

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

**ASPERSÃO DE DIFERENTES TIPOS DE ÁGUA  
ELETROLISADA EM CARNE SUÍNA E AVALIAÇÃO  
DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E OXIDATIVA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Dirceu Rodrigues Athayde**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2016**

# **ASPERSÃO DE DIFERENTES TIPOS DE ÁGUA ELETROLISADA EM CARNE SUÍNA E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E OXIDATIVA**

**Dirceu Rodrigues Athayde**

Dissertação apresentada sobre a forma de teleconferência ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Área de Concentração em Ciência e Tecnologia de Carnes e Derivados, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

**Orientador: Prof. Alexandre José Cichoski**  
**Co-orientador: Prof. Roger Wagner**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2016**

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

Rodrigues Athayde, Dirceu

Aspersão de diferentes tipos de água eletrolisada em carne suína e avaliação da qualidade microbiológica e oxidativa / Dirceu Rodrigues Athayde.-2016.

128 p.; 30cm

Orientador: Alexandre José Cichoski

Coorientador: Roger Wagner

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, RS, 2016

1. Água eletrolisada 2. Carne suína 3. Microbiologia  
4. Oxidações 5. Meio ambiente I. José Cichoski, Alexandre  
II. Wagner, Roger 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**

**ASPERSÃO DE DIFERENTES TIPOS DE ÁGUA ELETROLISADA EM  
CARNE SUÍNA E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA  
E OXIDATIVA**

elaborada por  
**Dirceu Rodrigues Athayde**

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

**COMISSÃO EXAMINADORA**

**Alexandre José Cichoski, Dr.**  
(Presidente/Orientador)

**Paulo Cezar Bastianello Campagnol, Dr. (UFSM)**

**Eduardo Huber, Dr. (IF- Concórdia/SC)**

**Roger Wagner, Dr.**  
(Coorientador)

Santa Maria, 4 de março de 2016.

## DEDICATÓRIA

*“Dedico este trabalho à minha família, que sempre está presente me apoiando, em especial aos meus pais Ana e João, e sempre lembrando daqueles que estiveram presentes em minha vida mas precisaram partir no decorrer da minha trajetória. Lembro de todos, e vó (in memoriam), obrigado...”*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Federal de Santa Maria por proporcionar a realização deste trabalho de mestrado.

Agradeço à Deus por tudo.

Agradeço à minha família, em especial aos meus pais Ana e João, que sempre estiveram junto comigo em momentos agradáveis e ajudando à superar momentos desagradáveis.

Agradeço ao Prof. Alexandre José Cichoski pelos conhecimentos passados, pela orientação do trabalho, amizade e conversas, e pela parceria de organizar os jogos de futebol das quartas-feiras e sábados. Agradeço ao Prof. Roger Wagner pelos conhecimentos passados, pela amizade e parceria.

Agradeço aos professores do curso de pós-graduação em alimentos, da graduação e dos tempos de escola pelos conhecimentos passados, pela ajuda e amizade.

Agradeço aos amigos antigos, da banda, colegas, que estiveram junto nesta trajetória, e como são bastante pessoas, não citarei nomes para não esquecer ninguém, ou ser injusto.

Agradeço à CAPES pela bolsa de estudos à mim concedida.

Agradeço à todos que de uma forma ou outra participaram desta etapa.

Obrigado!

## EPÍGRAFE

*“Em momentos de crise, só a imaginação  
é mais importante que o conhecimento.”  
(Albert Einstein)*

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

AE: água eletrolisada

AEA: água eletrolisada ácida

AEB: água eletrolisada básica

AEFA: água eletrolisada fracamente ácida

CCL: concentração de cloro livre

DC: dienos conjugados

MDA: Malonaldeído

POR: potencial de óxiredução

TC: trienos conjugados

TBARS: espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Tipos de água obtidas por eletrolisador contendo membrana de separação. Fonte: CUI <i>et al</i> , 2009; HUANG <i>et al</i> , 2008.....	7
<b>Tabela 2.</b> Faixas ótimas de pH para crescimento de algumas bactérias. Adaptado de: FORSYTHE (2013).....	21
<b>Capítulo 1</b>	
<b>Tabela 1A.</b> Características das águas eletrolisadas utilizadas por experimento antes e pós-spray.....	35
<b>Tabela 1B.</b> Número de colônias de bactérias mesófilos (log UFC/g) aeróbias em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperatura, durante armazenamento de 29 dias a 4°C (±1).....	39
<b>Tabela 1C.</b> Número de colônias de bactérias psicotróficas (log UFC/g) em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperatura, durante armazenamento de 29 dias a 4°C (±1).....	41
<b>Tabela 1D.</b> Número de colônias de bactérias <i>Staphylococcus sp.</i> (log UFC/g) aeróbias em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperatura, durante armazenamento de 29 dias a 4°C (±1).....	43
<b>Tabela 1E.</b> Dienos conjugados (Abs/ mg de lipídio/ 3 mL de ciclohexano) em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperatura, durante armazenamento.....	47

<b>Tabela 1F.</b> Trienos conjugados (Abs/ mg de lipídio/ 3 mL de ciclohexano) em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperatura, durante armazenamento de 29 dias a 4°C (±1).....	48
<b>Tabela 1G.</b> Peróxidos (miliequivalentes de peróxidos/ Kg de amostra) em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperatura, durante armazenamento de 29 dias a 4°C (±1).....	50
<b>Tabela 1H.</b> TBARS (mg MDA/Kg de amostra) em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperatura, durante armazenamento de 29 dias a 4°C (±1).....	53
<b>Tabela 1I.</b> Valores de carbonil (nanomol de DNPH/ mg de proteína) em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperatura, durante armazenamento de 29 dias a 4°C (±1).....	55
<b>Tabela 1J.</b> Valores de tiol (nanomol de SH/ mg de proteína) em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperatura, durante armazenamento de 29 dias a 4°C (±1).....	56
<b>Tabela 1K.</b> Valores de pH em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperatura, durante armazenamento de 29 dias a 4°C (±1).....	59
<b>Tabela 1L.</b> Valores de potencial redox (POR em mV) em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperatura, durante armazenamento de 29 dias a 4°C (±1).....	61

## Capítulo 2

<b>Tabela 2.</b> Características dos diferentes tipos de águas eletrolisadas aplicadas nos pedaços de carne suína e concentração de cloro (CCL) nas águas eletrolisadas pós-spray.....	81
<b>Tabela 2.</b> Número de colônias de bactérias mesófilas (log UFC/g), em carne suína que foram submetidas a aplicação de AE em diferentes pressões de spray e embaladas à vácuo durante período de armazenamento a 4 °C. ....	82
<b>Tabela 3.</b> Número de colônias de bactérias lácticas (log UFC/g), em carne suína que foram submetidas a aplicação de AE em diferentes pressões de spray e embaladas à vácuo durante período de armazenamento a 4 °C. ....	83
<b>Tabela 4.</b> Número de colônias de <i>Enterobacteriaceae</i> (log UFC/g) em carne suína que foram submetidas a aplicação de AE em diferentes pressões de spray e embaladas à vácuo durante período de armazenamento a 4 °C.....	85
<b>Tabela 5.</b> Número de bactérias psicrotróficas (log UFC/g) em carne suína que foram submetidas a aplicação de AE em diferentes pressões de spray e embaladas à vácuo durante período de armazenamento a 4 °C.....	86
<b>Tabela 6.</b> Valores de pH em carne suína que foram submetidas a aplicação de AE em diferentes pressões de spray e embaladas à vácuo durante período de armazenamento a 4 °C.....	87
<b>Tabela 7.</b> Valores de peróxidos (miliequivalentes de peróxidos/ Kg de amostra) em carne suína que foram submetidas a aplicação de AE em diferentes pressões de spray e embaladas à vácuo durante período de armazenamento a 4 °C. ....	88
<b>Tabela 8.</b> Valores de TBARS (mg MDA/Kg de amostra) em carne suína que foram submetidas a aplicação de AE em diferentes pressões de spray e embaladas à vácuo durante período de armazenamento a 4 °C.....	89
<b>Tabela 9.</b> L* em carne suína que foram submetidas a aplicação de AE em diferentes pressões de spray e embaladas à vácuo durante período de armazenamento a 4 °C.....	93

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Esquema do eletrolisador de água que pode conter ou não a membrana de separação. Fonte: HUANG <i>et al</i> , 2008.....	6
<b>Figura 2.</b> Relação pH X Concentração de Cloro Livre (%) (CCL%). Adaptado de RAHMAN; DING; OH, 2010.....	8
<b>Figura 3.</b> Relação entre TBARS e hexanal. Fonte: BRUNTON <i>et al</i> , 2000.....	14
<b>Figura 4.</b> Relação entre TBARS e pentanal. Fonte: BRUNTON <i>et al</i> , 2000.....	14
<b>Figura 5.</b> SPME em etapas de extração e análise cromatográfica propriamente dita em cromatógrafo à gás. Fonte: VALENTE & AUGUSTO, 2000.....	16
<b>Figura 6.</b> Cromatograma obtido de leite humano por SPME-GC/MS. Adaptado de: ELISIA & KITTS, 2011.....	17
<b>Figura 7.</b> Consequências da oxidação proteica. FONTE: LUND <i>et al</i> , 2011.....	18
<b>Figura 8.</b> Reação do grupamento carbonil com dinitrofenilhidrazina (DNPH), e formação do cromóforo hidrazona que absorve no comprimento de onda 370 nm. FONTE: ESTÉVEZ; MORCUENDE; VENTANAS, 2008.....	19
<b>Figura 9.</b> Perda do grupo tiol (SH). Adaptado de: ESTÉVEZ; MORCUENDE; VENTANAS, 2008.....	19
<b>Figura 10.</b> Grupo HEME e representação da Mioglobina.....	22
<b>Figura 11.</b> Amostras utilizadas nos experimentos.....	25
<b>Figura 12.</b> Método de aplicação de spray e suas características na aplicação.....	26
<b>Capítulo 1</b>	
<b>Figura 1A.</b> Bactérias lácticas de E3 (a) e E4 (b). Nota: Letras minúsculas/ maiúsculas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Duncan no mesmo dia entre os tratamentos/ entre os dias para o mesmo tratamento. ....	44
<b>Figura 1B.</b> <i>Enterobacteriaceae</i> de E3 (a) e E4 (b) de pedaços de carne de porco tratados com AE e armazenados à 4°C. Nota: Letras minúsculas/ maiúsculas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Duncan no mesmo dia entre os tratamentos/ entre os dias para o mesmo tratamento. Nota 2: * são contagens < 10 estimado. ....	46
<b>Figura 1a.</b> Formação de DC e TC.....	49
<b>Figura 1b.</b> Formação de peróxidos à partir de poli-insaturados.....	51
<b>Figura 1c.</b> Formação de peróxidos à partir de ácidos graxos mono-insaturados.....	51
<b>Figura 1C.</b> Cor no E3 (a1, a2 e a3) e E4 (b1, b2 e b3) sendo parâmetro $L^*=1$ , $a^*=2$ e $b^*=3$ em pedaços de carne de porco tratados com AE e armazenados à 4°C.....	63

## Capítulo 2

**Figura 1:** Carbonil, tiol e POR em carnes suínas que receberam spray de AEB+AEA (AEA), AEB+AEFA AEFA) e controle (C) armazenadas à 4°C. 1a= experimento à 30 psi e 1b=experimento à 45 psi..... 91

**Figura 2:** Hexanal em carne suína que foram submetidas a aplicação de AE em 45 psi armazenadas em embalagens à vácuo, durante período de armazenamento a 4 °C..... 94

## LISTA DE EQUAÇÕES

**Equação 1.** Princípio da eletrolisação. Adaptado de: HUANG *et al*, 2008..... 7

## **LISTA DE FLUXOGRAMAS**

**Fluxograma 1.** Fluxograma do capítulo 1 (retângulo esquerdo) e 2 (retângulo direito).

27

## LISTA DE TABELAS DO ANEXO

### Capítulo 1

<b>Tabela 1.</b> Bactérias lácticas (log UFC/g) em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperatura, durante o armazenamento de 29 dias a 4°C (±1).....	107
<b>Tabela 2.</b> <i>Enterobacteriaceae</i> (log UFC/g) em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperaturas, durante armazenamento de 29 dias à 4°C (±1).....	107
<b>Tabela 3.</b> L* em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperaturas, durante armazenamento de 29 dias à 4°C (±1). .....	108
<b>Tabela 4.</b> a* em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperaturas, durante armazenamento de 29 dias à 4°C (±1). .....	108
<b>Tabela 5.</b> b* em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperaturas, durante armazenamento de 29 dias à 4°C (±1). .....	109

### Capítulo 2

<b>Tabela 1.</b> Carbonil (nanomol de DNPH por mg de proteína) em carne suína que foi submetida a aplicação de AE em diferentes pressões de spray e embaladas à vácuo durante período de armazenamento a 4 °C.....	109
<b>Tabela 2.</b> Tiol (nanomol de tiol por mg de proteína) em carne suína que foi submetida a aplicação de AE em diferentes pressões de spray e embaladas à vácuo durante período de armazenamento a 4 °C.....	110
<b>Tabela 3.</b> POR (mV) em carne suína que foi submetida a aplicação de AE em diferentes pressões de spray e embaladas à vácuo durante período de armazenamento a 4 °C.....	110
<b>Tabela 4.</b> Área de hexanal em carne suína que foi submetida a aplicação de AE em diferentes pressões de spray e embaladas à vácuo durante período de armazenamento a 4 °C.....	110
<b>Tabela 5.</b> Valores de a* em carne suína que foram submetidas à aplicação de AE em diferentes pressões de spray e embaladas à vácuo durante o período de armazenamento à 4°C.....	111
<b>Tabela 6.</b> Valores de b* em carne suína que foram submetidas à aplicação de AE em diferentes pressões de spray e embaladas à vácuo durante o período de armazenamento à 4°C.....	111



## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos  
Universidade Federal de Santa Maria

### SPRAY DE DIFERENTES TIPOS DE ÁGUA ELETROLISADA EM CARNE SUÍNA

AUTOR: DIRCEU RODRIGUES ATHAYDE  
ORIENTADOR: ALEXANDRE JOSÉ CICHOSKI  
CO-ORIENTADOR: ROGER WAGNER

LOCAL E DATA DA DEFESA: SANTA MARIA, 4 DE MARÇO DE 2016.

