

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DOS  
ALIMENTOS**

**EFEITO DA APLICAÇÃO DA ÁGUA ELETROLISADA FRACAMENTE ÁCIDA EM  
PEITOS DE FRANGO RESFRIADOS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Amanda Roggia Ruviaro**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2015**



**EFEITO DA APLICAÇÃO DA ÁGUA ELETROLISADA FRACAMENTE ÁCIDA EM  
PEITOS DE FRANGO RESFRIADOS**

**Amanda Roggia Ruviaro**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de  
Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, da  
Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS),  
como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.**

**Orientador: Prof. Dr. Alexandre José Cichoski**  
**Co-Orientador: Prof. Dr. Juliano Smanioto Barin**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2015**

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Roggia Ruviaro, Amanda  
EFEITO DA APLICAÇÃO DA ÁGUA ELETROLISADA FRACAMENTE  
ÁCIDA EM PEITOS DE FRANGO RESFRIADOS / Amanda Roggia  
Ruviaro.-2015.  
125 p.; 30cm

Orientador: Alexandre José Cichoski  
Coorientador: Juliano Smanioto Barin  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-  
Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, RS, 2015

1. água eletrolisada 2. microbiologia 3. desinfecção  
4. eletrólise 5. carne de frango I. José Cichoski,  
Alexandre II. Smanioto Barin, Juliano III. Título.

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Rurais  
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

**A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a dissertação de Mestrado**

**EFEITO DA APLICAÇÃO DA ÁGUA ELETROLISADA FRACAMENTE ÁCIDA EM  
PEITOS DE FRANGO RESFRIADOS**

elaborada por  
**Amanda Roggia Ruviaro**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

---

**Prof. Dr. Alexandre José Cichoski (UFSM)**  
(Presidente/Orientador)

---

**Prof. Dr. Juliano Smanioto Barin (UFSM)**  
(Co-Orientador)

---

**Prof. Dr. Roger Wagner (UFSM)**

---

**Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cássia Regina Nespolo (Unipampa)**

Santa Maria, 02 de fevereiro de 2015.



## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Santa Maria, que durante 7 anos me proporcionou momentos de superação, diversão e de aprendizado científico e cultural.

Ao professor Alexandre José Cichoski, que não mediu esforços para nos ajudar e incentivar a sermos melhores como pessoas e profissionais.

Aos amigos e colegas do Lab 109, vocês tornaram meus dias mais felizes. Obrigada pela parceria diária e pela disposição em ajudar.

À BRF, por confiar em nosso trabalho e nos apoiar no desenvolvimento de pesquisas voltadas à indústria.

Aos professores e funcionários do PPGCTA, em especial do NTA.

Ao professor Érico M. M. Flores e alunos da Química.

Aos colegas e amigos do PPGCTA, a parceria de vocês foi fundamental.

Aos amigos do Nidal. Sempre lembrarei vocês. Obrigada.

Aos meus pais e irmão, que mesmo distante se fizeram presente. Obrigada pelo incentivo e amor.

Às minhas queridas avós, por me amarem tanto.

Aos tios e tias, que me trataram como filha. Aos primos, por me tornarem irmã.

Aos amigos e suas famílias, por me fazer sentir parte da família.

Às amigas do 406, que se tornaram minhas irmãs. Vocês foram e são muito importantes na minha vida. Vou sentir saudades, muitas.

Aos amigos “distantes”, pela compreensão e carinho. Senti saudades.

À Capes, pelo auxílio financeiro e reconhecimento da importância dos trabalhos de pesquisa nas diferentes áreas.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho. Cada um de vocês foi importante nessa caminhada.



## RESUMO

Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Rurais  
Programa de Pós-Graduação de Ciência e Tecnologia de Alimentos

### **EFEITO DA APLICAÇÃO DA ÁGUA ELETROLISADA FRACAMENTE ÁCIDA EM PEITOS DE FRANGO RESFRIADOS**

AUTOR: Amanda Roggia Ruviaro

ORIENTADOR: Prof. Dr. Alexandre José Cichoski

CO-ORIENTADOR :Prof. Dr. Juliano Smanioto Barin

Local e data da defesa: Santa Maria, 02 de fevereiro de 2015.

Devido à sua composição, a carne de frango pode sofrer rápida deterioração pela presença de microrganismos, sendo que o tipo e número de microrganismos definem a qualidade higiênico-sanitária do produto. O uso da água eletrolisada fracamente ácida (AEFA) com alta concentração de cloro livre tem sido investigado na redução da carga microbiana de frangos de corte, mas com baixa concentração não se tem relatos. Esse trabalho teve como objetivo avaliar a estabilidade e método de aplicação da AEFA com 2, 5 e 10 mg/L de cloro livre em peitos de frango, e acompanhar a evolução dos microrganismos deteriorantes e a oxidação dos lipídios durante o armazenamento refrigerado. Estudou-se a estabilidade da AEFA com pH 6,0 com 2, 5 e 10 mg/L de cloro livre, determinando o potencial de oxirredução (POR), pH e concentração de cloro livre (CCL) ao longo de 5 dias de armazenamento a 4 °C. As AEFAs foram aplicadas nos peitos de frango pelo método de imersão e pela combinação de spray e imersão para avaliação da vida-útil de peitos de frango armazenados a 4 °C durante 6 dias. A vida-útil foi acompanhada pelo crescimento de bactérias mesófilas e psicotróficas, valor de pH e a evolução da oxidação lipídica foi acompanhada pelos níveis de TBARS. As AEFAs elaboradas mantiveram suas características de POR, pH e CCL durante o período de armazenamento estudado. Os peitos de frango apresentaram número inicial de microrganismos variado, o que influenciou na redução promovida pelo tratamento com AEFA, sendo que quanto maior a carga de bactérias mesófilas, menor a percentagem de redução promovida pela AEFA. Notou-se, em todos os métodos de aplicação, que a AEFA foi mais efetiva frente às bactérias mesófilas do que as psicotróficas logo após a aplicação dos tratamentos, e que o pH dos peitos de frango não foram influenciados pela aplicação da AEFA. Entretanto, os diferentes tratamentos de AEFA aplicados não aumentaram o tempo de vida-útil dos peitos de frango, pois apresentaram carga microbiológica e pH considerados impróprios para o consumo no sexto dia de armazenamento. Mais estudos são necessários para esclarecer melhor o mecanismo de ação da AEFA frente às reações de oxidação lipídica

Palavras chaves: eletrólise, desinfecção, microbiologia; oxidação, pH; carne de frango, água eletrolisada fracamente ácida.



## **ABSTRACT**

Federal University of Santa Maria, RS, Brazil  
Post-Graduate Program in Food Science and Technology

### **EFFECTS OF SLIGHT ACID ELECTROLYZED WATER OF FROZEN CHICKEN BREAST MEAT**

**AUTHOR:** Amanda Roggia Ruviaro

**ADVISER:** Alexandre José Cichoski

Data and place of Defense: Santa Maria, February 02, 2015.

Chicken meat may suffer rapid deterioration because of spoilage microorganisms. The type and number of microorganisms define quality of the product. Many studies show the use of slight acid electrolyzed water (sAEA) with high free chlorine concentration (FCC) has been investigated to control and reduce the microbial growth of chicken meat. However sAEA with low levels of free chlorine were not studied. In the current study, the stability of sAEA with low free chlorine concentration and its application in chicken breast meat was assessed by evolution of microorganisms and lipid oxidation during storage. To assess the stability, sAEA with pH 6 and 10 mg/L of FCC was diluted for 2 and 5 mg/L and its oxidation-reduction potential (ORP), pH and FCC were determined over 5 days of storage at 4 °C. The sAEA was applied in chicken breast meat by immersion and by the combination of spray and immersion to evaluate the shelf-life during storage at 4 °C for 6 days. The shelf-life was evaluated by mesophilic and psychotrophic bacteria growth, pH value and lipid oxidation by TBARS levels. All of sAEA maintained their ORP, pH and FCC characteristics during the storage. The chicken breast meat showed varied initial number of microorganisms, which influence the reduction promoted by sAEA treatment. Higher mesophilic bacteria number show lower reduction by sAEA. In general, sAEA was more effective in reducing mesophilic than psychotrophic bacteria after treatment application. The chicken breast pH were not affected by sAEA. However, any sAEA application mode increase the shelf-life of chicken breast meat. TBARS values were confused, and further studies are necessary to clarify the sAEA action mechanism front lipid oxidation.

**Keywords:** electrolysis, disinfection, microbiology; oxidation, pH; chicken meat, slight acid electrolyzed water



## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Produção brasileira de carne de frango (milhões de toneladas) ao longo dos anos. ....	26
FIGURA 2 - Evolução do abate de frango (em bilhões de cabeças) por trimestre Brasil.....	27
FIGURA 3 - Evolução da microbiota dos frangos desde a chegada à indústria de processamento até o produto final.....	28
FIGURA 4. Princípio do equipamento de eletrólise utilizado para a produção de AE.....	34
FIGURA 5. Diagrama sistemático de (A) gerador de eletrólise formado pelo ânodo e pelo cátodo na mesma cavidade (B) gerador de eletrólise formado pelo ânodo e pelo cátodo separados por uma membrana.....	35
FIGURA 6 - Concentração de cloro livre (CCL%) e seus compostos de acordo com o pH da AE.....	36
FIGURA 7. Fotografia do aparelho eletrolisador Demo-20, e saída de água eletrolisada ácida e básica.....	41
FIGURA 8 - Posição das mangueiras no eletrolisador durante a produção de água eletrolisada francamente ácida.....	42
FIGURA 9. Esquema simplificado de renovação de AD e AEFA durante a imersão dos peitos de frango.....	44
FIGURA 10 - Esquema de aplicação da AD e da AEFA pelo do sistema de spray nos peitos de frango.....	45
FIGURA 11 – Relação entre valor de POR e pH das AEFAs produzidas com salmoura 0,025% de NaCl à 10° C, e armazenadas a 4 °C durante 96 h.....	51
FIGURA 12 – Concentração de cloro livre (CCL) da AEFAm e das AEFAd produzidas com salmoura 0,025% de NaCl à 10° C, e armazenadas a 4 °C durante 96 h.....	53
Figura 13 - Número de colônias de bactérias mesófilas nos peitos de frangos antes da imersão (controle C) e logo após a imersão em AD e em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6.....	55
FIGURA 14 - Número de colônias de bactérias psicrotróficas nos peitos de frangos antes da imersão (controle C) e logo após a imersão em AD e em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6.....	57
FIGURA 15 - Número de colônias de bactérias mesófilas nos peitos de frangos antes da imersão (controle C) e logo após a imersão em AD e em AEFA com 5mg/L de cloro livre e pH 6.....	59
FIGURA 16 - Número de colônias de bactérias psicrotróficas nos peitos de frangos antes da imersão (controle C) e logo após a imersão em AD e em AEFA com 5 mg/L de cloro livre e pH 6.....	60
FIGURA 17 – Número de colônias de bactérias mesófilas nos peitos de frangos antes da imersão (controle C) e logo após a imersão em AD e em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 5.....	61
FIGURA 18- Número de colônias de bactérias psicrotróficas nos peitos de frangos antes da imersão (controle C) e logo após a imersão em AD e em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 5.....	64
FIGURA 19 - Valores do potencial redox (POR) da AD e da AEFA antes e após a imersão dos peitos de frango durante trinta min.....	67
FIGURA 20 - Valores de pH da AD e da AEFA antes e após a imersão dos peitos de frango durante trinta min.....	68
FIGURA 21 - Número de colônias de bactérias mesófilas nos peitos de frangos antes da aplicação do spray e da imersão (controle C) e logo após a aplicação do spray e de spray mais imersão em AD e em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6.....	70
FIGURA 22 - Número de colônias de bactérias psicrotróficas nos peitos de frangos antes da aplicação do spray e da imersão (controle C) e logo após a aplicação do spray e de spray mais imersão em AD e em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6.....	72
FIGURA 23 - Bactérias mesófilas presentes no ar que alimenta a pistola de spray.....	73



FIGURA 24 - Número de colônias de bactérias mesófilas nos peitos de frangos antes da aplicação do spray e da imersão (controle C) e logo após a aplicação do spray e de spray mais imersão em AD e em AEFA com 5 mg/L de cloro livre e pH 6.....	74
FIGURA 25 - Número de colônias de bactérias psicotróficas nos peitos de frangos antes da aplicação do spray e da imersão (controle C) e logo após a aplicação do spray e de spray mais imersão em AD e em AEFA com 5 mg/L de cloro livre e pH 6. ....	75
FIGURA 26 -- Número de colônias de bactérias mesófilas nos peitos de frangos antes da aplicação do spray e da imersão (controle C) e logo após a aplicação do spray e de spray mais imersão em AD e em AEFA ..	77
FIGURA 27 - Número de colônias de bactérias psicotróficas nos peitos de frangos antes da aplicação do spray e da imersão (controle C) e logo após a aplicação do spray e de spray mais imersão em AD e em AEFA..	78
FIGURA 28 – Número de colônias de bactérias mesófilos e psicotróficos nos peitos de frangos ao longo do tempo de armazenamento a 4 °C.....	82
FIGURA 29 - Número de colônias de bactérias mesófilos e psicotróficos nos peitos de frangos ao longo do tempo de armazenamento a 4 °C.....	83
FIGURA 30 - Número de colônias de bactérias mesófilos e psicotróficos nos peitos de frangos ao longo do tempo de armazenamento a 4 °C.....	84
FIGURA 31 – Valores de TBARS nos peitos de frangos logo depois de aplicados os tratamentos e no sexto dia de armazenamento à 4 °C. ....	91
FIGURA 32 - Valores de TBARS nos peitos de frangos logo depois de aplicados os tratamentos e no sexto dia de armazenamento à 4 °C..	91
FIGURA 33 - Valores de TBARS nos peitos de frangos logo depois de aplicados os tratamentos e no sexto dia de armazenamento à 4 °C ..	92
FIGURA 34 - Valores de TBARS nos peitos de frangos logo depois de aplicados os tratamentos e no sexto dia de armazenamento à 4 °C. ....	93
FIGURA 35 - Valores de TBARS nos peitos de frangos logo depois de aplicados os tratamentos e no sexto dia de armazenamento à 4 °C. ....	94



## LISTA DE ABREVIACÕES

AD: água deionizada  
AE: água eletrolisada  
AEA: água eletrolisada ácida  
AEB: água eletrolisada básica  
AEFA: água eletrolisada fracamente ácida  
AEFAd: água eletrolisada fracamente ácida diluída  
AEFAm: água eletrolisada fracamente ácida mãe  
AEN: água eletrolisada neutra  
APPCC: Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle  
BPF: Boas Práticas de Fabricação  
CCL: concentração de cloro livre  
Cl<sup>-</sup>: íon cloro  
Cl<sub>2</sub>: gás cloro  
cm: centímetros  
DTA: doenças transmitidas por alimentos  
h: horas  
H<sup>+</sup>: íon hidrogênio  
H<sub>2</sub>: hidrogênio molecular  
HCl: ácido clorídrico  
HOCl: ácido hipocloroso  
iAD: imersão em água deionizada  
iAEFA: imersão em água eletrolisada fracamente ácida  
IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística  
ICMSF: International Commission on Microbiological Specifications  
LD: limite de detecção.  
MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento  
MDA: malondialdeído  
min: minutos  
mV: milivolts  
NaOCl: hipoclorito de sódio  
NaOH: hidróxido de sódio  
O<sub>2</sub>: gás oxigênio.  
OCl<sup>-</sup>: íon hipoclorito  
OH<sup>-</sup>: radical hidroxil  
POR: potencial de oxirredução  
PPHO Procedimentos Padrões de Higiene Operacional  
psi: unidade de medida de pressão  
RIISPOA: Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal  
s: segundos  
sAD: spray de água deionizada  
sAEFA: spray de água eletrolisada fracamente ácida  
si: spray e imersão  
siAD: spray e imersão em água deionizada  
siAEFA: spray e imersão em água eletrolisada fracamente ácida  
TBARS: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico  
UBA: União Brasileira de Avicultura  
UFC: unidades formadoras de colônias



## LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE 1A - Número de colônias de bactérias mesófilas dos peitos de frango logo após o tratamento de imersão AD e em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6. ....	1111
APÊNDICE 1B - Número de colônias de bactérias mesófilas dos peitos de frango logo após o tratamento de imersão AD e em AEFA com 5 mg/L de cloro livre e pH 6. ....	1111
APÊNDICE 2 - Número de colônias de bactérias mesófilas dos peitos de frango logo após o tratamento de imersão AD e em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 5. ....	1122
APÊNDICE 3 - Número de colônias de bactérias mesófilas dos peitos de frango logo após o tratamento com spray e spray mais imersão AD e em AEFA com pH 6. ....	1133
APÊNDICE 4 - Número de colônias de bactérias mesófilas dos peitos de frango no sexto dia de armazenamento a 4 °C após o tratamento de imersão AD e em AEFA. ....	1144
APÊNDICE 5 - Número de colônias de bactérias mesófilas dos peitos de frango no sexto dia de armazenamento a 4 °C após o tratamento com spray e spray mais imersão AD e em AEFA com pH 6. ....	1155
APÊNDICE 6A - Número de colônias de bactérias psicrotróficas dos peitos de frango logo após o tratamento de imersão AD e em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6. ....	1166
APÊNDICE 6B - Número de colônias de bactérias psicrotróficas dos peitos de frango logo após o tratamento de imersão AD e em AEFA com 5 mg/L de cloro livre e pH 6. ....	1166
APÊNDICE 7 - Número de colônias de bactérias psicrotróficas dos peitos de frango logo após o tratamento de imersão AD e em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 5. ....	1177
APÊNDICE 8. Número de colônias de bactérias psicrotróficas dos peitos de frango logo após o tratamento com spray e spray mais imersão AD e em AEFA com pH 6. ....	118
APÊNDICE 9. Número de colônias de bactérias psicrotróficas dos peitos de frango no sexto dia de armazenamento a 4 °C após o tratamento de imersão AD e em AEFA. ....	11919
APÊNDICE 10. Número de colônias de bactérias psicrotróficas dos peitos de frango no sexto dia de armazenamento a 4 °C após o tratamento com spray e spray mais imersão AD e em AEFA com pH 6. ....	1200
APÊNDICE 11 – TBARS peitos de frango do tratamento C e logo após a aplicação do tratamento de imersão AD e em AEFA. ....	1211
APÊNDICE 12. TBARS peitos de frango do tratamento C e dos tratamentos de imersão AD e em AEFA no sexto dia de armazenamento. ....	1222
APÊNDICE 13A. TBARS peitos de frango do tratamento C e logo após a aplicação do tratamento de spray e imersão AD e em AEFA. ....	1233
APÊNDICE 13B. TBARS peitos de frango do tratamento C e dos tratamentos de spray e imersão AD e em AEFA no sexto dia de armazenamento. ....	1233
APÊNDICE 14 – Esquema simplificado dos métodos de aplicação de AEFA nos peitos de frango	1244
APÊNDICE 15 – Fotografia da aplicação da AD e da AEFA pelo método de spray e pelo método de imersão utilizados em laboratório de pesquisa. ....	125



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>25</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>26</b>
<b>2.1</b>	<b>Carne de frango</b>	<b>26</b>
2.1.1	Produção de carne de frango	26
2.1.2	Características microbiológicas da carne de frango	27
2.1.3	Deterioração da carne de frango	30
2.1.4	Estratégias para redução da carga microbiana de carcaças de frango	32
<b>2.2</b>	<b>Água eletrolisada</b>	<b>33</b>
2.2.1	Formas de dissociação de cloro livre na AE	36
2.2.2	Atividade antimicrobiana da AE	37
2.2.3	Vantagens e desvantagens da AE	38
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>40</b>
<b>3.1</b>	<b>Objetivo Geral</b>	<b>40</b>
<b>3.2</b>	<b>Objetivos Específicos</b>	<b>40</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>40</b>
<b>4.1</b>	<b>Preparo da água eletrolisada fracamente ácida (AEFA)</b>	<b>40</b>
4.1.1	Efeito da diluição nas características da AEFA	42
4.1.2	Avaliação da estabilidade da AEFA	42
<b>4.2</b>	<b>Peitos de frango</b>	<b>43</b>
<b>4.3</b>	<b>Aplicação da AEFA nos peitos de frango</b>	<b>43</b>
4.3.1	Imersão dos peitos de frango	44
4.3.2	Influência da renovação de água na CCL do banho de imersão	44
4.3.3	Aplicação de spray nos peitos de frango	45
4.3.4	Avaliação do teor de cloro livre na aplicação do sistema de spray	45
4.3.5	Combinação de spray e imersão	45
<b>4.4</b>	<b>Avaliação da AEFA</b>	<b>47</b>
<b>4.5</b>	<b>Análise microbiológica dos peitos de frango</b>	<b>47</b>
<b>4.6</b>	<b>Análises físico-químicas dos peitos de frango</b>	<b>48</b>
<b>4.7</b>	<b>Análise estatística</b>	<b>48</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>49</b>
<b>5.1</b>	<b>Água eletrolisada</b>	<b>49</b>
5.1.1	Características das águas eletrolisadas fracamente ácidas mãe (AEFAM) elaboradas com diferentes valores de pH	49
5.1.2	Efeito da diluição nas características da AEFAM	49



5.1.3 Avaliação da estabilidade da AEFA com pH 6.....	50
<b>5.2 Análise microbiológica dos peitos de frango.....</b>	<b>53</b>
5.2.1 Número de colônias das bactérias mesófilas aeróbias e psicrotróficas logo após a aplicação dos tratamentos de imersão .....	54
5.2.2 Influência da renovação de água na CCL do banho de imersão dos peitos de frango .....	65
5.2.3 Características das águas de imersão.....	66
5.2.3 Influência da aplicação do spray na concentração de cloro livre na AEFA .....	68
5.2.5. Número de colônias de colônias de bactérias mesófilas aeróbias e psicrotróficas logo após a aplicação dos tratamentos combinados de spray e imersão.....	69
<b>5.4 Avaliação do tempo de vida útil.....</b>	<b>81</b>
5.4.1 Análise microbiológica no sexto dia de armazenamento refrigerado.....	81
5.4.2 Análise do valor de pH dos peitos de frango.....	86
5.4.3 Análise de TBARS dos peitos de frango.....	88
<b>6 CONCLUSÕES .....</b>	<b>96</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>97</b>
<b>8 APÊNDICES .....</b>	<b>..111</b>



# 1 INTRODUÇÃO

A contaminação das carcaças de frango ocorre pela microbiota oriunda das aves vivas e pela incorporação de microrganismos em qualquer uma das fases de processamento anteriores e posteriores ao abate. Assim, uma carga variada de microrganismos pode ser incorporada a carcaça, fazendo com o que o grau de contaminação e o tipo de microrganismos presentes na carne de frango tenham impacto no seu tempo de vida útil.

Entre as formas de controle e redução da carga microbiana das carcaças de frango tradicionalmente usadas na indústria processadora, está o uso de compostos clorados, como o hipoclorito de sódio e o resfriamento em *chiller*. Apesar de seu uso disseminado, esse processo exige um rigoroso controle de tempo de imersão e da concentração de cloro livre, o que pode levar a problemas operacionais, como por exemplo, o manuseio constante de produtos químicos. Em vista disso, tecnologias emergentes de descontaminação vem sendo estudadas para o controle e redução da carga microbiana das carcaças de frango, tais como água eletrolisada.

A água eletrolisada tem se mostrado eficiente na descontaminação de produtos de origem animal, vegetal e na descontaminação de utensílios e superfícies. Além disso, estudos evidenciam a ação eficiente da água eletrolisada frente a diversos microrganismos, como bactérias deteriorantes e patogênicas, mofo, leveduras e vírus. O uso da água eletrolisada apresenta vantagens como a possibilidade de geração no próprio local de aplicação pela eletrólise de uma solução salina preparada com cloreto de sódio em equipamento eletrolisador. Assim, minimiza o uso de produtos químicos e oferece maior segurança ao manipulador.

Os tipos de água eletrolisada frequentemente utilizados são a água eletrolisada ácida, a água eletrolisada fracamente ácida e a água eletrolisada básica. Entre eles, a água eletrolisada fracamente ácida tem ganhado destaque por apresentar alto potencial de oxirredução, pH próximo a neutralidade e cloro livre na forma de ácido hipocloroso, o qual é considerado potente antimicrobiano por apresentar maior capacidade de penetração em relação às demais formas de cloro livre. Contudo, os efeitos da aplicação e o mecanismo de ação da água eletrolisada fracamente ácida em carnes e produtos cárneos são pouco estudados, em especial sobre as alterações bioquímicas que possam vir a ocorrer no produto.

Assim, a importância desse estudo reside na avaliação da ação da água eletrolisada fracamente ácida com baixa concentração de cloro livre (gerada a partir de uma salmoura com

baixa concentração de cloreto de sódio) aplicada de diferentes maneiras em peitos de frango, avaliando a carga microbiológica, o pH e as reações de oxidação lipídica.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Carne de frango

A carne de frango é considerada uma ótima fonte nutricional por ser rica em proteínas de alto valor biológico, de baixo valor calórico, fonte de gordura, vitaminas e minerais. Além disso, fatores como a diversidade de produtos, a praticidade, a segurança alimentar e os preços acessíveis tornam o consumo da carne de frango cada vez mais evidente pelos consumidores de diferentes classes sociais no Brasil e no mundo (OLIVO, SANTOS, FRANCO, 2006).

#### 2.1.1 Produção de carne de frango

A avicultura apresenta números expressivos no Brasil, sendo que o país está entre os maiores produtores de frango no mundo, atrás dos Estados Unidos e da China (UBABEF, 2014; FAO, 2014). Além disso, é líder em exportação mundial da carne de frango desde 2004, sendo embarcadas para mais de 130 países. No ano de 2013, a produção da carne de frango no Brasil chegou a 12,3 milhões de toneladas (FIGURA 1), sendo que 32% desse total foram destinados ao mercado externo, e 68% foram destinados ao consumo interno (UBABEF, 2014).

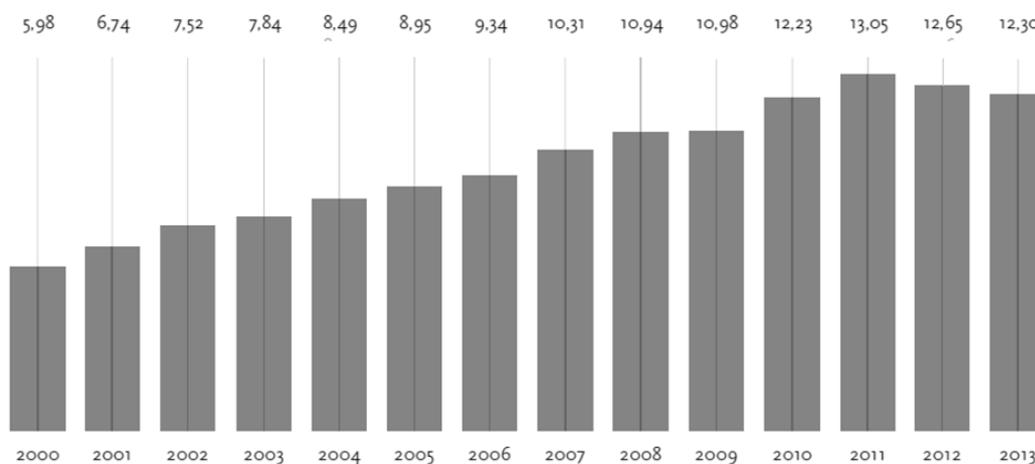


FIGURA 1 - Produção brasileira de carne de frango (milhões de toneladas) ao longo dos anos. Adaptado de UBABEF, 2014.

No segundo trimestre do ano de 2014, aproximadamente 1,3 bilhões de cabeças de frangos foram abatidas no Brasil (FIGURA 2) (IBGE, 2014). Esse desempenho na produção e comercialização da carne de frango corresponde por quase 1,5% do Produto Interno Bruto (PIB) nacional, empregando mais de 3,6 milhões de pessoas (UBABEF, 2014b), evidenciando a força dessa indústria no país.

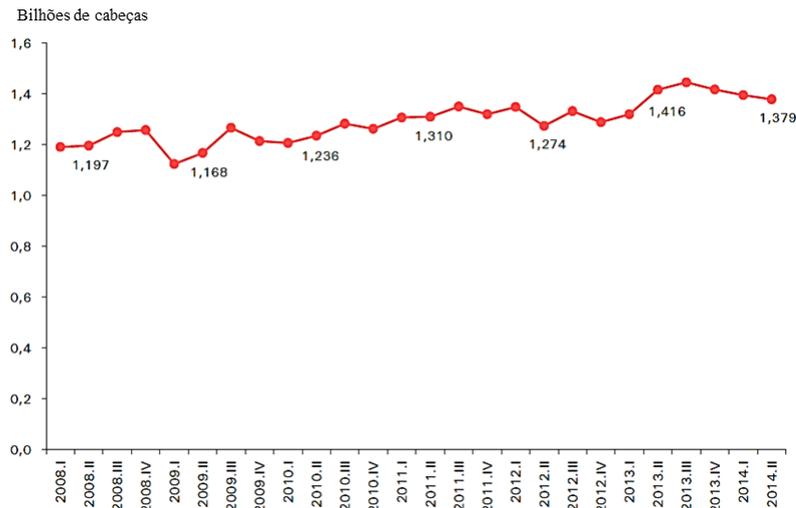


FIGURA 2 - Evolução do abate de frango (em bilhões de cabeças) por trimestre Brasil. Trimestres de 2008 a 2014. Adaptado de IBGE, 2014.

A produção de frangos está presente em todas as regiões do país, impactando na economia da maioria dos estados, sendo os estados da região sul (Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul) os principais produtores e exportadores de carne de frango (IBGE, 2014; UBABEF, 2014).

### 2.1.2 Características microbiológicas da carne de frango

A biota das carcaças de frango é representada pelos microrganismos oriundos das aves vivas e pela incorporação de microrganismos em qualquer uma das fases de pré e pós abate (SILVA, SOARES E COSTA, 2001; NASCIMENTO, 2012). Nas granjas, os frangos estão expostos à contaminação devido aos fatores ambientais (RIDLEY et al, 2011). Assim, há presença de microrganismos na superfície das patas, penas e pele, em associação com cama de aviário, pó e matérias fecais aderidas. Vale ressaltar a presença de bactérias natas do trato gastrointestinal e do sistema respiratório das aves (BAILEY, THOMSOM e COX, 1987; MENDES, 2001; LANSINI, 2010). Além disso, a captura e o transporte aumentam a contaminação devido ao contato extremo entre as aves (LANSINI, 2010). Dessa forma, as

aves encaminhadas para o abatedouro são consideradas fontes de contaminação inicial, apresentando uma carga heterogênea de microrganismos (LORETZ; STEPHAN; ZWEIFEL, 2010; VOIDAROU et al., 2011; BOLTON et al., 2014), como *Salmonella spp* (FAO & WHO, 2009; BRITO et al, 2010; VOIDAROU et al.,2011), *Campylobacter spp* (MEAD, 2004; FAO & WHO, 2009; RIDLEY, 2011, BURFOOT, et al., 2015), *Listeria spp*, (MEAD, 2004; CHIARINI, 2007; GLOBO RURAL, 2013), *E. Coli* (ANTÃO et al., 2008) e *Staphylococcus* (WHYTE et al., 2004, MEAD, 2004; BRITO et al, 2010). No frigorífico, esses microrganismos podem ficar aderidos às superfícies dos equipamentos, contaminar a água do processamento e outras aves, viabilizando a contaminação cruzada durante o abate e o processamento dos frangos (CORTEZ, 2006; GOH et al., 2014).

O processamento da carne de frango conta com uma série de etapas de risco de contaminação microbiológica. A pendura é um processo manual, que conduz o frango para o atordoamento. Tanto o atordoamento, quanto o sacrifício promovem a liberação de fezes que contaminam a superfície das aves e, conseqüentemente, a água de escaldagem. Durante a escaldagem, os frangos são submetidos a imersão em tanques de água quente (52 à 56,5 °C), a fim de facilitar a depenagem, que por sua vez favorece o espalhamento dos microrganismos pela superfície da pele dos frangos. A etapa de evisceração oferece riscos de rompimento das vísceras, levando o material fecal e conteúdo gástrico para a superfície da carcaça. O processo de resfriamento por imersão em *chiller* é considerado uma etapa crítica do processamento de frangos, uma vez que a baixa temperatura e a presença de cloro promovem a redução da atividade bacteriana. Em seguida, os frangos são levados para o setor de classificação manual e embalagem (CERUTTI, 2006). Na FIGURA 3, observa-se a evolução da carga microbiana durante as fases de processamento da carne de frango.

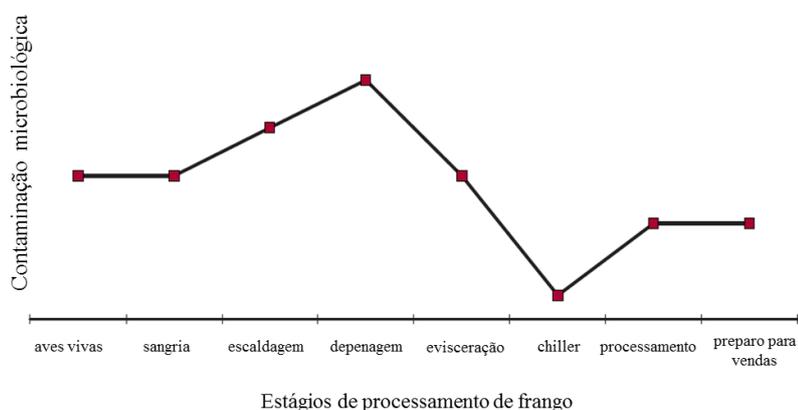


FIGURA 3 - Evolução da microbiota dos frangos desde a chegada à indústria de processamento até o produto final. Adaptado de FAO, S/D Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/013/al742e/al742e00.pdf>

A TABELA 1 mostra os possíveis pontos de contaminação cruzada desde a granja até o processamento das aves em um abatedouro.

TABELA 1 - Possíveis pontos de contaminação cruzada durante as etapas de processamento de frango.

<b>ETAPA</b>	<b>PONTOS DE CONATAMINAÇÃO CRUZADA</b>
GRANJA	Localização da granja; ventilação e abastecimento de água; tipo de material do piso; umidade da cama; pó; contato ave a ave, presença de roedores e insetos.
TRANSPORTE	Contato ave a ave; penas; caixas de carga; equipamento de captura; pó e ar.
RECEPÇÃO E PENDURA	Contato ave a ave nas caixas; ar na área de espera; mãos dos manipuladores; ar e pó na área de pendura; ganchos e pó no trilho.
SANGRIA	Contato ave a ave; máquina de sacrifício ou faca; água do tanque de insensibilização, ganchos e pó na esteira.
ESCALDAGEM	Água do tanque de escalda; contato ave a ave; presença de vapor; ar, ganchos.
DEPENAGEM	Contato ave a ave, dedos de borracha; presença de vapor e ar; cortadores de jarretes, esteira transportadora ao pendurador; mãos dos operadores; ganchos e pó no trilho.
EVISCERAÇÃO	Mãos dos manipuladores e dos inspetores; facas e instrumentos de corte; contaminação fecal; contato ave a ave; instrumentos não cortantes (o extrator de pulmões, arrancador de cabeças, etc.); esteiras transportadoras e carcaças, carcaças de vísceras comestíveis; estantes de pendura de dorso, ganchos e pó no trilho.
RESFRIAMENTO	Resfriamento por imersão; água do tanque; gelo; contato ave a ave; elevadores, esteiras e canais; víscera a víscera, pescoço a pescoço, pás ou parafusos sem fim; resfriamento por ar; ar.
CLASSIFICAÇÃO	Mãos dos manipuladores, esteiras, ganchos e pó no trilho, contato ave a ave, ar.
EMBALAGEM E GELO	Mãos dos manipuladores; caixas de embalagem; contato ave a ave; ar, gelo; material de embalagem; vísceras ou pescoço a carcaça.
CORTES	Mãos dos manipuladores; serras ou facas; ave a ave, corte a corte; esteiras e bandejas.

Fonte: Adaptado de LANSINI, 2010.

Com isso, o consumo da carne de frango e seus derivados são frequentemente identificados como fontes de microrganismos patogênicos (ICMSF, 1998; MEAD, 2004; ANTÃO et al, 2008; FAO, 2013), sendo associado às Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs). De acordo com o Ministério da Saúde (2014), a *Salmonella spp*, a *E. coli* e o *S. aureus* estão entre os principais agentes etiológicos responsáveis pelos surtos de DTAs devido ao consumo de carne de frango contaminada (BRASIL, 2014). Ainda, devido à sua composição, pH e atividade de água, a carne de frango se caracteriza por ser bastante

perecível, podendo sofrer rápida deterioração pela presença de microrganismos deteriorantes. O tipo e número de microrganismos presentes nas carcaças de frango refletem o grau de sanitização do processo de abate e as condições de armazenamento após o abate, definindo a qualidade higiênico-sanitária do produto (SILVA; SOARES; COSTA, 2001; BRASIL, 2001).

Devido a esses fatores, a indústria avícola brasileira tem dedicado extrema atenção à qualidade do manejo dos frangos durante as etapas de desenvolvimento, coleta nas granjas, transporte, recepção nos abatedouros e nos procedimentos de abate, a fim de reduzir a carga microbiana das carcaças, garantindo assim, a sanidade dos produtos avícolas e assegurando o padrão de qualidade da carne (MEAD, 2004; AMY & HALLS, 2012; NASCIMENTO, 2012; AVISITE, 2014; CARNETECBRASIL, 2014).

### 2.1.3 Deterioração da carne de frango

Devido à riqueza na composição físico-química, a deterioração da carne de frango *in natura* pode ocorrer por dois mecanismos durante a refrigeração: pela proliferação de microrganismos e pelas reações de oxidação (OLIVO, 2006).

Os principais indicadores da deterioração de carnes *in natura* são os microrganismos mesófilos aeróbios e os psicrotróficos. Mesmo que a legislação nacional não estabeleça limites máximos para o número de bactérias mesófilas, a carga inicial desses microrganismos é usada como parâmetros da qualidade dos produtos. As boas práticas de manipulação e higiene devem garantir que a carga de mesófilos total nas carcaças esteja entre  $10^3$  e  $10^4$  UFC/cm<sup>2</sup>, sendo que número inicial de mesófilos acima de  $10^6$  UFC/g indicam falhas durante o processamento (JAMES&JAMES, 2002; SILVA JR, 2007). Conforme a Comissão Internacional de Especificações Microbiológicas para Alimentos, o limite máximo aceitável para bactérias mesófilas em carne *in natura* é de  $10^7$  UFC/cm<sup>2</sup> (ICMSF, 1986).

Os psicrotróficos predominam em alimentos refrigerados, sendo que sua multiplicação provoca alterações nos produtos, reduzindo a vida-útil (JAY, 2005). De acordo com Franco & Landgraf (2002) e Jay (2005), número de microrganismos acima de  $10^6$  UFC/cm<sup>2</sup> indicam o início de processo de deterioração, levando ao aparecimento de odor desagradável e comprometendo a qualidade microbiológica do produto (JAY, 2005; MEAD, 2004).

