

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CÂMPUS DE ARAÇATUBA**

**CONTROLE DE *Salmonella* sp. EM CARÇAÇAS DE
FRANGO PELO USO DE DESCONTAMINANTES
QUÍMICOS DURANTE O PROCESSO DE ABATE E AS
CONSEQUÊNCIAS NA QUALIDADE DA CARNE**

Juliana Pampana Nicolau

Médica Veterinária

ARAÇATUBA – SP
2016

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CÂMPUS DE ARAÇATUBA**

**CONTROLE DE *Salmonella* sp. EM CARÇAÇAS DE
FRANGO PELO USO DE DESCONTAMINANTES
QUÍMICOS DURANTE O PROCESSO DE ABATE E AS
CONSEQUÊNCIAS NA QUALIDADE DA CARNE**

Juliana Pampana Nicolau

Orientadora: Prof^a Dr^a Elisa Helena Giglio Ponsano

Coorientador: Prof. Dr. Marcos Franke Pinto

Tese apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária – Unesp, Campus de Araçatuba, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutora em Ciência Animal (Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal).

ARAÇATUBA – SP
2016

Catálogo na Publicação(CIP)
Serviço de Biblioteca e Documentação – FMVA/UNESP

Nicolau, Juliana Pampana

N543c

Controle de Salmonella Sp. Em carcaças de frango pelo uso de descontaminantes químicos durante o processo de abate e as consequências na qualidade da carne. / Juliana Pampana Nicolau.

Araçatuba: [s.n], 2016

68 f. il.; CD-ROM

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária, 2016

Orientador: Profa. Dra. Elisa Helena Giglio Ponsano

Coorientador: Prof. Dr. Marcos Franke Pinto

1. Ácido láctico 2. Carne de Frango 3. Contaminação microbiológica 4. Hipoclorito de sódio 5.Ozônio. I. T.

CDD 636.5



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Controle de *Salmonella* sp. em carcaças de frango pelo uso de descontaminantes químicos durante o processo de abate e as consequências na qualidade da carne

AUTORA: JULIANA PAMPANA NICOLAU
ORIENTADORA: ELISA HELENA GIGLIO PONSANO
CO-ORIENTADOR: MARCOS FRANKE PINTO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIÊNCIA ANIMAL, área: Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal pela Comissão Examinadora:

Profª. Dra. ELISA HELENA GIGLIO PONSANO
Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba - UNESP

Profª. Dra. MARIA LUIZA POIATTI
Curso de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena - UNESP

Profª. Dra. ANDRÉA FONTES GARCIA
Centro Universitário Católico Salesiano Auxilium - UniSALESIANO de Araçatuba

Dra. FLÁVIA LOMBARDI LOPES
Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba - UNESP

Prof. Dr. MARCELO VASCONCELOS MEIRELES
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba - UNESP

Araçatuba, 28 de junho de 2016.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

JULIANA PAMPANA NICOLAU – Nascida em Marília, Estado de São Paulo, em 08 de junho de 1982. Realizou o ensino fundamental em escolas públicas de Campo Grande-MS e Marília-SP e o ensino médio em escolas pública e particular de Marília-SP. Ingressou no curso de Medicina Veterinária pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Unesp, em 2003 e formou-se no ano de 2007. Realizou estágio de iniciação científica junto à disciplina de Higiene de Inspeção e Produtos de Origem Animal, em 2006. Em 2007, realizou estágios curriculares em frigorífico de bovinos (antigo Bertin Ltda.) e na área de Inspeção Sanitária de Alimentos, junto ao Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública da Unesp, campus de Botucatu. Foi contratada pela empresa Bertin Ltda., em agosto de 2007, onde exerceu os cargos de Auditora Interna, Chefe de Controle de Qualidade e Consultora Interna, no período de agosto de 2007 a outubro de 2010. Fixou-se nas cidades de Lins-SP e Naviraí-MS, e auditou e auxiliou em auditorias externas as unidades da empresa nos Estados de São Paulo, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás, Minas Gerais, Bahia, Pará, Rondônia e Acre. Pela empresa, obteve os treinamentos em Auditor Interno HACCP (*Hazard Analysis and Critical Control Points*) e Auditor Interno da Norma ISO 22000. Na empresa, realizou treinamentos em HACCP, Boas Práticas de Fabricação, Procedimento Padrão de Higiene Operacional e Bem-estar Animal de Bovinos. Em 2011, ingressou na Pós-graduação em Ciência Animal, na UNESP – Campus de Araçatuba, na área de Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal, concluindo o Mestrado em 2012 e iniciando o Doutorado em 2013. Atualmente, ministra aulas na Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE, em Presidente Prudente-SP, nas disciplinas de Higiene e Inspeção, Tecnologia de Produtos de Origem Animal, Tecnologia de Alimentos, Microbiologia Veterinária, Avaliação e Tipificação de Carcaças e Profilaxia e Higiene Zootécnica, nos cursos de Medicina Veterinária, Zootecnia e Nutrição.

EPÍGRAFE

“Agradeço todas as dificuldades que enfrentei; não fosse por elas, eu não teria saído do lugar. [...] É exatamente disso que a vida é feita: de momentos! Momentos os quais temos que passar, sendo bons ou não, para o nosso próprio aprendizado, por algum motivo. Nunca esquecendo do mais importante: nada na vida é por acaso...”

Francisco Cândido Xavier

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais: meus exemplos de amor, de carinho e de cuidado. Apoio incondicional aos cinco filhos gerados e criados com amor. Alicerce sólido que me acalma a alma em todas as situações da vida.

À minha irmã e aos meus irmãos, às minhas cunhadas e ao meu cunhado: exemplos de fraternidade, corações sempre unidos, mãos dadas em qualquer situação. O alicerce só tem sentido se os tijolos estiverem unidos.

Às minhas sobrinhas e aos meus sobrinhos: colorem e perfumam minha vida! Meu coração se enche de alegria só de estar perto de vocês! Minha felicidade!

À Nina, minha filhota canina, que me enche de amor, assim como a Belle fez um dia.

Família, a vocês dedico este trabalho... Como já escrevi outra vez: meu amor por vocês é tão grande que não cabe na alma... transborda nos meus olhos e se estica nos meus sorrisos.

AGRADECIMENTOS

A Deus e ao universo, pela vida, proteção e boas energias.

Agradecimento especial à Profª Drª Elisa Helena Giglio Ponsano: extremamente competente e profissional. Mas o meu agradecimento é, sobretudo, ao ser humano por trás da profissional dedicada: Professora, obrigada pelos ensinamentos de vida, obrigada pela amizade e pela sensibilidade, me ajudando a crescer e a passar pelos momentos mais difíceis podendo contar com seu carinho e cuidado. Sou eternamente grata a você.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Marcos Franke Pinto, pela amizade, elaboração e organização do projeto (e da minha cabeça), transmissão de conhecimentos e pela confiança depositada em mim desde a graduação.

Ao Prof. Manoel Garcia Neto, à Profª Sílvia Helena Venturoli Perri e ao Prof. Marcelo Vasconcelos Meireles por todas as dúvidas tiradas e toda a ajuda durante o caminho.

Ao Prof. Max José de Araújo Faria Júnior e à Profª Flávia Lombardi Lopes pelas contribuições no julgamento do meu Exame de Qualificação.

À toda a equipe do Laboratório de Alimentos da FMVA, por toda a cooperação, bons momentos e até resgate da doutoranda travada da coluna e estirada no chão. A cada um de vocês, meu carinho especial e gratidão.

Às funcionárias da biblioteca da FMVA, Isabel Pereira de Matos e Fátima Maria Metello Bertolucci.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, campus de Araçatuba, pela oportunidade de realização do curso de Doutorado.

À Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, por me acolher tão bem e me proporcionar desafios, ganhando um grande espaço na minha vida.

Aos meus queridos alunos que tanto me enriquecem e me ensinam, à confiança que depositam em mim todos os dias.

À Profª Drª Alessandra Ferreira Ribas e Prof. Dr. Arturo Pardo Lozano, pois sem nosso “Triozinho Agrárias”, os dias de trabalho não teriam a mesma graça e mesma doçura.

À Profª Drª Marilice Zundt Astolphi por me conduzir pelos melhores caminhos e confiar tanto em mim e ao Prof. Dr. Gustavo do Valle Polycarpo por toda a ajuda profissional e emocional nessa fase final.

Às coordenadoras dos cursos de Medicina Veterinária e Zootecnia da Unoeste: Ana, Glaucia, Rosa e Marilda. Vocês fazem com que o meu carinho pela universidade aumente a cada dia. Obrigada pela amizade e confiança de sempre.

À Sueli, do Hotel Escola, por cuidar de mim e até da minha alimentação. À Magali, secretária da Unoeste, por sempre me lembrar que eu preciso levantar um pouco da mesa de trabalho. Afinal, comer também é necessário.

À eterna Rep. Gaiola: Thais M. Menegheti, Juliana Stephani de Souza, Thainá Landin de Barros e Cynara M. N. A. Pacheco. Não somos somente amigas, viramos uma família, laços que jamais serão rompidos.

À Ana Carolina Martinez Albuquerque pelo abrigo, convivência e momentos tão especiais de amizade, regados a filmes, música, comida e café.

À Priscila Dalmagro, que aprendeu a abater frangos e fazer todas as análises para me ajudar, sempre com bom humor. Obrigada pela amizade e companheirismo de sempre.

Às minhas primas e minhas amigas, pela presença marcante, carinho, confiança, incentivo e amizade. Camila, Thaísa, Anili, Lídia, Suelen, Tatiani, Francyni, Cimara, Fabiane, Léa, Christiane, Isabella, Fernanda, Laura e Samira, obrigada por entender a minha ausência em muitos momentos durante esses anos. Apesar dessa ausência, vocês estão sempre presentes nos meus pensamentos.

À minha afilhada, Luísa, que me faz feliz em cada encontro, ligação ou áudio.

Às minhas tias que estiveram presentes com café da tarde, visitas em casa, mensagens de bom dia e de incentivo.

À cidade de Ourinhos, que me proporcionou novos ares e agradáveis vizinhos.

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), pelo financiamento deste projeto (2013/22340-8) e ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pela concessão da bolsa de estudos.

A todas as pessoas que passaram pela minha vida neste período e, de alguma forma, contribuíram com bons momentos.

Aos produtores de café, banana, melão e farinha para bolo, que permitiram que minha mãe e minha orientadora amenizassem e alimentassem minhas longas horas de estudo e pesquisa.

SUMÁRIO

	Página
SUMÁRIO.....	
LISTA DE FIGURAS.....	
LISTA DE TABELAS.....	
RESUMO.....	
SUMMARY.....	
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	16
1 INTRODUÇÃO.....	16
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1 <i>Salmonella</i>	17
2.1.1 A bactéria como causadora de infecção alimentar.....	17
2.1.2 Taxonomia da <i>Salmonella</i>	18
Morfologia e características gerais de crescimento da <i>Salmonella</i>	19
Características da doença e espécie prevalente no Brasil.....	20
2.2 Operações utilizadas no abate de frangos.....	21
2.3 Utilização de sanitizantes nas carcaças de animais.....	21
2.4 Modo de ação dos sanitizantes.....	23
2.4.1 Hipoclorito de sódio.....	23
2.4.2 Ozônio.....	23
2.4.3 Ácido láctico.....	24
2.5 Atributos de qualidade da carne de frango.....	24
2.5.1 pH.....	24
2.5.2 Rancidez.....	25
2.5.3 Cor.....	25
2.5.4 Sabor.....	26
REFERÊNCIAS.....	27
CAPÍTULO 2 – CONTROLE DE <i>Salmonella</i> sp. EM CARCAÇAS DE FRANGO PELO USO DE DESCONTAMINANTES QUÍMICOS DURANTE O PROCESSO DE ABATE.....	33
1 INTRODUÇÃO.....	35
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	37
2.1 Bactéria utilizada.....	38
2.2 Preparação do inóculo.....	38
Contaminação das carcaças durante os procedimentos de abate.....	39

2.4 Aplicação dos tratamentos.....	39
2.5 Recuperação do patógeno das carcaças.....	40
2.6 Identificação de <i>Salmonella</i> spp.....	40
2.7 Descarte das carcaças contaminadas.....	41
2.8 Análise estatística dos resultados.....	41
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
4 CONCLUSÕES.....	46
REFERÊNCIAS.....	47
CAPÍTULO 3 – EFEITOS DO USO DE DESCONTAMINANTES QUÍMICOS EM CARÇAÇAS DE FRANGOS E SUAS CONSEQUÊNCIAS PARA A QUALIDADE DA CARNE.....	
1 INTRODUÇÃO.....	52
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	54
2.1 Determinação de pH.....	55
2.2 Determinação de rancidez.....	58
2.3 Determinação da cor.....	58
2.4 Análise sensorial.....	58
2.5 Análise estatística dos resultados.....	60
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	60
4 CONCLUSÕES.....	69
REFERÊNCIAS.....	70

LISTA DE ABREVIATURAS

- a* = Intensidade de vermelho/verde
- ABPA = Associação Brasileira de Proteína Animal
- AL = Ácido láctico
- ANVISA = Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- b* = Intensidade de amarelo/azul
- EFSA = European Food Safety Authority
- E.U. = European Union
- FAO = Food and Agriculture Organization of the United Nations
- FSIS = Food Safety and Inspection Service
- HOCl = Ácido hipocloroso
- HS = Hipoclorito de sódio
- L* = luminosidade
- MAPA = Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
- NCI = National Cancer Institute
- NRC = National Research Council
- Oz = Ozônio
- PCR = Polimerase Chain Reaction
- = Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health
- TBARS = Thiobarbituric Acid Reactive Substances
- USDA = United States Department of Agriculture
- : World Health Organization / Food and Agriculture Organization of the United Nations

LISTA DE TABELAS

		Página
CAPÍTULO 2		
Tabela 1 -	Descrição dos tratamentos utilizados no experimento	38
Tabela 2 -	Resultados das análises microbiológicas, de acordo com os tratamentos aplicados.....	42
CAPÍTULO 3		
Tabela 1 -	Descrição dos tratamentos utilizados no experimento	56
Tabela 2 -	Valores médios de pH de amostras de carne de peito e coxa refrigeradas por 10 dias e congeladas por 60 dias e <i>p</i> valores para as variáveis.....	61
Tabela 3 -	Valores médios do índice de rancidez (TBARS) da carne de coxa refrigeradas por 10 dias e congeladas por 60 dias e <i>p</i> valores para as variáveis.....	63
Tabela 4 -	Valores médios de L* das amostras de carne de peito e coxa refrigeradas por 10 dias e congeladas por 60 dias e <i>p</i> valores para as variáveis.....	65
Tabela 5 -	Valores médios e interações de a* da carne de peito e coxa refrigeradas por 10 dias e congeladas por 60 dias.....	67
Tabela 6 -	Valores médios e interações fatoriais de b* da carne de peito e coxa refrigeradas por 10 dias e congeladas por 60 dias.....	68