A aplicação na forma de spray de diferentes tipos de água eletrolisada (AE) foi estudada com o objetivo de verificar seus efeitos no desenvolvimento de bactérias, na oxidação de lipídios e proteínas, e também na cor. A temperatura (18°C e 30°C) e o volume aplicado (100 e 200 ml em 250 g de lombo suíno) das AE, bem como a pressão (30 psi e 45 psi) foram variáveis testadas em seis experimentos. Os experimentos desde o princípio tiveram como base a economia de água e energia, fundamentados na economia de recursos. A água eletrolisada ácida (AEA), água eletrolisada fracamente ácida (AEFA) e água eletrolisada básica (AEB) foram aplicadas de maneira individual, e tiveram menor efeito do que a aplicação das AE de maneira alternadas (AEB + AEA e AEB + AEFA) em mesófilos, bactérias lácticas, *Enterobacteriaceae*, com pouco efeito em bactérias psicrotróficas. As bactérias lácticas tiveram crescimento favorecido em ambiente à vácuo e interferiram no pH da carne, enquanto os tratamentos com AE não interferiram no pH da carne em todos os experimentos. O efeito frente às bactérias dos diferentes tipos e combinações de AE apresentaram a tendência de diminuir até o dia 15 de armazenamento. Ao longo do tempo de armazenamento a aplicação de AEB + AEA e AEB + AEFA em 45 psi foram mais significativos em manter a redução das bactérias do que os tratamentos individuais. Ainda, a temperatura da AE aplicada não pareceu influenciar nos resultados das análises realizadas. Ocorreu maior evolução da oxidação lipídica com AEA e AEFA, enquanto com a AEB os valores ficaram mais próximos ao controle. Quando AEA e AEFA foram aplicadas de forma alternada, a AEB ao ser aplicada primeiro proporcionou proteção à gorduras e às proteínas do ataque da AEA e AEFA, fato este que não ocorreu quando estas foram aplicadas de maneira individual. O atributo cor não foi alterado de maneira significativa pelos diferentes tipos de AE individuais, mas em aplicações alternadas a pressão de 45 psi promoveu pequena alteração na cor. Correlações entre o tiol e o carbonil indicaram a evolução da oxidação proteica na carne suína durante o período de armazenamento em todos os experimentos realizados. O potencial redox (POR) demonstrou ser uma análise que pode contribuir para compreensão do aspecto oxidativo da carne. O hexanal foi mais detectado na combinação de AEB + AEA do que AEB + AEFA no tempo de armazenamento. A aplicação de spray de diferentes tipos de AE mostrou-se uma alternativa com potencial de uso e redução de quantidade de água utilizada, sendo a forma alternada de aplicação mais vantajosa do que a aplicação individual sobre atributos de qualidade da carne de porco, como bactérias e físico-química.

**PALAVRAS-CHAVE:** água eletrolisada, bactérias, oxidações, carne suína, tecnologia não convencional, meio ambiente.

## ABSTRACT

Master dissertation  
Post-graduate Program in Food Science and Technology  
Federal University of Santa Maria

### SPRAY OF DIFFERENT TYPES OF ELECTROLYZED WATER IN PIG MEAT

AUTHOR: DIRCEU RODRIGUES ATHAYDE

ADVISOR: ALEXANDRE JOSÉ CICHOSKI

CO-ADVISOR: ROGER WAGNER

PLACE AND DATE: SANTA MARIA, MARCH 4<sup>th</sup>, 2016.

Spray application of electrolysed water (EW) different types was studied with objective of verify effects in bacterial growth, lipid and protein oxidation, also color. Temperature (18 and 30°C) and applied volume of water (100 and 200 mL of EW to 250 g of pork loin), as well pressure (30 and 45 psi) was tested variables in six experiments. From the beginning the experiments was based in water and energy saving, grounded in resources saving. Acid electrolysed water (AEW), slightly acid electrolised water (SAEW) and basic electrolysed water (BEW) was applied individual, and had less effect than alternate (BEW +AEW and BEW+SAEW) applications regarding mesophylls, lactic acid bacterias, *Enterobacteriaceaes*, with little effect on psychrotrophics. Lactic acid bacterias growth was favored in vacuum environment and interfered on meat pH, while EW treatments had no interferences in meat pH along six experiments. Bacterial effects of different EW types and combinations presented decrease tendencies until 15<sup>th</sup> storage day. Along storage BEW + AEW and BEW + SAEW at 45 psi was more significant in reduce bacterias than individual treatments. Still, EW temperature had no influence in results of realized analysis. Lipid oxidation with AEW and SAEW was higher than BEW that had values according to control. When AEW and SAEW was applied in alternate form, the application of BEW applied first provided fats and protein protection from AEW and SAEW attack, and this fact don't occurred when EW was individually applied. Color had no significant changes for individual EW applications, but in alternate applications, 45 psi promote little changes in color. Correlations with carbonyl and thiol indicated protecin oxidation evolution in pig meat long storage period in all experiments. Redo x potential demonstrated be a good analysis that can be contributed to comprehension of oxidative aspect of meat. Hexanal was more detected in BEW + AEW than BEW +SAEW in storage time. Different types of EW spraying application can be a good alternative with use potential and decrease quantity of utilized water, being alternate form of application more advantageous than individual application about quality attributes of pig meat, like bacterias and physic-chemical.

**KEY-WORDS:** electrolysed water; bacterias; oxidation; pig meat; non-conventional technology; environment.

## Sumário

1. INTRODUÇÃO .....	4
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	5
2.1 ÁGUA ELETROLISADA: PRODUÇÃO E QUÍMICA .....	5
2.2 TEORIAS SOBRE O MECANISMO DE AÇÃO DA AE EM MICRORGANISMOS .....	8
2.3 APLICAÇÕES DA AE .....	10
2.3.1 AE em alimentos .....	10
2.3.2 AE em outros usos indiretamente relacionados com alimentos .....	11
2.4 OXIDAÇÕES DE LIPÍDIOS E PROTEÍNAS .....	12
2.4.1 Oxidações lipídicas .....	12
2.4.1.1 Microextração em fase sólida (SPME) em voláteis provenientes da oxidação .....	15
2.4.2 Oxidações de proteínas .....	17
2.5 MICRORGANISMOS ENVOLVIDOS NA CONTAMINAÇÃO DE CARNE .....	20
2.5.1 Potencial hidrogeniônico (pH), potencial de óxi-redução (POR) e microrganismos .....	21
2.6 COR DA CARNE .....	21
3. MATERIAIS E MÉTODOS .....	24
3.1 OBTENÇÃO DE AMOSTRAS .....	24
3.2 PREPARO DA ÁGUA ELETROLISADA, ANÁLISE DE CLORO LIVRE, pH, POR E APLICAÇÃO NA CARNE .....	25
3.3 MICROBIOLOGIA .....	27
3.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS .....	28
3.4.1 Oxidações de lipídios .....	28
3.4.2 Oxidações de proteínas .....	31
3.4.3 pH e POR da carne .....	32
3.4.4 Análise de cor .....	32
3.5 VIDA DE PRATELEIRA DAS AMOSTRAS DE CARNE SUBMETIDAS À DIFERENTES TIPOS DE AE .....	33

3.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	33
4. CAPÍTULO 1 .....	34
4.1 DESCRIÇÃO E OBJETIVOS .....	34
4.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	35
4.2.1 Características das águas aplicadas.....	35
4.2.2 Efeito microbiológico da AE.....	37
4.2.3 Oxidações lipídicas .....	46
4.2.4 Oxidações proteicas.....	54
4.2.5 pH e POR.....	58
4.2.6 Cor .....	62
4.3 CONCLUSÕES.....	65
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	65
6. CAPÍTULO 2 .....	76
6.1 INTRODUÇÃO.....	77
6.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	78
6.2.1 Produção dos diferentes tipos de AE e tratamentos aplicados. ....	78
6.2.2 Obtenção das amostras e aplicação dos tratamentos.....	78
6.2.3 Análises Microbiológicas .....	78
6.2.4 pH e POR.....	79
6.2.5 Peróxidos .....	79
6.2.6 TBARS .....	79
6.2.7 Carbonil.....	79
6.2.8 Tiol.....	79
6.2.9 Cor .....	80
6.2.10 Determinação de hexanal .....	80
6.2.11 Análises estatísticas.....	80
6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	80
6.3.1 Características das águas eletrolisadas.....	80
6.3.2 Microbiologia .....	81
6.3.3 pH.....	86
6.3.4 Oxidações lipídicas .....	87
6.3.4 Oxidações proteicas.....	89
6.3.5 Cor .....	92

6.3.6 Hexanal .....	94
6.4 CONCLUSÃO .....	95
6.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	95
7. DISCUSSÃO GERAL .....	103
7.1 Características dos experimentos e microbiologia.....	103
7.2 Aspectos físico-químicos .....	104
8. CONCLUSÕES .....	106
ANEXO.....	107

## 1. INTRODUÇÃO

A carne é um alimento mundialmente consumido, independente da região, desenvolvimento econômico e cultura do país. Ainda é considerada uma das principais atividades no mercado de alimentos, visto que é responsável por grande parcela de empregos e giro de capital (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013). Fonte de muitos nutrientes, torna-se importante na alimentação da população, logo, é preciso que cada vez mais ela se constitua em um alimento seguro do ponto de vista de saúde do consumidor e que tenha tempo de prateleira suficiente para justificar a sua comercialização à nível mundial e capacidade de distribuição para o consumo, com manutenção de propriedades desejadas.

Desde o ano de 1980, a produção de carne suína mais que triplicou em termos de toneladas de carne (ABCS, 2014). É importante ressaltar que junto com a carne de frango, a carne suína é bem vista em termos mundiais devido às suas características peculiares e possibilidade de aproveitamento em grande variedade de subprodutos.

Atualmente, é muito importante em processos industriais a busca por tecnologias que possam ser implementadas na planta de abate de animais visando minimizar o impacto ao meio ambiente, diminuir o gasto de energia e de recursos naturais, bem como pouca produção de resíduos tóxicos e/ou químicos. Pensando nisso, as tecnologias não convencionais surgem como opção com potencial de aplicação na indústria de alimentos. Muitas são as novas tecnologias com possibilidade de implementação na indústria de carnes, dentre elas pode-se citar o uso de ultrassom, radiação ultravioleta, aquecimento ôhmico, entre outros. A água eletrolisada (AE) figura como uma destas novas tecnologias.

A maioria dos trabalhos constantes na literatura relatam o efeito da AE após imersão (ISSA-ZACHARIA *et al* 2011; XU *et al*, 2014), sendo muito pouco estudada a aplicação desta sob a forma de aspersão em spray. Ainda, a parcela dominante de temas tratados refere-se à qualidade microbiológica do alimento, sendo que os aspectos físico-químicos muitas vezes são sequer mencionados. Além disso, os detalhes sobre a própria aplicação, tal como temperatura da AE e do alimento, assim como o tempo de tratamento são informações que faltam nos trabalhos constantes na literatura. Uma vez que estes detalhes são importantes para o estudo do efeito de

AE, a quantidade de água utilizada também deveria ser relatada, e este dado muitas vezes também não é revelado nos trabalhos.

Economia de água e energia são objetivos da aplicação de tecnologias não convencionais, e seus benefícios em relação ao que é atualmente utilizado precisam ser comprovados. Por outro lado também não adianta obter resultados excepcionais de descontaminação microbiológica se o consumo de água for maior do que o já utilizado em etapas como lavagem da carcaça antes da câmara fria, ou afetar as características desejáveis da carne. É importante frisar que um dos objetivos deste trabalho foi aplicar os diferentes tipos de AE na forma de spray no músculo ainda quente, simulando o ambiente de abate, visando avaliar a qualidade microbiológica, e as condições oxidativas e de cor da mesma entre os tratamentos e no decorrer do tempo de armazenamento, mas sempre levando-se em conta a utilização da menor quantidade de água possível.

O objetivo geral deste trabalho foi:

- APLICAR PEQUENA QUANTIDADE DE DIFERENTES TIPOS DE AE SOB A FORMA DE SPRAY EM CARNE SUÍNA AINDA QUENTE (33°C) E AVALIÁ-LA DURANTE O PERÍODO DE ARMAZENAMENTO.

Os objetivos específicos foram:

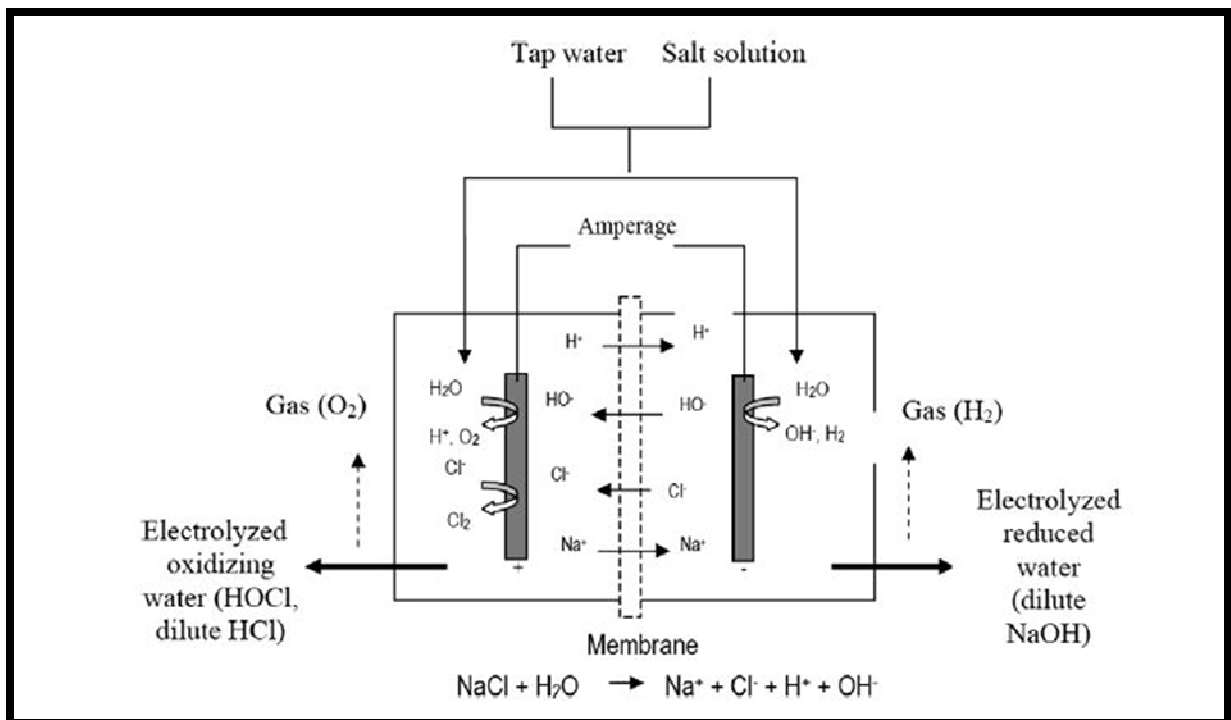
- AVALIAR AÇÃO DA AE EM BACTÉRIAS LOGO APÓS APLICAÇÃO E DURANTE O PERÍODO DE ARMAZENAMENTO DA CARNE SUÍNA EM TEMPERATURA DE 4°C SOB VÁCUO .

