

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

ANA CAROLINA GUIMARÃES FENELON

**MICROBIOLOGIA DO EMBUTIDO FRESCAL ELABORADO COM CARNE DE RÃ-
TOURO-AMERICANA (*Lithobates catesbeianus*)**

UBERLÂNDIA - MG

2017

ANA CAROLINA GUIMARÃES FENELON

**MICROBIOLOGIA DO EMBUTIDO FRESCAL ELABORADO COM CARNE DE
RÃ-TOURO-AMERICANA (*Lithobates catesbeianus*)**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado a Faculdade de Medicina
Veterinária da Universidade Federal de
Uberlândia, como requisito parcial à
obtenção do grau de Médica Veterinária

Orientadora: Profa. Dra. Kênia de Fátima
Carrijo

UBERLÂNDIA-MG

2017

ANA CAROLINA GUIMARÃES FENELON

**MICROBIOLOGIA DO EMBUTIDO FRESCAL ELABORADO COM CARNE DE
RÃ-TOURO-AMERICANA (*Lithobates catesbeianus*)**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado a Faculdade de Medicina
Veterinária da Universidade Federal de
Uberlândia, como requisito parcial à
obtenção do grau de Médica Veterinária

Orientadora: Profa. Dra. Kênia de Fátima
Carrijo

Uberlândia, 19 de julho de 2017

Banca Examinadora

Profa. Dra. Kênia de Fátima Carrijo

(FAMEV - UFU)

Prof. Dr. Marcus Vinícius Coutinho Cossi

(FAMEV - UFU)

Dra. Eliane Pereira Mendonça

(MÉDICA VETERINÁRIA - UFU)

Dedico este trabalho a minha avó Maria Filomena Batista

"Mas aqueles que contam com o Senhor renovam suas forças; Ele dá-lhes asas de águia. Correm sem se cansar, vão para a frente sem se fatigar."

Isaías 40, 31

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida e por me dar forças todos os dias para buscar meus sonhos. Agradeço à minha avó Maria Filomena Batista, que em uma época conservadora criou quatro filhos sozinha, e deu condição a todos de estudarem e hoje, se eu tive essa oportunidade de estar cursando um ensino superior, foi graças ao esforço dela.

Agradeço imensamente à minha mãe, que lutou comigo diversas batalhas ao longo de toda a minha vida, sempre me incentivou e teve paciência em entender cada fase que vivi. Acompanhou-me em muitas etapas da graduação, e até mesmo na execução deste trabalho, proporcionando companhia em finais de semana e feriados.

Agradeço a toda minha família, pelo amor e compreensão que todos tem por mim.

Agradeço aos meus amigos que também dividiram momentos da minha graduação, e me ajudaram de forma direta ou indireta a chegar onde estou.

Agradeço à professora Kênia, que foi uma mãe para mim na graduação, me proporcionou muito aprendizado, experiências novas, conselhos profissionais e pessoais. Uma orientadora que proporciona o caminho e luta ao seu lado para vencê-lo.

Agradeço ao Técnico do Laboratório de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, Alexandre, pela paciência, ajuda em cada momento da minha pesquisa, pelos ensinamentos e trocas de experiências.

E por fim, agradeço ao professor Matias e a família LABIX que ao longo da minha vida acadêmica me proporcionaram um aprendizado imenso, que irei levar para sempre na minha vida profissional.

RESUMO

A carne de rã-touro americana (*Lithobates catesbeianus*) tem ganhado destaque devido à sua riqueza nutricional, sobretudo devido ao teor de proteínas de alto valor biológico, baixo teor de gorduras e reduzida quantidade de calorias e de sódio. Além do aspecto físico nada atraente da rã comercializada inteira, o desconhecimento da forma de se preparar esta carne é um dos itens que mais desestimulam a compra. Assim, o consumo desta carne vai continuar restrito, enquanto não se encontrar formas de atender às facilidades que o mundo moderno oferece. Dentre as alternativas para o aproveitamento, destaca-se a elaboração de produtos embutidos, devido à facilidade de preparo e por ser um produto muito conhecido pela população. Diante do exposto, o presente estudo objetivou avaliar a qualidade microbiológica de um embutido fresco elaborado com carne de rã durante sua validade comercial, embaladas em aerobiose e anaerobiose, bem como da matéria-prima cárnea utilizada na sua elaboração. Para a matéria-prima cárnea e o embutido, foi realizada a pesquisa de *Salmonella* spp., contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, Número Mais Provável de Coliformes totais e termotolerantes e a contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (UFC/g). A linguiça embalada em condições de aerobiose, apresentou contagem de 460 NMP/g de coliformes totais e termotolerantes e na semana subsequente para 43 NMP/g. Para *Staphylococcus* sp., as contagens variaram de $1,85 \times 10^2$ a 6×10^5 UFC/g. Para *Salmonella* sp as amostras da carne de rã *in natura*, massa temperada, embutido no 1º dia de armazenamento e no 16º dia de armazenamento sob aerobiose foram positivas. Para bolores e leveduras o embutido no 1º dia de armazenamento apresentou 1 Log UFC/g e no 34º dia de armazenamento em aerobiose apresentou 5,9 Log UFC/g. O aumento ocorreu nas amostras em anaerobiose no 8º dia de armazenamento 3 Log UFC/g e no 34º dia de armazenamento 4,3 Log UFC/g. Comparativamente verificou-se que embutidos acondicionados em embalagens sob anaerobiose apresentaram menores contagens microbianas e conseqüentemente, melhor qualidade microbiológica, fator relevante para aumentar a vida de um alimento.

Palavras-chave: qualidade microbiológica, segurança dos alimentos, prazo de validade comercial, matéria-prima cárnea.

ABSTRACT

American bullfrog meat (*Lithobates catesbeianus*) has gained prominence due to its nutritional richness, mainly due to the content of proteins of high biological value, low fat content and reduced amount of calories and sodium. Despite all the benefits, there is still consumer resistance in acquiring this product. In addition to the unattractive physical appearance of the whole commercialized frog, ignorance of how to prepare this meat is one of the items that most discourage the purchase. Thus, the consumption of this meat will remain restricted, as long as there are ways to meet the ease that the modern world offers. Among the alternatives for the use, the elaboration of embedded products stands out, due to the ease of preparation and for being a well-known product by the population. In view of the above, the present study aimed to evaluate the microbiological quality of a fresh sausage elaborated with frog meat during its commercial validity (the samples were packed in aerobiose and anaerobiose), as well as the meat raw material used in its elaboration. For the meat raw material and meat sausage, *Salmonella* spp., Coagulase positive *Staphylococcus* count and Most Likely Number of total and thermotolerant Coliforms were carried out, and the counting of mesophilic aerobic heterotrophic bacteria (CFU / g) was performed. The sausage packaged under aerobic conditions presented a count of 460 NMP / g of total and thermotolerant coliforms and the following week to 43 NMP / g. For *Staphylococcus* sp., The counts varied from 1.85×10^2 to 6×10^5 UFC / g. For *Salmonella* sp., the samples of fresh frog meat, temperate mass, embedded in the 1st day of storage and on the 16th day of storage under aerobiosis were positive. For molds and yeasts, the first day of storage showed 1 Log CFU / g and at the 34th day of aerobiose storage it presented 5.9 log CFU / g. The increase occurred in the anaerobic samples on the 8th day of storage 3 Log CFU / g and on the 34th day of storage 4.3 Log CFU / g. Comparatively, it was verified that inlays packed in anaerobic packages had lower microbial counts and, consequently, better microbiological quality, a relevant factor to increase the life of a food.

Key words: microbiological quality, food safety, commercial shelf life, meat raw material.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1 Criação e manejo da rã-touro americana	11
2.2 O processo do abate de rãs	13
2.3 A carne de rã.....	15
2.4 Microbiologia da carne de rã.....	17
2.5 Medidas para a redução microbiana da carne.....	18
2.6 Embutido cárneo	19
3 MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1 Matéria prima cárnea.....	20
3.2 Formulação e elaboração e embalagem do embutido fresco de carne de rã	20
3.3 Análise microbiológica da matéria prima cárnea e do embutido.....	21
3.3.1 Contagem total de coliformes totais e termotolerantes	21
3.3.2 Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas	22
3.3.3 Contagem de <i>Staphylococcus</i> spp. e <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva.....	22
3.3.4 Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.	23
3.3.5 Contagem de bolores e leveduras.....	24
3.4 Análise dos dados.....	24
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
4.1 Coliformes Totais e Termotolerantes	25
4.2 Bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas	27
4.3 Contagem de <i>Staphylococcus</i> e <i>Staphylococcus</i> cogulase positiva	29
4.4 Pesquisa de <i>Salmonella</i> sp.	31
4.5 Bolores e Leveduras	32
5 CONCLUSÃO	34
6 REFERÊNCIAS	35

1 INTRODUÇÃO

A produção da rã-touro-americana (*Lithobates catesbeianus*) no Brasil tem ganhado destaque desde 1935 com a utilização de tecnologias que dinamizaram a criação em cativeiro, e como consequência o país atualmente serve de modelo para outros que praticavam somente extrativismo. A atividade ganhou mais visibilidade nas décadas de 80/90, gerando renda e emprego para diversos produtores de regime econômico familiar. A qualidade da carne juntamente com os teores baixos de gordura e o alto valor biológico incentivam a elaboração de produtos para o consumo humano (FUNDAÇÃO INSTITUTO DE PESCA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, 2016).

Levando-se em consideração os aspectos nutricionais da carne de rã, Lindau e Noll (1998) observaram que a carne desta espécie possui baixos teores de lipídeos (0,3g/100g), reduzida quantidade de calorias (69 Kcal/100g) e de sódio (80,07 mg/100g). Segundo estes mesmos autores, a carne de rã pode ser indicada para dietas que visam emagrecimento, uma vez que apresentam teor baixo em calorias e gorduras, além de ser uma excelente fonte proteica. Moura e Ramos (2000) acrescentam ainda que as proteínas da carne de rã possuem alto valor biológico e apresentam em média 16 a 19% de proteína. Segundo estes autores a carne é também indicada nos tratamentos de doenças gastrointestinais e alérgicas.