LISTA DE FIGURAS

	Página
CAPÍTULO 2	
Figura 1 - Quantidade de amostras positivas para <i>Salmonella</i> spp., de carcaças submetidas ao pré-resfriamento sem adição de hipoclorito de sódio, com três concentrações de ozônio na água do “chiller” (0 ppm, 0,3 ppm e 1,2 ppm) e pulverizadas com soluções de ácido láctico em três concentrações (0%, 2% e 5%).....	43
Figura 2 - Quantidade de amostras positivas para <i>Salmonella</i> spp., de carcaças submetidas ao pré-resfriamento com adição de 5 ppm de hipoclorito de sódio, com três concentrações de ozônio na água do “chiller” (0 ppm, 0,3 ppm e 1,2 ppm) e pulverizadas com soluções de ácido láctico em três concentrações (0%, 2% e 5%).....	44
CAPÍTULO 3	
Figura 1 - a) geradores de ozônio; b) bomba d’água; c) primeiro estágio do “chiller”; d) segundo estágio do “chiller”.....	57
Figura 2 - Ficha de avaliação sensorial, individual, utilizada durante a análise.....	59
Figura 3 - Desdobramento das interações entre a) HS e Oz nos valores de TBARS de amostras de carne de coxa de frango refrigeradas por 10 dias; b) HS e AL nos valores de TBARS de coxa de frango refrigeradas por 10 dias; c) Oz e AL nos valores de TBARS de coxa de frango congeladas por 60 dias.....	64
Figura 4 - Desdobramento da interação entre HS e AL em amostras de carne de coxa de frango congeladas por 60 dias.....	66

CONTROLE DE *Salmonella* sp. EM CARÇAÇAS DE FRANGO PELO USO DE DESCONTAMINANTES QUÍMICOS DURANTE O PROCESSO DE ABATE E AS CONSEQUÊNCIAS NA QUALIDADE DA CARNE

RESUMO – O Brasil é um grande produtor e exportador de carne de frango e, por isso, deve primar em fornecer o produto com segurança e qualidade. A *Salmonella* sp. destaca-se dentre os patógenos que podem contaminar a carne de frango e, para minimizar sua prevalência, a legislação brasileira permite o uso de até 5 ppm de hipoclorito de sódio no pré-resfriamento de carcaças de frango, enquanto que outros países preconizam o uso de ozônio e ácido láctico para a mesma finalidade. Este estudo objetivou verificar se diferentes concentrações de hipoclorito de sódio, ozônio e ácido láctico, utilizados isoladamente e em conjunto na descontaminação de carcaças de frango, são eficazes na eliminação desse patógeno e se provocam alterações em suas características de qualidade. Para pesquisar a eliminação da *Salmonella* sp., carcaças foram contaminadas com *Salmonella* Enteritidis e, em seguida, submetidas aos tratamentos com os sanitizantes. Para a pesquisa sobre as características da carne, as carcaças foram tratadas com os sanitizantes e analisadas quanto a pH, rancidez, cor e sabor. O hipoclorito de sódio foi o sanitizante mais eficiente para a descontaminação das carcaças e, também, o que mais provocou alterações nas características da carne, como a redução do pH e da rancidez e o aumento da luminosidade. Na análise sensorial, não se encontrou diferença entre os tratamentos com os diferentes sanitizantes. Concluiu-se que o uso isolado do hipoclorito de sódio na concentração máxima permitida no Brasil é suficiente para a eliminação do patógeno, não sendo necessária a utilização de outros sanitizantes para o mesmo fim, e que as alterações por ele provocadas não afetaram a aceitabilidade do produto.

Palavras-chave: ácido láctico, carne de frango, contaminação microbiológica, hipoclorito de sódio, ozônio

CONTROL OF *Salmonella* spp. IN POULTRY CARCASSES BY USING CHEMICAL DECONTAMINANTS DURING SLAUGHTER AND THE CONSEQUENCES FOR THE MEAT QUALITY

SUMMARY – Brazil is a major producer and exporter of poultry meat and must aim to provide the product with safety and quality. *Salmonella* sp. is among the pathogens that can contaminate poultry meat and, to minimize its prevalence, Brazilian laws allow the use of up to 5 ppm of sodium hypochlorite in the pre-cooling of poultry carcasses while other countries recommend the use of ozone and lactic acid. This study aimed to investigate if sodium hypochlorite, ozone and lactic acid used in different concentrations for the decontamination of broilers carcasses, alone or in combination, are effective for eliminating this pathogen and if their use may change the quality characteristics of broiler meat. To investigate the elimination of *Salmonella* sp., the carcasses were contaminated with *Salmonella* Enteritidis and then treated with the sanitizers. For the evaluation of the meat characteristics, carcasses were treated with the sanitizers and analyzed for pH, rancidity, color and flavor. Sodium hypochlorite was the most efficient sanitizer for the decontamination of the carcasses and also the one which caused most changes in meat characteristics, such as lowering pH and rancidity and increasing lightness. Sensory analysis showed no difference among treatments. In conclusion, the use of sodium hypochlorite alone at the maximum allowable concentration in Brazil was enough to eliminate the pathogen, not requiring the use of any other sanitizers for the same purpose, and the changes it caused to meat characteristics did not affect the acceptability of the product.

Keywords: lactic acid, broiler meat, microbiological contamination, sodium hypochlorite, ozone

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1 INTRODUÇÃO

Com o aumento da população mundial e, conseqüentemente, da produção mundial de alimentos, a segurança dos alimentos se faz necessária na tentativa de, entre outros objetivos, diminuir a severidade e a quantidade de casos das doenças de origem alimentar causadas por microrganismos e/ou suas toxinas. De acordo com a Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), “segurança dos alimentos” pode ser definida como a garantia de que o alimento não causará dano ao consumidor quando for preparado e/ou consumido de acordo com o uso pretendido (FAO, 2003). Este conceito tem se tornado um assunto de notável relevância.

Diversos incidentes ligados ao consumo de alimentos têm aumentado a conscientização e o interesse do público sobre problemas com contaminação microbiológica, o que tem recebido grande atenção por parte da imprensa (SGS, 2008), dos mercados consumidores e dos países produtores de alimentos. Tal atenção se fez necessária também na produção de alimentos de origem animal como a carne de frango, produto com crescente aumento de produção mundial (U.S.A., 2016a) por ser uma fonte proteica de qualidade e de custo relativamente baixo para os orçamentos dos consumidores.

No Brasil, o consumo de carne de frango *per capita* é de 42,78 quilos, segundo a Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA, 2015) e o país ocupa as posições de 4º maior consumidor, 2º maior produtor mundial e 1º exportador do produto no mundo (U.S.A., 2016a), com 32,3% da produção brasileira sendo exportada para países de todos os continentes (ABPA, 2015).

Sendo o Brasil grande consumidor, produtor e exportador de carne de frango, é fundamental que o país mantenha sua posição de destaque no mercado mundial deste produto e, para isso, necessita buscar constantemente

a qualidade e a segurança alimentar, que incluem a redução da contaminação microbiana.

As carcaças de frangos podem apresentar uma grande variedade de microrganismos existentes nas aves vivas, que podem disseminar-se durante o abate e, além disso, alguns microrganismos podem ser introduzidos pelo homem ou por equipamentos durante o processamento (KANASHIRO et al., 2007). Na carne, a contaminação de origem fecal geralmente ocorre durante as operações de abate (BRASIL, 2008). De acordo com a WHO/FAO (2009), é de grande importância minimizar a ruptura dos intestinos para evitar a disseminação de bactérias fecais.

Portanto, microrganismos patogênicos podem estar presentes nos intestinos de aves aparentemente saudáveis, sem causar dano para o hospedeiro e, durante as operações de abate, por extravasamento de conteúdo fecal pela cloaca ou por ruptura de alças intestinais, entram em contato com as carcaças e equipamentos, causando contaminação microbiana.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Salmonella*

2.1.1 A bactéria como causadora de infecção alimentar

Dentre os microrganismos patogênicos importantes em aves, capazes de causar zoonose de origem alimentar em humanos, destaca-se a *Salmonella* (WHO/FAO, 2009). O Parecer do Comitê Econômico e Social da União Europeia (2002) descreve que as zoonoses são doenças ou infecções transmissíveis dos animais ao homem. Normalmente, essas infecções surgem em resultado da ingestão de produtos de origem animal, sendo a salmonelose a zoonose mais frequentemente notificada nos países europeus (COMISSÃO, 2002). Segundo a WHO/FAO (2002), uma vasta gama de alimentos tem sido implicada na

salmonelose de origem alimentar, mas os alimentos de origem animal, tal como a carne de frango, têm sido constantemente apontados como as principais fontes de salmonelose humana.

Conforme afirma o Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health, apesar de membros do gênero *Salmonella* serem responsáveis por doenças em humanos e animais, o grau de adaptação no hospedeiro é variável, e isso afeta a patogenicidade para humanos (SCVPH, 2000). Nos Estados Unidos, de acordo com a estimativa anual de casos de doenças transmitidas por alimentos, realizada entre 2000 e 2008, a *Salmonella* spp., não tifoide, é o patógeno causador de doença de origem alimentar mais prevalente em humanos, com um milhão de casos por ano e 380 mortes (CDC, 2012), podendo ser considerada um grave problema de saúde pública.

O ônus das doenças e o custo das medidas de controle são altamente significativos em muitos países e a contaminação com *Salmonella* zoonótica tem o potencial de perturbar seriamente o comércio entre os países (WHO/FAO, 2011).

2.1.2 Taxonomia da *Salmonella*

O gênero *Salmonella* é pertencente à família *Enterobacteriaceae*, ordem *Bacteriales*, classe *Gammaproteobacteria*, filo *Proteobacteria*, domínio *Bacteria* (NCBI, 2016). O gênero é primariamente dividido em espécies, sendo cada espécie um conjunto de linhagens que compartilham alto grau de similaridade em várias características independentes (MADIGAN et al., 2010). As espécies de *Salmonella* são: *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori*. A *S. enterica* é dividida em seis subespécies: *S. enterica* subsp. *enterica*, *S. enterica* subsp. *salamae*, *S. enterica* subsp. *arizonae*, *S. enterica* subsp. *diarizonae*, *S. enterica* subsp. *houtenae* e *S. enterica* subsp. *indica*. As espécies e subespécies podem ser distinguidas com base em diferentes características (GRIMONT; WEILL; 2007).

As subespécies podem apresentar sorovares que, historicamente, receberam diferentes nomes devido a diferenças por qualquer característica bioquímica, patogenicidade ou *habitat*. O gênero *Salmonella* possui 2.579 sorovares: 22 sorovares de *S. bongori* e 2.557 sorovares de *S. enterica*, sendo a subespécie *S. enterica* subsp. *enterica* a que apresenta a maior quantidade deles dentre as espécies. Os nomes dos sorovares são escritos com a primeira letra maiúscula e não devem ser escritos em itálico: *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorovar Enteritidis (GRIMONT; WEILL; 2007).

2.1.3 Morfologia e características gerais de crescimento da *Salmonella*

O gênero *Salmonella* consiste de bactérias em forma de bastonete, Gram-negativas, não formadoras de esporos, anaeróbias facultativas e oxidase negativas (SCVPH, 2000; SILVA et al., 2007). A maioria das espécies de *Salmonella* são móveis com flagelos peritríquios. De acordo com Brasil (2008), comparando com outros bastonetes Gram-negativos, as salmonelas são relativamente resistentes a vários fatores ambientais e sua adaptabilidade fisiológica é demonstrada por sua habilidade de crescer na presença ou na ausência de oxigênio.

A *Salmonella* apresenta crescimento em temperaturas na faixa de 35 a 43 °C, com temperatura ótima de 37 °C e extremos variando de 5 a 46 °C, sendo capaz de sobreviver por longos períodos em refrigeração e, particularmente, em alimentos de origem animal pode sobreviver ao congelamento. As concentrações de *Salmonella* declinam durante o armazenamento por congelamento, sendo a maior taxa de declínio em temperaturas por volta do ponto de congelamento da carne (-2 °C a -5°C) (BRASIL, 2008; SCVPH, 2000).

O pH ótimo para crescimento da bactéria varia entre 6,6 e 8,2, sendo geralmente bactericida os valores superiores a 9,0 e abaixo de 4,0 (SCVPH, 2000). Valores de atividade de água entre 0,94 a 0,99 são favoráveis ao crescimento da bactéria, ocorrendo variações entre sorovares ou, ainda, de acordo com a inter-relação entre diferentes fatores (BRASIL, 2008). Em baixos

níveis de atividade de água, aumenta sua resistência ao calor, particularmente em alimentos que têm um alto teor de gordura (SCVPH, 2000).

2.1.4 Características da doença e espécie prevalente no Brasil

Infecções causadas por *Salmonella* são caracterizadas por uma gastroenterite febril com diarreia, dor de estômago, febre, dor de cabeça, náuseas, vômitos e mal-estar. Os primeiros sintomas aparecem de 12 a 24 horas após a infecção e persistem normalmente durante cerca de 2 a 7 dias. Uma pequena porcentagem dos casos de doença invasiva se desenvolve fora do intestino, por exemplo, septicemia e infecções nos órgãos internos, ossos e articulações. Alguns destes casos são fatais. Complicações como artrite reativa e sintomas abdominais persistentes (diarreia, constipação e dor abdominal) podem ocorrer após a fase aguda da doença (SCVPH, 2000).

Os sintomas habituais e a gravidade variam consoante o sorotipo. Todavia, a salmonelose é uma doença grave e, em alguns casos, pode ser fatal. As complicações dessa doença podem afetar qualquer pessoa, mas os bebês, os idosos e as mulheres grávidas constituem grupos específicos de risco (COMISSÃO, 2002).

De acordo com Silva et al. (2007), os sorovares mais frequentemente envolvidos nas doenças humanas são os de *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, que têm por “habitat” os animais de sangue quente e respondem por 99% das salmoneloses humanas.

Em 2008, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) publicou o Relatório de Pesquisa em Vigilância Sanitária de Alimentos. O documento abordou diversos aspectos de análise de risco no contexto do Programa Nacional de Monitoramento de Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frango, o PREBAF. O estudo foi conduzido em 14 Estados do Brasil, em um total de 2.710 unidades amostrais de frango analisadas, no período de 2004 a 2006. Em relação à *Salmonella*, foi realizada a análise de caracterização

antigênica, chegando-se a 18 sorovares isolados, destacando-se maior frequência para *S. Enteritidis* (48,8%) (BRASIL, 2008).

2.2 Operações utilizadas no abate de frangos

Durante o abate, as aves são insensibilizadas, escaldadas, depenadas, evisceradas, lavadas interna e externamente e submetidas ao pré-resfriamento. A Portaria nº 210, de 10 de novembro de 1998 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que aprova o Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico-sanitária de Carne de Aves, descreve que o pré-resfriamento é o processo de rebaixamento da temperatura das carcaças de aves realizado imediatamente após as etapas de evisceração e lavagem, por sistema de imersão em água gelada e/ou água e gelo ou passagem por túnel de resfriamento, obedecidos os respectivos critérios técnicos específicos (BRASIL, 1998).

