

Conservação de salsichas utilizando biofilme de quitosana

RESUMO

O uso de biofilmes em alimentos possibilita a extensão da vida de prateleira e assegura a conservação dos mesmos. A quitosana tem sido utilizada na obtenção de biofilmes em virtude de suas excelentes propriedades antimicrobiana, antifúngica e formação de biofilme permeável e resistente. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da aplicação de biofilmes de quitosana na conservação de salsichas embaladas a vácuo e a granel, armazenadas a 10°C por 28 dias. Para obtenção do biofilme, quitosana (85% de desacetilação) foi dissolvida em solução de ácido acético 0,5 mol L⁻¹, nas concentrações de 1% (T1) e 2% (T2). Salsichas produzidas em uma linha industrial foram revestidas com T1 e T2 por imersão, embaladas a vácuo ou a granel, e comparadas a um controle (T3, sem revestimento). As análises microbiológicas para determinação de coliformes totais e termotolerantes, contagem de aeróbios mesófilos, *Staphylococcus* coagulase positiva e bolores e leveduras foram realizadas durante armazenamento a 10 °C nos tempos de 0, 14, 21 e 28 dias, visando o estudo do comportamento antibacteriano e antifúngico do biofilme sobre a salsicha. O biofilme não apresentou ação inibitória para as bactérias aeróbias mesófilas em todas as amostras durante o período de estocagem. Na análise de bolores e leveduras houve diferença significativa entre as amostras T1, T2 e T3 para as salsichas embaladas a vácuo, indicando que o biofilme de quitosana apresentou propriedade antifúngica nas condições estudadas. Ainda, na contagem de leveduras observou-se que o T2 foi mais eficiente na inibição do que T1. Em todas as condições experimentais, as contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva e a determinação de Coliformes totais e termotolerantes revelaram valores inferiores a 2 UFC g⁻¹, 0,3 NMPg⁻¹ e 0,3 NMP g⁻¹, respectivamente. A aplicação de biofilmes de quitosana em salsichas pode resultar em efeito antifúngico quando associada ao acondicionamento a vácuo.

PALAVRAS-CHAVE: Revestimento. Propriedade antifúngica. Vida de prateleira. Produto cárneo.

Gelcimara Engelgelcimara_ceo@hotmail.com

Curso Superior de Tecnologia em Alimentos - Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) - Câmpus Medianeira

Solange Pizatosolangepizato@hotmail.com

Curso Superior de Tecnologia em Alimentos - Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) - Câmpus Medianeira

Daneysa Lahis Kalschnedaneysa@yahoo.com.br

Programa de Pós Graduação em Tecnologia de Alimentos (PPGTA) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) - Câmpus Medianeira

Rosana Aparecida da Silva-Buzanellorosanaapsilva@yahoo.com.br

Programa de Pós Graduação em Tecnologia de Alimentos (PPGTA) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) - Câmpus Medianeira

Sascha Habusashabu@yahoo.com.br

Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP)

Cristiane Canancanan_cris@yahoo.com.br

Programa de Pós Graduação em Tecnologia de Alimentos (PPGTA) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) - Câmpus Medianeira

INTRODUÇÃO

No processamento de alimentos diversas medidas são tomadas para a garantia da segurança e estabilidade do produto durante toda a sua vida de prateleira. O modelo de qualidade total do alimento considera a definição de “qualidade” um conceito abstrato e multidimensional. E pesquisas revelam que na opinião dos consumidores, a segurança higiênico-sanitária está associada com a qualidade do alimento, envolvendo todos os estágios da cadeia de produção (FORSYTHE, 2002; MASCARELLO et al., 2015).

Os produtos cárneos emulsionados como as salsichas e mortadelas são bastante populares, sendo consumidos tanto a nível doméstico como no mercado de alimentação rápida, representando um importante segmento das carnes industrializadas (OLIVO et al., 2006).

Entende-se por salsicha “o produto cárneo industrializado, obtido da emulsão de carne de uma ou mais espécies de animais de açougue, adicionados de ingredientes, embutido em envoltório natural, ou artificial ou por processo de extrusão, e submetido a um processo térmico adequado” (BRASIL, 2000). A qualidade e a conservação das salsichas são interferidas pelo elevado grau de divisão de seus ingredientes durante o processo de fabricação (TERRA, 2005).

Mesmo com a utilização de técnicas adequadas, os produtos cárneos estão sujeitos a reações de deterioração desencadeadas por fatores como temperatura, umidade, oxigênio, embalagem, dentre outros (BATTISTELLA, 2008). Assim, esses produtos são tradicionalmente embalados a vácuo, em embalagens poliméricas, que minimizam o contato do produto com o oxigênio e, dessa forma, prolongam sua vida de prateleira (OLIVEIRA et al., 2008). Entretanto, em geral, o uso de métodos físicos de exclusão de oxigênio não demonstra eficácia quando aplicado em escala comercial, pois permitem que 0,5% a 1% do oxigênio permaneça no interior da embalagem, principalmente no caso de produtos porosos. Além disso, as pequenas quantidades de oxigênio que permeiam para o interior da embalagem não podem ser removidas. Várias deteriorações no aroma, sabor e cor podem ser desencadeadas pela presença destes traços de oxigênio devido ao processo de oxidação e desenvolvimento de microrganismos aeróbios (estritos ou facultativos) (ROMANO, 2003). Os microrganismos patogênicos também representam o risco em causar toxinfecções alimentares. Por outro lado, os microrganismos deterioradores (enterobactérias, *Pseudomonas*) estão relacionados ao desenvolvimento de aminas biogênicas, formando compostos de baixo peso molecular e com potencial tóxico e até mesmo cancerígeno para os consumidores (BLAGOJEVIC et al., 2015).