O pH é um fator que influencia o crescimento de microrganismos. O aumento no valor de pH durante o armazenamento está relacionado com o aumento do número de microrganismos deteriorantes, que levam a degradação de proteínas e produção de aminas (MEAD, 2004; JAY, 2005). A legislação brasileira considera que em pH entre 6,0 e 6,4 a

carne ainda está em condições de consumo (RIISPOA, 1952, atualizada em 2007). Rahman et al. (2012b) evidenciaram o aumento da deterioração de peitos de frango que apresentavam pH acima de 6,3, uma vez que a carga microbiológica estava acima de  $10^6$  UFC/cm<sup>2</sup>.

A presença de gorduras poli-insaturadas em frangos os torna mais suscetíveis aos processos oxidativos (ARAUJO, 2008). Esses processos são de difícil controle, podendo ser potencializados pela ação microbiológica (SHIMOKOMAKI, et al., 2006). A oxidação lipídica ocorre em três estágios principais, denominados iniciação, propagação e terminação (ARAB-TEHRANY et al., 2012). No processo de terminação ocorre a formação compostos provenientes da clivagem de dienos e peróxidos formados na etapa de propagação. Esses compostos são reconhecidos como produtos secundários da oxidação lipídica, e podem ser determinados no alimento pela dosagem de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). O TBARS representa um índice da concentração de malondialdeído (MDA), um dos principais aldeídos formados nesta etapa da reação (LUSHCHAK, 2011). Produtos com índice de TBARS menor que 1 mg MDA/kg de amostra geralmente não acrescentam sabores e odores de ranço residuais característicos de oxidação lipídica (OLIVO E SHINOKOMAKI, 2001). Entretanto, de acordo com Osawa et al. (2005), em carnes com valores de 0,5 a 2 mg de MDA/kg de amostra os aromas de ranço em carnes já podem ser detectados por provadores treinados.

Entre as consequências dos processos oxidativos estão a formação de sabores e odores desagradáveis e mudanças de cor, comprometendo a vida-útil do produto (SHIMOKOMAKI, et al., 2006).

Os sanitizantes comumente usados na indústria cárnea para retardar a deterioração apresentam efeitos positivos frente à redução do número de microrganismos em carcaças de frango. Entretanto, alguns estudos relatam as desvantagens do seu uso. A solução de ácido peracético diluída é considerada instável, além de promover corrosão em materiais como aço, ferro e bronze. O fosfato trissódico apresenta como desvantagem alto custo e dificuldade de remoção de fosfatos de efluentes. O clorito de sódio acidificado usado em altas concentrações precisa de armazenamento seguro, além de ser manuseado em local apropriado para garantir a segurança do operador. Além disso, leva a corrosão de equipamentos. Os ácidos orgânicos podem levar à descoloração do produto, prejudicando a qualidade organoléptica (TANUS, 2014). Em compensação, a AEFA apresenta vantagens como maior segurança ao manipulador e ao meio ambiente, podendo ser produzida na própria indústria com o uso de NaCl.

#### 2.1.4 Estratégias para redução da carga microbiana de carcaças de frango

O controle microbiológico dos frangos deve ser realizado tanto nas etapas de pré-abate, como durante o processamento da carne. O Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênico-Sanitária de Carne de Aves (BRASIL, 1998a) em conjunto com o manual de Boas Práticas de Produção de Frangos (UBA, 2008) visam garantir a sanidade e qualidade da produção de frango desde seu alojamento até seu descarregamento na plataforma de abate. Assim, além dos cuidados exigidos na unidade de produção, antes de chegar à indústria os frangos são submetidos a um período de jejum pré-abate a fim de minimizar a contaminação no abatedouro durante o esvaziamento do sistema digestivo (MENDES, 2001; AVEWORLD, 2013; AMY & HALLS, 2013). Já na indústria, diversos programas de autocontrole são utilizados visando controlar as possíveis falhas durante o processo produtivo, prevenir a contaminação das carcaças nos diferentes pontos do processamento e garantir a qualidade sanitária dos produtos alimentícios. Esses programas incluem a Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle – APPCC (BRASIL, 1998b), as Boas Práticas de Fabricação – BPF e os Procedimentos Padrões de Higiene Operacional - PPHO (BRASIL, 2003), entre outros. Dentre eles, o sistema APPCC é apontado como princípio essencial de higiene e segurança dos alimentos (FAO & WHO, 2006), sendo apoiado por diversos órgãos regulatórios internacionais.

O resfriamento das carcaças se caracteriza por ser uma etapa crítica do processamento de frangos. Seu princípio baseia-se na inibição da carga microbiana com a diminuição da temperatura das carcaças pelos processos de imersão ou resfriamento de ar. O resfriamento por imersão é realizado em tanques com pás contendo água gelada e gelo no seu interior, chamados *pré-chiller* e *chiller*, Nesses tanques, as carcaças se movem em direção contrária à água (LANCINI, 2010; CAVANI, 2010). De acordo com a legislação brasileira, a água de renovação do sistema de pré-resfriamento por imersão poderá ser hiperclorada, permitindo-se no máximo 5 mg/L de cloro livre (MAPA, 1998a). Segundo o MAPA (1998a), os frangos destinados ao mercado interno devem sair do pré-resfriamento com temperatura máxima de 7 °C, e com 4 °C para o mercado externo. Muitos estudos confirmam a eficácia do *chiller* na redução da flora microbiana (FAO, s/d; CAVANI, 2010; STORCH, 2012; SIMAS, 2013). Entretanto, a renovação da água, da temperatura da água e do teor de cloro livre precisam ser constantemente monitorados para garantir essa redução microbiológica (RODRIGUES et al., 2008).

Ainda visando reduzir a carga microbiana, o uso de tratamentos adicionais de descontaminação durante o processamento de frango se tornou uma prática comum da indústria avícola (BOLDER, 1997; RIO, 2007; LORETZ; STEPHAN; ZWEIFEL, 2010). A imersão ou aspersão de ácidos orgânicos como ácido acético, láctico e cítrico, (SILVA; SOARES; COSTA, 2001; del RIO et al, 2006; MORSHEDY & SALLAM, 2009; LORETZ; STEPHAN; ZWEIFEL, 2010, BOLTON et al., 2014), de antimicrobianos como TIMSEN<sup>®</sup> (LANSINI, 2010), de soluções cloradas (del RIO et al, 2006; LORETZ; STEPHAN; ZWEIFEL, 2010; BOLTON et al., 2014), de peroxiácidos e trifosfato de sódico (del RIO et al, 2006; MORSHEDY & SALLAM, 2009; BOLTON et al., 2014) em carcaças de frango foram e ainda são usualmente estudadas como coadjuvantes para garantir a sanidade do produto.

Além desses métodos, o uso de tecnologias emergentes tem sido muito evidenciado como meio de descontaminação de carcaças de bovinos, de suínos e de aves. Tais tecnologias envolvem intervenções físicas como a aplicação de radiação gama (JAMDAR & HARIKUMAR, 2008; BUNIC & SOFOS, 2012), lavagens com água ozonizada (BUNIC & SOFOS, 2012) aplicação de ultrassom (LORETZ; STEPHAN; ZWEIFEL, 2010) e uso de água eletrolisada (PARK; HUNG; BRACKETT, 2002; BUNIC & SOFOS, 2012; MANSUR et al., 2015; BURFOOT et al., 2015). Dentre esses, a água eletrolisada tem se mostrado bastante eficaz na redução da carga microbiológica de carcaças de frango (LORETZ; STEPHAN; ZWEIFEL, 2010), podendo ser considerada um método alternativo para o controle de patógenos durante o abate de frangos.

## **2.2 Água eletrolisada**

A produção de água eletrolisada (AE) se dá pela passagem de uma solução clorada (geralmente NaCl ou HCl) em uma célula eletrolítica, a qual apresenta um eletrodo de carga negativa (cátodo) e um eletrodo de carga positiva (ânodo). Durante a eletrólise, ocorre a formação dos íons hidrogênio ( $H^+$ ) e hidroxil ( $OH^-$ ) pela dissociação da molécula de água ( $H_2O$ ), e dos íons sódio ( $Na^+$ ) e cloro ( $Cl^-$ ) provenientes da dissociação do NaCl presente na solução salina. Os íons carregados negativamente, como  $Cl^-$  e  $OH^-$  movem-se em direção ao ânodo, formando gás cloro ( $Cl_2$ ) e gás oxigênio ( $O_2$ ). O  $Cl_2$  formado reage com  $H_2O$  e forma o ácido hipocloroso (HClO) e o ácido clorídrico (HCl), responsáveis pelo pH ácido. Enquanto que os íons de carga positiva, como  $H^+$  e  $Na^+$ , se direcionam ao cátodo originando gás

hidrogênio ( $H_2$ ) e hidróxido de sódio ( $NaOH$ ) (FIGURA 4) (HUANG et al., 2008; HRICOVA et al., 2008; YATAO et al., 2012).

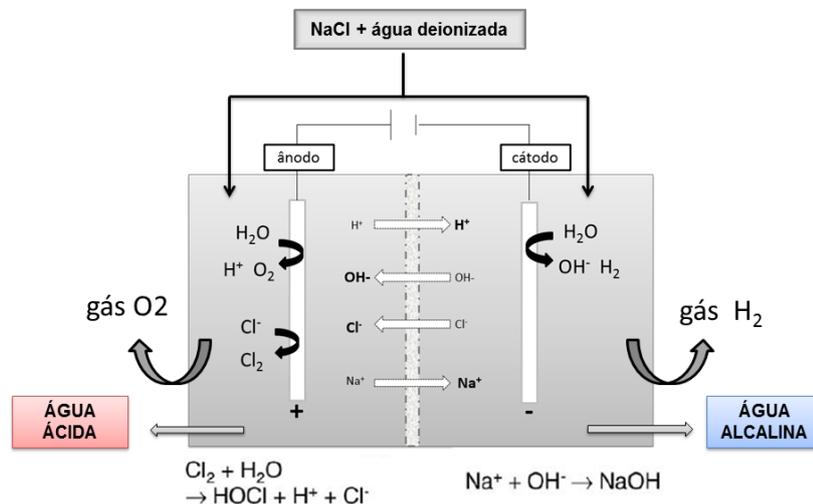
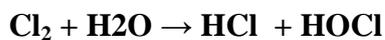
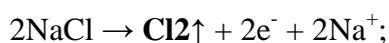
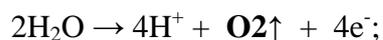


FIGURA 4. Princípio do equipamento de eletrólise utilizado para a produção de AE. Adaptado de Huang et al. (2008).

A reação química básica no ânodo e no cátodo pode ser observada nas equações 01 e 02 (HRICOVA, STEPHAN, ZWEIFEL, 2008; YATAO et al, 2012):

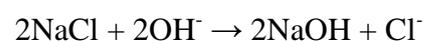
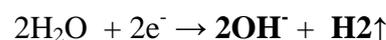
Equação 01

Ânodo (polo positivo)



Equação 02

Cátodo (polo negativo)



Podem ser utilizados para a produção de AE dois tipos de geradores, que se diferenciam em relação a localização do cátodo e do ânodo:

- Cátodo e o ânodo na mesma cavidade: há produção de água eletrolisada neutra (AEN) e água eletrolisada fracamente ácida (AEFA), demonstrado na FIGURA 5A (RAHMAN; DING; OH, 2010; XIONG et al., 2010; RAHMAN et al., 2012a). Nesse sistema, o HCl formado pelo ânodo é neutralizado pelo NaOH produzido pelo cátodo.
- Cátodo e o ânodo são separados por uma membrana em duas cavidades distintas: com isso a cavidade do cátodo origina água eletrolisada básica (AEB), e a cavidade do ânodo

origina água eletrolisada fortemente ácida (AEA), demonstrada na FIGURA 5B (KIURA et al., 2002; LIAO; CHEN; XIAO, 2007; CUI et al., 2009; XIONG et al., 2010; RAHMAN et al., 2012a).

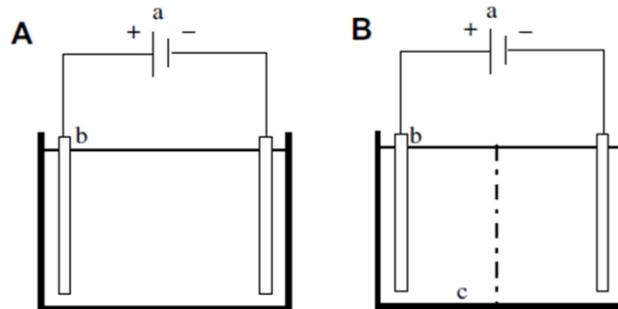


FIGURA 5. Diagrama sistemático de (A) gerador de eletrólise formado pelo ânodo e pelo cátodo na mesma cavidade (B) gerador de eletrólise formado pelo ânodo e pelo cátodo separados por uma membrana. a) corrente elétrica; b) eletrodos; c) membrana. Fonte: adaptado de Cui et al. (2009).

O equipamento eletrolisador e a passagem da solução clorada através dos eletrodos determinam as características da água eletrolisada. Tais características envolvem potencial de oxirredução (POR), valor de pH, concentração de cloro livre (CCL) e espécie de cloro livre (KIURA et al., 2002; LIAO; CHEN; XIAO, 2007; DING; RAHMAN, OH, 2011; JADEJA; HUNG, 2014; MANSUR et al., 2015). Enquanto o POR se dá em milivolts (mV), a unidade de medida utilizada para avaliar a CCL na solução é mg de Cl em Cl<sub>2</sub>/L ou em partes por milhão (mg/L) (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA, 1999). Assim, de acordo com as características de POR, pH e a espécie de cloro livre, as águas eletrolisadas podem ser dividida em três principais tipos: água eletrolisada básica (AEB), água eletrolisada ácida (AEA) e água eletrolisada fracamente ácida (AEFA) (TABELA 2).

TABELA 2 - Caracterização dos tipos de AE quanto aos valores de POR, pH e espécie de cloro livre.

Classificação	POR	pH	Espécie de cloro livre
AEB	< -800mV	> 11	> 95% OCl <sup>-</sup>
AEA	≥ 1000mV	2 a 3	> 95% de Cl <sub>2</sub>
AEFA	500 a 900 mV	5,0 a 6,5	> 95% HOCl

Fonte: GUENTZEL et al. (2008); HUANG et al. (2008); RAHMAN; DING; OH (2010); FORGHANI & OH (2013); MANSUR et al. (2015).

Estudos relatam o uso de soluções saturadas de NaCl para a produção de AE com altas concentrações de cloro livre (TOMÁS-CALLEJAS et al., 2011; MONNIN et al., 2012).

Entretanto, Hsu (2003), verificou que a eficiência da eletrólise e da separação dos íons através da membrana foi significativamente reduzida com o aumento da concentração de NaCl e do fluxo de água devido a saturação do gradiente de concentração e o pouco tempo de contato dos íons com os eletrodos. Yatao et al. (2012) relataram que a eficiência da eletrólise estava relacionada com a concentração de HCl em solução, sugerindo que altas concentrações de HCl levam a saturação dos eletrólitos na membrana eletrolítica, impedindo que os íons entrem em contato com os eletrodos.

### 2.2.1 Formas de dissociação de cloro livre na AE

O cloro livre apresenta-se em três formas: ácido hipocloroso (HOCl), íon hipoclorito (OCl<sup>-</sup>) e gás cloro (Cl<sub>2</sub>). Quando o Cl<sub>2</sub> entra em contato com a água, ocorre a formação do HOCl (equação 03), sendo que a relação HOCl/OCl<sup>-</sup> é determinada pelo pH e temperatura da solução (equação 04) (WHITE, 2010; RAHMAN; DING; OH, 2010; HAO et al., 2012). Fundamentalmente, na faixa de pH 6,0-9,0 a 25 °C há predomínio das formas HOCl e OCl<sup>-</sup>, sendo que em pH 7,5 o HOCl e o OCl<sup>-</sup> encontram-se em equilíbrio na solução (WHITE, 2010). Com o aumento do pH, o POR reduz devido à formação do OCl<sup>-</sup>, inativo contra a maioria dos microrganismos. Ao passo que o HOCl predomina quando o pH da solução é reduzido entre 5,0 e 6,5 (SUSLOW, 2004), e em pH ácido, o cloro livre se encontra na forma de gás Cl<sub>2</sub> (FIGURA 6) (RAHMAN; DING; OH, 2010).

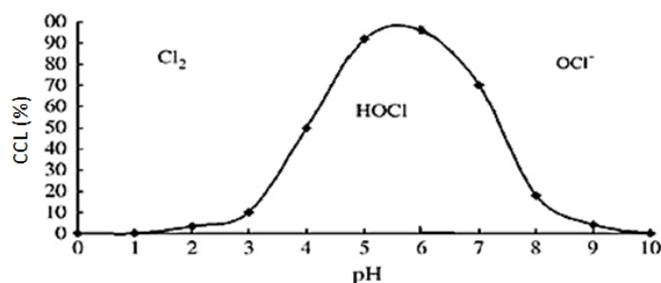
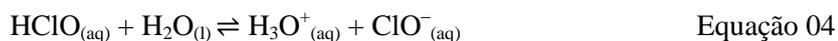
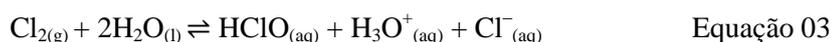


FIGURA 6 - Concentração de cloro livre (CCL%) e seus compostos de acordo com o pH da AE. Adaptado de Rahman, Ding, Oh, 2010.

### 2.2.2 Atividade antimicrobiana da AE

Os mecanismos de ação da AE frente aos microrganismos são discutidos por diferentes autores, sendo que seu efeito bactericida tem sido atribuído ao POR, pH e à concentração de cloro livre.

De acordo com Kim, Hung e Brackett (2000) e Park et al. (2009), o POR é o principal fator envolvido na atividade bactericida da AE. Valores de POR de 200 a 800 mV favorecem o desenvolvimento de microrganismos aeróbios, enquanto que os anaeróbios apresentam crescimento ideal entre -200 a -400 mV (JAY, 2005). Liao et al. (2007) propuseram que o alto valor de POR (+1100 mV) da AEA afetaria o potencial redox da bactéria *Escherichia coli* O157:H7, promovendo danos nas suas membranas internas e externas. Além disso, o alto POR da AE poderia interferir no fluxo de elétrons na célula dos microrganismos, provocando modificações metabólicas, e interferindo na produção de ATP (HUANG et al., 2008). Durante a eletrólise da solução salina, ocorrem várias reações de oxirredução que levam a formação de compostos reativos, tais como  $O_2$  e  $OH^\bullet$ . O radical  $OH^\bullet$  poderia contribuir para a ação antimicrobiana da AEA frente à *Escherichia coli*, mas seu mecanismo ainda precisa ser esclarecido (HAO et al., 2012).

Valor de pH na faixa de 4 a 9 é considerado ideal para a multiplicação de bactérias. Desse modo, o controle do pH da AE se torna importante para garantir sua ação bactericida, uma vez que o pH ácido pode sensibilizar a célula microbiana, permitindo a entrada do HOCl (MCPHERSON, 1993). Assim, o pH da AE é determinante para o balanço das espécies de cloro livre presentes, sendo considerado um fator importante na ação frente aos microrganismos (HAO et al., 2012).

Muitos estudos evidenciam a importância do cloro livre na ação da AE frente aos microrganismos. Hao et al (2012) sugerem que o mais importante não é a concentração de CCL presente na solução, mas a forma em que se encontra na AE. Isso porque, ao avaliarem a eficácia da AEA (pH 3,74) e da AEFA (pH 6,23) com a mesma concentração de cloro livre (1,4 mg/L) frente à *Escherichia coli*, demonstraram que a AEA perdeu totalmente sua capacidade de desinfecção, enquanto a AEFA foi capaz de destruir todos os microrganismos. Sugere-se que o dano aos microrganismos acontece quando o cloro oxida grupamentos sulfídricos de enzimas que participam do metabolismo dos carboidratos, responsáveis pela oxidação da glicose. Além disso, fatores como destruição de enzimas chaves, rompimentos de ácidos nucleicos e danos oxidativos podem estar envolvidos no mecanismo de ação do cloro (WHITE, 2010). Adicionalmente, Li et al (2014) sugeriram que a CCL seria o principal fator

envolvido na ação da AEA frente aos microrganismos seguido do pH e do POR. Entretanto, Mansur et al (2015) sugeriram que a ação da AE é dependente tanto da CCL, quanto de fatores como baixo pH e alto POR.

Rahman, Ding e Oh (2010) evidenciaram que a AEFA com 500 mV, pH 6,2 e 5 mg/L de CCL apresentou atividade similar e até superior à AEA com 1100 mV, pH 2,5 e 50 mg/L de CCL frente aos microrganismos como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria* e *Salmonella*. Rahman et al. (2012a), estudaram a AEFA nas concentrações de 5 e 7 mg/L de cloro livre, e observaram atividade antimicrobiana similar a AEA com 50 mg/L de cloro livre frente a *Escherichia coli* 0157:H7 e *Listeria monocytogenes*. Adicionalmente, a AEFA com 10 mg/L apresentou maior eficácia na redução logarítmica frente à esses microrganismos patogênicos, sendo que essa redução aumentou com o tempo de exposição à AEFA (30, 60 e 90 s) (Rahman et al., 2012a). Pangloli & Hung (2013) demonstraram que a *L. monocytogenes* foi completamente inativada após 3 min de exposição à AEA com 55 mg/L de cloro livre. Wang et al. (2014) demonstraram que a AEA com 50 mg/L de cloro aplicada na forma de gelo foi eficiente em reduzir a carga microbiológica de camarões.

A AE apresenta efeitos positivos na qualidade higiênico-sanitária nos produtos de origem animal, sendo capaz de agir frente a diferentes microrganismos, como *Salmonella spp* (FABRIZIO et al., 2002; RAHMAN et al., 2012a; BUNIC & SOFOS 2012; YANG; FEIRTAG; DIEZ-GONZALEZ, 2013, JADEJA & HUNG, 2014), *Campylobacter jejuni* (PARK; HUNG; BRACKETT, 2002; FABRIZIO & CUTTER, 2004; BURFOOT et al., 2015), *L. monocytogenes* (RAHMAN et al., 2012a; AREVALOS-SÁNCHEZ et al.,2013; YANG; FEIRTAG; DIEZ-GONZALEZ, 2013), *S. aureus* (VÁZQUEZ-SÁNCHEZ; CABO; RODRÍGUEZ-HERRERA, 2014) e *E. coli* (HAO et al.,2012; YANG; FEIRTAG; DIEZ-GONZALEZ, 2013; PANGLOLI & HUANG 2013, JADEJA & HUNG, 2014).

### 2.2.3 Vantagens e desvantagens da AE

A AE se caracteriza por ser um tratamento não térmico, podendo ser utilizada em alimentos sem causar alterações nas propriedades químicas e sensoriais do produto (ABADIAS et al., 2008; HUANG et al.,2008; ZHANG et al.,2012). Em comparação com outros desinfetantes convencionais como o hipoclorito de sódio (NaOCl), a AE não causa irritação ou toxicidade à pele, sendo considerada uma tecnologia que confere segurança para o manipulador de alimentos. Além disso, é uma tecnologia de fácil utilização e aplicabilidade, uma vez que pode ser produzida a partir de uma solução de NaCl no local de trabalho. Desse

modo, não apresenta riscos de transporte e de armazenamento, conferindo menores custos à indústria de alimentos. Além de necessitar menor tempo de contato com o alimento ou superfície, estudos sugerem que a AE reduz o número de colônias de microrganismos patogênicos e deteriorantes, impedindo que esses desenvolvam resistência. Após seu uso, a AE volta ao seu estado original de água normal, sendo assim, considerada uma tecnologia segura para o meio ambiente (AL-HAQ et al., 2005; HUANG et al., 2008; MONNIN et al., 2012).

Diferentes estudos evidenciam a atividade antimicrobiana da AEA. Entretanto, muitos são os fatores que limitam seu uso diário, como a rápida perda da sua atividade bactericida devido à evaporação do  $\text{Cl}_2$  (HUANG et al., 2008; CUI et al., 2009; RAHMAN; DING; OH, 2010; FORGHANI & OH, 2013) e também pelo contato com a matéria orgânica (PARK et al., 2009). White (2010) sugere que a inativação se dá pela reação do cloro com o nitrogênio orgânico. Além disso, Ayebah & Hung (2005) evidenciaram que a AEA apresentou problemas como a corrosão de metais e a liberação de gases cloro e hidrogênio no ambiente, exigindo local e equipamentos de proteção individuais adequados para a sua manipulação. Diante disso, estudos descrevem as vantagens do uso da AEFA, como efeito similar da AEA com 120 mg/L de CCL e do NaOCl com 100 mg/L de CCL na desinfecção de superfícies usadas para a manipulação de alimentos (MONNIN, et al., 2012). Outros estudos sugerem que a atividade bactericida das AEFA é semelhante ou até superior à AEA, apesar de conter menor CCL. Ainda, a AEFA se caracteriza por ser mais estável durante o armazenamento e mais segura para a saúde do manipulador (CUI et al., 2009; DING; RAHMAN; OH, 2010; DING et al., 2011; AREVALOS-SÁNCHEZ et al., 2013).

Diante do exposto, percebe-se que a AEA tem sido explorada pela indústria de alimentos por ser considerada tecnologia emergente que apresenta ação frente aos microrganismos deteriorantes e patogênicos, além de ser considerada segura ao manipulador e ao meio ambiente conferindo menores custos à indústria. Nesse contexto, a AEFA tem ganhado destaque por suas características de pH e a forma que se apresenta a CCL, as quais garantem sua atividade bactericida. Contudo, os estudos referentes a aplicação da AEA e AEFA com baixas concentração de cloro livre em produtos cárneos são poucos, sendo que a maioria desses trabalhos relatam a ação da AEA com concentrações de cloro livre igual ou superior a 10 mg/L.

Desse modo, torna-se necessária uma maior elucidação sobre a estabilidade da AEFA com baixa concentração de cloro livre elaborada a partir de uma solução salina com baixa concentração de NaCl. Além disso, são necessários estudos que avaliem os efeitos da

aplicação dessa AEFA com baixo teor de cloro em peitos de frango, em relação às bactérias mesófilas, psicrotróficas, pH e oxidação lipídica, logo após a sua aplicação e durante período de armazenamento.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Avaliar a estabilidade da AEFA com baixas concentrações de cloro livre e o método de aplicação em peitos de frango e acompanhar a evolução dos microrganismos deteriorantes e a oxidação lipídica durante o período de armazenamento.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Avaliar a estabilidade da AEFA contendo 2, 5 e 10 mg/L de cloro livre durante 96 h (5 dias), verificando o potencial de oxirredução, pH e teor de cloro livre;
- Acompanhar o efeito da aplicação da AEFA por diferentes métodos na evolução das bactérias mesófilas aeróbias e psicrotróficas e do pH nos peitos de frangos durante o período de armazenamento a 4 °C;
- Acompanhar o efeito da aplicação da AEFA por diferentes métodos na evolução na oxidação lipídica nos peitos de frangos durante o período de armazenamento a 4 °C;
- Determinar qual o melhor método de aplicação (imersão ou spray e imersão) da AEFA nos peitos de frango.

### **4 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **4.1 Preparo da água eletrolisada fracamente ácida (AEFA)**

Inicialmente, preparou-se uma solução salina 0,025% (m/v) de NaCl (Vetec, Duque de Caxias, RJ, Brasil) com água previamente filtrada (filtro de carvão ativo, Permution, Curitiba, PR, Brasil) e deionizada (Deionizador, modelo DP0010 OT, Permution, Brasil, vazão máxima de 100 L/h). A solução salina a 10 °C foi submetida à eletrólise no modelo Demo-20 (Envirolyte Industries International Ltda., Estonia). Nesse equipamento, uma

membrana separa os eletrodos de carga negativa e positiva em duas cavidades, sendo que a água eletrolisada ácida (AEA) (mangueira vermelha) e água eletrolisada alcalina ou básica (AEB) (mangueira azul) são obtidas a partir do ânodo e do cátodo, respectivamente. A salmoura é levada para o interior do sistema através da mangueira branca, sendo que o fluxo de entrada dessa salmoura é constante e não permite regulagem. A concentração e a temperatura da salmoura influenciam na passagem de corrente elétrica no sistema. Para a produção de AEFA seguiram-se as instruções do equipamento, o qual descreve algumas etapas fundamentais, como produzir primeiramente a água ácida e a água básica (FIGURA 7). Esse processo de produção de AEA e AEB durou um minuto.

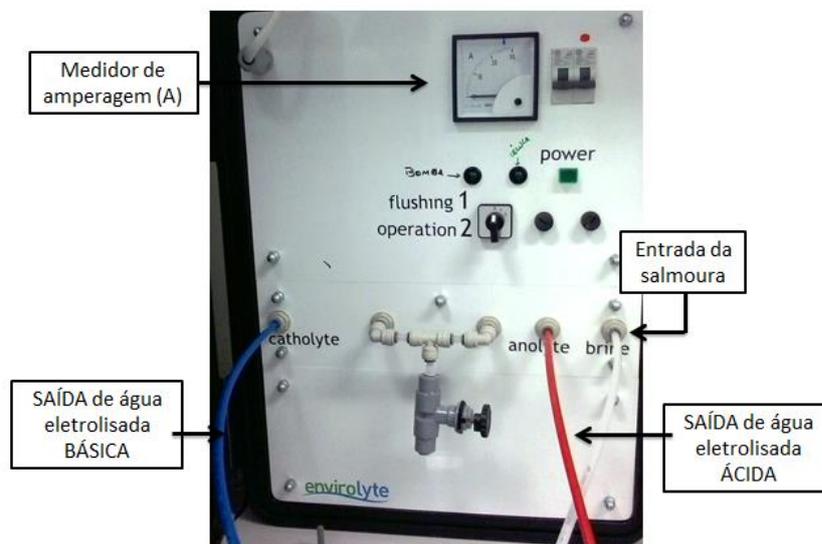


FIGURA 7. Fotografia do aparelho eletrolisador Demo-20, e saída de água eletrolisada ácida e básica.

Em seguida, a mangueira azul foi trocada de posição (FIGURA 8). Durante um minuto, o fluxo da mangueira azul foi nulo para que a AE produzida saísse somente na mangueira vermelha (AEA). Depois desse processo inicial, o fluxo da mangueira azul foi alterado pela abertura de uma torneira, permitindo que o pH da AEFA fosse controlado durante a eletrólise de acordo com o requerido. A AEFA foi coletada a partir da mangueira vermelha (FIGURA 8), na qual se determinou POR, pH e teor de cloro livre.

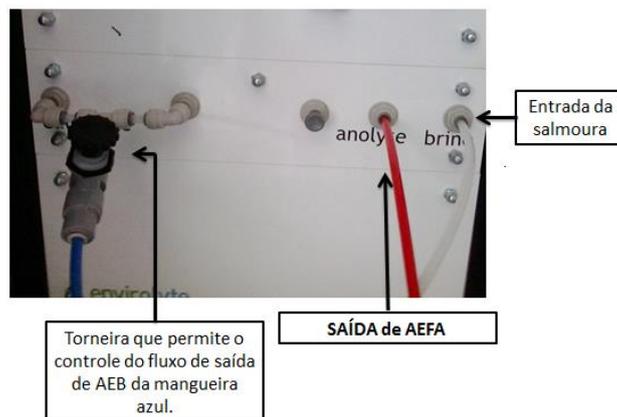


FIGURA 8 - Posição das mangueiras no eletrolisador durante a produção de água eletrolisada francamente ácida.

A AEFA obtida no equipamento pela eletrólise da salmoura 0,025%, com corrente de 0,9 amperes (A) durante 20 min apresentou aproximadamente 10 mg/L de cloro livre. Os experimentos foram realizados de maneira a atingir pH entre 5 e 6. Quando necessário, essas AEFAs foram diluídas com água deionizada para o ajuste do teor de cloro livre.

#### 4.1.1 Efeito da diluição nas características da AEFA

A eletrólise da solução salina 0,025%, a 10 °C durante 20 min originou AEFA com aproximadamente 10 mg/L de cloro livre e pH 6 (AEFA mãe - AEFAm). Essa AEFAm foi diluída em água deionizada para redução do teor de cloro livre à 5 mg/L e 2 mg/L (AEFA diluída - AEFAd). Além disso, eletrolisou-se uma solução salina 0,025% a 10 °C durante 20 min, originando AEFA com aproximadamente 10 mg/L de cloro livre e pH 5 (AFAEm). Essa AEFAm foi diluída em água deionizada para redução do teor de cloro livre à 2 mg/L de CCL (AEFAd). Determinou-se o POR, pH e CCL dessas águas.

#### 4.1.2 Avaliação da estabilidade da AEFA

Eletrolisou-se uma solução salina 0,025% a 10 °C durante 20 min, e obteve-se AEFA com aproximadamente 10 mg/L de cloro livre (AEFAm) e pH 6. Essa AEFA foi diluída em água deionizada para redução do teor de cloro livre à 5 mg/L e 2 mg/L (AEFAd). Em seguida, a AEFAm e as AEFAd foram armazenadas em frascos de polietileno fechados e ao abrigo da luz a 4 °C. A estabilidade das AEFAs foram avaliadas através da determinação de POR, pH e

teor de cloro livre durante 5 dias, em intervalos de 24 h, sendo que os frascos foram abertos somente no momento das análises.

#### 4.2 Peitos de frango

Os peitos de frango com osso e com pele, com mais de 24 h de abate e de peso aproximado de 350 g, foram obtidos em mercado local à granel e transportados ao laboratório em um tempo de 15 min. Ao chegarem ao laboratório, esses peitos de frango apresentaram temperatura máxima de 10 °C.

Para cada tratamento, os peitos de frango foram selecionados aleatoriamente e divididos ao meio. Uma metade foi utilizada para análise logo após a saída da imersão, e outra metade foi usada para avaliar a vida-útil. Para análise da vida-útil, os peitos de frango foram armazenados individualmente em sacos plásticos a temperatura de 4 °C durante 6 dias.

#### 4.3 Aplicação da AEFA nos peitos de frango

Os peitos de frango foram submetidos a tratamentos de imersão (i), spray (s) e a combinação de spray com imersão (si), sendo tratados com água deionizada (AD) e AEFA. Os tratamentos foram divididos conforme apresentados na TABELA 3. Os peitos de frango que não receberam tratamento foram considerados como controle (C).

Para a aplicação dos tratamentos de imersão, a AD e a AEFA foram armazenadas em recipientes de polietileno com capacidade de 5 litros em refrigerador a 4 °C ±1, e outra parte foi levada à máquina de gelo. Para o tratamento de spray, a AEFA e a AD foram armazenadas em recipientes de polietileno com capacidade de 5 litros a 19 ±1°C.

TABELA 3. Tratamentos, tempo de aplicação de spray, águas utilizadas para o tratamento de imersão e tempo de imersão dos peitos de frango.

Tratamentos	Aplicação de spray	Aplicação de imersão	Tempo de imersão
<b>Controle</b>	-----	-----	-----
<b>iAD</b>	-----	Água deionizada a 4 °C	30 min
<b>sAD</b>	1'52'' de água deionizada a 19 °C	-----	-----
<b>siAD</b>	1'52'' de água deionizada a 19 °C	Água deionizada a 4 °C	30 min
<b>iAEFA</b>	-----	AEFA a 4 °C	30 min
<b>sAEFA</b>	1'52'' de AEFA a 19 °C	-----	-----
<b>siAEFA</b>	1'52'' de AEFA a 19 °C	AEFA a 4 °C	30 min

**Nota:** AD: água deionizada; AEFA: água eletrolisada fracamente ácida; i: imersão; s:spray.

#### 4.3.1 Imersão dos peitos de frango

Os peitos de frango foram totalmente submersos em AD ou AEFA e em gelo de AD ou de AEFA, sendo que para cada 1 kg de peito foram adicionados 1,0 L de água (AD ou AEFA) e 1,1 Kg de gelo (AD ou AEFA), mantendo a temperatura do banho de 4 °C (FIGURA 9). Foram utilizadas caixas de polipropileno com capacidade total de 18 L para a montagem de um sistema que permitiu manter constante o fluxo de entrada e de saída da AD e da AEFA, como demonstrado na FIGURA 9.

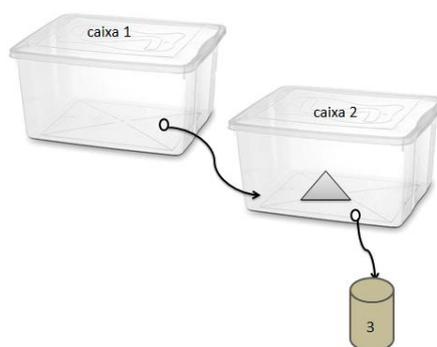


FIGURA 9. Esquema simplificado de renovação de AD e AEFA durante a imersão dos peitos de frango. 1: Caixa de abastecimento de AEFA ou AD. 2: Caixa de imersão, na qual continha AD ou AEFA a 4 °C e gelo de AD e AEFA. 3: Local de coleta da água após a imersão.

Transcorrido o tempo de imersão (30 min), os peitos de frango foram escorridos por 30 s e colocados individualmente em sacos plásticos que foram armazenados a 4 °C  $\pm$  1 durante 6 dias.

A AD e a AEFA utilizadas nos tratamentos com imersão foram caracterizadas pela determinação do POR, pH e teor de cloro livre antes e após a imersão dos peitos de frango.

#### 4.3.2 Influência da renovação de água na CCL do banho de imersão

Estudaram-se três fluxos de AD e AEFA nas caixas: 100-200 mL/min, 400-600 mL/min e 800-1000 mL/min, sendo avaliado o teor de cloro livre presente na água (caixa 2, FIGURA 9) nos tempos de 0, 2, 4, 6, 8, 10, 20 e 30 min de contato com os peitos de frango. Avaliou-se também o teor de cloro livre na caixa responsável pelo abastecimento de AEFA (caixa 1, FIGURA 9).

#### 4.3.3 Aplicação de spray nos peitos de frango

O spray de AD e AEFA foi aplicado em cada peito de frango separadamente utilizando 20 psi de pressão, a uma distância de 10 cm entre o bico do aplicador e o peito de frango, durante um minuto e cinquenta e dois s (1'52''), aplicando-se 600 mL de água para cada amostra (FIGURA 10).

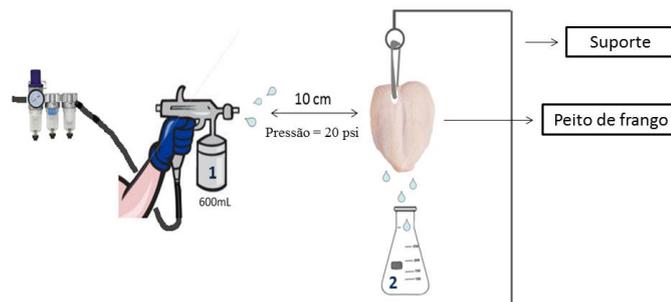


FIGURA 10 - Esquema de aplicação da AD e da AEFA pelo do sistema de spray nos peitos de frango. 1: recipiente acoplado a pistola de aplicação de spray contendo AD ou AEFA. 2: elermeyer usado para coleta de AD ou AEFA que escorria dos peitos de frango.