Apesar de seus benefícios e de existir vários consumidores efetivos, Lima, Teixeira e Costa (2006) afirmam que a carne de rã é um produto cercado de preconceito por parte do consumidor doméstico. Além do aspecto físico nada atraente quando a carcaça é comercializada inteira, o desconhecimento da forma de se preparar esta carne é um dos itens que mais desestimulam a sua compra. Estes autores ainda comentam que o consumo da carne de rã vai continuar restrito, enquanto não se encontrar formas de atender às facilidade que o mundo moderno oferece.

As principais formas de comercialização desta carne no mercado brasileiro são sob a forma congelada e fresca, podendo ser oferecida na forma de carcaça inteira ou dividida em partes. Dentre estas partes, a mais consumida é a coxa, que representa 30-33% do peso do animal (PRABHU, NAIR e NAIR, 1986). O dorso é muito pouco consumido pela população e na maioria das vezes são descartados

(MELLO et al., 2006). Dentre as possibilidades de aproveitamento destas partes, destaca-se a elaboração de embutidos, pela facilidade de preparo e por serem amplamente consumidos pela população.

O conhecimento sobre a qualidade microbiológica da carne de rã utilizada como matéria prima para a elaboração de produtos derivados é importante e necessária. Também é necessário conhecer a presença de micro-organismos em produtos que já foram produzidos com a carne, já que a sua segurança depende de uma caracterização microbiológica, a fim de verificar se os mesmos são seguros para o consumo humano.

O presente trabalho objetivou avaliar a qualidade microbiológica de um embutido fresco elaborado com carne de rã durante sua validade comercial, embalado em condições de aerobiose e de anaerobiose, bem como da matéria prima carne utilizada na sua elaboração.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Criação e manejo da rã-touro americana

A produção de rã-touro no Brasil vem crescendo e a qualidade da carne em valores nutricionais tem trazido destaque para o incentivo da criação no país. Os baixos níveis de colesterol e gordura ajudam na publicidade do produto (CASALI et al., 2007).

A ranicultura foi introduzida no país no ano de 1935, sendo os primeiros exemplares trazidos da América do Norte. A partir dessa época observou-se a grande adaptabilidade destes animais quanto ao ambiente e clima, associado à propagação da espécie em cativeiro, desenvolvendo assim várias técnicas e sistemas de manejo, buscando o seu maior desenvolvimento e maior produção (VIZOTTO, 1975). A rã se adaptou muito bem nas regiões tropicais do Brasil onde as temperaturas permanecem altas quase que todo o ano, pois em temperaturas baixas e amenas, esta diminui o seu consumo de alimento, podendo parar de se alimentar. Se o período de frio persistir por dias, provocará a diminuição do ganho

de peso dos animais. Foi no ano de 1980 que a atividade conseguiu se estabilizar pelo constante aumento da valorização da carne de rã (LIMA; AGOSTINHO, 1992).

A criação de rãs ou ranicultura pode ser realizada por métodos extensivos, semi-extensivos ou intensivos (LONGO, 1987). Dentre as várias alternativas de criação, instalações e manejo, o método mais utilizado para a criação das rãs, destaca-se a anfigranja (LIMA; CASALI; AGOSTINHO, 2003). Esta caracteriza-se por sua disposição linear de piscina, abrigos e cochos, permitindo que as rãs distribuam-se de maneira uniforme tanto no tanque, quanto nos comedouros. Os tanques são feitos de alvenaria e construídos dentro de barracões semelhantes aos utilizados nas granjas de frango (FZEA – USP, 2003). Possuem formato circular ou retangular e eficiente sistema que drena os resíduos e faz a circulação da água, através de um conjunto hidráulico de alta pressão (LIMA, AGOSTINHO 1989).

A unidade produtiva da criação é denominada “ranário”. Há divisão de setores que estão diretamente relacionados ao ciclo de vida dos animais. Essas podem ser divididas em: reprodução, girinagem ou larvicultura e engorda. Cada etapa tem a ambientação específica para a fase do animal, com isso há variação entre baias e tanques naturais (CRIBB, AFONSO, MOSTÉRIO, 2013).

Modernas técnicas de manejo, avaliação e tratamento da água, instalações adequadas, alimento com boa qualidade, treinamento da mão de obra e procedimentos de limpeza e profilaxia garantem à criação baixos índices de mortalidade e de patologias que acometem as rãs em sua criação, obtendo assim grande taxa de animais sadios e adequados para atender ao mercado (HIPÓLITO, 2000; HIPÓLITO et al., 2004).

Nas criações, a rã demora em torno de 7 meses desde o nascimento até o abate. Devido às oscilações climáticas, os animais na fase de engorda variam de 2 a 5 meses em relação à permanência nessa etapa. Os animais são abatidos com a faixa de peso de 250 e 300g (CRIBB, AFONSO, MOSTÉRIO, 2013). O rendimento de carcaça varia de 45 a 55% do peso do animal vivo (LIMA; AGOSTINHO, 1992).

De acordo com a Portaria nº 95-N de 30 de agosto de 1993 do IBAMA, as rãs são consideradas animais aquáticos, o que exige de todos os produtores o registro de aquicultor no Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA. A comercialização do produto é permitida se o ranicultor tiver inscrição como produtor rural no órgão competente de sua região (FZEA-USP,

2003).

A alimentação, abate e produção com higiene das rãs, atualmente são feitos de acordo com as normas de serviços oficiais de inspeção de produtos de origem animal. E por esse motivo a carne desses animais pode ser encontrada em açougues, supermercados, dentre outros mercados varejistas (AFONSO, 2013).

2.2 O processo do abate de rãs

Segundo o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), em seu artigo 205, o termo “pescado” refere-se aos peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios, equinodermos e outros animais aquáticos usados na alimentação humana (BRASIL, 2017). Assim, as rãs estão incluídas dentro desta definição.

Para a obtenção higiênico-sanitária com qualidade dos produtos da carne de rã, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) estabelece algumas diretrizes e normas para o abate desses animais. Porém, não existem as que garantem certificação da unidade de abate de rãs e nem as que servem para obtenção do registro no Serviço de Inspeção Federal (SIF). Por este motivo, são usados os parâmetros de unidades de abate de animais de pequeno porte para comparação durante a fiscalização (LOIAZA, 1996; RAMOS, 2004)

Os estabelecimentos, de modo geral, operam com baixo nível de profissionalismo e com padrão de qualidade a desejar. A utilização de equipamentos inadequados e improvisados é frequente, provavelmente pela dificuldade de obter outros de qualidade superior. Diante deste cenário, a qualidade da carne de rã pode ficar comprometida, devido às deficiências a serem resolvidas (LIMA et al., 1999, MOURA, 1999). Segundo Mello et al. (2006), existem estabelecimentos de abate de rãs em diferentes estados brasileiros, fiscalizados pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF) e Estadual (SIE). Moura (1999) sugere a necessidade de uma exigência mais uniforme do serviço de inspeção do país, para um melhor aspecto sanitário do produto.

Segundo Lima et al. (2000), o abatedouro de rãs é considerado um entreposto de pescado e é composto basicamente pelas áreas de recepção (área suja), evisceração (área limpa), embalagem; congelamento, estocagem e expedição. O

estabelecimento que elabora outros produtos além da carne de rã *in natura*, deve possuir também sala de processamento.

O procedimento de abate da rã-touro deve contemplar etapas que garantam como produto final, uma carne com cargas microbianas compatíveis que não tragam risco à saúde do consumidor deste produto. A contaminação da carne pode ocorrer em todas as operações do abate, armazenamento, distribuição e elaboração de derivados da carne. No processamento industrial existem vários pontos a considerar: ao selecionar os animais na chegada deve-se descartar os doentes ou mortos; fazer jejum hídrico de 24 horas antes do abate; evitar a perfuração de vísceras; evitar o contato da pele e lesões na carcaça; usar água corrente e clorada; as instalações, os equipamentos e os manipuladores devem atender às exigências higiênico-sanitárias (ROÇA, 2004; RODRIGUES et al., 1994).

O abate da rã-touro pode ser dividido em: seleção e jejum dos animais, transporte, recepção e pesagem, insensibilização, pendura e corte do colarinho, sangria, transpasse e esfolagem, transpasse e eventração, evisceração e decaptação, corte de extremidade e toailete, pré-resfriamento e embalagem primária, congelamento rápido e embalagem secundária, e finalmente estocagem e expedição (CRIBB et al., 2013)

Cribb et al. (2013) descrevem que o período que vai desde o momento da seleção e jejum dos animais até a pesagem é nomeado de pré-abate. Da insensibilização até a sangria os procedimentos são realizados na área denominada de "área suja" e do transpasse até a esfolagem são realizados na área limpa.

A termonarcore é o procedimento utilizado para a realização da insensibilização das rãs, que inclui a adição de gelo potável no recipiente que é realizada a limpeza pré-abate dos animais. Devido ao custo operacional este método é o mais escolhido, tendo em vista que a quimionarcore (uso da câmara de CO₂ nos animais) e a eletronarcore (uso de uma corrente elétrica de baixa voltagem) exigem um maior investimento ou custo, mesmo que apresentem melhores resultados, levando em consideração o abate humanitário. A eletronarcore e a termonarcore não demonstram influência na qualidade final da carne, quando observados os parâmetros de pigmentos e cor objetiva da carcaça (GUEDES et al., 2002; MOURA, 1999; MOURA, 2003; EFSA, 2009; CRIBB et al., 2013).

Segundo o Codex Alimentarius (1984), a sangria para o abate e processamento das coxas de rãs é realizado através de um corte feito na altura da cintura pélvica do animal, sendo posteriormente as coxas imersas em solução de salina gelada. No Brasil o modo mais utilizado é pela interrupção dos grandes vasos, sanguíneos que emergem do coração, através de um corte com um bisturi (LOIAZA, 1996). De acordo com o artigo.114 o animal é mantido de cabeça para baixo, pendurado pelos pés durante toda a etapa ou com outro método que seja aprovado pelo Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. O tempo de duração da sangria será determinado em normas complementares. Borges et al. (1995) sugeriram um tempo mínimo de 8 minutos para duração dessa etapa.