A utilização de biofilmes aplicados diretamente no alimento pode ser uma alternativa para garantir maior proteção contra o oxigênio, especialmente se associada à embalagem a vácuo. O interesse no desenvolvimento de biofilmes comestíveis ou degradáveis biologicamente para o recobrimento de alimentos tem se tornado crescente, devido aos fatores de segurança, qualidade, preocupação ambiental, bem como, a criação de novos mercados de matérias-primas formadoras de filmes (SOARES et al., 2004).

Os filmes ou revestimentos comestíveis podem ser definidos como camadas finas de material comestível que são aplicadas sobre a superfície do alimento na

forma líquida por imersão ou por aspersão ou ainda, por outro método apropriado (PASCALL; LIN, 2013). Devem apresentar certas peculiaridades, tais como, ser invisíveis, ter aderência suficiente para não ser facilmente removido no manuseio, não introduzirem alterações sensoriais (ASSIS; LEONI, 2003), ajudar a manter a qualidade do produto, melhorar as propriedades sensoriais e aumentar a segurança e a vida de prateleira de vários produtos alimentícios (BEVERLYA et al., 2008).

Diversos autores têm reportado a aplicação em produtos cárneos de biofilme produzido a partir de quitosana (OUATTARA et al., 2000; SAGOO; BOARD; ROLLER, 2002; BEVERLYA et al., 2008; KRISTO; KOUTSOUMANIS; BILIADERIS, 2008; JIANG; NEETOO; CHEN, 2011; SIRIPATRAWAN; NOIPHA, 2012; VODNAR, 2012).

A quitosana é um composto derivado da desacetilação da quitina (poli- β -(1 \rightarrow 4)-N-acetil-D-glucosamina) e é um dos principais componentes das conchas de crustáceos tais como, caranguejos, camarões e lagostas (NO et al., 2002; PANDISELVI; THAMBIDURAI, 2015), cutícula de insetos e parede celular de fungos (MARTÍNEZ-CAMACHO et al., 2010). Tem sido muito utilizada na composição de filmes antimicrobianos, porque, além de apresentar boas propriedades formadoras de filmes (BEVERLYA et al., 2008) possui ação bactericida e fungicida (VILLADIEGO et al., 2005). Essa ação é devida a sua capacidade de ligar-se às moléculas de água, inativar as enzimas microbianas e absorver os nutrientes usados pelos microrganismos (OUATTARA et al., 2000; XIA et al., 2011).

Beverlya et al. (2008) reportaram que o potencial efeito antibacteriano da quitosana pode estar relacionado com a forma de obtenção a partir da quitina e com seu peso molecular. Assim, dependendo da sua forma de obtenção, alguns fatores influenciam diretamente no grau de desacetilação e na distribuição de grupos acetil na cadeia, interferindo na conformação da molécula de quitosana, consequentemente podendo interferir em sua ação antibacteriana.

De acordo com estudos de Pandiselvi e Thambidurai (2015), podem ser descritos três mecanismos para atividade antibacteriana do biofilme de quitosana: o primeiro descreve que a carga positiva da quitosana e a carga negativa da parede celular bacteriana pode alterar a permeabilidade, resultando na liberação dos componentes intracelulares e, a morte. O outro mecanismo, explica que a quitosana agiria como quelante, ligando-se a metais traço, essenciais para a célula. Na terceira hipótese, a quitosana de baixo peso molecular seria capaz de reagir com o DNA, interferindo na síntese proteica.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da aplicação de biofilme de quitosana na conservação de salsichas embaladas a vácuo e a granel, armazenadas durante 28 dias a 10 °C.

MATERIAIS E MÉTODOS

ELABORAÇÃO DA SALSICHA

A formulação da salsicha foi produzida em um frigorífico na região Oeste do Paraná, com Sistema de Inspeção Federal, levando em conta o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Salsicha (RTIQ) -Instrução Normativa (IN)

nº 4, de 31/03/2000 (BRASIL, 2000), a Portaria nº 1004 de 11/12/1998 (BRASIL, 1998), e a IN nº 51 de 29/12/2006 (BRASIL, 2006).

As matérias-primas resfriadas (entre 4 e 6 °C) e congeladas (entre -18 e -20 °C), os ingredientes e aditivos foram pesados, processados em *cutter* (Kramer), onde foram adicionados e misturados à carne bovina resfriada (3,00%), carne mecanicamente separada de aves congelada (60,00%), fígado de suíno resfriado (1,00%), rim de suíno resfriado (2,00%), pele suína resfriada (7,00%), plasma suíno congelado (5,00%), gelo (10,00%), sal refinado (1,90% - Diana), sal de cura (0,20% - Griffith), condimento (1,00% - Duas Rodas, contendo 30% de NaCl) e polifosfato de sódio (0,40% - Germinal) por 5 min. Adicionou-se o aroma de fumaça (0,03% - Kraki), o eritorbato de sódio (0,07% - Germinal), o lactato de sódio (1,90% - Purac) e a proteína concentrada de soja (4,0% - Marsul) e misturou-se por 3 min. Adicionou-se o açúcar (1,00% - Alto Alegre) e a fécula de mandioca (1,50% - Lar) e misturou-se por 3 min. Após a massa apresentar uma aparência homogênea, foi submetida ao vácuo de 70% e destinada para o embutimento (embutideiras Frank Matic) em tripa de celulose (Viscofan), com calibre final de 19 mm.

O cozimento foi realizado em estufa (Capic) com a seguinte programação: 1ª fase - 10 min de cozimento úmido a 80% de UR a 60°C; 2ª fase - 15 min de cozimento seco a 65 °C; 3ª fase - 15 min de cozimento úmido a 90% de UR a 70°C; 4ª fase - até o produto atingir 72 °C no centro geométrico, cozimento úmido a 90% de UR a 80°C. O choque-térmico foi realizado com água a temperatura ambiente (≈ 25 °C) durante 15 minutos.