Nos primeiros experimentos utilizando spray, o sistema contava com um compressor semi-industrial sem filtro de ar. Por fim, instalou-se no sistema um filtro de ar odontológico triplo (Modelos FTC -2400, FR- 2400, FTA-2400, BelAir Pneumática, Novo Hamburgo, RS, Brasil).

#### 4.3.4 Avaliação do teor de cloro livre na aplicação do sistema de spray

Determinou-se o teor de cloro livre na água que estava sendo aplicada nos peitos de frango no recipiente acoplado à pistola de ar (item 1, FIGURA 10), e na água que escorreu do peito de frango após a aplicação do spray (erlenmeyer, item 2, FIGURA 10).

#### 4.3.5 Combinação de spray e imersão

Os peitos de frango foram imersos em AD e AEFA logo após a aplicação de spray de AD e AEFA, conforme descrito anteriormente. O fluxo utilizado para a imersão foi de 400-600 mL/minuto.

Para a aplicação da AEFA, utilizou-se AEFA com 10, 5 e 2 mg/L de cloro livre, e pH 5 ou 6. Os testes realizados foram divididos em experimentos, conforme são apresentados na TABELA 4. O tratamento com AD seguiu as mesmas características de aplicação. O número de peitos de frango ou unidades experimentais (n) utilizados em cada experimento pode ser observado na TABELA 4.

TABELA 4 – Condições experimentais empregadas para aplicação da AEFA nos sistemas de spray e de imersão.

Experimento	Características da AEFA				Unidades experimentais (n)
	pH	Fluxo de renovação de água	CCL spray (mg/L)	CCL imersão (mg/L)	
1	6	100-200	-	2 mg/L	2
2	6	400-600	-	2 mg/L	2
3	6	400-600	-	2 mg/L	2
4	6	800-1200	-	2 mg/L	2
5	6	800-1200	-	2 mg/L	2
6	6	400-600	-	5 mg/L	2
7	6	400-600	-	5 mg/L	2
Uso de compressor semi-industrial para sistema de spray					
8	6	400-600	2 mg/L	2 mg/L	3
9	6	400-600	5 mg/L	5 mg/L	3
Instalação do filtro de ar odontológico triplo para sistema de spray					
10	6	400-600	5 mg/L	5 mg/L	3
11	6	400-600	10 mg/L	5 mg/L	
12	5	100-200	-	2 mg/L	2
13	5	100-200	-	2 mg/L	2
14	5	100-200	-	2 mg/L	3

CCL = concentração de cloro livre

Nos peitos de frango que receberam spray de AD (sAD) e de AEFA (sAEFA) foram realizadas as análises microbiológicas somente após a aplicação do mesmo.

Para análise da vida útil dos peitos de frango, as análises microbiológicas, de pH e de oxidação lipídica foram realizadas logo após a aplicação dos tratamentos (C, iAD e iAEFA, siAD e siAEFA) e no 6º dia de armazenamento a 4 °C ±1.

#### 4.4 Avaliação da AEFA

O potencial redox (POR) e o valor de pH da AEFA e da AD foram determinados com um medidor de pH/mV/temperatura (modelo DM-22, DIGIMED®), equipado com um eletrodo de platina (modelo DME-CP1) para determinação do POR, e um eletrodo de vidro (modelo DME-CV1) para determinação do pH e um termocompensador (modelo DMF-N1). O teor de cloro livre foi determinado pelo método potenciométrico iodométrico (equação 01), conforme *American Public Health Association* (APHA, 1999).

$$\text{mg Cl como Cl}_2/\text{L} = A \times 100/V \quad \text{Equação 01}$$

onde, A = concentração de cloro (mg/L ou mg/L determinado pela curva padrão; V= volume de amostra adicionado em balão de 100 mL.

#### 4.5 Análise microbiológica dos peitos de frango

As análises microbiológicas dos peitos de frango foram realizadas pela técnica de esfregaço em superfície conforme descrito na Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003, descrito nos Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle dos Produtos de Origem Animal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003). Utilizando um molde estéril de 10 cm<sup>2</sup>, aplicou-se o swaab previamente umedecido no diluente em cinco pontos diferentes do peito de frango, totalizando uma área de 50 cm<sup>2</sup>. O tubo de coleta contendo 10 mL de água peptonada no qual o swab foi adicionado foi denominado 10<sup>0</sup>. Desse modo, um cm<sup>2</sup> correspondeu a 0,2 mL. A evolução da microbiota (bactérias mesófilas e psicotróficas) foi acompanhada pelo número de colônias de bactérias, onde as contagens foram realizadas em contador de colônia (QUIMIS, modelo 290/0, Diadema, SP, Brasil), e os resultados foram expressos em log UFC/cm<sup>2</sup>.

Para determinação no número de colônias das bactérias mesófilas aeróbias as amostras foram semeadas em profundidade em ágar padrão (PCA) e incubadas a 35 °C por 48 h (BRASIL, 2003). Enquanto que para a avaliação da variação no número de colônias das bactérias psicotróficas, as amostras foram semeadas em superfície em ágar padrão (PCA) e incubadas a 7 °C ±1 por 7 dias (BRASIL, 2003).

Coletaram-se amostras dos peitos de frango após a imersão nos tratamentos de AD e AEFA (iAD e iAEFA). Além disso, coletaram-se amostras dos peitos de frango logo após a

aplicação do spray, correspondendo ao tratamento de spray (sAD e sAEFA), e desses mesmos peitos de frango após a imersão, correspondendo a combinação dos tratamentos de spray mais imersão (siAD e siAEFA).

#### **4.6 Análises físico-químicas dos peitos de frango**

O pH dos peitos de frango com pele foi determinado conforme descrito pelas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2008). Dessa forma, 10 g de amostra foram diluídas em 10 mL de água deionizada e homogeneizadas em Mixer (modelo RI1364, Philips Walita) durante 30 s. Em seguida, determinou-se o valor de pH das amostras.

O grau de oxidação lipídica dos peitos de frango foi realizado pelo método de Substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) descrito por Raharjo, Sofos e Schmidt (1992). Assim, em 10 g de amostras de peles de peito de frango foram adicionados 1 mL de BHT 0,15% e 37 mL de ácido tricloroacético (TCA) 5%. Após 5 minutos, as amostras foram homogeneizadas em Mixer (modelo RI1364, Philips Walita) durante 1 min e mantidas em repouso durante 10 minutos. Em seguida, essas amostras foram filtradas para balões de 50 mL e o volume foi completado com TCA 5%. Para a reação, em 2 mL desse balão foram adicionados 2 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,08 M, os quais foram levados ao banho-maria a 40 °C durante 80 min. A leitura em espectrofotômetro foi realizada com cubeta de vidro utilizando comprimento de onda de 523 nm.

#### **4.7 Análise estatística**

A AEFA foi produzida três vezes (n=3) para a análise de estabilidade de água e as análises foram realizadas em triplicata. O desenho experimental para a análise da estabilidade da AEFA foi constituído por um delineamento fatorial 3x5 (três concentrações de AEFA e 5 tempos de avaliação) para cada atributo avaliado (POR, pH e CCL). Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de duas vias, seguida do teste de Tukey para comparação de médias. Os resultados foram considerados significativos quando  $p < 0,05$ .

A aplicação das AEFA nos peitos de frango foi dividida em tratamento com água deionizada (AD) e tratamento com AEFA (AEFA). Os peitos de frango não tratados foram considerados como tratamento controle (C).

Os resultados obtidos para a análise microbiológica, de pH e TBARS dos peitos de frango foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida do teste de Duncan para comparação de médias. Os resultados foram considerados significativos quando  $p < 0,05$ .

As análises estatísticas foram realizadas no aplicativo STATISTICA versão 7.0 (StatSoft Inc, Tulsa – OK, EUA).

## **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1 Água eletrolisada**

#### **5.1.1. Características das águas eletrolisadas fracamente ácidas mãe (AEFAM) elaboradas com diferentes valores de pH**

O equipamento eletrolisador utilizado no presente trabalho permitia que o pH da AEFA fosse controlado durante a eletrólise. Dessa forma, a eletrólise da salmoura 0,025% a 10 °C, com corrente de 0,9 ampére (A) durante 20 min originou AEFAM com pH 6,11, POR de 857,3 mV e 10,09 mg/L de cloro livre, além de AEFAM com pH 5,0, POR de 896,9 mV e 11,67 mg/L de cloro livre. Estes resultados estão dentro da faixa referenciada na literatura, na qual a AEFA se caracteriza por apresentar potencial de oxirredução (POR) de 500-900 mV e pH entre 5,0 e 6,5, sendo que o teor de cloro livre depende da concentração da salmoura (HUANG et al., 2008; RAHMAN et al., 2012a; FORGHANI & OH, 2013).

Rahman; Ding e Oh (2010) já haviam observado que a redução do pH levava ao aumento da CCL e, conseqüentemente, ao aumento do POR da AEFA e da AEA.

#### **5.1.2 Efeito da diluição nas características da AEFAM**

O efeito da diluição nas características de POR, pH e concentração de cloro livre dos diferentes tipos de AEFA avaliadas podem ser observadas na Tabela 5. A diluição não influenciou significativamente no valor de pH das AEFAs. Entretanto, a diluição de 10 mg/L para 2 mg/L de cloro livre promoveu redução significativa no POR. Essa variação no POR de 857,3 mV a 824,9 mV está dentro da faixa mencionada pela literatura para a AEFA (RAHMAN et al., 2012a; FORGHANI & OH, 2013; MANSUR et al., 2015).

**TABELA 5** - Características das AEFAs testadas.

Tipo de AEFA	pH		
	pH	POR (mV)	CCL (mg/L)
<b>AEFAM 10 mg/L</b>	6,11 <sup>a</sup> ± 0,01	857, 3 <sup>a</sup> ± 2,7	10,09 <sup>a</sup> ± 0,22
<b>AEFAd 5 mg/L</b>	6,09 <sup>a</sup> ± 0,01	829,2 <sup>ab</sup> ± 4,9	5,18 <sup>b</sup> ± 0,07
<b>AEFAd 2 mg/L</b>	6,03 <sup>a</sup> ± 0,01	824,9 <sup>b</sup> ± 20,8	2,86 <sup>c</sup> ± 0,01
<b>AEFAM 10 mg/L</b>	5,00 <sup>a</sup> ± 0,03	896,9 <sup>a</sup> ± 5,5	11,67 <sup>a</sup> ± 0,38
<b>AEFAd 2 mg/L</b>	5,07 <sup>a</sup> ± 0,01	857,4 <sup>b</sup> ± 5,2	2,36 <sup>b</sup> ± 0,04

Resultados expressos como Média ± DP (n=3). <sup>a,b</sup> Letras iguais (para o mesmo dado) na mesma coluna não apresentaram diferença significativa pelo teste Tukey (p>0,05) para a AEFA com mesmo pH. AEFAM: água eletrolisada fracamente ácida mãe; . AEFAd: água eletrolisada fracamente ácida diluída. POR: potencial de oxirredução; CCL: concentração de cloro livre.

Abadias et al. (2008) também não observaram variação significativa nos valores de pH e pequena variação no POR ao diluírem AEFA com 280 mg/L de CCL, 721 mV e pH 8,74 para AEFA com 89 mg/L de CCL, 733 mV e pH 8,55 e para AEFA com 48 mg/L de CCL, 736 mV e pH 8,40. Esse mesmo comportamento da AEFA foi observado por Hao et al. (2012) ao diluírem AEFA com 14 mg/L de CCL, 1048 mV e pH 5,58 para AEFA com 1,4 mg/L de CCL, 918 mV e pH 6,23.

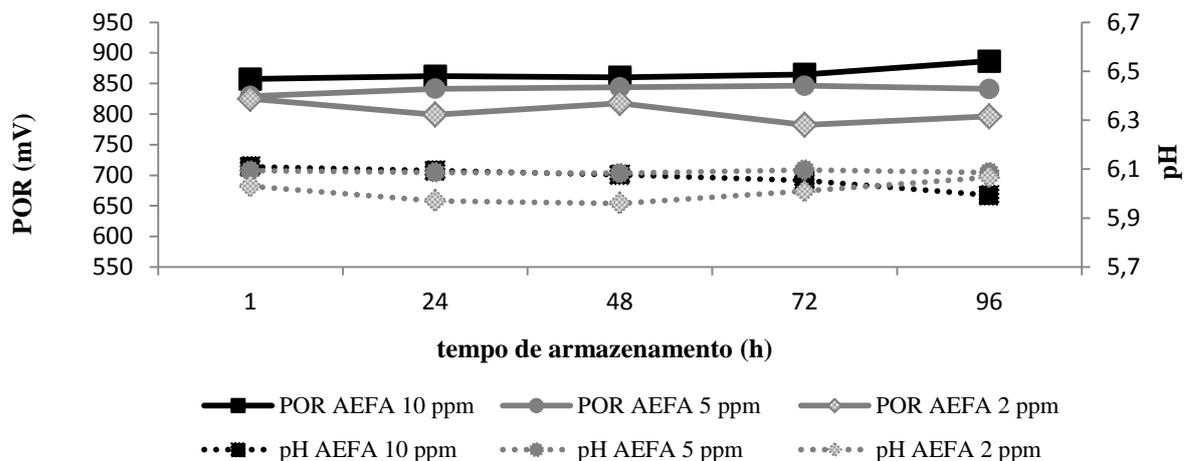
### 5.1.3 Avaliação da estabilidade da AEFA com pH 6

A Tabela 6 mostra o POR, o pH e a CCL das AEFAs com pH 6 e diferentes concentrações de cloro armazenadas em frascos fechados de polietileno a 4 °C durante 96 h. Ao avaliar a estabilidade dessas AEFAs, notou-se que quanto maior a CCL, maior foi o POR durante todo o período de armazenamento (TABELA 6, FIGURA 11). Entretanto, o POR das AEFAs estudadas exibiram comportamento desigual ao longo do tempo. O POR da AEFAM com 10 mg/L de cloro livre aumentou significativamente (p<0,05) nas 96 h de armazenamento, o da AEFAd com 5 mg/L aumentou significativamente (p<0,05) a partir das 24 h de armazenamento, se mantendo estável até as 96 h, enquanto que a AEFAd com 2 mg/L não apresentou variações significativas (p>0,05) no POR ao longo do tempo (TABELA 6, FIGURA 11).

**TABELA 6** – Estabilidade das AEFAM e das AEFAd produzidas com salmoura 0,025% a 10° C e armazenadas a 4 °C durante 96 h.

Água eletrolisada fracamente ácida	Parâmetro	Tempo (h)				
		1	24	48	72	96
AEFAM 10 mg/L	<b>ORP (mV)</b>	857,3 <sup>Ba</sup> ± 2,7	862,1 <sup>Ba</sup> ± 0,01	860,1 <sup>Ba</sup> ± 4,8	864,9 <sup>Ba</sup> ± 5,6	886,5 <sup>Aa</sup> ± 2,3
AEFAd 5 mg/L		829,2 <sup>Bab</sup> ± 4,9	841,4 <sup>Ab</sup> ± 1,6	843,8 <sup>Ab</sup> ± 2,3	846,3 <sup>Ab</sup> ± 1,9	841,2 <sup>Ab</sup> ± 4,8
AEFAd 2 mg/L		824,9 <sup>Ab</sup> ± 20,8	799,1 <sup>ABc</sup> ± 1,4	817,8 <sup>Ac</sup> ± 6,9	782,37 <sup>Bc</sup> ± 10,01	796,2 <sup>ABc</sup> ± 3,46
AEFAM 10 mg/L	<b>pH</b>	6,11 <sup>Aa</sup> ± 0,01	6,09 <sup>Aa</sup> ± 0,03	6,08 <sup>Aa</sup> ± 0,05	6,05 <sup>Aa</sup> ± 0,01	5,99 <sup>Aa</sup> ± 0,03
AEFAd 5 mg/L		6,09 <sup>Aa</sup> 0,01	6,09 <sup>Aa</sup> ± 0,01	6,08 <sup>Aa</sup> ± 0,02	6,10 <sup>Aa</sup> ± 0,01	6,09 <sup>Aa</sup> ± 0,01
AEFAd 2 mg/L		6,03 <sup>Aa</sup> ± 0,01	5,97 <sup>Aa</sup> ± 0,06	5,96 <sup>Aa</sup> ± 0,03	6,01 <sup>Aa</sup> ± 0,08	6,07 <sup>Aa</sup> ± 0,06
AEFAM 10 mg/L	<b>CCL (mg/L)</b>	10,09 <sup>Aa</sup> ± 0,22	9,63 <sup>Aa</sup> ± 0,19	10,21 <sup>Aa</sup> ± 0,03	10,01 <sup>Aa</sup> ± 0,11	10,08 <sup>Aa</sup> ± 0,26
AEFAd 5 mg/L		5,18 <sup>Ab</sup> ± 0,07	5,24 <sup>Ab</sup> ± 0,19	5,11 <sup>Ab</sup> ± 0,50	5,07 <sup>Ab</sup> ± 0,06	5,03 <sup>Ab</sup> ± 0,01
AEFAd 2 mg/L		2,86 <sup>Ac</sup> ± 0,01	2,79 <sup>Ac</sup> ± 0,01	2,76 <sup>Ac</sup> ± 0,01	2,51 <sup>Ac</sup> ± 0,02	2,58 <sup>Ac</sup> ± 0,01

Resultados expressos como Média ± DP (n=3). <sup>a,b</sup> Letras iguais (para o mesmo dado) na mesma coluna não apresentaram diferença significativa pelo teste Tukey (p>0,05) no mesmo período de tempo avaliado. <sup>A,B,C</sup> Letras iguais na mesma linha não apresentam diferença significativa pelo teste Tukey (p>0,05) ao longo do tempo. AEFAM: água eletrolisada fracamente ácida mãe; AEFAd: água eletrolisada fracamente ácida diluída; POR: potencial de oxirredução; CCL: concentração de cloro livre.



**FIGURA 11** – Relação entre valor de POR e pH das AEFAs produzidas com salmoura 0,025% de NaCl à 10° C, e armazenadas a 4 °C durante 96 h. AEFA: água eletrolisada fracamente ácida; POR: potencial de oxirredução; CCL: concentração de cloro livre.

O comportamento do POR na AEFA é discutido por diferentes autores. Cui et al. (2009) avaliaram a estabilidade da AEFA com 25 mg/L de cloro livre elaborada a partir de 30 min de eletrólise de uma solução 0,1% de NaCl e armazenada a 20 °C em frascos fechados e abertos, e verificaram aumento no POR de 512 para 750 mV nos dois primeiros dias, seguido de queda a partir do 7º dia de armazenamento. Rahman et al. (2012a) demonstraram que o POR (700 mV) da AEFA com 10 mg/L de cloro livre elaborada a partir de uma solução 0,9% de NaCl se manteve estável durante 5 dias de armazenamento fechado à temperatura ambiente. Contudo, após os cinco dias houve queda do POR, sendo que ao final dos 28 dias de armazenamento a AEFA apresentou POR de 500 mV. As diferenças no comportamento do POR das AEFA pode ser explicado pela concentração de sal utilizada para a eletrólise nos diferentes estudos. Enquanto a maioria dos estudos utilizam altas concentrações de NaCl para a elaboração as salmoura, é importante ressaltar que é a primeira vez que se avalia a estabilidade da AEFA obtida a partir de uma solução com 0,025% de NaCl. Outro fator importante é que nesse estudo o equipamento eletrolisador separa os eletrodos por uma membrana permeável, enquanto que no equipamento usado por Rahman et al. (2012a) e por Cui et al. (2009) o cátodo e o ânodo se encontravam na mesma cavidade, o que poderia influenciar a reação dos íons nos eletrodos.

O pH das AEFAs não foi influenciado significativamente pela CCL e pelo tempo de armazenamento, se mantendo entre 5,96 e 6,11 (TABELA 6, FIGURA 11). O resultados do presente trabalho vão ao encontro de estudos realizados por Cui et al. (2009), que já haviam relatado a estabilidade no pH de AEA e AEFA durante 30 dias de armazenamento em recipientes fechados e abertos a 20°C. Entretanto, Rahman et al. (2012a) verificaram aumento do pH de 6,8 para 7,4 na AEFA armazenada em frascos de vidro fechados durante 28 dias à temperatura ambiente. Diante do exposto, os resultados do presente estudo sugerem que o armazenamento em recipientes fechados de polietileno a 4 °C garantiriam a estabilidade do pH da AEFAm e das AEFAd durante 96 h.

A CCL se manteve estável durante todo o período de armazenamento (TABELA 6, FIGURA 12). Dessa forma, esses resultados demonstraram que não houve perda de cloro livre nas AEFAs durante o armazenamento fechado, conforme descrito por diferentes autores (LEN et al., 2002; Hsu, 2004; CUI et al., 2009; RAHMAN et al., 2012). Além disso, as espécies de cloro livre predominantes na AEFA com pH 6 são HOCl e OCl<sup>-</sup>, as quais não são volatizadas para o meio, evitando a perda de cloro por evaporação (LEN et al., 2002; WHITE, 2010)

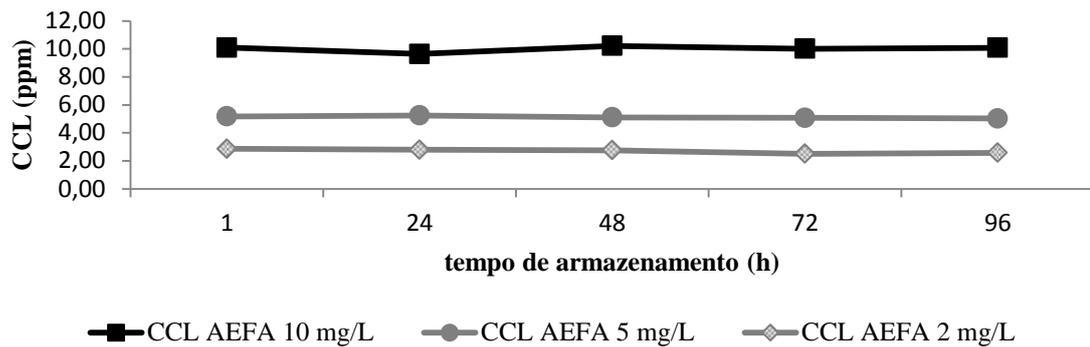


FIGURA 12 – Concentração de cloro livre (CCL) da AEFAm e das AEFAd produzidas com salmoura 0,025% de NaCl à 10° C, e armazenadas a 4 °C durante 96 h.

De uma maneira geral, tanto a AEFAm com 10 mg/L de cloro livre quando as AEFAd obtidas a partir de uma baixa concentração de NaCl (0,025%) se mostraram estáveis por 96 h durante o armazenamento em frascos fechados de polietileno a 4 °C. Nessas condições, essas AEFAs poderiam ser armazenadas e utilizadas nos dias seguintes ao dia de produção, facilitando o trabalho do operário no que diz respeito ao preparo da salmoura e ao processo de eletrólise.

A importância do presente estudo está em utilizar baixa concentração de NaCl (0,025%) para o preparo de AEFA com baixa concentração de cloro livre. Isso porque Hsu (2003) já havia evidenciado que a eficiência da eletrólise e da separação de íons na membrana foi reduzida com o aumento da concentração de NaCl utilizada para o preparo da salmoura. Além disso, as indústrias processadoras de alimentos visam reduzir o uso de produtos químicos, e consequentemente, reduzir os resíduos gerados a fim de garantir maior segurança ao manipulador de alimentos, ao consumidor e ao meio ambiente.

## 5.2 Análise microbiológica dos peitos de frango

Nessa parte do estudo, foi avaliada a ação da AEFA a 4 °C em relação às bactérias mesófilas aeróbias e psicrotróficas nos peitos de frango.

Como os experimentos foram conduzidos separadamente nesse estudo, o número inicial de colônias de bactérias mesófilas e psicrotróficas dos peitos de frango foram variáveis. Outros autores também descreveram a variedade no número inicial de microrganismos em cortes de frango. Senter, Arnold e Chew (2000) encontraram 3,52 log UFC/mL de microrganismos mesófilos em amostras de peito de frango com pele refrigeradas após 8 h de abate coletadas direto da planta processadora de aves. Isolan (2007), ao avaliar a eficiência da etapa de pré-resfriamento em *chiller* na qualidade microbiológica de carcaças de frango

abatidas no frigorífico, encontrou contagens de mesófilos de 2,26 a 4,40 log UFC/cm<sup>2</sup>. Morshedy & Sallam (2009) encontraram número de colônias de mesófilos e psicrotróficos em carcaças de frango logo após o abate de 5,13 e 4,62 log UFC/cm<sup>2</sup>, respectivamente. Avaliando o crescimento de mesófilos em carcaças de frango após a passagem pelo *chiller*, Cavani (2010) encontrou número de colônias de 4,98 à 5,37 log UFC/cm<sup>2</sup> nos períodos de 8 à 16 h de trabalho em abatedouro. Carcaças de frango foram coletadas de diferentes abatedouros após o pré-resfriamento em *chiller* e o número de colônias de bactérias mesófilas variou de 4,2 a 4,4 log UFC/g (ZWEIFEL, ALTHAUS, STEPHAN, 2015). Nos 33 peitos de frangos utilizados no tratamento controle (C) desse estudo, o número de colônias inicial de bactérias mesófilas variaram de 2,46 à 5,31 log UFC/cm<sup>2</sup> e das psicrotróficas de 2,84 a 5,69 log UFC/cm<sup>2</sup>, estando esses valores dentro da faixa encontrada nos trabalhos pesquisados na literatura (SETER, ARNOLD E CHEW, 2000; ISOLAN, 2007; del RIO et al., 2007; MORSHEDY et al, 2009; BOLTON et al., 2014; ZWEIFEL, ALTHAUS, STEPHAN, 2015).

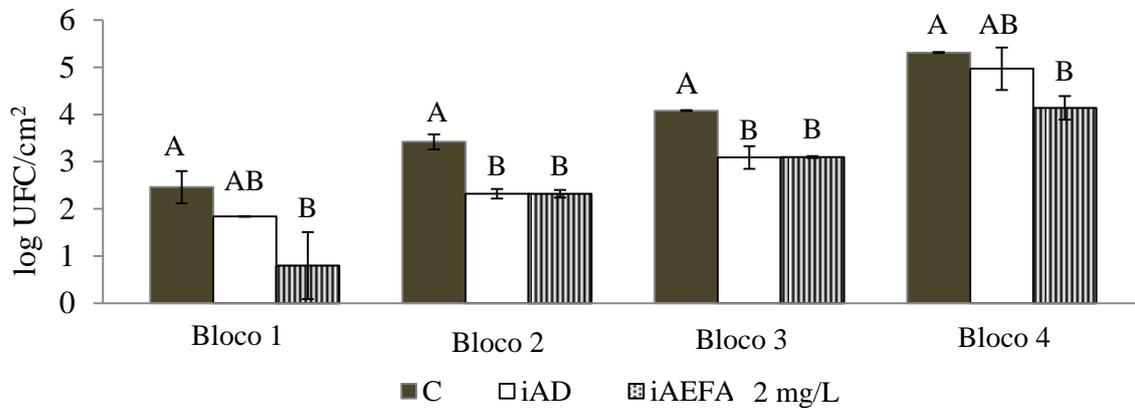
5.2.1 Número de colônias das bactérias mesófilas aeróbias e psicrotróficas logo após a aplicação dos tratamentos de imersão

5.2.1.1 Imersão em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6

Na FIGURA 13 são apresentados o número de colônias de bactérias mesófilas nos peitos de frango sem tratamento (C) e após a imersão em AD e em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6 obtidas nos experimentos 1 à 6 (APÊNDICE 1A).

A redução no número de colônias de bactérias mesófilas dos peitos de frango promovida pela AEFA variou, sendo que quanto maior a carga inicial de bactérias mesófilas, menor foi a redução promovida pela imersão em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6 (FIGURA 15). Assim, em peitos de frangos que apresentaram número inicial de colônias de 5,31 log UFC/cm<sup>2</sup> (Bloco 4) a redução ficou em 1,17 log (22%) (APÊNDICE 1A, experimento 2), quando esse número inicial era de 4,08 log UFC/cm<sup>2</sup> (Bloco 3) a redução ficou em 0,98 log (24%) (APÊNDICE 1A, experimento 5). Quando o número inicial de colônias foi de 3,49 e 3,35 log UFC/cm<sup>2</sup> (Bloco 2) a redução foi entre 1,03 e 1,06 log (29% e 31%) (APÊNDICE 1A, experimento 1 e 4) chegando a 1,66 log de redução (67%) quando o número inicial de colônias foi de 2,46 log UFC/cm<sup>2</sup> (Bloco 1) (APÊNDICE 1A, experimento 3). Park et al. (2009) reportaram que a ação da AEA com 37 mg/L de cloro livre dependia do grau de contaminação inicial da matéria-prima, ao observarem que quanto maior era a concentração de soro bovino em solução, menor era o teor de cloro livre encontrado na AEA,

e conseqüentemente menor foi a eficácia de ação dessa AEA frente aos microrganismos avaliados.



**Figura 13** - Número de colônias de bactérias mesófilas nos peitos de frangos antes da imersão (controle C) e logo após a imersão em AD e em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6. Resultados expressos como Média ± DP (n=2) <sup>A,B,C</sup> Letras iguais no mesmo Bloco não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan (p>0,05).

C = peitos de frango sem tratamento, referente à carga inicial de mesófilos; AD = referente a carga de mesófilos após imersão dos peitos de frango em água deionizada; AEFA 2 mg/L = referente à carga de mesófilos após imersão dos peitos de frango em água eletrolisada fracamente ácida com 2 mg/L de cloro livre. Bloco 1: refere-se à contagem inicial de  $10^2$  nos peitos de tratamento controle. Bloco 2: refere-se à contagem inicial de  $10^3$  nos peitos do tratamento controle. Bloco 3: refere-se à contagem inicial de  $10^4$  nos peitos do tratamento controle. Bloco 4: referem-se à contagem inicial de  $10^5$  nos peitos do tratamento controle. Dados do APÊNDICE 1A.

Entretanto, independente da carga inicial de mesófilos dos peitos de frango, o número de colônias de bactérias mesófilas após a imersão em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6 não diferiu estatisticamente (p>0,05) do número de bactérias dos peitos de frango que foram imersos em AD (FIGURA 13). O efeito da AD pode ser atribuído à remoção física dos microrganismos presentes nos peitos de frango. FABRIZIO et al. (2002) demonstraram que após a imersão de carcaças de frango em AD a 4 °C durante 45 min, o número de colônias de bactérias mesófilas que era de 5,49 passou para 4,78 log UFC/mL, representando uma redução de 0,71 log. Esse efeito também foi atribuído à baixa temperatura usada para o resfriamento dos peitos de frango, a qual contribuiria para a redução do crescimento de microrganismos.

Coxas de frango com número inicial de colônias de mesófilos de 5,66 log UFC/g coletadas logo após o abate na planta processadora e imersas durante 15 min à 20 °C em solução de fosfato tri-sódico (12%) e em clorito de sódio acidificado (1200 mg/L) resultou em redução de 0,76 log (13%) e 0,95 log (17%), respectivamente (CAPITA et al., 2013). Quando da imersão dos peitos de frango que apresentavam contagem inicial de mesófilos de 5,31 log

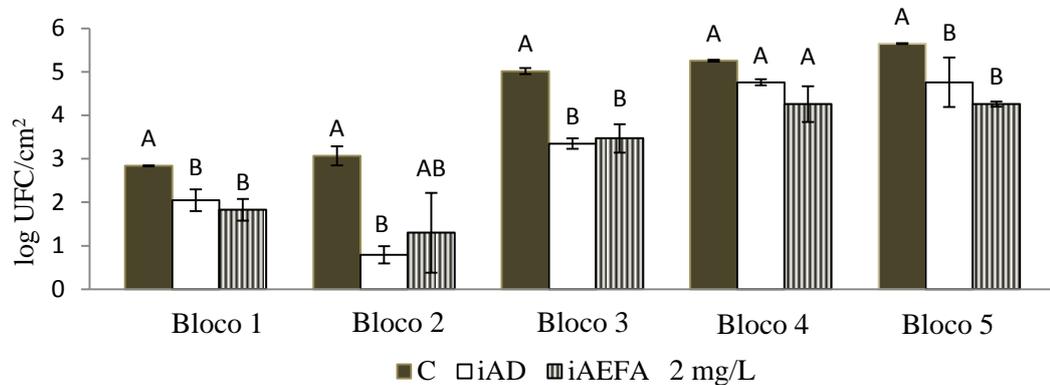
UFC/cm<sup>2</sup> em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6, ocorreu redução de 1,17 log (22%) (FIGURA 13, Bloco 4; APÊNDICE 1A, experimento 2). Esse maior índice de redução do que os obtidos com fosfato de sódio e clorito de sódio acidificado demonstrou que a AEFA nas condições estudadas apresentou ação frente às bactérias mesófilas no mesmo nível dos que os sanitizantes fosfato trissódico, que apresenta pH entre 10 e 11, e do clorito de sódio acidificado, que apresenta pH entre 2,5 a 2,7. Além disso, devido ao valor de pH mais próximo a neutralidade, o efluente vindo da AEFA poderia ser mais fácil de ser tratado.

Fabrizio et al. (2002) verificaram que a imersão de carcaças de frango durante 45 min a 4 °C em solução clorada a 20 mg/L e em AEA com 50 mg/L de cloro livre, pH 2,5 e 1150 mV promoveram redução de 1,17 log (21%) e 1,34 log (24%), respectivamente, quando o número de colônias inicial de mesófilos era de 5,49 log UFC/mL. Essa redução foi semelhante à obtida quando os peitos de frangos com o número de colônias inicial de mesófilos de 5,31 log UFC/cm<sup>2</sup> foram imersos em AEFA com 2 mg/L de cloro livre, uma vez que a redução foi de 1,17 log (22%) (FIGURA 13, Bloco 4; APÊNDICE 1A, experimento 2).

Rahman et al. (2012b) verificaram redução de 1,5 log (32%) ao submeter carcaças de frango com número de colônias inicial de mesófilos de 4,62 log UFC/g à imersão em AEFA (770 mV e pH 6,5) com 10 mg/L de cloro livre por 10 min a 15 °C. Enquanto que a imersão em AEA (1100 mV e pH 2,5) com 50 mg/L de cloro livre reduziu 1,4 log (30%). No presente estudo, a imersão em AEFA com 2 mg/L de cloro livre durante 30 min a 4 °C promoveu a redução de 0,98 log (24%) quando o número de colônias inicial de mesófilos era de 4,08 log UFC/cm<sup>2</sup> (FIGURA 13, Bloco 3; APÊNDICE 1A, experimento 5). Valor de redução no número de bactérias mesófilas obtido com AEFA com 2 mg/L foi próximo ao obtido por Rahman et al. (2012b).

A ação da AEA frente às bactérias é atribuída as suas características de alto valor de POR, baixo pH e à alta concentração de cloro livre na forma de gás cloro (HUANG, et al., 2008; XIE et al., 2012). Entretanto, estudos evidenciam que a forma de cloro livre presente em solução é mais importante do que a concentração de cloro livre (Hao et al., 2012). Assim, além de promover a remoção física das bactérias durante o processo de imersão, a AEFA teria a ação do HOCl, que é a forma de cloro livre presente na AEFA com pH entre 5,0 e 6,5 (WHITE, 2010; RAHMAN, DING e OH, 2010; HAO et al., 2012). O HOCl é considerado a espécie de cloro livre mais eficaz como desinfetante, uma vez que apresenta baixo peso molecular e facilidade de penetração nas membranas celulares (WHITE, 2010). Adicionalmente, a AEFA teria ação do POR que sensibilizaria a membrana celular dos microrganismos, desestabilizando a célula microbiana.

O efeito da imersão dos peitos de frango em AD e AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6 o sobre número inicial de colônias das bactérias psicotróficas de 2,84 à 5,65 UFC/cm<sup>2</sup> é apresentado na figura 14.



**FIGURA 14** - Número de colônias de bactérias psicotróficas nos peitos de frangos antes da imersão (controle C) e logo após a imersão em AD e em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6. Resultados expressos como Média  $\pm$  DP (n=2) <sup>A,B,C</sup> Letras iguais no mesmo Bloco não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan ( $p > 0,05$ ).

C = peitos de frango sem tratamento, referente à carga inicial de mesófilos; AD = imersão dos peitos de frango em água deionizada; AEFA 2 mg/L = imersão dos peitos de frango em água eletrolisada fracamente ácida com 2 mg/L de cloro livre. Bloco 1: refere-se à contagem inicial de 10<sup>2</sup> dos peitos de frango controle. Bloco 2: refere-se à contagem inicial de 10<sup>3</sup> dos peitos de frango controle. Bloco 3, 4 e 5 referem-se à contagem inicial de 10<sup>5</sup> dos peitos de frango controle. Dados do APÊNDICE 6A.

Para número de colônias inicial de psicotróficos de 2,84 log UFC/cm<sup>2</sup> verificou-se redução significativa de 1,02 log (36%) em relação ao tratamento C após a imersão em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6 (FIGURA 14, Bloco 1; APÊNDICE 6A, experimento 4). Com número inicial de 3,07 log UFC/cm<sup>2</sup>, a redução foi de 1,77 log (58%) em relação ao tratamento C (FIGURA 14; Bloco 2; APÊNDICE 6A, experimento 3), a qual diferiu significativamente ( $p < 0,05$ ). Quando o número inicial de psicotróficos era de 5 log UFC/cm<sup>2</sup>, a redução promovida pela imersão em AEFA foi de 0,78 log (15%) (Bloco 4), 1,39 log (25%) (Bloco 5) e 1,55 log (31%) (Bloco 3), não ocorrendo diferença significativa ( $p > 0,05$ ) em relação ao tratamento C somente no Bloco 4 (FIGURA 14; APÊNDICE 6A, experimentos 5, 2 e 1). Em todos os blocos, a redução promovida pela imersão em AEFA não diferiu significativamente ( $p > 0,05$ ) da redução promovida pela AD (FIGURA 14, APÊNDICE 6A). Nota-se que AEFA apresentou redução semelhante nos peitos com número inicial de colônias 10<sup>2</sup>, 10<sup>3</sup>, 10<sup>4</sup> e 10<sup>5</sup> log UFC/cm<sup>2</sup>, demonstrando que o número de colônias inicial de bactérias psicotróficas dos peitos de frango não influencia na ação sanitizante da AEFA com pH 6 e 2 mg/L de cloro livre.

