± 0,00	1,73 ± 1,92	4,03 ± 2,23	4,60 ± 2,39	5,42 ± 2,67	6,84 ± 0,83	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	0,00 ± 0,00	-	1,20 ± 1,85	2,93 ± 2,53	4,98 ± 1,11	5,00 ± 1,08	5,44 ± 1,42	5,71 ± 1,13
DFDmod	«	0,00 ± 0,00	-	2,75 ± 1,52	3,89 ± 1,99	5,62 ± 0,80	6,47 ± 0,39	6,45 ± 0,50	6,89 ± 0,27
DFD	«	0,38 ± 0,94	-	3,17 ± 1,60	3,88 ± 2,17	6,06 ± 1,16	6,98 ± 1,00	6,95 ± 0,80	6,85 ± 1,06
AM_{70/20}									
Normal	«	0,33 ± 0,82	-	1,04 ± 1,67	3,01 ± 1,77	4,20 ± 2,20	6,78 ± 0,94	-	-
DFDmod	«	0,33 ± 0,82	-	2,26 ± 1,77	3,99 ± 2,09	6,05 ± 0,80	7,39 ± 0,50	-	-
DFD	«	0,92 ± 1,14	-	3,09 ± 1,79	4,13 ± 2,41	5,94 ± 1,38	6,64 ± 2,14	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	0,41 ± 1,01	-	0,00 ± 0,00	1,21 ± 1,91	3,06 ± 1,83	5,36 ± 1,95	-	-
DFDmod	«	0,00 ± 0,00	-	1,04 ± 1,67	3,71 ± 1,44	5,50 ± 0,70	6,94 ± 0,57	-	-
DFD	«	0,64 ± 1,28	-	2,37 ± 1,99	4,16 ± 1,69	5,44 ± 1,51	6,77 ± 0,91	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	0,00 ± 0,00	-	0,33 ± 0,82	1,04 ± 1,64	1,83 ± 1,49	4,05 ± 2,43	5,39 ± 1,20	-
DFDmod	«	0,00 ± 0,00	-	0,00 ± 0,00	1,05 ± 1,62	3,98 ± 2,09	5,99 ± 0,76	7,18 ± 0,41	-
DFD	«	0,54 ± 1,08	-	1,27 ± 1,72	3,12 ± 2,74	4,12 ± 2,44	6,57 ± 1,79	7,04 ± 0,60	-

<i>Enterobacteriaceae</i>	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,74 ± 1,81	0,85 ± 1,32	-	-	-
DFDmod	0,00 ± 0,00	0,25 ± 0,60	0,92 ± 1,61	1,02 ± 1,00	2,18 ± 1,60	3,07 ± 1,77	-	-	-
DFD	0,25 ± 0,60	0,71 ± 1,15	1,15 ± 1,62	1,96 ± 1,80	2,86 ± 2,50	4,48 ± 2,46	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	0,25 ± 0,60	-	0,00 ± 0,00	0,78 ± 1,47	1,79 ± 1,95	2,45 ± 2,53	3,98 ± 1,77	3,43 ± 2,16
DFDmod	«	0,53 ± 1,31	-	0,40 ± 0,97	0,77 ± 1,19	1,82 ± 2,00	2,29 ± 1,92	3,91 ± 2,44	3,44 ± 0,86
DFD	«	0,67 ± 1,21	-	0,89 ± 1,39	1,79 ± 2,43	4,20 ± 2,30	4,85 ± 1,88	4,96 ± 2,93	5,63 ± 1,91
AM_{70/20}									
Normal	«	0,00 ± 0,00	-	0,00 ± 0,00	0,27 ± 0,65	0,39 ± 0,96	0,49 ± 0,76	-	-
DFDmod	«	0,17 ± 0,41	-	0,54 ± 0,93	0,64 ± 0,99	0,71 ± 1,14	1,75 ± 1,56	-	-
DFD	«	0,00 ± 0,00	-	0,17 ± 0,41	1,06 ± 1,18	1,79 ± 2,19	2,39 ± 2,64	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	0,00 ± 0,00	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,61 ± 1,08	-	-
DFDmod	«	0,00 ± 0,00	-	0,00 ± 0,00	0,47 ± 1,15	0,24 ± 0,59	0,63 ± 1,01	-	-
DFD	«	0,32 ± 0,78	-	0,22 ± 0,53	0,30 ± 0,73	1,12 ± 1,78	2,05 ± 1,83	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	0,46 ± 0,76	-	0,67 ± 0,83	0,45 ± 0,73	0,41 ± 0,66	0,90 ± 1,09	0,43 ± 0,70	-
DFDmod	«	0,36 ± 0,88	-	0,52 ± 0,88	0,31 ± 0,75	0,43 ± 1,05	0,69 ± 1,13	0,73 ± 1,27	-
DFD	«	0,43 ± 0,67	-	0,43 ± 0,70	0,80 ± 0,64	1,65 ± 1,56	1,71 ± 1,43	1,34 ± 1,78	-

<i>Pseudomonas</i> spp.	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	0,75 ± 0,88	1,51 ± 1,47	5,12 ± 1,51	6,31 ± 1,04	7,83 ± 1,03	8,53 ± 0,50	-	-	-
DFDmod	1,69 ± 2,29	2,27 ± 1,85	4,74 ± 1,54	5,66 ± 1,24	7,62 ± 0,95	8,31 ± 0,74	-	-	-
DFD	1,91 ± 1,79	3,06 ± 1,32	5,17 ± 1,74	7,39 ± 0,68	8,03 ± 0,98	8,87 ± 0,96	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	0,43 ± 0,67	-	2,75 ± 1,62	3,78 ± 1,29	4,39 ± 0,98	5,01 ± 0,65	5,59 ± 0,85	4,21 ± 0,49
DFDmod	«	1,18 ± 1,21	-	2,65 ± 1,95	5,02 ± 0,50	5,55 ± 0,83	6,00 ± 0,59	5,95 ± 0,65	7,32 ± 0,38
DFD	«	1,72 ± 1,40	-	3,24 ± 1,76	5,02 ± 0,96	5,77 ± 0,78	5,89 ± 0,79	5,79 ± 0,98	5,72 ± 0,68
AM_{70/20}									
Normal	«	0,46 ± 0,74	-	1,73 ± 1,06	2,84 ± 1,15	3,36 ± 1,54	6,25 ± 1,23	-	-
DFDmod	«	0,63 ± 1,01	-	1,50 ± 1,68	2,71 ± 1,55	4,80 ± 0,68	6,25 ± 0,84	-	-
DFD	«	1,73 ± 0,92	-	2,91 ± 1,01	3,59 ± 1,56	5,46 ± 0,91	6,58 ± 1,52	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	0,33 ± 0,52	-	1,71 ± 0,73	1,77 ± 0,83	1,83 ± 1,04	3,43 ± 1,45	-	-
DFDmod	«	0,17 ± 0,41	-	1,04 ± 1,33	1,70 ± 1,47	3,51 ± 0,60	4,28 ± 1,34	-	-
DFD	«	1,50 ± 1,30	-	2,37 ± 1,91	2,83 ± 1,71	3,64 ± 1,53	5,10 ± 1,45	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	0,63 ± 1,00	-	1,51 ± 0,88	1,27 ± 0,76	1,52 ± 0,94	2,84 ± 0,59	2,69 ± 1,07	-
DFDmod	«	0,94 ± 1,22	-	1,22 ± 1,44	1,12 ± 1,26	1,91 ± 1,67	2,50 ± 2,00	3,47 ± 1,32	-
DFD	«	1,56 ± 1,25	-	1,64 ± 1,43	2,31 ± 1,99	2,87 ± 1,95	3,34 ± 2,27	3,65 ± 2,05	-

Fungos	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	0,94 ± 1,47	1,33 ± 1,46	3,08 ± 1,01	3,19 ± 1,05	5,12 ± 1,05	5,87 ± 0,67	-	-	-
DFDmod	1,19 ± 1,85	1,08 ± 1,68	2,53 ± 1,51	3,06 ± 1,97	4,92 ± 1,07	5,13 ± 0,94	-	-	-
DFD	0,83 ± 1,28	0,56 ± 1,36	3,27 ± 1,82	3,35 ± 0,53	5,73 ± 1,15	6,24 ± 0,93	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	0,00 ± 0,00	-	0,41 ± 1,01	1,15 ± 1,27	3,05 ± 1,73	3,42 ± 0,94	3,97 ± 0,73	2,78 ± 1,64
DFDmod	«	0,33 ± 0,82	-	0,75 ± 1,17	3,62 ± 0,99	3,27 ± 1,03	3,88 ± 0,37	3,69 ± 1,97	4,29 ± 0,61
DFD	«	0,75 ± 1,17	-	1,27 ± 1,42	2,14 ± 1,32	3,53 ± 1,09	3,32 ± 1,75	3,50 ± 1,96	3,61 ± 1,93
AM_{70/20}									
Normal	«	0,56 ± 1,36	-	1,36 ± 1,55	1,34 ± 1,48	1,86 ± 1,55	3,21 ± 1,86	-	-
DFDmod	«	0,85 ± 1,37	-	1,03 ± 1,64	1,39 ± 1,61	1,71 ± 2,03	3,21 ± 1,06	-	-
DFD	«	1,00 ± 1,10	-	1,13 ± 1,25	0,78 ± 1,23	2,34 ± 1,48	3,43 ± 0,55	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	1,18 ± 1,35	-	0,33 ± 0,82	0,38 ± 0,94	1,51 ± 1,77	2,35 ± 1,20	-	-
DFDmod	«	0,67 ± 1,03	-	0,75 ± 1,17	0,38 ± 0,94	0,83 ± 1,31	1,05 ± 1,16	-	-
DFD	«	0,77 ± 1,19	-	0,67 ± 1,03	0,33 ± 0,82	0,77 ± 1,19	0,84 ± 1,34	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	0,38 ± 0,94	-	0,38 ± 0,94	0,33 ± 0,82	1,05 ± 1,16	0,67 ± 1,03	1,17 ± 1,33	-
DFDmod	«	0,77 ± 1,20	-	0,00 ± 0,00	1,13 ± 1,27	0,77 ± 1,20	1,25 ± 1,42	1,01 ± 1,60	-
DFD	«	0,77 ± 1,19	-	1,41 ± 1,11	0,48 ± 1,19	0,38 ± 0,94	0,94 ± 1,48	2,01 ± 1,08	-

Mesófilos	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	2,44 ± 0,41	2,64 ± 0,67	5,18 ± 1,24	5,99 ± 0,83	7,90 ± 1,14	8,54 ± 0,52	-	-	-
DFDmod	2,89 ± 1,83	3,06 ± 1,49	4,96 ± 1,26	5,84 ± 1,74	7,70 ± 0,94	8,41 ± 0,80	-	-	-
DFD	2,60 ± 0,78	3,25 ± 0,85	5,15 ± 1,60	7,08 ± 1,10	8,51 ± 0,80	9,05 ± 0,67	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	2,29 ± 0,31	-	2,90 ± 0,67	3,99 ± 1,02	5,43 ± 1,16	5,98 ± 1,19	7,08 ± 1,16	5,22 ± 0,80
DFDmod	«	1,99 ± 1,29	-	3,55 ± 1,67	5,27 ± 0,50	6,25 ± 0,60	6,67 ± 1,44	7,11 ± 0,87	7,42 ± 0,64
DFD	«	2,67 ± 0,95	-	3,91 ± 1,61	5,28 ± 1,18	6,86 ± 0,88	7,39 ± 1,12	7,36 ± 1,15	7,21 ± 1,20
AM_{70/20}									
Normal	«	2,51 ± 0,67	-	2,73 ± 0,67	3,68 ± 0,91	4,75 ± 1,28	6,80 ± 1,54	-	-
DFDmod	«	2,20 ± 0,92	-	3,13 ± 0,97	4,45 ± 1,59	6,05 ± 0,73	7,11 ± 0,97	-	-
DFD	«	2,49 ± 0,60	-	3,68 ± 1,01	4,83 ± 1,62	6,86 ± 0,70	7,96 ± 0,44	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	2,78 ± 0,36	-	2,49 ± 0,49	3,06 ± 0,98	4,31 ± 0,95	5,79 ± 1,49	-	-
DFDmod	«	1,75 ± 0,50	-	2,67 ± 0,87	4,15 ± 1,58	5,93 ± 0,47	6,90 ± 0,77	-	-
DFD	«	2,76 ± 0,61	-	3,74 ± 1,21	4,76 ± 1,40	5,45 ± 1,77	6,76 ± 1,93	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	2,60 ± 0,47	-	2,80 ± 0,80	2,80 ± 0,99	3,81 ± 0,90	5,61 ± 1,75	5,88 ± 1,15	-
DFDmod	«	2,39 ± 0,61	-	2,80 ± 0,85	3,47 ± 1,08	5,23 ± 0,85	5,71 ± 1,01	7,23 ± 0,61	-
DFD	«	2,51 ± 0,56	-	2,92 ± 0,94	4,54 ± 1,30	5,72 ± 1,92	7,03 ± 2,14	7,18 ± 1,16	-