- VERIFICAR OXIDAÇÕES LIPÍDICAS E PROTEICAS LOGO APÓS APLICAÇÃO DE AE E DURANTE PERÍODO DE ARMAZENAMENTO EM TEMPERATURA DE 4°C SOB VÁCUO, BEM COMO pH, POR E COR DA CARNE SUÍNA.

## **2.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 ÁGUA ELETROLISADA: PRODUÇÃO E QUÍMICA**

O processo de eletrolisação da água e conseqüentemente a obtenção de AE consiste na passagem de uma solução salina diluída de cloreto de sódio (NaCl) ou outro sal clorado por uma câmara de eletrolisação com dois pólos, convencionalmente chamados de ânodo (+) e cátodo (-) (Figura 1), que podem ser separados ou não por uma membrana (CUI *et al*, 2009; HUANG *et al*, 2008).

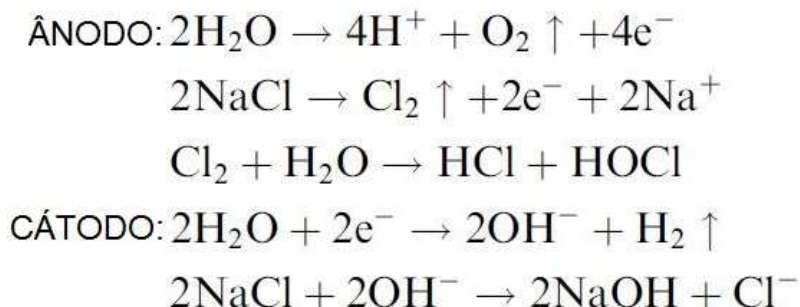


**Figura 1.** Esquema do eletrolisador de água que pode conter ou não a membrana de separação. Fonte: HUANG *et al*, 2008.

Em sistemas que apresentam divisão com membrana, dois tipos distintos de água são obtidos: a água eletrólizada ácida (AEA) proveniente do ânodo, e a água eletrólizada básica (AEB) proveniente do cátodo (CUI *et al*, 2009; HUANG *et al*, 2008). O princípio de produção da AE pode ser demonstrado conforme Equação 1.



**Equação 1.** Princípio da eletrolisação. Adaptado de: HUANG *et al*, 2008.



A AEA possui características opostas à AEB, sendo estas demonstradas na Tabela 1.

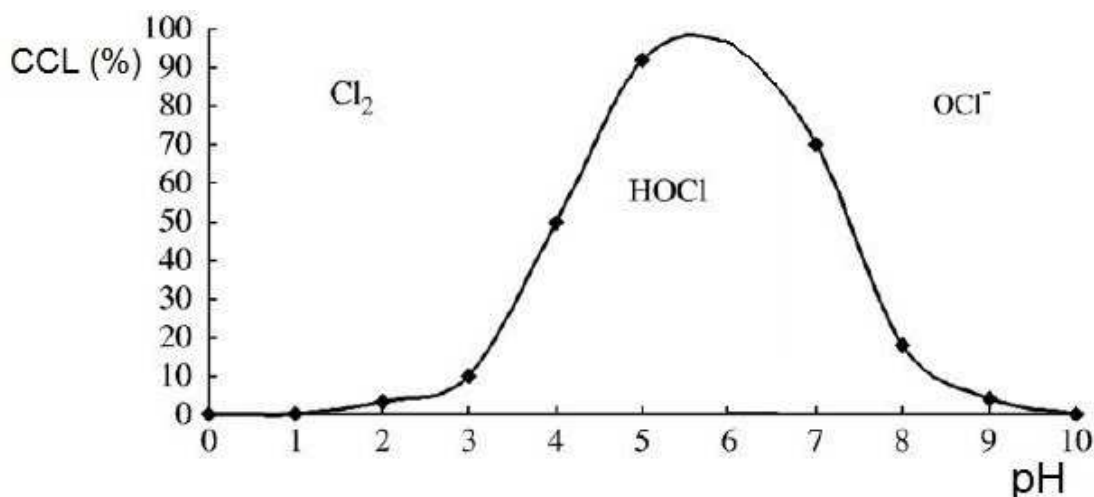
**Tabela 1.** Tipos de água obtidas por eletrolisador contendo membrana de separação. Fonte: CUI *et al*, 2009; HUANG *et al*, 2008.

Tipo de água	pH	Potencial de oxidação-redução (POR)
AEA	< 3.0	> 1000 mV
AEB	> 10.0	- 800 à -900 mV

Conforme a Tabela 1, a AEA apresenta pH baixo, o que pode ser explicado pela presença de cloro ( $\text{Cl}_2$ ), ácido hipocloroso ( $\text{HOCl}$ ) e ácido clorídrico diluído ( $\text{HCl}$ ), de acordo com a Figura 1. Em contraponto a AEB possui o pH alto por causa da presença de hidróxido de sódio ( $\text{NaOH}$ ) diluído, além de poder possuir uma pequena quantidade de hipoclorito ( $\text{OCl}^-$ ) e  $\text{H}_2$ .

Há ainda um terceiro tipo de que pode ser produzido, e esta resulta da mistura das AEA e AEB em aparelhos com membrana ou pode ser produzida diretamente em câmaras de eletrolisação sem membrana de divisão, sendo chamada de água eletrolisada fracamente ácida (AEFA). Segundo GUENTZEL *et al* (2008) a AEFA caracteriza-se por apresentar pH em torno de 6,5 e potencial de óxido-redução na faixa de 800-900 mV, bem como 95% do cloro da água na forma de ácido hipocloroso ( $\text{HOCl}$ ), 5% como íon hipoclorito ( $\text{OCl}^-$ ) e traços de  $\text{Cl}_2$  aproximadamente. É importante notar que o cloro presente na AEFA está prioritariamente sob a forma de  $\text{HOCl}$  (figura 2), e uma vez que a perda de cloro do meio se dá por meio do elemento quando na forma de  $\text{Cl}_2$ , o pH neutro da AEFA pode evitar a rápida evaporação do cloro. Isso resulta em manutenção dos níveis de  $\text{HOCl}$  e conseqüente manutenção da atividade que a AEFA apresenta contra os

microrganismos (LEN *et al*, 2002). O HOCl é a forma mais germicida em soluções de cloro aquoso, podendo possuir atividade sanitizante 80 vezes mais eficiente comparada ao OCl<sup>-</sup> nas mesmas concentrações (EIFERT & SANGLAY, 2002). Além disso a AEFA apresenta-se não corrosiva e mais estável para o armazenamento em comparação à AEA e menos danosa à saúde do trabalhador justamente por haver menor desprendimento de Cl<sub>2</sub> (CAO *et al*, 2009).



**Figura 2.** Relação pH X Concentração de Cloro Livre (%) (CCL%). Adaptado de RAHMAN; DING; OH, 2010.

Quando estudou os fatores interferentes na produção de AE, HSU (2005) verificou que a taxa de fluxo de água produzida interferia na concentração de cloro livre (CCL) e POR, em relação indiretamente proporcional. Percebeu também que a concentração de sal da salmoura interferia numa relação diretamente proporcional com CCL e com a condutividade elétrica da AE. Outra observação foi que a temperatura não causou uma grande alteração na eletrólise.

## 2.2 TEORIAS SOBRE O MECANISMO DE AÇÃO DA AE EM MICRORGANISMOS

Não há consenso sobre ser um mecanismo (ou mais de um) o responsável pela ação da AE, além de eles serem de diversos tipos. O POR da AEA pode ser o causador de dano à bactéria *E. coli* O157:H7 pois pode afetar seu estado de óxido-redução e atingir as membranas internas e externas, causando necrose da célula

(LIAO; CHEN; XIAO, 2007). No entanto a AEFA apresenta atividade contra bactérias igual ou maior à AEA ou solução de hipoclorito de sódio (NaOCl) com a mesma quantidade de CCL (CAO *et al*, 2009). Além disso, tem a vantagem de conter um baixo teor de cloro livre (RAHMAN *et al*, 2012), até menor que tratamentos convencionalmente utilizados, além de fornecer maior segurança ao trabalhador, não gerar resíduo no alimento tratado, bem como necessitar de pequeno tempo para a sua produção (RAHMAN; DING; OH, 2010).

ALBRICH, MCCARTHY e HURST (1981) verificaram que o HOCl tem a capacidade de alterar a respiração de bactérias por destruir sua cadeia transportadora de elétrons e diminuir nucleotídeos de adenina. Segundo EIFERT & SANGLAY (2002) o cloro pode também afetar os microrganismos por inibir certas enzimas que metabolizam carboidratos e que possuem grupos sulfidrílicos sensíveis ao cloro, o que acarreta em bloqueio na oxidação da glicose. Pode-se dizer que um ou mais mecanismos é que são responsáveis pelo poder do cloro e suas espécies frente à microrganismos. Dentre eles, pode-se citar inativação de enzimas-chave, interrupção de ácidos nucleicos, levando à inativação e dano oxidativo à parede celular ou outras partes vitais da célula (WHITE, 2010). Outra possibilidade avaliada por ZENG *et al* (2010) foi que a atividade da enzima desidrogenase de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* decai rapidamente quando a bactéria é exposta à AEA, aliado ao fato de alterar a permeabilidade da membrana bacteriana, por fim ocasionando aumento de condutividade e quedas bruscas de DNA intracelular e íons potássio.

Para XIONG *et al* (2010) a quantidade de OH<sup>-</sup> presente na AEA e AEFA pode também ser um ponto de destaque na eficiência fungicida das mesmas, uma vez que o OH<sup>-</sup> pode danificar a estrutura normal da conídia, desestabilizando seu equilíbrio iônico. No entanto, HAO *et al* (2012) sugere que a forma do composto de cloro desempenha papel fundamental na capacidade de desinfecção de AEA e AEFA, em vez do radical OH<sup>-</sup>. MOKUDAI *et al* (2012) sugerem que o efeito da AEA é atribuído ao HOCl, e não ao OH<sup>-</sup>, pelo menos diretamente, mas indiretamente, uma vez que após a penetração do HOCl na célula bacteriana, este radical OH<sup>-</sup> seria gerado (MOKUDAI; KANNO; NIWANO, 2015).

## 2.3 APLICAÇÕES DA AE

A AE funciona como uma espécie de “agente sanitizante” em vista de suas características. Em virtude disso, suas aplicações podem ser das mais diversas em alimentos e em casos indiretamente relacionados à alimentos, como por exemplo na limpeza de superfícies utilizadas no seu preparo.

### 2.3.1 AE em alimentos

A AE já foi aplicada em diversos alimentos buscando-se avaliar o seu efeito frente à microrganismos. XIE *et al* (2012) pesquisaram alguns parâmetros da AEA frente à *Vibrio parahemolyticus* e *Listeria monocytogenes* em camarão armazenado à diferentes temperaturas. Ainda com *Vibrio parahemolyticus*, WANG *et al* (2014a) estudaram a aplicação de AEA ao camarão, e WANG *et al* (2014b) fizeram o modelo de inativação desta bactéria. LOI-BRADEN *et al* (2005) estudaram o efeito de AE frente à *Escherichia coli* e *Salmonella*. LIN *et al* (2013) verificaram a ação da AEA na forma de gelo para preservação da qualidade do camarão, e WANG *et al* (2014c) investigaram o efeito da AEA na forma de gelo para verificar efeitos na qualidade de camarão armazenado no escuro, e viram que a AEA na forma de gelo funciona bem como inibidor da enzima polifenol oxidase, que causa melanose no produto e consequente queda na aceitabilidade.

PHUVASATE & SU (2010) verificaram que AE na forma de água e gelo pode ser usada para a redução de bactérias produtoras de histamina nas superfícies de preparo de alimentos e na pele de peixes. McCARTHY & BURKHARDT III (2012) estudaram que AEA quando usada para limpeza de materiais utilizados no preparo de alimentos pescados, na forma de spray intermitente pode reduzir ou prevenir a formação de biofilmes bacterianos.

Em aplicação em carne suína, AEA foi investigada quanto a ação frente à *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Campylobacter coli* em comparação à outros tratamentos tal como ácido láctico 2%, e verificou-se que 15 segundos de aplicação na forma de *spray* foi o suficiente para reduzir a última

espécie supracitada, sendo necessário maiores tempos para as outras duas (FABRIZIO & CUTTER, 2004).

A AE é estudada também quanto à sua aplicação nos mais diversos alimentos de origem vegetal, tal como em espinafre e alface (GUENTZEL *et al*, 2008), cogumelos (DING; RAHMAN; OH, 2011), maçãs minimamente processadas (GRAÇA *et al*, 2011), vegetais frescos prontos para o consumo e brotos (ISSA-ZACHARIA *et al*, 2011).

### 2.3.2 AE em outros usos indiretamente relacionados com alimentos

A ação da AEFA contra *Vibrio vulnificus* e *Vibrio parahaemolyticus* foi estudada por QUAN *et al* (2010) com efeito bactericida mais rápido do que produtos químicos como hipoclorito de sódio (NaOCl), com mesma CCL. AEB possui capacidade de remover o biofilme de *S. aureus* equivalente à 2% de NaOH e AEA é tão bactericida quanto 2% de HCl para afetar *S. aureus* no biofilme (SUN *et al*, 2012). AEFA obteve propriedades bactericidas e foi eficaz em reduzir *Listeria monocytogenes* em biofilmes alocados em aço inox e em vidros (AREVALOS-SÁNCHEZ *et al*, 2012).

AE também apresenta ação contra fungos, como *Aspergillus flavus* (XIONG *et al*, 2010), *Candida albicans* (ZENG *et al*, 2011), *Botrytis cinerea* e *Monilinia fructicola* (GUENTZEL *et al*, 2010), *Fusarium* spp. (AUDENAERT *et al*, 2012). Ainda AEA é capaz de diminuir a concentração da Aflatoxina B<sub>1</sub> em amendoins (ZHANG *et al*, 2012), no entanto AEFA pode desencadear a biossíntese de Deoxinivalenol, que também é uma micotoxina, em grãos de trigo contaminados com *Fusarium* spp. (AUDENAERT *et al*, 2012). Quando estudada a ação da AE frente ao vírus *influenza*, uma potente ação virucida foi verificada (TAMAKI *et al*, 2014).