Após a rã ser pendurada é realizado o corte denominado “colarinho”. Ele consiste na realização do corte da pele do animal ao redor da cabeça e tronco. Sendo possível o desprendimento da pele, ela é tracionada no sentido da cabeça para as patas posteriores. O animal fica preso pela mandíbula. A abertura da cavidade abdominal é realizada com o auxílio de uma tesoura e as vísceras são separadas da carcaça. Finalmente a cabeça é separada da carcaça do animal (LIMA e AGOSTINHO, 1998; LOIAZA, 1996).

Quando as operações são realizadas sob a nória, há aspersão de jatos de água com uma concentração de 5 ppm de cloro (CRIBB et al., 2013), porém Moura (1999) encontrou alguns estabelecimentos que não optavam pela aspersão, mesmo tendo conhecimento sobre o benefício na redução da carga microbiana na carcaça. Lembrando que algumas dessas etapas podem ser modificadas de acordo com o sistema de inspeção presente na fábrica. Após todas as etapas, os produtos do abate são rapidamente congelados e armazenados a -20°C em câmaras frigoríficas, onde permanecerão até o envio ao comércio (LIMA et al., 2000)

As medidas preventivas sanitárias dos alimentos são importantes para garantirem um alimento seguro ao consumidor. Alimentos quando produzidos inadequadamente podem ser promotores de doenças, por isso o cuidado vai desde a produção do animal a ser abatido até o consumo humano (SOUZA, 2004).

2.3 A carne de rã

Nos últimos anos tem-se observado grande mudança na alimentação das

peessoas para uma dieta mais saudável (MONDINI, MONTEIRO 1994). Contudo o consumo da carne de rã no país ainda é pequeno. Bezerra (2006) acrescenta ainda que o consumo da carne de rã no Brasil, no ano de 2006 não chegava a 300 toneladas ano, uma quantidade pequena, levando-se em consideração que a carne desta espécie animal apresenta muitos atributos nutricionais importantes, indicada inclusive, por médicos e nutricionistas, para dietas específicas. Este autor ainda cita que muitos são os fatores limitantes à comercialização: o elevado valor da carne, a falta de hábito de consumo, a dificuldade para encontrar o produto e a aparência insatisfatória, que leva à resistência do consumidor devido a questões estéticas.

Apesar dos altos preços no varejo, a irregularidade da oferta do produto nos pontos de venda e a precária divulgação, a carne de rã vem sendo conhecida pela reduzida quantidade de gordura e calorias, alta digestibilidade e elevada quantidade de proteínas (FAVIER et al., 1999).

Costa et al. (2015) verificaram em estudo realizado com pessoas do município de Alegre-ES, que dos 113 entrevistados, 38 indivíduos (33,63%) nunca tinham consumido carne de rã e entre esses 86,85% relataram que não consumiram o produto devido à aparência do animal e 5,26% justificaram o não consumo devido ao elevado preço da carne de rã comercializada na cidade.

No Brasil a carne de rã é comumente comercializada na forma de coxas congeladas e de carcaças inteiras. O rendimento de carcaça em relação ao peso vivo do animal é de 52,0% e as coxas de 27,4%. Vale ressaltar que esses valores dependem da idade, faixa de peso e do sexo do animal. O dorso no mercado não é tão valorizado e com isso o consumo de pernas (coxas) é maior. Porém essa parte do animal (dorso) pode ser processada e assim obtida a carne mecanicamente separada (CMS). Esta representa 47,3% da carcaça, incluídos os braços (LIMA et al., 2016). É necessário um melhor aproveitamento da carne de rã e um aumento do consumo da carne, e isso será possível com maior incentivo de mercado com divulgações e uma produção uniforme (EMBRAPA, 2009).

Além da obtenção de carne mecanicamente separada, Silva (2014), afirma que a utilização de carne desfiada de rã é uma saída para as indústrias que tem o objetivo de aproveitar totalmente a carcaça de rã, sendo portanto possível agregar valor às partes consideradas menos nobre que podem incentivar a fabricação de

novos produtos. A indústria com a falta de tecnologia também influencia na falta de disponibilidade e processamento maior da carne de rã (CARVALHO, 2011).

A carne de rã não possui muita diferença da carne bovina magra em relação a capacidade emulsificante, sendo os valores em média 111,13 ml e 115,6 ml de óleo/g respectivamente (MOURA, 1999).

Há diferença de deposição de gordura intracelular realizada pela rã. A carne apresenta ausência de gordura intracelular, gerando o sabor suave da carne. A ausência de sítios de ligação de pigmento contribui para a coloração branca-remosa da carne, sendo ela classificada como branca (MOURA, 2003).

O pH da musculatura de coxas de rãs é de aproximadamente 6,8 quando realizada a análise imediatamente após o sacrifício dos animais. Com doze horas o pH médio esta em torno de 6,4 e com 24 horas 5,8. A musculatura tem predomínio de fibras brancas e baixa capacidade tamponante, justificando as variações de pH (GARCIA et al., 1999; RAMOS, 2004; RAMOS, 2005). Corrêa (1988), ao analisar o pH da carne de rã congelada encontrou valores entre 6,28 e 6,51. O período analisado foi de 182 dias de armazenamento a uma temperatura de -18°C.

Em análise realizada por Feix et al. (2006), em 100 gramas de carne de rã encontraram 17,7g de proteína, 0,27g de gordura, 0,0g de açúcares totais, valor calórico de 73,23kcal, 0,034g de colesterol, 0,1g de gordura saturada, 0,0g de fibra total, 0,063g de sódio, 0,0g de ferro e 0,01g de cálcio.

2.4 Microbiologia da carne de rã

Ao longo dos processos de produção da rã, há várias fontes de contaminação. Com isso é importante um maior cuidado com a criação destes animais, visto que serão manipulados no abate. Portanto, o local corretamente limpo onde os animais permanecem, o controle de pragas, ração e água de qualidade ajudam no controle sanitário (RODRIGUES et al., 1994).

As rãs são consideradas reservatórios da *Salmonella* spp., com isso se tornam importantes para a epidemiologia da possível patologia que essa bactéria pode causar quando ingerida (SILVA; OLIVEIRA, 1994). Alfani (2007) e Andrews et al. (1977), realizaram o isolamento de vários tipos de sorotipos de salmonelas em coxas de rã.

Rodrigues et al. (1994) encontraram em carnes congeladas contagens entre 5,3 UFC e 5,5 UFC de aeróbios mesófilos. Corrêa (1988) encontrou contagens de mesófilos entre 3,41 UFC e 1,84 UFC em carne fresca e estocada.

Barreira (2009) encontrou em carnes de rã-touro congeladas provenientes do comércio varejista do Rio de Janeiro (RJ), 10% de amostras positivas para *Salmonella* spp., 30% com ausência de coliformes totais, 93,33% ausentes de coliformes termotolerantes e 53,33% com a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva, o que torna essas carnes impróprias para o consumo segundo este autor.

2.5 Medidas para a redução microbiana da carne

Existem procedimentos que são capazes de promover a redução microbiana da carne, e de acordo com o tratamento que o alimento recebe, é possível definir o modo de acondicionamento do produto. Dentre eles pode-se citar: congelamento, cozimento, tratamento com luz ultravioleta (UV), defumação, manipulação correta de forma higiênica, diferentes formulações ou adições de ingredientes (SILVA, 2014; SOUZA, 2006; JAY, 2005).

O congelamento de um alimento por seis horas ou menos a uma temperatura abaixo de 0°C, é capaz de retardar o processo metabólico ou inibir o crescimento dos micro-organismos presentes (MADEIRA; FERRÃO, 2002). A elaboração de um embutido com a presença de sais cloreto de sódio e nitrito de sódio/potássio, o uso da secagem, de tecido adiposo (que possui menos quantidade de água), são capazes de causar diminuição da água existente. Conseqüentemente o crescimento bacteriano fica inibido devido à pouca atividade da água; esse é um dos fatores responsáveis pela conservação de produtos (SOUZA, 2006). Devido à luz ultravioleta (UV) ser uma radiação não ionizante, ela se caracteriza como um poderoso bactericida (JAY, 2005). Silva (2014) concluiu que o tratamento com radiação UV foi eficaz na diminuição de *Staphylococcus aureus* em carne de dorso de rã-touro previamente cozida e desfiada. E esse método pode ser utilizado para a redução de outros micro-organismos.

Lima Silva (2004), afirma que uma das formas de obtenção de um produto microbiologicamente seguro é através do cozimento. Há dois tipos de processamentos térmicos que podem ser utilizados: o primeiro denominado

esterilização e tem como objetivo garantir a destruição completa de bactérias patogênicas (JUNQUEIRA, 1994); o segundo é a pasteurização, que possui um tratamento térmico menos intenso, e com isso não elimina bactérias esporuladas (STUMBO, 1965).

Há o método de embalagem modificada que consiste em alterar a atmosfera que está em contato com o produto no momento da embalagem por mistura otimizada de gases ou acrescentar somente um gás. Ela é preparada para cada tipo de alimento e tem como objetivo controlar as reações microbiológicas, enzimáticas e químicas no produto e assim garantir menos degradação durante o período que será armazenado (SARANTÓPOULOS et al., 1998; MADRID et al., 1995)

2.6 Embutido cárneo

Dentre as alternativas para o aproveitamento da carne de rã como matéria prima, destaca-se a elaboração de produtos embutidos, sobretudo linguiças, devido à facilidade de preparo e por ser um produto muito conhecido pela população.

Segundo o Art. 288 em seus parágrafos 1º e 2º do Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), o embutido é todo produto que possui um envoltório natural (tripa ou bexiga) ou um envoltório artificial (desde que aprovado pelo Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal - DIPOA) elaborado com carne ou outros órgãos comestíveis. Pode ser cozido ou não, curado ou não, defumado e dessecado ou não (BRASIL, 2017).

A linguiça, de acordo com o a Instrução Normativa nº 4 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) é um produto cárneo submetido à industrialização, com carne obtida através de animais de açougue. Pode ter a adição ou não de tecidos adiposos, envoltório artificial ou natural, ingredientes e finalmente submetido ao processo tecnológico adequado (BRASIL, 2000).