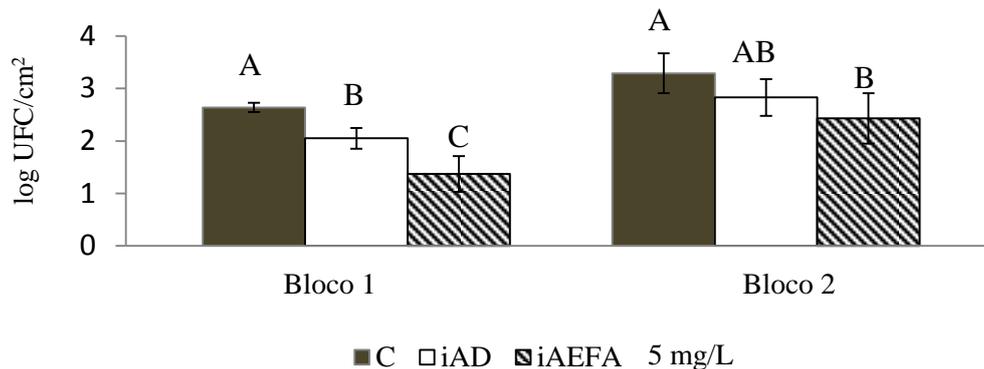
Carcaças de frango coletadas num processo industrial com número de colônias inicial de psicrotróficos de 3,76 log UFC/mL apresentaram redução de 0,29 log (8%) após imersão em *chiller* industrial à temperatura de 4 °C com 2 mg/L de cloro livre (GALHARDO et al., 2006). Peitos de frangos com número inicial de psicrotróficos bem próximos (3,07 log) (FIGURA 14, Bloco 2; APÊNDICE 6A, experimento 4), logo após serem imersos em AEFA com 2 mg/L de cloro e pH 6,0 apresentaram redução de 1,77 log (58%). Esses resultados são interessantes uma vez que a AEFA com pH 6,0 apresentaram efeito de redução melhor do que a água clorada comumente utilizada pela indústria em condições de imersão bem semelhantes.

A redução observada por Bolton et al. (2014) em pele de frango após a imersão em solução de ácido láctico 5% e ácido cítrico 5% foi de 1,01 log (18%) e 0,63 log (11%), tendo número inicial de 5,64 log UFC/cm<sup>2</sup> de bactérias psicrotróficas. A ação da AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6 nos peitos de frangos com carga inicial de 10<sup>5</sup> UFC/cm<sup>2</sup> pertencentes ao Bloco 4 (FIGURA 14, APÊNDICE 6A, experimento 5) proporcionou redução semelhante (15%) a obtida nas peles de frangos quando tratadas com os dois tipos de ácidos. Mas nas amostras dos Blocos 3 e 5 a redução foi maior do que a obtida nas peles tratadas com os dois tipos de ácidos (Bolton et al., 2014). A redução obtidos nos peitos de frango seria decorrente do maior tempo de imersão na AEFA, dessa maneira ocorreu maior remoção física dos psicrotróficos, associado a ação potente do HOCl frente as bactérias.

#### 5.2.1.2 Imersão em AEFA com 5 mg/L de cloro livre e pH 6

Na FIGURA 15 observa-se a ação da imersão dos peitos de frango com número de colônias inicial de bactérias mesófilas de 2,64 log UFC/cm<sup>2</sup> (Bloco 1) e 3,29 log UFC/cm<sup>2</sup> (Bloco 2) em AD e em AEFA com 5 mg/L de cloro livre e pH 6 durante 30 min.

Novamente foi observado que quanto maior a carga inicial de microrganismos mesófilos, menor foi a redução promovida pelos tratamentos de imersão. Em peitos de frango que apresentaram número de colônias de bactérias mesófilas iniciais em 10<sup>2</sup> UFC/cm<sup>2</sup> (FIGURA 15, Bloco 1), ocorreu redução no número de colônias de 0,59 log (22%) e 1,27 log (48%) após a imersão em AD e em AEFA com 5 mg/L de cloro livre, respectivamente, diferindo significativamente ( $p < 0,05$ ) do número de colônias dos peitos de frango do tratamento controle (C) e dos que foram imersos em AD (APÊNDICE 1B, experimento 7).



**FIGURA 15** - Número de colônias de bactérias mesófilas nos peitos de frangos antes da imersão (controle C) e logo após a imersão em AD e em AEFA com 5 mg/L de cloro livre e pH 6,0. Resultados expressos como Média  $\pm$  DP (n= 2) <sup>A,B,C</sup> Letras iguais no mesmo Bloco não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan ( $p>0,05$ ).

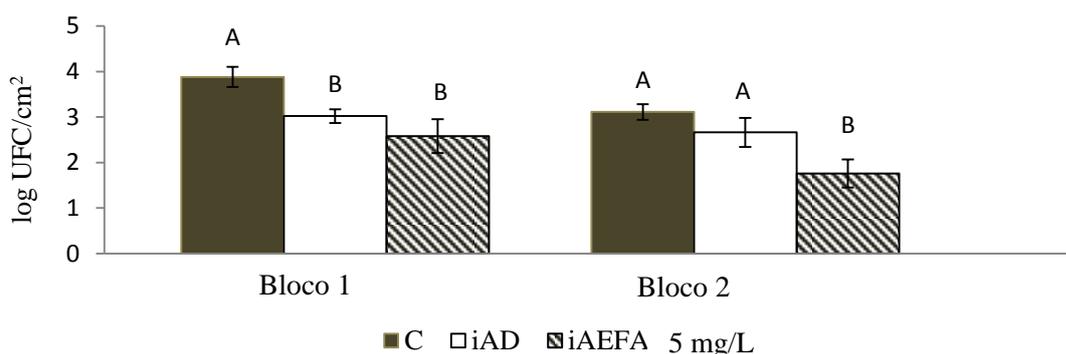
C = peitos de frango sem tratamento, referente à carga inicial de mesófilos; AD = imersão dos peitos de frango em água deionizada; AEFA 5 mg/L = imersão dos peitos de frango em água eletrolisada fracamente ácida com 5 mg/L de cloro livre. Bloco 1 refere-se à contagem inicial de  $10^2$  do tratamento controle. Bloco 2 refere-se à contagem inicial de  $10^3$  do tratamento controle. Dados do APÊNDICE 1B.

Quando o número de colônias inicial de bactérias mesófilas estavam em 3,29 log UFC/cm<sup>2</sup> (FIGURA 15, Bloco 2), a redução promovida pela imersão em AD e em AEFA com 5 mg/L de cloro livre e pH 6 foi de 0,46 log (14%) e de 0,86 log (25%), respectivamente (APÊNDICE 1B, experimento 6). Assim como ocorreu com a imersão em AEFA 2 mg/L (FIGURA 15), a imersão dos peitos de frango em AEFA com 5 mg/L de cloro livre durante 30 min a 4 °C apresentou maior eficácia quando o número de colônias iniciais de bactérias mesófilas foi de  $10^2$  UFC/cm<sup>2</sup> (FIGURA 15). Entretanto, ocorreu diferença significativa ( $p<0,05$ ) entre o tratamento com AD e o tratamento com AEFA somente na concentração de 5 mg/L de cloro livre, mas ambos tratamentos com AEFA na concentração de 2 e 5 mg/L diferenciaram-se do tratamento controle (C).

Considerando que a legislação brasileira (BRASIL, 1998) estabelece o nível de cloro nos tanques de *chiller* de até 5 mg/L, uma vez que níveis elevados de cloro deixam resíduos no alimento, a concentração de cloro usada nesse experimento está dentro do preconizado. Entretanto, observou-se que o aumento no teor de cloro livre de 2 para 5 mg/L não aumentou a eficácia da AEFA frente aos mesófilos nas condições avaliadas.

Nos experimentos 6 e 7 (APÊNDICE 6B) os peitos de frango foram imersos em AD e em AEFA com 5 mg/L de cloro livre e pH 6, e o número inicial de colônias de psicrotóxicos foi de 3,88 e 3,11 log UFC/cm<sup>2</sup>, respectivamente (FIGURA 16). A redução promovida pela imersão em AD foi de 0,86 log (22%) e 0,44 log (14%), enquanto que em AEFA de 1,30 log (34% Bloco 1) e 1,35 log (43%) (Bloco 1 e Bloco 2, respectivamente).

Ao aumentar a concentração de 2 para 5 mg/L de cloro livre na AEFA usada no banho de imersão, não ocorreu aumento na eficácia da AEFA frente aos psicotróficos, pois quando as contagens iniciais de psicotróficos eram de  $10^3$  UFC/cm<sup>2</sup>, a redução promovida pela AEFA com 2 mg/L de cloro livre foi de 1,77 log (58%) (APÊNDICE 6A, experimento 3), enquanto que com a AEFA com 5 mg/L de cloro livre a redução foi de 1,30 log (34%) e de 1,77 log (42%) (APÊNDICE 6B, experimento 6 e 7) (FIGURA 16).



**FIGURA 16** - Número de colônias de bactérias psicotróficas nos peitos de frangos antes da imersão (controle C) e logo após a imersão em AD e em AEFA com 5 mg/L de cloro livre e pH 6. Resultados expressos como Média ± DP (n=2) <sup>A,B,C</sup> Letras iguais no mesmo Bloco não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan (p>0,05).

C = peitos de frango sem tratamento, referente à carga inicial de mesófilos; AD = imersão dos peitos de frango em água deionizada; AEFA 5 mg/L = imersão dos peitos de frango em água eletrolisada fracamente ácida com 5 mg/L de cloro livre. Bloco 1 e Bloco 2: referem-se à contagem inicial de  $10^3$  dos peitos de frango controle. Dados do APÊNDICE 6B.

Del Rio et al. (2007) avaliaram a imersão por 15 min a 18 °C de cortes de frango com número de colônias inicial de psicotróficos de 4,34 log UFC/g em soluções de fosfato trissódico (12%), clorito de sódio acidificado (1200 mg/L e pH 2,27) e ácido cítrico (2%). Após o tratamento, esse número reduziu 1,01 log (23%), 0,83 log (19%) e 1,05 log (24%), respectivamente. A imersão em AEFA com 5 mg/L de cloro livre apresentou efeito sanitizante, ao reduzir 1,3 log (34%) o número de colônias de psicotróficos que estava em 3,88 log UFC/cm<sup>2</sup> (FIGURA 16, Bloco1; APÊNDICE 6B, experimento 6). Destaca-se que AEFA tinha menor concentração de princípio ativo, em relação aos sanitizantes utilizados por Del Rio et al. (2007) e também o banho foi efetuado em menor temperatura, fator que influencia diretamente na ação do sanitizante.

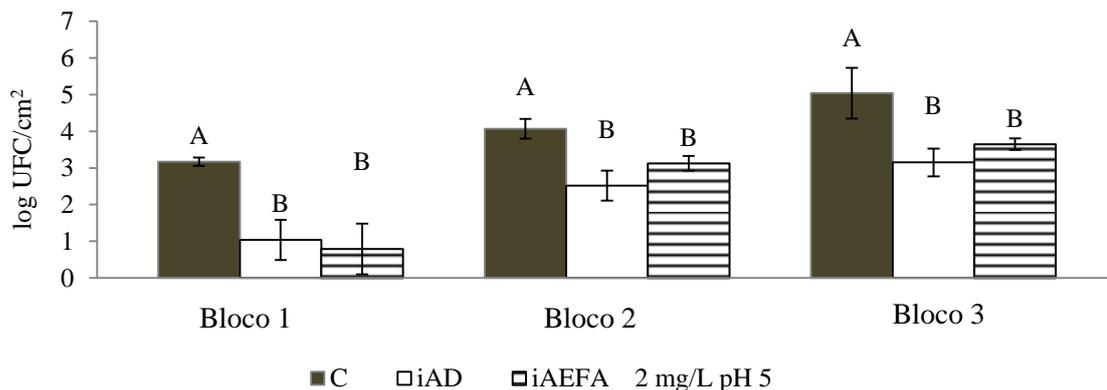
Ao avaliar o efeito de antimicrobianos em carcaças de frango que apresentam contagem inicial de psicotróficos de 4,62 log UF/g, Morshedy e Sallam (2009) observaram que a imersão em solução de fosfato trissódico a 12% e em ácido láctico a 2% durante 10 min a 15 °C foi capaz de reduzir significativamente essas contagens em 0,62 log (13%) e 0,65 log

(14%), respectivamente. Purnell et al. (2014) mencionam que seria melhor efetuar tratamentos químicos em carcaças de frangos ainda quentes, devido as bactérias presentes ficarem menos aderidas às superfícies internas e externas, e isso favoreceria o efeito das substâncias químicas, assim como a remoção das mesmas.

Levando em consideração as colocações de Purnell et al (2014) e comparando os resultados obtidos para a AEFA a 5 mg/L com os de Morshedy e Sallam (2009), pode-se mencionar que mesmo que os peitos de frangos tenham sido imergidos a baixa temperatura (4 °C) e que a concentração do princípio ativo tenha sido menor (5 mg/L de cloro livre) frente às condições empregadas (12% fosfato trisódico e 2% de ácido láctico) por esses autores, a AEFA apresentou bom efeito frente as bactérias psicrotróficas. Isso porque reduziu entre 34% a 43% a contagem inicial de bactérias psicrotróficas que estavam próximas a  $10^4$  UFC/cm<sup>2</sup> (3,88 log UFC/cm<sup>2</sup>) (FIGURA 16, Bloco 1; APÊNDICE 6B, experimento 6).

### 5.2.1.3 Imersão em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 5

Na figura 17, observa-se a ação da imersão dos peitos de frango em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 5 no número de colônias de bactérias mesófilas. O Bloco 1 refere-se ao experimento 13, o Bloco 2 refere-se ao experimento 14 e o Bloco 3 refere-se ao experimento 12 (APÊNDICE 2).



**FIGURA 17** – Número de colônias de bactérias mesófilas nos peitos de frangos antes da imersão (controle C) e logo após a imersão em AD e em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 5. Resultados expressos como Média ± DP (n=2 para Blocos 1 e 2; n=3 para Bloco 3) <sup>A,B,C</sup> Letras iguais no mesmo Bloco não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan (p>0,05).

C = peitos de frango sem tratamento, referente à carga inicial de mesófilos; AD = imersão dos peitos de frango em água deionizada; AEFA 2 mg/L = imersão dos peitos de frango em água eletrolisada fracamente ácida com 2 mg/L de cloro livre. Bloco 1: refere-se a contagem inicial de  $10^3$  do tratamento controle. Bloco 2 refere-se à inicial de  $10^4$  do tratamento controle. Bloco 3 refere-se à contagem inicial acima de  $10^5$  do tratamento controle. Dados do APÊNDICE 2.

Peitos de frango com número de colônias de bactérias mesófilas inicial de 3,17 log UFC/cm<sup>2</sup> (FIGURA 17, Bloco 1) foram imersos durante 30 min em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 5, e ocorreu redução de 2,38 log (75%) no número de colônias desses microrganismos em relação ao tratamento controle (C) (APÊNDICE 2, experimento 13). Essa redução foi mais efetiva do que a promovida pela AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6, que foi de 1,03 -1,06 log (29-32%) quando número inicial de colônias de mesófilos era de 3,49 e 3,35 log UFC/cm<sup>2</sup>, respectivamente (FIGURA 13; APÊNDICE 1A, experimento 1 e 4).

Ainda na FIGURA 17, observa-se que com número de colônias de bactérias mesófilas inicial de 4,07 log UFC/cm<sup>2</sup> (Bloco 2), a imersão em AD e em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 5 promoveram redução de 1,54 log (38%) e 0,94 log (23%), respectivamente (APÊNDICE 2, experimentos 14).

Gross (2014) demonstrou que após a saída do *chiller*, carcaças de frango com número inicial de bactérias mesófilos de 4,34 log UFC/g foram submetidas ao tratamento de imersão em solução de dióxido de cloro a 5 mg/L durante 1 minuto, à temperatura de 20 °C, tiveram redução de 0,6 log (14%) no número de colônias de mesófilos. O dióxido de cloro é comumente usado na indústria devido ao seu efeito bactericida mesmo na presença de matéria orgânica, sendo que sua atividade é mantida em pH superior a 7,5 (THIESSEN, 1984). Usando menor temperatura e concentração de princípio ativo (2 mg/L de cloro livre), e maior tempo de exposição, quando da imersão em AEFA ocorreu redução superior à promovida pelo dióxido de cloro que foi de 0,94 log (23%) em contagem inicial de mesófilos de 4,07 UFC/cm<sup>2</sup> (FIGURA 17, Bloco 2; APÊNDICE 2, experimento 14).

Coxas de frango apresentando 4,6 log UFC/cm<sup>2</sup> de mesófilos foram imersas em solução de fosfato trissódico a 12% (pH 12,8) e em ácido cítrico 2% (pH 2,4) durante um minuto à 20 °C, promovendo redução de 0,9 log (19%) e 0,7 log (15%), respectivamente, (KOOLMAN et al., 2014). A AEFA com pH 5 e 2 mg/L de cloro livre apresentou efeito frente as bactérias mesófilas em peitos de frango com contagem inicial de 5,04 log, pois promoveu redução de 1,39 log (28%) (FIGURA 17, Bloco 3; APÊNDICE 2, experimento 12). Resultado esse interessante, uma vez que nos peitos de frango o número inicial de bactérias mesófilas foi maior do que o encontrado nas coxas de frango, e mesmo assim a redução promovida pela AEFA em pH 5 com 2 mg/L de cloro foi maior.

Estudos sugerem que o pH é um fator importante na ação da AEFA frente aos microrganismos por interferir no equilíbrio entre as espécies de HOCl e OCl<sup>-</sup> (HUANG, et al., 2008; HAO et al., 2012). Em temperatura de 1 °C e pH 5,0 tem-se 99,85% do cloro livre em solução na forma de HOCl, enquanto que em pH 6,0 o valor é de 98,53% (WHITE, 2010).

Assim, sugere-se que, enquanto a AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6 é capaz de provocar reduções na carga inicial de mesófilo de  $10^2$ , a AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 5 parece apresentar efeito de redução da carga inicial de mesófilos quando essa carga inicial é de  $10^3$  devido a maior concentração de HOCl em pH 5.

Quando o número de colônias de bactérias mesófilas inicial foi de 5,04 log UFC/cm<sup>2</sup> (FIGURA 17, Bloco 3), a redução promovida pela imersão em AD e AEFA com 2 mg/L de cloro livre foi de 1,89 log (38%) e 1,39 log (28%), respectivamente (APÊNDICE 2, experimento 12). Nota-se que o número de colônias de bactérias mesófilas após a imersão em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 5 não diferiu estatisticamente ( $p > 0,05$ ) do encontrado nos peitos de frangos imersos em AD, independentemente do número de colônias inicial de bactérias mesófilas (FIGURA 17). Esse fato também foi observado anteriormente, ao avaliar a ação da imersão em AD e em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6 (FIGURA 15).

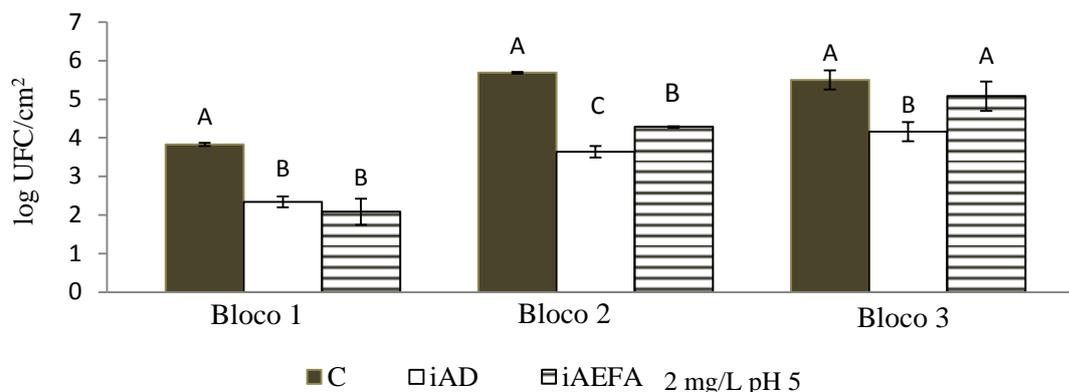
Em peles de peitos de frangos com contagem inicial de mesófilos de 5,72 log UFC/cm<sup>2</sup> que foram imersas durante 15 s em soluções de ácido láctico 5% e de ácido cítrico a 5% à 20°C, a redução na carga microbiana foi de 1,18 log (20%) e 1,07 log (19%) (BOLTON et al., 2014). Peitos de frangos com pele e contagem inicial de mesófilos de 5,04 UFC/cm<sup>2</sup> (FIGURA 19; APÊNDICE 2, experimento 12) e 5,31 log UFC/cm<sup>2</sup> (FIGURA 15; APÊNDICE 1A, experimento 2) ao serem imersos durante 30 min a 4 °C em AEFA (pH 5 e 6) e com 2 mg/L de cloro livre, apresentaram redução de 1,39 log (28%) e 1,17 log (22%), respectivamente, demonstrando que nessas condições de estudo com a AEFA os valores de redução obtidos são semelhante aos valores com as soluções dos ácidos láctico e cítrico.

Sanitizantes como fosfato trissódico (12%), clorito de sódio acidificado (1200 mg/L e pH 2,27), ácido cítrico (2%) e ácido peracético (220 mg/L) foram testados na forma de imersão por 15 min a 18 °C em cortes de frango que apresentavam número de colônias inicial de mesófilos de 5,10 log UFC/g. Logo após a imersão nos respectivos sanitizantes, houve redução de 1,74 log (34%), 1,97 log (38%), 1,21 log (24%) e 0,33 log (6,5%), (del RIO et al., 2007). Após a imersão dos peitos de frango, que apresentaram número de colônias de bactérias mesófilas inicial de 5,31 log UFC/cm<sup>2</sup> (FIGURA 15; APÊNDICE 1A, experimento 2) e 5,04 log UFC/cm<sup>2</sup> (FIGURA 19; APÊNDICE 2, experimento 12), em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e com pH 6 e 5 durante 30 min a 4 °C, a redução foi de 1,17 (22%) e 1,39 log (28%), respectivamente. Nota-se que em número inicial de bactérias mesófilas semelhantes ( $10^5$  UFC/cm<sup>2</sup>), a AEFA com pH 6 e 5, e com menor concentração de princípio ativo (2 mg/L de cloro livre), menor temperatura de imersão (4 °C), e maior tempo de imersão (30 min), apresentou melhor efeito de redução do que o ácido peracético a 220 mg/L (6,5%), efeito

semelhante a solução de ácido cítrico a 2% (24%), e menor efeito do que fosfato trissódico a 12% (34%) e de que 1200 mg/L de hipoclorito de sódio acidificado em pH 2,27 (38%).

Cabe destacar que o fosfato trissódico é um sanitizante comumente usado na indústria de aves, que apresenta pH entre 10 a 12 e caracteriza-se pela sua ação surfactante, impedindo que os microrganismos fiquem aderidos à superfície da carcaça (KIM&SLAVIK, 1994). O ácido peracético é considerado um potente agente sanitizante que age mesmo em baixas temperatura, além de ser pouco afetado pelo pH. Entretanto, deve ser aplicado em altas concentrações, pois quando em contato matéria orgânica é degradado em decorrência de sua instabilidade devido à sua ação oxidante (SILVA, 2010; KOOLMAN et al., 2014). Podemos mencionar então, que a AEFA em pH 6 e 5 apresentou efeito sanitizante compatível a sanitizantes industrialmente utilizados sobre as bactérias mesófilas, mesmo em baixa concentração de cloro livre (2 mg/L) e em baixa temperatura de imersão.

O efeito sobre as bactérias psicrotróficas após a imersão dos peitos de frango em AD e em AEFA em pH 5 e com 2 mg/L de cloro livre são apresentados na FIGURA 18.



**FIGURA 18-** Número de colônias de bactérias psicrotróficas nos peitos de frangos antes da imersão (controle C) e logo após a imersão em AD e em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 5. Resultados expressos como Média  $\pm$  DP (n=2) <sup>A,B,C</sup> Letras iguais no mesmo Bloco não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan (p>0,05).

C = peitos de frango sem tratamento, referente à carga inicial de mesófilos; AD = imersão dos peitos de frango em água deionizada; AEFA 2 mg/L = imersão dos peitos de frango em água eletrolisada fracamente ácida com 2 mg/L de cloro livre. Bloco 1: refere-se à contagem inicial de  $10^3$  dos peitos de frango controle. Bloco 2 e Bloco 3: referem-se à contagem inicial de  $10^5$  dos peitos de frango controle. Dados do APÊNDICE 7.

Com a AEFA pH 5,0 e 2 mg/L de cloro livre foram realizados três experimentos (12, 13 e 14), e o número de colônias iniciais de bactérias psicrotróficas variou. Com número de colônias inicial foi de 3,83 log UFC/cm<sup>2</sup> (FIGURA 18, Bloco 1), a imersão em AD e em AEFA promoveram redução significativa (p<0,05) de 1,48 log (39%) e 1,75 log (46%),

respectivamente em relação ao tratamento C (APÊNDICE 7, experimento 13). Quando o número inicial de colônias foi de 5,69 log UFC/cm<sup>2</sup> (FIGURA 18, Bloco 2) e de 5,50 log UFC/cm<sup>2</sup> (FIGURA 18, Bloco 3), a redução promovida pela imersão em AEFA variou de 1,42 log (25%) e de 0,42 log (8%) (APÊNDICE 7, experimentos 12 e 14).

Com relação às bactérias mesófilas, a AEFA com pH 5 e 2 mg/L de cloro livre (FIGURA 17; APÊNDICE 2) apresentou maior eficiência do que a AEFA com pH 6,0 e 2 mg/L (FIGURA 13; APÊNDICE 1A). Esse comportamento não foi observado para as bactérias psicrotróficas.

Diante desses resultados microbiológicos, estudou-se da influência da renovação de AEFA na concentração de cloro livre nas caixas onde se encontravam os peitos de frango e as características da AEFA utilizadas para a imersão.

### 5.2.2 Influência da renovação de água na CCL do banho de imersão dos peitos de frango

Para estudar a influência do fluxo de renovação da AEFA na CCL dentro das caixas plásticas, nas quais os peitos de frango eram imersos, utilizou-se AEFA de 2 e de 5 mg/L de cloro livre. Como no preparo da salmoura utilizou-se AD, que é isenta de íons, considerou-se a mesma como controle.

Nos experimentos usando imersão em AEFA com 2 mg/L de cloro livre, a AEFA utilizada para abastecer o sistema de imersão apresentou 2 mg/L de cloro livre durante os 30 min, o mesmo ocorrendo com a AEFA com 5 mg/L de cloro livre. Isso garantiu que os dois tipos de AEFA que entravam no sistema de imersão apresentassem o teor de cloro livre desejado.

Como esperado, ao analisar o teor de cloro livre na AD que estava em contato com os peitos de frangos durante os 30 min de imersão, não foram detectados níveis consideráveis de cloro livre em nenhum dos experimentos, independente do fluxo de renovação utilizado (TABELA 7). Contudo, a AEFA dentro da caixa em contato com os peitos de frangos não apresentou concentração de cloro livre detectável após dois minutos, independente do teor de cloro livre inicial, do pH e do fluxo de renovação de AEFA (TABELA 7).

Estudando a imersão de carcaças de frango em AEA com 1150 mV, pH 2,36 e 50 mg/L de cloro livre a 4 °C, Fabrizio et al. (2002) demonstraram a redução do teor de cloro livre para 0,25 mg/L após 45 min de imersão. A rápida queda na concentração de cloro livre observada nos experimentos pode ser explicada pelas baixas concentrações de cloro livre (2 e 5 mg/L) iniciais da água eletrolisada utilizada. Além disso, o HOCl reage rapidamente com os

peitos de frango, promovendo a diminuição no teor de cloro livre (DEBORDE & von GUNTEN, 2008; WHITE, 2010).

**TABELA 7** - Influência do fluxo de renovação da AEFA na concentração de cloro livre (mg/L) na AEFA dentro da caixa de imersão dos peitos de frango.

tempo (min)	AD*	AEFA pH 6			AEFA pH 5	
		Fluxo de renovação (mL/minuto)				
		100-200	400-600	800-1200	400-600	100-200
0	< LD	2,1	2,2	2,5	5,1	2,1
2	< LD	< LD	0,1	0,2	0,2	< LD
4	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
6	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
8	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
10	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
20	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD
30	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD	< LD

\*CCL da AD independente do fluxo. AD: água deionizada. AEFA: água eletrolisada fracamente ácida; CCL: concentração de cloro livre; < LD: menor que o limite detectável pelo método.

A manutenção do teor de cloro livre durante o resfriamento em *chiller* deve ser constantemente monitorada, mas essa operação é difícil de ser executada (GALHARDO, 2006; ISOLAN, 2007). Galhardo (2006) encontrou variação de 0,5 à 8 mg/L de cloro livre na água do *chiller* de um abatedouro avaliado. De acordo com Blood e Jarvis (1974 apud GALHARDO et al. 2006), resultados satisfatórios na redução de microrganismos de carcaças de frango também podem ser obtidos com a combinação de grande quantidade de água e menor quantidade de cloro residual (<5 mg/L). Mesmo que o abastecimento de AEFA fosse constante na caixa onde se encontravam os peitos de frango, no presente estudo não foram encontrados níveis consideráveis de cloro livre na AEFA a partir de dois min de contato da mesma com os peitos de frango.

### 5.2.3 Características das águas de imersão

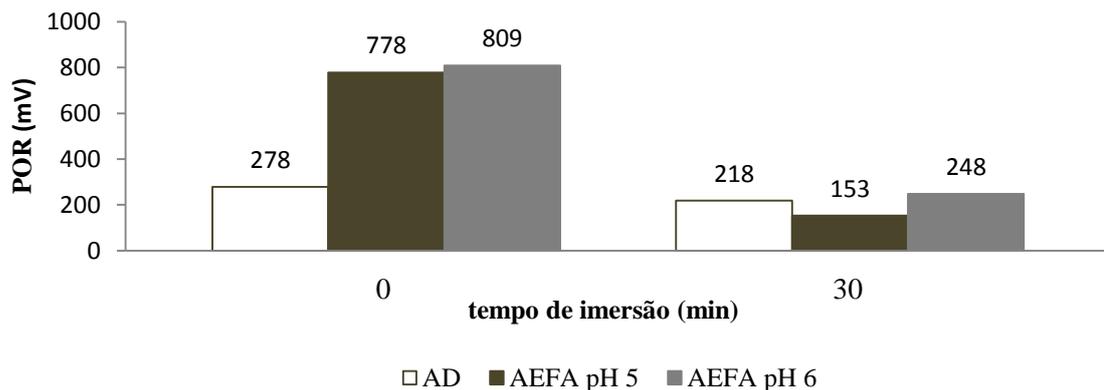
Como a AD não apresentou níveis significantes de cloro livre, o seu pH e POR inicial médio foi de 5,42 e 278,4 mV, respectivamente. Após os trinta min de contato com os peitos de frango, o POR diminuiu para 218,12 mV e o pH aumentou para 6,04 (TABELA 8).

**TABELA 8** - Características gerais das águas antes e após a imersão dos peitos de frango.

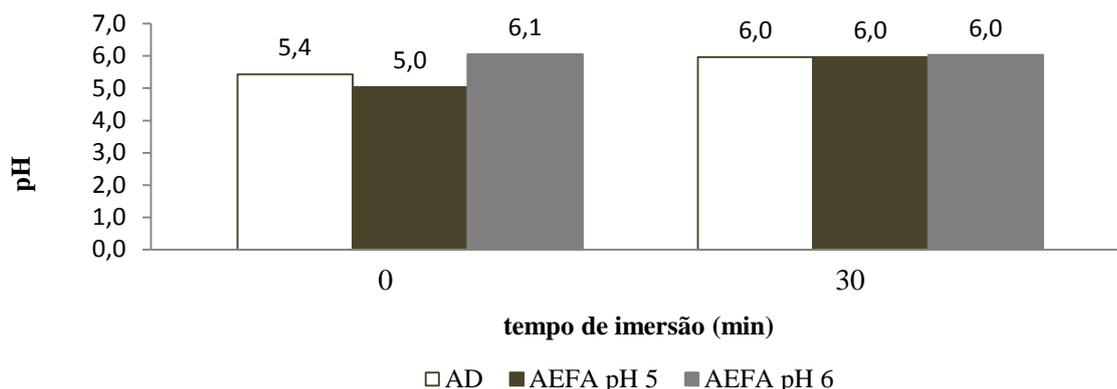
Tipo de água		Antes da imersão			Após a imersão		
		Valor mínimo	Valor médio	Valor máximo	Valor mínimo	Valor médio	Valor máximo
AD	POR (mV)	100	278,4	440,9	163,8	218,12	307,9
	pH	4,7	5,42	6,5	5,06	6,04	6,31
AEFA pH 6	POR (mV)	773,0	808,5	854,6	153,1	248,4	248,4
	pH	5,95	6,05	6,13	5,51	6,03	6,33
AEFA pH 5	POR (mV)	747,7	778,4	821,8	150,0	153,27	153,1
	pH	5	5,03	5,08	5,6	5,96	6,39

AD: água deionizada. AEFA: água eletrolisada fracamente ácida; POR: potencial de oxirredução.

As concentrações de cloro livre das AEFA's usada para a imersão dos peitos de frango já foram demonstradas na Tabela 7, indicando que após dois min de imersão não foi mais identificado cloro livre. Independente da CCL e do pH inicial da AEFA, o POR reduziu após 30 min de imersão dos peitos de frango, apresentando valores próximos do valor do POR da AD (TABELA 8 e FIGURA 19). Essa queda nos teores de cloro livre na AEFA está associada ao contato com os peitos de frangos, como discutido anteriormente. Esses resultados vão ao encontro de estudos realizados por Park et al. (2002), que observaram queda do POR da AEA de 1082 mV para 648 mV após 30 min de imersão de cortes de frango a 4 °C.

**FIGURA 19** - Valores do potencial redox (POR) da AD e da AEFA antes e após a imersão dos peitos de frango durante trinta min.

Independente do pH inicial da AEFA, após os 30 min de contato com os peitos de frango, o pH das AEFA estiveram próximos de 6. Esse comportamento pode ser observado também no pH da AD após a imersão (TABELA 8 e FIGURA 20).



**FIGURA 20** - Valores de pH da AD e da AEFA antes e após a imersão dos peitos de frango durante trinta min .

Uma vez que níveis traços de cloro livre foram identificados após 2 min de contato da AEFA com os peitos de frango, optou-se por estudar aplicação da AEFA na forma de spray.

### 5.2.3 Influência da aplicação do spray na concentração de cloro livre na AEFA

Não houve perda de cloro livre durante a aplicação do spray (sem contato com o frango), sendo que a AEFA apresentou a mesma CCL antes e depois da aplicação do spray (TABELA 9).

**TABELA 9** – Concentração de cloro livre na AEFA antes e após a aplicação de spray em peitos de frango, e na água que escorreu dos peitos de frango após a aplicação do spray.

ETAPA	CCL da AD (mg/L)	CCL da AEFA(mg/L)	
Antes da aplicação do spray	< LD	5	10
Após a aplicação do spray	< LD	5	10
Após o contato com os peitos de frango	< LD	< LD	< LD

AD: água deionizada. AEFA: água eletrolisada fracamente ácida; POR: potencial de oxirredução; CCL: concentração de cloro livre. < LD: menor que o limite detectável pelo método.

Zhao et al. (2014) avaliaram a concentração de cloro livre antes e após a aplicação do spray de AEFA com 15 e 50 mg/L de cloro livre na distâncias de 0, 25 e 50 cm. Observaram que a perda de cloro livre aumentou com o aumento da distância da aplicação do spray. A distância de 10 cm e a pressão de 20 psi empregada nos experimentos para a aplicação de spray não influenciaram na CCL (TABELA 9). Com esses resultados, garantiu-se que a AEFA que chegava aos peitos de frango apresentava a concentração desejada.

Entretanto, após o contato da AEFA com os peitos de frango não foi detectado cloro livre (TABELA 9). Park et al (2009) já haviam demonstrado a queda no teor de cloro livre da AEA após o contato com a matéria orgânica, uma vez que a presença de aminoácidos e lipídios se combinariam com o cloro livre, levando à formação de cloro ligado, também chamado de cloro combinado (PARK et al., 2009; WATERS & HUNG, 2012).

Um fator importante a ser levado em consideração na escolha de uma solução sanitizante é seu potencial de corrosão. Todos os sanitizante clorados apresentam potencial de corrosão (WATERS, TATUM e HUNG, 2014). Materiais de aço inoxidável, de cobre e de alumínio foram imersos em AEA (50 mg/L de cloro livre, pH 2,42 e 774 mV) e posteriormente avaliados quanto ao grau de corrosão. O aço inox sofreu menor grau de corrosão. Quando esses mesmos materiais foram imersos em AEFA (50 mg/L de cloro livre, pH 6,12 e 774 mV), em nenhum deles foi observado corrosão agressiva. Considerando que a única diferença entre os dois tipos de águas eletrolisadas utilizadas (AEA e AEFA) foi o pH, os autores concluíram que a AEFA por apresentar pH entre 6,0 e 6,5 promoveria menor grau de corrosão e poderia ser utilizada em equipamentos de aço inox (AYEBAH & HUNG, 2005).

Waters, Tatum e Hung (2014) sugeriram que o uso de sanitizantes clorados e principalmente de água eletrolisada com pH próximo de 6 apresentam menor grau de corrosão, e ainda que a água eletrolisada nesse pH conteria níveis significativos de HOCl para atuar contra os microrganismos. Fundamentadas nessas colocações é que se optou por utilizar a AEFA com pH 6 nos experimentos empregando o spray seguido de imersão.

5.2.5. Número de colônias de colônias de bactérias mesófilas aeróbias e psicrotróficas logo após a aplicação dos tratamentos combinados de spray e imersão

5.2.5.1 Combinação de spray e imersão em AEFA com 2 mg/L de cloro livre

Os tratamentos com spray e os tratamentos com spray seguido de imersão com AD e AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6 são apresentados na FIGURA 21.

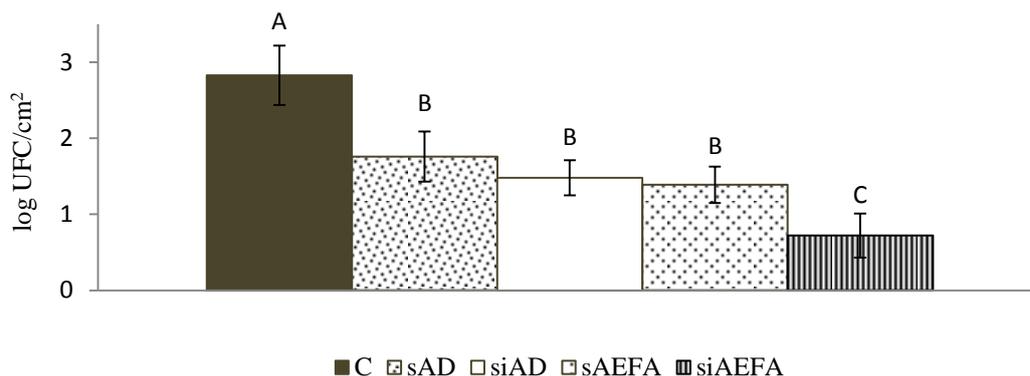


FIGURA 21 - Número de colônias de bactérias mesófilas nos peitos de frangos antes da aplicação do spray e da imersão (controle C) e logo após a aplicação do spray e de spray mais imersão em AD e em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6. Resultados expressos como Média  $\pm$  DP<sup>A,B,C</sup> Letras iguais não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan ( $p > 0,05$ ).