A AE foi eficaz em reduzir resíduos de pesticidas como acefato, ometoato e dimetil diclorovinil fosfato em vegetais sem afetar o conteúdo de vitamina C, e não acarretar em redução de perda nutricional (HAO *et al*, 2011).

## 2.4 OXIDAÇÕES DE LIPÍDIOS E PROTEÍNAS

### 2.4.1 Oxidações lipídicas

Os lipídios são compostos chamados comumente de “gorduras” ou “óleos”, dependendo de como encontram-se em temperatura ambiente, sólidos ou líquidos respectivamente. Os seus principais componentes são os ácidos graxos, que podem ser saturados ou insaturados, sendo estes os responsáveis pelo estado físico apresentado à 25°C. Quando a composição é de mais ácidos graxos saturados, o estado será sólido, e insaturados é mais líquido. Nos animais, grande parte dos ácidos graxos estão contidos sob a forma de ésteres de glicerol, formando estruturas menos tóxicas às células do que os ácidos graxos livres, que são mono-, di- e tri-acilgliceróis. Os animais possuem outros lipídios também, tal como fosfolipídios, esteróis (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010a).

Estruturas lipídicas estão sujeitas à reações de oxidações, que como produto final leva à um estado conhecido como *rancidez oxidativa*, uma condição que provoca perda de qualidade de carne *in natura*. Três etapas são descritas na ocorrência de oxidações, sendo elas iniciação, propagação e terminação (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010a).

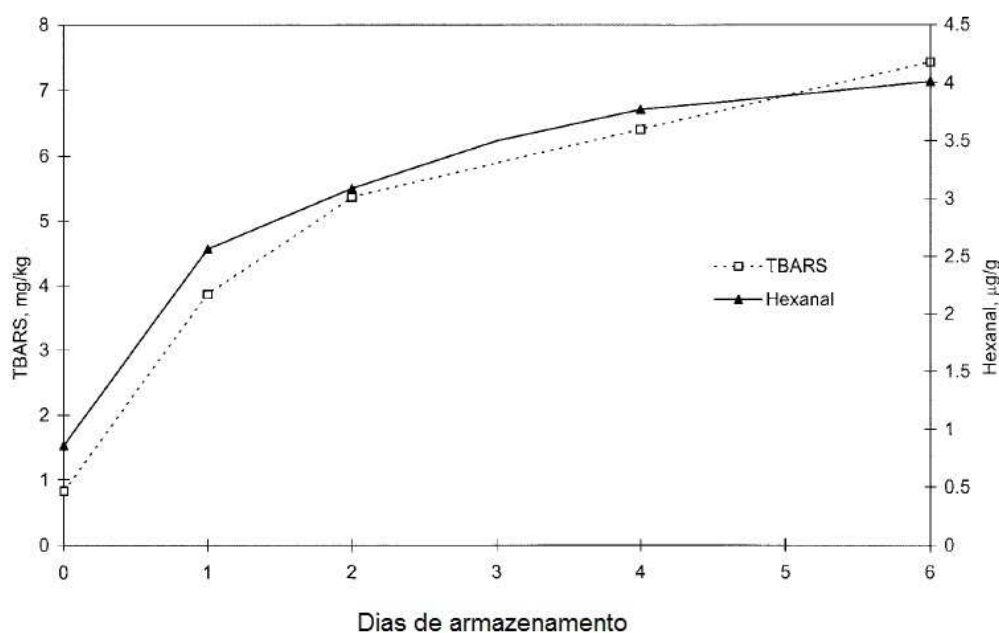
*Iniciação:* Nesta etapa ocorre perda de um hidrogênio do ácido graxo e formação de um radical alquil ( $L^{\bullet}$ ).

*Propagação:* O radical alquil pode ganhar a adição de oxigênio, podendo serem tomados dois caminhos: para estabilizar-se, o radical peroxil ( $LOO^{\bullet}$ ) arranca um hidrogênio de um ácido graxo, formando um hidroperóxido ( $LOOH$ ), e por outro lado desestabiliza o ácido graxo o qual ele subtraiu o hidrogênio para estabilizar-se, provocando a formação de um novo radical alquil ( $L^{\bullet}$ ), e propagação da oxidação. Resumindo, o radical formado na iniciação, estabiliza-se com a desestabilização de um outro ácido graxo, que desestabilizará outro ácido graxo e assim propagará a oxidação.

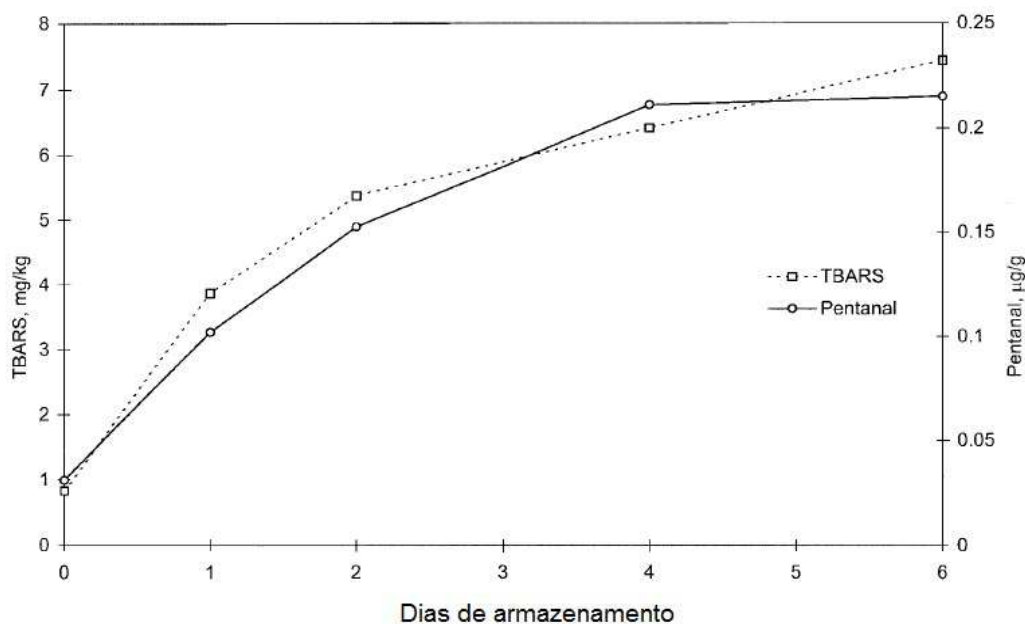
*Terminação:* A terminação da oxidação ocorre com a estabilização de radicais, com combinação de um radical peroxil ( $LOO^{\bullet}$ ), com um radical alquil ( $L^{\bullet}$ ) por exemplo, resultando na formação de um dímero ( $LOOL$ ) estável.

De maneira geral, diversos são os produtos de oxidação que podem ser estudados para compreensão de como ocorre a oxidação ou em que fase ela encontra-se, e entre eles estão determinação de peróxidos e malonaldeído (ADDIS, 1986), este último detectado pelo teste conhecido como 'espécies reativas ao ácido tio-barbitúrico' ou TBARS (ROSS; SMITH, 2006). O teste de TBARS é comumente empregado para verificação da extensão da oxidação lipídica, e baseia-se na obtenção de um cromóforo vermelho, produto da reação de ácido tiobarbitúrico e MDA (ESTÉVEZ; MORCUENDE; VENTANAS, 2008). Os principais produtos primários de oxidação lipídica são os hidroperóxidos, bem como compostos com insaturações conjugadas, que são instáveis e decompõem-se para produtos secundários de oxidação, tais como alcanos, alcenos, aldeídos, cetonas, entre outros (ROSS; SMITH, 2006). Os estágios da oxidação lipídica são caracterizados com formação de produtos primários como peróxidos e formação de compostos com ligações dupla conjugada (dienos, trienos), e os produtos de oxidação secundários são detectados em testes como TBARS e detecção de compostos voláteis (LAGUERRE; LECOMTE; VILLENEUVE, 2007).

Em particular, hexanal e pentanal por estarem diretamente relacionados como sendo produtos de oxidação de ácidos graxos insaturados do tipo ômega-6 (n-6) (ROMEU-NADAL; CASTELLOTE & LÓPEZ-SABATER, 2004), começam à ser usados como marcadores de oxidação lipídica de produtos que contenham estes ácidos graxos, pela sua alta correlação com o teste de TBARS, que é comumente empregado como o teste verificador de estado oxidativo de carne (BRUNTON *et al*, 2000) como verificado na Figura 3 e 4.



**Figura 3.** Relação entre TBARS e hexanal. Fonte: BRUNTON *et al*, 2000.



**Figura 4.** Relação entre TBARS e pentanal. Fonte: BRUNTON *et al*, 2000.

A escolha pela carne suína foi importante para posterior verificação do efeito da aplicação da AE em virtude da sua composição (%), por apresentar boa quantidade de ácidos graxos mono-insaturados (46%) e poli-insaturados (11%), maiores do que na carne bovina (43% e 5,9% respectivamente) e ovina (40% e 4% respectivamente), bem como menores teores de ácidos graxos saturados (40% para

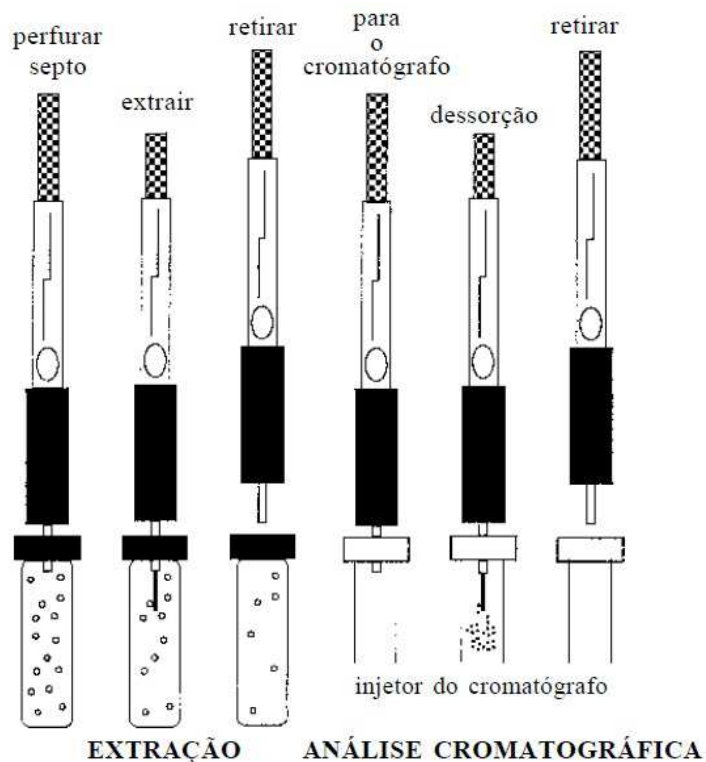


suínos, 46% para bovinos e 51% para ovinos) (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013). Uma vez que isto é importante para melhor verificação da possível atividade da AE frente à oxidação lipídica. Este fator poderia ser dificultado acaso houvesse números altos de ácidos graxos saturados e baixos de mono e poli-insaturados, uma vez que a oxidação inicia-se principalmente em ligações duplas na molécula de ácido graxo (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010a).

#### 2.4.1.1 Microextração em fase sólida (SPME) em voláteis provenientes da oxidação

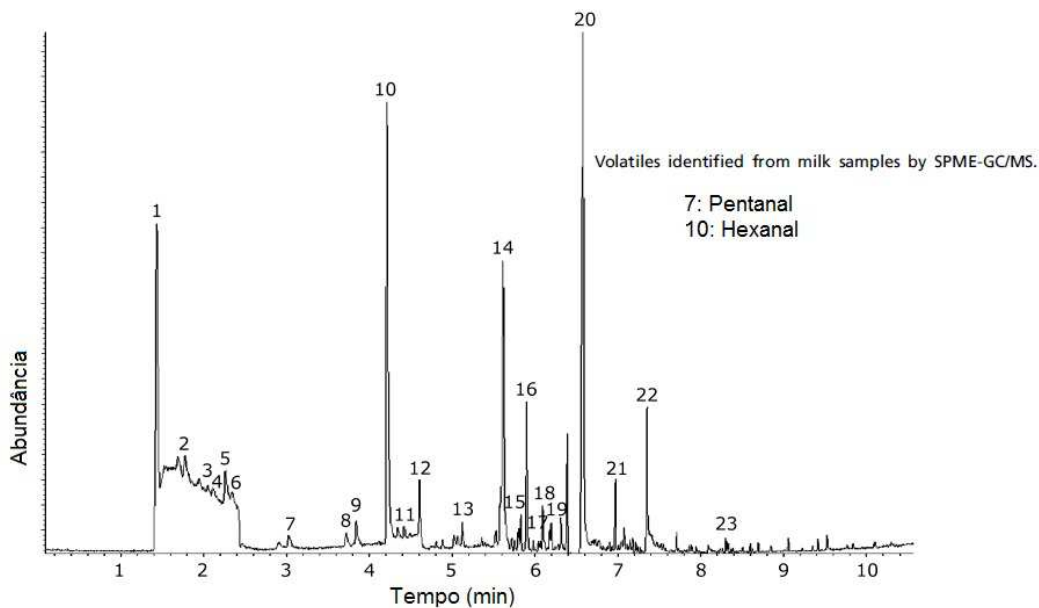
A técnica 'microextração em fase sólida' (SPME) é comumente usada para determinação de produtos voláteis provindos de oxidação lipídica e em vários tipos de produtos, tal como hexanal e pentano em comidas líquidas infantis (GARCÍA-LLATAS *et al*, 2006), hexanal em leite humano (ELISIA & KITTS, 2011), hexanal em carne suína (FERNANDO; BERG; GRÜN, 2003), hexanal em manteiga (PANSERI *et al*, 2011).

Basicamente a SPME é uma técnica que baseia-se na concentração de analitos situados no *headspace* da unidade de extração que contém a amostra, conhecida como *vial*. O aparato de SPME é uma fibra que adsorve as substâncias à serem analisadas, as quais logo após serão dessorvidas em um equipamento de cromatografia à gás (GC). Conforme Figura 5, a técnica de SPME é demonstrada em esquema de passo a passo (VALENTE & AUGUSTO, 2000).