A conservação do embutido cárneo depende de vários fatores; entre eles a realização de uma secagem da superfície do produto, altas temperaturas, adição de compostos ácidos, algumas carbonilas e fenólicos (esses por sua vez garantem a inibição de crescimento bacteriano) e compostos que impedem a oxidação da gordura (CANHOS e DIAS, 1983).

Além de embutidos, atualmente existem alguns produtos formulados à base

carne de rã. Dentre eles já foram elaborados lasanha, patê de carne de rã, carne de rã desfiada em conserva dentre outros (DA FRANCA, 2011; FURTADO, 2006).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Matéria prima cárnea

Neste trabalho a carne de rã-touro utilizada era proveniente do criadouro e abatedouro-frigorífico da Universidade Federal de Uberlândia - Campus Glória, a qual foi adquirida congelada. Antes de sua utilização, a mesma foi descongelada por "overnight" em refrigerador doméstico (6°C) por 12 horas. A seguir foi colhida uma amostra e a mesma foi submetida à análise microbiológica.

3.2 Formulação e elaboração e embalagem do embutido frescal de carne de rã

Para a elaboração do embutido frescal de carne de rã foram utilizadas as seguintes proporções de matérias primas: 90% de coxa e sobrecoxa de rã, 10% de toucinho, mistura condimentada para linguiça frescal na proporção de 1kg para cada 25kg de massa, 0,03% de alho, 3% de água destilada, 0,3% de glutamato monossódico.

Durante todo o período do experimento, a principal preocupação foi com a contaminação da amostras. Para isso foram tomados diversos cuidados: a água destilada utilizada na massa do embutido foi esterilizada a 121°C durante 15 minutos, as condições de descongelamento da matéria prima ocorreram em condição controlada (sob refrigeração e as amostras permaneceram acondicionadas em suas embalagens originais, as quais foram higienizadas com solução de álcool a 70% antes de serem abertas).

Da mesma forma, foi higienizado todo o equipamento utilizado na elaboração do embutido (moedor, embutideira, facas, bandejas, etc.). Foi realizada a lavagem inicial com detergente neutro seguida de uma imersão temporária dos equipamentos e instrumentos em solução em água hipoclorada a 10 ppm. Por último, foram rinsados com água destilada.

Primeiramente, toda a carne de rã obtida foi moída juntamente com o toucinho, depois o restante dos ingredientes foram adicionados e misturados até a obtenção da liga necessária da massa. O intuito era que o mesmo tivesse a composição similar à preconizada pela Instrução Normativa nº4 de 2000 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento que dispõe sobre o Regulamento Técnico de Identidade e de Qualidade de linguiça - embutidos cárneos (BRASIL, 2000).

Após a mistura das matérias primas (carne de rã e toucinho) aos demais ingredientes, a massa foi acondicionada a uma caixa plástica, a qual foi deixada em geladeira por um período de 12 horas para desenvolver a cura. Finalizado este período, retirou-se uma segunda amostra para a realização das análises microbiológicas. A seguir, após o período de descanso da massa, esta foi embutida em tripa natural de suíno, a qual foi previamente imersa durante 30 minutos em solução aquosa de ácido acético a 5%. Após o embutimento foram realizados gomos, sendo que alguns deles foram destinados à avaliação microbiológica.

Após o preparo do embutido, este foi fracionado e acondicionado em embalagens plásticas apropriadas. A seguir parte das frações foram embaladas em aerobiose e uma parte embalada à vácuo (anaerobiose) ambas em Termoseladora Tecmaq® modelo TM250. De forma que para cada respectivo dia de análise haveria uma amostra em aerobiose e anaerobiose. Procedeu-se a abertura das embalagens e as análises nos dias 08, 16, 24 e 34.

Tanto as amostras embaladas em aerobiose quanto em anaerobiose foram mantidas refrigeradas ($3\pm 1^{\circ}\text{C}$) até o momento das análises.

3.3 Análise microbiológica da matéria prima cárnea e do embutido

Adotou-se como metodologia para a análise microbiológica da carne de rã a Instrução Normativa nº 62/2003 (BRASIL, 2003), do MAPA.

3.3.1 Contagem total de coliformes totais e termotolerantes

Uma amostra de $25 \pm 0,2$ g foi pesada e colocada em 225 mL de solução salina peptonada 1% e homogeneizada por 60 segundos no “stomacher”. A partir da diluição inicial que representa a 10^{-1} , foram realizadas as diluições desejadas.

Para coliformes totais foram inoculadas 1 ml de cada diluição em tubos contendo caldo verde brilhante bile 2% lactose, incubados a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas. A presença de coliformes totais foi confirmada pela formação de gás e ou efervescência quando agitado gentilmente.

Em coliformes termotolerantes, as culturas suspeitas foram inoculadas 1 ml de cada diluição em tubos contendo caldo EC, e incubados a $45 \pm 0,2^\circ\text{C}$, por 24 a 48 horas em banho maria com agitação. A presença de coliformes termotolerantes foi confirmada pela formação de gás ou efervescência quando agitado gentilmente. O resultado foi expresso em NMP/g (número mais provável/ grama).

3.3.2 Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas

A amostra utilizada foi de $25 \pm 0,2$ g, obtida através da pesagem. A seguir foi colocada em 225 mL de solução salina peptonada 1% e homogeneizada por 60 segundos no “stomacher”. A partir da diluição inicial que representa a 10^{-1} , foram realizadas as diluições desejadas.

A partir de cada diluição selecionada, 1 mL da solução foi semeado em placas de Petri estéreis e cerca de 15 a 20 mL de PCA, fundido e mantido em banho-maria a $46-48^\circ\text{C}$, foi adicionado e homogeneizado até a solidificação do ágar. As placas foram incubadas invertidas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 horas. A leitura foi realizada através da seleção de placas que contenham entre 25 e 250 colônias. O resultado expresso em UFC/g.

3.3.3 Contagem de *Staphylococcus* spp. e *Staphylococcus* coagulase positiva

A amostra utilizada foi de $25 \pm 0,2$ g, obtida através da pesagem. Posteriormente esta foi colocada em 225 mL de solução salina peptonada 1% e homogeneizada por 60 segundos no “stomacher”. A partir da diluição inicial que representa a 10^{-1} as diluições seriadas foram realizadas.

Sobre a superfície seca do ágar Baird-Parker acrescido de gema de ovo e solução de telurito de potássio a 3,5%, 0,1 mL de cada diluição foi adicionada à superfície e homogeneizada. As placas foram incubadas invertidas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 30 a 48 horas. As placas que apresentaram entre 20 e 200 colônias foram selecionadas

e a contagem de colônias típicas e atípicas foi realizada.

Foram selecionadas 3 a 5 colônias de cada tipo, e semeadas em tubos contendo BHI, incubadas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$, por 24 horas. Após esse tempo, foi realizada a transferência de 0,3 mL de cada tubo de cultivo em BHI para tubos estéreis contendo 0,3 mL de plasma de coelho e incubados a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 6 horas. E a presença ou não de coágulos foi observada (prova da coagulase).

Adicionalmente, foram realizadas as provas de catalase e coloração pelo Método de Gram.

3.3.4 Pesquisa de *Salmonella* spp.

A amostra utilizada para esta análise foi de $25 \pm 0,2$ g, obtida através de pesagem. Posteriormente esta foi colocada em 225 mL de solução salina peptonada 1% tamponada e homogeneizada por 60 segundos no “stomacher” e foi deixada em repouso por uma hora.

O pré-enriquecimento foi feito por meio de incubação das alíquotas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por, no mínimo, 16 horas e no máximo 20 horas. O enriquecimento seletivo, através da inoculação das alíquotas de 0,1 mL das amostras pré-enriquecidas para tubos contendo 10 mL de caldo Rappaport Vassiliadis, foram incubadas a $41 \pm 0,5^\circ\text{C}$, em banho-maria, por 24 a 30 horas.

A inoculação das alíquotas foi realizada através de 1 mL pipetado das amostras pré-enriquecidas e transferidas para tubos contendo 10 mL de caldo selenito cistina, incubadas a $41 \pm 0,5^\circ\text{C}$ em banho-maria, por 24 a 30 horas.

As alíquotas de 1 mL das amostras pré-enriquecidas foram pipetadas e transferidas para tubos contendo 10 mL de caldo tetrionato. Os tubos foram incubados a $41 \pm 0,5^\circ\text{C}$ em banho-maria, por 24 a 30 horas.

A partir dos caldos seletivos de enriquecimento, as bactérias foram repicadas sobre a superfície, previamente seca, de placas com cada meio sólido seletivo, estriando de forma a se obter colônias isoladas. E ao final foram obtidas 2 placas de BPLS, uma originária do caldo Rappaport Vassiliadis, e, outra originária do caldo selenito cistina e 2 placas do segundo meio seletivo utilizado pelo laboratório, obtidas do mesmo modo.

As placas foram incubadas invertidas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 18 a 24 horas. Depois

deste período, 3 a 10 colônias suspeitas foram selecionadas. São colônias caracterizadas por apresentarem cor rosada ou incolor, de translúcida a opacas, e quando rodeada por microrganismos fermentadores de lactose, apresentam a cor verde-amarelada, de acordo com a descrição na IN 62/2003 (BRASIL 2003).

As colônias selecionadas foram repicadas em BHI (meio não seletivo) e incubadas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 18 a 24 horas, com o objetivo de verificar sua pureza. Após esse período foram realizadas as provas bioquímicas: produção de urease, reações em ágar TSI, fermentação aeróbia da glicose, presença de H_2S se realiza por meio da reação do H_2S com o citrato de ferro e amônio (presente no meio de cultura) e reação em ágar LIA.

3.3.5 Contagem de bolores e leveduras

Após a realização das diluições sucessivas, inoculou-se 0,1 ml de cada uma das diluições sobre a superfície de placas contendo Agar batata dextrose suplementado com ácido tartárico, em duplicata, com o auxílio de alça de Drigalski, até a completa absorção do inóculo.

As placas foram incubadas a 25°C por seis dias, em temperatura ambiente, sem invertê-las. Após este tempo, foi realizada a contagem das colônias em contador tipo Quebec, as quais foram expressas em UFC/g.