C = peitos de frango sem tratamento; sAD = spray de AD; AD = imersão dos peitos de frango em água deionizada; sAEFA = spray de água eletrolisada francamente ácida com 2 mg/L de cloro livre; AEFA = imersão dos peitos de frango em água eletrolisada fracamente ácida com 2 mg/L de cloro livre. Dados do APÊNDICE 3, experimento 8.

Os peitos de frango que não receberam tratamento (C) apresentaram número inicial de colônias de mesófilos 2,83 UFC/cm<sup>2</sup> (FIGURA 21). O tratamento com AD na forma de spray (sAD) e na forma de spray combinado com imersão (siAD) não diferiram significativamente entre si, mas reduziram significativamente ( $p < 0,05$ ) o número de bactérias mesófilas em relação ao tratamento C em 38% (1,07 log) e 48% (1,35 log) respectivamente (APÊNDICE 3, experimento 8). Estudos demonstraram a remoção de microrganismos da superfície de carcaças de frangos e de suínos após a lavagem com spray de AD durante 15 s a 80 psi (FABRIZIO et al. 2002; FABRIZIO & CUTTER, 2004). Desse modo, o efeito da AD frente ao microrganismo pode ser atribuído ao arraste físico provocado pela aplicação do spray durante 1'52'' a 20 psi de pressão, somado ao banho de imersão com renovação de AD por 30 min.

Somente a aplicação da AEFA no modo de spray (sAEFA) promoveu redução significativa de 51% (1,44 log) em relação à carga inicial de mesófilos do tratamento C. Embora o sAEFA com 2 mg/L tenha proporcionado um valor de redução maior (51%) do que o sAD (38%), não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre eles (FIGURA 21; APÊNDICE 3, experimento 8). Entretanto, a redução mais acentuada do sAEFA estaria relacionado com o arraste dos microrganismos presentes na superfície dos peitos de frango somado à ação do HOCl presente na AEFA, uma vez que a distância, tempo e a pressão de aplicação do spray foram iguais em ambos os tratamentos.

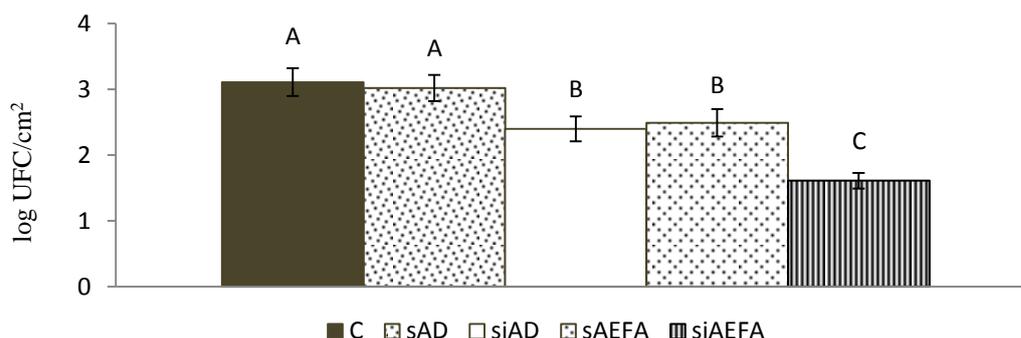
Fabrizio e Cutter (2004) avaliaram a aplicação de spray durante 15 s à 80 psi de AEA (1150 mV, pH 2,6 e 50 mg/L de cloro livre), de solução clorada (20 mg/L) e de ácido láctico (2%) em cortes suínos com carga inicial de mesófilos de 6,87 log UFC/cm<sup>2</sup>, e observaram uma redução de 18% (1,23 log), 18% (1,30 log) e 17% (0,98 log), respectivamente, no número inicial de colônias de mesófilos. A AEFA usada no spray dos peitos de frango desse estudo apresentava menor concentração de cloro livre e menor valor de POR em relação ao trabalho anterior, mas empregou-se maior tempo de aplicação e menor pressão de spray. Além disso, o número de colônias inicial de mesófilos (2,83 log UFC/cm<sup>2</sup>) foi menor. Dessa forma, o menor número inicial de colônias de bactérias e maior tempo de aplicação do spray podem ter favorecido a ação da AEFA com 2 mg/L de cloro livre nos peitos de frango (FIGURA 21).

Kim, Hung e Russellt (2005) realizaram estudo para comparar o efeito da aplicação de AD e de AEA (1140 mV, pH 2,5 e 47 mg/L de CCL) por spray com pressão de 40 psi durante 14 s e por imersão durante 40 min a 4 °C com renovação de 1L/minuto em carcaças de frango inoculadas com 4,68 log UFC/g de *C. jejuni*. Enquanto o spray de AD e de AEA reduziram esse número em 0,96 log (20%) e 1,07 log (23%), a imersão em AD e em AEA promoveu redução de 1,62 log (34%) e 2,79 log (60%). Esses autores concluíram que, nessas condições, o banho de imersão apresentou maior eficiência de redução em relação ao tratamento com spray. No mesmo trabalho, esses autores avaliaram a eficiência da imersão e do spray conjuntamente com a imersão em frangos inoculados com 4,92 log UFC/g de *C. jejuni*. A imersão ocorreu em AD, em água clorada (pH 9,1 e 73 mg/L de cloro livre) e em AEA (1165 mV, pH 2,8 e 40 mg/L de cloro livre) durante 40 min a 4 °C com renovação de 1L/min. O spray foi aplicado durante 1,5 s a 40 psi com as mesmas substâncias. O tratamento com imersão somente em AD, água clorada e AEA promoveram redução de 1,26 log (26%), 2,05 log (42%) e 2,33 log (47%), respectivamente. Enquanto que a combinação dos tratamentos de spray e imersão em AD, água clorada e AEA reduziram em 1,33 log (27%), 2,29 log (46%) e 2,04 log (41%), respectivamente. Os autores concluíram que a combinação dos tratamentos de spray com imersão não aumentou o efeito de sanitização das soluções testadas quando comparadas na forma de imersão somente (KIM, HUNG e RUSSELLT, 2005).

Os resultados obtidos no presente estudo foram diferentes dos obtidos por Kim, Hung e Russellt (2005), uma vez que o tratamento de spray e imersão em AEFA (siAEFA) com 2 mg/L reduziu em 2,11 log (74%) o número de colônias inicial de mesófilos, e diferiu significativamente ( $p < 0,05$ ) dos demais tratamentos (FIGURA 21; APÊNDICE 3, experimento 8). Essa redução foi mais efetiva do que a obtida quando os peitos de frango foram submetidos somente à imersão em AEFA com as mesmas características e número

inicial de bactérias mesófilas semelhante (2,46 log UFC/cm<sup>2</sup>), pois a redução foi de 1,66 log (67%) (FIGURA 15; APÊNDICE 1A, experimento 3). Esses resultados são importantes, pois demonstram que a pré-lavagem com sAEFA contribui para a remoção física dos microrganismos aderidos a superfícies, e também proporciona melhor contato do HOCl nos peitos de frango. Outra informação importante é que quando o número inicial de colônias de mesófilos foi de 2,83 UFC/cm<sup>2</sup>, o sAEFA com 2 mg/L de cloro promoveu redução de aproximadamente 1,5 log (51%) (FIGURA 21, APÊNDICE 3). Isso deve ter reforçado a ação do HOCl durante o banho de imersão, uma vez que ocorreu redução de 2 log (74%) no número de colônias de mesófilos em relação ao tratamento C após o tratamento de imersão.

O efeito da sAEFA com 2 mg/L de cloro livre e do tratamento de siAEFA antes da instalação do filtro de ar odontológico em peitos de frango frente ao número de colônias inicial de psicotróficas de 3,11 log UFC/cm<sup>2</sup> são apresentados na FIGURA 22.

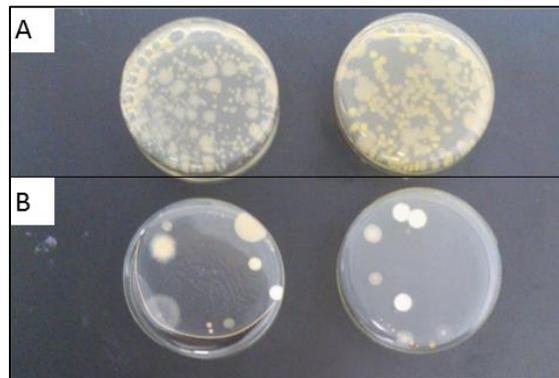


**FIGURA 22** - Número de colônias de bactérias psicotróficas nos peitos de frangos antes da aplicação do spray e da imersão (controle C) e logo após a aplicação do spray e de spray mais imersão em AD e em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6. Resultados expressos como Média  $\pm$  DP <sup>A,B,C</sup> Letras iguais não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan ( $p > 0,05$ ).

C = peitos de frango sem tratamento; sAD = spray de AD; siAD = spray mais imersão dos peitos de frango em água deionizada; sAEFA = spray de água eletrolisada fracamente ácida com 2 mg/L de cloro livre; siAEFA = spray mais imersão dos peitos de frango em água eletrolisada fracamente ácida com 2 mg/L de cloro livre. Dados do APÊNDICE 8, experimento 8.

O tratamento sAD não reduziu significativamente ( $p > 0,05$ ) o número inicial de bactérias psicotróficas nos peitos de frango em relação ao tratamento C, enquanto que o sAEFA reduziu 0,62 log (20%) e diferenciou-se significativamente ( $p < 0,05$ ) do tratamento C e do sAD, mas não diferenciou-se significativamente ( $p > 0,05$ ) do tratamento siAD que promoveu redução de 0,71 log (23%). Destaca-se a redução ocorrida no tratamento siAEFA que foi de 1,49 log (48%), diferindo significativamente ( $p < 0,05$ ) de todos os tratamentos (C, sAD, siAD e sAEFA) (FIGURA 22; APÊNDICE 8, experimento 8).

Em função da utilização do spray, foi verificada a qualidade do ar que alimentava a pistola de spray. Assim foram coletadas amostras desse ar diretamente em placas de Petri em meio PCA, que foram incubadas a 35 °C/48 h (bactérias mesófilas). A qualidade do ar do spray sem filtro odontológico encontra-se na FIGURA 23A. Após esse resultado decidiu-se por instalar um filtro odontológico com a finalidade de purificar o ar, e realizou-se a análise da mesma, e o resultado é apresentado na FIGURA 23B.



**FIGURA 23** - Bactérias mesófilas presentes no ar que alimenta a pistola de spray A) aplicação do spray antes da instalação do filtro de ar. B) aplicação do spray após a instalação do filtro de ar odontológico no sistema de spray.

Diante desses resultados, verificou-se que o filtro de ar melhorou a qualidade do ar do sistema de spray utilizado para aplicação de AEFA nos peitos de frango. Assim, realizou-se um estudo comparativo com aplicação de AEFA com 5 mg/L de cloro livre na forma de spray antes e depois da instalação do filtro de ar.

#### 5.2.5.2 Combinação de spray e imersão em AEFA com 5 mg/L de cloro livre

O efeito dos tratamentos com AEFA na concentração de 5 mg/L de cloro livre e pH 6 são apresentados na FIGURA 24 e foram divididos em Bloco 1 que se refere ao sistema de spray aplicado sem filtro odontológico, e Bloco 2 que se refere ao sistema de spray aplicado após a instalação de filtro odontológico (APÊNDICE 3, experimento 9 e 10).

Nos peitos de frango sem tratamento (C), o número inicial de colônias de bactérias mesófilas foi de 3,41 log UFC/cm<sup>2</sup>. O sAD aplicado sem filtro odontológico reduziu em 1,04 log (31% ) as bactérias mesófilas, e o sAD com o filtro promoveu redução de 0,88 log (26%). Ambas as reduções diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ) do tratamento C. Enquanto que, o sAEFA sem ou com o filtro odontológico (FIGURA 24, Bloco 1 e Bloco 2, respectivamente,)

promoveu redução significativa ( $p < 0,05$ ) de 1,47 log (43%) e 1,54 log (45%) em relação ao tratamento C. O sAEFA diferenciou-se significativamente ( $p < 0,05$ ) do sAD também (APÊNDICE 3).

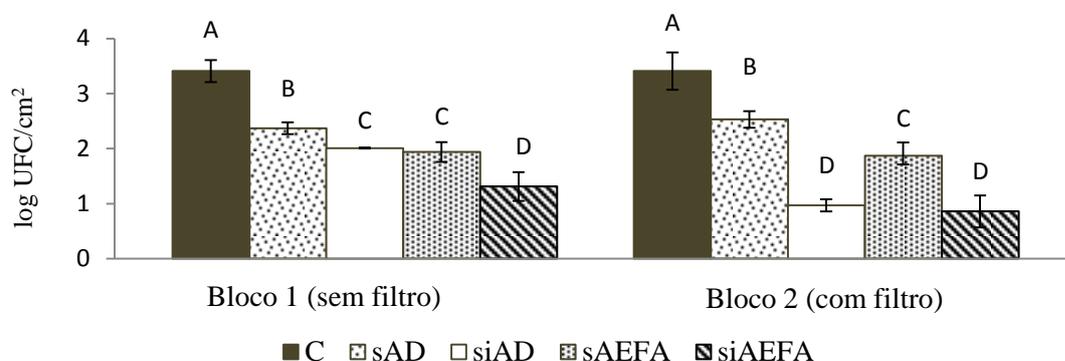


FIGURA 24 - Número de colônias de bactérias mesófilas nos peitos de frangos antes da aplicação do spray e da imersão (controle C) e logo após a aplicação do spray e de spray mais imersão em AD e em AEFA com 5 mg/L de cloro livre e pH 6. Resultados expressos como Média  $\pm$  DP (n=3) <sup>A,B,C</sup> Letras iguais no mesmo Bloco não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan ( $p > 0,05$ ).

C = peitos de frango sem tratamento, referente à carga inicial de mesófilos; sAD = spray de AD; siAD = spray mais imersão dos peitos de frango em água deionizada; sAEFA = spray de água eletrolisada fracamente ácida com 5 mg/L de cloro livre; siAEFA = spray mais imersão dos peitos de frango em água eletrolisada fracamente ácida com 5 mg/L de cloro livre. Bloco 1 = refere-se ao sistema de spray com compressor semi industrial. Bloco 2 = refere-se ao sistema de spray após a instalação do filtro odontológico. Dados APÊNDICE 3, experimentos 9 e 10.

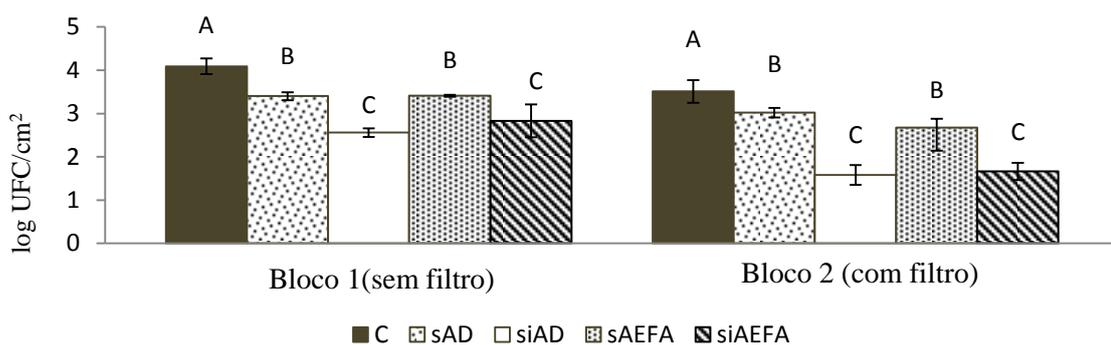
Anteriormente, verificou-se que o sAEFA com 2 mg/L de cloro livre sem filtro odontológico promoveu redução de 51% (1,44 log) no número de colônias de mesófilos que estavam em 2,83 log UFC/cm<sup>2</sup> (FIGURA 21; APÊNDICE 3, experimento 8), e o sAEFA com 5 mg/L de cloro livre foi capaz de reduzir em 43-45% (1,47-1,54 log) o número de colônias de mesófilos que estavam em 3,41 log UFC/cm<sup>2</sup> (FIGURA 24; APÊNDICE 3, experimento 9 e 10). Esses resultados demonstram que a concentração de cloro livre (5 mg/L) utilizada na forma de spray promoveu redução no número de colônias de bactérias semelhante ao obtido com spray com AEFA 2 mg/L, mas em número inicial de bactérias mesófilas maior (10<sup>3</sup> UFC/cm<sup>2</sup>). Estudos realizados por Rahaman et al. (2012a) e Li et al. (2014) reportaram que a concentração de cloro livre pode influenciar na eficácia da ação da água eletrolisada frente aos microrganismos.

Antes da instalação do filtro odontológico (FIGURA 24, Bloco 1), o tratamento siAD promoveu redução significativa de 1,39 log (41%) no número de colônias de bactérias mesófilas do tratamento C (3,41 log UFC/cm<sup>2</sup>), enquanto que a redução promovida pelo tratamento siAEFA foi de 2,10 log (62%), que diferiu significativamente ( $p < 0,05$ ) dos demais tratamentos (APÊNDICE 3, experimento 9). Após a instalação do filtro de ar

odontológico (FIGURA 24, Bloco 2), o tratamento de siAD e siAEFA promoveram redução de 2,44 log (72%) e 2,55 log (75%), respectivamente, em relação ao número inicial de colônias de bactérias mesófilas de 3,41 log UFC/cm<sup>2</sup> do C, diferindo significativamente ( $p < 0,05$ ) dos demais tratamentos, mas não diferiram ( $p > 0,05$ ) entre si (APÊNDICE 3, experimento 10).

Resultados anteriores demonstraram que o tratamento de imersão em AEFA com 5 mg/L de cloro livre foi capaz de reduzir 0,86 log (26%) o número de colônias de bactéria mesófilas que estavam em 3,29 log UFC/cm<sup>2</sup> (FIGURA 15; APÊNDICE 1B, experimento 6). Nesse estudo, o sAEFA com 5 mg/L de cloro livre promoveu redução de 1,47 log (43%) a 1,54 log (45%) no número de colônias de bactérias mesófilas que estavam com número inicial de 10<sup>3</sup> UFC/cm<sup>2</sup> (FIGURA 24, Bloco 1 e Bloco 2). Quando aplicado o tratamento siAEFA com 5 mg/L de cloro livre ocorreu redução de 2,10 log (62%) à 2,55 log (75%) (FIGURA 24, Bloco 1 e Bloco 2) (APÊNDICE 3, experimento 9 e 10). Esses resultados demonstram que a aplicação do spray auxilia na remoção de microrganismos aderidos à superfície dos peitos de frango, que também foi observado anteriormente ao avaliar a ação do tratamento sAEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6.

O efeito da aplicação da AEFA com 5 mg/L de cloro livre na forma de spray e de imersão frente ao microrganismos psicotróficos é observado na FIGURA 25, sendo dividida em Bloco 1 (antes da instalação do filtro de ar odontológico) e em Bloco 2 (após a instalação do filtro de odontológico).



**FIGURA 25** - Número de colônias de bactérias psicotróficas nos peitos de frangos antes da aplicação do spray e da imersão (controle C) e logo após a aplicação do spray e de spray mais imersão em AD e em AEFA com 5 mg/L de cloro livre e pH 6. Resultados expressos como Média ± DP (n=3) <sup>A,B,C</sup> Letras iguais no mesmo Bloco não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan ( $p > 0,05$ ).

C = peitos de frango sem tratamento, referente à carga inicial de mesófilos; sAD = spray de AD; siAD = spray mais imersão dos peitos de frango em água deionizada; sAEFA = spray de água eletrolisada fracamente ácida com 5 mg/L de cloro livre; siAEFA = spray mais imersão dos peitos de frango em água eletrolisada fracamente ácida com 5 mg/L de cloro livre. Bloco 1 = refere-se ao sistema de spray com compressor semi industrial. Bloco 2 = refere-se ao sistema de spray após a instalação do filtro odontológico. Dados do APÊNDICE 8, experimento 9 e 10.

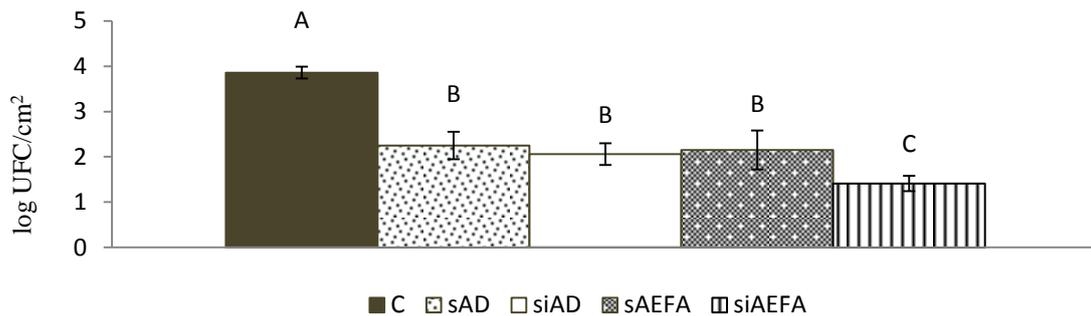
No experimento com spray sem o filtro odontológico (FIGURA 25, Bloco 1; APÊNDICE 8, experimento 9), o número inicial de colônias de psicrotróficos era de 4,09 log UFC/cm<sup>2</sup>. Em relação a essa contagem de psicrotróficos, o tratamento sAD promoveu redução significativa ( $p > 0,05$ ) de 0,69 log (17%) em relação ao tratamento C. O tratamento siAD reduziu 1,53 log (37%), diferenciando-se significativamente ( $p < 0,05$ ) dos tratamentos C e sAD. O tratamento de sAEFA promoveu redução significativa ( $p < 0,05$ ) de 0,68 log (17%) em relação ao tratamento C, mas não diferiu estatisticamente ( $p > 0,05$ ) da redução promovida pelo tratamento sAD. Após a aplicação do tratamento siAEFA, houve redução de 1,26 log (31%) no número de psicrotróficos, sendo diferente significativamente ( $p < 0,05$ ) dos tratamentos C, sAD e sAEFA, mas não do tratamento siAD.

Após a instalação do filtro odontológico (FIGURA 25, Bloco 2), foi realizado o experimento 10 (APÊNDICE 8) e o número inicial de colônias de psicrotróficos foi de 3,51 log UFC/cm<sup>2</sup>. A redução promovida pelos tratamentos sAD e siAD foram de 0,49 log (14%) e 1,93 log (55%), respectivamente, e o tratamento siAD diferenciou-se significativamente ( $p < 0,05$ ) do tratamentos C, sAD e sAEFA, mas não do tratamento siAEFA. Os tratamentos sAEFA e siAEFA promoveram redução de 0,84 log (24%) e 1,85 log (53%) respectivamente. Nesse experimento a instalação do filtro odontológico parece ter influenciado um o tratamento sAEFA, pois o valor de redução foi de 53%.

#### 5.2.5.3 Combinação de spray a 10 mg/L com imersão em AEFA com 5 mg/L de cloro livre

O tratamento sAEFA com 10 mg/L de cloro livre com filtro odontológico, e o tratamento com spray (10 mg/L) e de imersão em AEFA com 5 mg/L de cloro livre pode ser observado na FIGURA 26. Os peitos de frango que não receberam tratamento (C) apresentavam número de colônias inicial de mesófilos 3,68 log UFC/cm<sup>2</sup> (APÊNDICE 3, experimento 11).

Nesse experimento, o tratamento sAD reduziu em 1,44 log (39%) o número de bactérias mesófilas, enquanto que o tratamento siAD reduziu em 1,62 log (44%), ambos diferindo significativamente do tratamento C, mas não entre si e do tratamento sAEFA onde a redução foi de 1,53 log (42%). O tratamento com sAEFA com 10 mg/L de cloro livre seguido de imersão em AEFA com 5 mg/L de cloro promoveu redução 2,27 log (62%), diferenciando-se significativamente dos demais tratamentos (FIGURA 26; APÊNDICE 3, experimento 11).



**FIGURA 26** -- Número de colônias de bactérias mesófilas nos peitos de frangos antes da aplicação do spray e da imersão (controle C) e logo após a aplicação do spray e de spray mais imersão em AD e em AEFA . Resultados expressos como Média  $\pm$  DP <sup>A,B,C</sup> Letras iguais não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan ( $p > 0,05$ ).

C = peitos de frango sem tratamento, referente à carga inicial de mesófilos; sAD = spray de AD; siAD = spray mais imersão dos peitos de frango em água deionizada; sAEFA = spray de água eletrolisada francamente ácida com 10 mg/L de cloro livre; siAEFA = spray mais imersão dos peitos de frango em água eletrolisada fracamente ácida com 5 mg/L de cloro livre. Dados referem-se ao sistema de spray após a instalação do filtro odontológico. Dados APÊNDICE 3, experimento 11.

Novamente, nota-se que o tratamento combinado de spray e imersão é mais eficaz do que o tratamento somente de imersão em reduzir o número de bactérias mesófilas. Esse efeito pode ser atribuído ao maior tempo de exposição desses microrganismos ao HOCl, como reportado por Abadias et al. (2008), Rahman et al. (2012a). e Pangoli & Hung (2013).

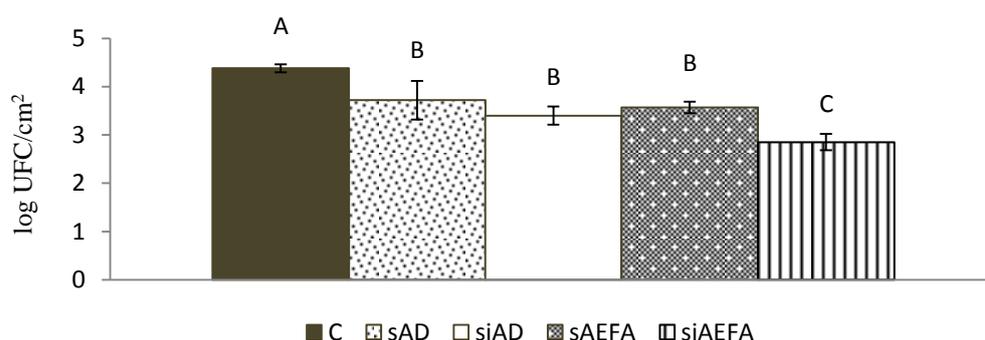
O aumento na concentração de cloro livre na AEFA de 5 mg/L para 10 mg/L usado no spray nas condições empregadas nesse estudo, não aumentou a ação da AEFA frente às bactérias mesófilas em carga inicial de  $10^3$ , pois o tratamento sAEFA com 5 mg/L reduziu em 1,47 log (43%) a 1,54 log (45%) (FIGURA 24; APÊNDICE 8, experimento 9 e 10) e com 10 mg/L 1,53 log (42%) (FIGURA 26; APÊNDICE 3, experimento 11). Esse comportamento também foi observado no tratamento siAEFA, no qual o spray com 5mg/L promoveu redução de 2,10 log (62%) a 2,55 log (75%) (FIGURA 24; APÊNDICE 8, experimento 9 e 10), e no tratamento usando AEFA com 10 mg/L essa redução foi de 2,27 log (62%) (FIGURA 26; APÊNDICE 3, experimento 11).

Uma redução de 1,5 log (32%) no número inicial de colônias de mesófilos foi observada por Rahman et al. (2012b) ao imergir carcaças de frango com carga inicial de mesófilos de  $10^4$  UFC/g em AEFA (770 mV e pH 6,5) com 10 mg/L de cloro livre por 10 min a 15 °C. Essa redução foi semelhante à promovida pelo tratamento de spray de AEFA com 5 e com 10 mg/L de cloro livre durante 1 min e 52 s à temperatura de 19 °C usado no presente estudo, em que os peitos de frango apresentaram carga inicial de mesófilos de  $10^3$  log

UFC/cm<sup>2</sup> (FIGURA 24; APÊNDICE 3, experimentos 9 e 10, e FIGURA 26; APÊNDICE 3, experimento 11).

Em estudo realizado por FABRIZIO et al. (2002), carcaças de frango que apresentavam carga inicial de 10<sup>4</sup> UFC/g foram submetidas ao tratamento combinado de spray (1,5 segundo à 40 psi) e de imersão (40 min as 4 °C) em AEA com 40 mg/L de cloro livre (1165 mV e pH 2,8), e observou-se redução nesses microrganismos de 2,04 log (41%). No presente trabalho, nos peitos de frango com número inicial de colônias mesófilos de 10<sup>3</sup> UFC/cm<sup>2</sup> foram submetidos ao tratamento combinado de spray (5 ou 10 mg/L) e imersão (5 mg/L). Observou-se redução semelhante (2, 10 à 2,55 log), destacando a ação da AEFA com baixa concentração de cloro livre nas condições avaliadas em diminuir a carga inicial de mesófilos.

O tratamento sAEFA no qual foi utilizado spray de AEFA com 10 mg/L de cloro livre e filtro odontológico, e o tratamento siAEFA que foi utilizado spray com 10 mg/L seguido de imersão em AEFA com 5 mg/L de cloro livre são apresentados na FIGURA 27.



**FIGURA 27** - Número de colônias de bactérias psicrotróficas nos peitos de frangos antes da aplicação do spray e da imersão (controle C) e logo após a aplicação do spray e de spray mais imersão em AD e em AEFA. Resultados expressos como Média ± DP <sup>A,B,C</sup> Letras iguais não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan ( $p > 0,05$ ).

C = peitos de frango sem tratamento, referente à carga inicial de mesófilos; sAD = spray de AD; siAD = spray mais imersão dos peitos de frango em água deionizada; sAEFA = spray de água eletrolisada fracamente ácida com 10 mg/L de cloro livre; siAEFA = spray mais imersão dos peitos de frango em água eletrolisada fracamente ácida com 5 mg/L de cloro livre. Dados referem-se ao sistema de spray após a instalação do filtro odontológico. Dados do APÊNDICE 8, experimento 11.

Os peitos de frango pertencentes ao tratamento (C) apresentavam número de colônias inicial de psicrotróficos 3,68 log UFC/cm<sup>2</sup>. Assim os tratamentos sAD e siAD promoveram redução de 0,66 log (15%) e 0,9 8 log (22%) que diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ) do tratamento C, mas não entre si e nem do tratamento sAEFA com 10 mg/L de cloro livre (FIGURA 27; APÊNDICE 8, experimento 11). Esses resultados foram similares aos encontrados nos experimentos 8, 9 e 10, demonstrando a remoção física que a água

deionizada (AD) exerce nos microrganismos presentes na superfície dos peitos de frango

Peles de frango com número inicial de psicotróficos de 5,64 log UFC/cm<sup>2</sup> foram submetidas a aplicação de spray com solução de 5% de ácido láctico e de 5% de ácido cítrico à 15 °C, durante 15 s na distancia de 15 cm, e a redução obtida foi de 0,97 log (17%) e 1,27 log (22%) respectivamente (Bolton et al.,2014). Nos experimentos 9 e 11 (FIGURA 25 e 27, APÊNDICE 8), onde os peitos de frango foram submetidos somente a spray com AEFA à 5 mg/L e 10 mg/L, o número inicial de psicotróficos foi de 4,09 e 4,38 UFC/cm<sup>2</sup> respectivamente, e a redução ocorrida foi de 0,68 log (17%) e de 0,81 log (19%), ficaram próximos dos valores obtidos por Bolton et al., (2014). Esses resultados sugerem que as bactérias psicotróficas resistem a esse método de aplicação de AEFA, isso porque o número inicial de bactérias nos peitos de frango foi menor (1 log) do que no trabalho de Bolton et al. (2014), e mesmo duplicando a concentração de cloro na AEFA ocorreu pequena modificação na redução da contaminação microbiana.

Entretanto, quando relacionamos o spray de AEFA com 10 mg/L de cloro livre com os dados do trabalho de Hilton et al (2007), a ação desse spray frente as bactérias psicotróficas pode ser considerada satisfatória. Isso por que Hilton et al. (2007) aplicaram spray de AEA com 50 mg/L de cloro livre durante 5 s a 80 psi em carcaças de frangos e as reduções variaram de 0,5 a 3 log UFC/cm<sup>2</sup>, enquanto que o spray com AEFA com 10 mg/L promoveu redução de 0,81 log UFC/cm<sup>2</sup>.

Ao considerar uma intervenção para reduzir o número de microrganismo, deve-se levar em conta a matriz utilizada, o grau de contaminação e o método de aplicação do sanitizante utilizado (LORETZ; STEPHAN; ZWEIFEL, 2010; PURNELL et al, 2014), pois a eficiência do agente sanitizante pode ser afetada pela concentração do princípio ativo, tempo de exposição e valor do pH no local de aplicação (WIRTANEN et. al,2001).

No presente trabalho, a matriz utilizada foi peito de frango, nas quais o grau de contaminação de mesófilos variou de 2,46 à 5,31 log UFC/cm<sup>2</sup>, e de psicotróficos de 2,84 à 5,65 log UFC/cm<sup>2</sup>. Maior carga inicial de psicotróficos foi encontrada nos peitos de frango em todos os experimentos.

Os métodos utilizados para a aplicação do sanitizante foram spray e imersão, sendo que o agente sanitizante foi a AEFA cuja concentração do princípio ativo variou de 2 mg/L à 10 mg/L de cloro livre. O tempo de exposição foi de 1 min e 52 s para o método de spray à 18 °C, e de 30 min para imersão a 4 °C.

Os resultados obtidos demonstraram que em grau de contaminação inicial de 2,46 log UFC/cm<sup>2</sup> de bactérias mesófilas, o método de aplicação na forma de imersão em AEFA com pH 6 e com 2 mg/L cloro apresentou bom efeito de redução (APÊNDICE 1A, experimento 3; FIGURA 15). Quando dois métodos de aplicação foram usados (spray + imersão), a eficiência da AEFA de 2 mg/L aumentou para carga inicial de 10<sup>2</sup> UFC/cm<sup>2</sup> (APÊNDICE 3, experimento 8; FIGURA 21), e da AEFA com 5 mg/L de cloro livre para carga inicial de mesófilos de 10<sup>3</sup> UFC/cm<sup>2</sup> (APÊNDICE 1B, experimentos 6 e 7 e APÊNDICE 3, experimento 9 e 10). Esses resultados estão de acordo com o exposto por Loretz, Stephan, Zweifel (2010), Purnell (2014) e Wirtanen et. al (2001).

Entretanto, quando se utilizou spray de 10 mg/L (maior concentração utilizada em spray no trabalho) e banho de imersão 5 mg/L, esperava-se aumentar ainda mais o efeito do sanitizante da AEFA em pH 6. Contudo, isso não ocorreu, uma vez que a redução (62%) (FIGURA 26; APÊNDICE 3, experimento 11) foi semelhante à obtida quando a concentração de cloro livre era de 2 mg/L (FIGURA 21; APÊNDICE 3, experimento 8) e 5 mg/L (FIGURA 24; APÊNDICE 3, experimento 9 e 10) nas mesmas condições.

Em relação às bactérias psicrotróficas, quando a carga inicial era de 10<sup>3</sup> UFC/cm<sup>2</sup>, a imersão em AEFA com 2 mg/L promoveu redução de 1,77 log (58%) (APÊNDICE 6A, experimento 3). Entretanto, o aumento da concentração de cloro livre para 5 mg/L não aumentou a eficácia da AEFA para reduzir o número inicial de psicrotróficos (APÊNDICE 6A, experimento 6 e 7). A combinação dos métodos de aplicação (spray + imersão) não aumentou a eficiência de redução da AEFA, independente da concentração de cloro utilizada (2, 5 e 10 mg/L para spray) e da carga inicial de psicrotróficos (10<sup>3</sup> ou 10<sup>4</sup> UFC/cm<sup>2</sup>).

De maneira geral a aplicação da AEFA por imersão, spray e spray seguido de imersão nos peitos de frangos, foram mais eficazes em reduzir os microrganismos mesófilos do que os psicrotróficos logo após aplicados. Esse comportamento foi observado inicialmente nos ensaios preliminares, quando carcaças de frango cedidas pela BRF colhidas antes da passagem pelo resfriamento em *chiller* ao serem imersas em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6,0 durante 45 e 90 min apresentaram número de colônias de bactérias mesófilas de 1,91 e 1,65 log UFC/cm<sup>2</sup>, respectivamente. Já para os psicrotróficos, o número de colônias foi de 3,21 e 3,05 log UFC/cm<sup>2</sup>, respectivamente. No experimento número 10 (APÊNDICE 3 e 8) esse efeito fica bem caracterizado, uma vez que o número inicial de bactérias mesófilas e psicrotróficas foram de 3,41 log UFC/cm<sup>2</sup> e 3,51 log UFC/cm<sup>2</sup>, respectivamente (TABELA 10).

**Tabela 10** - Efeito dos diferentes métodos de aplicação da AEFA com 5 mg/L e pH 6 nas bactérias mesófilas e psicrotróficas de peitos frango (experimento 10).

	log UFC/cm <sup>2</sup>	log redução		%redução	
	C	sAEFA	siAEFA	sAEFA	siAEFA
Mesófilos	3,41	1,54	2,55	45	75
Psicrotróficos	3,51	0,84	1,85	24	53

CCL: concentração de cloro livre. C: carga inicial dos peitos de frango sem tratamento; AEFA: água eletrolisada fracamente ácida; s: tratamento com spray; si: tratamento com spray mais imersão

Nos outros experimentos realizados com os peitos de frangos, os psicrotróficos apresentaram maior número inicial (pois foram comprados em supermercado após 30 h do abate) do que os mesófilos, e mesmo assim esse comportamento de ação da AEFA se repetiu em todos os experimentos.

Entre as bactérias psicrotróficas, as *Pseudomonas ssp.* são a principais bactérias envolvidas na deterioração dos produtos armazenados em temperatura de refrigeração (JAY, 2005). As mesmas produzem biofilmes (TEBALDI, 2008; VÁSQUEZ-SANCHEZ et al. 2014) que segundo Wirtanen et al. (1996 apud KASNOWSKI et al. 2010) e Wong (1993 apud KASNOWSKI et al. 2010) podem ser formados a partir de número de células de 10<sup>3</sup> e 10<sup>5</sup> UFC/cm<sup>2</sup>. O número inicial de bactérias psicrotróficas nos peitos de frango utilizados nos experimentos realizados variou entre 2,84 à 5,65 log UFC/cm<sup>2</sup>, e nessa faixa pode ter ocorrido a formação de biofilmes, dificultando a ação da AEFA utilizada.

## 5.4 Avaliação do tempo de vida útil

### 5.4.1 Análise microbiológica no sexto dia de armazenamento refrigerado

Para avaliarmos o efeito da AEFA na vida-útil dos peitos de frango, foram selecionados os experimentos em que a AEFA proporcionou maior redução no número de colônias de mesófilos e psicrotróficos logo após a saída dos peitos de frango do banho de imersão.