Psicrotróficos	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	2,20 ± 0,66	2,24 ± 0,95	5,21 ± 1,19	6,12 ± 1,02	7,89 ± 1,01	8,45 ± 0,47	-	-	-
DFDmod	2,71 ± 1,95	2,64 ± 1,49	4,77 ± 1,43	5,60 ± 1,40	7,83 ± 0,91	8,42 ± 0,72	-	-	-
DFD	2,79 ± 1,60	3,05 ± 1,66	5,17 ± 1,50	6,51 ± 1,00	8,51 ± 0,72	9,07 ± 0,63	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	1,59 ± 0,92	-	2,89 ± 0,95	4,04 ± 1,05	5,38 ± 1,05	6,07 ± 1,08	7,14 ± 1,05	8,08 ± 0,87
DFDmod	«	1,90 ± 1,23	-	3,35 ± 1,97	5,39 ± 0,93	6,37 ± 0,68	7,49 ± 0,69	7,16 ± 1,10	7,48 ± 0,64
DFD	«	2,69 ± 1,09	-	4,63 ± 1,51	5,42 ± 1,33	6,82 ± 0,78	7,40 ± 0,73	7,48 ± 1,05	7,38 ± 1,26
AM_{70/20}									
Normal	«	2,24 ± 0,78	-	2,83 ± 0,72	3,94 ± 1,06	5,18 ± 1,07	7,23 ± 0,77	-	-
DFDmod	«	1,88 ± 1,13	-	3,16 ± 0,92	4,38 ± 1,84	6,31 ± 0,66	7,31 ± 0,92	-	-
DFD	«	2,28 ± 1,27	-	3,18 ± 1,77	4,41 ± 2,45	6,69 ± 0,82	7,54 ± 1,43	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	2,36 ± 0,74	-	2,25 ± 0,67	3,52 ± 0,93	4,82 ± 0,51	6,61 ± 0,92	-	-
DFDmod	«	1,41 ± 0,38	-	2,48 ± 1,11	4,11 ± 1,58	5,83 ± 0,65	6,81 ± 0,52	-	-
DFD	«	2,54 ± 1,02	-	3,73 ± 1,26	4,64 ± 1,27	5,58 ± 1,67	7,08 ± 1,04	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	2,24 ± 0,53	-	2,44 ± 0,69	3,11 ± 0,89	4,13 ± 1,19	5,61 ± 2,16	5,69 ± 1,93	-
DFDmod	«	1,92 ± 1,06	-	2,67 ± 0,99	3,48 ± 1,00	5,45 ± 0,95	6,37 ± 0,86	7,82 ± 0,51	-
DFD	«	2,39 ± 0,77	-	3,17 ± 1,50	4,41 ± 1,31	5,83 ± 1,47	7,29 ± 1,59	7,14 ± 1,07	-

pH	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	5,56 ± 0,04	5,50 ± 0,26	5,75 ± 0,23	5,53 ± 0,09	5,65 ± 0,09	5,87 ± 0,15	-	-	-
DFDmod	5,96 ± 0,09	5,97 ± 0,12	5,95 ± 0,07	6,08 ± 0,20	6,25 ± 0,16	6,43 ± 0,18	-	-	-
DFD	6,46 ± 0,23	6,55 ± 0,25	6,54 ± 0,52	6,60 ± 0,22	6,83 ± 0,32	6,99 ± 0,27	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	5,56 ± 0,09	-	5,55 ± 0,09	5,61 ± 0,07	5,76 ± 0,04	5,58 ± 0,08	5,54 ± 0,05	5,64 ± 0,03
DFDmod	«	6,12 ± 0,33	-	6,07 ± 0,34	6,08 ± 0,37	6,01 ± 0,26	5,97 ± 0,21	6,02 ± 0,26	5,93 ± 0,14
DFD	«	6,61 ± 0,21	-	6,56 ± 0,23	6,48 ± 0,25	6,48 ± 0,22	6,47 ± 0,22	6,49 ± 0,23	6,48 ± 0,10
AM_{70/20}									
Normal	«	5,52 ± 0,09	-	5,51 ± 0,11	5,62 ± 0,08	5,63 ± 0,05	5,62 ± 0,06	-	-
DFDmod	«	6,02 ± 0,25	-	6,07 ± 0,33	6,18 ± 0,26	6,15 ± 0,19	6,31 ± 0,19	-	-
DFD	«	6,39 ± 0,45	-	6,44 ± 0,44	6,39 ± 0,41	6,51 ± 0,30	6,71 ± 0,24	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	5,55 ± 0,09	-	5,58 ± 0,05	5,65 ± 0,12	5,66 ± 0,08	5,66 ± 0,13	-	-
DFDmod	«	6,16 ± 0,27	-	6,16 ± 0,21	6,14 ± 0,14	6,08 ± 0,29	6,13 ± 0,16	-	-
DFD	«	6,59 ± 0,20	-	6,59 ± 0,18	6,61 ± 0,15	6,67 ± 0,13	6,76 ± 0,10	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	5,57 ± 0,10	-	5,53 ± 0,14	5,59 ± 0,05	5,65 ± 0,10	5,64 ± 0,13	5,55 ± 0,10	-
DFDmod	«	6,09 ± 0,23	-	6,13 ± 0,18	6,05 ± 0,11	6,00 ± 0,23	6,04 ± 0,15	5,95 ± 0,23	-
DFD	«	6,59 ± 0,19	-	6,61 ± 0,17	6,63 ± 0,14	6,68 ± 0,16	6,74 ± 0,28	6,63 ± 0,12	-

ABVT	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	11,23 ± 1,48	10,15 ± 0,55	10,70 ± 1,89	14,13 ± 3,28	18,79 ± 4,34	18,09 ± 1,38	-	-	-
DFDmod	7,26 ± 1,33	11,97 ± 2,60	10,65 ± 2,40	12,40 ± 2,41	13,67 ± 2,21	20,61 ± 5,14	-	-	-
DFD	11,84 ± 0,97	11,81 ± 2,05	13,39 ± 1,61	18,70 ± 3,95	28,62 ± 7,31	45,67 ± 12,63	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	10,63 ± 1,45	-	15,87 ± 1,13	14,70 ± 2,87	14,93 ± 2,04	18,21 ± 3,43	17,43 ± 3,94	19,18 ± 2,22
DFDmod	«	11,50 ± 2,30	-	12,61 ± 2,74	12,84 ± 2,00	14,83 ± 1,29	14,38 ± 2,30	16,77 ± 3,14	17,68 ± 2,88
DFD	«	11,05 ± 2,56	-	14,61 ± 1,71	14,33 ± 1,54	14,95 ± 2,41	18,62 ± 2,86	22,17 ± 3,48	20,97 ± 0,35
AM_{70/20}									
Normal	«	10,48 ± 1,86	-	13,60 ± 1,80	16,02 ± 1,39	15,80 ± 1,07	16,36 ± 1,50	-	-
DFDmod	«	11,40 ± 2,56	-	13,67 ± 1,73	12,16 ± 3,16	14,68 ± 1,66	14,50 ± 2,39	-	-
DFD	«	10,36 ± 1,35	-	14,68 ± 1,69	14,55 ± 1,29	16,25 ± 1,04	17,99 ± 3,14	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	11,33 ± 0,92	-	15,02 ± 1,84	15,24 ± 2,70	15,12 ± 1,49	16,10 ± 2,39	-	-
DFDmod	«	11,26 ± 3,33	-	10,83 ± 2,04	12,64 ± 1,20	13,51 ± 1,38	14,66 ± 2,67	-	-
DFD	«	12,27 ± 1,64	-	13,46 ± 1,44	14,63 ± 3,97	16,99 ± 3,35	18,31 ± 2,43	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	10,77 ± 1,74	-	14,58 ± 2,05	15,65 ± 2,60	14,29 ± 2,09	16,35 ± 3,11	16,10 ± 0,93	-
DFDmod	«	9,87 ± 2,25	-	12,25 ± 2,26	12,93 ± 1,86	13,87 ± 3,17	16,35 ± 4,76	16,86 ± 3,22	-
DFD	«	11,85 ± 2,97	-	15,69 ± 2,28	14,27 ± 2,36	15,92 ± 2,81	17,34 ± 2,60	26,99 ± 10,89	-

L ₀ *	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	36,42 ± 0,99	41,40 ± 1,17	41,15 ± 1,22	40,71 ± 1,15	40,83 ± 2,33	41,31 ± 1,87	-	-	-
DFDmod	34,38 ± 2,99	39,21 ± 1,93	38,80 ± 1,49	38,75 ± 1,55	36,43 ± 2,43	37,35 ± 2,36	-	-	-
DFD	32,87 ± 2,30	35,45 ± 2,27	35,96 ± 2,36	35,75 ± 2,73	35,33 ± 2,62	34,70 ± 2,63	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	37,64 ± 1,57	-	39,32 ± 1,61	39,76 ± 1,52	39,78 ± 1,06	39,67 ± 1,48	39,57 ± 1,33	39,79 ± 0,74
DFDmod	«	35,69 ± 3,22	-	34,74 ± 2,36	35,35 ± 2,52	36,20 ± 2,95	36,13 ± 2,68	36,29 ± 2,74	36,39 ± 2,23
DFD	«	33,18 ± 2,02	-	33,53 ± 1,65	32,96 ± 1,42	33,56 ± 1,53	33,32 ± 1,54	34,35 ± 2,21	33,84 ± 1,15
AM_{70/20}									
Normal	«	41,13 ± 1,55	-	41,02 ± 1,73	41,44 ± 1,32	41,81 ± 1,36	43,38 ± 1,74	-	-
DFDmod	«	40,14 ± 1,25	-	40,81 ± 1,61	40,05 ± 1,68	39,37 ± 1,68	39,12 ± 1,59	-	-
DFD	«	38,93 ± 2,58	-	37,61 ± 2,84	37,57 ± 3,04	37,34 ± 2,33	37,20 ± 2,02	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	40,52 ± 1,62	-	40,80 ± 0,95	41,45 ± 1,49	42,23 ± 1,20	42,38 ± 1,79	-	-
DFDmod	«	40,82 ± 0,91	-	40,12 ± 1,27	39,85 ± 1,41	39,43 ± 1,17	39,81 ± 1,92	-	-
DFD	«	38,07 ± 2,50	-	37,33 ± 2,09	37,24 ± 2,32	36,94 ± 2,00	37,98 ± 2,48	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	40,47 ± 1,70	-	41,19 ± 1,91	41,69 ± 1,70	42,60 ± 2,07	43,78 ± 1,71	46,50 ± 1,74	-
DFDmod	«	40,67 ± 1,48	-	39,86 ± 2,12	39,39 ± 1,96	39,43 ± 2,39	40,05 ± 2,39	41,17 ± 2,28	-
DFD	«	38,39 ± 1,94	-	37,49 ± 1,84	37,84 ± 2,35	38,23 ± 2,88	38,18 ± 3,03	38,86 ± 1,72	-

L₆₀*	Tempo (dias pm)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	38,43 ± 1,09	41,43 ± 1,52	41,17 ± 1,31	40,85 ± 1,14	40,46 ± 2,63	41,26 ± 2,03	-	-	-
DFDmod	35,35 ± 2,86	39,11 ± 1,99	39,02 ± 1,77	37,99 ± 0,70	36,21 ± 2,27	37,31 ± 2,32	-	-	-
DFD	32,96 ± 2,74	35,74 ± 2,51	36,04 ± 2,32	36,05 ± 3,27	35,01 ± 2,51	34,95 ± 2,39	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	39,02 ± 1,52	-	40,44 ± 1,64	40,55 ± 1,63	40,79 ± 1,13	40,69 ± 1,52	40,67 ± 1,43	40,88 ± 1,26
DFDmod	«	37,18 ± 2,90	-	36,44 ± 2,25	36,35 ± 2,26	36,77 ± 3,21	35,99 ± 3,14	36,67 ± 3,01	36,83 ± 2,03
DFD	«	33,67 ± 1,73	-	33,94 ± 1,60	33,34 ± 1,86	33,88 ± 1,67	33,52 ± 1,83	34,60 ± 2,14	34,20 ± 1,14
AM_{70/20}									
Normal	«	40,67 ± 1,61	-	40,94 ± 1,69	41,13 ± 1,31	41,34 ± 1,10	43,17 ± 1,63	-	-
DFDmod	«	39,61 ± 1,09	-	40,03 ± 1,14	39,36 ± 1,60	38,70 ± 1,42	38,20 ± 1,93	-	-
DFD	«	37,72 ± 2,88	-	36,62 ± 3,29	36,49 ± 2,94	36,66 ± 2,28	36,61 ± 1,84	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	38,93 ± 3,73	-	40,42 ± 0,86	41,04 ± 1,40	41,60 ± 1,27	42,02 ± 1,81	-	-
DFDmod	«	39,75 ± 0,66	-	39,56 ± 1,30	39,30 ± 1,16	38,82 ± 1,16	39,14 ± 1,91	-	-
DFD	«	38,33 ± 1,61	-	36,29 ± 2,21	36,29 ± 2,25	36,16 ± 2,07	37,26 ± 2,34	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	39,96 ± 1,61	-	41,00 ± 1,67	41,02 ± 1,63	42,03 ± 1,66	43,63 ± 1,69	46,05 ± 1,34	-
DFDmod	«	40,15 ± 1,52	-	39,13 ± 1,76	38,92 ± 1,74	39,18 ± 2,16	39,25 ± 2,62	40,25 ± 2,35	-
DFD	«	37,52 ± 2,13	-	36,59 ± 1,98	37,16 ± 2,53	37,30 ± 2,86	37,78 ± 2,82	38,34 ± 1,90	-

ΔL*	Tempo (dias pm)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	2,01 ± 1,43	0,03 ± 0,54	0,02 ± 0,12	0,15 ± 0,39	-0,36 ± 0,33	-0,05 ± 0,24	-	-	-
DFDmod	0,97 ± 0,83	-0,10 ± 0,40	0,22 ± 0,34	-0,76 ± 1,12	-0,23 ± 0,46	-0,04 ± 0,40	-	-	-
DFD	0,09 ± 0,66	0,29 ± 0,45	0,08 ± 0,36	0,29 ± 1,32	-0,33 ± 0,57	0,25 ± 0,40	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	1,38 ± 0,70	-	1,11 ± 0,58	0,79 ± 0,38	1,01 ± 0,41	1,02 ± 0,50	1,10 ± 0,58	1,09 ± 1,04
DFDmod	«	1,49 ± 0,67	-	1,70 ± 0,62	1,00 ± 0,86	0,56 ± 0,70	-0,14 ± 1,12	0,38 ± 0,60	0,44 ± 0,31
DFD	«	0,50 ± 0,38	-	0,42 ± 0,40	0,38 ± 0,70	0,32 ± 0,31	0,20 ± 0,37	0,25 ± 0,36	0,36 ± 0,54
AM_{70/20}									
Normal	«	-0,46 ± 0,28	-	-0,08 ± 0,20	-0,31 ± 0,22	-0,46 ± 0,44	-0,21 ± 0,39	-	-
DFDmod	«	-0,53 ± 0,43	-	-0,78 ± 0,86	-0,70 ± 0,56	-0,67 ± 0,68	-0,92 ± 0,52	-	-
DFD	«	-1,20 ± 0,64	-	-0,99 ± 0,51	-1,08 ± 0,50	-0,68 ± 0,73	-0,59 ± 0,40	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	-1,59 ± 2,79	-	-0,38 ± 0,14	-0,42 ± 0,51	-0,63 ± 0,40	-0,36 ± 0,60	-	-
DFDmod	«	-1,07 ± 0,43	-	-0,56 ± 0,31	-0,54 ± 0,41	-0,61 ± 0,25	-0,67 ± 0,36	-	-
DFD	«	0,26 ± 2,34	-	-1,04 ± 0,51	-0,96 ± 0,48	-0,79 ± 0,19	-0,72 ± 0,53	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	-0,50 ± 0,49	-	-0,19 ± 0,38	-0,67 ± 0,45	-0,57 ± 0,51	-0,15 ± 0,72	-0,45 ± 0,71	-
DFDmod	«	-0,52 ± 0,45	-	-0,73 ± 0,91	-0,47 ± 0,47	-0,25 ± 0,30	-0,80 ± 0,55	-0,92 ± 0,40	-
DFD	«	-0,87 ± 0,30	-	-0,90 ± 0,68	-0,68 ± 0,47	-0,93 ± 0,40	-0,41 ± 0,45	-0,52 ± 0,47	-