Este procedimento para a contagem de bolores e leveduras baseia-se na verificação da capacidade desses microrganismos se desenvolverem em meios de cultura com pH próximo a 3,5 e temperatura de incubação de $25 \pm 1^\circ\text{C}$. A utilização de meios acidificados a $\text{pH } 3,5 \pm 0,1$ promove seletivamente o crescimento de fungos, inibindo a maioria das bactérias presentes no alimento (BRASIL, 2003).

3.4 Análise dos dados

Os dados foram submetidos à estatística descritiva, sendo os resultados obtidos dispostos em tabelas e gráficos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pelo fato da rã ser considerada um pescado (BRASIL, 2017), adotou-se como

referência os valores estabelecidos na Resolução RDC nº 12/2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (BRASIL, 2001), considerando os padrões microbiológicos para produtos a base de pescado refrigerado ou congelado (hambúrgueres e similares), a fim de verificar se o embutido elaborado e analisado encontra-se dentro dos padrões microbiológicos (Estafilococos coagulase positiva e *Salmonella* sp.) para estes produtos. Tais parâmetros estão relacionados na tabela 1.

TABELA 1. Padrões microbiológicos para produtos a base de pescado refrigerado ou congelados (hambúrgueres e similares) segundo a Resolução RDC nº 12/2001 - ANVISA.

PARÂMETROS	
(produtos a base de pescado refrigerado ou congelados - hambúrgueres e similares)	
	CRITÉRIOS
Estafilococos coagulase positiva /g	10 ³ UFC
<i>Salmonella</i> sp.	Ausência em 25g

Fonte: Resolução RDC nº12/2001 (BRASIL, 2001). Adaptado.

4.1 Coliformes Totais e Termotolerantes

Na tabela 2 estão relacionadas as enumerações para coliformes totais e termotolerantes das amostras analisadas. Com relação à massa obtida após a mistura da carne de rã com os demais ingredientes, obteve-se uma enumeração de 240 NMP/g.

Verifica-se ainda que o embutido embalado em condições de aerobiose, no primeiro dia, apresentou contagem de 460 NMP/g de coliformes totais e termotolerantes, havendo uma redução na semana subsequente para 43 NMP/g. Possivelmente esta redução tenha sido atribuída à ação do nitrito de sódio e/ou potássio, aditivo do grupo dos conservantes, que possui a ação de conservar a carne contra a deterioração bacteriana, é fixador de cor e proporciona o desenvolvimento de aroma e sabor característico dos produtos curados (LEITÃO, 1978). Adicionalmente, presume-se que a maior enumeração de coliformes após a

realização do embutimento seja em virtude da manipulação da massa do produto (MARQUES, 2006) após a colheita da amostra para análise microbiológica, constituída pela sua deposição e passagem pela embutideira, além do contato da massa com a tripa natural suína, que não foi submetida à análise microbiológica.

A redução permaneceu nas semanas seguintes no embutido estocado sob aerobiose, sendo que no último dia de análise (34^o) apresentou enumerações <3 NMP/g para coliformes totais e termotolerantes. Gonçalves e Otta (2008), também encontraram em hambúrguer frescal elaborado com carne de rã, enumerações de <3 NMP/g de coliformes termotolerantes, porém não especificaram em qual dia do processamento foi realizada a análise.

O embutido embalado em condições de anaerobiose na primeira amostra, que correspondeu ao 8^o dia de armazenamento, apresentou enumeração de 93 NMP/g. Esse valor foi maior em relação à amostra em aerobiose analisada no mesmo dia (8^o dia), que apresentou 43 NMP/g.

Houve uma diminuição no NMP/g de coliformes totais e termotolerantes nas amostras de embutido embalado tanto sob aerobiose quanto sob anaerobiose nas semanas seguintes, atingindo o valor de <3 NPM/g no 34^o dia de armazenamento. Entretanto, nas amostras mantidas sob anaerobiose essa diminuição ocorreu antecipadamente (já a partir do 16^o dia) enquanto que as amostras mantidas sob aerobiose essa enumeração somente foi atingida no 34^o dia de estocagem.

Ressalta-se a importância de se verificar a quantidade de coliformes nos alimentos, pois além de indicarem a contaminação fecal, também demonstram as condições higiênicas do processamento industrial, além de possíveis contaminações pós-processamento (FORSYTHE, 2005; FRANCO; KORNACKI; JHONSON, 2001). Assim, devido à baixa carga microbiana de coliformes encontrada, considera-se que tanto a matéria prima quanto a condição de higiene na elaboração do produto foram consideradas satisfatórias. Entretanto faz-se necessário pesquisar a presença de *Escherichia coli* no grupo de coliformes termotolerantes, a fim de se obter maiores informações sobre a inocuidade do produto elaborado.

TABELA 2. Número mais provável de coliformes totais e termotolerantes em amostras da massa temperada e de embutido fresco de carne de rã mantidas sob refrigeração em aerobiose e anaerobiose.

Identificação da amostra	Coliformes Termotolerantes (NMP/g)	Coliformes Totais (NMP/g)	Identificação da amostra	Coliformes Termotolerantes (NMP/g)	Coliformes Totais (NMP/g)
MASSA TEMPERADA	240	240	Embutido 01° DIA	460	460
AEROBIOSE 08° DIA	43	43	ANAEROBIOSE 08° DIA	93	93
AEROBIOSE 16° DIA	23	23	ANAEROBIOSE 16° DIA	<3,0	<3,0
AEROBIOSE 24° DIA	7,4	3	ANAEROBIOSE 24° DIA	<3,0	<3,0
AEROBIOSE 34° DIA	<3,0	<3,0	ANAEROBIOSE 34° DIA	<3,0	<3,0

4.2 Bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas

Na legislação brasileira (BRASIL, 2001) não há padrão de referência para contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas para embutidos a base de pescado, o que dificulta a avaliação das contagens obtidas. Entretanto, a quantificação de colônias deste grupo microbiano é importante pelo fato destes microrganismos serem indicadores de falhas na produção de alimentos (CARDOSO et al., 2015), principalmente no que se refere à má limpeza e desinfecção das superfícies, higienização inadequada dos manipuladores e condições inapropriadas de tempo e temperatura durante a produção e conservação dos alimentos (SIQUEIRA, 1995). No Japão, contagens acima de $1,0 \times 10^5$ UFC/g já caracterizam um produto que não é seguro para o consumo (KANEKO et al., 1999).

Na tabela 3 encontram-se as contagens de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas expressas em UFC/g e Log10 nas amostras analisadas. Considerando

como referência a contagem proposta por Kaneko et al. (1999) a amostra de embutido frescal no primeiro dia não estaria própria para o consumo.

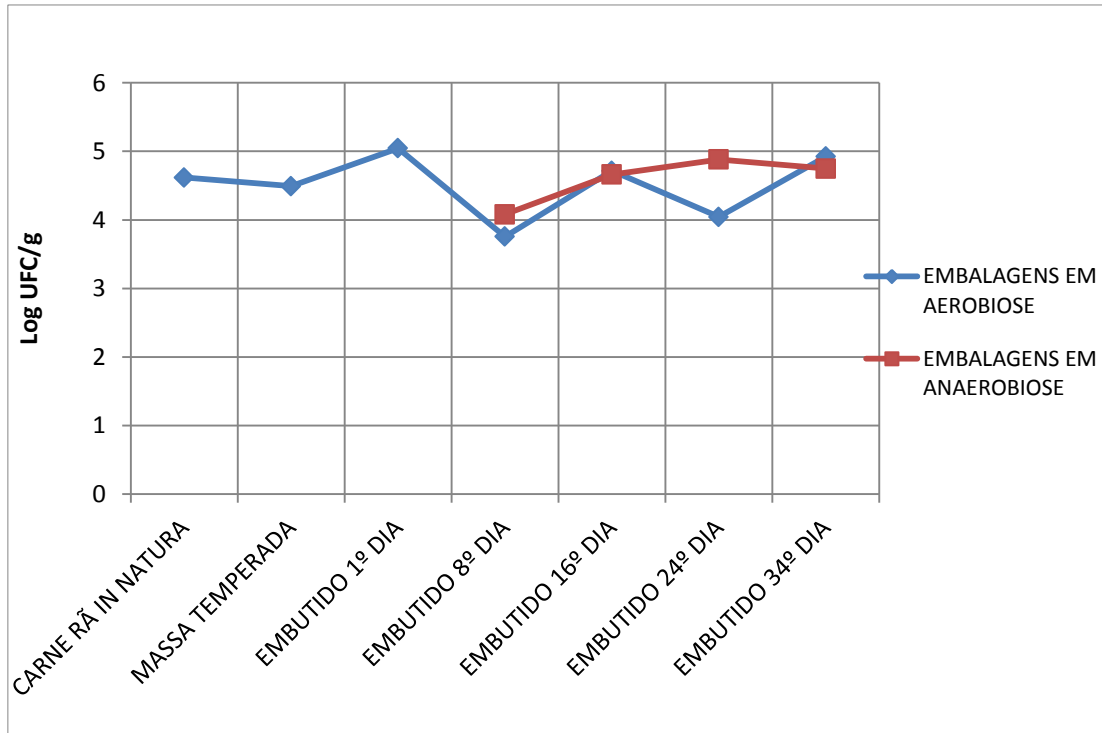
Rodrigues et al. (2014) encontraram contagens de $4,5 \times 10^4$ UFC/g em carne de rã *in natura* manipulada. Essa contagem está muito próxima àquela encontrada no presente trabalho que foi de $4,1 \times 10^4$ UFC/g, porém inferiores à contagem de referência anteriormente adotada. Melo et al. (2006) encontraram em carne de dorso e coxa de rã processadas em matadouros comerciais contagens de 5 e 6 Log UFC/g, contagens estas superiores às encontradas no presente trabalho, uma vez que a carne de dorso de rã, em virtude de ser bastante manipulada e apresentar maior superfície de contato, apresentará maiores contagens. Mais uma vez presume-se que o embutido de um dia apresentou maior contagem em relação à carne de rã *in natura* pelo fato de ter sido embutido em tripa natural, que não foi analisada microbiologicamente, apesar de ter sido previamente higienizada antes do uso, tendo sido deixada imersa durante 30 minutos em solução aquosa de ácido acético a 5%.