No Brasil, o método mais comum de pré-resfriamento das carcaças é o sistema de imersão em água por resfriadores contínuos, tipo rosca sem fim, chamados de “chiller”. Segundo a mesma Portaria, a temperatura da água residente, medida nos pontos de entrada e saída das carcaças do sistema de pré-resfriamento por imersão, não deve ser superior a 16 °C e 4 °C, respectivamente, no primeiro e no último estágios, observando-se o tempo máximo de permanência das carcaças no primeiro, de trinta minutos (BRASIL, 1998).

A temperatura das carcaças no final do processo de pré-resfriamento deve ser igual ou inferior a 7 °C. Tolera-se a temperatura de 10 °C para as carcaças destinadas ao congelamento imediato (BRASIL, 1998).

2.3 Utilização de sanitizantes nas carcaças de animais

Alguns países, como o Brasil, os Estados Unidos e o bloco de países da União Europeia aprovam a utilização de sanitizantes químicos em carcaças de

animais com a função de descontaminantes. Cada país preconiza o produto a ser utilizado, sua concentração, o modo e o momento de aplicação.

No Brasil, a água de renovação do sistema de pré-resfriamento por imersão pode ser hiperclorada, permitindo-se, no máximo, 5 ppm de cloro livre. Já o nível mínimo de cloro residual presente na água empregada nos estabelecimentos de produtos de origem animal destinados à alimentação humana deve ser de 0,05 ppm, de acordo com o artigo nº 62 do Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) (BRASIL, 1952).

Os Estados Unidos, maior produtor mundial de carne de frango (U.S.A., 2016a), por meio da Diretiva 7120.1 do FSIS (Food Safety and Inspection Service) do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), estabeleceu uma lista de substâncias que podem ser utilizadas na produção de derivados de carne, aves e ovos. Dentre elas, citam-se o hipoclorito de sódio na água do “chiller” na concentração de até 50 ppm de cloro livre, o ácido láctico para uso em carcaças de frango em solução de até 5% após o pré-resfriamento das carcaças e o ozônio para uso em todos os produtos de carne de frango, em quantidade estabelecida de acordo com os padrões de boas práticas de fabricação atuais da indústria (U.S.A., 2016b).

A União Europeia, que ocupa a 4ª posição na produção mundial de carne de frango (U.S.A., 2016a), regulamentou o uso da solução de ácido láctico, de 2 a 5%, por pulverização ou nebulização, para reduzir a contaminação superficial de carcaças bovinas (COMISSÃO, 2013). De acordo com o parecer científico da European Food Safety Authority (EFSA), de 2011, o tratamento de carcaças com ácido láctico proporciona uma considerável redução da contaminação microbiológica (EFSA, 2011a). Atualmente, na União Europeia, a água usada durante o processamento de carcaças de frango, incluindo a água de refrigeração do “chiller”, deve ser potável e, por isso, não contém, normalmente, mais do que 5 ppm de cloro (EFSA, 2011b).

2.4 Modo de ação dos sanitizantes

2.4.1 Hipoclorito de sódio

A solução de hipoclorito de sódio (fórmula molecular NaClO, com 10 a 12% de cloro ativo) é um dos principais compostos clorados inorgânicos utilizados no Brasil para desinfecção e sua eficácia é limitada ao cloro disponível livre na solução (MACEDO; OLIVEIRA, 2010; TOLDRÁ, 2009).

A adição de cloro, hipoclorito de sódio e outros compostos clorados na água forma o ácido hipocloroso (HOCl), conforme a reação:



O ácido hipocloroso é a forma mais efetiva do cloro, pois tem carga neutra e se difunde tão rapidamente quanto a água através da célula (VERMELHO et al., 2011), provocando a morte de bactérias pela lise e liberação do conteúdo citoplasmático, diminuindo, assim, o número de células. Com potencial de oxidação de 1,50 V, o ácido hipocloroso é considerado um forte agente oxidante (MADIGAN et al., 2010) e alvejante (NCI, 2016).

2.4.2 Ozônio

Gerado pela incorporação de um átomo de oxigênio a uma molécula de oxigênio (O₂) por meio de descargas elétricas de alta voltagem, o gás ozônio (O₃) é um agente fortemente oxidante, com potencial de oxidação de 2,07 V (MADIGAN et al., 2010; VERMELHO et al., 2011).

O ozônio é um agente antimicrobiano de amplo espectro, que inativa bactérias, vírus, fungos e protozoários e não deixa resíduo no ambiente devido à sua decomposição em oxigênio (RODRÍGUEZ-ROMO; YOUSEF, 2005). No entanto, a exposição prolongada de humanos ao gás a 1,0 ppm pode provocar dores de cabeça, irritação no sistema respiratório e nos olhos e tosse (NRC, 1995).

2.4.3 Ácido láctico

O ácido láctico ($C_3H_6O_3$) é um ácido orgânico com ação antimicrobiana, particularmente contra bactérias que podem causar doenças em humanos como a *Salmonella* spp. Além de contribuir para a conservação de alimentos, o ácido láctico pode provocar efeitos na textura devido às suas reações com proteínas e influenciar a cor e o sabor dos alimentos (ALAKOMI et al., 2000; IBRAHIM et al., 2008; POTTER; HOTCHKISS, 1995; VERMELHO et al., 2011). O ácido láctico é um potente agente desintegrador da membrana externa de bactérias Gram-negativas (ALAKOMI et al., 2000) e é amplamente aceito para descontaminação química de carcaças nos Estados Unidos (TOLDRÁ, 2009).

Uma potencial desvantagem do uso de ácidos em carcaças de frango é a descoloração temporária ou permanente, que pode ou não acontecer, dependendo da concentração, da duração e da temperatura de aplicação, do tipo de tecido e de outros fatores (TOLDRÁ, 2009).

2.5 Atributos de qualidade da carne de frango

2.5.1 pH

O pH do alimento interfere na sua conservação, visto que influencia a velocidade de reações enzimáticas e no desenvolvimento de microrganismos. A maioria dos microrganismos cresce melhor com valores de pH próximos à neutralidade (6,5 a 7,5), apesar de alguns poucos conseguirem se multiplicar em pH abaixo de 4,0. Também as enzimas envolvidas na deterioração de alimentos possuem um pH ótimo para sua atividade (NESPOLO et al., 2015).

O pH fisiológico da ave inicia sua queda após o sacrifício, com a produção de ácido láctico, devido à glicólise anaeróbica (LAWRIE, 1998).

A modificação do pH do alimento por meio de ácidos produzidos ou adicionados é um método muito utilizado para a conservação. Cabe ressaltar que tal método não é de aplicação possível para todos os tipos de alimentos,

visto que pode provocar alterações nas características sensoriais (NESPOLO et al., 2015).

2.5.2 Rancidez

A gordura da carne contribui para características de sabor e aroma. No entanto, pode rancificar-se devido à exposição excessiva ao oxigênio, levando a alterações desses atributos e, conseqüentemente, diminuindo a aceitação do alimento pelos consumidores (POTTER; HOTCHKISS, 1995). Ácidos graxos insaturados são facilmente oxidados por vários agentes oxidantes e, quanto mais insaturado ele for, mais facilmente o produto sofrerá rancificação (BOBBIO; BOBBIO, 1989).

Na rancidez oxidativa, há a introdução de átomos de oxigênio na cadeia carbonada dos ácidos graxos formando, inicialmente, hidroperóxidos, que são convertidos em aldeídos e, depois, em ácidos, em presença de umidade. Essa mistura de produtos formados origina o aroma típico de produtos rancificados (MULLER; TOBIN, 1986).

Para identificar a oxidação de ácidos graxos insaturados, principalmente o linolênico, pode ser utilizada a técnica de TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances). Nesta técnica, o pigmento medido colorimetricamente é um produto da condensação de duas moléculas de ácido tiobarbitúrico e uma de dialdeído malônico, um dos compostos intermediários formados na reação (POMERANZ; MELOAN, 2000). Por essa técnica, é possível acompanhar o desenvolvimento da rancificação da carne de frango.

2.5.3 Cor

A cor e a descoloração de muitos alimentos são atributos de qualidade importantes no “marketing” do produto. Embora normalmente não reflitam o valor nutricional, sabor ou valor funcional, elas se relacionam às preferências dos

consumidores, baseadas na aparência do produto (POMERANZ; MELOAN, 2000).

A cor da carne de frangos é normalmente descrita como escura ou clara. Músculos escuros contém mais mioglobina e são usados pela ave para atividades de sustentação como, por exemplo, as coxas. Músculos claros, como o peito, contêm menos mioglobina (POTTER; HOTCHKISS, 1995).

Ácidos podem causar descoloração da carne, assim como a oxidação pode formar metamioglobina (marrom) a partir de mioglobina (vermelha), onde o íon ferro da hemoglobina é oxidado de Fe^{3+} a Fe^{2+} (TOLDRÁ, 2009).

2.5.4 Sabor

O sabor é um atributo de qualidade importante, originado durante o processo de cozimento, que se relaciona com as características sensoriais da carne. Embora a percepção de sabor seja um fenômeno complexo, o odor é o fator que mais contribui para as características gerais do sabor. Muitos compostos têm sido identificados na fração volátil de carnes de aves, tais como hidrocarbonetos, álcoois, ácidos, aldeídos, cetonas, sulfuretos, compostos heterocíclicos, etc. (BOUTHILET, 1951; SHAHIDI et al., 2009).

Assim, o objetivo deste estudo foi pesquisar se o uso dos descontaminantes químicos hipoclorito de sódio, ozônio e ácido láctico e de suas combinações em carcaças de frango apresenta eficácia na eliminação de *Salmonella* spp. e se a utilização desses sanitizantes causa alterações sobre atributos de qualidade da carne como pH, rancidez lipídica, cor e sabor.

O estudo originou dois artigos científicos: “Controle de *Salmonella* sp. em carcaças de frango pelo uso de descontaminantes químicos durante o processo de abate” e “Efeitos do uso de descontaminantes químicos em carcaças de frangos e suas consequências para a qualidade da carne”.

REFERÊNCIAS

ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório anual**. 2015. Disponível em: <http://abpa-br.com.br/files/RelatorioAnual_UBABEF_2015_DIGITAL.pdf>. Acesso em: 04 jun. 2016.

ALAKOMI, H.L. et al. Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 5, p. 2001-2005, 2000. Disponível em: <<http://208.89.142.230/content/dam/tfs/LPG/LCD/LCD%20Documents/Peer%20Reviewed%20Papers%20OR%20Third-Party%20Papers/Microplate%20Instrumentation/Microplate%20Readers/D00570~.pdf>>. Acesso em: 23 jan. 2016.

BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P. A. **Introdução à química de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Varela, 1989. 223 p.

BOUTHILET, R.J. Chicken flavor: the source of the meat flavor component. **Journal of Food Science**. v. 16, n. 1-6, p. 201–204, 1951.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 30.691 de 29 de março de 1952. Aprova o novo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Poder executivo, Brasília, DF, 29 mar. 1952.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 210 de 10 de novembro de 1998. Aprovar o regulamento técnico da inspeção tecnológica e higiênico-sanitária de carne de aves. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 26 nov. 1998. Seção 1, p. 226.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Relatório do monitoramento da prevalência e do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos em enterococos e salmonelas isolados de carcaças de frango congeladas comercializadas no Brasil**: Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frango – PREBAF. Brasília, 2008. 188 f.

CDC. CENTERS OF DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Pathogens causing US foodborne illnesses, hospitalizations, and deaths, 2000–2008**. 2012. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/foodborneburden/PDFs/pathogens-complete-list-01-12.pdf>>. Acesso em: 02 jul. 2016.

COMISSÃO DAS COMUNIDADES EUROPEIAS. **Parecer do Comité Económico e Social sobre a proposta de regulamento do Parlamento Europeu e do Conselho relativo aos aditivos destinados à alimentação animal**. Bruxelas: EUR-LEX, 2002.

COMISSÃO DAS COMUNIDADES EUROPEIAS. Regulamento (EU) nº 101/2013 da Comissão de 4 de fevereiro de 2013 relativo à utilização do ácido láctico para reduzir a contaminação superficial microbiológica das carcaças de bovinos. **Jornal Oficial da União Europeia**, Bruxelas, 5 fev, 2013. L 34.

EFSA. EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Scientific Opinion on the evaluation of the safety and efficacy of lactic acid for the removal of microbial surface contamination of beef carcasses, cuts and trimmings. **EFSA Journal**, v. 9, n.7, p. 2317, 2011a.

EFSA. EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Scientific Opinion on Campylobacter in broiler meat production: control options and performances objectives and/or targets at different stages of the food chain. **EFSA Journal**, v. 9, n.4, p. 2105, 2011b.

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Recommended international code of practice general principles of food hygiene. **Rev.**, v. 4, p. 1-31, 2003. Disponível em: <<http://www.mhlw.go.jp/english/topics/importedfoods/guideline/dl/04.pdf>>. Acesso em: 10 abr. 2016.

GRIMONT, P.A.D; WEILL, F.X. **Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars**. 9. ed. Paris: World Health Organization, Institut Pasteur, 2007. Disponível em: <<http://www.scacm.org/free/Antigenic%20Formulae%20of%20the%20Salmonella%20Serovars%202007%209th%20edition.pdf>>. Acesso em: 02 jul. 2016.

IBRAHIM, S.; YANG, H.; SEO, C.W. Antimicrobial activity of lactic acid and copper on growth of *Salmonella* and *Escherichia coli* O157: H7 in laboratory medium and carrot juice. **Food Chemistry**, v. 109, n. 1, 2008. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/228515626_Antimicrobial_activity_of_lactic_acid_and_copper_on_growth_of_Salmonella_and_Escherichia_coli_O157_H7_in_laboratory_medium_and_carrot_juice>. Acesso em: 04 jun. 2016.

KANASHIRO, A.M.I. et al. ***Salmonella* em suabes de superfície em abatedouro avícola**. Descalvado: Instituto Biológico, Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica do Agronegócio Avícola. Descalvado, SP, Brasil. 2007.

LAWRIE, R.A. **Lawrie's meat science**. 6. ed. Lancaster-Basel: Technomic, 1998. 336 p.

MACEDO, J.A.B.; OLIVEIRA, F.S. Desinfecção secundária: o estado da arte do processo desinfecção em ETA's, com redução de custos operacionais e garantia da qualidade. **Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 3, n. 2, 2010. Disponível em: <<http://www.intertox.com.br/documentos/v3n2/rev-v03-n02-04.pdf>>. Acesso em: 24 jan. 2016.

MADIGAN, M.T. et al. **Microbiologia de brock**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 1160 p.

MULLER, H.G.; TOBIN, G. **Nutricion y ciencia de los alimentos**. Zaragoza: Editora Acribia, 1986. 321 p.

NCBI. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **Taxonomy Browser**. 2016. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Undef&id=2&lvl=3&srchmode=1&keep=1&unlock>. Acesso em: 02 jul. 2016.

NCI. NATIONAL CANCER INSTITUTE. U.S. National Institutes of Health. **Sodium hypochlorite**. 2016. Disponível em: https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/ConceptReport.jsp?dictionary=NCI_Thesaurus&ns=NCI_Thesaurus&code=C80658>. Acesso em: 28 mai. 2016.