Os experimentos selecionados foram: experimento 3, no qual se empregou somente imersão em AEFA com 2 mg/L de cloro livre em pH 6 (APÊNDICES 1A, 4, 6A e 9); o experimento 8, empregando spray e imersão em AEFA com 2 mg/L de cloro livre em pH 6 (APÊNDICES 3, 5, 8 e 10), e o experimento 10, empregando spray e imersão em AEFA com 5 mg/L de cloro livre em pH 6 (APÊNDICES 3, 5, 8 e 10).

#### 5.4.1.1 Imersão em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6

Na FIGURA 28 são mostrados o número de colônias de mesófilos (Blocos 1 e 2) e psicotróficos (Blocos 3 e 4) nos peitos de frango referentes a imersão em AEFA com 2 mg/L e pH 6 e após seis dias de armazenamento a 4 °C.

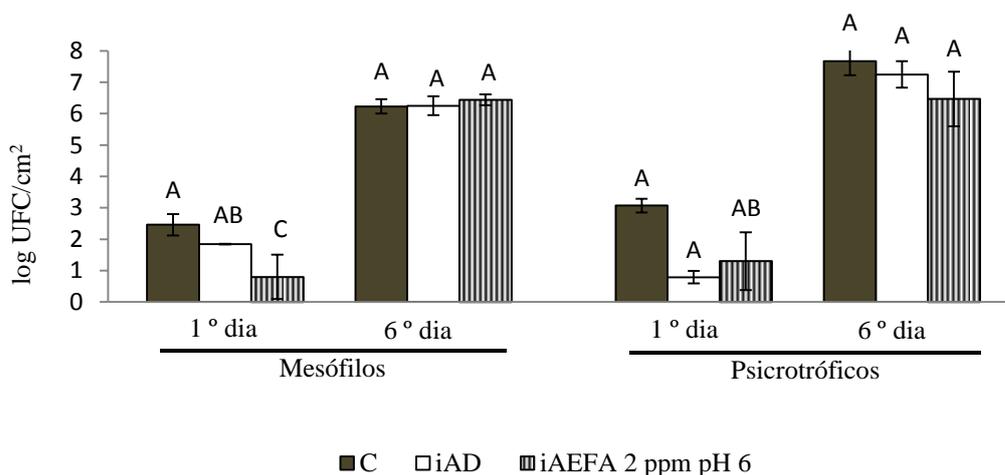


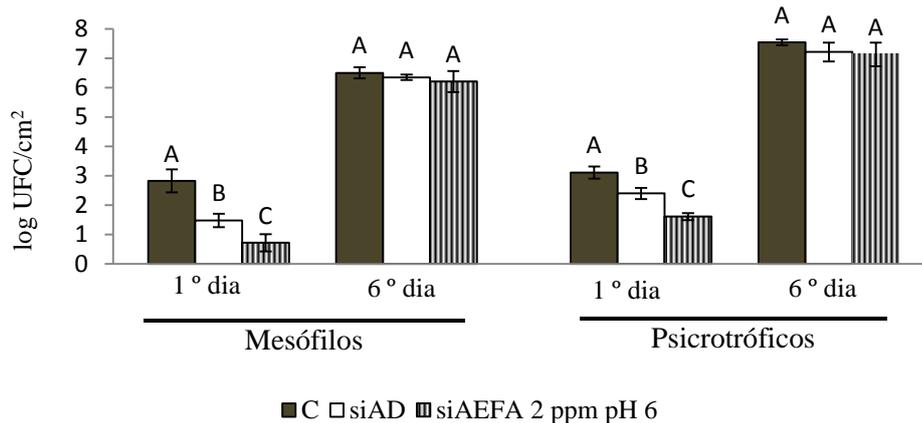
FIGURA 28 – Número de colônias de bactérias mesófilas e psicotróficas nos peitos de frangos ao longo do tempo de armazenamento a 4 °C. Resultados expressos como Média  $\pm$  DP (n=2) <sup>A,B,C</sup> Letras iguais no mesmo Bloco não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan ( $p > 0,05$ ).

C = peitos de frango sem tratamento; iAD = peitos frango tratados com imersão em água deionizada; iAEFA 2 mg/L = peitos de frango tratados com imersão em água eletrolisada fracamente ácida com 2 mg/L de cloro livre. Dados dos APÊNDICES 1A, 4, 6A e 9.

Nesse experimento o número inicial das bactérias mesófilas e psicotróficas foram 2,46 UFC/cm<sup>2</sup> e de 3,07 UFC/cm<sup>2</sup>, respectivamente, no tratamento controle (C). A AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6,0 promoveu redução de 67% nos mesófilos e 58% nos psicotróficos, o que resultou no início do armazenamento uma carga inicial para os mesófilos de 0,80 log UFC/cm<sup>2</sup> e de 1,30 log UFC/cm<sup>2</sup> para os psicotróficos (FIGURA 28, APÊNDICE 1A e 6A). No sexto dia de armazenamento o número de colônias de bactérias mesófilas dos peitos imersos em AEFA atingiu 6,44 log UFC/cm<sup>2</sup> (APÊNDICE 4) e psicotróficas 6,47 log UFC/cm<sup>2</sup> (APÊNDICE 9), não ocorrendo diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) para ambos os grupos de bactérias em relação ao número de colônias encontrados nos respectivos controles (6,24 log UFC/cm<sup>2</sup> para mesófilas e 7,67 UFC/cm<sup>2</sup> para psicotróficas, FIGURA 28).

#### 5.4.1.2 Combinação de spray e imersão em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6

Na FIGURA 29 são mostrados o número de colônias de mesófilos (Blocos 1 e 2) e psicrotróficos (Blocos 3 e 4) nos peitos de frango quando da aplicação de spray e de imersão em AEFA com 2 mg/L e pH 6 e após seis dias de armazenamento a 4 °C.



**FIGURA 29** - Número de colônias de bactérias mesófilas e psicrotróficas nos peitos de frangos ao longo do tempo de armazenamento a 4 °C. Resultados expressos como Média ± DP (n=2) <sup>A,B,C</sup> Letras iguais no mesmo Bloco não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan (p>0,05).

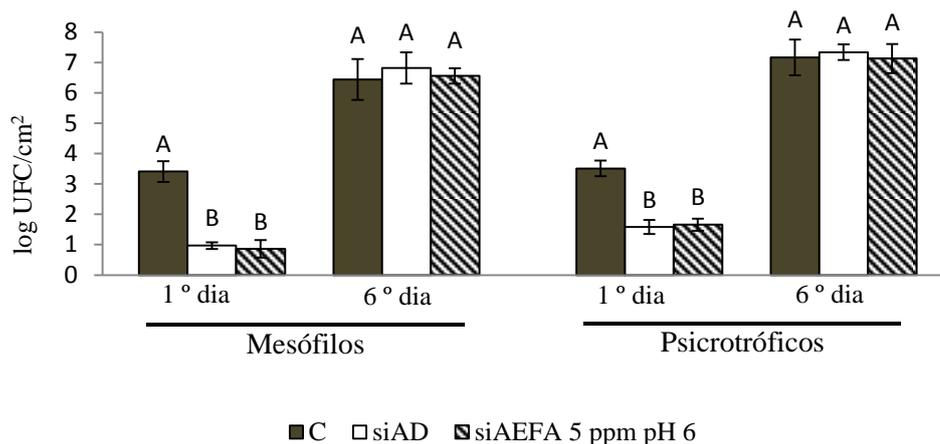
C = peitos de frango sem tratamento; siAD = peitos frango tratados com spray mais imersão em água deionizada; siAEFA 2 mg/L = peitos de frango tratados com spray mais imersão em água eletrolisada fracamente ácida com 2 mg/L de cloro livre. Dados dos APÊNDICES 3, 5, 8 e 10.

Cabe lembrar que nesse experimento os peitos de frango foram submetidos inicialmente a um spray de AEFA com 2 mg/L de cloro livre em pH 6 durante 1 minuto e 52 s a 19 °C, e logo em seguida foram imersos em AEFA com as mesmas características a 4 °C durante 30 min. O número inicial das bactérias mesófilas e psicrotróficas nos peitos pertencentes ao tratamento C foram de 2,83 log UFC/cm<sup>2</sup> e de 3,11 log UFC/cm<sup>2</sup> respectivamente. O somatório de aplicação do spray e da imersão em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6,0 promoveu redução de 74% para os mesófilos e 48% para os psicrotróficos, o que resultou no início do armazenamento uma carga inicial para os mesófilos de 0,72 log UFC/cm<sup>2</sup> e de 1,61 log UFC/cm<sup>2</sup> para os psicrotróficos (FIGURA 29, APÊNDICE 3, 5, 8 e 10).

No sexto dia de armazenamento o número de colônias de bactérias mesófilas atingiu 6,20 log UFC/cm<sup>2</sup> (APÊNDICE 5) e psicrotróficas 6,50 log UFC/cm<sup>2</sup> nos peitos de frango tratados com AEFA (APÊNDICE 10), não ocorrendo diferenças significativas (p>0,05) para ambos os grupos de bactérias em relação ao número de colônias encontrados nos respectivos controles (6,50 log UFC/cm<sup>2</sup> para mesófilas e para psicrotróficas (FIGURA 29).

#### 5.4.1.3 Combinação de spray mais imersão em AEFA com 5 mg/L de cloro livre e pH 6

Na FIGURA 30 são mostrados o número de colônias de mesófilos (Blocos 1 e 2) e psicrotróficos (Blocos 3 e 4) nos peitos de frango quando da aplicação de spray e de imersão em AEFA com 5 mg/L e pH 6 e após seis dias de armazenamento a 4 °C.



**FIGURA 30** - Número de colônias de bactérias mesófilas e psicrotróficas nos peitos de frangos ao longo do tempo de armazenamento a 4 °C. Resultados expressos como Média  $\pm$  DP (n=2) <sup>A,B,C</sup> Letras iguais no mesmo Bloco não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan (p>0,05).

C = peitos de frango sem tratamento; siAD = peitos frango tratados com spray mais imersão em água deionizada; siAEFA 5 mg/L = peitos de frango tratados com spray mais imersão em água eletrolisada fracamente ácida com 5 mg/L de cloro livre. Dados dos APÊNDICES 3, 5, 8 e 10.

Nesse experimento em relação ao anterior, aumentou-se o teor de cloro livre de 2 para 5 mg/L, concentração essa que foi utilizada na aplicação do spray e no banho de imersão. O número inicial das bactérias mesófilas e psicrotróficas nos peitos pertencentes ao tratamento controle (C) foram de 3,41 log UFC/cm<sup>2</sup> e de 3,51 log UFC/cm<sup>2</sup>, respectivamente. O somatório de aplicação do spray e da imersão em AEFA com 5 mg/L de cloro livre e pH 6,0 promoveu redução de 75% para os mesófilos e 53% para os psicrotróficos, resultando no início do armazenamento uma carga inicial para os mesófilos de 0,86 log UFC/cm<sup>2</sup> e de 1,66 log UFC/cm<sup>2</sup> para os psicrotróficos ( FIGURA 30, APÊNDICE 3, 5, 8 e 10).

No sexto dia de armazenamento o número de colônias de bactérias mesófilas atingiu 6,56 log UFC/cm<sup>2</sup> (APÊNDICE 5) e psicrotróficas 6,44 log UFC/cm<sup>2</sup> dos peitos tratados com AEFA (APÊNDICE 10), não ocorrendo diferenças significativas (p>0,05) para ambos os grupos de bactérias em relação ao número de colônias encontrados nos respectivos controles (6,44 log UFC/cm<sup>2</sup> para mesófilas e 6,56 log UFC/cm<sup>2</sup> para psicrotróficas, FIGURA 30).

Carcaças na etapa final de abate, que apresentam número de colônias de bactérias mesófilas em sua superfície entre  $10^3$  e  $10^4$  UFC/cm<sup>2</sup> são consideradas de boa qualidade, pois indicam que foram empregadas boas práticas de manipulação e higiene na sua obtenção (JAMES & JAMES, 2002). Os peitos de frangos pertencentes aos experimentos 3, 8 e 10, após serem tratados com AEFA na concentração de cloro livre de 2 mg/L e 5 mg/L por imersão e por spray seguido de imersão, apresentaram número de colônias de bactérias mesófilas de  $10^0$  UFC/cm<sup>2</sup>, e de  $10^1$  UFC/cm<sup>2</sup> para as psicrotróficas (FIGURAS 28, 29 e 30). Isso demonstra que os peitos de frango que foram tratados com AEFA nas diferentes concentrações de cloro e métodos de aplicação, apresentaram ótima qualidade inicialmente, visto que para James & James (2002) carcaças com número de colônias na  $10^3$  UFC/cm<sup>2</sup> são consideradas de boa qualidade.

O aumento do número de colônias de bactérias mesófilas e psicrotróficas ao longo do armazenamento de carne *in natura* refrigerada foram reportados por diferentes autores (SENER et al., 2000; FABRIZO et al., 2002; del RIO et al., 2007; SHARMA et al., 2012, RAHAMAN, et al, 2012b), ocorrendo início do processo de deterioração e aparecimento de odores desagradáveis quando o número de psicrotróficos for de  $10^6$  UFC/cm<sup>2</sup> (MEAD 2004, JAY 2005) e ficando imprópria para o consumo quando o número de colônias de bactérias mesófilas atingir o número de  $10^7$  UFC/cm<sup>2</sup> (ICMSF, 1986).

No sexto dia de armazenamento nos experimentos 8 e 10, o número de colônias de bactérias psicrotróficas nos peitos de frango chegaram a  $10^6$  UFC/cm<sup>2</sup> que caracteriza o início do processo de deterioração e o aparecimento de odores desagradáveis, enquanto que no experimento 3 o número atingiu  $10^7$  UFC/cm<sup>2</sup>. O número de colônias das bactérias mesófilas nos três experimentos atingiram  $10^6$  UFC/cm<sup>2</sup> ficando bem próximo do limite que é  $10^7$  UFC/cm<sup>2</sup> (FIGURAS 28, 29 e 30). Em todos os experimentos realizados, a evolução das bactérias mesófilas e psicrotróficas durante o armazenamento de seis dias apresentaram o mesmo comportamento, indicando que as condições de aplicação da AEFA estudadas não proporcionaram aumento da vida útil dos peitos de frango.

O estudo da renovação do fluxo da AEFA nas caixas de imersão e a concentração de cloro livre em contato com os peitos de frangos foram apresentados na TABELA 7. A constante renovação de AEFA na concentração de cloro livre avaliada no sistema de imersão garantiu a entrada de AEFA com 2 ou com 5 mg/L de cloro livre em contato com os peitos de frangos, os quais foram constantemente trocados de lugar dentro da caixa de imersão (FIGURA 9), porém não foi observado influência do fluxo de renovação da AEFA na redução da carga microbológica dos peitos de frangos. Esse fato pode ser observado na TABELA 13,

APÊNDICE 1A. O que influenciou a ação da AEFA foi o número inicial de bactérias e no caso dos mesófilos, a aplicação da AEFA na forma de spray (APÊNDICE 3, experimento 8, 9 e 10).

#### 5.4.2 Análise do valor de pH dos peitos de frango

O valor de pH dos peitos de frango logo após a aplicação dos tratamento com AD e com AEFA, e no sexto dia de armazenamento a 4 °C são apresentados na TABELA 11.

**TABELA 11** - Valores de pH dos peitos de frango logo após o tratamento com AD e AEFA e no sexto dia de armazenamento a 4 °C.

experi- mento	Logo após a aplicação dos tratamentos			6° dia de armazenamento		
	Tratamentos					
	C	AD	AEFA	C	AD	AEFA
1	6,02 ± 0,19 <sup>A</sup>	5,95 ± 0,07 <sup>A</sup>	6,00 ± 0,25 <sup>A</sup>	6,33 ± 0,17 <sup>A</sup>	6,25 ± 0,28 <sup>A</sup>	6,34 ± 0,46 <sup>A</sup>
2	6,49 ± 0,06 <sup>AB</sup>	6,58 ± 0,04 <sup>A</sup>	6,42 ± 0,01 <sup>A</sup>	7,11 ± 0,05 <sup>A</sup>	7,12 ± 0,01 <sup>A</sup>	6,91 ± 0,26 <sup>A</sup>
3	6,22 ± 0,08 <sup>A</sup>	6,24 ± 0,04 <sup>A</sup>	6,16 ± 0,04 <sup>A</sup>	6,55 ± 0,11 <sup>A</sup>	6,65 ± 0,30 <sup>A</sup>	6,47 ± 0,23 <sup>A</sup>
4	6,33 ± 0,01 <sup>A</sup>	6,29 ± 0,21 <sup>A</sup>	6,26 ± 0,08 <sup>A</sup>	6,85 ± 0,19 <sup>A</sup>	6,78 ± 0,18 <sup>A</sup>	6,44 ± 0,18 <sup>A</sup>
5	6,26 ± 0,17 <sup>A</sup>	6,29 ± 0,01 <sup>A</sup>	6,38 ± 0,15 <sup>A</sup>	7,10 ± 0,12 <sup>A</sup>	7,12 ± 0,11 <sup>A</sup>	7,14 ± 0,35 <sup>A</sup>
6	5,92 ± 0,03 <sup>A</sup>	5,88 ± 0,25 <sup>A</sup>	5,91 ± 0,28 <sup>A</sup>	6,39 ± 0,15 <sup>A</sup>	6,37 ± 0,38 <sup>A</sup>	6,67 ± 0,18 <sup>A</sup>
7	6,06 ± 0,17 <sup>A</sup>	6,15 ± 0,18 <sup>A</sup>	6,01 ± 0,09 <sup>A</sup>	6,40 ± 0,26 <sup>A</sup>	6,59 ± 0,24 <sup>A</sup>	6,67 ± 0,18 <sup>A</sup>
8	6,12 ± 0,05 <sup>A</sup>	6,15 ± 0,16 <sup>A</sup>	6,10 ± 0,13 <sup>A</sup>	6,68 ± 0,06 <sup>AB</sup>	6,83 ± 0,09 <sup>A</sup>	6,53 ± 0,12 <sup>B</sup>
9	5,99 ± 0,07 <sup>AB</sup>	5,89 ± 0,23 <sup>B</sup>	6,18 ± 0,04 <sup>A</sup>	6,70 ± 0,24 <sup>A</sup>	6,57 ± 0,04 <sup>A</sup>	6,79 ± 0,13 <sup>A</sup>
10	6,04 ± 0,13 <sup>A</sup>	6,04 ± 0,07 <sup>A</sup>	5,98 ± 0,19 <sup>A</sup>	7,03 ± 0,18 <sup>A</sup>	6,87 ± 0,08 <sup>A</sup>	6,98 ± 0,10 <sup>A</sup>
11	6,19 ± 0,19 <sup>A</sup>	6,13 ± 0,19 <sup>A</sup>	6,04 ± 0,15 <sup>A</sup>	6,45 ± 0,20 <sup>A</sup>	6,38 ± 0,15 <sup>A</sup>	6,52 ± 0,23 <sup>A</sup>
12	6,37 ± 0,08 <sup>A</sup>	6,25 ± 0,17 <sup>A</sup>	6,37 ± 0,14 <sup>A</sup>	6,80 ± 0,24 <sup>A</sup>	6,76 ± 0,05 <sup>A</sup>	7,07 ± 0,09 <sup>A</sup>
13	5,85 ± 0,08 <sup>A</sup>	5,84 ± 0,06 <sup>A</sup>	6,05 ± 0,20 <sup>A</sup>	6,35 ± 0,08 <sup>A</sup>	6,01 ± 0,23 <sup>A</sup>	6,36 ± 0,08 <sup>A</sup>
14	6,16 ± 0,09 <sup>A</sup>	6,26 ± 0,16 <sup>A</sup>	6,18 ± 0,27 <sup>A</sup>	7,09 ± 0,11 <sup>A</sup>	7,01 ± 0,07 <sup>A</sup>	7,01 ± 0,23 <sup>A</sup>

Resultados expressos como Média ± DP<sup>A,B</sup> Letras iguais na mesma linha não apresentam diferença significativa pelo teste Duncan ( $p > 0,05$ ) para o mesmo dia de análise. C = tratamento controle, refere-se aos peitos de frango que não receberam tratamento. AD = peitos de frango tratados com água deionizada. AEFA = peitos de frango tratados com água eletrolisada fracamente ácida.

No primeiro dia, o pH dos peitos de frango do tratamento C variaram de 5,85 à 6,49. No tratamento empregando AD, o pH variou de 5,84 à 6,28 e no tratamento empregando AEFA o pH variou de 5,91 à 6,42. Os valores de pH do tratamento com AEFA ficaram bem próximos dos valores do tratamento C, com exceção do tratamento 9 onde o valor do pH do tratamento com AEFA (6,18) foi maior do que o valor do tratamento controle (C), ocorrendo diferença significativa ( $p < 0,05$ ). Enquanto que os valores do tratamento com AD não se

diferiram significativamente ( $p > 0,05$ ) nenhuma vez do tratamento controle (C) (TABELA 11).

Carnes que apresentam pH entre 5,8 e 6,2 são consideradas boas para o consumo, e quando o pH está entre 6,2 e 6,4 devem ser de consumo imediato (RIISPOA, 1952, atualizado em 2007; TERRA, 2005). Os valores de pH nos tratamentos C, AD e AEFA no primeiro dia de estudo indicaram que os peitos de frangos estavam em boas condições para o consumo, podendo ser armazenados, com exceção do experimento 2 no qual os peitos de frango deveriam ser de consumo imediato por apresentar pH acima de 6,4 (TABELA 11). Esse maior valor de pH está relacionado com o número inicial de colônias de bactérias mesófilas e psicrotóficas nesses peitos de frango, que eram de  $10^5$  UFC/cm<sup>2</sup> no tratamento C, e de  $10^4$  UFC/cm<sup>2</sup> logo após serem submetidos aos tratamentos AD e AEFA (APÊNDICE 1A e 6A). O elevado pH inicial da carne de frango fresca é apontado como o principal fator responsável por este produto não ter uma validade comercial tão longa, pois torna esses produtos suscetíveis ao crescimento de bactérias (JAY, 2005). Cabe lembrar que os peitos de frangos utilizados nesse trabalho foram comprados em supermercado após 24 h do abate.

A imersão dos peitos de frangos em AEFA (pH 6,0 e 2 mg/L cloro livre) durante 30 min a 4 °C, não promoveu alterações significativas nos valores de pH em relação aos valores do tratamento controle C, com exceção do experimento 2 (TABELA 11). Comportamento semelhante foi observado por Rahman et al. (2012b) ao avaliar o pH em peitos de frango imersos durante 10 min a 15 °C em AEFA (pH 6,5 e 10 mg/L cloro livre), e por Rahman, Wang e Oh (2013), ao imergirem cortes suínos em AEFA (pH 6,8 e 10 mg/L de cloro livre) durante 5 min à 23 °C. Mansur (2015), ao mergulhar cortes suínos em AEFA (pH 6,29 e 30 mg/L de cloro livre) durante 3 min à 40 °C, também não observou alterações significativas no valor inicial de pH em relação às amostras não tratadas. Entretanto, os cortes imersos em AEA (pH 2,30 e 30 mg/L de cloro livre) reduziram significativamente o pH inicial para 4,88.

O aumento do pH pode ser considerado um padrão útil para avaliação do estado de conservação da carne de aves. É uma medida física usada na apreciação da qualidade, amplamente usada na inspeção da carcaça e para estabelecer tempo de vida útil na indústria de carnes. Valores elevados de pH resultam em redução de manutenção da qualidade, pois favorecem o desenvolvimento microbiano (RODRIGUES, 1993).

Durante o armazenamento, os valores de pH aumentaram, variando de 6,33 a 7,11 no tratamento C, de 6,01 a 7,12 no tratamento com AD, e de 6,43 a 7,14 no tratamento com AEFA. Em todos os experimentos os valores de pH do tratamento com AEFA não diferiram significativamente ( $p > 0,05$ ) dos valores de pH do tratamento C (TABELA 11). Esse aumento

no valor de pH estaria relacionado com o aumento do número de microrganismos deteriorantes (MEAD, 2004; JAY, 2005), que levariam a degradação de proteínas e formação de aminas (GILL, 1983; JAY, 2005; XU et al, 2014).

Rahman et al. (2012b) imergiram peitos de frangos em AEFA (pH 6,5 e 10 mg/L de cloro livre) 15 °C durante 15 min, e observaram aumento no valor de pH de 6,0 (primeiro dia) para 6,2 no sexto dia de armazenamento à 5 °C. Nos resultados do presente estudo, os peitos submetidos aos diferentes tipos de AEFA apresentaram valores de pH maiores no sexto dia (6,34 à 7,14) do que o valor encontrado por Rahman et al. (2012b), possivelmente devido a menor concentração de cloro livre presente na AEFA usada no presente estudo. Além disso, maior número de microrganismos foi encontrado ao final do sexto dia de armazenamento ( $10^5$ ,  $10^6$  e  $10^7$  log UFC/cm<sup>2</sup>), enquanto no trabalho de Rahman et al. (2012b) os peitos tratados com AEFA apresentavam  $10^4$  log UFC/g no sexto dia.

A carne de peito de frango com pH entre 5,9 e 6,1 apresenta condições de consumo (KERRY, 2012), e como os peitos de frangos submetido aos diferentes tratamento com AEFA apresentaram valores de pH acima de 6,1 (TABELA 12) no sexto dia de armazenamento, não foram considerados próprias para o consumo.

Alonso Hernando et al. (2012) estudaram o comportamento do pH de coxas de frango que apresentavam pH inicial de 6,41 e que foram imersas em diferentes sanitizantes durante 15 min. Após o tratamento com 12% de fosfato trissódico (pH 12,5) e com 2% de ácido cítrico (pH 2,15), as amostras apresentaram pH 7,57 e 5,44, respectivamente. Como observado por esse autor, outros estudos já havia relatado que o pH das soluções sanitizantes apresentavam efeito significativo no pH inicial da carne (del Rio et al., 2007). A AEFA usada no presente estudo apresentava pH próximo a neutralidade (5 e 6,5), e não influenciou no pH inicial dos peitos de frango (TABELA 11).

#### 5.4.3 Análise de TBARS dos peitos de frango

Para avaliação da evolução da oxidação lipídica dos peitos de frango durante o armazenamento foram selecionados alguns experimentos 3, 8, 10, 11 e 13. Os valores de TBARS dos peitos de frango do tratamento controle C e dos tratamentos com AD e AEFA selecionados para a análise da vida-útil são apresentados nas TABELA 12 e TABELA 13.

TABELA 12 – Valores de TBARS dos peitos de frango do tratamento C e logo após a aplicação dos tratamentos de AD e AEFA.

experimento	pH	CCL (mg/L) spray	CCL (mg/L) imersão	TBARS (mg MDA/kg amostra)		
				C	AD	AEFA
3	6	-----	2 mg/L	0,40± 0,13 <sup>ab</sup>	0,31 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,60 ± 0,13 <sup>ab</sup>
13	5	-----	2 mg/L	0,55 ± 0,18 <sup>ab</sup>	0,31 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,47 ± 0,22 <sup>a</sup>
8	6	2 mg/L	2 mg/L	0,31 ± 0,12 <sup>b</sup>	0,15 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,20 ± 0,03 <sup>c</sup>
10	6	5 mg/L	5 mg/L	0,40 ± 0,13 <sup>ab</sup>	0,36 ± 0,10 <sup>a</sup>	0,20 ± 0,02 <sup>c</sup>
11	6	10 mg/L	5 mg/L	0,66 ± 0,10 <sup>a</sup>	0,22 ± 0,07 <sup>ab</sup>	0,36 ± 0,12 <sup>bc</sup>

Resultados expressos como Média ± DP<sup>a,b</sup> Letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa pelo teste Duncan ( $p>0,05$ ) CCL: concentração de cloro livre. C: peitos de frango que não receberam tratamento; AD: tratamento com água deionizada; AEFA: tratamento com água eletrolisada fracamente ácida.

Os valores iniciais de TBARS variaram de 0,30 à 0,66 mg MDA/kg nos peitos do tratamento C, de 0,15 a 0,36 mg MDA/kg nos tratamentos com AD e de 0,20 à 0,60 mg MDA/kg nos peitos de frango tratados com AEFA. Esses valores foram inferiores aos encontrados por Rahman et al. (2012b) em peitos de frango pertencentes ao tratamento controle e ao tratamento com AEFA (770 mV, pH 6,5 e 10 mg/L cloro livre), pois apresentaram valor inicial de TBARS de 0,8 mg MDA/kg.

Os peitos de frangos que receberam aplicação de spray seguido de banho de imersão de AEFA (experimentos 8 e 10) apresentaram menores valores de TBARS, diferenciando-se significativamente ( $p<0,05$ ) dos experimentos 3 e 13 onde foi empregado somente a imersão (TABELA 12). No experimento 11, no qual foi utilizado spray com maior concentração de cloro livre (10 mg/L), o valor de TBARS diferiu significativamente ( $p<0,05$ ) somente do experimento 13 (AEFA pH 6 e 2 mg/L de cloro livre).

De um modo geral, nos resultados obtidos no presente trabalho, observou-se um aumento dos níveis de TBARS nos peitos de frango de todos os tratamentos no sexto dia de armazenamento a 4 °C, como pode ser observado na TABELA 13. Entretanto, algumas diferenças podem não ter sido identificadas pelo baixo número de unidades experimentais utilizadas nesse estudo.

TABELA 13 – Valores de TBARS dos peitos de frango no sexto dia de armazenamento a 4 °C.

experimento	pH	CCL (mg/L) spray	CCL (mg/L) imersão	TBARS (mg MDA/kg amostra)		
				C	AD	AEFA
3	6	-----	2 mg/L	1,35 ± 0,13 <sup>a</sup>	0,56 ± 0,29 <sup>b</sup>	0,72 ± 0,06 <sup>a</sup>
13	5	-----	2 mg/L	2,06 ± 0,57 <sup>a</sup>	1,69 ± 0,33 <sup>a</sup>	1,58 ± 0,32 <sup>a</sup>
8	6	2 mg/L	2 mg/L	1,30 ± 0,44 <sup>a</sup>	0,72 ± 0,18 <sup>b</sup>	0,93 ± 0,49 <sup>a</sup>
10	6	5 mg/L	5 mg/L	1,69 ± 1,06 <sup>a</sup>	0,70 ± 0,18 <sup>b</sup>	1,09 ± 0,69 <sup>a</sup>
11	6	10 mg/L	5 mg/L	1,60 ± 0,32 <sup>a</sup>	0,64 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,76 ± 0,05 <sup>a</sup>

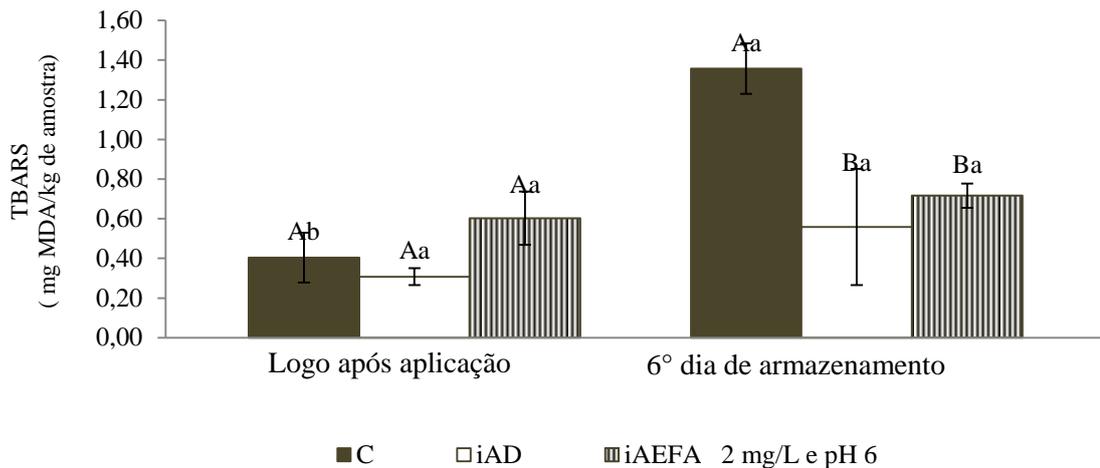
Resultados expressos como Média ± DP<sup>a,b</sup> Letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa pelo teste Duncan ( $p > 0,05$ ) CCL: concentração de cloro livre. C: peitos de frango que não receberam tratamento; AD: tratamento com água deionizada; AEFA: tratamento com água eletrolisada fracamente ácida.

No sexto dia de armazenamento os valores de TBARS dos peitos de frango não tratados variou de 1,35 à 2,06 mg MDA/kg, sendo mais evidente em relação aos outros tratamentos, isso porque os peitos de frango que receberam tratamento com AD apresentaram variação no valor de TBARS de 0,56 à 1,69 mg MDA/kg, enquanto que nos peitos de frango que receberam tratamento com AEFA essa variação foi de 0,72 à 1,56 mg MDA/kg. De acordo com Olivo e Shimokomaki (2001), produtos com índice de TBARS menor que 1 mg/kg geralmente não acrescentam sabores e odores de ranço residuais característicos de oxidação lipídica. Entretanto, de acordo com Osawa et al. (2005), com valores de 0,5 a 2 mg MDA/kg os aromas de ranço em carnes já podem ser detectados por provadores treinados

#### 5.4.3.1 Imersão em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6

Na FIGURA 31 observa-se a evolução da oxidação lipídica de peitos de frango logo após a aplicação do tratamento de imersão em AEFA (2 mg/L de cloro livre e pH 6) e no sexto dia de armazenamento a 4 °C.

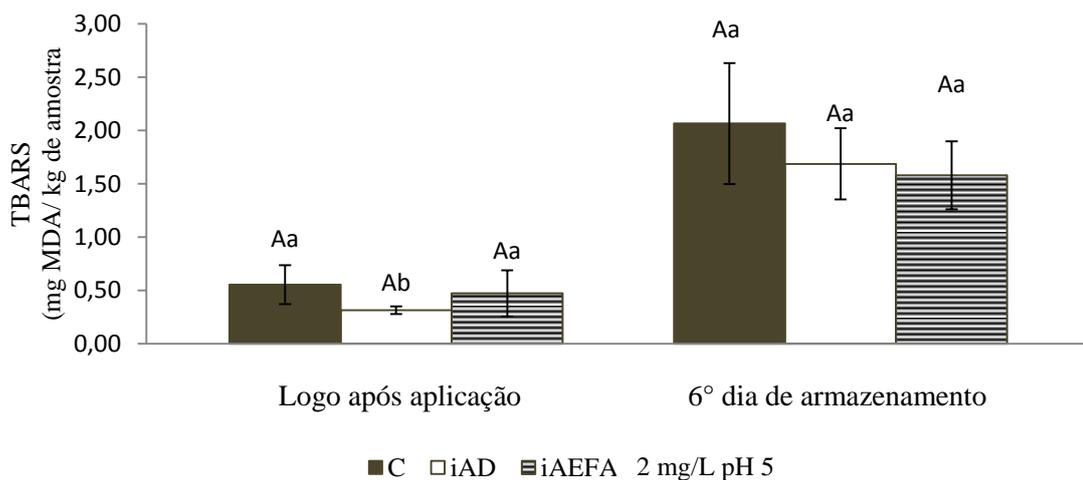
Os valores de TBARS dos peitos de frango do tratamento com AEFA (pH 6 e 2 mg/L cloro livre), AD e do tratamento C, não diferiram significativamente ( $p > 0,05$ ) logo após suas aplicações nos peitos de frango (FIGURA 31). Contudo, durante o período de armazenamento, houve aumento significativo ( $p < 0,05$ ) no índice de TBARS somente dos peitos de frango do tratamento C, passando de 0,40 para 1,35 mg MA/kg e diferindo significativamente ( $p < 0,05$ ) dos peitos de frango dos tratamentos com AD e AEFA no sexto dia de armazenamento.



**FIGURA 31** – Valores de TBARS nos peitos de frangos logo depois de aplicados os tratamentos e no sexto dia de armazenamento à 4 °C. Resultados expressos como Média ± DP (n=2) <sup>A,B,C</sup> Letras iguais no mesmo Bloco não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan (p>0,05); a,b Letras iguais em blocos diferentes para o mesmo tratamento não apresentam diferença significativa pelo teste Duncan (p>0,05). C = peitos de frango sem tratamento; iAD: imersão em AD; iAEFA 2 mg/L imersão em água eletrolisada fracamente ácida com 2 mg/L de cloro livre e pH 6. Dados do experimento 3.

#### 5.4.3.2 Imersão em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 5

Os valores de TBARS dos peitos de frango imersos em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 5 são apresentados na FIGURA 32.

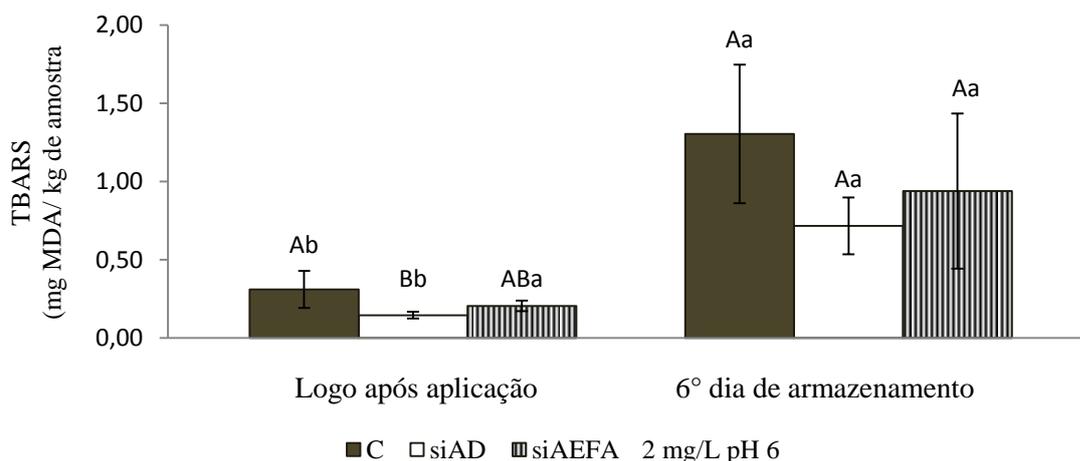


**FIGURA 32** - Valores de TBARS nos peitos de frangos logo depois de aplicados os tratamentos e no sexto dia de armazenamento à 4 °C. Resultados expressos como Média ± DP (n=2) <sup>A,B,C</sup> Letras iguais no mesmo Bloco não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan (p>0,05); a,b Letras iguais em Blocos diferentes para o mesmo tratamento não apresentam diferença significativa pelo teste Duncan (p>0,05). C = peitos de frango sem tratamento; iAD: imersão em AD; iAEFA 2 mg/L pH 5: imersão em água eletrolisada fracamente ácida com 2 mg/L de cloro livre e pH 5. Dados do experimento 13.

A imersão em AD (0,31 mg) e AEFA (0,60 mg) nos peitos de frango não alteraram significativamente ( $p>0,05$ ) os valores iniciais de TBARS em relação aos peitos de frango do tratamento C (0,40 mg MDA). No sexto dia de armazenamento observa-se um aumento significativo ( $p<0,05$ ) do valor de TBARS dos peitos de frango tratados com AD. Entretanto, nenhum dos tratamentos apresentaram diferença estatística ( $p>0,05$ ), variando de 1,78 à 1,96 mg MDA/kg no sexto dia.