a_0^*	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	19,49 ± 0,92	20,13 ± 1,76	17,62 ± 1,29	17,84 ± 1,81	15,89 ± 2,41	15,06 ± 2,67	-	-	-
DFDmod	18,74 ± 0,99	22,10 ± 0,38	22,67 ± 1,33	21,77 ± 2,08	21,14 ± 3,08	21,21 ± 5,27	-	-	-
DFD	17,80 ± 2,06	18,75 ± 1,83	20,54 ± 2,20	19,80 ± 1,94	20,35 ± 2,08	16,50 ± 5,44	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	20,05 ± 1,04	-	19,88 ± 1,13	20,22 ± 1,86	19,65 ± 1,17	19,85 ± 1,33	19,71 ± 1,30	19,25 ± 0,29
DFDmod	«	18,46 ± 1,51	-	17,77 ± 0,71	18,58 ± 1,39	18,46 ± 0,77	18,32 ± 0,68	18,18 ± 0,98	18,44 ± 1,00
DFD	«	16,72 ± 1,53	-	16,95 ± 0,86	18,02 ± 1,48	17,34 ± 1,24	17,66 ± 1,11	18,31 ± 0,78	18,00 ± 0,82
AM_{70/20}									
Normal	«	25,99 ± 1,23	-	21,83 ± 0,47	20,32 ± 1,07	17,67 ± 2,59	13,85 ± 2,65	-	-
DFDmod	«	27,69 ± 1,16	-	26,77 ± 2,06	26,44 ± 1,07	26,16 ± 1,27	26,07 ± 1,25	-	-
DFD	«	25,95 ± 1,85	-	25,50 ± 1,84	26,03 ± 2,67	24,22 ± 3,42	24,51 ± 2,53	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	24,52 ± 1,14	-	20,82 ± 0,59	19,54 ± 0,92	17,62 ± 0,57	12,82 ± 2,19	-	-
DFDmod	«	26,69 ± 1,01	-	25,59 ± 1,50	24,48 ± 0,88	23,54 ± 2,54	22,52 ± 2,85	-	-
DFD	«	23,77 ± 2,23	-	24,00 ± 1,57	23,05 ± 2,44	23,28 ± 1,36	22,51 ± 1,26	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	21,95 ± 1,19	-	18,55 ± 1,00	17,74 ± 1,43	15,25 ± 2,08	10,44 ± 2,34	7,46 ± 1,18	-
DFDmod	«	23,79 ± 1,82	-	22,94 ± 2,92	20,94 ± 0,98	19,91 ± 2,65	18,39 ± 2,85	13,23 ± 4,91	-
DFD	«	22,05 ± 1,86	-	21,63 ± 0,89	22,41 ± 1,78	22,24 ± 1,88	19,97 ± 1,73	17,31 ± 5,71	-

a_{60}^*	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	21,55 ± 1,43	19,93 ± 1,87	17,49 ± 1,35	18,24 ± 3,25	15,83 ± 2,23	15,34 ± 2,25	-	-	-
DFDmod	20,09 ± 0,84	21,79 ± 0,76	23,01 ± 1,57	21,39 ± 1,84	20,97 ± 2,76	21,76 ± 4,77	-	-	-
DFD	18,47 ± 2,22	19,62 ± 2,23	20,44 ± 1,96	20,10 ± 1,85	20,38 ± 2,28	16,64 ± 5,57	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	22,14 ± 1,41	-	22,90 ± 2,06	24,58 ± 2,53	23,58 ± 2,20	24,16 ± 1,88	24,03 ± 1,97	23,66 ± 0,96
DFDmod	«	20,47 ± 1,84	-	19,48 ± 0,59	20,25 ± 1,47	20,02 ± 1,15	20,09 ± 1,52	20,26 ± 1,23	20,81 ± 1,55
DFD	«	18,17 ± 1,80	-	18,48 ± 1,80	19,35 ± 1,75	18,50 ± 1,42	19,22 ± 1,39	19,99 ± 1,17	20,25 ± 1,39
AM_{70/20}									
Normal	«	25,13 ± 1,59	-	21,78 ± 0,58	20,50 ± 1,01	18,02 ± 2,78	13,83 ± 2,78	-	-
DFDmod	«	25,94 ± 1,45	-	25,79 ± 1,09	25,54 ± 2,12	25,35 ± 0,77	25,30 ± 1,98	-	-
DFD	«	23,76 ± 2,59	-	23,65 ± 3,09	24,09 ± 3,49	23,27 ± 2,84	23,63 ± 1,72	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	22,98 ± 2,51	-	20,73 ± 0,63	19,65 ± 1,02	17,64 ± 0,46	12,87 ± 2,29	-	-
DFDmod	«	24,86 ± 1,52	-	24,15 ± 1,42	23,68 ± 1,24	23,10 ± 2,30	22,07 ± 2,64	-	-
DFD	«	23,34 ± 1,38	-	22,74 ± 1,70	22,11 ± 2,27	22,44 ± 1,46	21,94 ± 1,26	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	21,22 ± 0,92	-	18,25 ± 0,72	17,71 ± 1,41	15,17 ± 2,12	10,48 ± 2,15	7,56 ± 1,04	-
DFDmod	«	23,25 ± 1,38	-	22,58 ± 1,74	20,86 ± 1,16	20,05 ± 2,75	18,87 ± 2,97	13,31 ± 4,63	-
DFD	«	20,94 ± 1,53	-	21,90 ± 1,67	22,41 ± 1,42	21,10 ± 0,99	19,81 ± 1,84	17,50 ± 5,85	-

Δa^*	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	2,07 ± 0,75	-0,21 ± 0,33	-0,13 ± 0,32	0,39 ± 1,75	-0,07 ± 0,34	0,28 ± 0,50	-	-	-
DFDmod	1,34 ± 0,55	-0,31 ± 0,43	0,34 ± 0,37	-0,39 ± 0,67	-0,17 ± 1,31	0,56 ± 0,96	-	-	-
DFD	0,67 ± 0,81	0,87 ± 0,88	-0,10 ± 0,78	0,30 ± 0,32	0,03 ± 0,61	0,15 ± 1,17	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	2,09 ± 0,90	-	3,02 ± 1,22	4,36 ± 0,95	3,93 ± 1,09	4,31 ± 0,73	4,32 ± 0,92	4,41 ± 0,74
DFDmod	«	2,01 ± 0,60	-	1,70 ± 1,02	1,67 ± 0,37	1,56 ± 0,63	1,77 ± 1,05	2,08 ± 0,62	2,38 ± 0,64
DFD	«	1,45 ± 0,53	-	1,53 ± 1,16	1,33 ± 0,59	1,15 ± 0,59	1,56 ± 0,94	1,68 ± 0,92	2,25 ± 0,87
AM_{70/20}									
Normal	«	-0,86 ± 0,64	-	-0,05 ± 0,47	0,18 ± 0,25	0,35 ± 0,29	-0,01 ± 0,58	-	-
DFDmod	«	-1,74 ± 1,06	-	-0,98 ± 1,95	-0,91 ± 1,42	-0,81 ± 1,00	-0,77 ± 1,71	-	-
DFD	«	-2,18 ± 1,11	-	-1,85 ± 1,46	-1,95 ± 1,27	-0,95 ± 1,64	-0,89 ± 1,59	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	-1,55 ± 1,96	-	-0,09 ± 0,47	0,11 ± 0,17	0,02 ± 0,35	0,06 ± 0,16	-	-
DFDmod	«	-1,82 ± 1,15	-	-1,44 ± 1,07	-0,80 ± 0,87	-0,44 ± 0,36	-0,45 ± 0,55	-	-
DFD	«	-0,43 ± 1,98	-	-1,26 ± 0,68	-0,94 ± 0,94	-0,84 ± 0,93	-0,57 ± 0,49	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	-0,72 ± 0,52	-	-0,30 ± 0,57	-0,04 ± 0,13	-0,08 ± 0,16	0,04 ± 0,31	0,10 ± 0,19	-
DFDmod	«	-0,54 ± 0,71	-	-0,36 ± 1,21	-0,08 ± 0,54	0,14 ± 0,53	0,48 ± 0,89	0,09 ± 0,42	-
DFD	«	-1,11 ± 0,87	-	0,27 ± 1,45	0,00 ± 0,78	-1,14 ± 1,26	-0,16 ± 0,16	0,19 ± 0,75	-

b_0^*	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	3,26 ± 0,42	9,75 ± 0,74	9,00 ± 0,75	8,09 ± 1,91	8,74 ± 0,75	9,21 ± 0,83	-	-	-
DFDmod	3,17 ± 0,94	10,10 ± 0,67	10,33 ± 0,87	9,87 ± 0,99	8,72 ± 1,86	8,84 ± 2,86	-	-	-
DFD	2,68 ± 0,88	6,38 ± 1,59	7,61 ± 2,11	7,39 ± 1,48	7,92 ± 1,62	6,58 ± 1,47	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	4,33 ± 1,08	-	4,96 ± 0,89	5,11 ± 1,10	4,94 ± 0,94	5,28 ± 1,18	4,86 ± 1,20	4,42 ± 0,72
DFDmod	«	3,58 ± 1,35	-	3,19 ± 0,57	3,45 ± 0,57	3,65 ± 0,51	3,86 ± 0,51	3,70 ± 0,58	3,99 ± 0,91
DFD	«	2,73 ± 0,64	-	2,91 ± 0,52	3,24 ± 0,65	3,02 ± 0,70	3,09 ± 0,69	3,58 ± 0,90	3,21 ± 0,38
AM_{70/20}									
Normal	«	11,21 ± 0,75	-	9,81 ± 0,50	9,29 ± 0,70	9,10 ± 0,60	9,21 ± 1,35	-	-
DFDmod	«	12,52 ± 0,31	-	12,24 ± 1,18	11,69 ± 0,78	11,39 ± 0,82	11,07 ± 0,79	-	-
DFD	«	11,40 ± 1,51	-	10,78 ± 1,32	11,01 ± 1,59	10,05 ± 2,09	9,87 ± 2,29	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	10,54 ± 0,34	-	9,41 ± 0,59	9,20 ± 0,64	8,83 ± 0,68	9,11 ± 0,99	-	-
DFDmod	«	12,45 ± 0,46	-	11,87 ± 0,80	11,07 ± 0,38	10,54 ± 1,10	10,04 ± 1,17	-	-
DFD	«	10,43 ± 1,93	-	10,17 ± 1,37	9,53 ± 1,80	9,66 ± 0,97	9,68 ± 0,86	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	9,51 ± 0,36	-	8,74 ± 0,60	8,93 ± 0,71	8,99 ± 0,92	9,69 ± 1,04	11,26 ± 1,15	-
DFDmod	«	11,23 ± 0,81	-	10,84 ± 1,19	9,75 ± 0,65	9,52 ± 1,08	9,13 ± 0,77	9,31 ± 0,88	-
DFD	«	9,33 ± 1,48	-	9,06 ± 0,76	9,42 ± 1,36	9,43 ± 1,04	8,66 ± 1,13	9,06 ± 1,66	-

b₆₀[*]	Tempo (dias pm)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	7,11 ± 1,04	9,75 ± 0,91	8,96 ± 0,66	8,98 ± 0,99	8,81 ± 0,72	9,37 ± 0,83	-	-	-
DFDmod	5,58 ± 1,04	10,13 ± 0,66	10,50 ± 0,93	9,49 ± 0,86	8,77 ± 1,73	9,40 ± 2,33	-	-	-
DFD	4,72 ± 1,52	7,35 ± 1,80	7,63 ± 1,81	7,94 ± 1,93	7,97 ± 1,83	6,68 ± 1,10	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	7,64 ± 0,93	-	8,99 ± 1,60	10,03 ± 1,63	9,58 ± 1,72	9,95 ± 1,39	9,88 ± 1,47	9,68 ± 0,67
DFDmod	«	6,56 ± 1,86	-	5,89 ± 0,45	6,19 ± 0,87	6,12 ± 1,26	6,18 ± 1,50	6,76 ± 1,13	7,16 ± 1,24
DFD	«	4,83 ± 1,20	-	4,69 ± 0,98	5,12 ± 1,07	4,87 ± 0,93	4,99 ± 0,94	6,00 ± 1,10	6,21 ± 1,13
AM_{70/20}									
Normal	«	10,93 ± 0,96	-	9,86 ± 0,54	9,46 ± 0,61	9,26 ± 0,57	9,40 ± 1,35	-	-
DFDmod	«	11,61 ± 0,36	-	11,82 ± 0,51	11,31 ± 1,16	11,02 ± 0,54	10,84 ± 1,16	-	-
DFD	«	10,02 ± 2,03	-	9,62 ± 2,30	9,92 ± 2,06	9,70 ± 1,79	9,57 ± 1,36	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	9,61 ± 2,02	-	9,50 ± 0,63	9,29 ± 0,61	9,04 ± 0,56	9,27 ± 0,96	-	-
DFDmod	«	11,50 ± 0,81	-	11,04 ± 0,82	10,73 ± 0,53	10,47 ± 1,05	9,93 ± 1,19	-	-
DFD	«	10,15 ± 1,01	-	9,29 ± 1,57	9,01 ± 1,79	9,20 ± 1,22	9,38 ± 0,87	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	9,28 ± 0,45	-	8,69 ± 0,44	8,96 ± 0,67	9,09 ± 0,78	8,84 ± 1,85	11,59 ± 1,35	-
DFDmod	«	10,98 ± 0,41	-	10,67 ± 0,69	9,73 ± 0,68	9,64 ± 1,19	9,40 ± 0,98	9,34 ± 0,74	-
DFD	«	8,44 ± 1,24	-	9,04 ± 1,18	9,39 ± 1,37	8,84 ± 1,14	8,56 ± 1,16	9,26 ± 1,40	-

Δb[*]	Tempo (dias pm)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	3,85 ± 1,12	0,00 ± 0,29	-0,04 ± 0,25	0,89 ± 2,27	0,07 ± 0,12	0,16 ± 0,39	-	-	-
DFDmod	2,41 ± 0,57	0,03 ± 0,37	0,17 ± 0,24	-0,38 ± 0,80	0,04 ± 0,93	0,56 ± 0,79	-	-	-
DFD	2,04 ± 0,75	0,97 ± 0,61	0,02 ± 0,71	0,55 ± 0,64	0,05 ± 0,60	0,10 ± 0,96	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	3,31 ± 1,03	-	4,03 ± 0,89	4,92 ± 0,84	4,64 ± 1,07	4,67 ± 0,55	5,03 ± 1,18	5,26 ± 1,34
DFDmod	«	2,99 ± 0,64	-	2,70 ± 0,30	2,74 ± 0,57	2,47 ± 0,84	2,33 ± 1,17	3,07 ± 0,65	3,17 ± 0,37
DFD	«	2,10 ± 0,66	-	1,78 ± 0,69	1,88 ± 0,45	1,85 ± 0,34	1,90 ± 0,46	2,42 ± 0,84	3,01 ± 0,78
AM_{70/20}									
Normal	«	-0,28 ± 0,30	-	0,05 ± 0,20	0,16 ± 0,15	0,17 ± 0,13	0,19 ± 0,20	-	-
DFDmod	«	-0,91 ± 0,64	-	-0,43 ± 1,32	-0,38 ± 0,80	-0,37 ± 0,54	-0,23 ± 0,88	-	-
DFD	«	-1,38 ± 0,81	-	-1,16 ± 1,04	-1,09 ± 0,77	-0,35 ± 1,08	-0,30 ± 1,23	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	-0,93 ± 1,76	-	0,09 ± 0,28	0,09 ± 0,13	0,21 ± 0,46	0,16 ± 0,10	-	-
DFDmod	«	-0,95 ± 0,67	-	-0,82 ± 0,81	-0,35 ± 0,45	-0,07 ± 0,13	-0,11 ± 0,29	-	-
DFD	«	-0,28 ± 1,67	-	-0,88 ± 0,38	-0,51 ± 0,63	-0,46 ± 0,49	-0,29 ± 0,31	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	-0,23 ± 0,37	-	-0,05 ± 0,25	0,03 ± 0,13	0,10 ± 0,23	-0,84 ± 2,45	0,33 ± 0,34	-
DFDmod	«	-0,25 ± 0,49	-	-0,17 ± 0,56	-0,03 ± 0,36	0,12 ± 0,21	0,28 ± 0,39	0,03 ± 0,16	-
DFD	«	-0,89 ± 0,69	-	-0,02 ± 0,71	-0,03 ± 0,56	-0,59 ± 0,63	-0,10 ± 0,14	0,20 ± 0,54	-