A tripa foi removida das salsichas, e estas seguiram para o *chiller* de tingimento com urucum 3% (Kraki) em temperatura de 40 a 45 °C e pH entre 11 e 12, onde permaneceram por 5 min. Foram transferidas para o *chiller* contendo ácidoacético para a fixação do corante, a temperatura ambiente e pH entre 2 e 3 durante 3 min, e então foram destinadas para o resfriamento por 6 min em *chiller* com água entre 1 e 4°C, garantindo que as salsichas saíssem deste com uma temperatura inferior a 7 °C.

DETERMINAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS DA SALSICHA PRODUZIDA

As salsichas foram analisadas antes de receber o revestimento de quitosana quanto ao teor de umidade, lipídios, proteínas, amido, carboidratos, cálcio, cloretos e pH conforme metodologias da IN nº 20 de 21 julho de 1999 (BRASIL, 1999), e o teor de nitrito e nitrato de acordo com a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2005). As análises foram realizadas em duplicata.

PREPARAÇÃO DO BIOFILME DE QUITOSANA

O biofilme foi preparado pela dissolução de quitosana, extraída das conchas de crustáceos marinhos, com 85% de desacetilação (Ad Oceanum, Governador Celso Ramos, Santa Catarina), em solução de ácido acético 0,5 mol L⁻¹, mantida sob agitação moderada por 6 horas, em temperatura ambiente, nas proporções: tratamento 1% (T1), concentração de 10 g de quitosana L⁻¹ de solução; e tratamento 2% (T2), concentração de 20 g de quitosana L⁻¹ de solução.

APLICAÇÃO DO BIOFILME NA SALSICHA

O biofilme de quitosana foi aplicado na salsicha na forma de imersão. Após resfriadas as salsichas foram imersas no biofilme e mantidas por 2 minutos. Em seguida, retiradas e colocadas em uma esteira para secagem em túnel com ventilação forçada na temperatura de 0 °C, sendo embaladas nas seguintes condições: (1) bandejas de isopor CR-001 Permium Copobras com dimensões de 150 x 150 x 18 mm, revestidas com filme de PVC transparente Benetron com 300 mm de largura e 10 micras de espessura, denominada de embalagem a granel; e (2) embalagem a vácuo, utilizando filme coextrusado a base de polietileno e copolímero de poliamida Paraplast com largura de 150 mm e espessura de 200 micras, com taxa de permeabilidade ao oxigênio <math>< 85 \text{ cm}^3/\text{m}^2.\text{dia}/23 \text{ }^\circ\text{C}/0\% \text{ UR}</math> e taxa de permeabilidade ao vapor de água <math>< 5 \text{ g H}_2\text{O}/\text{m}^2.\text{dia}/38 \text{ }^\circ\text{C}/90\% \text{ UR}</math>. Em ambas as condições estudadas (1 e 2), foram acondicionadas seis unidades de salsicha por embalagem. As amostras foram armazenadas em câmara BOD (*Biochemical Oxygen Demand*) (Alfa Tecnoquímica Incubadora S-60, Florianópolis, Santa Catarina) a 10 °C, durante 21 dias para as amostras a granel e 28 dias para as amostras embaladas a vácuo. Para avaliar o efeito do revestimento, foram acondicionadas também amostras de salsichas sem revestimento (controle, T3), nas mesmas condições de embalagem. Para cada tratamento (T1, T2 e T3) foram armazenadas 30 embalagens de salsichas, embaladas a vácuo e a granel (n = 30).

ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

As análises microbiológicas foram realizadas nos tempos 0, 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento para as salsichas embaladas a vácuo. No caso das salsichas embaladas a granel, a qualidade microbiológica foi determinada somente até o 21º dia. As metodologias empregadas na análise microbiológica foram baseadas na IN nº 62 de 26/08/2003 (BRASIL, 2003) e Silva et al. (2010).

Dois pacotes de cada amostra de salsicha (T1, T2 e T3) foram analisados em cada tempo. Para o preparo da diluição 10^{-1} , 25 g de cada embalagem foram pesadas assepticamente e dispostas em um pacote plástico contendo 225 mL de água destilada peptonada tamponada (ADPT) 0,1%. Homogeneizou-se em *stomacher* (Logen Scientific, modelo LS 1901) por 1 minuto. A partir da diluição 10^{-1} foram produzidas as demais diluições necessárias.

A contagem de microrganismos aeróbios mesófilos foi realizada pela semeadura em profundidade de 1 mL das diluições seriadas em placas de Petri, adicionadas de *ágar Plate Count Ágar* (PCA), homogeneizadas e incubadas invertidas a $37 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ por 48 horas. Para a determinação da contagem de bolores e leveduras utilizou-se a técnica de semeadura em superfície. Uma alíquota de 0,1 mL das diluições seriadas foi espalhada, com o auxílio de alça de Drigalski em placas de Petri contendo *ágar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol* (DRBC). As placas foram incubadas, sem inverter a $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ por 5 dias. Na etapa de leitura das placas, foram contadas separadamente colônias com características morfológicas de bolores e leveduras.

A contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva foi realizada pela semeadura em superfície, com o auxílio de alça de Drigalski, de 0,1 mL das diluições seriadas em placas de Petri contendo *ágar Baird-Parker* (BP), e

incubadas invertidas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 30 a 48 horas. De 3 a 5 colônias típicas e atípicas foram selecionadas de cada placa e incubadas em caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 h. Para o teste de coagulase, alíquotas de 0,3 mL dos tubos de cultivo em caldo BHI foram transferidas para tubos contendo plasma de coelho (1:1) e incubados a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 6 horas.

A determinação de coliformes totais e termotolerantes, pelo método no número mais provável (NMP), foi realizada a partir da inoculação das diluições seriadas em três séries (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) em tubos contendo caldo lauril sulfato de sódio (LST), incubados a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas. Cada tubo positivo no LST foi repicado para um tubo contendo caldo verde brilhante (VB) bile 2% lactose e para um tubo de caldo *Escherichia coli* (EC) para confirmação de coliformes totais e termotolerantes, respectivamente. A temperatura de incubação do caldo VB foi $36 \pm 1^\circ\text{C}$ e do caldo EC 45°C (coliformes termorresistentes) por 24 a 48 horas em banho-maria com agitação.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos nas análises microbiológicas foram avaliados por médias, desvio padrão teste de *Tukey* ($p \leq 0,05$), utilizando o *software* STATISTICA 7.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Na Tabela 1 são apresentados os resultados das análises físico-químicas da salsicha antes de ser revestida.