NESPOLO, C.R. et al. Métodos de conservação de alimentos. In: NESPOLO, C.R. et al. **Práticas em tecnologia de alimentos**. Porto Alegre: Artmed. 2015.

NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Prudent Practices in the Laboratory**: handling and disposal of chemicals. Commission on Physical Sciences, Mathematics, and Applications. National Academy Press. Washington, D.C. 1995. Disponível em: https://books.google.com.br/books?id=3UArAAAYAAJ&printsec=frontcover&dq=Prudent+Practices+in+the+Laboratory:+Handling+and+Disposal+of+Chemicals&hl=pt-PT&sa=X&ved=0ahUKEwiL_e6r1I7NAhXGXR4KHS6LAioQ6wEIjAA#v=onepage&q=Prudent%20Practices%20in%20the%20Laboratory%3A%20Handling%20and%20Disposal%20of%20Chemicals&f=false>. Acesso em: 04 jun. 2016.

POMERANZ, T.; MELOAN, C.E. **Food analysis: theory and practice**. 3th ed. New York: Chapman & Hall, 2000. 778 p.

POTTER, N.N.; HOTCHKISS, J.H. **Food science**. 5th. ed. New York: Chapman & Hall, 1995.

RODRÍGUEZ-ROMO, L.A., YOUSEF, A.E. Inactivation of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis on shell eggs by ozone and radiation. **Journal of Food Protection**, v. 68, p. 711-717, 2005.

SCVPH. SCIENTIFIC COMMITTEE ON VETERINARY MEASURES RELATING TO PUBLIC HEALTH. **Opinion of the scientific committee on veterinary measures relating to public health on food-borne zoonoses**. Geneva: European Commission. Health & Consumer Protection Directorate-General. Unit B3 - Management of scientific committees II. 2000.

SGS. SGS ICS Certificadora Ltda. Implementação e manutenção do sistema HACCP. **Rev.**, v. 4, p. 1-64, 2008.

SHAHIDI, F. et al. Meat flavor volatiles: a review of the composition, techniques of analysis, and sensory evaluation. **C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 24, n. 2, p. 141-243, 2009.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2007. 624 p.

TOLDRÁ, F. **Safety of meat and processed meat**. 2009. University of Georgia, USA. Ed. Springer. 699 p.

U.S.A. United States Department of Agriculture – USDA. **Food Safety and Inspection Service** – FSIS. FSIS Directive 7120.1 Revision 33. Safe and

suitable ingredients used in the production of meat, poultry, and egg products. Washington, DC. 2016b.

U.S.A. United States Department of Agriculture – USDA. **Livestock and poultry: World Markets and Trade**. April 2016a. Disponível em: <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.pdf>. Acesso em: 03 jun. 2016.

VERMELHO, A.B. et al. **Práticas de microbiologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. 256 p.

WHO/FAO. WORLD HEALTH ORGANIZATION / FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Risk assessment of *Salmonella* in eggs and broiler chickens**. Microbiological Risk Assessment Series. 2002.

WHO/FAO. WORLD HEALTH ORGANIZATION / FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Risk assessment of *Campylobacter* spp. in broiler chickens**. Technical Report. Microbiological Risk Assessment Series. 2009.

WHO/FAO. WORLD HEALTH ORGANIZATION / FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. *Codex Alimentarius*: International Food Standards. In: WHO/FAO. **Guidelines for the control of *Campylobacter* and *Salmonella* in chicken meat**. 2-26. CAC/GL 78-2011, 2011.

CAPÍTULO 2 – CONTROLE DE *Salmonella* sp. EM CARÇAÇAS DE FRANGO PELO USO DE DESCONTAMINANTES QUÍMICOS DURANTE O PROCESSO DE ABATE

RESUMO – *Salmonella* sp. está relacionada a surtos de salmonelose em humanos. Para diminuir sua prevalência em carne de frango, a legislação brasileira permite o uso de até 5 ppm de hipoclorito de sódio na água do pré-resfriamento por imersão. Em outros países, são aprovados os usos de ozônio e ácido láctico, entre outros. O objetivo deste estudo foi pesquisar se o uso desses sanitizantes de forma individual ou em combinação apresenta eficácia na eliminação do patógeno. Para isso, foram abatidos 54 frangos de corte (abate 1 e abate 2). O experimento seguiu um delineamento inteiramente casualizado, com arranjo fatorial 2 x 3 x 3, totalizando 18 tratamentos, com três repetições. As carcaças foram contaminadas com *Salmonella* Enteritidis e, em seguida, testaram-se os seguintes fatores: 2 concentrações de hipoclorito de sódio (zero e 5 ppm), 3 concentrações de ozônio (zero, 0,3 e 1,2 ppm) e 3 concentrações de ácido láctico (zero, 2 e 5%). Para a pesquisa do patógeno, foi realizada a identificação pelo método clássico. Os resultados mostraram-se dependentes dos tratamentos ($p=0,0350$). Dentre as 27 carcaças do abate 1, sem adição de hipoclorito de sódio, 13 amostras apresentaram-se positivas. A pulverização com solução de ácido láctico foi mais efetiva a 5% do que a 2%. Dentre as 27 carcaças do abate 2, com adição de hipoclorito de sódio a 5 ppm, uma amostra apresentou positividade. Concluiu-se que, dentre os produtos químicos testados, o hipoclorito de sódio a 5 ppm foi a melhor opção para a eliminação de *Salmonella* spp.

Palavras-chave: ácido láctico, carne de frango, contaminação microbiológica, hipoclorito de sódio, ozônio

CHAPTER 2 – CONTROL OF *Salmonella* sp IN POULTRY CARCASSES BY CHEMICAL DECONTAMINATION DURING SLAUGHTER

ABSTRACT – *Salmonella* is associated to salmonellosis outbreaks in humans. To reduce its prevalence in broilers, Brazilian legislation allows the use of up to 5 ppm of sodium hypochlorite in the immersion water during pre-cooling. In other countries, ozone and lactic acid, among others, are approved for that use. The purpose of this study was to investigate if the use of these sanitizers, alone or in combination, is effective for the elimination of the pathogen. For that, 54 broiler chickens were slaughtered (slaughter 1 and slaughter 2). The experiment followed a completely randomized design with a factorial arrangement 2 x 3 x 3, totalizing 18 treatments with three replications each. Carcasses were contaminated with *Salmonella* Enteritidis and the following factors were tested: 2 concentrations of sodium hypochlorite (zero and 5 ppm), 3 concentrations of ozone (zero, 0.3 and 1.2 ppm) and 3 concentrations of lactic acid (zero, 2 and 5%). For pathogen identification, was employed classic method. Treatments differed significantly ($p=0.0350$). Among the 27 carcasses from slaughter 1, without the addition of sodium hypochlorite, 13 samples were positive. Spraying with lactic acid solution was more effective at 5% than at 2%. Among the 27 carcasses from slaughter 2, with the addition of sodium hypochlorite at 5 ppm, only one sample was positive. In conclusion, among the chemical products tested, sodium hypochlorite at 5 ppm was highly effective for the elimination of *Salmonella* spp.

Keywords: lactic acid, broiler meat, microbiological contamination, sodium hypochlorite, ozone

1 INTRODUÇÃO

Uma vasta gama de alimentos tem sido implicada na salmonelose de origem alimentar e os alimentos de origem animal têm sido constantemente apontados como as principais fontes da doença em humanos (WHO/FAO, 2002). A salmonelose é uma das doenças alimentares mais frequentemente relatadas em todo o mundo e a carne de frango é considerada um dos mais importantes veículos dessas enfermidades (WHO/FAO, 2011).

Kanashiro et al. (2007) descrevem que os alimentos de origem animal, principalmente a carne de frango, representam papel fundamental na epidemiologia das salmoneloses humanas, sendo esse tipo de carne frequentemente relacionado aos surtos de toxinfecção alimentar, podendo tornar-se um problema potencial na determinação de quadros de infecção alimentar em seus consumidores, o que representa um grave problema de saúde pública.

Em um estudo conduzido em 14 Estados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) no período de 2004 a 2006, *S. Enteritidis* foi confirmada em 48,8% das amostras positivas para *Salmonella* spp. isoladas de carne de frango (BRASIL, 2008). Em um estudo realizado por Duarte et al. (2009), foram analisadas 260 carcaças de frango, das quais 9,6% foram positivas para *Salmonella*. No mesmo estudo, 20 amostras tiveram o sorovar identificado, sendo *S. Enteritidis* o mais frequente. Tessari et al. (2008), analisando 116 carcaças de frango, encontraram contaminação por *Salmonella* spp. em duas amostras e por *S. Enteritidis* em uma delas.

Na tentativa de minimizar a prevalência de microrganismos na carne de frango durante o abate, no Brasil se permite que a água de renovação do sistema de pré-resfriamento das carcaças, realizado por imersão em resfriadores contínuos tipo rosca sem fim (“chiller”), seja hiperclorada em até, no máximo, 5 ppm de cloro livre (BRASIL, 1998).

Nos Estados Unidos, o uso de hipoclorito de sódio na água do “chiller” é permitido na concentração de até 50 ppm de cloro livre, o ácido láctico é

permitido para uso em carcaças de frango em solução de até 5% após o pré-resfriamento das carcaças e o ozônio é permitido para uso em todos os produtos de carne de frango, em quantidade estabelecida de acordo com os padrões de boas práticas de fabricação atuais na indústria (U.S.A., 2016). Na União Europeia, a regulamentação do uso da solução de ácido láctico, de 2 a 5%, por pulverização ou nebulização visa reduzir a contaminação superficial de carcaças bovinas (COMISSÃO, 2013).

O tratamento de carcaças com ácido láctico proporciona uma considerável redução da contaminação microbológica (EFSA, 2011). O ácido láctico ($C_3H_6O_3$) é um ácido orgânico com ação antimicrobiana que apresenta condição de segurança de uso reconhecida. Sua presença em alimentos se deve à síntese bacteriana ou à adição intencional (ALAKOMI et al., 2000; VERMELHO et al., 2011).

O gás ozônio (O_3) pode ser gerado pela incorporação de um átomo de oxigênio à molécula de oxigênio (O_2), o que é conseguido por meio de descargas elétricas de alta voltagem (VERMELHO et al., 2011). Rodríguez-Romo e Yousef (2005), consideram o ozônio um forte agente antimicrobiano de amplo espectro, que apresenta como vantagem a possibilidade de ser aplicado no processamento de alimentos sem deixar qualquer resíduo no ambiente porque se decompõe espontaneamente em oxigênio. A exposição prolongada de humanos ao gás a 1,0 ppm pode provocar dores de cabeça e irritação no sistema respiratório, sendo os primeiros sintomas a irritação dos olhos, secura da garganta e tosse, que desaparecem após cessar a exposição (NRC, 1995).

A solução de hipoclorito de sódio ($NaClO$, com 10 a 12% de cloro ativo) é um dos principais compostos clorados inorgânicos utilizados no Brasil para desinfecção (MACEDO; OLIVEIRA, 2010). A adição de cloro, hipoclorito de sódio e outros compostos clorados na água formam o ácido hipocloroso ($HOCl$), conforme a equação $NaClO + H_2O \rightarrow NaOH + HOCl \leftrightarrow H^+OCl^-$. O ácido hipocloroso é a forma mais efetiva do cloro, pois tem carga neutra e se difunde tão rapidamente quanto a água através da célula (VERMELHO et al., 2011).

Considerando a necessidade de garantir a segurança microbiológica da carne de frango oferecida ao consumidor, este estudo objetivou pesquisar se o uso dos descontaminantes químicos hipoclorito de sódio, ozônio e ácido láctico, individualmente ou em combinação, apresenta eficácia na eliminação de *Salmonella* spp. das carcaças.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram criados 54 frangos de corte de linhagem comercial no galpão experimental da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba (FMVA/Unesp). As aves foram abatidas de acordo com os procedimentos legais (BRASIL, 1998) aprovados pela Comissão de Ética de Uso Animal da referida faculdade (ARAC/FO 633/2013), em dois momentos (abate 1 e abate 2) com intervalo de 10 dias, em função da utilização ou não do hipoclorito de sódio no “chiller”.

O experimento seguiu um delineamento inteiramente casualizado, com arranjo fatorial 2 x 3 x 3, totalizando 18 tratamentos, com três repetições (Tabela 1). Os fatores testados foram 2 concentrações de hipoclorito de sódio na água do primeiro estágio do “chiller” (zero e 5 ppm), 3 concentrações de ozônio na água do segundo estágio do “chiller” (zero, 0,3 e 1,2 ppm) e 3 concentrações da pulverização de solução de ácido láctico nas carcaças após o pré-resfriamento em “chiller” (zero, 2 e 5%).

Tabela 1 – Descrição dos tratamentos utilizados no experimento

Abate	Tratamentos	Concentração de hipoclorito de sódio na água (ppm)	Concentração de ozônio na água (ppm)	Concentração de ácido láctico na pulverização (%)
1	1	0	0	0
	2	0	0	2
	3	0	0	5
	4	0	0,3	0
	5	0	0,3	2
	6	0	0,3	5
	7	0	1,2	0
	8	0	1,2	2
	9	0	1,2	5
2	10	5	0	0
	11	5	0	2
	12	5	0	5
	13	5	0,3	0
	14	5	0,3	2
	15	5	0,3	5
	16	5	1,2	0
	17	5	1,2	2
	18	5	1,2	5

2.1 Bactéria utilizada

A cepa liofilizada de *S. Enteritidis* ATCC 13076 adquirida da coleção de cultura da Fundação André Tosello foi previamente hidratada com 0,2 mL de água destilada, recuperada em 5 mL de caldo lactosado e incubada por 24 horas a 37 °C. Em seguida, o cultivo foi semeado em ágar nutriente e incubado durante 24 horas a 37 °C (FUNDAÇÃO ANDRÉ TOSELLO, 2014).

2.2 Preparação do inóculo

A preparação do inóculo foi realizada imediatamente antes do abate das aves. Para tanto, seis colônias características de *Salmonella* spp. foram

individualmente transferidas do ágar nutriente para provetas contendo caldo lactosado e incubadas por 24 horas a 37 °C. Após a incubação, foi selecionada a proveta de menor turvação e, a partir desse conteúdo, foram feitas diluições decimais em água peptonada 0,1% até se obter a concentração de 10^8 UFC/mL, em comparação com a Escala de McFarland. Diluições adicionais foram realizadas em caldo lactosado para a obtenção de cultivo com concentração final de 10^2 UFC de *Salmonella* Enteritidis/mL. Esta concentração foi adotada por corresponder a uma quantidade de células suficiente para provocar doença em humanos, se ingerida (FORSYTHE, 2013). O cultivo foi imediatamente refrigerado a 5 °C, constituindo-se no inóculo a ser utilizado no experimento. O mesmo procedimento foi realizado para o abate 2, desde a abertura de uma nova ampola contendo a cepa liofilizada até a obtenção do inóculo.