Cor vermelho- vivo(E)	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	0,49 ± 0,75	1,29 ± 0,68	0,53 ± 0,72	0,20 ± 0,31	0,07 ± 0,12	0,24 ± 0,60	-	-	-
DFDmod	0,00 ± 0,00	2,01 ± 1,32	1,69 ± 1,05	2,18 ± 1,50	1,95 ± 0,92	2,01 ± 1,24	-	-	-
DFD	0,00 ± 0,00	0,37 ± 0,43	1,11 ± 0,57	1,38 ± 1,32	0,74 ± 0,79	1,39 ± 1,49	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	0,08 ± 0,19	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,03 ± 0,09	0,05 ± 0,07
DFDmod	«	0,00 ± 0,00	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,28 ± 0,30
DFD	«	0,00 ± 0,00	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
AM_{70/20}									
Normal	«	3,96 ± 0,52	-	1,80 ± 1,27	0,78 ± 1,22	0,48 ± 0,47	0,07 ± 0,12	-	-
DFDmod	«	4,67 ± 0,23	-	3,77 ± 0,47	3,88 ± 0,78	4,21 ± 0,46	4,00 ± 0,50	-	-
DFD	«	3,19 ± 0,67	-	3,48 ± 1,01	3,56 ± 0,98	3,31 ± 1,72	3,83 ± 0,69	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	3,66 ± 0,32	-	1,03 ± 0,42	0,61 ± 0,65	0,37 ± 0,22	0,03 ± 0,09	-	-
DFDmod	«	4,13 ± 0,73	-	3,43 ± 0,44	2,93 ± 1,22	2,55 ± 1,27	2,44 ± 1,01	-	-
DFD	«	2,26 ± 1,09	-	3,82 ± 0,89	3,42 ± 0,82	3,52 ± 0,94	3,01 ± 0,75	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	1,98 ± 0,86	-	0,13 ± 0,20	0,03 ± 0,09	0,03 ± 0,09	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-
DFDmod	«	2,92 ± 0,78	-	1,65 ± 0,82	0,80 ± 0,88	0,62 ± 0,91	0,79 ± 0,66	0,62 ± 0,42	-
DFD	«	1,94 ± 1,25	-	3,21 ± 1,07	2,83 ± 0,70	1,98 ± 1,23	1,18 ± 1,03	1,40 ± 1,43	-

Cor vermelho- vivo	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	1,38 ± 1,16	1,35 ± 0,86	0,47 ± 0,69	0,58 ± 0,86	0,04 ± 0,10	0,27 ± 0,43	-	-	-
DFDmod	0,25 ± 0,50	2,12 ± 0,93	1,77 ± 1,22	1,62 ± 1,27	1,39 ± 0,73	1,08 ± 1,22	-	-	-
DFD	0,00 ± 0,00	0,63 ± 0,53	1,05 ± 0,39	0,72 ± 0,82	0,68 ± 0,76	0,63 ± 0,82	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	2,60 ± 0,60	-	2,76 ± 0,74	3,26 ± 0,78	2,97 ± 0,91	2,32 ± 0,76	2,34 ± 0,69	2,45 ± 0,79
DFDmod	«	0,99 ± 0,42	-	0,72 ± 0,72	0,67 ± 0,68	0,60 ± 0,63	0,58 ± 0,81	0,70 ± 1,17	0,52 ± 0,48
DFD	«	0,24 ± 0,58	-	0,04 ± 0,10	0,21 ± 0,25	0,22 ± 0,27	0,16 ± 0,25	0,32 ± 0,51	0,27 ± 0,23
AM_{70/20}									
Normal	«	3,05 ± 1,00	-	1,37 ± 0,65	0,87 ± 1,01	0,29 ± 0,38	0,00 ± 0,00	-	-
DFDmod	«	2,77 ± 1,42	-	2,62 ± 0,98	3,12 ± 0,77	2,82 ± 0,43	2,85 ± 1,00	-	-
DFD	«	1,57 ± 0,85	-	2,43 ± 1,36	1,93 ± 0,63	2,26 ± 1,61	2,00 ± 0,82	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	2,52 ± 1,12	-	1,18 ± 0,52	0,68 ± 0,47	0,28 ± 0,28	0,09 ± 0,23	-	-
DFDmod	«	2,64 ± 0,66	-	2,09 ± 0,94	2,03 ± 0,65	2,34 ± 0,55	1,99 ± 0,67	-	-
DFD	«	1,36 ± 1,17	-	1,85 ± 1,37	1,74 ± 1,40	2,34 ± 1,48	1,25 ± 1,08	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	1,25 ± 1,15	-	0,26 ± 0,28	0,00 ± 0,00	0,05 ± 0,11	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-
DFDmod	«	1,67 ± 0,66	-	1,21 ± 0,53	0,68 ± 0,53	0,77 ± 0,67	1,00 ± 0,59	0,62 ± 0,66	-
DFD	«	0,97 ± 1,11	-	1,50 ± 0,94	1,55 ± 0,57	1,20 ± 0,90	0,74 ± 0,86	0,63 ± 0,63	-

Cor vermelho- escuro(E)	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	0,52 ± 0,90	0,36 ± 0,16	0,00 ± 0,00	0,03 ± 0,08	0,00 ± 0,00	0,26 ± 0,40	-	-	-
DFDmod	1,50 ± 0,77	0,72 ± 0,84	0,77 ± 0,96	0,88 ± 0,86	0,84 ± 0,85	1,38 ± 1,39	-	-	-
DFD	1,53 ± 1,35	2,21 ± 1,16	1,72 ± 1,13	1,56 ± 0,93	2,56 ± 0,60	2,13 ± 1,32	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	0,08 ± 0,19	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,07 ± 0,17	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
DFDmod	«	0,07 ± 0,17	-	0,17 ± 0,28	0,00 ± 0,00	0,09 ± 0,23	0,09 ± 0,23	0,08 ± 0,19	0,00 ± 0,00
DFD	«	0,00 ± 0,00	-	0,10 ± 0,26	0,04 ± 0,10	0,09 ± 0,23	0,18 ± 0,29	0,08 ± 0,19	0,00 ± 0,00
AM_{70/20}									
Normal	«	0,00 ± 0,00	-	0,31 ± 0,43	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,07 ± 0,17	-	-
DFDmod	«	0,00 ± 0,00	-	0,07 ± 0,12	0,20 ± 0,38	0,00 ± 0,00	0,08 ± 0,19	-	-
DFD	«	0,41 ± 0,32	-	0,17 ± 0,20	0,30 ± 0,30	0,71 ± 1,21	0,19 ± 0,34	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	0,00 ± 0,00	-	0,10 ± 0,17	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,03 ± 0,09	-	-
DFDmod	«	0,07 ± 0,12	-	0,10 ± 0,16	0,28 ± 0,44	0,38 ± 0,51	0,61 ± 0,34	-	-
DFD	«	0,69 ± 0,56	-	0,31 ± 0,42	0,11 ± 0,18	0,22 ± 0,29	0,45 ± 0,41	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	0,28 ± 0,68	-	0,07 ± 0,17	0,00 ± 0,00	0,03 ± 0,09	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-
DFDmod	«	0,11 ± 0,18	-	0,73 ± 0,68	0,76 ± 0,51	0,86 ± 1,03	0,52 ± 0,65	0,27 ± 0,34	-
DFD	«	0,83 ± 0,47	-	0,47 ± 0,57	0,28 ± 0,19	0,68 ± 0,55	0,98 ± 0,71	0,90 ± 0,98	-

Cor Vermelho- escuro	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	0,58 ± 0,97	0,07 ± 0,12	0,12 ± 0,29	0,00 ± 0,00	0,08 ± 0,19	0,34 ± 0,56	-	-	-
DFDmod	1,62 ± 0,76	0,39 ± 0,47	0,88 ± 1,09	1,11 ± 1,15	1,27 ± 0,65	1,70 ± 1,19	-	-	-
DFD	1,91 ± 1,22	2,24 ± 1,18	1,85 ± 1,12	2,31 ± 0,95	2,76 ± 0,89	2,36 ± 0,65	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	0,24 ± 0,40	-	0,04 ± 0,10	0,07 ± 0,17	0,05 ± 0,11	0,31 ± 0,47	0,21 ± 0,42	0,00 ± 0,00
DFDmod	«	1,26 ± 0,57	-	1,18 ± 0,89	1,73 ± 1,03	1,78 ± 1,02	1,97 ± 1,22	1,72 ± 1,24	2,67 ± 0,79
DFD	«	2,53 ± 1,06	-	2,47 ± 0,86	2,56 ± 1,04	2,57 ± 1,03	2,58 ± 0,93	2,32 ± 0,40	2,87 ± 0,45
AM_{70/20}									
Normal	«	0,09 ± 0,23	-	0,20 ± 0,24	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-
DFDmod	«	0,37 ± 0,52	-	0,30 ± 0,39	0,24 ± 0,22	0,22 ± 0,20	0,52 ± 0,77	-	-
DFD	«	1,28 ± 1,11	-	1,12 ± 1,19	1,17 ± 0,76	1,27 ± 1,41	1,20 ± 0,58	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	0,32 ± 0,46	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-
DFDmod	«	0,20 ± 0,18	-	0,59 ± 0,66	0,48 ± 0,49	0,19 ± 0,38	0,51 ± 0,52	-	-
DFD	«	1,40 ± 1,06	-	1,65 ± 1,74	1,56 ± 1,41	1,02 ± 0,80	1,25 ± 0,92	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	0,71 ± 0,82	-	0,06 ± 0,15	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-
DFDmod	«	0,63 ± 0,53	-	0,82 ± 0,58	0,65 ± 0,43	0,50 ± 0,44	0,23 ± 0,27	0,11 ± 0,20	-
DFD	«	1,65 ± 1,05	-	1,36 ± 0,78	1,24 ± 0,77	1,54 ± 0,82	1,05 ± 1,01	0,92 ± 0,56	-

Cor púrpura(E)	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	1,48 ± 1,16	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,03 ± 0,08	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-	-
DFDmod	1,91 ± 0,45	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,07 ± 0,17	0,08 ± 0,19	0,09 ± 0,23	-	-	-
DFD	1,90 ± 0,96	0,16 ± 0,29	0,23 ± 0,47	0,21 ± 0,51	0,07 ± 0,17	0,20 ± 0,34	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	2,25 ± 0,66	-	2,42 ± 0,77	2,26 ± 0,50	2,24 ± 0,37	2,01 ± 0,60	2,05 ± 0,56	1,83 ± 0,09
DFDmod	«	3,02 ± 0,28	-	2,83 ± 0,30	2,96 ± 0,44	2,74 ± 0,47	2,81 ± 0,52	2,69 ± 0,53	2,51 ± 0,47
DFD	«	3,29 ± 0,10	-	3,17 ± 0,25	3,14 ± 0,28	3,17 ± 0,25	3,18 ± 0,23	3,13 ± 0,25	3,14 ± 0,24
AM_{70/20}									
Normal	«	0,00 ± 0,00	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-
DFDmod	«	0,00 ± 0,00	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-
DFD	«	0,03 ± 0,09	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,07 ± 0,17	0,00 ± 0,00	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	0,00 ± 0,00	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-
DFDmod	«	0,00 ± 0,00	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-
DFD	«	0,07 ± 0,17	-	0,00 ± 0,00	0,07 ± 0,17	0,10 ± 0,26	0,07 ± 0,17	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	0,00 ± 0,00	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-
DFDmod	«	0,00 ± 0,00	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-
DFD	«	0,18 ± 0,29	-	0,00 ± 0,00	0,03 ± 0,09	0,07 ± 0,17	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-

Cor púrpura	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	0,48 ± 0,80	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-	-
DFDmod	0,74 ± 0,97	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,07 ± 0,12	0,12 ± 0,30	-	-	-
DFD	1,15 ± 1,32	0,15 ± 0,23	0,24 ± 0,60	0,29 ± 0,43	0,12 ± 0,20	0,36 ± 0,41	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	0,04 ± 0,10	-	0,07 ± 0,17	0,05 ± 0,11	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,05 ± 0,07
DFDmod	«	0,29 ± 0,58	-	0,48 ± 0,49	0,25 ± 0,43	0,41 ± 0,58	0,37 ± 0,34	0,36 ± 0,67	0,00 ± 0,00
DFD	«	0,68 ± 0,39	-	0,69 ± 0,63	0,74 ± 0,65	0,49 ± 0,31	0,93 ± 0,69	0,70 ± 0,58	0,22 ± 0,44
AM_{70/20}									
Normal	«	0,00 ± 0,00	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-
DFDmod	«	0,00 ± 0,00	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-
DFD	«	0,03 ± 0,09	-	0,19 ± 0,45	0,11 ± 0,18	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	0,00 ± 0,00	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-
DFDmod	«	0,00 ± 0,00	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-
DFD	«	0,25 ± 0,43	-	0,15 ± 0,38	0,14 ± 0,34	0,13 ± 0,23	0,03 ± 0,08	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	0,00 ± 0,00	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-
DFDmod	«	0,00 ± 0,00	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-
DFD	«	0,21 ± 0,42	-	0,15 ± 0,25	0,07 ± 0,17	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-

Cor castanha(E)	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	0,00 ± 0,00	0,36 ± 0,60	1,44 ± 1,16	1,98 ± 0,69	2,36 ± 0,19	1,50 ± 0,58	-	-	-
DFDmod	0,00 ± 0,00	0,14 ± 0,34	0,06 ± 0,11	0,03 ± 0,08	0,08 ± 0,19	0,00 ± 0,00	-	-	-
DFD	0,00 ± 0,00	0,04 ± 0,10	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,03 ± 0,08	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	0,00 ± 0,00	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,03 ± 0,09	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
DFDmod	«	0,00 ± 0,00	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
DFD	«	0,00 ± 0,00	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
AM_{70/20}									
Normal	«	0,00 ± 0,00	-	0,31 ± 0,53	1,42 ± 0,77	1,30 ± 0,55	1,88 ± 0,49	-	-
DFDmod	«	0,00 ± 0,00	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-
DFD	«	0,00 ± 0,00	-	0,04 ± 0,10	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	0,00 ± 0,00	-	0,83 ± 0,43	1,55 ± 0,65	1,86 ± 0,43	1,88 ± 0,50	-	-
DFDmod	«	0,00 ± 0,00	-	0,00 ± 0,00	0,04 ± 0,10	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-
DFD	«	0,04 ± 0,10	-	0,00 ± 0,00	0,03 ± 0,09	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	0,03 ± 0,09	-	1,59 ± 0,21	2,33 ± 0,34	2,07 ± 0,43	1,81 ± 0,72	1,63 ± 0,98	-
DFDmod	«	0,00 ± 0,00	-	0,08 ± 0,19	0,69 ± 0,65	0,88 ± 0,76	0,73 ± 0,70	1,04 ± 0,64	-
DFD	«	0,04 ± 0,10	-	0,00 ± 0,00	0,07 ± 0,12	0,04 ± 0,10	0,50 ± 0,59	0,34 ± 0,39	-