Tabela 1 – Resultados da análise físico-química da salsicha.

	Umidade (%)	Proteína (%)	Lipídios (%)	Carboidratos totais (%) ¹	Amido (%)	Cálcio b.s (%)	Cloreto (%)	pH	Nitrito residual (ppm) ²
Padrão ³	Máx. 65	Mín. 12	Máx. 30	Máx. 7,0	Máx. 2,0%	Máx. 0,9	-	-	Máx. 150
Salsicha	62,6±0,6	12,7±0,1	13,6±0,1	4,2±0,3	1,8±0,3	0,5±0,1	2,3±0,1	6,5±0,1	111±4

1: Somatório da análise de carboidratos ($2,4\% \pm 0,2$) e amido ($1,8\% \pm 0,3$); 2: Somatório da análise de nitrito de sódio ($46 \text{ ppm} \pm 10$) e nitrato de sódio convertido a nitrito ($65 \text{ ppm} \pm 6$); 3: IN nº 4, de 31/03/2000 (BRASIL, 2000) e Ofício Circular nº 15 de 08/05/2009 (BRASIL, 2009).

A salsicha elaborada atendeu aos critérios físico-químicos do RTIQ - IN nº 4 de 31/03/2000 (BRASIL, 2000) para o teor de umidade, proteína, lipídios, carboidrato, amido, cálcio e nitrito residual.

ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Nas amostras embaladas a granel, não foi possível realizar as análises microbiológicas no 28º dia, pois as mesmas apresentavam-se em estado de deterioração. O processo de acondicionamento a vácuo, neste caso, possibilitou o retardo da deterioração microbiológica das salsichas em uma semana, fato este ocasionado pela barreira de proteção contra o oxigênio da embalagem, impedindo o crescimento de microrganismos deteriorantes (ROMANO, 2003; MERGEN, 2004).

Na Tabela 2 encontram-se os resultados das médias obtidas para as contagens microbianas nas salsichas embaladas a vácuo e, na Tabela 3, as médias para as salsichas embaladas a granel. Observou-se que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) na contagem de aeróbios mesófilos entre as amostras T1, T2 e T3 nos tempos de 0 e 7 dias em ambas as condições de embalagem. Contudo, a partir do 14º dia a contagem foi superior a $6,48 \log \text{ UFCg}^{-1}$ em todas as condições. Esses resultados mostram que, nas condições estudadas, a quitosana não foi suficiente para provocar alterações significativas no controle de aeróbios mesófilos, sendo necessária para essa finalidade a incorporação de antimicrobianos no biofilme de revestimento.

De forma similar, Siripatrawan e Noipha (2012) avaliaram o efeito do revestimento em salsicha tradicional Grega com biofilme de quitosana (2% p/v) e biofilme de quitosana (2% p/v) com chá verde (20% p/v), comparado com salsicha sem revestimento, armazenadas por 20 dias a 4 °C. Observaram que as contagens de aeróbios mesófilos das três amostras eram $<1 \log \text{ UFC g}^{-1}$ no tempo zero e que esta aumentou para $2,62 \log \text{ UFCg}^{-1}$ no tempo 8 dias na amostra sem revestimento, enquanto que nas duas amostras revestidas com quitosana a contagem permaneceu $<1 \log \text{ UFCg}^{-1}$. No tempo 21 dias, verificaram que a contagem da amostra sem revestimento era de $9,01 \log \text{ UFCg}^{-1}$, a revestida com quitosana de $3,64 \log \text{ UFCg}^{-1}$ e a revestida com quitosana e chá verde de $2,52 \log \text{ UFCg}^{-1}$.

Para a contagem de bolores nas salsichas embaladas a vácuo, no tempo de 21 e 28 dias de acondicionamento, a amostra T3 apresentou maior contagem que T1 e T2 ($p < 0,05$), sugerindo que o biofilme de quitosana apresentou propriedade antifúngica nas condições estudadas. A solução de 1% de quitosana apresentou-se tão eficiente quanto a 2%, não diferindo estatisticamente ($p > 0,05$). De forma similar, Martínez-Camacho et al. (2010) identificaram efeito antifúngico de biofilmes de quitosana extraída de crustáceos, de marca comercial ou extraída em laboratório, propondo sua aplicação como embalagem ativa para essa finalidade.

Nas salsichas embaladas a granel não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as amostras analisadas para a contagem de bolores. Contudo, nos tempos de 0 e 7 dias foram menores ($p < 0,05$) se comparadas com os tempos 14 e 21 dias. A partir do 14º dia de armazenamento a contagem foi superior a $4,40 \log \text{ UFC g}^{-1}$ para todas as amostras. O biofilme de quitosana nas condições de estudo (1 e 2 %) não apresentou propriedades antibacteriana e antifúngica quando associado a embalagem a granel. Esses resultados demonstram que o biofilme produzido não possibilitou suficiente barreira contra o oxigênio, apresentando efeito antifúngico apenas quando combinado com a embalagem a vácuo, onde o teor de oxigênio foi reduzido.

Tabela 2 – Resultados das análises microbiológicas nas salsichas embaladas a vácuo.