2.3 Contaminação das carcaças durante os procedimentos de abate

Após a realização dos procedimentos rotineiros de abate, as carcaças depenadas, evisceradas e lavadas foram contaminadas individualmente. Para isso, cada carcaça foi colocada em um saco plástico estéril, ao qual foram acrescidos 100 mL do inóculo de *S. Enteritidis* (10^4 UFC). Os sacos plásticos foram fechados e invertidos por 30 vezes por cerca de 1 minuto (USA, 1998). O inóculo remanescente foi descartado em ácido peracético 0,2%.

2.4 Aplicação dos tratamentos

Antes da aplicação de cada tratamento, os tanques, ganchos, mesas e utensílios foram higienizados com esponja e detergente e sanitizados com hipoclorito de sódio e/ou ácido peracético.

As carcaças contaminadas foram submetidas ao pré-resfriamento em “chiller” dotado de rosca sem fim, contendo água a 16 °C no primeiro compartimento, à qual foi adicionado ou não o hipoclorito de sódio (Tabela 1), e onde permaneceram por 30 minutos, tempo máximo permitido pela legislação

(BRASIL, 1998). No segundo compartimento do tanque, a temperatura da água foi mantida em até 4 °C, onde as carcaças foram bombardeadas com água ozonizada nas concentrações também descritas na Tabela 1. Após atingirem 7 °C ou menos no interior da massa muscular, as carcaças foram retiradas do tanque, penduradas com a abertura abdominal para baixo para o escoamento do excesso de água e, em seguida, pulverizadas com 100 mL de solução de ácido láctico nas concentrações citadas na Tabela 1.

2.5 Recuperação do patógeno das carcaças

Para confirmar a presença ou a ausência do patógeno inoculado, cada carcaça foi transferida para um saco plástico, onde foram adicionados 400 mL de água peptonada 0,1%. Os sacos foram invertidos 30 vezes por cerca de 1 minuto (U.S.A., 1998), enquanto as carcaças eram massageadas. Vinte e cinco mL da água peptonada recuperada de cada carcaça foram utilizados para a pesquisa de *Salmonella* spp.

Vinte e seis carcaças-controle (que não receberam o inóculo) foram submetidas ao mesmo procedimento para verificar a ocorrência de contaminação natural com *Salmonella* spp.

2.6 Identificação de *Salmonella* spp.

Para a pesquisa de *Salmonella* spp., foi utilizado o método cultural clássico de presença/ausência, desenvolvido para garantir a detecção mesmo em situações extremamente desfavoráveis (SILVA et al., 2007). Os procedimentos seguiram quatro etapas, de acordo com o esquema de análise de *Salmonella* descrito no método ISO 6579 (ISO, 2007): pré-enriquecimento em caldo não seletivo, enriquecimento em caldo seletivo, plaqueamento seletivo diferencial e confirmação.

Para o pré-enriquecimento, os 25 mL de água peptonada recuperados de cada carcaça foram transferidos para 225 mL de caldo lactosado e a incubação

foi realizada por 24 horas a 37 °C. O enriquecimento seletivo foi realizado com os caldos Tetracionato Muller Kauffmann Novobiocina e Rappaport-Vassilidis Soja, com incubação a 37 °C por 24 horas e a 41,5 °C por 24 horas, respectivamente. Para o plaqueamento diferencial, uma alçada de cada caldo de enriquecimento foi estriada em placas de Petri contendo os ágaros Xilose Lisina Desoxicolato, Verde Brilhante e MacConkey, que foram incubadas a 37°C por 24 horas (FDA, 2007; ISO, 2007; U.S.A, 2014a).

As colônias características de *Salmonella* de cada placa foram recuperadas e inoculadas nos meios Rugai com Lisina e Citrato de Simmons, para a confirmação bioquímica, tendo sido ambos incubados a 37 °C por 24 horas.

2.7 Descarte das carcaças contaminadas

Ao final do experimento, todas as carcaças contaminadas foram congeladas e descartadas em lixo de controle biológico da FMVA.

2.8 Análise estatística dos resultados

Para analisar os resultados, foi utilizado o Teste Exato de Fisher, com nível de significância de 5% e o programa Statistical Analysis System (SAS, 2009).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da pesquisa de *Salmonella* spp. mostraram-se dependentes dos tratamentos aplicados ($p = 0,0350$). A Tabela 2 apresenta esses resultados, classificando-os como negativos (sem identificação do patógeno) ou positivos (com identificação do patógeno), de acordo com seus tratamentos.

Tabela 2 – Resultados das análises microbiológicas, de acordo com os tratamentos aplicados

Tratamentos	Número de amostras	Amostras negativas (%)	Amostras positivas (%)
Carcaças-controle	26	84,6	15,4
1	3	33,3	66,7
2	3	0,0	100,0
3	3	66,7	33,3
4	3	33,3	66,7
5	3	66,7	33,3
6	3	100,0	0,0
7	3	33,3	66,7
8	3	66,7	33,3
9	3	66,7	33,3
10	3	100,0	0,0
11	3	100,0	0,0
12	3	100,0	0,0
13	3	100,0	0,0
14	3	100,0	0,0
15	3	100,0	0,0
16	3	66,7	33,3
17	3	100,0	0,0
18	3	100,0	0,0

Dentre as 27 carcaças do abate 1, que tiveram seu pré-resfriamento sem adição de hipoclorito de sódio no primeiro estágio do “chiller”, 13 (48,1%) apresentaram positividade para *Salmonella* spp. (Figura 1).

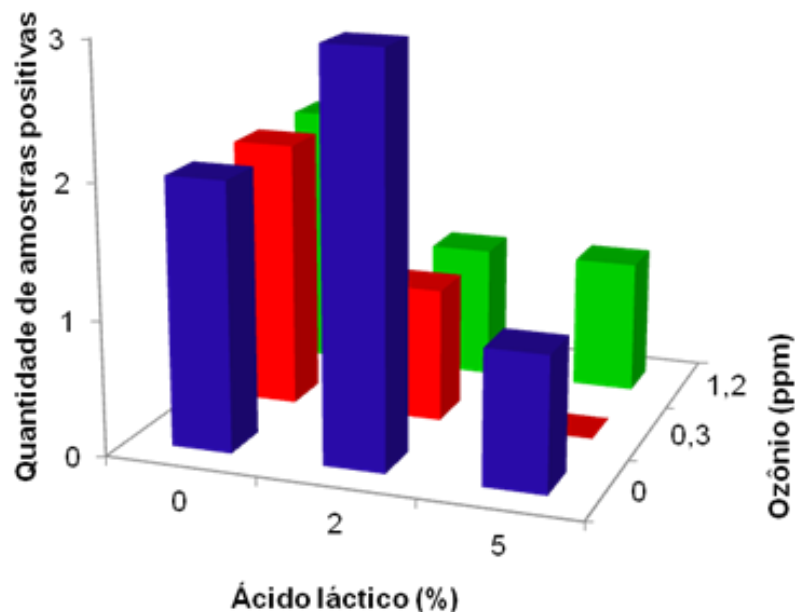


FIGURA 1 - Quantidade de amostras positivas para *Salmonella* spp. de carcaças submetidas ao pré-resfriamento sem adição de hipoclorito de sódio, com três concentrações de ozônio na água do “chiller” (0 ppm, 0,3 ppm e 1,2 ppm) e pulverizadas com soluções de ácido láctico em três concentrações (0%, 2% e 5%).

A pulverização com solução de ácido láctico utilizada isoladamente foi mais efetiva na concentração de 5% do que a 2%. Esse resultado concorda com a European Food Safety Authority, que afirma que o ácido láctico pode proporcionar uma redução significativa da eventual contaminação microbológica (EFSA, 2011). A mesma informação foi confirmada pelo estudo realizado por Silva et al. (2001), onde a solução de ácido láctico a 1% eliminou a *Salmonella* spp. em 40% das amostras. Resultados encontrados no experimento de Alakomi et al. (2000) permitiram concluir que o ácido láctico é um potente agente desintegrador da membrana externa de bactérias Gram-negativas, o que foi evidenciado pela capacidade do ácido de liberar lipopolissacarídeos específicos e sensibilizar bactérias a detergentes ou lisozima. Vermelho et al. (2011) explicam que ácidos orgânicos como o ácido láctico são efetivos no controle do

crescimento de patógenos, uma vez que a maioria dos procaríotos é inibida por acidez.

O ozônio, apesar de ser um dos maiores agentes oxidantes já conhecidos, com poder de oxidação maior que do ácido hipocloroso (HOCl) e da cloramina (NH₂Cl) (WHO, 2000), apresentou-se pouco efetivo contra *Salmonella* spp. quando utilizado em qualquer uma das concentrações testadas neste estudo, mesmo sem interferência do ácido láctico (0%) e do hipoclorito de sódio (0 ppm). Observou-se, também, que a concentração máxima de ozônio estudada (1,2 ppm) não se mostrou mais efetiva do que a concentração de 0,3 ppm e que a ação conjunta de ozônio e ácido láctico foi mais efetiva na eliminação do patógeno que a utilização desses produtos isoladamente (Figura 1).

Dentre as 27 carcaças do abate 2, que tiveram seu pré-resfriamento com adição de hipoclorito de sódio a 5 ppm no primeiro estágio do “chiller”, apenas 1 (3,7%), apresentou positividade (Figura 2).

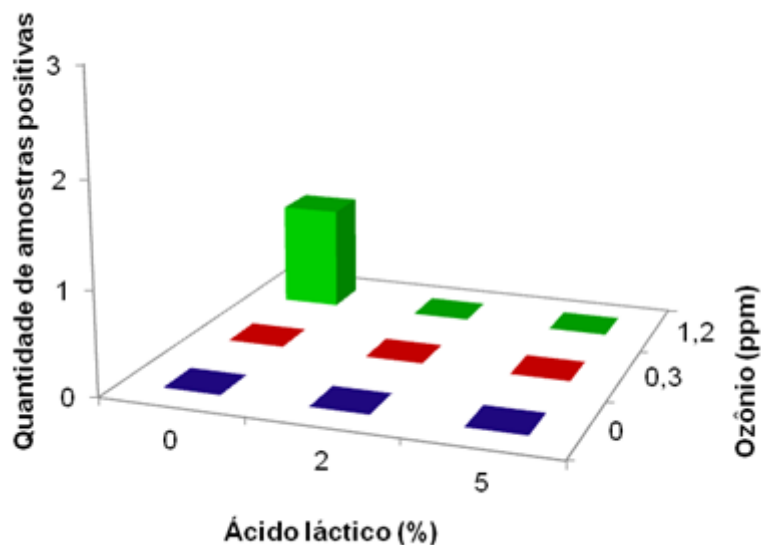


FIGURA 2 - Quantidade de amostras positivas para *Salmonella* spp. de carcaças submetidas ao pré-resfriamento com adição de 5 ppm de hipoclorito de sódio, com três concentrações de ozônio na água do “chiller” (0 ppm, 0,3 ppm e 1,2 ppm) e pulverizadas com soluções de ácido láctico em três concentrações (0%, 2% e 5%).

A comparação entre as Figuras 1 e 2 permite visualizar a efetividade do hipoclorito de sódio a 5 ppm na eliminação de *Salmonella* spp. Por outro lado, a interação entre hipoclorito de sódio e ozônio nas suas concentrações máximas mostrou-se menos efetiva sobre a eliminação do patógeno pesquisado, conforme evidenciado pela positividade em uma amostra (Figura 2). Segundo Shaydullina et al. (2005), o ozônio apresenta um potencial de oxidação de 2,07 V (ou 2,80 V quando se decompõe em solução aquosa em radicais hidroxila muito reativos), enquanto o ácido hipocloroso possui um potencial de oxidação de apenas 1,50 V. Assim, verificou-se que, apesar do caráter fortemente oxidante e bactericida do ozônio (MADIGAN et al., 2010), ele pode ser degradado durante a interação com o ácido hipocloroso, tendo sua atividade diminuída, conforme explicam Solimannejad et al. (2007).

Apesar do menor poder oxidante do ácido hipocloroso perante o ozônio, ele é eficaz contra vírus, bactérias Gram-positivas e negativas, fungos, micobactérias e endósporos (VERMELHO et al., 2011). De acordo com U.S.A. (2014a), o ácido hipocloroso é a forma de cloro livre disponível que tem a atividade bactericida mais elevada contra uma larga gama de microrganismos. Madigan et al. (2010) concordam com Vermelho et al. (2011) sobre o fato de o hipoclorito de sódio ser um agente oxidante que destrói as formas de vida microbiana e consideram-no um agente químico esterilizante, para uso como desinfetante e sanitizante, o que foi comprovado pelos resultados obtidos no presente estudo. Russell e Axtell (2005) comprovaram a eficácia do produto como desinfetante conseguindo eliminar populações de 6,5 a 7,5 log UFC/mL de *Salmonella*, *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* com o uso de hipoclorito de sódio na água do “chiller” a 50 ppm. Similarmente, Northcutt et al. (2007) concluíram que a pulverização de carcaças de frango com 50 mg/L de hipoclorito de sódio reduziu a carga de salmonelas resistentes ao ácido nalidíxico (*S. Typhimurium*, *S. Montevideo* e *S. Enteritidis*) em 2,4 log UFC/mL.

O hipoclorito de sódio é considerado um agente bacteriolítico pois, provoca a morte de bactérias pela lise e liberação do conteúdo citoplasmático (MADIGAN et al., 2010). Além disso, esse agente não é removido pela diluição,

o que o torna totalmente efetivo diante de uma contaminação microbiológica (U.S.A., 2014b).

Contudo, se práticas de higiene pessoal, higiene dos equipamentos e de superfícies de contato com os alimentos e boas práticas de elaboração que evitem contaminação cruzada não forem adequadamente utilizadas, a *Salmonella* ou qualquer outro contaminante pode não ser eliminada do alimento ou, ainda, pode ocorrer recontaminação. De acordo com Silva et al. (2001), um ponto crítico na operação de abate é, sem dúvida, a contaminação cruzada, na qual vísceras, às vezes perfuradas, podem entrar em contato com as carnes limpas, tornando-as potencialmente perigosas, uma vez que microrganismos patogênicos de importância em saúde pública podem estar presentes no trato digestivo dos animais.

4 CONCLUSÕES

Dentre os produtos químicos testados neste experimento, o hipoclorito de sódio a 5 ppm foi a melhor opção para a eliminação de *Salmonella* spp.

REFERÊNCIAS

ALAKOMI, H.L. et al. Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. **Applied and environmental microbiology**, v. 66, n. 5, p. 2001-2005, 2000. Disponível em: <<http://208.89.142.230/content/dam/tfs/LPG/LCD/LCD%20Documents/Peer%20Reviewed%20Papers%20OR%20Third-Party%20Papers/Microplate%20Instrumentation/Microplate%20Readers/D00570~.pdf>>. Acesso em: 23 jan. 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 210 de 10 de novembro de 1998. Aprovar o regulamento técnico da inspeção tecnológica e higiênico-sanitária de carne de aves. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 26 nov. 1998. Seção 1, p. 226.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Relatório do monitoramento da prevalência e do perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos em enterococos e salmonelas isolados de carcaças de frango congeladas comercializadas no Brasil**: Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frango – PREBAF. Brasília, 2008. 188 f.