**Figura 5.** SPME em etapas de extração e análise cromatográfica propriamente dita em cromatógrafo à gás. Fonte: VALENTE & AUGUSTO, 2000.

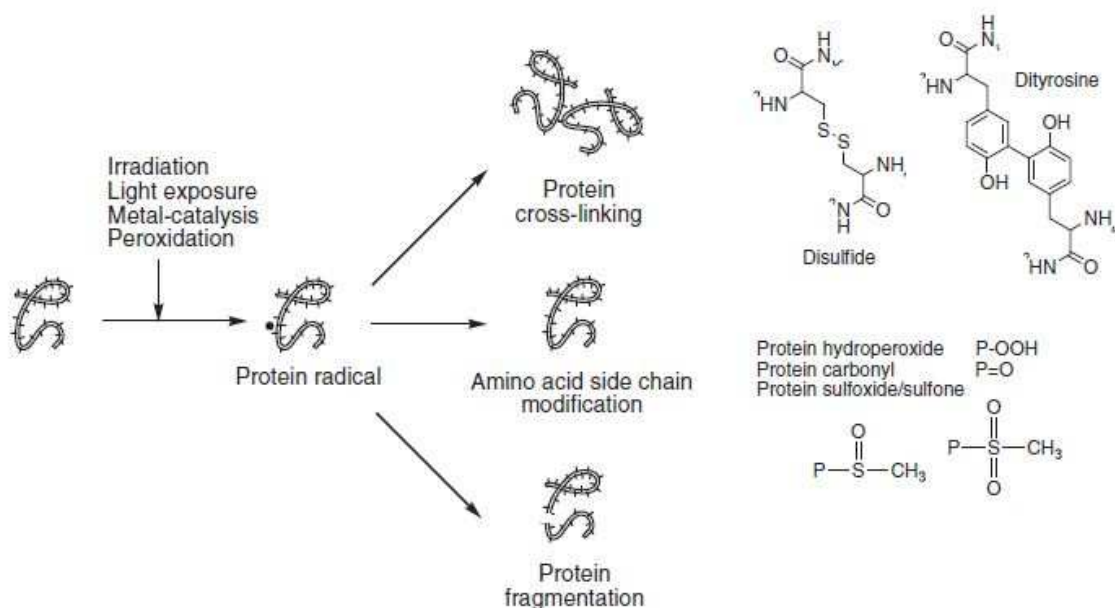
Na Figura 5 há demonstração de duas etapas: a *extração* que consiste basicamente na concentração dos analitos presentes no *headspace* do *vial* que contém a amostra, e a *análise cromatográfica* que é a inserção da fibra de SPME em aparelho de GC para obtenção do espectro de voláteis que podem ser identificados como provindos da oxidação lipídica, tal como o hexanal, em cromatogramas como na Figura 6.



**Figura 6.** Cromatograma obtido de leite humano por SPME-GC/MS. Adaptado de: ELISIA & KITTS, 2011.

#### 2.4.2 Oxidações de proteínas

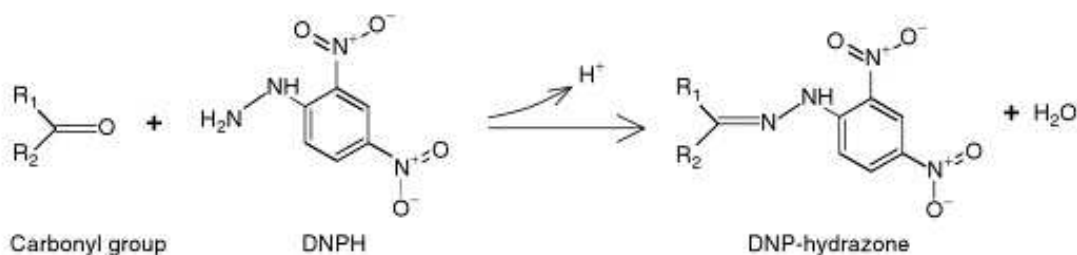
As proteínas apresentam susceptibilidade à oxidação de resíduos de aminoácidos como a metionina, cisteína, cistina, triptofano, histidina e tirosina, e ainda podem sofrer polimerização. Os resíduos oxidados apresentam novas características não favoráveis, tanto ao alimento, quanto ao consumidor, como menor capacidade de utilização de aminoácidos pelo organismo, ou seja, decréscimo de qualidade nutricional. Há ainda outros problemas acarretados na oxidação de proteína, como produção de substâncias tóxicas, inclusive carcinogênicas, bem como ligações cruzadas em proteínas como o colágeno (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010b). Oxidação proteica pode causar mudanças nos esqueletos das proteínas, bem como em aminoácidos livres, o que leva à mudanças nos níveis primários, secundários e terciários da mesma, podendo haver alteração no produto (ZHANG; XIAO; AHN, 2013).



**Figura 7.** Consequências da oxidação proteica. FONTE: LUND *et al*, 2011.

Conforme Figura 7, a formação do radical proteico pode acarretar uma série de alterações no meio, à partir de certas consequências como interligação entre proteínas, fragmentação, modificação nas cadeias de aminoácidos (LUND *et al*, 2011). Na prática, a oxidação leva à diminuição da solubilidade da proteína, alterando o valor nutricional do alimento, habilidade de formação de gel, capacidade de retenção de água e maciez (ZHANG; XIAO; AHN, 2013). O *drip loss*, que é o gotejamento da carne, foi maior no grupo de amostras que apresentavam estágio mais avançado de oxidação proteica, conforme relatado por TRAORE *et al* (2012).

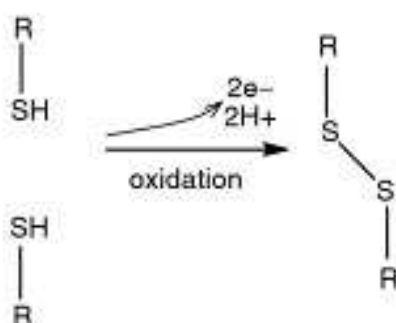
Dentre os testes que podem avaliar o grau de oxidação de proteínas, podemos citar a quantificação de grupamentos carbonil (Figura 8) e grupamentos tiol (Figura 9).



**Figura 8.** Reação do grupamento carbonil com dinitrofenilhidrazina (DNPH), e formação do cromóforo hidrazona que absorve no comprimento de onda 370 nm. FONTE: ESTÉVEZ; MORCUENDE; VENTANAS, 2008.

Na literatura constam alguns possíveis mecanismos para a carbonilação de proteínas, e dentre eles pode-se citar oxidação direta de aminoácidos, mediada por metal e por produtos provindos da oxidação lipídica (ESTÉVEZ, 2011). Logo, a relação entre oxidação proteica e valores de carbonil é diretamente proporcional.

O grupamento tiol possui uma relação indiretamente proporcional à oxidação, ou seja, quanto menor o valor de tiol, maior o indício de que a oxidação proteica já aconteceu e está acontecendo, como podemos ver na Figura 9, que mostra o grupamento intacto e seu derivado provindo da união de dois grupamentos SH (formação de pontes dissulfeto).



**Figura 9.** Perda do grupo tiol (SH). Adaptado de: ESTÉVEZ; MORCUENDE; VENTANAS, 2008.

## 2.5 MICRORGANISMOS ENVOLVIDOS NA CONTAMINAÇÃO DE CARNE

Alimentos em geral estão constantemente sendo alvo de contaminação microbiológica, provindas das mais diferentes fontes. Dentre elas pode-se citar a água que é usada no preparo do alimento ou para sua lavagem, suspeita por causar 80% das infecções ao redor do mundo, o ambiente de preparo, como a indústria, o preparo em si do alimento, entre outros (STANGA, 2010). FORSYTHE (2013) cita que os fatores que contribuem para a contaminação dos alimentos em percentagem (%) podem ser: manipuladores (12%), limpeza inadequada dos equipamentos (7%), contaminação cruzada (11%), dentre outros. Neste contexto, a inclusão de AE em ambientes de preparo de alimentos é uma tecnologia que necessita ter seu potencial explorado referente às suas possíveis aplicações.

Os grupos de microrganismos podem ser divididos de maneira geral em dois tipos: os benéficos e os patológicos. Os benéficos são os microrganismos utilizados com algum fim de produção de produto, como por exemplo os microrganismos envolvidos na elaboração do salame ou iogurte. Os patológicos podem ser *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Aspergillus niger*, *Cryptosporidia*, dentre tantos outros (FORSYTHE, 2013 e STANGA, 2010). Ao pensarmos em carne e derivados, nossa preocupação recai sobre *Salmonella*, coliformes, *Staphylococcus*, *Listeria*, *Campylobacter*, entre outros (STANGA, 2010).

Há ainda outras estratégias de classificação de microrganismos, como a temperatura ideal de crescimento do microrganismo, e desta maneira há dentre os tipos de microrganismos, os psicrótrópicos e os mesófilos.

Os microrganismos psicrótrópicos crescem em uma faixa de temperatura ótima em torno de 12°C, podendo crescer em temperaturas menores (FORSYTHE, 2013), representando a durabilidade do alimento em ambiente de refrigeração.

Os mesófilos tem uma temperatura ideal de crescimento na faixa de 30-45°C (FORSYTHE, 2013), e podem dar uma ideia de como o alimento se comportaria caso ficasse exposto em temperaturas maiores que as de refrigeração.

Vários são os fatores que podem intervir no crescimento bacteriano, dentre eles estão o pH do alimento e o potencial de óxido redução.

### 2.5.1 Potencial hidrogeniônico (pH), potencial de óxi-redução (POR) e microrganismos

O pH do alimento interfere no crescimento do microrganismo, e há uma faixa que é conhecida como “faixa ótima de pH de crescimento”. Dentre os mais variados microrganismos, tais como bactérias e fungos, o pH é fator importante no crescimento. Vale lembrar que esta é uma propriedade variável entre alimentos, e inclusive dentro do próprio alimento, uma vez que o pH da carne varia durante seu tempo de prateleira, e neste meio tempo as modificações promovidas pelas bactérias e fungos alterarão as características da carne, facilitando o crescimento de alguns microrganismos em detrimento de outras (FORSYTHE, 2013). A Tabela 2 ilustra algumas “faixas ótimas de pH” de crescimento de algumas bactérias.

**Tabela 2.** Faixas ótimas de pH para crescimento de algumas bactérias. Adaptado de: FORSYTHE (2013).

<b>Microrganismo</b>	<b>Faixa ótima de pH de crescimento</b>
<i>L. monocytogenes</i>	4,4-9,4
<i>Salmonella spp.</i>	3,7-9,5
<i>E. coli</i>	4,0-9,0
<i>Campylobacter jejuni</i>	4,9-9,5
<i>B. cereus</i>	4,3-9,3
<i>Staphylococcus aureus</i>	4-10

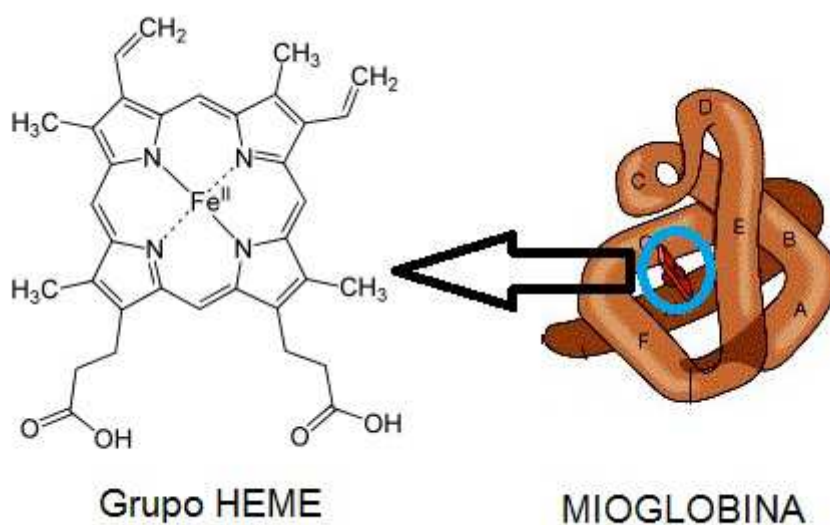
A carne vermelha possui faixa de pH entre 5,4 e 6,2 e esta recai na faixa de crescimento de muitos microrganismos, reforçando a necessidade de controle sobre estes (FORSYTHE, 2013).

## 2.6 COR DA CARNE

A cor é um parâmetro que direta ou indiretamente interfere sobre a decisão de consumo de um alimento.

Para entender como funciona a cor de um corte cárneo, é preciso lembrar que a carne é um músculo que passou por um processo de maturação e por mudanças de ordem bioquímicas e metabólicas, no entanto continua à conter os mesmos pigmentos *ante mortem* do animal. A mioglobina (Mb) é o principal pigmento contido na carne, visto que após o abate do animal, e com a sangria feita de maneira correta, a maioria da hemoglobina (Hb), que é o pigmento predominante de células sanguíneas, é removida. No músculo do animal vivo, a Hb constitui 5-30% do pigmento total do tecido, podendo variar entre os diversos músculos (RAMOS & GOMIDE, 2007).

A Mb é uma proteína com peso molecular em torno de 17.000 Dáltons, constituída por duas partes: o grupo heme, com estrutura tetrapirrólica cíclica, denominada anel de porfirina e a globina (RAMOS & GOMIDE, 2007), esquematizados na figura 10.



**Figura 10.** Grupo HEME e representação da Mioglobina.

Basicamente, a Mb está contida nos músculos como reservatório e agente de transporte de oxigênio, e esta oximioglobina ( $O_2Mb$ ) possui a cor vermelho-brilhante altamente desejada em carne. No entanto é a proporção e distribuição entre três formas de Mb que resultam na cor da carne: a  $O_2Mb$ ; a deoximioglobina ( $Mb^+$ ) com cor vermelho-púrpura e a metamioglobina (MMb) com cor marrom (RAMOS & GOMIDE, 2007). O resultado da soma de cor das diferentes formas da Mb é que resulta na tonalidade final da carne.



Quando a Mb está situada no interior da carne, ela encontra-se na forma de Mb<sup>+</sup>, e quando a carne é cortada e este pigmento é exposto ao ar, ele se oxigena e converte-se em O<sub>2</sub>Mb. Quando este pigmento é privado de oxigênio, como em cortes embalados à vácuo, converte-se em Mb<sup>+</sup>, passível de conversão novamente à O<sub>2</sub>Mb pela simples oxigenação. Resumindo os responsáveis pela cor da carne são: estrutura física (capacidade de absorver ou dispersar luz incidente), concentração de pigmentos e seus estados químicos (RAMOS & GOMIDE, 2007).