#### 5.4.3.3 Combinação de spray e imersão em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6

O peitos de frango do tratamento C apresentavam valor inicial de TBARS de 0,31 mg MDA/kg. A combinação dos tratamento de spray e imersão em AD e em AEFA não influenciaram significativamente no valor de TBARS dos peitos de frango, os quais apresentaram valores de 0,15 e 0,20 mg MDA/kg, respectivamente, logo após a aplicação dos tratamentos (FIGURA 33). Durante o tempo armazenado, os valores de TBARS dos peitos de frango do tratamento C de do tratamento com iAD aumentaram significativamente ( $p<0,05$ ), passando de 0,31 para 2,06 mg MDA/kg e de 0,15 para 0,72 mg MD/ kg , respectivamente. Entretanto, não houve diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos no sexto dia de armazenamento.

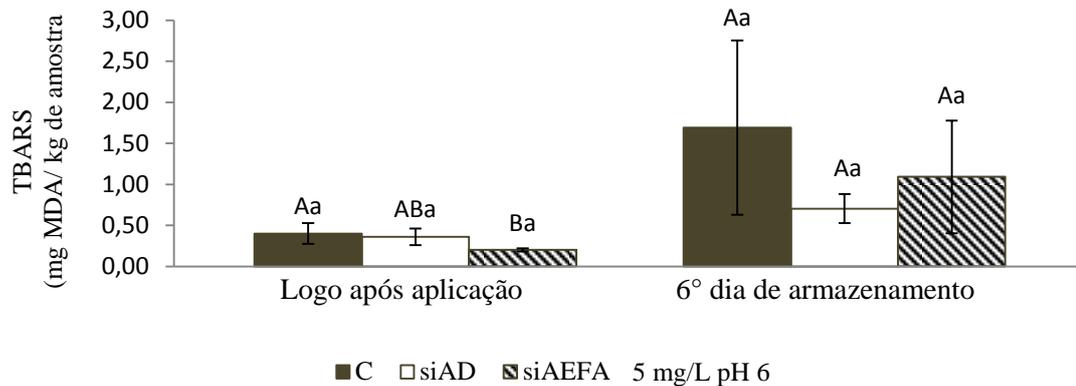


**FIGURA 33** - Valores de TBARS nos peitos de frangos logo depois de aplicados os tratamentos e no sexto dia de armazenamento à 4 °C . Resultados expressos como Média  $\pm$  DP (n=3) <sup>A,B,C</sup> Letras iguais no mesmo Bloco não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan ( $p>0,05$ ); a,b Letras iguais em Blocos diferentes para o mesmo tratamento não apresentam diferença significativa pelo teste Duncan ( $p>0,05$ ).

C = peitos de frango sem tratamento; siAD = peitos frango tratados com spray mais imersão em água deionizada; siAEFA 2 mg/L = peitos de frango tratados com spray mais imersão em água eletrolisada fracamente ácida com 2 mg/L de cloro livre. Dados do experimento 8 .

#### 5.4.3.4 Combinação de spray e imersão em AEFA com 5 mg/L de cloro livre e pH 6

O efeito da combinação de spray e imersão em AEFA com 5 mg/L de cloro livre pH 6 no valor de TBARS dos peitos de frango podem são mostrados na FIGURA 34.



**FIGURA 34** - Valores de TBARS nos peitos de frangos logo depois de aplicados os tratamentos e no sexto dia de armazenamento à 4 °C. Resultados expressos como Média  $\pm$  DP (n=3)<sup>A,B,C</sup> Letras iguais no mesmo Bloco não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan ( $p>0,05$ ); a,b Letras iguais em Blocos diferentes para o mesmo tratamento não apresentam diferença significativa pelo teste Duncan ( $p>0,05$ ).

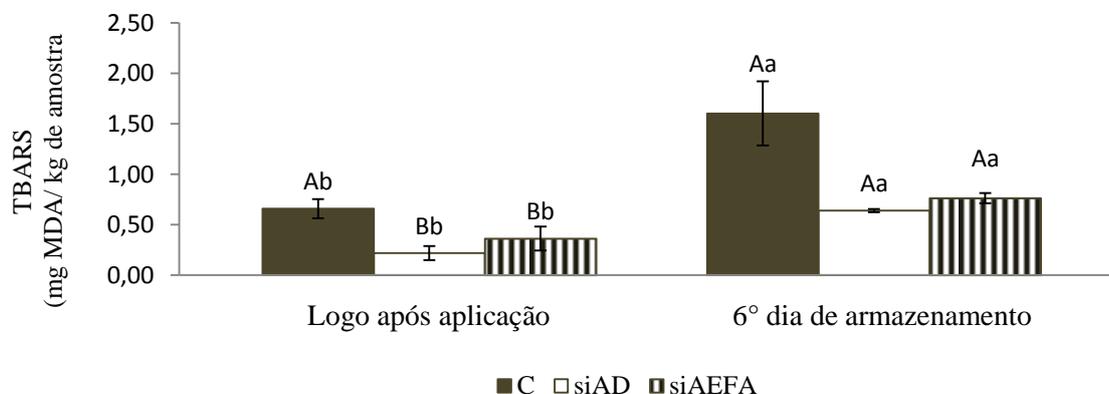
C = peitos de frango sem tratamento; siAD = peitos frango tratados com spray mais imersão em água deionizada; siAEFA 5 mg/L = peitos de frango tratados com spray mais imersão em água eletrolisada fracamente ácida com 5 mg/L de cloro livre. Dados do experimento 10.

Os peitos de frango do tratamento C apresentavam 0,40 mg MDA/kg, e o tratamento siAEFA com 5 mg/L de cloro livre reduziu significativamente ( $p<0,05$ ) esse valor para 0,19 mg MDA/kg. Não ocorreu aumento significativo nos níveis de TBARS ao longo do armazenamento. No sexto dia de armazenamento os peitos de frango do tratamento C, siAD e siAEFA apresentaram 1,69, 0,70 e 1,09 mg MDA/kg respectivamente, e não diferiram significativamente entre si ( $p>0,05$ ) (FIGURA 34).

#### 5.4.3.5 Combinação de spray de AEFA com 10 mg/L e imersão em AEFA com 5 mg/L de cloro livre e pH 6

O valor inicial de TBARS dos peitos de frango do tratamento C foi 0,66 mg MDA/kg. Os peitos de frangos tratados com siAD e siAEFA (spray com 10 mg/L + imersão com 5 mg/L) apresentaram valores de 0,22 e 0,36 mg MDA/kg respectivamente, diferenciando-se significativamente ( $p<0,05$ ) do tratamento controle, mas não entre si (FIGURA 35). No sexto dia de armazenamento ocorreram aumentos significativos nos valores de TBARS nos três tratamentos, passando o controle para 1,60 mg, o tratamento iAD para 0,64 mg e do

tratamento iAEFA para 0,76 mg MDA/kg. Entretanto, os tratamentos mas não diferenciaram significativamente ( $p>0,05$ ) entre si no sexto dia de armazenamento (FIGURA 35)



**FIGURA 35** - Valores de TBARS nos peitos de frangos logo depois de aplicados os tratamentos e no sexto dia de armazenamento à 4 °C. Resultados expressos como Média  $\pm$  DP (n=3) <sup>A,B,C</sup> Letras iguais no mesmo Bloco não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan ( $p>0,05$ ); a,b Letras iguais em Blocos diferentes para o mesmo tratamento não apresentam diferença significativa pelo teste Duncan ( $p>0,05$ ).

C = peitos de frango sem tratamento; siAD = peitos frango tratados com spray mais imersão em água deionizada; siAEFA = peitos de frango tratados com spray de água eletrolisada fracamente ácida com 10 mg/L mais imersão em água eletrolisada fracamente ácida com 5 mg/L de cloro livre. Dados do experimento 11.

Poucos estudos relatam os mecanismos de ação das AE (AE básica, AE ácida e AE fracamente ácida) frente à oxidação lipídicas, sendo esses controversos.

A medida de potencial de oxirredução de um sistema está relacionada com a capacidade de um sistema em receber ou doar elétrons. Quando o POR do sistema é negativo, o sistema apresenta maior habilidade em doar elétrons. Quando positivo, é considerado sistema oxidante por ter maior capacidade em receber elétrons (JAY, 2005).

Estudos sugerem que a ação antioxidante da água eletrolisada está relacionada com o valor de potencial redox e com a quantidade de espécies oxidantes dissolvidas em solução. Assim a água eletrolisada básica reagiria com espécies oxidantes, formando compostos estáveis, e essa reação estaria relacionada com os altos níveis de hidrogênio dissolvidos (gás hidrogênio – H<sub>2</sub>) na AEB (MAHMOUD et al., 2006), que é uma espécie redutora. O H<sub>2</sub> é produzido durante a eletrólise da salmoura, como pode ser observado na FIGURA 4.

Filés de peixe foram imersos durante 15 min em AEB (-885 mV, pH 11,6) seguido da imersão em AEA (1137 mV, pH 2,2 e 40 mg/L de cloro livre) e avaliados quanto ao grau de oxidação lipídica pelo índice de TBARS. Inicialmente, os filés apresentam valor de TBARS de 0,14 mg MDA/kg. Ao final dos 5 dias à 45 °C, houve aumento para 1,67 mg MDA/kg nos filés que não receberam tratamento, e o tratamento combinado de AEB/AEA retardou a

oxidação lipídica dos filés, que apresentaram 1,4 mg MDA/kg ao final dos 5 dias (MAHAMOUD et al.; 2006).

Ao estudar o efeito da imersão de cortes suínos em AEA (1130 mV, pH 2,54 e 50 mg/L de cloro livre), Rahman et al. (2013) observaram que o tratamento com AEA não foi capaz de retardar a oxidação lipídica em relação as amostras não tratadas. Entretanto, efeitos antioxidantes também são atribuídos à AEA, que apresenta alto POR. XU et al. (2014) acompanhou a evolução da oxidação lipídica em filés de peixe imersos durante 15 min em AEA (1185 mV, pH 2,4 e 70 mg/L de cloro livre). O nível de TBARS inicial de 0,3 mg MDA/kg de filés de peixe que foram armazenados 4 °C durante 15 dias aumentou para para 0,86 mg MDA/kg. O tratamento com AEA retardou a oxidação lipídica nos filés, que apresentaram 0,67 mg MDA/kg no 15 ° dia de armazenamento.

Rahman et al (2012b) verificaram que, em seis dias de armazenamento à 5 °C, os peitos de frango apresentaram aumento no valor de TBARS de 0,8 para 2 mg MDA/kg. Ao submeter esses peitos de frango à dez min de imersão em AEA (1120 mV, pH 2,5 e 10 mg/L de cloro livre) e em AEFA (760 mV, pH 6,5 e 50 mg/L de cloro livre), esse aumento foi de 0,8 para 1 mg MDA/kg, retardando a oxidação lipídica. Diferentemente desses resultados, Rahman et al. (2013) imergiram cortes suínos durante 5 min à 23 °C em AEFA com 700 mV, pH 6,8 e 10 mg/L de cloro livre e mostrou que o tratamento com AEFA não retardou a oxidação lipídica nos 6 dias de armazenamento refrigerado.

Zhang (2015) avaliou efeito da AEFA com 540 mV e pH 6,5 que apresentava 6,5 mg/L de cloro livre na forma de gelo sobre a oxidação lipídica de camarões e sugeriu que a AEFA retardou as reações oxidativas devido à existência de hidrogênio dissolvido.

Como a AEFA usada no presente estudo apresenta POR na faixa de +820 à +860 mV (TABELA 5), é considerado um sistema oxidante. Além disso, a AEFA apresenta alta concentração de HOCl devido ao seu pH na faixa de 5,5-6,0. Devido à presença do oxigênio reativo, o HOCl é considerado uma espécie reativa de oxigênio que participa das reações de reações de oxidação (WINTERBOURN, 1992; OLIVO, 2006). Entretanto, a AEFA em baixas concentrações de cloro livre (2, 5 e 10 mg/L) usadas no presente estudo não funcionou como pró-oxidante logo após ser aplicada nos peitos de frango. Além disso, a presença de H<sub>2</sub> pode ter atuado fracamente como antioxidante nos peitos de frango tratados com AEFA, conforme resultados obtidos nas figuras 31 à 35.

Os menores índices de TBARS encontrados nos peitos de frango tratados com spray e imersão AD podem ser justificados pelo arraste de agentes oxidantes e de matéria oxidável, como descrito por Akon e Min (2008).

## 6 CONCLUSÕES

- A estabilidade da AEFA 10 mg/L de cloro livre produzida a partir da eletrólise de 0,025% de NaCl e armazenada em frascos de polietileno a 4 °C foi mantida durante 96 h.

- A diluição da AEFA de 10 mg/L de cloro livre para 5 e 2 mg/L não influenciou na estabilidade da AEFA.

- O número inicial de colônias de bactérias mesófilas dos peitos de frango influenciou na redução promovida pela AEFA, enquanto que isso não foi observado para as bactérias psicrófilas.

- Os tratamentos com AEFA foram mais eficazes em reduzir os microrganismos mesófilos do que os psicrófilos logo depois de aplicados, sendo que a combinação dos tratamentos de spray e imersão potencializou o efeito da imersão frente às bactérias mesófilas.

- A maior concentração de cloro livre usada no spray de AEFA não aumentou a eficácia de redução frente aos microrganismos estudados.

- O pH da AEFA aplicada na forma de imersão influenciou na redução do número inicial de bactérias mesófilas, e não nas psicrófilas.

- Mesmo em diferentes concentrações e método de aplicação, a AEFA não influenciou no pH inicial dos peitos de frango.

- Nas condições avaliadas, o melhor método de aplicação da AEFA é na forma de spray seguido de imersão para redução da carga inicial de bactérias mesófilas e psicrófilas.

- Em nenhuma das condições de aplicação e de concentração de cloro livre avaliadas a AEFA aumentou a vida-útil dos peitos de frango.

- A ação da AEFA frente à oxidação lipídica precisa ser melhor esclarecida devido aos resultados controversos obtidos em no presente trabalho.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABADIAS, M.; USALL, J; OLIVEIRA, M.; ALEGRE, I.; VIÑAS, I. Efficacy of neutral electrolyzed water (NEW) for reducing microbial contamination on minimally-processed vegetables. **International Journal of Food Microbiology**, v.123, p.151–158, 2008. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160507007143>.

AKON, C .C.; MIN, D.B. **Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology**, Third Edition. CRC Press, 2002. 918 p. Disponível em [https://books.google.com.br/books?id=sPglndmgXU8C&pg=PA342&lpg=PA342&dq=electrolyzed+water+AND+lipid+oxidation&source=bl&ots=p07cc\\_JN9k&sig=RP\\_-Y3bccgyg938JiTazBeOhwbE&hl=pt-BR&sa=X&ei=VqK9VNXqHsnZsAT87oD4Dg&ved=0CHEQ6AEwCQ#v=onepage&q=electrolyzed%20water%20AND%20lipid%20oxidation&f=false](https://books.google.com.br/books?id=sPglndmgXU8C&pg=PA342&lpg=PA342&dq=electrolyzed+water+AND+lipid+oxidation&source=bl&ots=p07cc_JN9k&sig=RP_-Y3bccgyg938JiTazBeOhwbE&hl=pt-BR&sa=X&ei=VqK9VNXqHsnZsAT87oD4Dg&ved=0CHEQ6AEwCQ#v=onepage&q=electrolyzed%20water%20AND%20lipid%20oxidation&f=false). Acesso em: 15 jan. 2015.

AL-HAQ, M.I., SUGIYAMA, J., ISOBE, S. Applications of electrolyzed water in agriculture and food industries. **Food Science and Technology Research**, n.11, p.135–150, 2005. Disponível em <http://www.ewatersystems.com/wp-content/uploads/2014/09/Al-Haq-et-al-Applications-in-Food-and-Agriculture.pdf>. Acesso em jan. 2015.

American Public Health Association (APHA). (1999). Standard methods for the examination of water and wastewater, **409 A. Iodometric Method I**. 14th ed. Washington, DC: APHA, 1999. p.316–317.

AMY E HALLS B.S.M.S. Minimizing Carcass Contamination during Poultry Processing. **Nutrifax**, 4p, 2012. Disponível em: <http://www.nutrecocanada.com/docs/shur-gain---poultry/minimizing-carcass-contamination.pdf>. Acesso em nov. 2014.

ANONYMOUS, 1997. Principle os formation of electrolytic water. Hoshizac Eletric Co Ltd. Sakae, Toyoake. Aichi. Japan.

ANTÃO, E-M.; GLODDE, S.; LI, G.; SHARIFI, R.; HOMEIER, T.; LATURNUS, C.; DIEHL, I.; BETHE, A.; PHILIPP, H-C.; PREISINGER, R.; WIELER, L.; EWERS, C. The chicken as a natural model for extraintestinal infections caused by avian pathogenic Escherichia coli (APEC). **Microbial Pathogenesis**, v.45, n.5-6, p.361–9, 2008. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0882401008001198>. Acesso em nov.2014.

ARAB-TEHRANY, E.; JACQUIT, M.; GAIANI, C.; IMRAN. M.; DESOBRY, S.; LINDER, M. Beneficial effects and oxidative stability of omega-3 longchain polyunsaturated fatty acids. **Trends in Food Science & Technology**, v.25, p.24-33, 2012. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224411002895>. Acesso em jan. 2015.

AREVALOS-SÁNCHEZ, M., REGALADO, C.; MARTIN, S.E.; VONG, M. CADENA-MORENOA, E.; GARCIA-ALMENDÁREZ, B. E. Effect of neutral electrolyzed water on lux-tagged *Listeria monocytogenes* EGDe biofilms adhered to stainless steel and visualization with destructive and non-destructive microscopy techniques. **Food Control**, v.34, p.472- 477,

2013. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713513002703>. Acesso em jan.2014.

AVEWORLD. Manejo Pré- Abate: “Como minimizar os efeitos negativos desse manejo. Abril, 2013. Disponível em : <<http://www.aveworld.com.br/noticia/manejo-pre-abate-como-minimizar-os-efeitos-negativos-desse-manejo>>. Acesso em nov. 2013.

AVISITE. Biossegurança e Cuidados Sanitários para Frangos. Disponível em <<http://www.avisite.com.br/cet/trabalhos.php?codigo=18>>. Acesso em nov. 2014.

AYEBAH, M. B.; HUNG, Y-E. Electrolyzed water and its corrosiveness on various surface materials commonly found in food processing facilities. **Journal of Food Process Engineering**, n.28, p. 247–264, 2005.

BAILEY, J. S.; THOMSOM, J. E.; COX, N. A. Contamination of poultry during processing,. In: Cunningham F. E. e Cox, N.A. (ed.). **The microbiology of poultry meat products**. Academic Press Inc.; New York, 1987, p. 193-206.

BODAS, R.; BARTOLOME, M. J.; TABERMERO DE PAZ, R.; POSADO, J. J.; RODRIGUEZ, L.; OLMEDO,S.; MARTÍN-DIANA, A. B. Electrolyzed water as novel technology to improve hygiene of drinking water for dairy ewes. **Research in Veterinary Science**, v. 95, n.3, p.1169-1170, 2013. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0034528813002348>. Acesso em nov. 2014.

BOLDER, N.M. Descontamination of meat and poultry carcasses. Review. **Trends in Food Science & Technology**, v.8, n.7, p.221-227, 1997. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224497010406>. Acesso em nov. 2014.

BOLTON, D. J.; MEREDITH, H.; WALSH, D.; McDOWELL, D. A. The effect of chemical treatments in laboratory and broiler plant studies on the microbial status and shelf-life of poultry. **Food Control**, n.36, p.230 – 237, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.08.027>. Acesso em dez. 2014.

BOSILEVAC, J.M.; SHACKELFORD, S.D.; BRICHTA, D. M.; KOOHMARAIE, M. Efficacy of Ozonated and Electrolyzed Oxidative Waters To Decontaminate Hides of Cattle before Slaughter. **Journal of Food Protection**, v. 68, n. 7, p. 1393–1398, 2005. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16013376>. Acesso em out. 2014.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 275, de 21 de outubro de 2002. Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos produtores/Industrializadores de Alimentos. 20p. Diário Oficial da União. Brasília, DF. 23 de out. 2003.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. 48p. Diário Oficial da União, Brasília, janeiro de 2001.

BRASIL. MAPA Boas Práticas Agropecuárias. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/desenvolvimento-sustentavel/producao-integrada-cadeia-pecuaria/boas-praticas-agropecuarias>. Acesso em nov. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Portaria n. 46, de 10 de fevereiro de 1998. Institui o sistema de análise de perigos e pontos críticos de controle: APPCC a ser implantado nas indústrias de produtos de origem animal. Diário Oficial da União, Brasília, DF. 10 fev. 1998b.

BRASIL. Ministério Da Agricultura e do Abastecimento. Portaria N° 210 De 10 De Novembro de 1998. Aprova Regulamento Técnico Da Inspeção Tecnológica e Higiênico-Sanitária de Carne de Aves. Diário oficial da união, Brasília, 16 nov. 1998<sup>a</sup>. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=recuperarTextoAtoTematicaPortal&codigoTematica=1864168>>. Acesso em nov. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento. Instrução Normativa n° 62, de 26 de agosto de 2003. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle dos Produtos de Origem Animal e Água. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2003. Disponível em: <<http://www.hidrolabor.com.br/IN62.pdf>> Acesso em: nov. 2014.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos. 2014, 35p. – VE-DTA. Disponível em: [http://www.anrbrasil.org.br/new/pdfs/2014/3\\_PAINEL\\_1\\_ApresentacaoRejaneAlvesVigilanciaEpidemiologica-VE-DTA-Agosto\\_2014\\_PDF.pdf](http://www.anrbrasil.org.br/new/pdfs/2014/3_PAINEL_1_ApresentacaoRejaneAlvesVigilanciaEpidemiologica-VE-DTA-Agosto_2014_PDF.pdf). Acesso em nov 2014.

BRITO, D. A. P.; ALVES, L .M. C.; COSTA, F. N. Detecção de *Salmonella albania*, *Staphylococcus* coagulase positivos e micro-organismos mesófilos em carcaças de frango in natura. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.77, n.1, p.149-152, 2010. Disponível em [http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v77\\_1/brito.pdf](http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v77_1/brito.pdf). Acesso em nov. 2014.

BUNIC, S. SOFOS, J. Interventions to control Salmonella contamination during poultry, cattle and pig slaughter. **Food Research International**, n.45, p.641–655, 2012. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996911005941>. Acesso em dez. 2014.

BURFOOT, D.; MULVEY, E.; FOY, E.; JEWELL, K.; HOWELL, M. Effect of electrolysed water on Campylobacter numbers on poultry carcasses under practical operating conditions at processing plants. **Food Control**, v.50, p. 472–476, 2015. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713514005258>. Acesso em jan. 2015.

CARNETECBRASIL. **Técnicas para o controle de salmonela em unidades processadoras de carne avícola** - 24/09/2014. Disponível em <http://www.carnetec.com.br/Industry/TechnicalArticles/Details/46588#sthash.7xg60YeJ.dpuf>. Acesso em nov. 2014.

CAVANI, R.; SCHOCKEN-ITURRINO, R. P.; GARCIA, T. C. F. L.; OLIVEIRA, A. C. Comparison of microbial load in immersion chilling water e poultry carcasses after 8, 16 e 24 working hours. **Ciência Rural**, v.40, n.7, p.1603-1609, 2010.

CERUTTI, M. F. **Qualidade da granja à mesa**. In: O Mundo do Frango: cadeia produtiva da carne de frango. Ed do autor. Criciúma, SC, p 127-140, 2006.

CHIARINI, E. **Listeria monocytogenes em matadouros de aves**: marcadores sorológicos e genéticos no monitoramento de sua disseminação. 2007. 141p. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, 2007.

CIE - COMMISSION INTERNATIONALE DE L'ECLAIRAGE. **Recommendations on uniform colour spaces, colour difference equations, psychometrics colour terms**. Bureau Central de la CIE, Paris, suppl. 2 of CIE Publ. 15 (e1-1.31) 1971, Ed. (1978).

CORTEZ, A. L.; CARVALO, A. C.; IKUNO, A. A.; BURGUER, K. P.; VIDAL-MARTINS, A. M. Identification of Salmonella spp isolates from chicken abattoirs by multiplex-PCR. **Research in Veterinary Science**, v.81, n.3, p. 340-344, 2006. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0034528806000786>. Acesso em nov. 2014.

CUI, X.; SHANG, Y.; SHI, Z.; XIN, H.; CAO, W. Physicochemical properties e bactericidal efficiency of neutral e acidic electrolyzed water under different storage conditions. **Journal of Food Engineering**. v.91, p.582–586, 2009. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877408005013>. Acesso em jul. 2014.

DEBORDE M.; & von GUNTEN, U. Reactions of chlorine with inorganic and organic compounds during water treatment—Kinetics and mechanisms: A critical review. **Water Research**, v.42, n.1-2, p.13 – 51, 2008. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17915284>. Acesso em out. 2014.

del RIO, E.; PANIZO-MORAN, M.; PRIETO, M.; ALONSO-CALEJJA, C.; CAPITA, R. Effect of various chemical decontamination treatments on natural microflora e sensory characteristics of poultry. **International Journal of Food Microbiology**, v. 115, p. 268–280, 2007. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016816050700044X>. Acesso em jan, 2014.

DING, T., RAHMAN, S. M. E.; PUREV, U.; OH, D-H. Modelling of Escherichia coli O157:H7 growth at various storage temperatures on beef treated with electrolyzed oxidizing water. **Journal of Food Engineering**, v. 97, p. 497–503, 2010. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877409005743>. Acesso em out. 2014.

DING, T.; RAHMAN, S. M. E.; OH, D. H. Inhibitory effects of low concentration electrolyzed water e other sanitizers against foodborne pathogens on oyster mushroom. **Food Control**, v. 22, p.318–322, 2011.

DOYLE, M.; ERICKSON, M. Summer meeting 2007 — the problems with fresh produce: an overview. **Journal of Applied Microbiology**, v.105, p. 317–330, 2008. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18284485>. Acesso em nov. 2014.

Fabrizio, K. A., & Cutter, C. N. Comparison of electrolyzed oxidizing water with other antimicrobial interventions to reduce pathogens on fresh pork. **Meat Science**, n.68, p.463–468, 2004. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22062415>. Acesso em nov. 2014.

FABRIZIO, K. A.; SHARMA, R. R.; DEMIRCI, A.; CUTTER, C. N. Comparison of Electrolyzed Oxidizing Water with Various Antimicrobial Interventions to Reduce Salmonella Species on Poultry. **Poultry Science**, v. 81, p.1598–1605, 2002. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12412930>. Acesso em nov. 2014.

FAO - FOOD E AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - Statistics division. **Livestock primary, poultry meat**, Brazil, 2000 a 2012. 2014. Acesso em nov, 2014. Disponível em: <Http://faostat3.fao.org/browse/q/ql/e>

FAO - FOOD E AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Poultry e poultry products - risks for human health**. Slaughtering e processing. Poultry Development Review. s/d 4p. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/013/al742e/al742e00.pdf>>. Acesso em nov 2014.

FAO & WHO – Food and Agriculture Organization of the United e World Health Organization. **Salmonella e Campylobacter in chicken meat**: Meeting Report. Microbiological Risk Assessment Series. 69p. 2009.

FAO & WHO. Food e Agriculture Organization of the United e World Health Organization. **FAO/WHO guidance to governments on the application of HACCP in small e/or less-developed food busines**. FAO, Food e Nutrition paper. 2006. 84p. Disponível em: <[http://www.who.int/foodsafety/publications/fs\\_management/HACCP\\_SLDB.pdf](http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/HACCP_SLDB.pdf)>. Acesso em nov. 2013

FORGHANI, F.; OH, D. Hurdle enhancement of slightly acidic electrolyzed water antimicrobial efficacy on Chinese cabbage, lettuce, sesame leaf and spinach using ultrasonication and water wash. **Food Microbiology**, v. 36, n. 1, p. 40-45, 2013. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23764218>. Acesso em nov. 2014.

GALHARDO J. A.; LOPES, M.; OLIVEIRA, J. T.; TAMANINI, R.; SANCHES, S. F.; FREITAS, J. C.; MULLER, E. E. Eficácia dos tanques de pré-resfriamento na redução de contaminação bacteriana em carcaças de frango. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 4, p. 647-656, 2006. Disponível em [http://www.uel.br/proppg/portal/pages/arquivos/pesquisa/semina/pdf/semina\\_27\\_4\\_19\\_14.pdf](http://www.uel.br/proppg/portal/pages/arquivos/pesquisa/semina/pdf/semina_27_4_19_14.pdf). Acesso em dez. 2014.

Globo Rural. Pecuária/Carne: **Rússia suspende importações do Marfrig, Minerva e Seara**. Maio de 2013. Disponível em: <<http://revistagloborural.globo.com/Revista/Common/0,,EMI338267-18530,00-RUSSIA+SUSPENDE+IMPORTACOES+DO+MARFRIG+MINERVA+E+SEARA.html>>. Acesso em nov, 2013.

GOH, S.G.; LEILI, A-H.; KUAN, C. H.; LOO, Y. Y.; LYE, Y. L.; CHANG; SOOPNA, O.; NAJWA, M. S.; TANG, J. Y . T.; NISHIBUSHI, R. Y.; NAKAGUCHI, T.; SON, R. Transmission of Listeria monocytogenes from raw chicken meat to cooked chicken meat through cutting boards. **Food Control**, v. 37, p. 51- 55, 2014. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713513004222>. Acesso em out. 2014.

GROSS, T. C.S. **Uso De ozônio, ácidos orgânicos, dióxido de cloro e fosfato trissódico na melhoria de qualidade microbiológica de carcaças de frango.** Tese (Material de Qualificação de Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria (in press), 2014.

GUENTZEL, J.L., LAM, K.L., CALLAN, M.A., EMMONS, S.A., DUNHAM, V.L. Reduction of bacteria on spinach, lettuce, and surfaces in food service areas using neutral electrolyzed water. **Food Microbiology**, v.25, p. 36–41, 2008. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17993375>. Acesso em nov. 2014.

HAO, J.; QIU, S.; LI, H.; CHEN, T.; LIU, H. Roles of hydroxyl radicals in electrolyzed oxidizing water (EOW) for the inactivation of Escherichia coli. **International Journal of Food Microbiology**, v.155, p. 99–104, 2012. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22342456>. Acesso em nov. 2014.

HILTON JR, A.; NORTHCUTT, K.K.; SMITH, D. P. MUSGROVE, M. T, INGRAM, K. D. Spoilage Microflora of Broiler Carcasses Washed with Electrolyzed Oxidizing or Chlorinated Water Using an Inside-Outside Bird Washer. **Poultry Science**, v. 86, p.123–127, 2007. Disponível em <http://ps.oxfordjournals.org/content/86/1/123.short>. Acesso em nov. 2014.

HRICOVA, D.; STEPHAN, E.; ZWEIFEL C. Electrolyzed Water and Its Application in the Food Industry. **Journal of Food Protection**, v.71, n.9, p.1934–1947, 2008. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18810883>. Acesso em jul, 2014.

HSU, S. Y. Effects of water flow rate, salt concentration and water temperature on efficiency of an electrolyzed oxidizing water generator. **Journal of Food Engineering**, v.60, n.4, p.469-473, 2003. Disponível em <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0260877403000797>. Acesso em jul, 2014.

HSU, S.Y Effects of flow rate, temperature and salt concentration on chemical and physical properties of electrolyzed oxidizing water. **Journal of Food Engineering**, v. 66, p.171–176, 2005. Disponível em <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0260877404001098>. Acesso em jul, 2014.

HSU, S-Y.; KAO, H-Y. Effects of storage conditions on chemical and physical properties of electrolyzed oxidizing water. **Journal of Food Engineering**, v. 65, p.465–471, 2004. . Disponível em <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0260877404000573>. Acesso em jul. 2014.

HUANG, Y-C., HSU, S-Y.; HUANG, Y-W.; HWANG, D-F. Application of electrolyzed water in the food industry. **Food Control**, v. 19, n. 4, p. 329-345, 2008. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713507001697>. Acesso em ju, 2014.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Indicadores IBGE. **Estatística da Produção Pecuária**. 50p, setembro de 2014.

ICMSF - International Commission on Microbiological Specifications for Foods. **Microorganisms in foods Microbial specifications of food commodities**, Blackie Academic & Professional, London, v.6, 1998.

ICMSF (1986) *Microorganisms in Foods: 2. Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Specific Applications*, second ed. Blackwell Scientific Publications, London (1986).

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. v. 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 3. ed. São Paulo: IMESP, 2008.

ISOLAN, W. L. **Estudo da eficiência da etapa de pre- resfriamento por imersão em água no controle de qualidade microbiológica das carcaças de frango**. 2007. 83p. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinárias) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2007.

JADEJA, R.; HUNG, Y.-C. Efficacy of near neutral and alkaline pH electrolyzed oxidizing waters to control *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium DT 104 from beef hides. **Food Control**, v. 41, n. 1 p. 17-20, 2014. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713513006713>. Acesso em dez. 2014.

JAMDAR, S.N.; HARIKUMAR, P. Radiation decontamination of poultry viscera. **Radiation Physics e Chemistry**, v.77, p.467–472, 2008. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0969806X07003052>. Acesso em ou. 2014.

JAMES S.J.; JAMES, C. **Meat Refrigeration**. Woodhead Publishing, 2002. 360p.

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

KASNOWSKI, M. C.; MANTILLA, S. P. S.; OLIVEIRA, LAT.; FRANCO, R. M. Formação de biofilme na indústria de alimentos e métodos de validação de superfícies. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n.15, 23p., 2010 Disponível em [http://faef.revista.inf.br/imagens\\_arquivos/arquivos\\_destaque/fxPTiYWerLkT9Si\\_2013-6-25-16-32-0.pdf](http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/fxPTiYWerLkT9Si_2013-6-25-16-32-0.pdf). Acesso dez. 2014.

KERRY, J. P. *Advances in meat, poultry and seafood packaging*. Editora Woodhead Publishing (WP), Oxford, Cambridge, Philadelphia, New Delli, 2012. 681p.

KIM, C.; HUNG, Y.-C.; RUSSELLT, S.M. Efficacy of Electrolyzed Water in the Prevention and Removal of Fecal Material Attachment and Its Microbicidal Effectiveness During Simulated Industrial Poultry Processing. **Poultry Science**, v. 84, p.1778–1784, 2005. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16463977>. Acesso em nov. 2014.

KIM, J.-W., & SLAVIK, M. F. Removal of *Salmonella typhimurium* attached to chicken skin by rinsing with trisodium phosphate solution: scanning electron microscopic examination. **Journal of Food Safety**, v. 14, p. 77 -84, 1994.

KIM. C.; HUNG. Y. C.; BRACKETT, R. E. Roles of oxidation-reduction potential in electrolyzed oxidizing and chemically modified water for the inactivation of food-related pathogens. **Journal of Food Protection**, v. 63, n.1, p.19-24, 2000.

KIURA, H., SANO, K., MORIMATSU, S., NAKANO, T., MORITA, C.; YAMAGUCHI, M., MAEDA, T., KATSUOKA, Y. Bactericidal activity of electrolyzed acid water from solution containing sodium chloride at low concentration, in comparison with that at high

concentration. **Journal of Microbiological Methods**, v. 49, n. 3, p. 285-293, 2002. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167701201003852>. Acesso em nov. 2014.

KOOLMAN, L.; WHYTE, P.; MEADE, J.; LYNG, J.; BOLTON, D. Use of chemical treatments applied alone and in combination to reduce *Campylobacter* on raw poultry. **Food Control**, v.46, p.299–303, 2014. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713514003041>. Acesso em jan. 2015.

LANSINI, V. **Eficiência do TIMSEN® nas etapas de escaldagem e pré-resfriamento em abatedouro de aves**. 2010. 102p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial). Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, 2010.

LEN, S-V.; HUNG, Y-C.; CHUNG, D.; ANDRESON, J. L.; ERICKSON, M. C.; MORITA, K. Effects of Storage Conditions and pH on Chlorine Loss in Electrolyzed Oxidizing (EO) Water. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 50, p. 209-212, 2002. Disponível em. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11754569>. Acesso em nov. 2014.

LI, J.; LIN.; T.; LU, Q.; WANG., J. J.; LIAO, C.; PAN, Y.; ZHAO, Y. Changes in physicochemical properties and bactericidal efficiency of acidic electrolyzed water ice and available chlorine decay kinetics during storage. **LWT - Food Science and Technology**, v.59, n.1, p.43-48, 2014. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643814003326>. Acesso em nov. 2014.

LIAO, L. B.; CHEN, W. M.; XIAO, X. M. The generation and inactivation mechanism of oxidation–reduction potential of electrolyzed oxidizing water. **Journal of Food Engineering**, v. 78, p. 1326–1332, 2007. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877406000495>. Acesso em dez. 2014.

LIN, T.; WANG, J; J .; LI, J. B.; LIAO, C.; PAN, Y. J.; XHAO, Y. Use of Acidic Electrolyzed Water Ice for preserving the Quality of Shrimp. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 8695-8702, 2013. Disponível em: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf4019933>. Acesso em dez. 2014.

LORETZ, M.; STEPHAN, R.; ZWEIFEL, C. Antibacterial activity of decontamination treatments for pig carcasses. **Food Control**, v.22, n.8, p.1121-1125, 2011. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713511000314>. Acesso em outo. 2014.

MAHMOUD B. S . M.; YAMAZAKI, K.; MIYASHITA, K.; SHIN.; I, SUZUKI, T. A new technology for fish preservation by combined treatment with electrolyzed NaCl solutions and essential oil compounds. **Food Chemistry**, v. 99, p. 656–662, 2006. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814605007090>. Acesso em jan. 2015.

MANSUR, A. R.; TANGO, C. N.; KIM, G-H.; OH, D-H. Combined effects of slightly acidic electrolyzedwater and fumaric acid on the reduction of foodborne pathogens and shelf life extension of fresh pork. **Food Control**, v.47, p. 277 – 284, 2015. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713514003958>. Acesso em jan, 2015.

MCPHERSON, L. L. Understanding ORP's role in the disinfection process. **Water Engineering and Management**, v. 140, p. 29-31, 1993. .

MEAD, G. C. Microbiological quality of poultry meat: a review. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.6, n.3, p.135-142, 2004. Disponível em <http://www.scielo.br/pdf/rbca/v6n3/a01v6n3.pdf>. Acesso em nov. 2014.

MENDES, A.A. Jejum pré-abate em frangos de corte. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.3, p.199-209, 2001.

MONNIN, A.; LEE, J.; PASCALL, M. A. Efficacy of neutral electrolyzed water for sanitization of cutting boards used in the preparation of foods. **Journal of Food Engineering**, v. 110, n. 4, p. 541-546, 2012. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877412000040>. Acesso em jul, 2014.

MORRIS, J. C. The acid ionization constant of HOCl from 5° to 35°. *Journal of Physical Chemistry*. v. 70, p. 3798 – 3805, 1996.