Amostras	Tempo (dias)				
	0	7	14	21	28
Contagem de microrganismos aeróbios mesófilos (log UFCg ⁻¹)					
T1	2,24 ± 0,34 ^{cA}	3,63 ± 0,29 ^{bB}	>6,48 ^{aA}	>6,48 ^{aA}	>6,48 ^{aA}
T2	2,54 ± 0,08 ^{bA}	2,42 ± 0,59 ^{bB}	>6,48 ^{aA}	>6,48 ^{aA}	>6,48 ^{aA}
T3	2,56 ± 0,78 ^{cA}	4,55 ± 0,04 ^{bA}	>6,48 ^{aA}	>6,48 ^{aA}	>6,48 ^{aA}
Contagem de bolores (log UFC g ⁻¹)					
T1	1,97±0,38 ^{bA}	2,02±0,25 ^{bA}	2,19±0,30 ^{abA}	3,06±0,08 ^{abB}	3,20±0,28 ^{abB}
T2	1,74±0,00 ^{cA}	2,49±0,14 ^{bA}	2,40±0,00 ^{bA}	3,21±0,05 ^{aB}	3,09±0,13 ^{aB}
T3	1,99±0,30 ^{bA}	2,54±0,15 ^{bA}	2,32±0,34 ^{bA}	3,73±0,16 ^{aA}	>4,40 ^{aA}
Contagem de leveduras (log UFC g ⁻¹)					
T1	3,03±0,89 ^{aA}	2,69±0,08 ^{aA}	2,29±0,84 ^{aB}	3,36±0,64 ^{aA}	>4,40 ^{aA}
T2	2,43±0,47 ^{aA}	2,39±0,86 ^{aA}	3,11±0,29 ^{aB}	3,44±0,17 ^{aA}	3,15±0,33 ^{aB}
T3	2,39±0,05 ^{cA}	3,78±0,30 ^{bA}	>4,40 ^{aA}	>4,40 ^{aA}	>4,40 ^{aA}
Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva (log UFC g ⁻¹)					
T1	<2 ^{aA}	<2 ^{aA}	<2 ^{aA}	<2 ^{aA}	<2 ^{aA}
T2	<2 ^{aA}	<2 ^{aA}	<2 ^{aA}	<2 ^{aA}	<2 ^{aA}
T3	<2 ^{aA}	<2 ^{aA}	<2 ^{aA}	<2 ^{aA}	<2 ^{aA}
Coliformes totais (NMP g ⁻¹)					
T1	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}
T2	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}
T3	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}
Coliformes termotolerantes (NMP g ⁻¹)					
T1	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}
T2	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}
T3	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}

Resultados expressos pela média ± desvio padrão (n=2); Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05); Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05); T1: com biofilme de quitosana 1%; T2: com biofilme de quitosana 2%; T3: controle, sem revestimento.

Observando os resultados de contagem de leveduras para salsichas embaladas a vácuo, verifica-se que houve diferença significativa (p < 0,05) entre as amostras T1, T2 e T3 no 14º dia. A amostra T3 apresentou maior contagem (> 4,40 log UFC g⁻¹) que as amostras T1 e T2 no 14º dia. As salsichas com 1% de quitosana (T1) apresentaram essa mesma contagem no 28º dia, enquanto que as amostras revestidas com 2% de quitosana apresentaram contagem de 3,15 ± 0,33 log UFC g⁻¹ neste mesmo tempo sendo, portanto, inferior a T3 e T1. Esses resultados sugerem que o revestimento das salsichas com o biofilme de quitosana possibilitou a redução do crescimento de leveduras e que, o aumento da concentração de quitosana de 1 para 2% permitiu uma proteção mais eficiente.

Ao avaliarem o efeito do revestimento de salsicha tradicional Grega com biofilme de quitosana e biofilme de quitosana com chá verde, Siripatrawan e Noipha (2012) verificaram que a contagem de bolores e leveduras era <1 log UFC g⁻¹ até o 8º dia de armazenamento a 4 °C. Entretanto a partir desse tempo, as contagens sofreram acréscimos significativos, atingindo valores de 6,72 log UFCg⁻¹ (sem revestimento), 5,04 log UFC g⁻¹ (revestimento de quitosana) e 3,17 log UFCg⁻¹ (revestimento de quitosana com chá verde).

Durango et al. (2006) desenvolveram biofilmes à base de amido de inhame com diferentes concentrações de quitosana, onde, os biofilmes contendo 1,5% de quitosana apresentaram maior efeito contra o crescimento de bolores e leveduras, reduzindo a contagem de 2,5 log em palitos de cenoura armazenados por 15 dias. Já nos biofilmes com 0,5% de quitosana os autores conseguiram controlar o crescimento de bolores e leveduras apenas nos 5 primeiros dias de armazenamento. Apesar do estudo reportado não se referir a um produto cárneo, o mesmo possibilita visualizar que o aumento da concentração de quitosana aplicada no biofilme pode influenciar no efeito antifúngico do mesmo.

Adicionalmente, foi percebido visualmente que no período de 28 dias as salsichas embaladas a vácuo com aplicação de biofilme (1 e 2% de quitosana) não apresentaram limosidade superficial, ao contrário do que foi observado na amostra controle (T3). De forma similar, Siripatrawan e Noipha (2012) reportaram que salsichas sem revestimento adquiriram limosidade superficial com 16 dias de armazenamento a 4 °C, enquanto que salsichas revestidas com quitosana demoraram 20 dias para atingir a mesma condição. A limosidade superficial pode estar correlacionada com o desenvolvimento de microrganismos dos gêneros micrococcos e leveduras (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Tabela 3 – Resultados das análises microbiológicas das salsichas embaladas a granel.