COMISSÃO DAS COMUNIDADES EUROPEIAS. Regulamento (EU) nº 101/2013 da Comissão de 4 de fevereiro de 2013 relativo à utilização do ácido láctico para reduzir a contaminação superficial microbiológica das carcaças de bovinos. **Jornal Oficial da União Europeia**, Bruxelas, 5 fev, 2013. L 34.

DUARTE, A.M.D. et al. Occurrence of *Salmonella* spp. in broiler chicken carcasses and their susceptibility to antimicrobial agents. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 40, n. 3, p. 569-573, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/bjm/v40n3/v40n3a20.pdf>>. Acesso em: 04 jul. 2016.

EFSA. EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Scientific Opinion on the evaluation of the safety and efficacy of lactic acid for the removal of microbial surface contamination of beef carcasses, cuts and trimmings. **EFSA Journal**, v. 9, n.7, p. 2317, 2011.

FDA. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. *Salmonella*. In: FDA. **Bacteriological analytical manual**. 2007. Cap. 5. Disponível em: <<http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodScienceResearch/UCM244774.pdf>>. Acesso em: 03 fev. 2014.

FORSYTHE, S.J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

FUNDAÇÃO ANDRÉ TOSELLO. Carta de envio: **Linhagens Liofilizadas. AC-REL-F-002/00**. Revisão inicial. Emissão: 04/04/2014. Fundação André Tosello, Campinas, São Paulo. 2014.

ISO. INTERNATIONAL ORGANIZATION OF STANDARDIZATION. ISO 6579:2002. **Microbiology of food and animal feed: horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella***. 2007.

KANASHIRO, A.M.I. et al. ***Salmonella* em suabes de superfície em abatedouro avícola**. Descalvado: Instituto Biológico, Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica do Agronegócio Avícola, 2007.

MACEDO, J.A.B.; OLIVEIRA, F.S. Desinfecção secundária: o estado da arte do processo desinfecção em ETA's, com redução de custos operacionais e garantia da qualidade. **Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 3, n. 2, 2010. Disponível em: <<http://www.intertox.com.br/documentos/v3n2/rev-v03-n02-04.pdf>>. Acesso em: 24 jan. 2016.

MADIGAN, M.T. et al. **Microbiologia de brock**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 1160 p.

NORTHCUTT, J. et al. Recovery of bacteria from broiler carcasses after spray washing with acidified electrolyzed water or sodium hypochlorite solutions. **Poultry Science**, v. 86, n. 10, p. 2239-2244, 2007. Disponível em: <<http://ps.oxfordjournals.org/content/86/10/2239.long>>. Acesso em: 04 jul. 2016.

NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Prudent practices in the laboratory: handling and disposal of chemicals**. Commission on Physical Sciences, Mathematics, and Applications. National Academy Press. Washington, D.C. 1995. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=3UArAAAYAAJ&printsec=frontcover&q=Prudent+Practices+in+the+Laboratory:+Handling+and+Disposal+of+Chemicals&hl=pt-PT&sa=X&ved=0ahUKEwiL_e6r1I7NAhXGXR4KHS6LAioQ6wEIjAA#v=onepage&q=Prudent%20Practices%20in%20the%20Laboratory%3A%20Handling%20and%20Disposal%20of%20Chemicals&f=false>. Acesso em: 04 jun. 2016.

RODRÍGUEZ-ROMO, L.A.; YOUSEF, A.E. Inactivation of *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis on shell eggs by ozone and radiation. **Journal of Food Protection**, v. 68, p. 711-717, 2005.

RUSSELL, S.M.; AXTELL, S.P. Monochloramine versus sodium hypochlorite as antimicrobial agents for reducing populations of bacteria on broiler chicken carcasses. **Journal of Food Protection**, v. 68, n. 4, p. 758-763, 2005.

SAS. STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM, User's Guide. 2009. Institute Inc. SAS/STAT 9.2. Cary: SAS Institute Inc.

SHAYDULLINA, G.M.; SINIKOVA, N.A.; LEBEDEV, A.T. Reaction of ortho-methoxybenzoic acid with the water disinfecting agents ozone, chlorine and sodium hypochlorite. **Environmental Chemistry Letters**, v. 3, n. 1, p 1-5, 2005.

SILVA, J. A.; SOARES L. F.; COSTA, E. L. Sanitização de carcaças de frango com soluções de ácidos orgânicos comerciais e suco de limão. **TeC Carnes**, Campinas, SP, v.3, n.1, p.19-26, 2001. Disponível em: <<http://www.comciencia.br/teccarnes/pdf/joao.pdf>> Acesso em: 22 jan. 2016.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007. 552 p.

SOLIMANNEJAD, M.; ALKORTA, I.; ELGUERO, J. Stabilities and properties of O₃-HOCl complexes: A computational study. **Chemical Physics Letters**, v. 449, n. 1-3, p 23-27, 2007.

TESSARI, E.N.C. et al. Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças de frango industrialmente processadas, procedentes de explorações industriais do Estado de São Paulo, Brasil. **Ciência Rural**, v. 38, n. 9, p. 2557-2560, 2008.

U.S.A. United States Department of Agriculture – USDA. Food Safety and Inspection Service – FSIS. **Salmonella analysis**: collecting raw meat and poultry products samples. Washington, DC: USDA, 1998. p. 1-67.

U.S.A. U.S. Food and Drug Administration. Chapter V. **Methods to reduce/eliminate pathogens from produce and fresh-cut produce**: analysis and evaluation of preventive control measures for the control and reduction/elimination of microbial hazards on fresh and fresh-cut produce. 2014b. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/SafePracticesforFoodProcesses/ucm091363.htm>>. Acesso em: 22 jan. 2016

U.S.A. United States Department of Agriculture – USDA. **Food Safety and Inspection Service** – FSIS. Laboratory Guidebook: notice of change. Athens, GA. p. 1-19. 2014a.

U.S.A. United States Department of Agriculture – USDA. Food Safety and Inspection Service – FSIS. **FSIS Directive 7120, Revision 33**. Safe and suitable ingredients used in the production of meat, poultry, and egg products. Washington, DC, USDA, 2016. p. 1-89.

VERMELHO, A.B. et al. **Práticas de microbiologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. 256 p.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Environmental Health Criteria 216: Disinfectants and disinfectant by-products. In: WHO. **Chemistry of disinfectants and disinfectant by-products**. Geneva. 2000. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/42274/1/WHO_EHC_216.pdf>. Acesso em: 04 jun. 2016.

WHO/FAO. WORLD HEALTH ORGANIZATION / FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Risk assessment of *Salmonella* in eggs and broiler chickens**. Microbiological Risk Assessment Series. EUA: WHO, 2002.

WHO/FAO. WORLD HEALTH ORGANIZATION / FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. *Codex Alimentarius*: International Food Standards. In: WHO. **Guidelines for the control of *Campylobacter* and *Salmonella* in chicken meat**. 2-26. CAC/GL 78-2011. 2011.

CAPÍTULO 3 – EFEITOS DO USO DE DESCONTAMINANTES QUÍMICOS EM CARÇAÇAS DE FRANGOS E SUAS CONSEQUÊNCIAS PARA A QUALIDADE DA CARNE

RESUMO – A tendência dos países produtores e exportadores de carne de frango em utilizar sanitizantes para a descontaminação química das carcaças traz a necessidade de estudar se tais sanitizantes provocam alterações nas características da carne. Este estudo teve o objetivo de avaliar se a utilização isolada e/ou conjunta de hipoclorito de sódio (HS), ozônio (Oz) e ácido láctico (AL) causam alterações sobre a qualidade da carne mantida em duas condições de conservação em relação a pH, cor, rancidez e sabor. O experimento contou com 27 tratamentos, decorrentes de um arranjo fatorial 3 x 3 x 3, e com três repetições, sendo cada ave uma repetição. Os fatores testados foram três concentrações de HS na água do primeiro estágio do “chiller” (zero, 1 ppm e 5 ppm), três concentrações de Oz na água do segundo estágio do “chiller” (zero, 0,3 ppm e 1,2 ppm) e três concentrações de AL (zero, 2% e 5%) pulverizadas nas carcaças após o pré-resfriamento. O uso de HS e AL causou diminuição do pH e aumento de luminosidade, enquanto que o uso de Oz provocou aumento do pH da carne de coxa refrigerada. O HS causou a diminuição da rancidez em carne congelada bem como a diminuição do vermelho e do amarelo. Interações significativas foram observadas nos valores de rancidez com o uso de HS mais AL e HS mais Oz e nos valores de luminosidade com o uso de HS mais AL. A análise sensorial não apontou diferença entre os tratamentos. Concluiu-se que, de um modo geral, todos os sanitizantes provocaram alterações nas características estudadas, destacando-se o hipoclorito de sódio. O uso isolado ou conjunto dos sanitizantes não afetou a aceitabilidade da carne de frango.

Palavras-chave: ácido láctico, cor, hipoclorito de sódio, ozônio, pH, rancidez, sabor

CHAPTER 3 - EFFECTS OF SANITIZER USE IN POULTRY CARCASSES FOR MEAT QUALITY

ABSTRACT - The trend in the use of sanitizers for the chemical decontamination of carcasses by chicken meat producer and exporter countries, raises the question whether such products may cause changes in meat characteristics. This study had the purpose to evaluate whether the use of sodium hypochlorite (HS), ozone (Oz) and lactic acid (LA) either alone or in combination, causes changes in meat quality in regards to pH, rancidity, color and taste following two storage conditions. The experiment included 27 treatments in a factorial 3 x 3 x 3 with three replications, each bird being one replicate. Tested factors were three concentrations of HS used in the water of the first stage of the "chiller" (zero, 1 and 5 ppm), three concentrations of Oz in the water of the second stage of the "chiller" (zero, 0.3 and 1.2 ppm) and three concentrations of AL (zero, 2 and 5%) sprayed on the carcasses after precooling. HS and AL decreased the pH and increased lightness, while Oz increased pH of the refrigerated thigh meat. HS decreased the rancidity in the frozen meat, as well as redness and yellowness. Significant interactions were observed in rancidity values using HS with AL and HS with Oz, and in lightness with the use of HS combined with AL. Sensory analysis showed no difference among the treatments. It was concluded that, in general, all sanitizers caused changes in the characteristics studied, especially sodium hypochlorite. The use of the sanitizers, either alone or in combination, did not affect the acceptability of the chicken meat.

Keywords: lactic acid, color, sodium hypochlorite, ozone, pH, rancidity, taste

1 INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa a primeira posição no *ranking* de países exportadores de carne de frango e a segunda posição na produção (U.S.A., 2016a) e, para manter essa condição, é necessário que continue produzindo esse alimento de forma segura, ou seja, não causando dano ao consumidor quando for preparado e consumido de acordo com o uso pretendido (FAO, 2003).

No intuito de regulamentar a aplicação de medidas higiênico-sanitárias no abate de aves, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) preocupou-se em minimizar contaminações microbiológicas no produto final, permitindo que a água de renovação do sistema de pré-resfriamento por imersão das carcaças de aves seja hiperclorada com, no máximo, 5 ppm de cloro livre (BRASIL, 1998). Os Estados Unidos e os países membros da União Europeia também aprovaram a utilização de produtos químicos em carcaças de aves ou de bovinos a fim de minimizar o risco microbiológico, tais como o hipoclorito de sódio, o ozônio e o ácido láctico, cujo uso foi permitido pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) (U.S.A., 2016b) e o ácido láctico, com uso permitido pela União Europeia em 2013 (COMISSÃO, 2013).

Dentre outros sanitizantes aprovados para o mesmo fim, o hipoclorito de sódio, o ácido láctico e o ozônio oferecem facilidade de utilização pelas indústrias de carne de aves, podendo ser aplicados por meio da água do pré-resfriador ou por pulverização em carcaças pré-resfriadas. Apesar de o uso desses sanitizantes na indústria de carne de aves estar regulamentado, não há estudos a respeito dos efeitos do seu uso conjunto sobre as características de qualidade da carne.

É sabido que o pH da carne de frango deve ser menor que 6,5, pois a maioria dos microrganismos cresce melhor em valores de pH próximos à neutralidade (6,5 a 7,5) (NESPOLO et al., 2015). Também se sabe que menores valores de TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances) indicam menor oxidação de lipídios em carnes, reação que leva à formação de hidroperóxidos e radicais livres, gerando compostos de aroma e sabor característicos de ranço

(KOBLOITZ, 2011). Em relação à cor da carne de frango, sabe-se que ela está relacionada com as fibras musculares e com o pigmento mioglobina e é uma das características que mais influenciam a compra (VENTURINI et al., 2007).

Considerando a importância do uso de sanitizantes para a obtenção de um alimento seguro e a possibilidade desses produtos provocarem alterações nas propriedades químicas e sensoriais da carne de frango, este estudo teve o objetivo de avaliar se a utilização isolada e/ou conjunta de hipoclorito de sódio, ozônio e ácido láctico causam alterações sobre o pH, a rancidez lipídica, a cor e o sabor da carne de frango.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Oitenta e um frangos de corte de linhagem comercial foram criados no galpão experimental da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba (FMVA/Unesp) e abatidos no abatedouro experimental da FMVA de acordo com os procedimentos legais (BRASIL, 1998) e aprovados pela Comissão de Ética de Uso Animal da referida faculdade (ARAC/FO 633/2013).

O experimento seguiu um delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial 3 x 3 x 3, totalizando 27 tratamentos, com três repetições. Os fatores testados foram três concentrações de hipoclorito de sódio (HS) na água do primeiro estágio do “chiller” (zero, 1 e 5 ppm), três concentrações de ozônio (Oz) na água do último estágio do “chiller” (zero, 0,3 e 1,2 ppm) e três concentrações de ácido láctico (AL) (zero, 2 e 5%) pulverizadas nas carcaças após o pré-resfriamento (Tabela 1).

Tabela 1 – Descrição dos tratamentos utilizados no experimento

Tratamentos	Concentração de hipoclorito de sódio na água (ppm)	Concentração de ozônio na água (ppm)	Concentração de ácido láctico na pulverização (%)
1	0	0	0
2	0	0	2
3	0	0	5
4	0	0,3	0
5	0	0,3	2
6	0	0,3	5
7	0	1,2	0
8	0	1,2	2
9	0	1,2	5
10	1	0	0
11	1	0	2
12	1	0	5
13	1	0,3	0
14	1	0,3	2
15	1	0,3	5
16	1	1,2	0
17	1	1,2	2
18	1	1,2	5
19	5	0	0
20	5	0	2
21	5	0	5
22	5	0,3	0
23	5	0,3	2
24	5	0,3	5
25	5	1,2	0
26	5	1,2	2
27	5	1,2	5

O pré-resfriamento foi realizado em equipamento automático constituído de um tanque dotado de rosca sem fim, dividido em dois estágios (“chiller”), de acordo com o modo, o tempo e a temperatura permitidos pela legislação (BRASIL, 1998). No primeiro estágio, a temperatura da água foi mantida a 16 °C e o tempo de permanência das carcaças foi de 30 minutos. Nessa seção, foi realizada a aplicação de hipoclorito de sódio nas concentrações experimentais. No segundo estágio do tanque, a temperatura da água foi mantida em, no máximo, 4 °C, o nível de cloro residual livre foi mantido em zero e foi feita a aplicação de água ozonizada nas concentrações experimentais citadas. Para

isso, foram utilizados quatro geradores de ozônio com capacidade de gerar 0,3 ppm de O₃ cada (Figura 1).