Cor castanha	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	0,00 ± 0,00	0,46 ± 0,80	1,56 ± 1,20	1,46 ± 0,86	1,96 ± 0,55	1,48 ± 1,20	-	-	-
DFDmod	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,05 ± 0,11	0,09 ± 0,23	0,10 ± 0,16	0,00 ± 0,00	-	-	-
DFD	0,00 ± 0,00	0,04 ± 0,10	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	0,00 ± 0,00	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
DFDmod	«	0,00 ± 0,00	-	0,07 ± 0,10	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
DFD	«	0,00 ± 0,00	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
AM_{70/20}									
Normal	«	0,00 ± 0,00	-	0,42 ± 0,49	1,14 ± 0,89	1,71 ± 0,58	1,94 ± 0,23	-	-
DFDmod	«	0,00 ± 0,00	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-
DFD	«	0,00 ± 0,00	-	0,03 ± 0,08	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	0,00 ± 0,00	-	0,62 ± 0,57	1,16 ± 0,44	1,94 ± 0,55	1,97 ± 0,50	-	-
DFDmod	«	0,00 ± 0,00	-	0,00 ± 0,00	0,04 ± 0,10	0,05 ± 0,11	0,09 ± 0,14	-	-
DFD	«	0,00 ± 0,00	-	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,09 ± 0,13	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	0,04 ± 0,10	-	1,74 ± 0,56	2,19 ± 0,42	2,34 ± 0,38	2,35 ± 0,39	1,67 ± 1,24	-
DFDmod	«	0,00 ± 0,00	-	0,04 ± 0,10	0,64 ± 0,50	0,70 ± 0,78	0,76 ± 0,92	1,18 ± 0,68	-
DFD	«	0,04 ± 0,10	-	0,06 ± 0,15	0,00 ± 0,00	0,05 ± 0,11	0,39 ± 0,49	0,42 ± 0,56	-

Superfície de descoloração (E)	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	1,00 ± 0,00	1,02 ± 0,05	1,07 ± 0,16	1,00 ± 0,00	1,90 ± 0,76	3,44 ± 1,80	-	-	-
DFDmod	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,02 ± 0,05	1,66 ± 1,02	2,73 ± 1,42	-	-	-
DFD	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,79 ± 1,22	1,19 ± 0,40	2,24 ± 1,06	3,54 ± 1,84	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	1,00 ± 0,00	-	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00
DFDmod	«	1,00 ± 0,00	-	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,03 ± 0,07	1,02 ± 0,06	1,00 ± 0,00
DFD	«	1,00 ± 0,00	-	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,05 ± 0,08	1,00 ± 0,00	1,03 ± 0,07
AM_{70/20}									
Normal	«	1,00 ± 0,00	-	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,74 ± 1,01	3,75 ± 1,15	-	-
DFDmod	«	1,00 ± 0,00	-	1,00 ± 0,00	1,02 ± 0,05	1,12 ± 0,23	1,51 ± 0,56	-	-
DFD	«	1,00 ± 0,00	-	1,00 ± 0,00	1,02 ± 0,06	1,00 ± 0,00	1,26 ± 0,43	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	1,02 ± 0,05	-	1,00 ± 0,00	1,02 ± 0,06	1,25 ± 0,45	3,22 ± 0,98	-	-
DFDmod	«	1,00 ± 0,00	-	1,02 ± 0,05	1,08 ± 0,20	1,19 ± 0,40	1,82 ± 0,94	-	-
DFD	«	1,11 ± 0,20	-	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,50 ± 0,71	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	1,02 ± 0,06	-	1,00 ± 0,00	1,02 ± 0,06	2,49 ± 1,07	3,70 ± 1,12	4,02 ± 2,29	-
DFDmod	«	1,00 ± 0,00	-	1,11 ± 0,27	1,32 ± 0,37	1,70 ± 0,87	2,73 ± 0,85	4,32 ± 1,38	-
DFD	«	1,07 ± 0,11	-	1,00 ± 0,00	1,07 ± 0,17	1,18 ± 0,21	1,75 ± 1,00	3,28 ± 1,81	-

Superfície de descoloração	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	1,00 ± 0,00	1,06 ± 0,14	1,13 ± 0,21	1,24 ± 0,59	2,09 ± 1,32	3,41 ± 2,02	-	-	-
DFDmod	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,24 ± 0,59	1,79 ± 1,08	3,04 ± 1,29	-	-	-
DFD	1,00 ± 0,00	1,04 ± 0,10	1,00 ± 0,00	1,15 ± 0,27	2,52 ± 1,03	3,59 ± 1,81	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	1,02 ± 0,06	-	1,00 ± 0,00	1,03 ± 0,07	1,03 ± 0,07	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00
DFDmod	«	1,00 ± 0,00	-	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,02 ± 0,06	1,03 ± 0,07	1,05 ± 0,07	1,11 ± 0,16
DFD	«	1,00 ± 0,00	-	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,03 ± 0,07	1,00 ± 0,00
AM_{70/20}									
Normal	«	1,00 ± 0,00	-	1,00 ± 0,00	1,44 ± 1,09	1,74 ± 1,08	3,98 ± 1,32	-	-
DFDmod	«	1,00 ± 0,00	-	1,00 ± 0,00	1,09 ± 0,11	1,04 ± 0,10	1,22 ± 0,40	-	-
DFD	«	1,00 ± 0,00	-	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	0,90 ± 0,26	1,17 ± 0,27	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	1,06 ± 0,14	-	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,46 ± 0,77	3,69 ± 1,18	-	-
DFDmod	«	1,02 ± 0,06	-	1,05 ± 0,07	1,03 ± 0,07	1,10 ± 0,23	1,86 ± 1,07	-	-
DFD	«	1,00 ± 0,00	-	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,42 ± 0,65	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	1,00 ± 0,00	-	1,00 ± 0,00	1,07 ± 0,17	2,07 ± 1,09	3,75 ± 1,18	3,60 ± 2,00	-
DFDmod	«	1,00 ± 0,00	-	1,00 ± 0,00	1,10 ± 0,13	1,84 ± 1,25	2,38 ± 1,05	4,31 ± 1,37	-
DFD	«	1,00 ± 0,00	-	1,00 ± 0,00	1,02 ± 0,06	1,16 ± 0,15	1,72 ± 0,86	2,54 ± 1,33	-

Cheiro a deteriorado	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	1,00 ± 0,00	1,36 ± 0,58	1,89 ± 1,09	2,61 ± 0,88	4,05 ± 1,06	5,56 ± 1,32	-	-	-
DFDmod	1,17 ± 0,41	1,18 ± 0,22	1,28 ± 0,27	2,65 ± 1,49	3,02 ± 2,19	5,45 ± 1,13	-	-	-
DFD	1,76 ± 1,14	1,48 ± 0,58	1,74 ± 0,71	2,53 ± 1,08	5,21 ± 1,42	5,86 ± 1,00	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	1,25 ± 0,61	-	1,47 ± 0,34	1,66 ± 0,30	1,81 ± 0,52	1,76 ± 0,35	2,09 ± 0,55	2,65 ± 0,87
DFDmod	«	1,18 ± 0,22	-	2,07 ± 1,47	1,59 ± 0,30	1,84 ± 0,56	2,02 ± 0,57	3,27 ± 1,28	4,41 ± 1,72
DFD	«	1,60 ± 0,26	-	1,62 ± 0,39	2,20 ± 0,69	1,71 ± 0,43	2,83 ± 1,09	3,79 ± 1,20	4,28 ± 1,62
AM_{70/20}									
Normal	«	2,00 ± 2,45	-	1,82 ± 0,62	2,24 ± 0,70	4,05 ± 1,61	5,81 ± 0,55	-	-
DFDmod	«	1,46 ± 0,19	-	1,79 ± 0,56	1,87 ± 0,42	2,78 ± 0,57	3,60 ± 0,65	-	-
DFD	«	1,56 ± 0,71	-	2,17 ± 0,72	2,67 ± 0,52	3,55 ± 1,36	4,01 ± 1,39	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	1,20 ± 0,49	-	1,63 ± 0,54	2,10 ± 0,60	3,50 ± 1,23	4,76 ± 0,82	-	-
DFDmod	«	1,33 ± 0,44	-	1,51 ± 0,17	1,63 ± 0,32	2,33 ± 0,83	3,66 ± 0,85	-	-
DFD	«	1,70 ± 0,61	-	1,97 ± 0,48	2,73 ± 0,46	2,60 ± 0,73	3,60 ± 1,42	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	1,17 ± 0,30	-	1,63 ± 0,47	2,16 ± 0,61	4,23 ± 0,62	4,74 ± 1,15	5,63 ± 0,56	-
DFDmod	«	1,38 ± 0,44	-	1,67 ± 0,42	2,19 ± 0,42	2,19 ± 0,79	3,33 ± 0,59	5,57 ± 0,42	-
DFD	«	1,49 ± 0,45	-	1,89 ± 0,39	2,36 ± 0,23	2,51 ± 0,60	3,64 ± 0,99	5,02 ± 0,91	-

Apreciação global(E)	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	6,50 ± 0,52	5,51 ± 0,93	4,46 ± 1,11	3,92 ± 0,89	2,78 ± 1,05	1,59 ± 0,62	-	-	-
DFDmod	6,55 ± 0,28	6,27 ± 0,64	6,13 ± 0,37	6,23 ± 0,43	5,00 ± 1,65	2,59 ± 1,63	-	-	-
DFD	6,49 ± 0,44	6,00 ± 0,40	4,56 ± 2,39	6,02 ± 0,71	3,82 ± 1,96	2,13 ± 2,02	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	6,25 ± 0,11	-	5,82 ± 0,28	5,66 ± 0,32	5,52 ± 0,39	5,83 ± 0,38	5,72 ± 0,28	5,49 ± 0,49
DFDmod	«	6,24 ± 0,29	-	5,88 ± 0,21	5,96 ± 0,30	5,96 ± 0,16	5,91 ± 0,41	5,64 ± 0,36	5,35 ± 0,19
DFD	«	6,24 ± 0,22	-	6,11 ± 0,17	5,97 ± 0,16	6,16 ± 0,12	5,89 ± 0,30	5,88 ± 0,22	5,54 ± 0,44
AM_{70/20}									
Normal	«	6,76 ± 0,10	-	5,38 ± 0,77	4,00 ± 0,66	3,17 ± 1,05	1,42 ± 0,29	-	-
DFDmod	«	6,83 ± 0,17	-	6,73 ± 0,17	6,57 ± 0,28	6,14 ± 1,19	5,40 ± 1,38	-	-
DFD	«	6,81 ± 0,25	-	6,41 ± 0,56	6,59 ± 0,24	6,47 ± 0,42	5,95 ± 1,33	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	6,54 ± 0,24	-	4,98 ± 0,49	3,86 ± 0,75	3,20 ± 0,57	1,52 ± 0,21	-	-
DFDmod	«	6,84 ± 0,21	-	6,60 ± 0,25	6,32 ± 0,56	5,70 ± 1,03	4,52 ± 1,92	-	-
DFD	«	6,58 ± 0,30	-	6,61 ± 0,21	6,48 ± 0,25	6,49 ± 0,20	5,19 ± 2,07	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	6,35 ± 0,25	-	4,44 ± 0,42	3,43 ± 0,75	2,18 ± 0,60	1,14 ± 0,22	1,07 ± 0,11	-
DFDmod	«	6,50 ± 0,47	-	5,89 ± 0,81	5,04 ± 0,95	4,22 ± 1,34	2,70 ± 1,08	1,80 ± 1,21	-
DFD	«	6,39 ± 0,52	-	6,50 ± 0,24	6,27 ± 0,41	5,81 ± 0,85	4,25 ± 1,99	2,46 ± 2,07	-

Apreciação global	Tempo (dias <i>pm</i>)								
	1	3	5	7	10	14	21	28	35
Aerobiose									
Normal	6,55 ± 0,52	5,63 ± 0,71	4,36 ± 1,05	3,34 ± 0,99	2,51 ± 1,03	1,33 ± 0,45	-	-	-
DFDmod	6,45 ± 0,32	5,99 ± 0,69	5,89 ± 0,56	4,83 ± 1,63	3,56 ± 1,56	1,53 ± 0,66	-	-	-
DFD	6,49 ± 0,48	5,64 ± 0,78	5,64 ± 0,55	4,61 ± 1,27	2,13 ± 1,69	1,62 ± 1,02	-	-	-
Vácuo									
Normal	«	6,25 ± 0,39	-	5,84 ± 0,56	5,78 ± 0,35	5,36 ± 0,36	5,54 ± 0,42	4,91 ± 0,43	4,35 ± 0,62
DFDmod	«	6,20 ± 0,38	-	5,62 ± 0,37	5,69 ± 0,22	5,26 ± 0,57	5,12 ± 0,39	3,93 ± 1,44	2,75 ± 1,45
DFD	«	6,01 ± 0,35	-	5,58 ± 0,24	5,29 ± 0,34	5,21 ± 0,25	4,55 ± 0,66	3,22 ± 1,34	2,44 ± 1,08
AM_{70/20}									
Normal	«	6,29 ± 0,34	-	5,00 ± 0,80	4,14 ± 0,79	2,68 ± 0,81	1,21 ± 0,19	-	-
DFDmod	«	6,16 ± 0,55	-	5,91 ± 0,49	5,61 ± 0,43	4,86 ± 0,45	3,85 ± 0,64	-	-
DFD	«	6,05 ± 0,49	-	5,13 ± 0,51	4,77 ± 0,64	3,66 ± 1,43	3,25 ± 1,49	-	-
AM_{50/40}									
Normal	«	6,22 ± 0,29	-	5,15 ± 0,70	4,20 ± 0,31	3,06 ± 0,88	1,60 ± 0,36	-	-
DFDmod	«	6,05 ± 0,57	-	5,64 ± 0,46	5,58 ± 0,51	5,09 ± 0,71	3,40 ± 1,02	-	-
DFD	«	5,80 ± 0,40	-	5,35 ± 0,35	5,06 ± 0,28	4,70 ± 0,57	3,40 ± 1,44	-	-
AM_{30/60}									
Normal	«	5,86 ± 0,38	-	4,22 ± 0,52	3,63 ± 0,62	2,24 ± 0,55	1,47 ± 0,47	1,23 ± 0,14	-
DFDmod	«	5,87 ± 0,57	-	5,55 ± 0,54	4,60 ± 0,89	3,95 ± 1,16	2,98 ± 0,85	1,40 ± 0,31	-
DFD	«	5,76 ± 0,56	-	5,42 ± 0,41	5,13 ± 0,33	4,45 ± 0,77	3,74 ± 1,23	1,88 ± 0,84	-