Amostras	Tempo (dias)			
	0	7	14	21
Contagem de microrganismos aeróbios mesófilos (log UFC _g ⁻¹)				
T1	4,14 ± 1,04 ^{bA}	3,27 ± 0,42 ^{bA}	>6,48 ^{aA}	>6,48 ^{aA}
T2	4,02 ± 1,58 ^{bA}	3,26 ± 0,06 ^{bA}	>6,48 ^{aA}	>6,48 ^{aA}
T3	2,89 ± 0,59 ^{bA}	2,52 ± 0,74 ^{bA}	>6,48 ^{aA}	>6,48 ^{aA}
Contagem de bolores (log UFC _g ⁻¹)				
T1	1,83 ± 0,61 ^{bA}	2,15 ± 0,16 ^{bA}	>4,40 ^{aA}	>4,40 ^{aA}
T2	1,88 ± 0,20 ^{bA}	2,17 ± 0,46 ^{bA}	>4,40 ^{aA}	>4,40 ^{aA}
T3	1,89 ± 0,21 ^{bA}	2,29 ± 0,27 ^{bA}	>4,40 ^{aA}	>4,40 ^{aA}
Contagem de leveduras (log UFC _g ⁻¹)				
T1	2,46±0,21 ^{cA}	3,27±0,07 ^{bA}	3,58±0,03 ^{bA}	>4,40 ^{aA}
T2	3,11±0,81 ^{aA}	3,32±0,40 ^{aA}	3,25±0,35 ^{aA}	>4,40 ^{aA}
T3	2,40±0,26 ^{cA}	3,20±0,14 ^{bA}	3,13±0,01 ^{bA}	>4,40 ^{aA}
Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva (log UFC _g ⁻¹)				
T1	<2 ^{aA}	<2 ^{aA}	<2 ^{aA}	<2 ^{aA}
T2	<2 ^{aA}	<2 ^{aA}	<2 ^{aA}	<2 ^{aA}
T3	<2 ^{aA}	<2 ^{aA}	<2 ^{aA}	<2 ^{aA}
Coliformes totais (NMP g ⁻¹)				
T1	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}
T2	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}
T3	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}
Coliformes termotolerantes (NMP g ⁻¹)				
T1	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}
T2	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}
T3	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}	<0,3 ^{aA}

Resultados expressos pela média ± desvio padrão (n=2); Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (p ≤ 0,05); Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si teste de Tukey (p ≤ 0,05); T1: com biofilme de quitosana 1%; T2: com biofilme de quitosana 2%; T3: controle, sem revestimento.

Os resultados da contagem de leveduras nas salsichas a granel indicaram um acréscimo significativo ($p < 0,05$) no período de 0, 7, 14 e 21 dias para as amostras T1 e T3. Na amostra T2 verificou-se uma tendência no aumento da contagem de leveduras, entretanto esta não chegou a ser estatisticamente significativa. A partir de 21º dia de armazenamento a contagem foi superior a $4,40 \log \text{ UFCg}^{-1}$ nas três condições. Esses resultados demonstram que ocorreu um aumento na contagem de leveduras com o tempo de armazenamento nas salsichas a granel, portanto não houve ação antifúngica do biofilme como nas salsichas embaladas a vácuo.

Sagoo, Board e Roller (2002) reportaram uma redução de 1 a 3 ciclos log na contagem de aeróbios mesófilos, bolores e leveduras em salsichas britânicas de carne suína fresca. As salsichas foram revestidas com soluções de 1% de quitosana (em pH 4) por 0, 1, 15 e 30 min. As salsichas controle foram produzidas sem revestimento, e com imersão em água destilada com pH 4 ajustado pela adição de HCl. Após os tratamentos, as salsichas foram embaladas em bandejas de poliestireno cobertas com filme plástico e armazenadas a 7°C. Segundo os autores, concentrações de 0,5% de quitosana na solução de revestimento não foram capazes de inibir o crescimento microbiano nas salsichas a 7 °C, enquanto que concentrações de 2 e 3% de quitosana não foram mais efetivas que a solução a 1%.

Na análise de contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, tanto para as amostras de salsichas embaladas a vácuo, quanto para as embaladas a granel, não foi detectado crescimento do microrganismo, apresentando contagens inferiores a $2 \log \text{ UFC g}^{-1}$ em todos os tempos e tratamentos analisados. Na Resolução RDC nº 12 de 02/01/2001 da ANVISA o limite máximo para amostra indicativa na contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva é $3 \times 10^3 \text{ UFCg}^{-1}$. Ferreira, Franqueza e Barreto (2007) relataram contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva entre 2,3 e 2,7 $\log \text{ UFC g}^{-1}$ em salsichas frescas, no 2º dia de armazenamento entre 0 e 4 °C. Das amostras de salsicha “hot dog” analisadas por Martins et al. (2008), 16 amostras estavam embaladas a vácuo e 22 a granel. Das embaladas a vácuo a maioria das amostras teve contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva entre 2 e 3 $\log \text{ UFCg}^{-1}$, enquanto que das amostras embaladas a granel, a maioria teve contagens entre 4 e 5 $\log \text{ UFCg}^{-1}$. Os resultados superiores verificados na literatura podem estar correlacionados com as matérias-primas utilizadas e com as condições higiênicas durante o processo de elaboração. Em amostras embaladas a granel existe uma manipulação maior, que poderia justificar as maiores ocorrências de microrganismos indesejáveis.

Na determinação de Coliformes totais e termotolerantes verificou-se que, para as salsichas embaladas a vácuo e para as embaladas a granel, não houve um acréscimo nas contagens com o tempo de armazenamento. Também não foi observada diferença entre as amostras, já que os resultados encontrados foram inferiores a $0,3 \text{ NMP g}^{-1}$ para as salsichas T1, T2 e T3 nas duas condições de embalagem em todo o tempo de armazenamento. Esses resultados se devem ao controle higiênico-sanitário rigoroso implantado pela indústria processadora. Alcântara, Gatto e Kozusny-Andreani (2012) adquiriram 40 amostras de salsicha embalada a vácuo de 5 marcas diferentes. Relataram que 2 amostras tiveram $1,4 \times 10^2 \text{ NMP g}^{-1}$ para Coliformes totais, enquanto 38 amostras atingiram $3,3 \times 10^6$

NMP g⁻¹. A determinação de Coliformes termotolerantes de 3 amostras foi 1,0x10² NMP g⁻¹ enquanto que as outras 37 amostras atingiram valores de 2,3 x 10⁵ NMP g⁻¹. Carvalho et al. (2005) reportaram valores de <3,0 NMPg⁻¹ para Coliformes totais e termotolerantes em amostras de salsicha. Segundo esses autores, as condições higiênico-sanitárias podem ser diferentes para cada estabelecimento produtor o que acarreta valores de Coliformes discrepantes.