MORSHEDY, I. E. M. M & SALLAM, K . I. 2009. Improving the Microbial Quality and Shelf Life of Chicken Carcasses by Trisodium Phosphate and Lactic Acid Dipping **International Journal of Poultry Science**, v. 8, p.645-650, 2009.

NASCIMENTO, J. M. F. **Estratégias para a redução da contaminação visível de carcaças de frango**. 2012. 111p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de São Paulo, Escola superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP, 2012.

NORTHCUTT, J., SMITH, D., INGRAM, K. D., HINTON, A., & MUSGROVE, M. Recovery of bacteria from broiler carcasses after spray washing with acidified electrolyzed water or sodium hypochlorite solutions. *Poultry Science*, 86, 2239–2244. of poultry. **International Journal of Food Microbiology**, v. 115, p.268–280, 2007. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17878456>. Acesso em dez. 2014.

OKOLOCHA E. C.; ELLERBROEK, L. The influence of acid e alkaline treatments on pathogens e the shelf life of poultry meat. **Food Control**, v. 16, p. 217–225, 2005. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713504000374>. Acesso em jan. 2015.

OLIVO, R. Atualidades na qualidade de carnes de aves. In: OLIVO, R. O mundo das carnes. Criciúma: do Autor, p.99-121, 2005.

OLIVO, R., SANTOS, MN., FRANCO, FO. Carne de frango e nutrição In: O Mundo do Frango: cadeia produtiva da carne de frango. Ed do autor. Criciúma, SC, p 665-680, 2006.

OLIVO, R.; SHIMOKOMAKI, M. Carnes no caminho da pesquisa. Cocal do Sul: Imprimir, 2001, 155p.

OSAWA, C. C.; FELÍCIO, P. E.; GONÇALVES, L. G. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Química Nova**, v.28, n.4, p.655-

663, 2005. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=s0100-40422005000400019&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=s0100-40422005000400019&script=sci_arttext). Acesso em nov. 2014.

PANGLOLI, P.; HUNG, Y-C. Reducing microbiological safety risk on blueberries through innovative washing Technologies. **Food Control**, v. 32, p.621-625, 2013 Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713513000765>. Acesso em dez, 2014.

PARK, E.J.; ALEXANDER, E.; TAYLOR, G.A.; COSTA, R.; KANG, D.H. The decontaminative effects of acidic electrolyzed water for Escherichia coli O157:H7, Salmonella typhimurium, and Listeria monocytogenes on green onions and tomatoes with differing organic demands. **Food Microbiology**, v.26, p. 386–390, 2009. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19376459>. Acesso em dez, 2014.

PARK, H.; HUNG, Y-C.; BRACKETT, R.E. Antimicrobial effect of electrolyzed water for inactivating Campylobacter jejuni during poultry washing. *International Journal of Food Microbiology*, v.72 p.77– 83, 2002. Disponível em em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11843416>. Acesso em nov. 2014.

PHUVASATE, S.; SU, Y.C. Effects of electrolyzed oxidizing water and ice treatments on reducing histamine-producing bacteria on fish skin and food contact surface. **Food Control**, v.21. p. 286-291, 2010. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713509001820>. Acesso em out. 2014.

PURNELL, G.; JAMES, C.; JAMES, S. J. Comparison of Acidified Sodium Chlorite, Chlorine Dioxide, Peroxyacetic Acid and Tri-Sodium Phosphate Spray Washes for Decontamination of Chicken Carcasses. **Food and Bioprocess Technology**, v.7, p.2093–2101, 2014. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11947-013-1211-8#page-1>. Acesso em jan. 2015.

RAHARJO, S.; SOFOS, J. N.; SCHMIDT, G. R. (1992) Improved speed, specificity, and limit of determination of na aqueous acid extraction thiobarbituric acid-C18 method for mesuring lipid peroxidation in beef. *Journal Agricult Food Chem.* 40, 2182-2185

RAHMAN, S. M. E.; WANG, J.; OH, D-W. Synergistic effect of low concentration electrolyzed water and calcium lactate to ensure microbial safety, shelf life and sensory quality of fresh pork. **Food Control**, v. 30, p.176-183, 2013. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713512003738>. Acesso em dez, 2014.

RAHMAN, S. M. E.; DING, T.; OH, D. Inactivation effect of newly developed low concentration electrolyzed water and other sanitizers against microorganisms on spinach. **Food Control**, v.21, n.10, p.1383-1387, 2010. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095671351000126X>. Acesso em dez. 2014.

RAHMAN, S.M.E et al. Stability of low concentration electrolyzed water and its sanitization potential against food borne pathogens. **Journal of Food Engineering**, v.113, n.4 p.548–553, 2012(a). Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877412003342>. Acesso em dez, 2014.

RAHMAN, S.M.E. et al. Effects of Slightly Acidic Low Concentration Electrolyzed Water on Microbiological, Physicochemical, and Sensory Quality of Fresh Chicken Breast Meat. **Journal of Food Science**, v. 71, n.1, p. M35-41, 2012(b). Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22260115>. Acesso em dez 2014.

Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Título XII, Reinspeção industrial e sanitária de produtos, artigo 847, 2º parágrafo, p. 135 Disponível em <http://www.agricultura.gov.br/animal/mercado-interno/requisitos-sanitarios>. Acesso em janeiro 2014.

RIDLEY, A. M.; MORRIS, V. K., CAWTHRAW, S. A.; ELLIS- IVERSEN, J. HARRIS, J. A.; KENNEDY, E. M.; NEWELL, D. G.; ALLEN, V. M. Longitudinal molecular epidemiology study of thermophilic campylobacters on one conventional broiler chicken farm. **Applied and environmental microbiology**, v.77, n.1. p 98-107. 2011.

RODRIGUES, A. C. A.; PINTO, P. S. A.; VANETTI, M. C. D., BEVILACQUA, P. D.. PINTO, M. S.; NERO, L. A. Analysis e monitoring of critical points in the poultry slaughter using microbiological indicators. **Ciência Rural**, v.38, n.7, 2008. Disponível em [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782008000700023&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782008000700023&script=sci_arttext). Acesso nov. 2014.

RODRIGUES, M.C.N.L. Avaliação físico-química de carcaça de frangos acometidas pela síndrome ascética. Niterói: UFF, 1993, 95p. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) – Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, 1993.

SENER, S.S.; ARNOLD J.W E CHEW V. APC values and volatile compounds formed in commercially processed, raw chicken parts during storage at 4 and 13°C and under simulated temperature abuse conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 80, p. 1559-1564, 2000.

SHARMA C S.; WILLIAMS, S. K.; SCHNEIDER, K. R.; SCHMIDT, R . H.; RODRICK, G E. Sodium metasilicate affects growth of *Campylobacter jejuni* in fresh, boneless, uncooked chicken breast fillets stored at 4 degrees Celsius for 7 days. **Poultry Science**, v.91, p. 2324–2329, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3382/ps.2011-01868>. Acesso em nov. 2014.

SHIMOKOMAKI, M.; OLIVO, R.; TERRA, N. N.; FRANCO, B. D. G. M. Atualidades de em Ciência e Tecnologia de Carnes. Ed Varela, São Paulo, SP, 2006.

SILVA JR, E A. **Manual de Controle Higiênico Sanitário em Alimentos**. 6ª Ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007.

SILVA, J.A.; SOARES, L.F.; COSTA, E.L. Sanitização de Carcaças de Frango com Soluções de Ácidos Orgânicos Comerciais e Suco de Limão - Revista TeC Carnes, v.3, n.1, p.19-26, 2001.

SILVA, S .M. **Estudo da cinética da decomposição de soluções de ácido peracético contaminados com material orgânico**. 2010. 82p. Dissertação (de Mestrado) - Escola de Engenharia de Mauá, São Caetano do Sul. 2010.

SIMAS, V.S., SANTOS, F. F.; GOUVEA, R.; AQUINO, M. H. C. ABREU, D. L. C.; NASCIMENTO, E. R.; PEREIRA, V. L. A. et al. Pré-resfriamento na redução de coliformes em carcaças de frango de corte. **Ciência Rural**, v.43, n.9, p.1618-1622, 2013. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-84782013000900013](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782013000900013). Acesso em dez. 2014.

STORCH, E.E. et al. **Efeito do pré-resfriamento sobre a qualidade microbiológica de carcaças de frango**. In: 21 ° Congresso de Iniciação científica da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2012.

SUSLOW, T.V. **Oxidation-reduction potencial (ORP) dor water disinfection monitoring, control and documentarion**. Division of Agriculture and Natural Resources. Univesity of California. Publication 8149, 2004. Disponível em: <http://anrcatalog.ucdavis.edu/pdf/8149.pdf>. Acesso em nov. 2014.

TANUS, A. Ciência e processamento da carne: Qualidade e Inocuidade: Uso de ingredientes antimicrobianos para estender a vida útil de produtos cárneos. **CarneTec**. p. 34-42. 2014.

TEBALDI, V.M.R.; **Análise e potencial de uso de óleos essenciais nno contolele de Pseudomonas sp. e na formação de biofilms por Pseudomonas aeruginosa**. 2008. 94p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos)- Univesidade Federal de Lavras, Lavras, PR, 2008.

TERRA, Nelcindo Nascimento. **Apontamentos de tecnologia de carnes**. Editora Unisinos, São Leopoldo- RS, 2005.

TOMÁS-CALLEJAS, A.; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, G. B.; ARTÉS, F.; ARTÉS-HERNÁNDEZ, F. Neutral and acidic electrolyzed water as emergent sanitizers for fresh-cut mizuna baby leaves. **Postharvest Biology and Technology**, v.59, p.298–306, 2011. Disponível em <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925521410002218>. Acesso em nov. 2014.

UBA - União Brasileira de Avicultura, 2008. **Protocolo de Boas Práticas de Produção de Frangos**. 47p. SP. Disponível em: [http://www.avisite.com.br/legislacao/anexos/protocolo\\_de\\_boas\\_praticas\\_de\\_producao\\_de\\_frangos.pdf](http://www.avisite.com.br/legislacao/anexos/protocolo_de_boas_praticas_de_producao_de_frangos.pdf). Acesso em out. 2014.

UBABEF - União Brasileira de Avicultura/ Brazillian Poultry Association. Relatório Anual 2014. 57p. São Paulo, 2014a. Disponível em <http://www.ubabef.com.br/files/publicacoes/8ca705e70f0cb110ae3aed67d29c8842.pdf>. Acesso em dez. 2014.

UBABEF - União Brasileira de Avicultura/ Brazillian Poultry Association. Avicultura Brasileira: História da Avicultura no Brasil. 2014b. Disponível em: <<http://www.ubabef.com.br/aaviculturabrasileira/historiadaaviculturanobrasil>> Acesso em nov. 2014b.

VÁZQUEZ-SÁNCHEZ, D.; CABO, M. L.; RODRÍGUEZ-HERRERA, J. J. Single and sequential application of electrolyzed water with benzalkonium chloride or peracetic acid for removal of *Staphylococcus aureus* biofilm. **Journal of Food Safety**, v. 34, n.3, p. 199-210,

2014. Disponível em <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jfs.12114/abstract>. Acesso em nov. 2014.

VOIDAROU, C.; VASSOS D.; ROZOS, G., ALEXOPOULOS, A.; PLESSAS, S.; TSINAS, A.; SKOUFOU M.; STAVROPOULOU E.; BEZIRTZOGLU, E. . Microbial challenges of poultry meat production. **Anaerobe**, v.17, n.6, p.341-343, 2011. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1075996411001077>. Acesso em nov. 2014.

WANG, J.J; LIN, T.; LI, J. B.; LIAO, C.; PAN, Y. J.; ZHAO, Y. Effect of acidic electrolyzed water ice on quality of shrimp in dark condition. **Food Control**, v. 35. p. 207-212, 2014. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713513003447>. Acesso em jul, 2014.

WATERS, B.W.; TATUM, J.M.; HUNG, Y-C. Effect of chlorine-based sanitizers properties on corrosion of metals commonly found in food processing environment. **Journal of Food Engineering**, v. 121, p.159–165, 2014. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877413004408>. Acesso em dez, 2014.

WHITE. **White's handbook of chlorination and alternative disinfectants**. – 5th ed. Ed. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 2010.

Winterbourn, C. C.; van den Berg, J. J.; Roitman, E.; Kuypers, F. A. Chlorohydrin formation from unsaturated fatty acids reacted with hypochlorous acid. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.296, n2, p. 296:547–555,1992.

XIONG, K.; LIU, H.; LIU, R.; LI, L. Differences in fungicidal efficiency against *Aspergillus flavus* for neutralized and acidic electrolyzed oxidizing Waters. **International Journal of Food Microbiology**, v.137, p. 67–75, 2010. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160509005935>. Acesso em out. 2014.

XU, G.; TANG, X.; TANG, S.; YOU, H.; SHI, H; GU, R. Combined effect of electrolyzed oxidizing water and chitosan on the microbiological, physicochemical, and sensory attributes of American shad (*Alosa sapidissima*) during refrigerated storage. **Food Control**, n. 46, p. 397-402, 2014.

YANG H.; FEIRTAG, J.; DIEZ-GONZALEZ, F. Sanitizing effectiveness of commercial “active water” Technologies on *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, v.33, p. 232 – 238, 2013. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713513001291>. Acesso em jul, 2014.

YATAO, H.; FADE, L.; SHIFU, Z.; LIJUN, W.; HAIJIE, L.; LITE, L.; JIE,R. Effect of preparing condition on physicochemical property of slightly acidic electrolyzed functional water. **Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering**, v.28, n.19, p.232 – 240, 2012. Disponível em: <http://www.ingentaconnect.com/content/tcsae/tcsae/2012/00000028/00000019/art00031>. Acesso em jul. 2014.

ZHANG, B.; MA, L.; DENG, S.; XIE, C.; QIU, X. Shelf-life of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) as affected by weakly acidic electrolyzed water ice-glazing and

modified atmosphere packaging. **Food Control**, v. 51, p 114 – 121, 2015. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713514006501>. Acesso em jan, 2015.

ZHANG, Q.; XIONG, K.; TATSUMI, E.; LI, L.; LIU, H. et al. Elimination of aflatoxin B<sub>1</sub> in peanuts by acidic electrolyzed oxidizing water. **Food Control**, n.27, p.16-20, 2012. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713512001132>. Acesso em jul, 2014.

ZHAO Y.; XIN, H.; ZHAO, D.; ZHENG, W.; TIAN, W.; MA, H.; LIU, K.; HU, H.; WANG, T.; SOUPIR, M. Free chlorine loss during spraying of membraneless acidic electrolyzed water and its antimicrobial effect on airborne bacteria from poultry house. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 21, n.2, p.249–255, 2014. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24959770>. Acesso em jan. 2015.

ZWEIFEL, C.; ALTHAUS, D.; STEPHAN, R. Effects of slaughter operations on the microbiological contamination of broiler carcasses in three abattoirs. **Food Control**, v. 51, p. 37-42, 2015. Disponível em <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.11.002>. Acesso em jan. 2015.

**APÊNDICE 1A - Número de colônias de bactérias mesófilas dos peitos de frango logo após o tratamento de imersão AD e em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6.**

experimento	pH	fluxo	CCL (mg/L) imersão	log UFC/cm <sup>2</sup>			log redução		% redução	
				C	iAD	iAEFA	iAD	iAEFA	iAD	iAEFA
1	6	100-200	2 mg/L	3,49 A	2,16 B	2,46 B	1,34	1,03	38	29
2		400-600		5,31 A	4,97 AB	4,14 B	0,33	1,17	6	22
3		400-600		2,46 A	1,84 AB	0,80 B	0,62	1,66	25	67
4		800-1200		3,35 A	2,49 B	2,29 B	0,87	1,06	26	32
5		800-1200		4,08 A	3,09 B	3,10 B	0,99	0,98	24	24

Resultados expressos como Média  $\pm$  DP (n=2) <sup>A,B,C</sup> Letras iguais não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan (p>0,05) para o mesmo experimento. CCL = concentração de cloro livre. C = tratamento controle, refere-se aos peitos de frango que não receberam tratamento. AD = água deionizada. AEFA = água eletrolisada fracamente ácida. i = imersão

**APÊNDICE 1B - Número de colônias de bactérias mesófilas dos peitos de frango logo após o tratamento de imersão AD e em AEFA com 5 mg/L de cloro livre e pH 6.**

experimento	pH	fluxo	CCL (mg/L) imersão	log UFC/cm <sup>2</sup>			log redução		% redução	
				C	iAD	iAEFA	iAD	iAEFA	iAD	iAEFA
6	6	400 -600	5 mg/L	3,29 A	2,83 AB	2,43 B	0,46	0,86	14	26
7				2,64 A	2,05 B	1,37 C	0,59	1,27	22	48

Resultados expressos como Média  $\pm$  DP (n=3) <sup>A,B,C</sup> Letras iguais não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan (p>0,05) para o mesmo experimento. CCL = concentração de cloro livre. CCL = concentração de cloro livre. C = tratamento controle, refere-se aos peitos de frango que não receberam tratamento. AD = água deionizada. AEFA = água eletrolisada fracamente ácida. i = imersão

**APÊNDICE 2 - Número de colônias de bactérias mesófilas dos peitos de frango logo após o tratamento de imersão AD e em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 5.**

experimento				log UFC/cm <sup>2</sup>			log redução		% redução	
	pH	fluxo	CCL (mg/L) imersão	C	iAD	iAEFA	iAD	iAEFA	iAD	iAEFA
12	5	100-200	2 mg/L	5,04 A	3,15 B	3,65 B	1,89	1,39	38	28
13				3,17 A	1,04 B	0,79 B	2,13	2,38	67	75
14				4,07 A	2,52 B	3,13 B	1,54	0,94	38	23

Resultados expressos como Média  $\pm$  DP (n=2 e n= 3)<sup>A,B,C</sup> Letras iguais não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan ( $p>0,05$ ) para o mesmo experimento. CCL = concentração de cloro livre. C = tratamento controle, refere-se aos peitos de frango que não receberam tratamento. AD = água deionizada. AEFA = água eletrolisada fracamente ácida. i = imersão

**APÊNDICE 3 - Número de colônias de bactérias mesófilas dos peitos de frango logo após o tratamento com spray e spray mais imersão AD e em AEFA com pH 6.**

experimento	pH	CCL (mg/L) spray	CCL (mg/L) imersão	log UFC/cm <sup>2</sup>					log redução				%redução			
				C	sAD	siAD	sAEFA	siAEFA	sAD	siAD	sAEFA	siAEFA	sAD	siAD	sAEFA	siAEFA
8		2mg/L	2mg/L	2,83 A	1,76 B	1,48 B	1,39 B	0,72 C	1,07	1,35	1,44	2,11	38	48	51	74
9	6	5mg/L	5mg/L	3,41 A	2,37 B	2,01 C	1,94 C	1,31 D	1,04	1,39	1,47	2,10	31	41	43	62
10				3,41 A	2,53 B	0,97 D	1,87 C	0,86 D	0,88	2,44	1,54	2,55	26	72	45	75
11		10mg/L	5mg/L	3,68 A	2,25 B	2,06 B	2,15 B	1,41 C	1,44	1,62	1,53	2,27	39	44	42	62

Resultados expressos como Média  $\pm$  DP (n=3)<sup>A,B,C</sup> Letras iguais não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan ( $p>0,05$ ) para o mesmo experimento. CCL = concentração de cloro livre. C = tratamento controle, refere-se aos peitos de frango que não receberam tratamento. AD = água deionizada. AEFA = água eletrolisada fracamente ácida. i = imersão. s = spray. si = spray seguido de imersão.

**APÊNDICE 4 - Número de colônias de bactérias mesófilas dos peitos de frango no sexto dia de armazenamento a 4 °C após o tratamento de imersão AD e em AEFA.**

experimento	pH	fluxo	CCL (mg/L) imersão	log UFC/cm <sup>2</sup>			log redução		% redução	
				C	iAD	iAEFA	iAD	iAEFA	iAD	iAEFA
1	6	100-200	2mg/L	5,80 A	5,65 A	5,85 A	0,15	-0,05	3	-1
2		400-600		6,66 A	7,28 A	6,83 A	-0,62	-0,17	-9	-3
3				6,23 A	6,25 A	6,44 A	-0,02	-0,21	0	-3
4		800-1200		6,49 A	6,65 A	6,32 A	-0,16	0,17	-3	3
5				6,44 A	6,30 A	6,39 A	0,14	0,04	2	1
6		400 -600		6,00 A	6,10 A	5,98 A	-0,11	0,02	-2	0
7	5,81 A		5,92 A	5,81 A	-0,10	0,00	-2	0		
12	5	100-200	2mg/L	7,12 A	6,18 B	6,37 B	0,94	0,75	13	10
13				5,80 A	5,49 A	5,39 A	0,32	0,41	5	7
14				6,06 A	5,73 AB	5,54 B	0,33	0,52	5	9

Resultados expressos como Média  $\pm$  DP <sup>A,B,C</sup> Letras iguais não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan ( $p>0,05$ ) para o mesmo experimento. CCL = concentração de cloro livre. C = tratamento controle, refere-se aos peitos de frango que não receberam tratamento. AD = água deionizada. AEFA = água eletrolisada fracamente ácida. i = imersão.

**APÊNDICE 5 - Número de colônias de bactérias mesófilas dos peitos de frango no sexto dia de armazenamento a 4 °C após o tratamento com spray e spray mais imersão AD e em AEFA com pH 6.**

experimento	pH	CCL (mg/L) spray	CCL (mg/L) imersão	log UFC/cm <sup>2</sup>			log redução		%redução	
				C	siAD	siAEFA	siAD	siAEFA	siAD	siAEFA
8	6	2mg/L	2mg/L	6,50 A	6,35 A	6,20 A	0,15	0,29	2,27	4,53
9		5mg/L	5mg/L	5,53 B	5,73 AB	6,05 A	-0,20	-0,52	-3,53	-9,43
10				6,44 A	6,82 A	6,56 A	-0,38	-0,11	-5,84	-1,76
11		10mg/L	5mg/L	5,32 A	5,59 A	5,76 A	-0,27	-0,44	-5,03	-8,32

Resultados expressos como Média  $\pm$  DP (n=3)<sup>A,B,C</sup> Letras iguais não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan ( $p>0,05$ ) para o mesmo experimento. CCL = concentração de cloro livre.. CCL = concentração de cloro livre. C = tratamento controle, refere-se aos peitos de frango que não receberam tratamento. AD = água deionizada. AEFA = água eletrolisada fracamente ácida. si = spray seguido de imersão.

**APÊNDICE 6A - Número de colônias de bactérias psicrotróficas dos peitos de frango logo após o tratamento de imersão AD e em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 6.**

experimento	pH	fluxo	CCL (mg/L) imersão	log UFC/cm <sup>2</sup>			log redução		% redução	
				C	iAD	iAEFA	iAD	iAEFA	iAD	iAEFA
1	6	100-200	2 mg/L	5,02 A	3,35 B	3,47 B	1,67	1,55	33	31
2		400-600		5,65 A	4,76 B	4,26 B	0,90	1,39	16	25
3				3,07 A	0,79 AB	1,30 B	2,28	1,77	74	58
4		800-1200		2,84 A	2,05 B	1,83 B	0,79	1,02	28	36
5				5,26 A	5,03 A	4,48 A	0,23	0,78	4	15

Resultados expressos como Média  $\pm$  DP (n=2) <sup>A,B,C</sup> Letras iguais não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan (p>0,05) para o mesmo experimento. CCL = concentração de cloro livre.. CCL = concentração de cloro livre. C = tratamento controle, refere-se aos peitos de frango que não receberam tratamento. AD = água deionizada. AEFA = água eletrolisada fracamente ácida. i = imersão

**APÊNDICE 6B - Número de colônias de bactérias psicrotróficas dos peitos de frango logo após o tratamento de imersão AD e em AEFA com 5 mg/L de cloro livre e pH 6.**

experimento	pH	fluxo	CCL (mg/L) imersão	log UFC/cm <sup>2</sup>			log redução		% redução	
				C	iAD	iAEFA	iAD	iAEFA	iAD	iAEFA
6	6	400 -600	5 mg/L	3,88 A	3,02 B	2,58 C	0,86	1,30	22	34
7				3,11 A	2,66 A	1,76 B	0,44	1,35	14	43

Resultados expressos como Média  $\pm$  DP (n=2) <sup>A,B,C</sup> Letras iguais não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan (p>0,05) para o mesmo experimento. CCL = concentração de cloro livre.. CCL = concentração de cloro livre. C = tratamento controle, refere-se aos peitos de frango que não receberam tratamento. AD = água deionizada. AEFA = água eletrolisada fracamente ácida. i = imersão

**APÊNDICE 7 - Número de colônias de bactérias psicrotróficas dos peitos de frango logo após o tratamento de imersão AD e em AEFA com 2 mg/L de cloro livre e pH 5.**

experimento				log UFC/cm <sup>2</sup>			log redução		% redução	
	pH	fluxo	CCL (mg/L) imersão	C	iAD	iAEFA	iAD	iAEFA	iAD	iAEFA
12	5	100-200	2 mg/L	5,69 A	3,64 C	4,28 B	2,05	1,42	36	25
13				3,83 A	2,34 B	2,08 B	1,48	1,75	39	46
14				5,50	4,16	5,08	1,34	0,42	24	8

Resultados expressos como Média  $\pm$  DP (n=2 e n=3) <sup>A,B,C</sup> Letras iguais não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan ( $p>0,05$ ) para o mesmo experimento. CCL = concentração de cloro livre. C = tratamento controle, refere-se aos peitos de frango que não receberam tratamento. AD = água deionizada. AEFA = água eletrolisada fracamente ácida. i = imersão

**APÊNDICE 8. Número de colônias de bactérias psicrotróficas dos peitos de frango logo após o tratamento com spray e spray mais imersão AD e em AEFA com pH 6.**

experimento	pH	CCL (mg/L) spray	CCL (mg/L) imersão	log UFC/cm <sup>2</sup>				log redução				% redução				
				C	sAD	siAD	sAEFA	siAEFA	sAD	siAD	sAEFA	siAEFA	sAD	siAD	sAEFA	siAEFA
8		2mg/L	2mg/L	3,11 A	3,02 A	2,40 B	2,49 B	1,61 C	0,09	0,71	0,62	1,49	3	23	20	48
9	6	5mg/L	5mg/L	4,09 A	3,40 B	2,56 C	3,41 B	2,83 C	0,69	1,53	0,68	1,26	17	37	17	31
10				3,51 A	3,02 AB	1,58 C	2,67 B	1,66 C	0,49	1,93	0,84	1,85	14	55	24	53
11		10mg/L	5mg/L	4,38 A	3,72 B	3,40 B	3,57 B	2,85 C	0,66	0,98	0,81	1,53	15	22	19	35

Resultados expressos como Média  $\pm$  DP (n=3) <sup>A,B,C</sup> Letras iguais não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan (p>0,05) para o mesmo experimento. CCL = concentração de cloro livre.. CCL = concentração de cloro livre. C = tratamento controle, refere-se aos peitos de frango que não receberam tratamento. AD = água deionizada. AEFA = água eletrolisada fracamente ácida. i = imersão

**APÊNDICE 9. Número de colônias de bactérias psicrotróficas dos peitos de frango no sexto dia de armazenamento a 4 °C após o tratamento de imersão AD e em AEFA.**

experimento	pH	fluxo	CCL (mg/L) imersão	log UFC/cm <sup>2</sup>			log redução		% redução	
				C	iAD	iAEFA	iAD	iAEFA	iAD	iAEFA
1	6	100-200	2mg/L	7,11 A	6,77 A	6,97 A	0,34	0,14	5	2
2		400-600		6,97 A	7,75 A	7,25 A	-0,78	-0,27	-11	-4
3				7,67 A	7,25 A	6,47 A	0,42	1,20	5	16
4		800-1200		7,32 A	7,10 A	7,16 A	0,22	0,15	3	2
5		400 -600		7,17 A	7,37 A	7,44 A	-0,21	-0,28	-3	-4
6				7,47 A	7,16 A	7,09 A	0,30	0,37	20	5
7	5	100-200	5mg/L	7,07 A	6,95 A	6,91 A	0,12	0,16	1	2
12			2mg/L	8,51 A	6,80 B	7,02 B	1,72	1,49	20	18
13			7,43 A	7,33 AB	6,98 B	0,10	0,45	1	6	
14			7,47 A	7,30 A	7,15 A	0,17	0,32	2	4	

Resultados expressos como Média ± DP <sup>A,B,C</sup> Letras iguais não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan (p>0,05) para o mesmo experimento. CCL = concentração de cloro livre. C = tratamento controle, refere-se aos peitos de frango que não receberam tratamento. AD = água deionizada. AEFA = água eletrolisada fracamente ácida. i = imersão.

**APÊNDICE 10. Número de colônias de bactérias psicrotróficas dos peitos de frango no sexto dia de armazenamento a 4 °C após o tratamento com spray e spray mais imersão AD e em AEFA com pH 6.**

experimento	pH	CCL (mg/L) spray	CCL (mg/L) imersão	log UFC/cm <sup>2</sup>			log redução		%redução	
				C	siAD	siAEFA	siAD	siAEFA	siAD	siAEFA
8	6	2mg/L	2mg/L	6,50 A	6,35 A	6,50 A	0,15	0,29	2,27	4,53
9		5mg/L	5mg/L	5,53 B	5,73 AB	5,53 B	-0,20	-0,52	-3,53	-9,43
10				6,56 A	6,82 A	6,44 A	-0,38	-0,11	-5,84	-1,76
11		10mg/L	5mg/L	5,76 A	5,59 A	5,32 A	-0,27	-0,44	-5,03	-8,32

Resultados expressos como Média  $\pm$  DP (n=3) <sup>A,B,C</sup> Letras iguais não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan (p>0,05) para o mesmo experimento. CCL = concentração de cloro livre.. CCL = concentração de cloro livre. C = tratamento controle, refere-se aos peitos de frango que não receberam tratamento. AD = água deionizada. AEFA = água eletrolisada fracamente ácida. si = spray seguido de imersão.

**APÊNDICE 11 – TBARS peitos de frango do tratamento C e logo após a aplicação do tratamento de imersão AD e em AEFA.**

experimento	peitos	pH	fluxo	CCL (mg/L) imersão	TBARS		
					C	AD	AEFA
1	1 e 7	6	100-200	2mg/L	0,55 ± 0,07 <sup>A</sup>	0,34 ± 0,05 <sup>AB</sup>	0,29 ± 0,09 <sup>B</sup>
2	2 e 3		400-600		0,58 ± 0,27 <sup>A</sup>	0,41 ± 0,07 <sup>A</sup>	0,29 ± 0,06 <sup>A</sup>
3					0,40 ± 0,13 <sup>A</sup>	0,31 ± 0,04 <sup>A</sup>	0,60 ± 0,13 <sup>A</sup>
4	4 e 5		800-1200		0,23 ± 0,08 <sup>A</sup>	0,15 ± 0,11 <sup>A</sup>	0,18 ± 0,11 <sup>A</sup>
5					0,96 ± 0,09 <sup>A</sup>	0,98 ± 0,37 <sup>A</sup>	0,45 ± 0,09 <sup>B</sup>
6	9 e 10	400 -600	5mg/L	0,81 ± 0,29 <sup>A</sup>	0,72 ± 0,23 <sup>A</sup>	0,59 ± 0,26 <sup>A</sup>	
7				0,49 ± 0,26	0,17 ± 0,07	0,34 ± 0,16	
12	6 e 8	5	100-200	2mg/L	0,72 ± 0,02 <sup>A</sup>	0,28 ± 0,01 <sup>B</sup>	0,55 ± 0,15 <sup>A</sup>
13					0,55 ± 0,18 <sup>A</sup>	0,31 ± 0,04 <sup>A</sup>	0,47 ± 0,22 <sup>A</sup>
14					16	0,15 ± 0,16 <sup>A</sup>	0,13 ± 0,03 <sup>A</sup>

Resultados expressos como Média ± DP<sup>A,B,C</sup> Letras iguais não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan (p>0,05) na mesma linha. CCL = concentração de cloro livre.. CCL = concentração de cloro livre. C = tratamento controle, refere-se aos peitos de frango que não receberam tratamento. AD = água deionizada. AEFA = água eletrolisada fracamente ácida.

**APÊNDICE 12. TBARS peitos de frango do tratamento C e dos tratamentos de imersão AD e em AEFA no sexto dia de armazenamento.**

experimento	peitos	pH	fluxo	CCL (mg/L) imersão	TBARS		
					C	AD	AEFA
1	1 e 7	6	100-200	2mg/L	0,82 ± 0,21 <sup>A</sup>	0,48 ± 0,09 <sup>A</sup>	0,50 ± 0,18 <sup>A</sup>
2	2 e 3		400-600		1,60 ± 0,18 <sup>A</sup>	0,84 ± 0,09 <sup>B</sup>	0,65 ± 0,01 <sup>B</sup>
3					1,35 ± 0,13 <sup>A</sup>	0,56 ± 0,29 <sup>B</sup>	0,72 ± 0,06 <sup>B</sup>
4	4 e 5		800-1200		0,87 ± 0,10 <sup>A</sup>	1,02 ± 0,67 <sup>A</sup>	0,61 ± 0,08 <sup>A</sup>
5					1,53 ± 0,01 <sup>B</sup>	2,09 ± 0,17 <sup>A</sup>	1,08 ± 0,01 <sup>C</sup>
6	9 e 10	400 -600	5mg/L	0,81 ± 0,29 <sup>A</sup>	0,72 ± 0,23 <sup>A</sup>	0,59 ± 0,26 <sup>A</sup>	
7				0,96 ± 0,38 <sup>A</sup>	0,77 ± 0,09 <sup>A</sup>	0,64 ± 0,04 <sup>A</sup>	
12	6 e 8	5	100-200	2mg/L	2,88 ± 0,01 <sup>A</sup>	1,55 ± 0,3 <sup>B</sup>	1,42 ± 0,45 <sup>B</sup>
13					2,06 ± 0,57 <sup>A</sup>	1,69 ± 0,33 <sup>B</sup>	1,58 ± 0,32 <sup>B</sup>
14					1,00 ± 0,20 <sup>A</sup>	0,54 ± 0,12 <sup>B</sup>	1,04 ± 0,14 <sup>A</sup>

Resultados expressos como Média ± DP<sup>A,B,C</sup> Letras iguais não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan (p>0,05) na mesma linha. CCL = concentração de cloro livre.. CCL = concentração de cloro livre. C = tratamento controle, refere-se aos peitos de frango que não receberam tratamento. AD = água deionizada. AEFA = água eletrolisada fracamente ácida.

**APÊNDICE 13A. TBARS peitos de frango do tratamento C e logo após a aplicação do tratamento de spray e imersão AD e em AEFA.**

experimento	pH	CCL (mg/L) spray	CCL (mg/L) imersão	TBARS		
				C	AD	AEFA
8	6	2 mg/L	2 mg/L	0,31 ± 0,12 <sup>A</sup>	0,15 ± 0,02 <sup>A</sup>	0,20 ± 0,03 <sup>A</sup>
9		5 mg/L	5 mg/L	0,35 ± 0,03 <sup>A</sup>	0,25 ± 0,11 <sup>A</sup>	0,28 ± 0,09 <sup>A</sup>
10				0,40 ± 0,13 <sup>A</sup>	0,36 ± 0,10 <sup>AB</sup>	0,20 ± 0,02 <sup>B</sup>
11		10 mg/L	5 mg/L	0,66 ± 0,10 <sup>A</sup>	0,22 ± 0,07 <sup>B</sup>	0,36 ± 0,12 <sup>B</sup>

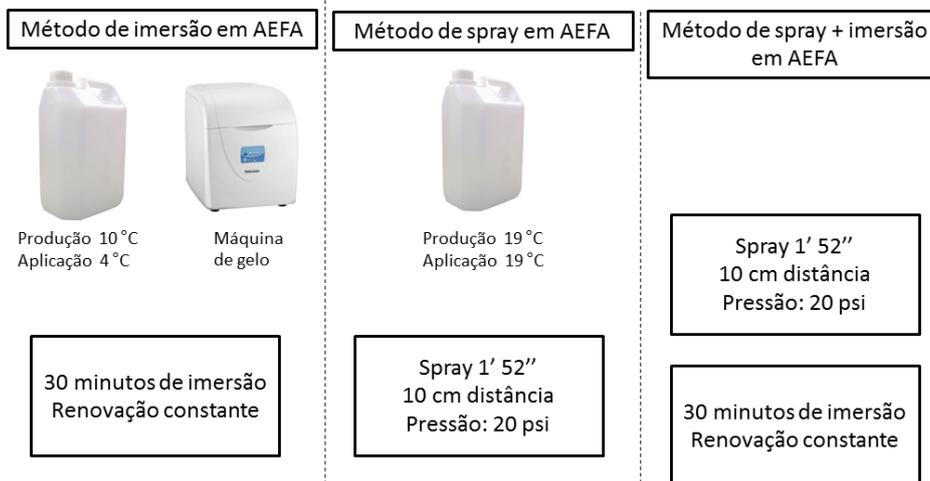
Resultados expressos como Média ± DP<sup>A,B,C</sup> Letras iguais não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan ( $p > 0,05$ ) na mesma linha. CCL = concentração de cloro livre.. CCL = concentração de cloro livre. C = tratamento controle, refere-se aos peitos de frango que não receberam tratamento. AD = água deionizada. AEFA = água eletrolisada fracamente ácida.

**APÊNDICE 13B. TBARS peitos de frango do tratamento C e dos tratamentos de spray e imersão AD e em AEFA no sexto dia de armazenamento.**

experimento	pH	CCL (mg/L) spray	CCL (mg/L) imersão	TBARS		
				C	AD	AEFA
8	6	2 mg/L	2 mg/L	1,30 ± 0,44 <sup>A</sup>	0,72 ± 0,18 <sup>B</sup>	0,93 ± 0,49 <sup>AB</sup>
9		5 mg/L	5 mg/L	1,64 ± 0,11 <sup>A</sup>	1,11 ± 0,30 <sup>B</sup>	1,06 ± 0,05 <sup>B</sup>
10				1,69 ± 1,06 <sup>A</sup>	0,70 ± 0,18 <sup>A</sup>	1,09 ± 0,69 <sup>A</sup>
11		10 mg/L	5 mg/L	1,60 ± 0,32 <sup>A</sup>	0,64 ± 0,02 <sup>B</sup>	0,76 ± 0,05 <sup>B</sup>

Resultados expressos como Média ± DP<sup>A,B,C</sup> Letras iguais não apresentaram diferença significativa pelo teste Duncan ( $p > 0,05$ ) na mesma linha. CCL = concentração de cloro livre.. CCL = concentração de cloro livre. C = tratamento controle, refere-se aos peitos de frango que não receberam tratamento. AD = água deionizada. AEFA = água eletrolisada fracamente ácida.

## APÊNDICE 14 – Esquema simplificado dos métodos de aplicação de AEFA nos peitos de frango



**APÊNDICE 15 – Fotografia da aplicação da AD e da AEFA pelo método de spray e pelo método de imersão utilizados em laboratório de pesquisa**