ANEXO A.IV. Coeficientes de correlação (r) de Pearson (posição inferior à diagonal) e significância (Sig., posição superior à diagonal) para os parâmetros microbiológicos, físico-químicos e sensoriais

Sig. r	BAL	BT	Ent.	Pseud.	Fung.	Mes.	Psi.	L*	L ^a *	ΔL*	a ^b *	Δa ^b *	b ^b *	b ^a *	Δb ^a *	pH	ABVT	Vvivo(E)	Vvivo Vesc.(E)	Vesc.	Púr.(E)	Púr.	Cast.(E)	Cast.	SD	ChD	AG(E)	AG			
BAL	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,3624	0,4322	0,5836	0,0000	0,0001	0,0043	0,2129	0,0004	0,0323	0,0000	0,0008	0,0086	0,3464	0,2951	0,0041	0,4659	0,2323	0,0842	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		
BT	0,70	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,8508	0,8306	0,9525	0,0000	0,0007	0,0675	0,6133	0,0095	0,0000	0,0800	0,1813	0,7694	0,0594	0,0525	0,6200	0,6013	0,5167	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		
Ent.	0,38	0,48	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0026	0,0103	0,8547	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0004	0,0000	0,0332	0,1833	0,0000	0,0091	0,0000	0,0000	0,2487	0,3995	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000		
Pseud.	0,54	0,76	0,52	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0081	0,0330	0,0367	0,0000	0,0016	0,0000	0,0000	0,0006	0,0002	0,0000	0,0000	0,0045	0,0017	0,0000	0,0004	0,4186	0,8961	0,6645	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	
Fung.	0,43	0,50	0,44	0,72	0,0000	0,0000	0,0000	0,0022	0,0228	0,0024	0,0000	0,0051	0,0000	0,0000	0,0005	0,0000	0,0811	0,0000	0,0014	0,0010	0,0000	0,0003	0,8476	0,9843	0,6489	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	
Mes.	0,73	0,89	0,53	0,87	0,64	0,0000	0,0000	0,2344	0,2172	0,9843	0,0000	0,0019	0,0110	0,0554	0,0304	0,0000	0,0000	0,0011	0,0005	0,0116	0,0006	0,1440	0,9766	0,1758	0,2194	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	
Psi.	0,74	0,89	0,52	0,85	0,64	0,96	0,0000	0,4421	0,4881	0,7181	0,0000	0,0000	0,0016	0,0518	0,0014	0,0001	0,0000	0,0001	0,0005	0,1286	0,0057	0,0341	0,8962	0,0549	0,0606	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	
L*	0,04	-0,01	-0,24	-0,12	-0,13	-0,05	-0,03	0,0000	0,6043	0,2282	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0010	0,0031	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	
L ^a *	0,03	-0,01	-0,21	-0,09	-0,10	-0,05	-0,03	0,96	0,9232	0,1806	0,2099	0,6579	0,0000	0,0000	0,2692	0,0000	0,0008	0,9560	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
ΔL*	-0,02	0,00	0,13	0,09	0,13	0,00	0,02	-0,28	0,00	0,0000	0,9934	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,7880	0,0000	0,0793	0,9818	0,0097	0,0000	0,0001	0,0069	0,0169	0,0146	0,0636	0,0105	0,1504	0,0031	
a ^b *	-0,24	-0,20	-0,11	-0,20	-0,19	-0,26	-0,28	0,02	-0,06	-0,28	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0556	0,0338	0,0000	0,0001	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
a ^b *	-0,19	-0,15	0,01	-0,14	-0,12	-0,22	-0,22	-0,05	-0,05	0,00	0,92	0,5771	0,0000	0,0000	0,0231	0,0131	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0041	0,0621	0,7327	0,0028	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
Δa ^a *	0,17	0,15	0,30	0,19	0,19	0,14	0,18	-0,18	0,02	0,69	-0,38	0,02	0,0000	0,0000	0,0000	0,0112	0,0000	0,8298	0,0671	0,3256	0,0000	0,0063	0,0392	0,0275	0,0624	0,1835	0,5246	0,8206	0,6151		
b ^a *	-0,12	-0,08	-0,30	-0,20	-0,11	-0,14	-0,14	0,65	0,49	-0,60	0,50	0,24	-0,69	0,0000	0,0000	0,2020	0,0027	0,0000	0,0000	0,0667	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0065	0,0140	0,0315	0,0491	0,0182		
b ^a *	-0,05	-0,02	-0,19	-0,15	-0,15	-0,08	-0,09	0,74	0,69	-0,27	0,49	0,43	-0,23	0,83	0,0000	0,0000	0,0009	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0036	0,2540	0,2874	0,3788	0,2853		
Δb ^a *	0,15	0,11	0,29	0,16	0,18	0,09	0,14	-0,25	-0,05	0,72	-0,28	0,10	0,93	-0,76	-0,27	0,0000	0,1901	0,0000	0,2323	0,0111	0,0510	0,0000	0,0000	0,0002	0,0000	0,0000	0,0003	0,0033	0,0127	0,0168	0,0043
pH	0,09	0,20	0,16	0,18	0,08	0,21	0,17	-0,57	-0,66	-0,19	0,19	0,11	-0,23	-0,06	-0,28	-0,23	0,0000	0,0000	0,2912	0,0000	0,0000	0,5669	0,0000	0,0000	0,0000	0,5797	0,2060	0,0167	0,0000	0,4696	
ABVT	0,28	0,41	0,39	0,45	0,37	0,49	0,50	-0,14	-0,15	0,01	-0,25	-0,22	-0,11	-0,13	-0,14	0,06	0,25	0,0013	0,0002	0,0000	0,0000	0,9878	0,6103	0,1075	0,2281	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	
Vvivo(E)	-0,15	-0,08	-0,18	-0,18	-0,20	-0,14	-0,17	0,13	0,00	-0,46	0,74	0,55	-0,57	0,65	0,51	-0,54	0,30	-0,14	0,0000	0,0006	0,0020	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	
Vvivo	-0,11	-0,06	-0,09	-0,12	-0,14	-0,15	-0,15	0,20	0,19	-0,08	0,62	0,67	0,01	0,33	0,52	0,05	-0,05	-0,16	0,59	0,0000	0,0000	0,0005	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	
Vvivo Vesc.(E)	-0,04	0,01	0,06	0,14	0,14	0,11	0,07	-0,35	-0,36	0,00	-0,08	-0,13	-0,08	-0,08	-0,21	-0,11	0,37	0,23	-0,15	-0,22	0,0000	0,0000	0,0002	0,0000	0,0000	0,0000	0,0001	0,0352	0,0126	0,1206	
Vvivo Vesc.	0,05	0,08	0,29	0,21	0,22	0,15	0,12	-0,76	-0,76	0,11	-0,09	-0,08	0,04	-0,47	-0,61	0,09	0,60	0,20	-0,13	-0,44	0,42	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0430	0,0179	0,7667	0,0000	0,3388	
Púr.(E)	0,13	0,08	0,34	0,15	0,16	0,06	0,09	-0,54	-0,41	0,54	-0,27	-0,01	0,63	-0,85	-0,64	0,73	0,03	0,00	-0,52	-0,15	-0,19	0,40	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
Púr.	0,03	-0,02	0,11	0,04	0,01	0,00	-0,01	-0,50	-0,47	0,18	-0,17	-0,13	0,12	-0,46	-0,55	0,16	0,25	-0,02	-0,24	-0,31	0,16	0,29	0,44	0,0000	0,0000	0,0000	0,0119	0,0146	0,0404	0,0001	0,0000
Cast(E)	0,05	0,02	-0,18	0,01	0,00	0,06	0,08	0,51	0,50	-0,12	-0,49	-0,57	-0,09	0,19	0,13	-0,18	-0,44	0,07	-0,38	-0,43	-0,20	-0,39	-0,31	-0,18	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
Cast	0,08	0,03	-0,18	-0,02	-0,02	0,05	0,08	0,50	0,49	-0,10	-0,50	-0,58	-0,10	0,19	0,12	-0,19	-0,43	0,05	-0,37	-0,45	-0,20	-0,39	-0,30	-0,18	0,93	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
SD(E)	0,27	0,34	0,05	0,25	0,22	0,38	0,38	0,23	0,21	-0,11	-0,53	-0,61	-0,08	0,12	0,04	-0,16	-0,02	0,36	-0,20	-0,26	0,22	-0,09	-0,24	-0,11	0,31	0,33	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
SD	0,28	0,36	0,04	0,28	0,23	0,41	0,41	0,24	0,22	-0,08	-0,52	-0,59	-0,06	0,11	0,05	-0,13	-0,06	0,37	-0,20	-0,25	0,17	-0,10	-0,23	-0,11	0,34	0,91	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
ChD	0,49	0,56	0,24	0,49	0,36	0,61	0,62	0,17	0,14	-0,11	-0,39	-0,44	-0,03	0,09	0,05	-0,10	0,50	-0,13	-0,25	0,09	0,01	-0,16	-0,09	0,32	0,35	0,65	0,68	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
AG(E)	-0,28	-0,34	-0,02	-0,28	-0,24	-0,38	-0,40	-0,37	-0,36	0,06	0,64	0,68	-0,01	-0,09	-0,04	0,10	0,23	-0,39	0,43	0,41	-0,11	0,21	0,25	0,17	-0,67	-0,80	-0,76	-0,68	0,0000	0,0000	
AG	-0,46	-0,55	-0,23	-0,47	-0,36	-0,60	-0,61	-0,25	-0,22	0,13	0,50	0,55	0,02	-0,10	-0,05	0,12	0,03	-0,52	0,26	0,39	-0,07	0,04	0,22	0,18	-0,52	-0,53	-0,67	-0,70	-0,88	0,82	

BAL-Bactérias do Ácido Lático; BT-Broc hofrix thermos phactr; Ent-Enterobacteriaceae; Pseud.-Pseudomonas s.p.p.; Fung.-Fungos; Mes.-Mesofílicos; Psi.-Psicrotróficos; Vvivo(E)-Vermelho-vivo(E); Vvivo Vesc.(E)-Vermelho-escuro(E); Vvivo Vesc.-Vermelho-escuro(E); Vesc.-Vermelho-escuro(E); Púr.(E)-Púrpura(E); Púr.-Púrpura; Cast(E)-Castanho(E); Cast.-Castanho; SD(E)-Superfície de descoloração; ChD-Cheiro a deteriorador; AG(E)-Apreciação global(E); AG-Apreciação global.

ANEXO A.V. Análise de variância para os compostos da fracção volátil

Análise de variância para o Acetaldeído					
Fonte da	SQ	GL	QM	F	P
pH _i	140460,88	1	140460,88	13,39	0,0012
Embalagem	17181,23	1	17181,23	1,64	0,2129
Tempo	3006,48	1	3006,48	0,29	0,5974
pH _i x emb	1619,31	1	1619,31	0,15	0,6979
pH _i x tempo	4454,70	1	4454,70	0,42	0,5208
Emb x tempo	34110,48	1	34110,48	3,25	0,0839
pH _i x emb x	1,52	1	1,52	0,00	0,9905
Resíduo	251788,70	24	10491,20		

Análise de variância para o Etanol					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _i	549553,37	1	549553,37	5,69	0,0253
Embalagem	80204,50	1	80204,50	0,83	0,3712
Tempo	21141,72	1	21141,72	0,22	0,6441
pH _i x emb	266148,70	1	266148,70	2,76	0,1099
pH _i x tempo	150474,80	1	150474,80	1,56	0,2240
Emb x tempo	287048,33	1	287048,33	2,97	0,0976
pH _i x emb x	196813,76	1	196813,76	2,04	0,1663
Resíduo	2318081,82	24	96586,74		

Análise de variância para o 2-propanona+pentano					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _i	188381,74	1	188381,74	2,96	0,0980
Embalagem	602,96	1	602,96	0,01	0,9232
Tempo	68395,92	1	68395,92	1,08	0,3099
pH _i x emb	2336,83	1	2336,83	0,04	0,8495
pH _i x tempo	28323,94	1	28323,94	0,45	0,5106
Emb x tempo	38177,43	1	38177,43	0,60	0,4459
pH _i x emb x	189404,78	1	189404,78	2,98	0,0971
Resíduo	1525329,96	24	63555,41		

Análise de variância para o Sulfureto de dimetilo					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _i	11791,22	1	11791,22	9,36	0,0054
Embalagem	8896,38	1	8896,38	7,06	0,0138
Tempo	2161,55	1	2161,55	1,72	0,2027
pH _i x emb	1495,56	1	1495,56	1,19	0,2868
pH _i x tempo	107,21	1	107,21	0,09	0,7730
Emb x tempo	365,63	1	365,63	0,29	0,5951
pH _i x emb x	417,15	1	417,15	0,33	0,5704
Resíduo	30245,78	24	1260,24		

Análise de variância para o Dissulfureto de carbono					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _i	14908,26	1	14908,26	0,23	0,6375
Embalagem	475,28	1	475,28	0,01	0,9328
Tempo	6657,19	1	6657,19	0,10	0,7525
pH _i x emb	51071,65	1	51071,65	0,78	0,3858
pH _i x tempo	7190,22	1	7190,22	0,11	0,7432
Emb x tempo	157735,27	1	157735,27	2,41	0,1337
pH _i x emb x	40230,44	1	40230,44	0,61	0,4407
Resíduo	1570954,96	24	65456,46		

Análise de variância para o 1-propanol+2-metilpropanol					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _i	155,95	1	155,95	0,10696	0,7465
Embalagem	181,21	1	181,21	0,124	0,7275
Tempo	8503,53	1	8503,53	5,832	0,0237
pH _i x emb	10022,13	1	10022,13	6,874	0,0141
pH _i x tempo	2146,79	1	2146,79	1,472	0,2368
Emb x tempo	415,51	1	415,51	0,284	0,5984
pH _i x emb x	4391,08	1	4391,08	3,011	0,0955
Resíduo	34991,43	24	1457,98		

Análise de variância para o 2-metilpentano					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _i	41465,21	1	41465,21	1,77	0,1964
Embalagem	9851,70	1	9851,70	0,42	0,5234
Tempo	59691,40	1	59691,40	2,54	0,1290
pH _i x emb	78347,97	1	78347,97	3,34	0,0802
pH _i x tempo	100322,16	1	100322,16	4,27	0,0497
Emb x tempo	91365,93	1	91365,93	3,89	0,0602
pH _i x emb x tempo	27822,38	1	27822,38	1,18	0,2872
Resíduo	563682,07	24	23486,75		

Análise de variância para o Ácido acético					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _i	25859,73	1	25859,73	0,36	0,5531
Embalagem	83504,26	1	83504,26	1,17	0,2905
Tempo	128425,27	1	128425,27	1,80	0,1926
pH _i x emb	63303,90	1	63303,90	0,89	0,3560
pH _i x tempo	25105,52	1	25105,52	0,35	0,5589
Emb x tempo	28675,26	1	28675,26	0,40	0,5324
pH _i x emb x tempo	96803,75	1	96803,75	1,35	0,2559
Resíduo	1715090,34	24	71462,10		