CONCLUSÕES

A aplicação de biofilmes de quitosana em salsichas embaladas a vácuo nas concentrações estudadas resultou em um efeito antifúngico demonstrado pela contagem de bolores e leveduras em comparação com a amostra T3 (sem revestimento) em salsichas embaladas a vácuo. Além disso, o efeito protetor contra o desenvolvimento de leveduras foi confirmado pela ausência de limosidade superficial ao 28º dia de armazenamento nas salsichas revestidas. Contudo, o mesmo efeito antifúngico não foi observado nas salsichas embaladas a granel, demonstrando que o biofilme produzido apresentou baixa proteção contra a permeabilidade do oxigênio. Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos T1 e T2 e o controle (T3) para as contagens de aeróbios mesófilos, tanto em embalagem a vácuo quanto a granel, indicando que nas condições estudadas o biofilme de quitosana não apresentou efeito antimicrobiano.

Conservation of sausages utilizing chitosan biofilm

ABSTRACT

Use of biofilms in food enable increase of shelf life and ensure the conservation thereof. Chitosan has been used on obtainment of biofilms due its excellent properties of antimicrobial, antifungal, permeable and resistant film formation. The aim of this study was to evaluate the application effect of chitosan biofilms on conservation of sausages vacuum-packed or bulk packaging, stored at 10 °C for 10 days. For biofilm obtaining, chitosan (85% of deacetylation) was dissolved in acetic acid (0.5 mol.L⁻¹), at concentrations of 1% (T1) and 2% (T2). Sausages produced in industrial line were coating with T1 and T2 to immersion, stored at vacuum-packed or bulk packaging, and compared to a control (T3, without coating). Microbiologic analyses to determination of total and thermotolerant coliforms, mesophilic aerobic count, coagulase-positive *Staphylococcus*, and molds and yeasts were carried out during the storage at 10 °C, at times of 0, 14, 21 and 28 days, in order to study the antimicrobial and antifungal behavior of biofilm on the sausage. The biofilm showed no inhibitory action for mesophilic aerobic in all samples during the storage period. In molds and yeasts analyses were no significant difference between the samples T1, T2 and T3, for the vacuum packed sausages, indicating that the biofilm chitosan showed antifungal properties in the studied conditions. Further, in yeast count was observed that T2 was more effective inhibition than T1. In all experimental conditions, the coagulase-positive *Staphylococcus* count, and determination of total and thermotolerant coliforms showed values lower than 2 CFUg⁻¹ and 0.3 MPN g⁻¹, respectively. Application of chitosan biofilms in sausages can result in antifungal effect when associated to vacuum packing.

KEYWORDS: Coating. Antifungal property. Shelf life. Meat product.

REFERÊNCIAS

ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análises de alimentos. 4ed. São Paulo: IAL, 2005. 1020 p.

ALCÂNTARA, M.A.; GATTO, I.R.H. KOZUSNY-ANDREANI, D.I. Avaliação do perfil microbiológico de salsichas tipo “hot dog” comercializadas em embalagens a vácuo e a granel. *Veterinária em Foco*, v. 10, n. 1, p. 68-79, 2012.

ASSIS, O. B. G.; LEONI, A. M. Filmes comestíveis de quitosana. *Revista Biotecnologia e Ciência e Desenvolvimento*, ed. 30, janeiro a junho, 2003.

BATTISTELLA, P. M. D. Análise de Sobrevivência Aplicada a Estimativa de Vida de Prateleira de Salsicha. 115 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Florianópolis, 2008.

BEVERLYA, R. L.; JANES, M. E.; PRINYAWIWATKULA, W.; NO, H. K. Edible chitosan films on ready-to-eat roast beef for the control of *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiology*, v. 25, p. 534-537, 2008.

BLAGOJEVIC, B.; ANTIC, D.; ADZIC, B.; TASIC, T.; IKONIC, P. Decontamination of incoming beef trimmings with hot lactic acid solution to improve microbial safety of resulting dry fermented sausages – a pilot study. *Food Control*, v. 54, p. 144-149, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 1004 de 11/12/1998. Aprova o Regulamento Técnico Atribuição de Função de Aditivos, Aditivos e seus Limites Máximos de uso para a Categoria 8 – Carne e Produtos Cárneos. *Diário Oficial da União*, Brasília, 22/03/1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 20 de 21/08/1999. Oficializa os Métodos Analíticos Físico-Químicos, para Controle de Produtos Cárneos e seus Ingredientes - Sal e Salmoura. *Diário Oficial da União*, Brasília, 27/08/1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 4 de 31/03/2000. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Linguiça e de Salsicha. *Diário Oficial da União*, Brasília, 31/03/2000.

BRASIL. Ministério da Saúde – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12 de 02/01/2001. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. *Diário Oficial da União*, Brasília, 10/01/2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62 de 26/08/2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Diário Oficial da União, Brasília, 18/09/2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51 de 29/12/2006. Adotar o Regulamento Técnico de Atribuição de Aditivos, e seus Limites das seguintes Categorias de Alimentos 8: Carne e Produtos Cárneos. Diário Oficial da União, Brasília, 04/01/2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Ofício Circular nº 15/2009/GAB/DIPOA de 08/05/2009. Uso de Conservantes/Aditivos em produtos cárneos – Procedimentos de registro e Fiscalização.

CARVALHO, A. C. F. B.; CORTEZ, A. L. L.; SALOTTI, B. M.; BÜRGER, K. P.; VIDAL-MARTINS, A. M. C. Presença de microrganismos mesófilos, psicrófilos e coliformes em diferentes amostras de produtos avícolas. Arquivos do Instituto Biológico, v. 72, n. 3, p. 303-307, 2005.