TABELA 3. Contagens de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas expressos em UFC/g e Log10 em carne de rã *in natura*, massa temperada para elaboração do embutido e embutido pronto estocado sob refrigeração embalado sob aerobiose e anaerobiose.

Identificação da amostra	UFC/g	Log10	Identificação da amostra	UFC/g	Log10
CARNE RÃ NATURA	$4,1 \times 10^4$	4,62	MASSA TEMPERADA	$3,1 \times 10^4$	4,49
EMBUTIDO 1 DIA	$1,1 \times 10^5$	5,04	ANAEROBIOSE 08° DIA	$1,2 \times 10^4$	4,08
AEROBIOSE 8° DIA	$5,7 \times 10^3$	3,75	ANAEROBIOSE 16° DIA	$4,6 \times 10^4$	4,66
AEROBIOSE 16° DIA	$5,2 \times 10^4$	4,72	ANAEROBIOSE 24° DIA	$7,6 \times 10^4$	4,88
AEROBIOSE 24° DIA	$1,1 \times 10^4$	4,04	ANAEROBIOSE 34° DIA	$5,6 \times 10^4$	4,75
AEROBIOSE 34° DIA	$8,4 \times 10^4$	4,92			

Avaliando a curva de crescimento deste grupo microbiano (figura 1) verifica-se que durante todo o tempo de estocagem as contagens mantiveram-se abaixo daquela estabelecida como limite segundo Kaneko et al. (1999).

FIGURA 1. Curva de crescimento de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (Log UFC/g) na matéria prima, massa e embutido nos dias de estocagem pós processamento: 8°, 16°, 24° e 34° dias, sob refrigeração, em embalagens aeróbias e anaeróbias.



4.3 Contagem de *Staphylococcus* e *Staphylococcus* coagulase positiva

Os resultados da contagem de *Staphylococcus* sp nas amostras analisadas estão relacionados na tabela 4.

TABELA 4. Contagens de bactérias *Staphylococcus sp.* em UFC/g e Log10 em carne de rã *in natura*, massa temperada para elaboração do embutido e embutido pronto estocado sob refrigeração embalado sob aerobiose e anaerobiose.

Identificação da amostra	UFC/g	Log10	Identificação da amostra	UFC/g	Log10
CARNE RÃ IN NATURA	4,00x10 ³	3,60	MASSA TEMPERADA	5,30x10 ³	3,72
EMBUTIDO 1º DIA	5,60x10 ³	3,75	ANAEROBIOSE 8º DIA	1,21x10 ⁵	5,08
AEROBIOSE 8º DIA	2,70x10 ⁵	5,43	ANAEROBIOSE 16º DIA	1,46x10 ⁴	4,16
AEROBIOSE 16º DIA	1,48x10 ⁵	5,17	ANAEROBIOSE 24º DIA	6,75x10 ²	2,83
AEROBIOSE 24º DIA	1,85x10 ²	2,28	ANAEROBIOSE 34º DIA	9,00x10 ⁴	4,95
AEROBIOSE 34º DIA	6,00x10 ⁵	5,78			

Para *Staphylococcus sp.*, as contagens variaram de 1,85x10² a 6x10⁵ UFC/g. Cunha et al. (2006) afirmam que elevadas contagens de bactérias do gênero *Staphylococcus sp.* podem indicar falhas nas boas práticas de manipulação, uma vez que manipuladores de alimentos podem ser portadores assintomáticos destes microrganismos, além de deficiências na higienização de equipamentos e utensílios utilizados durante a fabricação. Os referidos autores ainda enfatizam que contagens elevadas de *Staphylococcus sp.* são preocupantes do ponto de vista de saúde pública, pois a produção de enterotoxinas por microrganismos deste gênero, não produtores de coagulase, tais como *S. epidermidis*, *S. xylosus*, *S. hominis*, *S. haemolyticus* e *S. saprophyticus* tem sido relatada.

Foi observada a ausência de colônias típicas, que são colônias pretas brilhantes, com a presença de halo de lipólise delimitando a colônia de *Staphylococcus coagulase* positiva. A detecção de *Staphylococcus coagulase* positiva seria confirmada pela formação de coágulo no teste da coagulase associada à característica de serem produtoras de catalase e cocos gram positivos, esta última avaliada por meio da coloração pelo Método de Gram. Todas as amostras foram negativas para a prova da coagulase, mesmo após a formação de coágulos inespecíficos após reincubação; seis amostras foram negativas para o teste da catalase (aerobiose 8º, 16º, 34º dias, e anaerobiose 16º, 24º e 34º dias) e todas as amostras apresentaram cocos gram positivos.

Entretanto, os resultados encontrados no presente trabalho discordam

daquelas apresentados por Marques et al. (2012) em linguiça de tilápia, com contagens de 10^3 UFC/g para *Staphylococcus aureus*, Gonçalves e Otta (2008) em hambúrguer de carne de rã ($<10^2$ UFC/g) e Marques et al. (2006), que encontraram *Staphylococcus* coagulase positiva em 60% das linguiças frescas analisadas. Assim, segundo o critério microbiológico estabelecido pela RDC nº12 (BRASIL, 2001) para contagem de *S. coagulase* positiva (10^3 UFC/g), todas as amostras analisadas estão adequadas para o consumo humano.

4.4 Pesquisa de *Salmonella* sp.

As amostras da carne de rã *in natura*, massa temperada, embutido no 1º dia de armazenamento e no 16º dia de armazenamento sob aerobiose foram presuntivamente positivas para *Salmonella* sp. de acordo com os testes bioquímicos preliminares (em ágar TSI e LIA) e bioquímica complementar (tabela 5). Embora não tenha sido efetuada a realização de reação sorológica frente ao anti-soro polivalente "O", a fim de demonstrar presença de aglutinação (que denota resultado positivo para *Salmonella* sp.), baseado nas provas bioquímicas estas amostras são consideradas impróprias para o consumo segundo a RDC 12 (BRASIL, 2001), que estabelece ausência deste microrganismo em 25g de produto.

Com relação à carne de rã *in natura*, Barreira (2009) também verificou a presença de *Salmonella* sp. em 30% das amostras analisadas. Rodrigues et al. (1994) detectaram 97% de positividade para este patógeno em amostras de carne de rã procedente do comércio de Niterói-RJ e Yde et al. (1985) em 71% das amostras analisadas. Apesar de diferentes autores considerarem comum a presença de salmonela na matéria-prima crua, pois esta pode fazer parte da sua microbiota, deve-se considerar as condições higiênico-sanitárias do ranário, do estabelecimento de abate e da manipulação do alimento antes do consumo.

Com relação ao embutido já elaborado, a detecção deste patógeno no primeiro e décimo sexto dia sob aerobiose discorda dos achados relatados por Gonçalves e Otta (2008) em hambúrguer de carne de rã, Marques et al. (2012) em linguiça de tilápia, Marques et al. (2006) em linguiças frescas, cujos autores não encontraram *Salmonella* sp. nas amostras analisadas.

A justificativa quanto à presença da *Salmonella* sp. no 16º dia de

armazenamento em aerobiose e ausência no 8º dia de armazenamento em aerobiose pode ser devido à habilidade que a *Salmonella* sp. tem para multiplicar em extremos temperaturas que podem variar entre 5°C a 46°C, podendo ainda sobreviver por longos períodos em determinados alimentos, como por exemplo, nos congelados. Cada sorovar apresenta uma adaptabilidade diferente e comportamento diferente no ambiente, segundo o Manual Técnico de Diagnóstico Laboratorial de *Salmonella* sp. do Ministério da Saúde (BRASIL, 2011).

TABELA 5. Comportamento da *Salmonella* sp. nos testes preliminares (TSI e LIA) e complementares bioquímicos em amostras de carne de rã in *natura*, massa temperada, embutido no 1º e embutido mantido sob refrigeração em aerobiose no 16º dia.

Identificação da Amostra	UREIA	CITRATO	VP	VM	SIM	TRIPTONA	LIA	TSI
MASSA TEMPERADA	P	P*	P	P	P*	P	P*	P*
CARNE RÃ NATURA	P	P*	P	P	P*	P	P*	P*
EMBUTIDO 1º DIA	P	P*	P	P	P*	P	P*	P*
AEROBIOSE 16º DIA	P	P	N	P	P	P	P	P

(P= positivo para *Salmonella* sp.; N= negativo para *Salmonella* sp.; *presença da produção de H₂S)

4.5 Bolores e Leveduras

Verifica-se que as amostras apresentaram um aumento na contagem em placa de bolores e leveduras ao longo dos dias de armazenamento (tabela 6), tanto em aerobiose quanto em anaerobiose (figura 2). Inicialmente o embutido no 1º dia de armazenamento apresentou 1 Log UFC/g e no 34º dia de armazenamento em aerobiose apresentou 5,9 Log UFC/g. O aumento também ocorreu nas amostras em anaerobiose que inicialmente apresentaram no 8º dia de armazenamento 3 Log UFC/g e no 34º dia de armazenamento 4,3 Log UFC/g. Constata-se que embutidos acondicionados em embalagens sob aerobiose apresentaram contagens maiores que as embalagens sob anaerobiose.