Análise de variância para o 3-metilpentano					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _i	1589,37	1	1589,37	3,64	0,0684
Embalagem	562,56	1	562,56	1,29	0,2674
Tempo	1589,37	1	1589,37	3,64	0,0684
pH _i x emb	116,32	1	116,32	0,27	0,6104
pH _i x tempo	5531,01	1	5531,01	12,67	0,0016
Emb x tempo	116,32	1	116,32	0,27	0,6104
pH _i x emb x tempo	562,56	1	562,56	1,29	0,2674
Resíduo	10474,70	24	436,45		

Análise de variância para a 2,3-butanodiona					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _i	156788,90	1	156788,90	6,11	0,0209
Embalagem	165924,52	1	165924,52	6,46	0,0179
Tempo	47870,00	1	47870,00	1,87	0,1847
pH _i x emb	23299,59	1	23299,59	0,91	0,3502
pH _i x tempo	66834,29	1	66834,29	2,60	0,1197
Emb x tempo	32941,07	1	32941,07	1,28	0,2684
pH _i x emb x tempo	76602,16	1	76602,16	2,98	0,0969
Resíduo	615976,75	24	25665,70		

Análise de variância para a 2-butanona					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _i	4291,20	1	4291,20	1,07	0,3123
Embalagem	231,41	1	231,41	0,06	0,8126
Tempo	16,54	1	16,54	0,00	0,9494
pH _i x emb	3894,67	1	3894,67	0,97	0,3353
pH _i x tempo	1060,13	1	1060,13	0,26	0,6126
Emb x tempo	1917,92	1	1917,92	0,48	0,4968
pH _i x emb x tempo	4850,67	1	4850,67	1,20	0,2834
Resíduo	96677,70	24	4028,24		

Análise de variância para o Hexano					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _i	1645,49	1	1645,49	0,19	0,6634
Embalagem	6893,28	1	6893,28	0,81	0,3760
Tempo	10202,74	1	10202,74	1,20	0,2833
pH _i x emb	419,63	1	419,63	0,05	0,8258
pH _i x tempo	401,29	1	401,29	0,05	0,8295
Emb x tempo	1880,71	1	1880,71	0,22	0,6418
pH _i x emb x tempo	51289,08	1	51289,08	6,05	0,0214
Resíduo	203324,96	24	8471,87		

Análise de variância para o Acetato de etilo					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	891,56	1	891,56	0,54	0,4715
Embalagem	581,90	1	581,90	0,35	0,5600
Tempo	48,73	1	48,73	0,03	0,8656
pH _f x emb	404,17	1	404,17	0,24	0,6268
pH _f x tempo	1721,47	1	1721,47	1,03	0,3195
Emb x tempo	2902,42	1	2902,42	1,74	0,1993
pH _f x emb x tempo	42,70	1	42,70	0,03	0,8741
Resíduo	39974,50	24	1665,60		

Análise de variância para o 2-metilbutanal					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	14,21	1	14,21	0,24	0,6277
Embalagem	417,22	1	417,22	7,09	0,0136
Tempo	417,22	1	417,22	7,09	0,0136
pH _f x emb	14,21	1	14,21	0,24	0,6277
pH _f x tempo	14,21	1	14,21	0,24	0,6277
Emb x tempo	417,22	1	417,22	7,09	0,0136
pH _f x emb x tempo	14,21	1	14,21	0,24	0,6277
Resíduo	1412,79	24	58,87		

Análise de variância para o 3-metilbutanal					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	336,46	1	336,46	0,63	0,4339
Embalagem	2761,50	1	2761,50	5,20	0,0318
Tempo	4528,11	1	4528,11	8,53	0,0075
pH _f x emb	7,92	1	7,92	0,01	0,9038
pH _f x tempo	308,18	1	308,18	0,58	0,4536
Emb x tempo	2844,91	1	2844,91	5,36	0,0295
pH _f x emb x tempo	12,97	1	12,97	0,02	0,8771
Resíduo	12746,67	24	531,11		

Análise de variância para o Benzeno					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	5,47	1	5,47	0,79	0,3841
Embalagem	14,98	1	14,98	2,15	0,1552
Tempo	6,39	1	6,39	0,92	0,3476
pH _f x emb	5,47	1	5,47	0,79	0,3841
pH _f x tempo	0,99	1	0,99	0,14	0,7094
Emb x tempo	6,39	1	6,39	0,92	0,3476
pH _f x emb x tempo	0,99	1	0,99	0,14	0,7094
Resíduo	166,96	24	6,96		

Análise de variância para o 1-penten-3-ol					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	3599,32	1	3599,32	5,24	0,0312
Embalagem	8285,63	1	8285,63	12,06	0,0020
Tempo	1207,74	1	1207,74	1,76	0,1974
pH _f x emb	1494,55	1	1494,55	2,17	0,1533
pH _f x tempo	554,06	1	554,06	0,81	0,3782
Emb x tempo	1869,34	1	1869,34	2,72	0,1121
pH _f x emb x tempo	1025,40	1	1025,40	1,49	0,2338
Resíduo	16493,33	24	687,22		

Análise de variância para a 2-pentanona					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	64,50	1	64,50	0,63	0,4344
Embalagem	1741,87	1	1741,87	17,07	0,0004
Tempo	31,69	1	31,69	0,31	0,5825
pH _f x emb	76,95	1	76,95	0,75	0,3938
pH _f x tempo	0,26	1	0,26	0,00	0,9604
Emb x tempo	46,69	1	46,69	0,46	0,5052
pH _f x emb x tempo	2,06	1	2,06	0,02	0,8883
Resíduo	2449,19	24	102,05		

Análise de variância para a 2,3-pentanodiona					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	14238,37	1	14238,37	13,11	0,0014
Embalagem	14238,37	1	14238,37	13,11	0,0014
Tempo	3295,98	1	3295,98	3,03	0,0944
pH _f x emb	14238,37	1	14238,37	13,11	0,0014
pH _f x tempo	3295,98	1	3295,98	3,03	0,0944
Emb x tempo	3295,98	1	3295,98	3,03	0,0944
pH _f x emb x tempo	3295,98	1	3295,98	3,03	0,0944
Resíduo	26073,52	24	1086,40		

Análise de variância para o Pentanal+Heptano					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	2167,38	1	2167,38	5,54	0,0271
Embalagem	2614,06	1	2614,06	6,69	0,0162
Tempo	1965,45	1	1965,45	5,03	0,0345
pH _f x emb	1944,29	1	1944,29	4,97	0,0354
pH _f x tempo	1391,27	1	1391,27	3,56	0,0714
Emb x tempo	2198,51	1	2198,51	5,62	0,0261
pH _f x emb x tempo	1379,37	1	1379,37	3,53	0,0725
Resíduo	9384,32	24	391,01		

Análise de variância para o 2-etilfurano					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	1267,78	1	1267,78	5,15	0,0326
Embalagem	1121,04	1	1121,04	4,55	0,0433
Tempo	983,16	1	983,16	3,99	0,0572
pH _f x emb	1121,04	1	1121,04	4,55	0,0433
pH _f x tempo	983,16	1	983,16	3,99	0,0572
Emb x tempo	1120,87	1	1120,87	4,55	0,0433
pH _f x emb x tempo	1120,87	1	1120,87	4,55	0,0433
Resíduo	5912,49	24	246,35		

Análise de variância para o 3-hidroxi-2-butanona					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	136273,84	1	136273,84	1,03	0,3208
Embalagem	520198,56	1	520198,56	3,92	0,0592
Tempo	225557,99	1	225557,99	1,70	0,2045
pH _f x emb	278204,93	1	278204,93	2,10	0,1604
pH _f x tempo	712665,35	1	712665,35	5,38	0,0293
Emb x tempo	523116,99	1	523116,99	3,95	0,0585
pH _f x emb x tempo	376814,33	1	376814,33	2,84	0,1048
Resíduo	3182067,63	24	132586,15		

Análise de variância para o 3-metilbutanol					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	2354,94	1	2354,94	1,72	0,2026
Embalagem	8920,84	1	8920,84	6,50	0,0176
Tempo	9720,93	1	9720,93	7,09	0,0137
pH _f x emb	2774,37	1	2774,37	2,02	0,1679
pH _f x tempo	2354,94	1	2354,94	1,72	0,2026
Emb x tempo	8920,84	1	8920,84	6,50	0,0179
pH _f x emb x tempo	2774,37	1	2774,37	2,02	0,1679
Resíduo	32928,21	24	1372,01		

Análise de variância para o 2-metilbutanol					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	1122,36	1	1122,36	4,36	0,0476
Embalagem	1678,05	1	1678,05	6,52	0,0174
Tempo	1678,05	1	1678,05	6,52	0,0174
pH _f x emb	1122,36	1	1122,36	4,36	0,0476
pH _f x tempo	1122,36	1	1122,36	4,36	0,0476
Emb x tempo	1678,05	1	1678,05	6,52	0,0174
pH _f x emb x tempo	1122,36	1	1122,36	4,36	0,0476
Resíduo	6178,08	24	257,42		

Análise de variância para a Piridina					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	174,99	1	174,99	2,46	0,1301
Embalagem	172,26	1	172,26	2,42	0,1330
Tempo	190,27	1	190,27	2,67	0,1152
pH _f x emb	230,43	1	230,43	3,23	0,0847
pH _f x tempo	137,80	1	137,80	1,93	0,1770
Emb x tempo	140,23	1	140,23	1,97	0,1734
pH _f x emb x tempo	193,13	1	193,13	2,71	0,1127
Resíduo	1709,68	24	71,24		

Análise de variância para o 1-pentanol					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	14703,86	1	14703,86	4,59	0,0426
Embalagem	20623,86	1	20623,86	6,43	0,0181
Tempo	7417,41	1	7417,41	2,31	0,1413
pH _f x emb	13842,46	1	13842,46	4,32	0,0486
pH _f x tempo	6145,95	1	6145,95	1,92	0,1789
Emb x tempo	7891,72	1	7891,72	2,46	0,1297
pH _f x emb x tempo	6578,36	1	6578,36	2,05	0,1649
Resíduo	76935,68	24	3205,65		

Análise de variância para o 2-etil-hexeno					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	4,63	1	4,63	0,31	0,5805
Embalagem	209,55	1	209,55	14,21	0,0009
Tempo	36,35	1	36,35	2,47	0,1295
pH _f x emb	4,63	1	4,63	0,31	0,5805
pH _f x tempo	11,43	1	11,43	0,78	0,3872
Emb x tempo	36,35	1	36,35	2,47	0,1295
pH _f x emb x tempo	11,43	1	11,43	0,78	0,3872
Resíduo	353,81	24	14,74		

Análise de variância para o 2,3-butanodiol					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	60,84	1	60,84	2,47	0,1288
Embalagem	0,21	1	0,21	0,01	0,9267
Tempo	8,23	1	8,23	0,33	0,5684
pH _f x emb	0,21	1	0,21	0,01	0,9267
pH _f x tempo	8,23	1	8,23	0,33	0,5684
Emb x tempo	29,08	1	29,08	1,18	0,2876
pH _f x emb x tempo	29,08	1	29,08	1,18	0,2876
Resíduo	590,15	24	24,59		

Análise de variância para o Hexanal+octano					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	353763,81	1	353763,81	4,46	0,0454
Embalagem	264627,07	1	264627,07	3,33	0,0804
Tempo	238728,67	1	238728,67	3,01	0,0957
pH _f x emb	264126,84	1	264126,84	3,33	0,0806
pH _f x tempo	223242,88	1	223242,88	2,81	0,1065
Emb x tempo	238793,05	1	238793,05	3,01	0,0957
pH _f x emb x tempo	244786,74	1	244786,74	3,08	0,0918
Resíduo	1905282,17	24	79386,76		

Análise de variância para o 2-octeno					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	12,67	1	12,67	1,06	0,3125
Embalagem	44,47	1	44,47	3,74	0,0652
Tempo	5,77	1	5,77	0,48	0,4929
pH _f x emb	12,67	1	12,67	1,06	0,3125
pH _f x tempo	30,38	1	30,38	2,55	0,1232
Emb x tempo	5,77	1	5,77	0,48	0,4929
pH _f x emb x tempo	30,38	1	30,38	2,55	0,1232
Resíduo	285,72	24	11,91		

Análise de variância para o 2-hexenal					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	10,30	1	10,30	1,41	0,2464
Embalagem	14,53	1	14,53	1,99	0,1711
Tempo	14,53	1	14,53	1,99	0,1711
pH _f x emb	10,30	1	10,30	1,41	0,2464
pH _f x tempo	10,30	1	10,30	1,41	0,2464
Emb x tempo	14,53	1	14,53	1,99	0,1711
pH _f x emb x tempo	10,30	1	10,30	1,41	0,2464
Resíduo	175,14	24	7,30		

Análise de variância para o 1-hexanol					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	3339,57	1	3339,57	4,77	0,0389
Embalagem	3476,89	1	3476,89	4,97	0,0354
Tempo	3434,26	1	3434,26	4,91	0,0365
pH _f x emb	3339,57	1	3339,57	4,77	0,0389
pH _f x tempo	3381,61	1	3381,61	4,83	0,0378
Emb x tempo	3434,26	1	3434,26	4,91	0,0365
pH _f x emb x tempo	3381,61	1	3381,61	4,83	0,0378
Resíduo	16792,16	24	699,67		

Análise de variância para o Etilbenzeno					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	31,16	1	31,16	2,21	0,1504
Embalagem	15,29	1	15,29	1,08	0,3083
Tempo	2,88	1	2,88	0,20	0,6554
pH _f x emb	15,29	1	15,29	1,08	0,3083
pH _f x tempo	2,88	1	2,88	0,20	0,6554
Emb x tempo	11,35	1	11,35	0,80	0,3788
pH _f x emb x tempo	11,35	1	11,35	0,80	0,3788
Resíduo	338,75	24	14,11		

Análise de variância para o p-xileno					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	672,47	1	672,47	7,72	0,0105
Embalagem	277,11	1	277,11	3,18	0,0872
Tempo	37,79	1	37,79	0,43	0,5164
pH _f x emb	253,94	1	253,94	2,91	0,1007
pH _f x tempo	20,46	1	20,46	0,23	0,6324
Emb x tempo	104,78	1	104,78	1,20	0,2837
pH _f x emb x tempo	90,73	1	90,73	1,04	0,3177
Resíduo	2091,48	24	87,15		

Análise de variância para a 2-heptanona					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	20,50	1	20,50	0,50	0,4842
Embalagem	440,63	1	440,63	10,85	0,0031
Tempo	24,55	1	24,55	0,60	0,4444
pH _f x emb	20,50	1	20,50	0,50	0,4842
pH _f x tempo	11,59	1	11,59	0,29	0,5981
Emb x tempo	24,55	1	24,55	0,60	0,4444
pH _f x emb x tempo	11,59	1	11,59	0,29	0,5981
Resíduo	974,45	24	40,60		