DURANGO, A. M., SOARES, N. F. F., ANDRADE, N. J. Microbiological evaluation of an edible antimicrobial coating on minimally processed carrots. Food Control, v. 17, p. 336-341, 2006.

FERREIRA, M.C.; FRAQUEZA, M.J.; BARRETO, A.S. Avaliação do prazo de vida útil da salsicha fresca. Revista portuguesa de Ciências Veterinárias, v. 102, n. 561-562, p. 141-143, 2007.

FORSYTHE, S. J. Microbiologia da segurança alimentar. Porto Alegre: Artmed, 2002, 424 p.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu, 2008. 182 p.

JIANG, Z.; NEETOO, H.; CHEN, H. Efficacy of freezing, frozen storage and edible antimicrobial coatings used in combination for control of *Listeria monocytogenes* on roasted turkey stored at chiller temperatures. Food Microbiology, v. 28, p. 1394-1401, 2011.

KRISTO, E.; KOUTSOUMANIS, K. P.; BILIADERIS, C. G. Thermal, mechanical and water vapor barrier properties of sodium caseinate films containing antimicrobials and their inhibitory action on *Listeria monocytogenes*. Food Hydrocolloids, v. 22; p. 372-386, 2008.

MARTÍNEZ-CAMACHO, A. P.; CORTEZ-ROCHA, M. O.; EZQUERRA-BRAUER, J. M.; GRACIANO-VERDUGO, A. Z.; RODRIGUEZ-FÉLIX, F.; CASTILLO-ORTEGA, M. M.; YÉPIZ-GÓMEZ, M. S.; PLASCENCIA-JATOMEA, M. Chitosan composite films: Thermal, structural, mechanical and antifungal properties. *Carbohydrate Polymers*, v. 82, p. 305-315, 2010.

MASCARELLO, G.; PINTO, A.; PARISE, N.; CROVATO, S.; PAVOROTTO, L. The perception of food quality profiling Italian consumers. *Appetite*, v. 89, p. 175-182, 2015.

MERGEN, I. Z. Estudo da perda de vácuo em embalagens plásticas multicamadas para produtos cárneos curados cozidos. 132 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, Florianópolis, 2004.

NO, H. K.; PARK, N. Y.; LEE, S. H.; MEYERS, S. P. Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *International Journal of Food Microbiology*, v. 74, p. 65-72, 2002.

OLIVO, R. O Mundo do Frango: Cadeia produtiva da carne de frango. Editora do Autor: Criciúma - SC, 2006. 680 p.

OLIVEIRA, L. M.; SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; CUNHA, D. G.; LEMOS, A. B. Embalagens termoformatadas e termoprocessáveis para produtos cárneos processados. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 16, n. 3; p. 202-210, 2006.

OUATTARA, B.; SIMARD, R. E.; PIETTE, G.; BÉGIN, A.; HOLLEY, R. A. Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan. *International Journal of Food Microbiology*, v. 62, p. 139-148, 2000.

PANDISELVI, K.; THANBIDURAI, S. Synthesis, characterization, and antimicrobial activity of chitosan-zinc oxide/polyaniline composites. *Material Science in Semiconductor Processing*, v. 31, p. 573-581, 2015.

PASCALL, M, A.; LIN, S. The application of edible polymeric films and coatings in the food/industry. *Food Process Technol*, v.4, 2013.

ROMANO, M. A.; FARIA, J. A. F. Sistemas de embalagens para carne industrializada. *Revista Nacional da Carne*, São Paulo, 320 ed., outubro, 2003.

SAGOO S.; BOARD, R.; ROLLER, S. Chitosan inhibits growth of spoilage micro-organisms in chilled pork products. *Food Microbiology*, v. 19, n. 2-3, p. 175-182, 2002.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F., Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. São Paulo: Varela, 1997. 295 p.

SIRIPATRAWAN, U.; NOIPHA, S. Active film from chitosan incorporating green tea extract for shelf life extension of pork sausages. *Food Hydrocolloids*, v. 27, n. 1, p. 102-108, 2012.

SOARES, A. L.; ODA, S. H. I.; LARA, J. A.; ODA, E. I.; SHIMOKOMAKI, M. Tripas e Biofilmes: tecnologia de produção. *Revista Nacional da Carne*, 329 ed., julho, 2004.

TERRA, N. N. Apontamentos de tecnologia de carnes. Editora Unisinos, São Leopoldo-RS, 2005.

VILLADIEGO, A. M.; SOARES, N. F. F.; ANDRADE, N. J.; PUSHMANN, R.; MINIM, V. P. R.; CRUZ, R. Filmes e revestimentos comestíveis na conservação de produtos alimentícios. *Revista Ceres*, v. 52, n. 300, p. 221-244, 2005.

VODNAR, D. C. Inhibition of *Listeriamonocytogenes* ATCC 19115 on ham steak by tea bioactive compounds incorporated into chitosan-coated plastic films. *Chemistry Central Journal*, v. 74, p. 1-6, 2012.

XIA, W; LIU, P; ZHANG, J. CHEN, J. Biological activities of chitosan and chitooligosaccharides. *Food Hydrocolloids*, v. 25, p. 170-179, 2011.

Recebido: 24 mar. 2015.

Aprovado: 08 dez. 2015.

DOI: 10.14685/rebrapa.v7n1.3471

Como citar:

ENGEL, G. et al. Conservação de salsichas utilizando biofilme de quitosana. *Brazilian Journal of Food Research*, Campo Mourão, v. 7, n.1, p. 42-57, jan./abr. 2016. Disponível em: <<https://periodicos.utfpr.edu.br/rebrapa>>

Correspondência:

GELCIMARA ENGEL

Curso Superior de Tecnologia em Alimentos - Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) - Câmpus Medianeira, Medianeira – PR, Brasil.

Direito autorial: Este artigo está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.