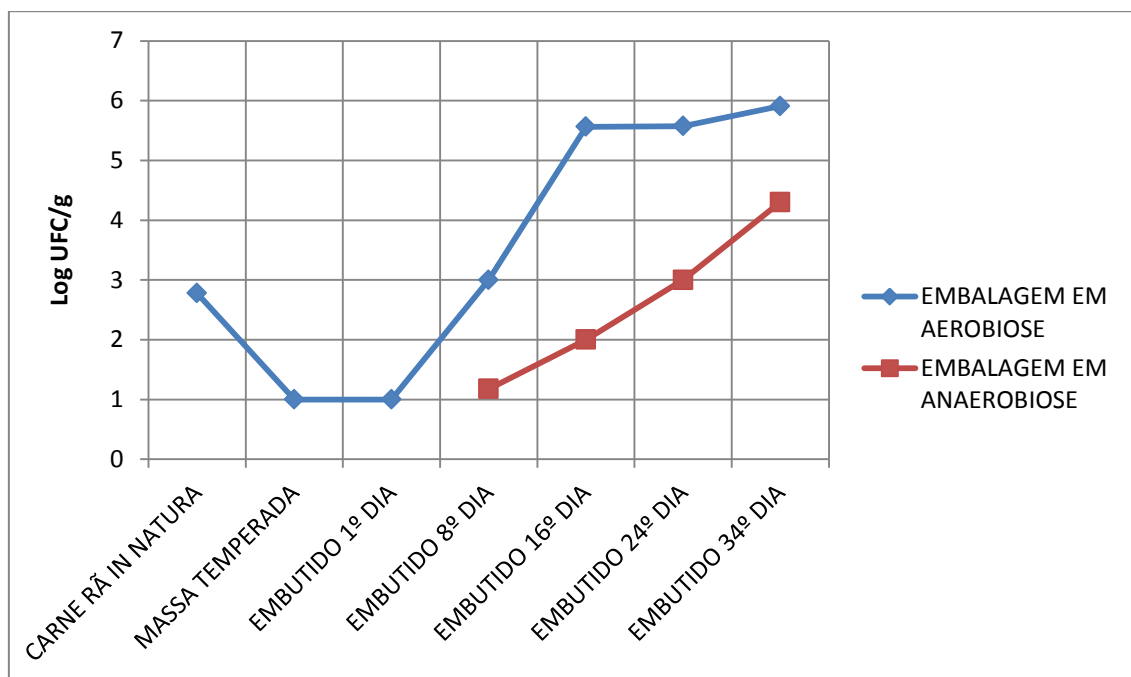
Malavota et al. (2006) constataram diminuição do crescimento de bolores e leveduras durante o armazenamento de linguiça de frango fresco utilizando embalagens com atmosfera modificada (100%CO₂) e concluíram que essa metodologia de conservação possibilitou um aumento da vida útil do produto, uma vez que este grupo de microrganismos são aeróbios. Os valores encontrados pelos autores supracitados, após avaliarem o produto armazenado por 19 dias, são próximos daqueles encontrados no presente trabalho, que foram 2,3 e 6 Log UFC/g no primeiro dia de avaliação e último respectivamente nas amostras em aerobiose; e 2,3 e 5,6 Log UFC/g no primeiro e último dia de avaliação respectivamente nas amostras em anaerobiose.

Contagens elevadas destes microrganismos, segundo Franco e Landgraf (2003), além de reduzir a validade comercial devido ao seu alto poder de deterioração, resultando em rejeição do produto devido a alterações sensoriais, podem representar um risco à saúde coletiva devido à produção de metabólitos tóxicos por algumas espécies de bolores.

TABELA 6. Contagens de bolores e leveduras expressos em UFC/g e Log10 em carne de rã *in natura*, massa temperada para elaboração do embutido e embutido pronto estocado sob refrigeração embalado sob aerobiose e anaerobiose.

Identificação da amostra	UFC/g	Log10	Identificação da amostra	UFC/g	Log10
CARNE RÃ <i>IN NATURA</i>	6,00x10 ²	2,78	MASSA TEMPERADA	1,00x10 ¹	1
EMBUTIDO 01º DIA	1,00x10 ¹	1	ANAEROBIOSE 08º DIA	1,00x10 ³	3
AEROBIOSE 08º DIA	1,00x10 ³	3	ANAEROBIOSE 16º DIA	1,00x10 ²	2
AEROBIOSE 16º DIA	3,65x10 ⁵	5,56	ANAEROBIOSE 24º DIA	1,00x10 ³	3
AEROBIOSE 24º DIA	3,75x10 ⁵	5,57	ANAEROBIOSE 34º DIA	2,00x10 ⁴	4,30
AEROBIOSE 34º DIA	8,10x10 ⁵	5,91			

FIGURA 2. Curva de crescimento de bolores e leveduras (Log UFC/g) na matéria prima, massa e embutido nos dias de estocagem pós processamento: 8°, 16°, 24° e 34° dias, sob refrigeração, em embalagens aeróbias e anaeróbias.



5 CONCLUSÃO

As enumerações de coliformes totais e termotolerantes, em geral, foram baixos tanto na carne de rã quanto no embutido. Entretanto, embutidos acondicionados em embalagens em anaerobiose apresentaram uma redução maior da população microbiana ao longo do tempo de estocagem. Com relação às contagens de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas, apenas o embutido analisado no primeiro dia apresentou contagens mais elevadas. Todas as amostras estavam conformes por não ter sido evidenciada a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva. Quatro amostras estavam não conformes com a legislação por ter sido detectada a presença de *Salmonella* sp. presuntivamente, o que coloca em risco a saúde do consumidor. Amostras acondicionadas em anaerobiose

apresentaram menores contagens de bolores e leveduras durante todo o tempo de estocagem.

Comparativamente verificou-se que embutidos acondicionados em embalagens sob anaerobiose apresentaram menores contagens microbianas e conseqüentemente, melhor qualidade microbiológica, fator relevante para aumentar a vida de um alimento. Contudo, deve-se ressaltar que a vida útil de um alimento não pode ser determinada somente do ponto de vista microbiológico, mas também pelas suas características físico-químicas e sensoriais, as quais não foram alvo de estudo no presente trabalho.

6 REFERÊNCIAS

AFONSO, A. M. Ranicultura se consolida com cadeia produtiva operando em rede interativa. **Revista Visão Agrícola**, v. 11, p. 33-35, 2012.

ALFANI, R. Ocorrência de *Salmonella* sp. em carcaças e vísceras de rãs (*Rana catesbeiana*-Rã de Touro): avaliação do processo de abate. **Dissertação** Mestrado, Universidade Estadual Paulista Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2007.

ANDREWS, W. H.; WILSON, C. R.; POELMA, P. L.; ROMERO, A. Comparison of methods for the isolation of *Salmonella* from imported frog legs. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 33, n.1, p.65-68. jan. 1977.

ANUALPEC. **Anuário da Pecuária Brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio. 2000, 392p.

APHA – American Public Health Association. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4ª ed. Washington, 2001. 1219p.

BEZERRA, J. A. **Ranicultura: Salto de qualidade**. Globo Rural On Line. Disponível em: <<http://globorural.globo.com/barra.asp?d=/edic/189/repa.htm>>. Acesso em: 23 de Junho de 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto n° 9.013, de 29 de março de 2017. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de origem Animal. **Diário Oficial da União**, Brasília, 30 de março de 2017.

BRASIL. 1993. Portaria IBAMA n° 95 de 30 de agosto de 1993

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa n° 4, de 31 de março de 2000. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e de qualidade de linguiça. **Diário Oficial da**

União, Brasília, 30 de março de 2000, Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água (MAPA). **Diário Oficial República Federativa do Brasil, Brasília**, DF, p. 14, 18 set. 2003. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Técnicas de abate de rãs, como perspectivas de um melhor aproveitamento higiênico- sanitário dos produtos obtidos. Informativo técnico 86/87. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 12 p.

CANHOS, D. A. L., DIAS, E. L. **Defumação. Tecnologia de Carne Bovina e Produtos Derivados**, 2:311-323, 1983.

CARVALHO, L. T. et al. Diagnóstico da competitividade na cadeia produtiva de carne de rã-touro no Estado do Rio de Janeiro. **Tese de Doutorado**. Viçosa, MG, 2011.

CASALI, A. P.; MOURA, O. M.; LIMA, S. L. Rações comerciais e o rendimento de carcaça e subprodutos de rã-touro. **Ciência Rural**, v.35, n.5, p. 1172-1178, 2005.

CORRÊA, A. L. S. Avaliação composicional de diversas espécies de rãs e efeitos de armazenamento a 18°C, sobre frações proteicas e lipídicas do músculo de rã touro (*Rana catesbeiana*). Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, 1988. 123 p. 1988. **Tese de Doutorado**. Universidade Estadual de Campinas, 1988.

COSTA, G. O.; DELPRETE, S. E. M.; SILVA, S. G.; FREGULHIA, L. M. C.; OLIVEIRA, A. Q.; OLIVEIRA, H. S.; BULHÕES, L. V.; BULHÕES, S. S. **Perfil dos consumidores alegreses quanto à carne de rã**. Disponível em <<http://abz.org.br/trabalhos/perfil-dos-consumidores-alegreses-quanto-carne-de-ra/>> acesso em junho de 2017.

CRIBB, A. Y.; AFONSO, A. M.; MOSTÉRIO, C. R. F. **Manual técnico de ranicultura**. Rio de Janeiro: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2013. 73p.

DA FRANCA, D. A. M. et al. Avaliação físico-química de lasanha de carne de rã-touro (*Rana catesbeiana*) em duas formulações. **Caderno Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 1, n. 1, 2011.

DE ALIMENTOS, Embrapa Agroindústria. O consumo de carne de rã: caracterização, tendências e perspectivas. 2009.

DE LIMA SILVA, M. **Efeito de dois métodos de cocção-água e vapor-nos parâmetros de qualidade do músculo semitendinosus**. 2004. Tese de Doutorado.

BARREIRA, V. B. Análise bacteriológica da carne de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*) comercializada no município do Rio de Janeiro, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal Fluminense, 2009.

DEAN, A.G.; DEAN, J.A.; BURTON, A.H.; DICKER, R.C. EpiInfo, version 6.04: a word processing database and statistics program for epidemiology on micro-computers. Center for Disease Control, Atlanta, Georgia, USA. 2001. Disponível em <<http://www.ufv.br/dta/ran/industria.htm>>. Acessado em 21 de Setembro de 2016.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. 2009 Species-specific welfare aspects of the main systems of stunning and killing of farmed fish: rainbow trout. *The EFSA Journal*, v. 1013, p.1-55

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de alimentos**. 2ª edição, São Paulo: Atheneu; 2001

FAVIER, J. C. et al. **Répertoire général des aliments: table de composition**.

FEIX, R. D.; ABDALLAH, P. R.; CHIM, M. R. F. Resultado econômico da criação de rã em regiões de clima temperado, Brasil. **Informações Econômicas**, SP, v.36, n.3, mar. 2006.