Análise de variância para o Heptanal					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	548,23	1	548,23	3,29	0,0821
Embalagem	448,94	1	448,94	2,70	0,1136
Tempo	400,37	1	400,37	2,40	0,1341
pH _f x emb	448,94	1	448,94	2,70	0,1136
pH _f x tempo	400,37	1	400,37	2,40	0,1341
Emb x tempo	427,32	1	427,32	2,57	0,1223
pH _f x emb x tempo	427,32	1	427,32	2,57	0,1223
Resíduo	3996,50	24	166,52		

Análise de variância para a gama-butirolactona					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	8,62	1	8,62	1,03	0,3213
Embalagem	2,31	1	2,31	0,27	0,6049
Tempo	22,60	1	22,60	2,69	0,1141
pH _f x emb	0,09	1	0,09	0,01	0,9191
pH _f x tempo	8,62	1	8,62	1,03	0,3213
Emb x tempo	2,31	1	2,31	0,27	0,6049
pH _f x emb x tempo	0,09	1	0,09	0,01	0,9191
Resíduo	201,76	24	8,41		

Análise de variância para o alfa-pineno					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	55,37	1	55,37	3,52	0,0729
Embalagem	7,17	1	7,17	0,46	0,5061
Tempo	42,65	1	42,65	2,71	0,1127
pH _f x emb	3,61	1	3,61	0,23	0,6363
pH _f x tempo	33,10	1	33,10	2,10	0,1599
Emb x tempo	3,40	1	3,40	0,22	0,6463
pH _f x emb x tempo	1,14	1	1,14	0,07	0,7905
Resíduo	377,71	24	15,74		

Análise de variância para o Heptenal					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	3,75	1	3,75	2,38	0,1359
Embalagem	3,75	1	3,75	2,38	0,1359
Tempo	3,75	1	3,75	2,38	0,1359
pH _f x emb	3,75	1	3,75	2,38	0,1359
pH _f x tempo	3,75	1	3,75	2,38	0,1359
Emb x tempo	3,75	1	3,75	2,38	0,1359
pH _f x emb x tempo	3,75	1	3,75	2,38	0,1359
Resíduo	37,82	24	1,58		

Análise de variância para o Ácido hexanóico					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	597,26	1	597,26	2,09	0,1616
Embalagem	779,44	1	779,44	2,72	0,1120
Tempo	558,22	1	558,22	1,95	0,1754
pH _f x emb	597,26	1	597,26	2,09	0,1616
pH _f x tempo	405,90	1	405,90	1,42	0,2454
Emb x tempo	558,22	1	558,22	1,95	0,1754
pH _f x emb x tempo	405,90	1	405,90	1,42	0,2454
Resíduo	6871,51	24	286,31		

Análise de variância para o 1-octen-3-ol					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	126,66	1	126,66	0,55	0,4641
Embalagem	1751,62	1	1751,62	7,66	0,0107
Tempo	727,66	1	727,66	3,18	0,0872
pH _f x emb	230,22	1	230,22	1,01	0,3258
pH _f x tempo	132,24	1	132,24	0,58	0,4545
Emb x tempo	831,67	1	831,67	3,64	0,0686
pH _f x emb x tempo	92,85	1	92,85	0,41	0,5301
Resíduo	5490,99	24	228,79		

Análise de variância para a 2,3-octanodiona					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	33483,68	1	33483,68	7,76	0,0103
Embalagem	30471,84	1	30471,84	7,06	0,0138
Tempo	20085,67	1	20085,67	4,65	0,0412
pH _f x emb	29661,97	1	29661,97	6,87	0,0150
pH _f x tempo	19714,94	1	19714,94	4,57	0,0430
Emb x tempo	22783,56	1	22783,56	5,28	0,0306
pH _f x emb x tempo	22388,61	1	22388,61	5,19	0,0320
Resíduo	103601,88	24	4316,75		

Análise de variância para a 3-octanona					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	181,30	1	181,30	0,74	0,3983
Embalagem	1408,81	1	1408,81	5,75	0,0247
Tempo	587,89	1	587,89	2,40	0,1346
pH _f x emb	181,30	1	181,30	0,74	0,3983
pH _f x tempo	122,24	1	122,24	0,50	0,4869
Emb x tempo	587,89	1	587,89	2,40	0,1346
pH _f x emb x tempo	122,24	1	122,24	0,50	0,4869
Resíduo	5884,39	24	245,18		

Análise de variância para o 2-pentilfurano					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	1786,00	1	1786,00	2,51	0,1259
Embalagem	1474,82	1	1474,82	2,08	0,1626
Tempo	1474,82	1	1474,82	2,08	0,1626
pH _f x emb	1474,82	1	1474,82	2,08	0,1626
pH _f x tempo	1474,82	1	1474,82	2,08	0,1626
Emb x tempo	1786,00	1	1786,00	2,51	0,1259
pH _f x emb x tempo	1786,00	1	1786,00	2,51	0,1259
Resíduo	17050,42	24	710,43		

Análise de variância para o Octanal					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	134,11	1	134,11	3,30	0,0817
Embalagem	134,11	1	134,11	3,30	0,0817
Tempo	134,11	1	134,11	3,30	0,0817
pH _f x emb	134,11	1	134,11	3,30	0,0817
pH _f x tempo	134,11	1	134,11	3,30	0,0817
Emb x tempo	134,11	1	134,11	3,30	0,0817
pH _f x emb x tempo	134,11	1	134,11	3,30	0,0817
Resíduo	974,83	24	40,62		

Análise de variância para o delta-careno					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	36,19	1	36,19	3,86	0,0611
Embalagem	0,23	1	0,23	0,02	0,8769
Tempo	0,94	1	0,94	0,10	0,7541
pH _f x emb	0,23	1	0,23	0,02	0,8769
pH _f x tempo	0,94	1	0,94	0,10	0,7541
Emb x tempo	0,14	1	0,14	0,01	0,9044
pH _f x emb x tempo	0,14	1	0,14	0,01	0,9044
Resíduo	225,02	24	9,38		

Análise de variância para o Limoneno					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	11,01	1	11,01	0,22	0,6397
Embalagem	41,16	1	41,16	0,84	0,3684
Tempo	34,04	1	34,04	0,69	0,4128
pH _f x emb	55,93	1	55,93	1,14	0,2959
pH _f x tempo	26,27	1	26,27	0,54	0,4711
Emb x tempo	39,62	1	39,62	0,81	0,3774
pH _f x emb x tempo	42,63	1	42,63	0,87	0,3602
Resíduo	1175,71	24	48,99		

Análise de variância para a 2-nonanona					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	44,05	1	44,05	5,41	0,0288
Embalagem	25,72	1	25,72	3,16	0,0882
Tempo	9,22	1	9,22	1,13	0,2979
pH _f x emb	25,72	1	25,72	3,16	0,0882
pH _f x tempo	9,22	1	9,22	1,13	0,2979
Emb x tempo	2,16	1	2,16	0,27	0,6111
pH _f x emb x tempo	2,16	1	2,16	0,27	0,6111
Resíduo	195,45	24	8,14		

Análise de variância para a 3,5-octanodiona					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	17,86	1	17,86	4,95	0,0357
Embalagem	17,86	1	17,86	4,95	0,0357
Tempo	17,86	1	17,86	4,95	0,0357
pH _f x emb	17,86	1	17,86	4,95	0,0357
pH _f x tempo	17,86	1	17,86	4,95	0,0357
Emb x tempo	17,86	1	17,86	4,95	0,0357
pH _f x emb x tempo	17,86	1	17,86	4,95	0,0357
Resíduo	86,58	24	3,61		

Análise de variância para o nonanal					
Fonte da variância	SQ	GL	QM	F	P
pH _f	504,55	1	504,55	4,82	0,0380
Embalagem	551,08	1	551,08	5,26	0,0308
Tempo	461,76	1	461,76	4,41	0,0464
pH _f x emb	321,51	1	321,51	3,07	0,0925
pH _f x tempo	201,77	1	201,77	1,93	0,1778
Emb x tempo	535,06	1	535,06	5,11	0,0331
pH _f x emb x tempo	244,97	1	244,97	2,34	0,1392
Resíduo	2512,47	24	104,69		

ANEXO A.VI.- Estatística descritiva para os compostos da fracção volátil

Composto	Normal								DFD							
	Vácuo				AM _{70/20}				Vácuo				AM _{70/20}			
	t ₁₀		t ₂₁		t ₁₀		t ₂₁		t ₁₀		t ₂₁		t ₁₀		t ₂₁	
	Méd.	DP	Méd.	DP	Méd.	DP	Méd.	DP	Méd.	DP	Méd.	DP	Méd.	DP	Méd.	DP
Acetaldeído	143,1	52,1	81,5	16,0	109,5	10,7	179,4	41,6	284,5	215,4	176,7	87,3	280,2	140,3	302,1	73,6
Etanol	277,6	157,7	224,4	41,5	392,4	313,9	274,1	120,0	428,1	219,6	962,9	718,0	491,8	174,6	334,1	197,2
2-propanona+ pentano	516,7	421,5	260,8	64,5	319,6	154,9	509,5	273,6	592,9	122,1	525,7	234,6	669,3	118,2	432,5	379,3
Sulfureto de dimetilo	59,8	42,8	46,6	12,3	12,3	24,6	0,0	0,0	81,0	11,6	74,8	60,1	75,3	50,4	41,2	34,7
Dissulfureto de carbono	411,8	386,2	343,4	263,4	254,7	136,7	325,3	179,9	476,0	306,5	205,8	120,9	336,8	284,1	489,3	254,6
1-propanol+2- metilpropanal	0,0	0,0	0,0	0,0	23,9	47,9	56,4	64,8	0,0	0,0	79,6	61,8	0,0	0,0	18,3	36,7
2-metilpentano	64,3	31,0	31,8	43,5	364,2	395,4	0,0	0,0	38,3	76,5	111,8	144,3	22,3	44,6	0,0	0,0
Ácido acético	63,3	43,6	83,9	34,2	0,0	0,0	120,8	80,3	43,1	51,7	395,7	743,5	21,9	43,8	34,7	69,5
3-metilpentano	45,0	32,1	0,0	0,0	35,8	9,0	0,0	0,0	0,0	0,0	24,4	48,8	0,0	0,0	0,0	0,0
2,3-butanodiona	70,7	82,4	77,5	75,2	106,7	72,4	437,5	265,8	258,3	100,2	277,9	121,6	382,0	253,3	334,3	167,4
2-butanona	43,9	39,4	24,7	3,7	51,5	13,4	50,5	58,4	53,0	67,2	106,1	121,7	65,7	75,9	38,5	44,6
Hexano	93,4	74,1	0,0	0,0	50,7	40,7	86,8	107,7	27,5	55,0	80,1	98,3	159,5	185,8	21,3	42,6
Acetato de etilo	27,8	41,5	32,4	11,3	28,9	38,1	0,0	0,0	14,3	28,6	52,8	39,2	34,2	63,8	30,0	60,0
3-metilbutanal	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	35,2	23,4	0,6	1,1	10,4	17,2	0,0	0,0	50,1	58,3
2-metilbutanal	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	11,8	8,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	17,1	19,9
Benzeno	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	1,9	3,4	6,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,1	2,2
1-penten-3-ol	10,5	11,1	4,5	2,1	29,8	11,0	77,0	62,8	0,0	0,0	0,0	0,0	14,5	20,3	22,5	29,9
2-pentanona	1,1	1,5	0,0	0,0	16,0	8,4	20,8	25,9	0,7	1,4	0,9	1,9	10,4	7,6	14,5	3,5
2,3-pentanodiona	0,0	0,0	0,0	0,0	43,8	23,4	125,0	90,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Pentanal + Heptano	1,8	3,5	0,9	1,9	5,7	6,7	64,3	54,1	1,0	1,9	0,0	0,0	0,0	0,0	5,9	11,9
2-etilfurano	1,5	3,0	0,0	0,0	1,5	3,0	47,3	44,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
3-hidroxi-2-butanona	60,7	78,5	54,4	72,8	29,5	35,4	968,6	818,2	459,2	252,3	289,9	202,7	489,0	408,2	397,1	327,3
3-metilbutanol	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	104,0	101,2	0,0	0,0	2,9	2,2	0,0	0,0	32,5	27,2
2-metilbutanol	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	52,7	44,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,3	9,8
Piridina	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5	2,9	1,0	2,0	19,1	23,6	0,1	0,1	0,0	0,0
1-pentanol	2,2	4,5	0,3	0,6	34,5	27,4	152,8	156,8	0,0	0,0	0,0	0,0	6,4	12,9	11,9	10,9
2-etil-hexeno	0,0	0,0	0,0	0,0	3,4	4,0	5,3	6,7	0,0	0,0	0,0	0,0	2,6	5,1	9,2	5,5
2,3-butanodiol	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,8	11,7	0,0	0,0	1,7	3,4	3,5	7,0
Hexanal+octano	36,7	59,6	28,8	24,7	52,5	50,7	740,0	792,7	0,2	0,4	8,1	6,1	2,5	2,2	6,1	2,8
2-octeno	0,0	0,0	0,0	0,0	6,4	8,6	0,8	1,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,2	4,4
2-hexenal	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	5,0	7,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,9
1-hexanol	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	82,6	74,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,5	0,6	0,7
Etilbenzeno	1,2	1,4	0,0	0,0	1,6	2,2	5,1	10,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
p-xileno	5,3	5,5	2,1	2,4	9,8	5,3	20,6	25,1	0,0	0,0	0,3	0,6	0,0	0,0	0,8	1,0
2-heptanona	0,0	0,0	0,0	0,0	6,1	10,0	12,0	12,9	0,0	0,0	0,0	0,0	5,3	6,2	6,4	4,5
Heptanal	1,0	2,0	0,6	1,1	1,4	2,8	30,2	36,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
gama-butirolactona	0,0	0,0	2,3	4,6	0,0	0,0	3,2	6,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	2,6
alfa-pineno	0,3	0,6	3,6	7,2	0,9	1,8	6,3	8,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	1,1
Heptenal	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,7	3,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Ácido hexanóico	0,0	0,0	0,0	0,0	3,0	6,1	34,0	47,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,5	4,9
1-octen-3-ol	2,0	4,1	0,7	0,9	4,7	2,1	16,9	14,7	0,0	0,0	0,0	0,0	6,6	6,9	33,8	39,3
2,3-octanodiona	7,1	13,0	0,5	1,1	23,4	7,1	229,4	185,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,7	1,3	2,6
3-octanona	0,0	0,0	0,0	0,0	5,5	11,1	30,5	41,5	0,0	0,0	0,0	0,0	3,8	7,7	13,2	7,3
2-pentil-furano	2,7	5,5	0,0	0,0	0,0	0,0	57,0	75,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Octanal	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	16,4	18,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
delta-careno	1,8	3,6	2,8	5,5	1,7	3,5	2,2	4,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Limoneno	1,3	2,7	1,5	3,0	1,6	3,3	2,0	1,4	1,0	2,1	9,4	18,9	0,7	1,3	0,0	0,0
2-nonanona	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,1	2,2	2,5	4,0	5,7	6,6
3,5-octanodiona	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	6,0	5,4	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Nonanal	2,8	5,6	1,7	2,0	3,7	7,5	30,1	25,2	0,7	1,4	0,6	1,2	0,0	0,0	5,2	10,4