FIGURA 1 – a) geradores de ozônio; b) bomba d'água; c) primeiro estágio do “chiller”; d) segundo estágio do “chiller”.

Após atingirem 7 °C no interior da massa muscular, as carcaças foram retiradas do “chiller”, penduradas com a abertura abdominal para baixo para o escoamento do excesso de água e, em seguida, cada carcaça foi pulverizada com 100 mL das soluções de ácido láctico nas concentrações experimentais.

Ao final, cada carcaça foi embalada individualmente e refrigerada por 24 horas, quando foram avaliados os parâmetros pH, rancidez e cor. Após essas análises, cada carcaça foi dividida ao meio, sendo uma metade mantida sob refrigeração por 10 dias e a outra metade congelada por 60 dias. Terminado o período de armazenamento, os parâmetros citados foram novamente mensurados e foram realizadas as análises sensoriais.

2.1 Determinação de pH

O pH das carcaças foi determinado nos músculos do peito e da coxa utilizando-se um pHmetro portátil de inserção com compensador de temperatura, marca Mettler Toledo, modelo 1120-X.

2.2 Determinação da rancidez

A rancidez foi determinada pelo valor das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS – Thiobarbituric Acid Reactive Substances), utilizando-se a metodologia de Tarladgis et al. (1960) modificada por Avanço (2012). A absorbância foi medida a 532 nm em espectrofotômetro Hitachi U-1900. Os resultados foram expressos em mg de malonaldeído por kg de carne e calculados por meio da curva padrão de 1,1,3,3 – tetraetoxipropano.

2.3 Determinação da cor

A cor da carne do peito e da coxa foi medida após a remoção da pele. A mensuração foi realizada com luz padrão D65, ângulo de observação 10°, em triplicata, utilizando-se colorímetro de cor refletida portátil Mini Scan XE Plus (HunterLab), calibrado com padrões branco e preto. A cor objetiva foi expressa pelo sistema CIE L*a*b* da Commission Internationale de l'Eclairage (MINOLTA, 2007), tendo L* como luminosidade, a* como intensidade de vermelho/verde e b* como intensidade de amarelo/azul.

2.4 Análise sensorial

Na análise sensorial, foi utilizado um teste de preferência entre amostras de carne de peito das carcaças provenientes dos tratamentos 1, 3, 7 e 9, congeladas por 60 dias, e das carcaças provenientes dos tratamentos 19, 21, 25 e 27, refrigeradas por 10 dias e congeladas por 60 dias. A utilização da carne de

peito se justificou por proporcionar cortes mais uniformes para a degustação e a escolha dos tratamentos baseou-se em utilizar o tratamento 1 (Grupo controle) e os tratamentos com as maiores concentrações dos sanitizantes, isolados e em conjunto. As amostras foram assadas em forno elétrico, todas ao mesmo tempo, e degustadas sem sal.

As análises foram realizadas com a participação de 36 provadores não treinados, consumidores habituais de peito de frango, que receberam as quatro amostras codificadas com números de três dígitos, de maneira casualizada e balanceada. Cada provador recebeu uma ficha de avaliação sensorial individual (Figura 2) onde ordenaram as amostras degustadas de acordo com sua preferência em relação ao atributo sabor (IFT, 1981; MINIM, 2010).

FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL

Nome (opcional):

1 - Você está recebendo três amostras codificadas de carne de frango. Por favor, prove, avalie as amostras quanto ao sabor e coloque-as em ordem de sua preferência da esquerda para a direita.

1° (melhor)
2°
3°
4° (pior)

2 - Caso alguma das amostras tenha apresentado uma ou mais características que motivaram sua rejeição, indique abaixo qual foi a amostra e quais foram essas características.

Comentários:

Obrigado pela participação!

FIGURA 2 – Ficha de avaliação sensorial, individual, utilizada durante a análise.

2.5 Análise estatística dos resultados

Os dados foram analisados por meio do pacote Statistical Analysis System (SAS, 2012). Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo procedimento MIXED e, quando houve efeito significativo, as interações foram desdobradas comparando-se os tratamentos pelo teste de Tukey. A análise sensorial foi avaliada pelo Teste de Friedman. Todas as análises foram realizadas utilizando critério de significância de 5%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios de pH, TBARS e cor das amostras de carne de peito e coxa de frango armazenadas sob refrigeração por 10 dias e congelamento por 60 dias e suas interações estão apresentados nas Tabelas 2 a 6.

Tabela 2 – Valores médios de pH de amostras de carne de peito e coxa refrigeradas por 10 dias e congeladas por 60 dias e p valores para as variáveis

Efeitos ¹		pH ²			
		10 dias refrigeradas		60 dias congeladas	
		Peito	Coxa	Peito	Coxa
HS	0	6,20 a	6,50 a	5,99 a	6,23 a
	1	6,03 b	6,22 b	5,77 b	5,93 c
	5	5,95 c	6,10 c	5,81 b	6,06 b
Oz	0,0	6,05	6,24 b	5,86	6,08
	0,3	6,06	6,25 ab	5,88	6,10
	1,2	6,06	6,33 a	5,83	6,05
AL	0	6,08	6,34 a	5,89 a	6,11 a
	2	6,06	6,31 a	5,86 ab	6,08 ab
	5	6,03	6,18 b	5,82 b	6,03 b
EPM		0,017	0,025	0,014	0,019
Fonte de variação		Probabilidade			
HS		<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Oz		0,8765	0,0244	0,1275	0,2800
AL		0,2714	<0,0001	0,0267	0,0464
HS x Oz		0,4109	0,0500	0,5956	0,6897
HS x AL		0,0851	0,7675	0,8967	0,9070
Oz x AL		0,6393	0,0519	0,9557	0,2456
HS x Oz x AL		0,9684	0,6433	0,9771	0,4470

¹ HS, hipoclorito de sódio (ppm); Oz, ozônio (ppm); AL, ácido láctico (%).

² Os valores representam médias de 3 repetições (n = 1 por repetição) dentro de cada tratamento.

^{a-c} Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A formação de ácido hipocloroso (HOCl) devido à adição de hipoclorito de sódio na água (VERMELHO et al., 2011) causou diminuição progressiva do pH da carne refrigerada de peito e de coxa de acordo com a quantidade utilizada ($p < 0,05$). No entanto, nas amostras congeladas, apesar do abaixamento do pH da carne com a utilização de 1 ppm de HS, houve aumento do pH da carne tratada com 5 ppm do mesmo sanitizante. O congelamento gera cristais de gelo, consequentemente, gerando uma concentração de solutos na solução restante (BECKER; FRICKE, 1999) e, quanto maior a concentração de HS, maior a quantidade de solutos. Dentre eles, na composição desse sanitizante, encontra-se o hidróxido de sódio, conhecido por seu forte caráter alcalino (CLARK, 2013), sugerindo que a carne congelada tratada com 5 ppm de HS tenha apresentado maior pH devido a este componente.

O uso do ozônio a 1,2 ppm causou aumento significativo do pH nas amostras de coxa armazenadas em refrigeração quando comparado ao pH de amostras que não foram tratadas com ozônio ($p < 0,05$). De acordo com Pressman (1999), a água ozonizada pode alterar o pH em direção à alcalinidade.

Com a utilização de 5 ppm de ácido láctico, houve diminuição do pH das amostras de peito refrigeradas, peito e coxas congeladas ($p < 0,05$), resultado esperado devido ao caráter ácido do produto. É importante que, após o abate, o pH final da carne seja baixo a fim de retardar o crescimento de bactérias deteriorantes e preservar a cor desejável da carne (KOBLOITZ, 2010). De acordo com Nespolo et al. (2015), a maioria dos microrganismos cresce melhor em valores de pH próximos à neutralidade (6,5 a 7,5).

O uso do HS diminuiu significativamente o índice de TBARS quando utilizado a 1 ppm, mostrando que seu uso a 5 ppm não se faz necessário para o controle da rancidez da carne de coxa congelada (Tabela 3).

Tabela 3 – Valores médios do índice de rancidez (TBARS) da carne de coxa refrigeradas por 10 dias e congeladas por 60 dias e *p* valores para as variáveis

Efeitos ¹	TBARS ²		
		10 dias refrigeradas	60 dias congeladas
		Coxa	Coxa
HS	0	0,20	0,38 a
	1	0,16	0,32 b
	5	0,16	0,34 ab
Oz	0,0	0,18	0,34
	0,3	0,17	0,34
	1,2	0,17	0,36
AL	0	0,16	0,35
	2	0,16	0,35
	5	0,19	0,34
EPM		0,006	0,009
Fonte de variação			Probabilidade
HS		0,0043	0,0283
Oz		0,7476	0,4888
AL		0,0218	0,8216
HS x Oz		0,0196	0,6689
HS x AL		0,0089	0,2007
Oz x AL		0,6612	0,0452
HS x Oz x AL		0,3370	0,1787

¹ HS, hipoclorito de sódio (ppm); Oz, ozônio (ppm); AL, ácido láctico (%).

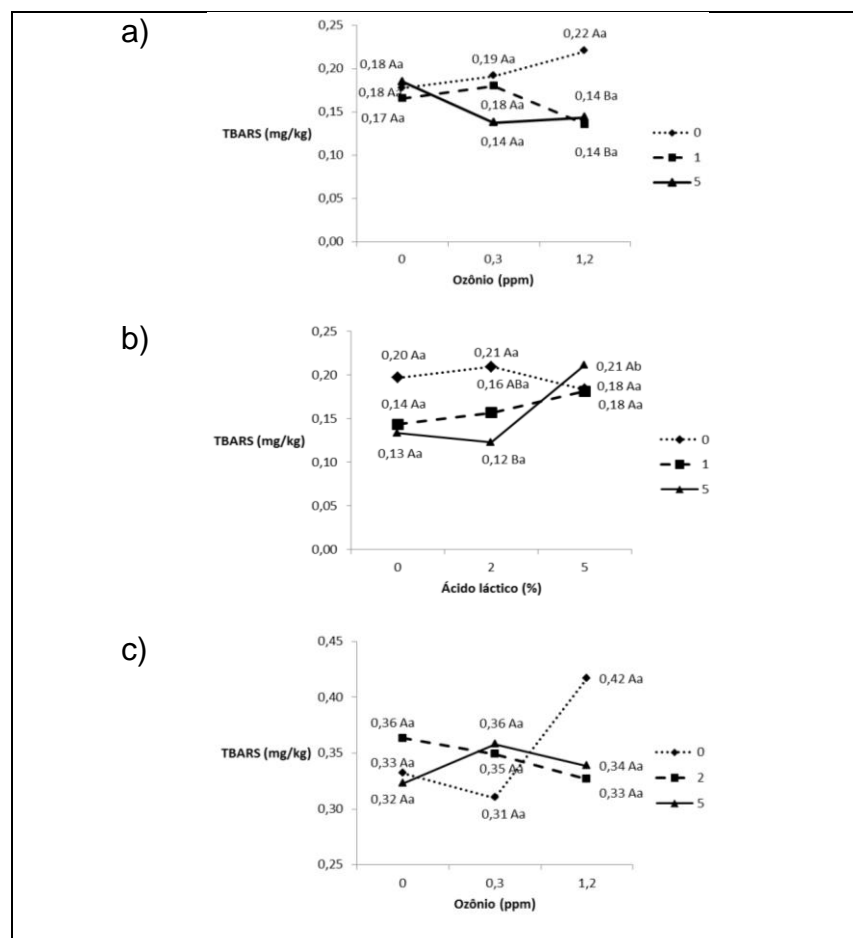
² Os valores representam médias de 3 repetições (n = 1 por repetição) dentro de cada tratamento. TBARS = índice de rancidez.

^{a-c}Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Foi encontrado um efeito significativo das interações entre os sanitizantes sobre os valores médios de TBARS das amostras refrigeradas (Figura 3). Apesar de o HS e o Oz agirem como pró-oxidantes, podendo acentuar a rancidez oxidativa (LIU; WATTS, 1970; VERMELHO et al., 2011), neste estudo os valores médios de TBARS do tratamento com esses sanitizantes de forma conjunta não apresentou diferença estatisticamente significativa nesse sentido (Figura 3 a), mostrando que a utilização de HS com a maior concentração de Oz diminuiu a rancidez, o que pode ser explicado pelo fato de o ácido hipocloroso estar envolvido na degradação do ozônio (SOLIMANNEJAD et al., 2007), diminuindo sua atividade oxidante. O uso do HS também diminuiu a rancidez quando utilizado com 2% de AL no mesmo modo e período de armazenamento (Figura 3 b). O índice de TBARS foi significativamente menor quando foram utilizados 5

ppm de HS e 2% de AL e significativamente maior com a utilização de 5 ppm de HS e 5% de AL, mostrando que a maior concentração dos dois sanitizantes, utilizados em conjunto na carne refrigerada por 10 dias (Figura 3 b) aumentaram a peroxidação lipídica. Essa reação provoca o desenvolvimento de rancidez na carne, independente da temperatura de conservação (KOBLITZ, 2011).

A interação entre OZ e AL, apesar de apresentar-se significativa estatisticamente durante a análise, mostrou-se sem diferença no seu desdobramento (Figura 3 c).



Letras maiúsculas, no eixo Y. Letras minúsculas, no eixo X.

FIGURA 3 – Desdobramento das interações entre a) HS e Oz nos valores de TBARS de amostras de carne de coxa de frango refrigeradas por 10 dias; b) HS e AL nos valores de TBARS de coxa de frango refrigeradas por 10 dias; c) Oz e AL nos valores de TBARS de coxa de frango congeladas por 60 dias.

Embora a cor da carne não necessariamente reflita seu valor nutricional, funcional ou “flavor”, ela determina a preferência dos consumidores, que se baseiam na aparência do produto no momento da compra (POMERANZ; MELOAN, 2000). Os valores de L*, a* e b* para carne de frango variam de acordo com o modo de análise desses parâmetros, o modo de produção das aves, a alimentação e o período de jejum pré-abate, o que inviabiliza a comparação dos dados na literatura com os dados deste trabalho.