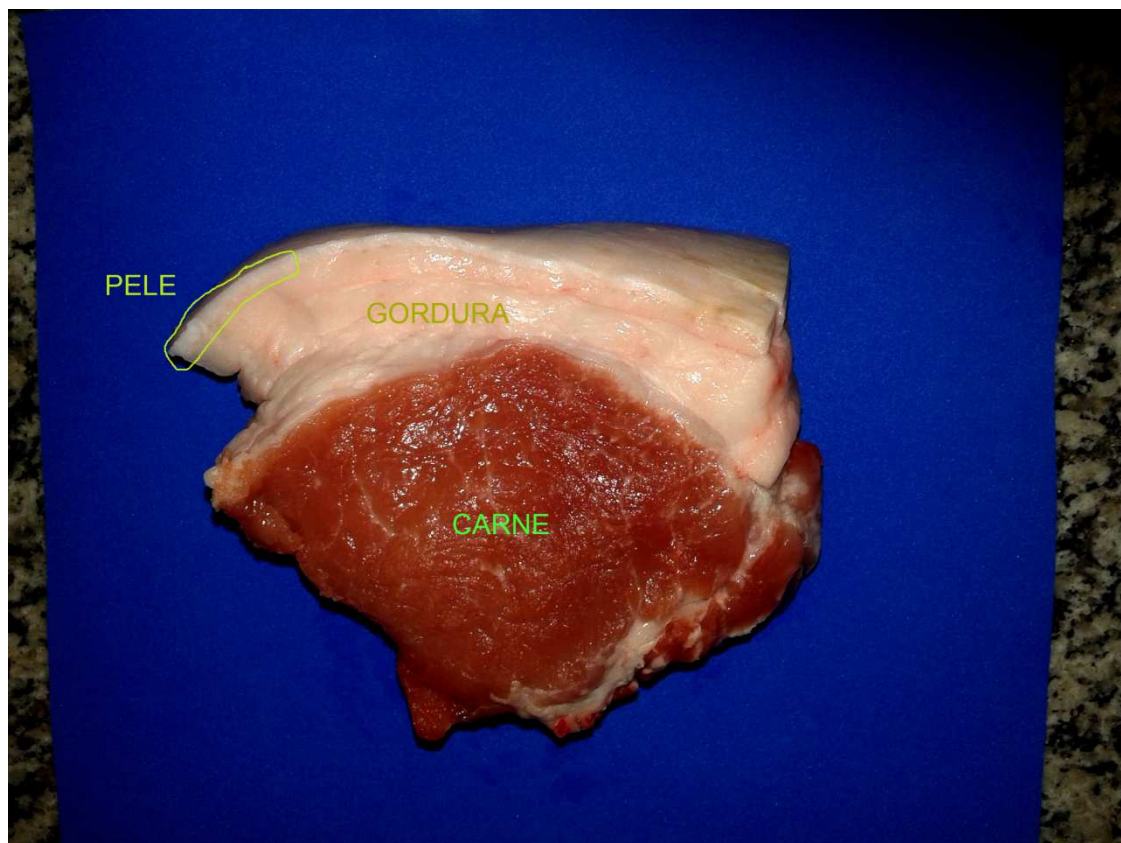
A qualidade oxidativa das carnes também é um ponto muito importante, porque assim como as bactérias deteriorantes e patogênicas, a formação de produtos provenientes de oxidação, tanto lipídica quanto proteica podem alterar a carne sensorialmente, além de interferir na cor e aroma e trazer malefícios à saúde do consumidor. A aplicação de spray de água pode ser um método simples e eficiente na descontaminação de carnes, aliado a isso, a AE surge como uma alternativa para potencializar este efeito. Na literatura existem grande número de trabalhos que relatam eficiência de AE em microrganismos, no entanto muito pouco se fala sobre o seu possível efeito em qualidade oxidativa de carnes.

### **3.MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 OBTENÇÃO DE AMOSTRAS**

As amostras foram obtidas em frigorífico local (Santa Maria-RS) e constituíram-se de lombos suínos inteiros (aproximadamente 5 Kg) com pele provenientes de porcos de 100-130 Kg, com 5 meses de idade e linhagem comercial (Large White e Langrace) retirados da linha de produção ainda quentes (37°C) em etapa anterior à entrada na câmara de resfriamento após pré-lavagem com água. Cada experimento foi efetuado em dias diferentes e conseqüentemente com lombos suínos de animais diferentes, Após coletados, foram imediatamente armazenados em embalagens térmicas, para transporte ao laboratório.

No laboratório o lombo suíno foi cortado em unidades de  $250 \pm 50$  g, como mostrado na figura 11, sendo as unidades experimentais (considerado ter 3 partes: pele, gordura e carne). De forma aleatória, estes pedaços que tinham em média 33°C no momento da aplicação do spray, foram distribuídos em seus respectivos tratamentos. O spray foi aplicado no dia de coleta da amostra (dia zero), enquanto que as análises foram feitas no dia seguinte (dia 1), e depois nos dias 15 e 29 de armazenamento.



**Figura 11.** Amostras utilizadas nos experimentos.

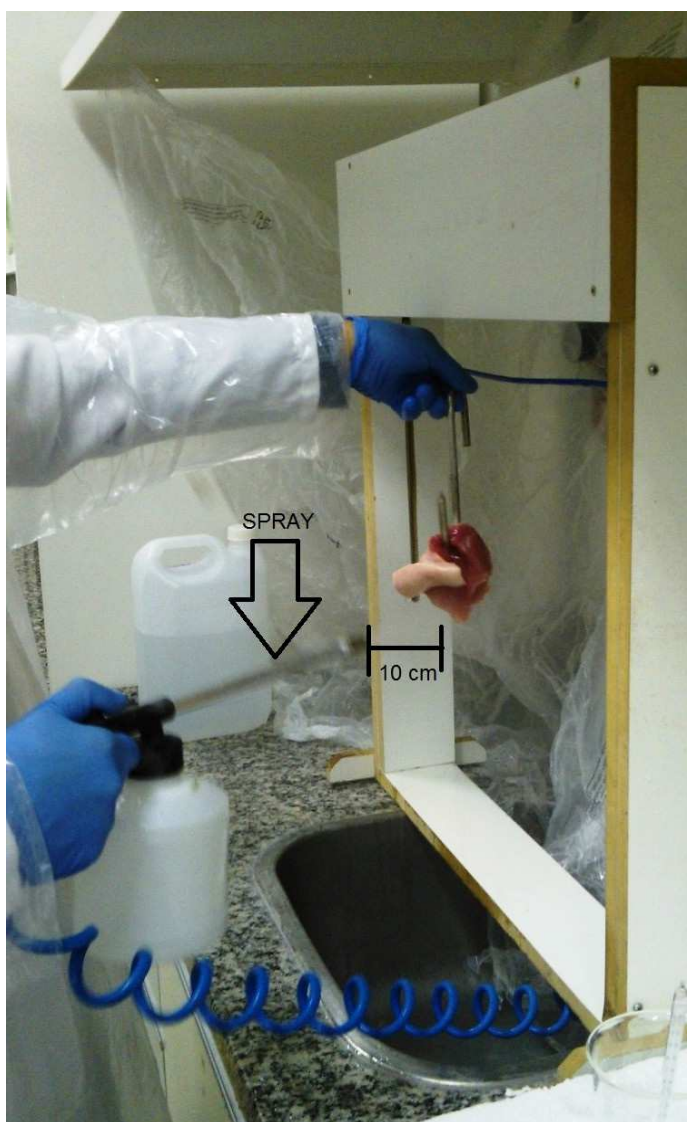
### **3.2 PREPARO DA ÁGUA ELETROLISADA, ANÁLISE DE CLORO LIVRE, pH, POR E APLICAÇÃO NA CARNE**

A água eletrolisada foi preparada à partir de uma salmoura de cloreto de sódio (SIGMA-ALDRICH) à 0,05 % m/v em água deionizada (PERMUTION). O equipamento utilizado foi DEMO-30 (ENVIROLYTE Estônia) sendo a eletrólise feita à 20°C para posterior aplicação em experimentos com 18°C. Quando os experimentos tiveram AE aplicada com 30°C, a eletrólise foi feita com 30°C. A corrente elétrica utilizada na eletrólise à 20°C foi 3 Amperes e quando a eletrólise foi à 30°C de temperatura de água, a corrente elétrica foi 4 Amperes. A amperagem desenvolvida no equipamento, bem como temperatura da salmoura e frequência das limpezas do equipamento determinaram a quantidade de cloro livre presente nos diferentes tipos de AE produzidas.

Para determinação de cloro livre nas AE, utilizou-se a metodologia de iodometria por potenciometria a qual baseia-se no método oficial SMEWW (1999)

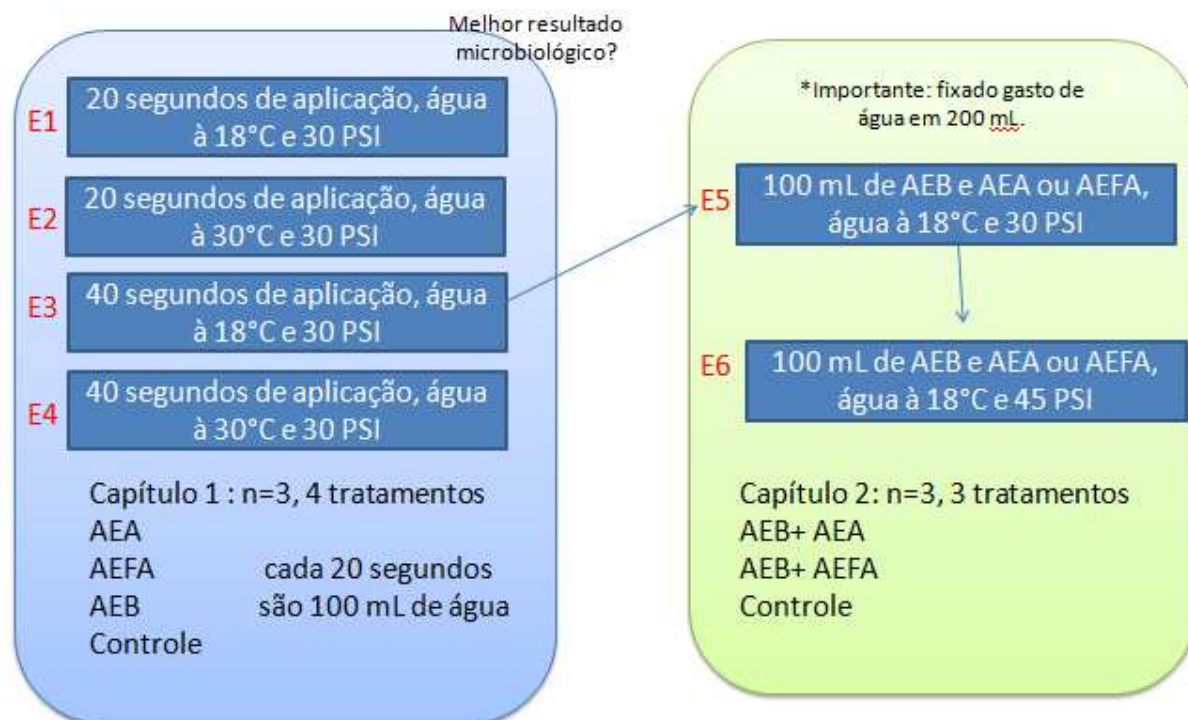
com iodeto de potássio (KI) reagindo em meio ácido (pH 4) e os resultados foram expressos em mg/L de  $\text{Cl}_2$ . A determinação de pH e POR da água eletrolisada foram obtidos por leitura direta da amostra com eletrodo de pH (DIGIMED® DME-CV1 BRASIL) e platina (DIGIMED DMR-CP1 BRASIL) respectivamente, utilizando aparelho DIGIMED® DM23-DC.

A aplicação da água eletrolisada na amostra baseou-se no método de *spray*, conforme figura 12.



**Figura 12.** Método de aplicação de spray e suas características na aplicação.

O fluxograma 1 indica como foram planejados os experimentos e a lógica de separação dos dois capítulos da dissertação.



**Fluxograma 1.** Fluxograma do capítulo 1 (retângulo esquerdo) e 2 (retângulo direito). E1, E2, E3, E4: são os experimentos realizados (nomes à esquerda das características).

O capítulo 1 teve 4 experimentos, em que foram variados a quantidade de AE aplicada, sendo que 100 mL de AE eram aspergidos à cada 20 segundos quando a pressão era 30 psi. O E1 e E2 utilizaram 100 mL de AE (AEA, AEFA, AEB de maneira individual). O E3 e E4 utilizaram 200 mL de AE (AEA, AEFA, AEB de maneira individual). O controle passou pelos mesmos processo dos tratamentos com AE, no entanto neste não foi aplicado nenhum tipo de água. Porém, os processos de suspensão em gancho, tempo de exposição ao ar (simulando gotejamento do excesso de água) foram efetuados para que estes recebessem os mesmo procedimentos dos pedaços tratados com AE, mas sem aplicação de água.

Com as características do experimento do capítulo 1 que teve as maiores reduções em bactérias, o capítulo 2 utilizou quantidade de AE aspergida, no entanto de forma alternada AEB e AEA ou AEFA (100 mL de AEB e 100 mL de AEA ou AEFA), com variação na pressão (30 e 45 psi)

### 3.3 MICROBIOLOGIA

O método de obtenção de amostra para microbiologia baseou-se em misturar uma alíquota de 20 g da carne em 180 mL de água peptonada (Meat peptone HIMEDIA) 0,1%, com posterior agitação em aparelho do tipo Stomacher (BOITTON MK1204) durante 2 minutos. Foram feitas as diluições em tubos e posterior plaqueamento conforme tipo de microrganismo. Para bactérias mesófilas, a metodologia seguiu BRASIL (2003), utilizando meio ágar plate count (HIMEDIA), com semeadura em profundidade, e incubação das placas à 36°C por 48 horas. A metodologia utilizada para bactérias psicrófilas baseou-se em BRASIL (1992) através de semeadura em superfície em meio ágar plate count (HIMEDIA), incubação das placas à 7°C por 7 dias. Para *enterobacteriaceae* a metodologia utilizada foi BRASIL (2003) e baseou-se na inoculação em profundidade da amostra no meio ágar bile vermelho-violeta com glicose (ACUMEDIA) com posterior sobrecamada do meio ágar-ágar (HIMEDIA), e incubação das placas à 36°C por 24 horas. Bactérias lácticas foram analisadas conforme APHA (2007) com semeadura em profundidade e posterior aplicação de sobrecamada de ágar-ágar, com incubação à 36°C por 48 horas.