FONSO, A. M. A carne de rã como Alimento Funcional. Disponível em:<<http://www.deliciasdara.com.br> > Acesso em: 03 de janeiro de 2013.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. ArtMed Editora, 2013.

FUNDAÇÃO INSTITUTO DE PESCA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO - FIPERJ. **Aquicultura/Ranicultura**. Disponível em: <<http://www.fiperj.rj.gov.br/index.php/aquicultura/ranicultura>>. Acesso em 4 de Agosto. de 2016.

FURTADO, A. A. L.; DELLA MODESTA, R. C. Aceitabilidade da carne de rã desfiada em conserva. **Embrapa Agroindústria de Alimentos-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2006.

FZEA-USP. **Rã**, 2003. Disponível em<<http://www.criareplantar.com.br/aquicultura/textos.php?id=53> >. Acesso em 10 de outubro de 2016.

GARCIA, C. A. ; SILVA, N. R.; APPOLINÁRIO, A. V. M. pH de carne de rãs Touro Gigante(*Rana catesbeiana*, Shaw). **Higiene Alimentar**, v.13, n. 66/67, p. 77-80, nov./dez., 1999.

GUEDES, W.; LOPES, M.; AFONSO, A. M.; SANTOS, I. F.; PARDI, H. S.; GUERREIRO, L.; MANO, S. B. Estudo comparativo da insensibilização por dióxido de carbono em rãs - *Rana catesbeiana*. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**, 18, 2002, Porto Alegre. *Anais...* Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2002. CD-ROM.

HIPOLITO, M. et al. Observações de Lesões *post-mortem* em rãs-touro (*Rana*

catesbeiana (SHAW, 1802) abatidas comercialmente no Estado de São Paulo, Brasil. **Arquivos do Instituto de Biológico**, v.71, n.2, p. 237-241, 2004.

HIPOLITO, M. Profilaxia e doenças de rãs. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE PATOLOGISTAS DE ORGANISMOS AQUÁTICOS, 6. & ENCONTRO LATINO-AMERICANO DE PATOLOGISTAS DE ORG. AQUÁTICOS, 2., 2000, Florianópolis. Resumos. Florianópolis: ABRAPOA, 2000. p. 232

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

JUNQUEIRA, V. C. A. Avaliação da incidência de *Clostridium botulinum* e da produção de toxina em mortadela e presunto. 1994. 100f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos)–Universidade Estadual de Campinas.

KANEKO, K. et al. Bacterial Contamination of Ready-to-eat Foods and Fresh Products in Retail Shops and Food Factories. **Journal of Food Protection**, Iowa, v. 62, n°. 6, p. 644-649, 1999.

LEITÃO, M. F. F. Microrganismos patogênicos na carne e derivados. Boletim do ITAL, Campinas, v. 59, p.15-48, 1978.

LIMA, S. L. et al. **Ranicultura: análise da cadeia produtiva**. 1999.

LIMA, S. L., AGOSTINHO, C. A. **A criação de rãs**. Rio de Janeiro: Globo, 1989. 187p

LIMA, S. L., AGOSTINHO, C. A. **A tecnologia de criação de rãs**. Viçosa, MG, UFV, Impr. Univ., 1992. 168 p.

LIMA, S. L.; CASALI, A. P.; AGOSTINHO, C. A. Desempenho zootécnico e percentual de consumo de alimento de rã-touro (*Rana catesbeiana*) na fase de recria (pós metamorfose) do Sistema Anfigranja. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.3, p.505- 511, 2003.

LIMA, S. L.; MOURA, O. M.; RAMOS, E. M. **Ranicultura**, 2000. Universidade Federal de Viçosa. Disponível em: < <http://www.ufv.br/dta/ran/index.htm> > Acesso em: 25 outubro de 2016.

LIMA, S. L.; TEIXEIRA, R. D.; COSTA, M. Desenvolvimento de Pratos Prontos a Base de Carne de Rã (in sous vide). São Paulo: Workshop GI-Pescado: “Inovações Tecnológicas e Valor Agregado na Tecnologia do Pescado: Pesquisas Brasileiras”. 2006.

LINDAU, C. F.; NOLL, I. B. Determinação do valor nutritivo da carne de rã. Encontro Nacional de Ranicultura, 6., 1998, Rio de Janeiro. **Anais...**, 1998. p. 43-50.

LOAIZA, J. F. U. **Avaliação físico-química, microbiológica e sensorial de carne de rã (*Rana catesbeiana*) estocada sob refrigeração e congelamento**. 1996. 112p. 1996. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

LONGO, A. D. Manual de Ranicultura: uma nova opção de pecuária. 1. ed. Rio de Janeiro: Ediouro do campo, 1987.

MADEIRA, M.; FERRÃO, M. E. M. **Alimentos conforme a lei**. Editora Manole Ltda, 2002.

MADRID, A. et al. Manual de indústria dos alimentos. São Paulo, Livraria: Varela p.519-530. Ano 1995

MARQUES, L. F. et al. Avaliação da qualidade de linguiça de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Semiárido De Visu**, v. 2, n. 1, p. 202-209, 2012.

MELLO, S. C .R. P.; MANO, S.;FRANCO,R. M.; PARDI, H. S.; PESSANHA, L. S.; SANTOS, I. F. Avaliação bacteriológica e físico-química da polpa e dorso de rã obtida por separação mecânica. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 9, n. 1, p. 39-48, 2006.

MERCK, 2002, modificado por: FRANCO, R. M.; LEITE, A. M. O. **Enumeração e identificação de *Enterococcus spp.* e cepas de *Escherichia coli* patogênico em coxas de frango e estudo da atividade antimicrobiana das cepas isoladas**. XIV Seminário de Iniciação Científica e Premio UFF Vasconcellos Torres de Ciência e Tecnologia, 2005. 07-11 novembro de 2005 – CD – Classificado entre os melhores trabalhos científicos da área de Ciências Agrárias.

MOELLER, P., LINDER, D. **How smoking has been made simple. Meat Processing**, 1996

MONDINI, L.; MONTEIRO, C. A. Mudanças no padrão de alimentação da população urbana brasileira (1962-1988). **Revista de Saúde Pública**, v. 28, n. 6, p. 433-439, 1994.

MOURA, M. O. A carne de rã como matéria-prima e seu uso em produtos derivados. **Boletim Técnico do Instituto de Pesca**. São Paulo: Instituto de Pesca, n. 34, p. 68-73, 2003.

MOURA, O. M. de; RAMOS, E. M. **Ranicultura / Industrialização: abate e produtos**.

MOURA, O. M. et al. Efeito de métodos de insensibilização e sangria sobre características de qualidade da carne de rã-touro e perfil das indústrias de abate. 1999.

NÓBREGA, I. C. C.; ATAÍDE, C. S.; MOURA, O. M.; LIVERA, A. V.; MENEZES, P. H. Volatile constituents of cooked bullfrog (*Rana catesbeiana*) legs. **Food Chemistry**, v. 102, p. 186-191, 2007.

Portaria IBAMA nº 95- N(30 de agosto de 1993). Estabelecer normas para o registro de Aquicultor no Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis- Ibama. Brasília: IBAMA

PRABHU, P.V.; NAIR, A.L.; NAIR, K.G. Frog waste utilization. World Conference on Trade in Froglegs, 1., 1986. **Proceedings**..., 1986, p. 57-61.

RAMOS, E. M. Efeito de diferentes métodos de abate sobre o desenvolvimento do Rigor mortis e qualidade da carne de rã-touro (*Rana catesbeiana*, Shaw 1802). **Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)** – Universidade Federal de Viçosa, 2004, 182p.

RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. M.; FONTES, P.R.; RAMOS, A. L. S. ; PETERNELLI, L. A. Meat color evaluation and pigment levels in bullfrog (*Rana catesbeiana*) slaughtered by different methods. **Aquaculture**, v. 245, n.2005, p. 175-182, 2005.

ROÇA, R. O. Microbiologia da carne. **UNESP**, 2004.

RODRIGUES, D. dos P. Ecologia e prevalência de Salmonella spp. em aves e material avícola no Brasil. In: **Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas**. Campinas: FACTA, 2005.

RODRIGUES, R. L.; LEITE, M. O.; FRANCO, R. M.; OLIVEIRA, L. A. T. Avaliação bacteriológica de carne de rã (*Leptodactylus* sp.) congelada, comercializada em Niterói, RJ. **Higiene Alimentar**, v. 8, n. 31, p. 19-24, 1994.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; ALVES, R. V.; OLIVEIRA, L. M.; GOMES, T. **Embalagens com atmosfera modificada**. Campinas:CETEA/ITAL, p. 114. Ano 1998.

SCHWERT, R. **AVALIAÇÃO DO USO DE FUMAÇA LÍQUIDA EM LINGUIÇA TIPO CALABRESA COZIDA E DEFUMADA**. 2014. Tese de Doutorado. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões.

SILVA, J. A.; AZEVEDO, G. A.; BARROS, C. M. R. Incidência de bactérias patogênicas em carne de frango refrigerada. **Higiene Alimentar**, v. 16, n.100, p. 97-101, 2002.

SILVA, H. L. A. Carne de dorso de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*) desfiada: radiação Ultravioleta de ondas curtas(UV-C) e análise sensorial. **Dissertação**, Universidade Federal Fluminense, 2014.

SILVA, N. R.; OLIVEIRA, L. A. Ocorrência de *Salmonella* na carne de rã (*Rana catesbeiana*, Shaw–1803). **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 8, n. 31, p. 36-40, 1994.

SOUZA, L. H. L. A manipulação inadequada dos alimentos: fator de contaminação. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 20, n. 146, p. 32-39, set. 2006.

SOUZA, S. S. **Alimentos seguros: orientações técnicas**. São Paulo,. Secretaria Municipal da Saúde .Coordenação de Vigilância em Saúde, Gerência de Comunicação e Educação,2004.

STUMBO, C. R. **Thermo-Bacteriology in Food Processing**. 1965.

VIZOTTO, L. D. **Ranicultura brasileira. Boletim da Associação Nacional de Ranicultura**, n. 4. 1986.