Tabela 4 – Valores médios de L* das amostras de carne de peito e coxa refrigeradas por 10 dias e congeladas por 60 dias e p valores para as variáveis

Efeitos ¹		L* ²			
		10 dias refrigeradas		60 dias congeladas	
		Peito	Coxa	Peito	Coxa
HS	0	63,86 a	64,35 a	61,90 a	64,77
	1	66,32 b	67,06 b	63,09 a	61,34
	5	68,68 c	66,46 ab	67,05 b	61,27
Oz	0,0	65,89	66,31 a	63,26	61,66
	0,3	66,99	64,11 a	65,14	61,68
	1,2	65,99	67,44 a	63,63	64,06
AL	0	65,23 a	64,71 a	62,84 a	62,39
	2	66,27 ab	65,56 ab	63,65 ab	60,85
	5	67,37 b	67,60 b	65,54 b	64,15
EPM		0,382	0,509	0,478	0,557
Fonte de variação		Probabilidade			
HS		<0,0001	0,0394	<0,0001	0,0054
Oz		0,3051	0,0116	0,1146	0,0735
AL		0,0300	0,0305	0,0170	0,0257
HS x Oz		0,6383	0,0595	0,1796	0,3017
HS x AL		0,7187	0,8461	0,1174	0,0458
Oz x AL		0,8925	0,2777	0,2613	0,2346
HS x Oz x AL		0,5793	0,2520	0,7670	0,5298

¹ HS, hipoclorito de sódio (ppm); Oz, ozônio (ppm); AL, ácido láctico (%).

² Os valores representam médias de 3 repetições (n = 1 por repetição) dentro de cada tratamento.

^{a-c} Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

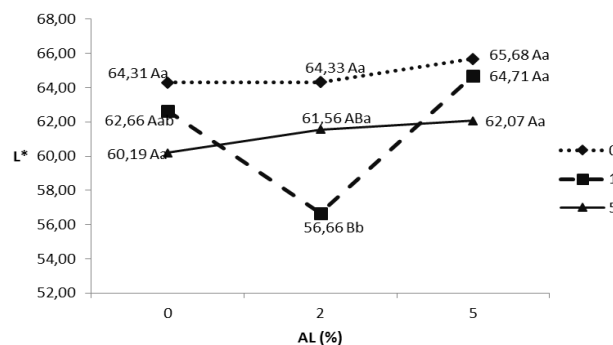
De modo geral, as amostras descongeladas apresentaram-se mais escuras (menor L*) que as amostras refrigeradas, tendo como valores médios de L*: 66,29 e 65,96, respectivamente, para amostras de peito e coxa refrigeradas, e 64,01 e 62,46, respectivamente, para amostras de peito e coxa congeladas. Em seu experimento com carne de peito de frango, Ali et al. (2015)

encontraram que os valores de L* diminuíram com os ciclos de congelamento e descongelamento devido à desnaturação proteica.

O uso de HS apresentou aumento significativo da L* durante o armazenamento refrigerado em amostras de peito e coxa e armazenamento congelado de amostras de peito (Tabela 4). Além de oxidante, o hipoclorito de sódio é considerado um agente alvejante (NCI, 2016).

A luminosidade apresentou-se significativamente maior quando utilizada a maior concentração de AL, independentemente do modo e do período de armazenamento (Tabela 4). A maior presença de ácidos e consequente diminuição no pH aumentam o grau de desnaturação das proteínas miofibrilares, o que afeta a capacidade de retenção de água, fazendo com que haja menor quantidade de água intracelular, refletindo mais luz e tornando o músculo mais claro (JOO et al., 1999; MILLER, 2007; OLIVO et al., 2001).

A ação esperada no desdobramento da interação entre HS e AL nas amostras de coxa congeladas era de potencialização do efeito dos ácidos hipocloroso e láctico, aumentando a luminosidade. No entanto, maiores valores de L* foram observados com o uso de AL na ausência de HS ou apenas 1 ppm (Figura 4), sugerindo uma diminuição do efeito alvejante do HS.



Letras maiúsculas, no eixo Y. Letras minúsculas, no eixo X.

FIGURA 4 – Desdobramento da interação entre HS e AL em amostras de carne de coxa de frango congeladas por 60 dias.

No armazenamento refrigerado e congelado, os menores valores de a* em carne de peito foram observados quando utilizada a concentração máxima

de HS ($p < 0,05$), o mesmo ocorrendo com as amostras de coxa congeladas (Tabela 5). A mioglobina é o único pigmento presente em quantidades suficientes na carne para conferir a cor vermelha (BOBBIO; BOBBIO, 1989), porém tal pigmento pode deixar de ser vermelho brilhante e tornar-se metamioglobina, de cor marrom, em caso de excessiva oxidação (POTTER; HOTCHKISS, 1995). É sabido que o HS é um agente oxidante (MADIGAN et al., 2010) e, em maior concentração, provoca maior oxidação.

O valor de a^* foi estatisticamente menor na carne de coxa congelada tratada com 5% de AL em comparação com 2% AL. Porém, a utilização de qualquer uma das concentrações não provocou diferença significativa nos valores de a^* encontrados no tratamento sem AL. De acordo com Potter e Hotchkiss (1995), mudanças de cor dos pigmentos podem ocorrer, sendo afetadas por oxigênio, acidificação da carne e exposição à luz.

Tabela 5 – Valores médios e interações de a^* da carne de peito e coxa refrigeradas por 10 dias e congeladas por 60 dias

Efeitos ¹		a^* ²			
		10 dias refrigeradas		60 dias congeladas	
		Peito	Coxa	Peito	Coxa
HS	0	6,98 a	5,80	6,25 a	6,20 a
	1	6,33 a	5,90	7,04 a	7,79 b
	5	4,36 b	5,55	3,71 b	5,25 a
O	0,0	6,19	5,60	5,72	6,89
	0,3	5,68	6,21	5,21	6,26
	1,2	5,80	5,45	6,08	6,09
AL	0	5,98	5,61	5,81	6,38 ab
	2	5,86	5,96	5,75	7,06 a
	5	5,84	5,69	5,45	5,80 b
EPM		0,188	0,175	0,253	0,215
Fonte de variação		Probabilidade			
HS		<0,0001	0,6920	<0,0001	<0,0001
O		0,3059	0,1720	0,2184	0,1516
AL		0,9016	0,6775	0,7318	0,0171
HS x O		0,8063	0,2282	0,6302	0,6903
HS x AL		0,6561	0,6040	0,1730	0,0556
O x AL		0,1223	0,0679	0,1774	0,7277
HS x O x AL		0,1536	0,5926	0,8824	0,7710

¹ HS, hipoclorito de sódio (ppm); Oz, ozônio (ppm); AL, ácido láctico (%).

² Os valores representam médias de 3 repetições (n = 1 por repetição) dentro de cada tratamento.

^{a-c} Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Com o uso de HS a 5 ppm, seja no armazenamento refrigerado ou congelado, houve diminuição nos valores médios de b^* (Tabela 6). Os carotenoides provenientes da alimentação podem influenciar a cor da carne por apresentarem coloração que varia do amarelo ao vermelho e por se depositarem nos músculos. No entanto, eles podem sofrer oxidação na presença de luz, calor e de compostos pró-oxidantes (MELÉNDEZ-MARTINEZ et al., 2004) como o hipoclorito de sódio.

Tabela 6 – Valores médios e interações fatoriais de b^* da carne de peito e coxa refrigeradas por 10 dias e congeladas por 60 dias

Efeitos ¹	b^* ²				
	10 dias refrigeradas		60 dias congeladas		
	Peito	Coxa	Peito	Coxa	
HS	0	15,82 a	13,67 a	16,10 a	13,74 a
	1	15,75 a	11,24 b	15,33 a	11,71 b
	5	13,11 b	9,79 c	12,61 b	11,22 b
O	0,0	15,18	11,56	13,90 a	12,73
	0,3	15,00	11,53	14,94 a	12,59
	1,2	14,50	11,61	15,20 a	11,35
AL	0	14,62	11,22	15,01	12,65
	2	15,37	11,13	14,45	11,93
	5	14,69	12,36	14,57	12,09
EPM		0,219	0,295	0,279	0,336
Fonte de variação		Probabilidade			
HS		<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0037
O		0,2498	0,9923	0,0499	0,1450
AL		0,1485	0,0781	0,5575	0,6140
HS x O		0,2396	0,9675	0,2620	0,7081
HS x AL		0,7132	0,5652	0,4501	0,8725
O x AL		0,3590	0,9023	0,2082	0,1822
HS x O x AL		0,7464	0,2337	0,8801	0,1113

¹ HS, hipoclorito de sódio (ppm); Oz, ozônio (ppm); AL, ácido láctico (%).

² Os valores representam médias de 3 repetições (n = 1 por repetição) dentro de cada tratamento.

^{a-c} Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os resultados da análise sensorial apresentaram os seguintes valores de p : 0,6232 para os tratamentos 19, 21, 25 e 27 sob armazenamento refrigerado, 0,2644 para armazenamento congelado e 0,3820 para os tratamentos 1, 3, 7 e 9 sob armazenamento congelado, demonstrando que o uso dos sanitizantes não afetou o sabor do produto nem a sua aceitabilidade.

4 CONCLUSÕES

Todos os sanitizantes provocaram alterações no pH, na rancidez e na cor da carne de frango, quando utilizados isoladamente ou em combinação, porém, as maiores alterações foram detectadas com o uso de hipoclorito de sódio isoladamente ou em interação com ácido láctico e ozônio. O uso dos sanitizantes não afetou a aceitabilidade da carne de frango.

REFERÊNCIAS

ALI, S. et al. Effect of multiple freeze–thaw cycles on the quality of chicken breast meat. **Food Chemistry**, v. 173, p. 808–814, 2015.

AVANÇO, S.V. **Aplicação da biomassa de *Rubrivivax gelatinosus* na ração de frangos de corte**: desempenho animal e características dos produtos. 2012. 71 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2012.

BECKER, B. R.; FRICKE, B. A. Freezing times of regularly shaped food items. **International Communications in Heat and Mass Transfer**, v. 26, n. 5, p. 617-626, 1999.

BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P. A. **Introdução à química de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Varela, 1989. 223 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 210 de 10 de novembro de 1998. Aprovar o regulamento técnico da inspeção tecnológica e higiênico-sanitária de carne de aves. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 26 nov. 1998. Seção 1, p. 226.

CLARK, J. **Strong and weak bases**. 2013. Disponível em: <<http://www.chemguide.co.uk/physical/acidbaseeqia/bases.html>>. Acesso em: 02 jun. 2016.

COMISSÃO DAS COMUNIDADES EUROPEIAS. Regulamento (EU) nº 101/2013 da Comissão de 4 de fevereiro de 2013 relativo à utilização do ácido láctico para reduzir a contaminação superficial microbiológica das carcaças de bovinos. **Jornal Oficial da União Europeia**, Bruxelas, 5 fev, 2013. L 34.

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Recommended international code of practice general principles of food hygiene. **Rev.**, v. 4, p. 1-31, 2003. Disponível em: <<http://www.mhlw.go.jp/english/topics/importedfoods/guideline/dl/04.pdf>>.

Acesso em: 10 abr. 2016.

IFT. INSTITUTE OF FOOD TECHNOLOGISTS. Sensory evaluation guide for testing food and beverages products. **Food Technology**, v. 35, n. 11, p. 50-59, 1981.

JOO, S.T. et al. The relationship of sarcoplasmic and myofibrillar protein solubility to colour and water-holding capacity in porcine longissimus muscle. **Meat Science**, v. 52, n. 3, p. 291-297, 1999.

KOBLITZ, M.G.B. **Bioquímica de alimentos: teoria e aplicações práticas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2010. 242 p.

KOBLITZ, M.G.B. Carnes. In: KOBLITZ, M.G.B. **Matérias-primas alimentícias: composição e controle de qualidade**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. 301 p.

LIU, H.P.; WATTS, B.M. Catalysts of lipid peroxidation in meats: 3. Catalysts of Oxidative Rancidity in Meats. **Journal of Food Science**. v. 35, n. 5, p. 596–598, 1970. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2621.1970.tb04819.x/abstract>>. Acesso em: 09 abr. 2016.

MADIGAN, M.T. et al. **Microbiologia de brock**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 1160 p.

MELÉNDEZ-MARTINEZ, A.J.; VICARIO, I.M.; HEREDIA, F. Estabilidad de los pigmentos carotenoides em los alimentos. **Archivos latinoamericanos de**

nutrición, v. 54, n. 2, p. 209-215, 2004. Disponível em: <http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222004000200011&lng=es&nrm=iso>. Acesso em: 03 jun. 2016.

MILLER, M. **Dark, firm and dry beef**. Beef Facts: Product Enhancement. Texas Tech University, 2007.

MINIM, V.P.R. **Análise sensorial: estudos com consumidores**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2010. 308 p.

MINOLTA, K. **Precise color communication**. 2007. Disponível em: <http://www.konicaminolta.com/instruments/knowledge/color/pdf/color_communication.pdf>. Acesso em: 10 abr. 2016.

NCI. NATIONAL CANCER INSTITUTE. U.S. National Institutes of Health. **Sodium hypochlorite**. 2016. Disponível em: <https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/ConceptReport.jsp?dictionary=NCI_Thesaurus&ns=NCI_Thesaurus&code=C80658>. Acesso em: 28 mai. 2016.

NESPOLO, C.R. et al. Métodos de conservação de alimentos. In: NESPOLO, C.R. et al. **Práticas em tecnologia de alimentos**. Porto Alegre: Artmed. 2015.

OLIVO, R.; GUARNIERI, P. D.; SHIMOKOMAKI, M. Fatores que influenciam na cor de filés de peito de frango. **Revista Nacional da Carne**. São Paulo. v. 25. n. 289. p. 44-49. 2001.

POMERANZ, T.; MELOAN, C.E. **Food analysis: theory and practice**. 3th. ed. New York: Chapman & Hall, 2000. 778 p.

POTTER, N.N.; HOTCHKISS, J.H. **Food Science**. 5th. ed. New York: Chapman & Hall, 1995.

PRESSMAN, S. **O3 Center**: ionizers vs. ozone. 1999. Disponível em: <<http://www.o3center.org/Equipment/IonizersvsOzone.html>>. Acesso em: 03 jun. 2016.

SAS. STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM, 2012. **SAS/STAT 9.3 User's Guide**. Cary: SAS Institute Inc.

SOLIMANNEJAD, M.; ALKORTA, I.; ELGUERO, J. Stabilities and properties of O₃-HOCl complexes: A computational study. **Chemical Physics Letters**, v. 449, n. 1-3, p 23-27, 2007.

TARLADGIS, B.G.; WATTS, B.M.; YOUNATHAN, M.T. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 37, n. 1, p. 44-48, 1960.

U.S.A. United States Department of Agriculture – USDA. Food Safety and Inspection Service – FSIS. FSIS Directive 7120, Revision 33. **Safe and suitable ingredients used in the production of meat, poultry, and egg products**. Washington, DC: USDA, 2016b. p. 1-89.

U.S.A. United States Department of Agriculture – USDA. **Livestock and poultry**: world markets and trade. April 2016a. Disponível em: <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.pdf>. Acesso em: 03 jun. 2016.

VENTURINI, K.S.; SARCINELLI, M.F.; SILVA, L.C. Características da carne de frango. **Boletim Técnico**. 2007. Universidade Federal do Espírito Santo. Disponível em: <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/caracteristicas_da_carne_de_frango_000fy1kfoyu02wx5ok0pvo4k3r15t9pj.pdf>. Acesso em: 04 jun. 2016

VERMELHO, A.B. et al. **Práticas de microbiologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. 256 p.