Para microrganismos *Staphylococcus sp.*, a coleta de amostra baseou-se em técnica de *swab* de 10 cm<sup>2</sup> da pele da amostra. A metodologia empregada foi de BRASIL (2003) e baseou-se em semeadura em superfície em meio Baird-Parker (FLUKA®) enriquecido com gema de ovo contendo telurito (LABORCLIN) com incubação das placas à 36°C por 48 horas. Os resultados de *Staphylococcus sp.* foram expressos em log<sub>10</sub> UFC/cm<sup>2</sup> e os demais em log<sub>10</sub> UFC/g de amostra.

### **3.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS**

#### **3.4.1 Oxidações de lipídios**

A metodologia de BLIGH & DYER (1959), foi utilizada para extração de lipídios, e baseou-se em pesar 2,5 g de carne e 2,5 g de gordura de amostra em balança analítica em tubo do tipo Falcon, misturar 4 mL de água destilada e 16 mL

de metanol (SIGMA-ALDRICH) com posterior homogeneização durante 30 segundos em Turrax (TURRATEC TE102-TECNAL) na velocidade 6. Após trituradas, foi adicionado 8 mL de clorofórmio (SIGMA-ALDRICH) e as amostras foram levadas para mesa agitadora (BANHO METABÓLICO DUBNOFF) para agitação por 30 minutos numa velocidade de 250 RPM (rotações por minuto). Feito a agitação, adicionou-se mais 8 mL de clorofórmio e 8 mL de solução de sulfato de sódio anidro (IMPEX) à 1,5% em água destilada, e agitou-se manualmente por mais 2 minutos. As amostras foram centrifugadas (MTDIIIPLUS) por 2 minutos à 1000 RPM. A fase inferior e orgânica foi passada para tubos de ensaio contendo em torno de 1 grama de sulfato de sódio anidro, agitadas e posteriormente filtradas para outro tubo de ensaio. Passou-se 5 mL deste filtrado para béquer previamente seco e tarado, e posteriormente levou-se em estufa à 105°C por 2 horas até evaporar o solvente. Pós-estufa, as amostras foram resfriadas em dessecador e pesadas. Por diferença de peso, calculou-se a quantidade de gordura da amostra. Com o restante de fase orgânica que sobrou da extração, foi evaporado o solvente em bomba à vácuo (SCRUBBER TE 152- TECNAL) e com os lipídios restantes, foram feitos os teste de dienos conjugados e peróxidos.

Os dienos conjugados foram mensurados conforme metodologia proposta por RECKNAGEL & GLENDE (1984), com adaptações (SEMB, 2012) pipetando-se 70 µL de fase clorofórmica (obtida na técnica de extração de gordura citada anteriormente) em tubo de ensaio, em seguida adicionou-se 3 mL de ciclohexano (SIGMA-ALDRICH), com dienos conjugados sendo obtidos em leitura em espectrofotômetro (AGILENT 8453) à 234 nm e trienos conjugados à 266 nm, corrigindo o valor de absorbância para uma base de 1 mg de lipídios por mL de ciclohexano.

Os peróxidos seguiram método proposto por SHANTA & DECKER (1994) e o teste consistiu em pesar 50 mg em média de gordura previamente seca, e adicionar 9,8 mL de uma solução de clorofórmio/metanol (SIGMA-ALDRICH) 7/3 v/v, seguido de 50 µL de tiocianato de amônio 30% (SIGMA-ALDRICH) e 50 µL de cloreto ferroso. A leitura das amostras foi feita em espectrofotômetro com absorbância em 500 nm. O resultado foi calculado com base em curva padrão previamente desenvolvida, e o cálculo segue conforme abaixo:



$$\text{Peróxidos} = \frac{(A_a - A_b) \times m}{55,84 \times m_0 \times 2} \quad \text{onde } A_a = \text{Absorbância da}$$

mostra,  $A_b$  = Absorbância do branco,  $m$  = 1/coeficiente angular da curva de calibração,  $m_0$  = massa de gordura pesada, e o resultado será em miliequivalente de peróxidos/ g de lipídio.

O método empregado para o teste de TBARS foi proposto por RAHARJO; SOFOS; SCHMIDT (1992) e consistiu em pesar 5 g de carne e 5 g de gordura, adicionar butilhidroxitoluol (SYNTH) 0,15% m/v em álcool etílico (SIGMA-ALDRICH), solução de ácido tricloroacético (TCA) (SIGMA-ALDRICH) à 5% m/v em água destilada, triturou-se em mixer (PHILLIPS WALITA), transferiu-se para balão volumétrico após filtração, e aferiu-se balão volumétrico com TCA 5%, pipetando na sequência 2 mL do conteúdo do balão à um tubo de ensaio, sendo adicionado na sequência 2 mL de uma solução de ácido tiobarbitúrico (MERCK) e posterior incubação em banho-maria à 95°C por 5 minutos, resfriados e lidos em espectrofotômetro à 531 nm. Aqui há a necessidade de curva padrão com tetraetóxiopropano (SIGMA-ALDRICH), para extração de valor F, que neste trabalho foi de 11,51, valor este que deve ser usado na equação para o cálculo de MDA/ kg de amostra, expresso conforme abaixo:

$$\text{TBARS} = \frac{\text{Abs} \times F \times \text{Peso de amostra}}{10}$$

Os compostos voláteis foram dessorvidos do *headspace* do vial contendo 5g de carne, utilizando a técnica de microextração em fase sólida (HS-SPME). A fibra de SPME de revestimento Carboxen/polidimetilsiloxano (Car/PDMS) (75 µm × 10 mm, SUPELCO) foi utilizada na extração. A fibra foi previamente condicionada seguindo o protocolo sugerido pelo fabricante. Os frascos contendo as amostras foram submetidas à extração por 45 min, em banho-maria a 40°C. Antes da extração, cada frasco contendo as amostras foi submetido a um tempo de pré-equilíbrio na mesma temperatura de extração, sem exposição da fibra por 15 min. Após o término da extração, a fibra foi removida e inserida no injetor do cromatógrafo para dessorção térmica dos analitos.

Após a extração, o hexanal foi avaliado por um cromatógrafo de fase gasosa VARIAN STAR 3400CX equipado com um detector de ionização de chama (GC-FID). A fibra foi dessorvida termicamente na porta de injeção a uma temperatura de 250 °C durante 10 min, em um modo de *splitless* durante 2 min. Os compostos



foram separados numa coluna capilar polar de sílica fundida ZB-WAX Plus (60 m × 0.25 mm × 0.25 µm). O hidrogênio foi utilizado como gás de arraste a uma pressão constante (30 psi). A temperatura inicial da coluna foi ajustada para 35 °C e mantida durante 3 min. Em seguida, um gradiente de temperatura foi iniciado subindo a 2 °C min<sup>-1</sup> até 80 °C, seguido por um aumento a 5 °C min<sup>-1</sup> até 230 °C, e mantida em condições isotérmicas durante 5 min. A temperatura do detector foi mantida a 230 °C. Uma série de n-alcanos homólogos foram analisados sob as mesmas condições cromatográficas para calcular o índice de retenção linear (IRL). Na corrida cromatográfica foi indentificado e monitorado o hexanal através da área do pico cromatográfico.

#### 3.4.2 Oxidações de proteínas

Para quantificação de proteína, a técnica utilizada foi a proposta por LOWRY *et al.* (1951) aonde uma curva padrão com albumina bovina é montada e mensurada em espectrofotômetro à 280 nm, e o valor de absorvância convertido em concentração proteica.

O método usado para quantificação do grupamento tiol proteico foi segundo ELLMAN (1959), onde pesou-se 1 g de carne sem gordura, sendo posterior homegeneização em Turrax por 30 segundos, e banho-maria por 30 min à 80°C. Após, as amostras foram centrifugadas em centrífuga refrigerada (HITACHI CR22GIII) à 3000 RPM por 20 minutos à 4°C, filtradas e diluídas com tampão TRIS (NEON) e TRIS-SDS, adicionando-se ácido ditionitrobenzóico (DTNB) (SIGMA) que reage com grupamentos tiol provenientes de proteína da carne previamente extraída, sendo o cromóforo lido em espectrofotômetro. Em outro tubo o filtrado é diluído 50 vezes para ser quantificada a proteína com leitura em espectrofotômetro à 280 nm. Para cálculo, uma curva padrão previamente preparada com aumento gradativo em concentrações do aminoácido cisteína (VETEC) em reação com DTNB foi utilizada. Posteriormente à quantificação de proteína presente no filtrado, utilizando-se a absorvância obtida dos tubos de DTNB é possível saber quanto de cisteína há no meio, e conseqüentemente o quanto de tiol reagiu.

A técnica utilizada para quantificação de carbonil proteico foi a de LEVINE *et al* (1990) onde 1g de carne sem gordura foi pesada, adicionado 10 mL de tampão fosfato pH 6,9 e triturada em Turrax por 30 seg, posteriormente, 500 µL foram pipetados em tubos de ensaio, onde em uma parte adicionou-se HCl 2 molar e em outro reagiu-se com dinitrofenilhidrazina (DNPH). Após precipitação com TCA 10%, as amostras foram centrifugas à 3500 RPM por 5 min, e o pellet formado lavado 3 vezes com etanol-acetato de etila (1:1) e ressuspendido em lauril sulfato de sódio (VETEC®), filtrados e incubados à 37°C por 10 min e lidos em espectrofotômetro à 370 nm. Para quantificação de grupamento carbonil, o cálculo foi efetuado conforme abaixo:

$$\text{Carbonil} = \frac{(Aa - Ab)}{0,022 \times \text{proteína}}$$

onde Aa é a absorvância do tubo com DNPH e Ab é a absorvância do tubo branco (tubo em que adicionou-se HCl 2M), 0,022 é o coeficiente de absorvância molar do composto formado entre DNPH e o grupamento carbonil, e proteína é o tubo branco lido à 280 nm convertido em unidade de concentração.

Após descontar o tubo com DNPH menos tubo branco, é possível saber quanto do composto de reação formou-se, sendo depois esta quantidade relacionada à quantidade de proteína contida no pellet.

#### 3.4.3 pH e POR da carne

O pH da carne foi avaliado conforme metodologia proposta por IAL (2008), com metodologia de determinação por eletrodo de pH (pHmetro DIGIMED DM-23-DC) após pesagem de 5 g de carne coletada da superfície, homogeneizadas com 50 mL de água destilada. O POR foi lido da mesma maneira do pH, no entanto com eletrodo de platina (pHmetro DIGIMED DM-23-DC).

#### 3.4.4 Análise de cor

A mensuração da cor foi feita com leitura direta em cinco pontos diferentes no pedaço de carne através de colorímetro Minolta (CM-700d KONICA MINOLTA®) utilizando os parâmetros L, a\* e b\*, com iluminante A, componente especular incluso e ângulo do observador em 10°. Como os pedaços estavam embalados à vácuo, foi efetuada a condução de exposição ao ar atmosférico e temperatura ambiente (20-25 °C) por 30 minutos antes da medida de análise instrumental da cor.

### **3.5 VIDA DE PRATELEIRA DAS AMOSTRAS DE CARNE SUBMETIDAS À DIFERENTES TIPOS DE AE**

As amostras foram armazenadas em embalagens à vácuo. Para os experimentos 1, 2, 3, e 4 a embalagem utilizada no armazenamento foi a de 30 micras e nylon com polietileno de baixa densidade, sendo a taxa de permeabilidade ao oxigênio menor que 30. Para os experimentos 5, 6 e 7, as embalagens utilizadas foram de 24 micras, nylon com polietileno de baixa densidade e taxa de permeabilidade ao oxigênio menor que 30. As amostras foram mantidas em temperatura de refrigeração à  $4 \pm 1$  °C durante 29 dias.

### **3.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS**

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com posterior aplicação do teste de Duncan à 5% de significância para diferenças de médias, através de software Estatística 8.0 (STATSOFT). Os gráficos foram confeccionados utilizando-se o software PRISM (GRAPHPAD) e as tabelas em Excel (Microsoft).

## 4. CAPÍTULO 1

### 4.1 DESCRIÇÃO E OBJETIVOS

Um dos objetivos deste trabalho foi aplicar os diferentes tipos de AE na forma de spray no músculo ainda quente, simulando o ambiente de abate, visando avaliar a qualidade microbiológica, e as condições oxidativas e de cor da mesma entre os tratamentos e no decorrer do tempo de armazenamento, mas sempre levando-se em conta a utilização da menor quantidade de água possível.

O capítulo 1 como descrito anteriormente baseou-se em 4 experimentos (E1, E2, E3 e E4, fluxograma 1) em que duas variáveis foram versadas, sendo elas: temperatura da AE aplicada e tempo de aplicação do spray, sendo que nesta última estava implícito a quantidade de água aplicada, pois não alterou-se a pressão de ar (30 psi). O volume de água em 20 segundos de aplicação foi de 100 mL, e em 40 segundos, o volume de água foi 200 mL. Nesses experimentos a aplicação dos diferentes tipos de AE foi realizada individualmente, isto é, AEA, AEFA e AEB, e um grupo controle sem aplicação de nenhum tipo de água. É importante ressaltar que comumente usa-se a relação de mais ou menos 1-1,5 litros de água por Kg de carcaça, ou seja, 1 até 2 partes de água para cada parte de carcaça, e neste sentido, a quantidade de água escolhida corresponde à 400-800 mL de água por Kg de carcaça, ou seja, aplicou-se o conceito de redução de recursos naturais em torno de 50%, com cerca de 0,4 à 0,8 partes de água para cada peça de carne que recebeu tratamento por aspensão.

Os experimentos foram:

1. Aplicação de spray com diferentes tipos de AE à 18°C durante 20 segundos (E1).
2. Aplicação de spray com diferentes tipos de AE à 30°C durante 20 segundos (E2).
3. Aplicação de spray com diferentes tipos de AE à 18°C durante 40 segundos (E3).

4. Aplicação de spray com diferentes tipos de AE à 30°C durante 40 segundos (E4).

## 4.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.2.1 Características das águas aplicadas

As características dos diferentes tipos de AE aplicadas estão apresentadas na tabela 1A. As AEA tiveram pH em torno de 2,60, POR 1160 mV; AEFA teve pH médio de 6,20 e POR 900 mV e por fim AEB com pH médio de 11,50 e POR de -840 mV. Estas características das AE não variaram muito nos diferentes experimentos realizados, embora a CCL tenha apresentado uma pequena variação entre os experimentos (tabela 1A).

**Tabela 1A.** Características dos diferentes tipos de AE utilizadas por experimento antes e pós-spray.

Experimento	pH	POR (mV)	Cloro antes do spray (mg/L de Cl <sub>2</sub> )	Cloro pós-spray (mg/L de Cl <sub>2</sub> )	% de redução de cloro pós-spray (água residual)
<b>E1- 20'' 18°C</b>					
AEA	2,66	1183	50	12	76
AEFA	6,15	877	33	17	48
AEB	11,49	-884	0	0	0
<b>E2- 20'' 30°C</b>					
AEA	2,64	1160	65	25	62
AEFA	6,06	891	40	15	62
AEB	11,53	-870	0	0	0
<b>E3- 40'' 18°C</b>					
AEA	2,60	1185	74	23	69
AEFA	6,15	940	47	23	51
AEB	11,45	-826	0	0	0
<b>E4- 40'' 30°C</b>					
AEA	2,60	1134	74	17	77
AEFA	6,41	875	38	15	60
AEB	11,40	-877	0	0	0

O experimento 1 teve a menor CCL que os outros experimentos na AEA logo após eletrolisação, sendo esta de 50 mg/L de  $\text{Cl}_2$ . No entanto vale ressaltar que obter sempre o mesmo CCL é difícil, sendo possível a obtenção de valores bem próximos, pois os únicos parâmetros que temos para controlar a CCL final neste equipamento seriam a concentração da salmoura principalmente e a temperatura de eletrólise. Como estas duas foram exatamente iguais, outra possibilidade é a limpeza periódica do equipamento de eletrólise. O fato que pode ter acontecido é que o equipamento estava sendo frequentemente utilizado antes dos experimentos serem efetuados, portanto mantinha-se com boa manutenção e plena atividade, com frequência de uso constante, e foi usado com menor frequência durante a realização dos experimentos. Porém houve a percepção que quanto menos o equipamento era utilizado, mais frequentes deveriam ser as limpezas (HCl 3% v/v em refluxo por 20 minutos) e não o contrário como deveríamos esperar.

No momento que o equipamento de eletrólise foi “limpo”, ele gradativamente recuperou o perfeito funcionamento e conseguiu-se os parâmetros de AE esperados, sendo este fato verificado na CCL da AEA à partir do experimento 2 (tabela 1A). Outro fato que tende à igualar os experimentos 1 e 2 é que o consumo de CCL nos experimentos foi de 40 e 20 mg/L de  $\text{Cl}_2$  aproximadamente, ou seja, as amostras consumiram a mesma quantidade de cloro em AEA e AEFA respectivamente entre os experimentos, logo o efeito dependeu quase que unicamente da variável testada que foi a temperatura da AE aplicada ao músculo em spray.

As características controladas no momento da eletrólise foram concentração da salmoura, temperatura da salmoura, e todas as outras características são consequência da manutenção preventiva do equipamento, variações na tensão de energia elétrica, entre outras.

Em E3 e E4 percebe-se que as características das AE estão bem próximas entre si, sendo que neste caso a temperatura da AE no spray foi a única variação entre estes experimentos.

A porcentagem de redução na CCL, ou seja, medindo-se o cloro da AE antes e depois da aplicação revelam uma característica interessante, que o consumo de cloro de AEA ficou em média de 70% e o de AEFA em 50%, ou seja, a AE residual contém cloro, e este pode ser ativo ainda, possivelmente sendo uma fonte de higienização de resíduos e das instalações por onde a mesma passa. A AEFA é capaz de agir em biofilmes de *Listeria monocytogenes* instalados em superfícies de

aço inoxidável dependendo da CCL que ela contém (pH 6,5-7,5 e 40 mg/L de Cl<sub>2</sub> por 10 min diminuíram de 4,60 log UFC para menos de 1,70 conforme reportado por AREVALOS-SÁNCHEZ *et al*, 2013). A presença de carga de matéria orgânica no resíduo e conseqüentemente o consumo de cloro nesta água residual é inevitável, como acontece com água clorada intencionalmente aplicada em carcaças nas indústrias e abatedouros. Assim o tempo elevado de contato entre o resíduo contendo cloro e uma possível bactéria no chão da indústria por onde a AE vai escorrer poderia ser um ponto positivo de controle de contaminação.

Várias pesquisas mostram o potencial de uso da AE em alimentos e utensílios, como quando RAHMAN *et al* (2012b) obtiveram reduções de 1,39 log UFC/g de bactérias aeróbias totais ao imergirem bifes de peito de frango em AEFA com pH 6,2-6,5 e 10 mg/L de Cl<sub>2</sub> e 1,45 log UFC/g em AEA com pH 2,54 e 50 mg/L de Cl<sub>2</sub>. GOMEZ-LOPEZ *et al* (2014) relataram que 7 mg/L de Cl<sub>2</sub> em água clorada eram suficientes para inativar *E. coli* sob condições industriais. DEZA, ARAUJO e GARRIDO (2005) mostraram que ao aplicarem AEFA com pH 7,79 e 60 mg/L de Cl<sub>2</sub>, diminuíram a concentração de *Pseudomonas aeruginosa* contida em uma placa de aço inoxidável ou em um pedaço de vidro que passava de 6,00 log UFC/mL para quase zero, ao mergulharem esses pedaços em 250 mL de AEFA durante 1 minuto. É importante também lembrar que conforme estudado por AYEBAH e HUNG (2005), AEFA com pH 6,12 e 50 mg/L de Cl<sub>2</sub> e AEA com pH 2,42 e 48 mg/L de Cl<sub>2</sub> não apresentaram efeito de corrosão em aço inoxidável.

Na literatura, as características das AEA e AEFA aplicadas são variáveis em relação ao pH e principalmente CCL, em AEA e AEFA. Esse comportamento pode ser visto nos trabalhos de DEZA *et al* (2005) (AEFA pH 7,79 e 63 mg/L de Cl<sub>2</sub>), GRAÇA *et al* (2011) (utilizou AEA com pH 2,93 e 98 mg/L de Cl<sub>2</sub> e pH 3,08 e 53 mg/L de Cl<sub>2</sub>, bem como AEFA com pH 8,42 e 101 mg/L de Cl<sub>2</sub> e pH 8,39 e 49 mg/L de Cl<sub>2</sub>), McCARTHY *et al* (2012) (AEA pH 2,80 e 50 mg/L de Cl<sub>2</sub>), RAHMAN *et al* (2013)(AEA com pH 2,54 e 50 mg/L de Cl<sub>2</sub> e AEFA com pH 6,80 e 10 mg/L de Cl<sub>2</sub>) entre outros.

#### 4.2.2 Efeito microbiológico da AE

Desde o início dos experimentos, as bactérias alvo do estudo foram mesófilas aeróbias, psicrotróficas e *Staphylococcus sp.*, este último investigado na pele do suíno. Então, estes ensaios microbiológicos foram conduzidos em todos os experimentos. No entanto durante o decorrer dos experimentos surgiu a necessidade de investigação de bactérias ácido lácticas e *Enterobacteriaceae*, com o objetivo de abranger e distinguir mais a carga microbiana contida no músculo e depois na carne, levando em conta bactérias que crescem em carnes embaladas à vácuo, como as bactérias lácticas (DOULGERAKI 2012).

As bactérias mesófilas aeróbias são os representantes que crescem fora de ambiente de refrigeração (FORSYTHE, 2013, p. 149), e que podem estar ligadas ao desenvolvimento de doenças de caráter tóxico-alimentar. A tabela 1B apresenta o desenvolvimento dessas bactérias e os log de redução que os diferentes tipos de AE proporcionaram, com destaque ao experimento E3 onde ocorreu a maior redução. Dentro do mesmo experimento, o tratamento com maior log de redução significativa ( $p < 0,05$ ) de bactérias mesófilas foi com a AEA (pH 2,60 e 74 mg/L de  $Cl_2$ ), com redução de 1,67 log UFC/g, seguido de AEFA (pH 6,15 e 47 mg/L de  $Cl_2$ ) com 1,13 log UFC/g (tabela 1B). Estes resultados são semelhantes aos obtidos por FELICIANO, LEE e PASCALL (2012) onde a AEA (pH 2,7 e 150 mg/L de  $Cl_2$ ) foi mais eficaz do que a AEFA (pH 6,9 e 150 mg/L de  $Cl_2$ ) e AEB (pH 11,6) à 23°C em reduzir *Listeria innocua* em suspensão, e os autores ainda relataram através de visualização por microscopia de transmissão que os tratamentos afetaram a membrana celular e o citoplasma deste microrganismo .



**Tabela 1B.** Número de colônias de bactérias mesófilas (log UFC/g) aeróbias em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperatura, durante armazenamento de 29 dias a 4°C ( $\pm 1$ ).

Experimento	Dia 1	Dia 15	Dia 29
<b>E1- 20'' 18°C</b>			
AEA	3,29 <sup>ab</sup> (0,85) [0,00]	6,70 <sup>aA</sup> (0,46) [0,41]	7,03 <sup>aA</sup> (0,38) [0,09]
AEFA	3,49 <sup>ab</sup> (0,61) [0,00]	6,60 <sup>aA</sup> (0,03) [0,51]	7,01 <sup>aA</sup> (0,33) [0,11]
AEB	3,05 <sup>ab</sup> (0,32) [0,00]	6,66 <sup>aA</sup> (0,20) [0,45]	7,06 <sup>aA</sup> (0,45) [0,06]
Controle	2,95 <sup>aA</sup> (0,45)	7,11 <sup>ab</sup> (0,13)	7,12 <sup>ab</sup> (0,05)
<b>E2- 20'' 30°C</b>			
AEA	2,63 <sup>aC</sup> (0,29) [0,00]	6,18 <sup>ab</sup> (0,36) [0,08]	7,01 <sup>aA</sup> (0,27) [0,00]
AEFA	2,22 <sup>ab</sup> (0,66) [0,31]	6,23 <sup>aA</sup> (0,39) [0,03]	6,48 <sup>aA</sup> (0,24) [0,25]
AEB	1,85 <sup>ab</sup> (0,27) [0,68]	6,14 <sup>aA</sup> (0,27) [0,12]	6,81 <sup>aA</sup> (0,44) [0,00]
Controle	2,53 <sup>ab</sup> (0,32)	6,26 <sup>aA</sup> (0,27)	6,73 <sup>aA</sup> (0,25)
<b>E3- 40'' 18°C</b>			
AEA	3,67 <sup>bb</sup> (0,28) [1,67]	6,82 <sup>aA</sup> (0,16) [0,48]	6,86 <sup>aA</sup> (0,52) [0,33]
AEFA	4,21 <sup>abB</sup> (1,04) [1,13]	7,00 <sup>aA</sup> (0,18) [0,30]	7,39 <sup>aA</sup> (0,47) [0,00]
AEB	4,67 <sup>abB</sup> (0,21) [0,67]	7,00 <sup>aA</sup> (0,48) [0,30]	7,18 <sup>aA</sup> (0,12) [0,01]
Controle	5,34 <sup>ab</sup> (0,08)	7,30 <sup>aA</sup> (0,30)	7,19 <sup>aA</sup> (0,15)
<b>E4- 40'' 30°C</b>			
AEA	2,75 <sup>bc</sup> (0,02) [0,67]	6,80 <sup>ab</sup> (0,30) [0,00]	7,60 <sup>aA</sup> (0,19) [0,00]
AEFA	3,41 <sup>ab</sup> (0,22) [0,01]	7,03 <sup>aA</sup> (0,34) [0,00]	7,45 <sup>aA</sup> (0,13) [0,00]
AEB	3,07 <sup>abC</sup> (0,11) [0,35]	6,56 <sup>ab</sup> (0,04) [0,12]	7,54 <sup>aA</sup> (0,14) [0,00]
Controle	3,42 <sup>ab</sup> (0,24)	6,68 <sup>aA</sup> (0,42)	7,20 <sup>aA</sup> (0,49)

**Nota:** As letras minúsculas/maiúsculas diferentes nas colunas/linhas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) dentro do mesmo experimento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão) [log de redução em relação ao controle].

AEA foi mais eficaz no experimento 4 também por ser significativamente menor ( $p < 0,05$ ) do que o tratamento com AEFA, porém com um log de redução menor do que o encontrado no experimento 3 (tabela 1B). Quando compara-se os experimentos E1, E2, E3 e E4 no dia 1, percebe-se que o fator que mais influenciou na eficácia dos tratamentos foi a quantidade de água aplicada, sendo que 200 mL apresentou maior eficácia do que 100 mL. Esta quantidade no entanto é bem menor se comparada à outros trabalhos como o de NORTH CUTT *et al* (2007) que aplicaram até 9L de AEFA por carcaça de frango (cerca de 9 partes de água para 1 parte de carcaça). A literatura relata que o aumento de temperatura da AE aplicada aumenta sua atividade frente à bactérias (RAHMAN; JIN; OH, 2011 e XIE *et al*, 2012), contudo não verificou-se este comportamento nesses experimentos realizados, por isso as características do E3 foram escolhidas como as melhores para o desenvolvimento dos experimentos do capítulo 2.

CHOULIARA *et al* (2007) ao adicionarem óleo essencial de orégano à 0,1% em peito de frango não observaram diferença ( $p > 0,05$ ) no número de bactérias mesófilas aeróbias em relação ao controle durante 12 dias de armazenamento à

4°C. A AE no E3 apresentou melhor efeito do que o óleo essencial, em virtude que no dia 1 ocorreu diminuição significativa em relação ao controle ( $p>0,05$ ), conforme tabela 1B. De um outro ponto de vista, os resultados são considerados bons em pedaços de carne suína, uma vez que para a extração de óleo essencial é gasto uma grande quantidade de energia.

Em todos os experimentos (E1, E2, E3 e E4) (conforme tabela 1B) no dia 15 a carga microbiana de mesófilos era alta (mais de 6 log UFC/g). Isso indica que o período de duração do efeito de AE mesmo no E3, o qual apresentou maior efeito frente à essas bactérias no dia 1 foi mínimo. Isso pode indicar que o efeito de AE aplicada na forma de spray de maneira individual pode ser maior logo após a aplicação da AE.

Cargas microbiana em torno de  $10^6$  UFC/cm<sup>2</sup> são associadas com produção de cheiro ruim na carne (NOLLET *et al*, 2012). İPLİKÇİOĞLU ÇİL, DEMİREL e ŞİRELİ (2012) relataram que o efeito de AEFA com 30, AEA com 50 e 70 mg/L de Cl<sub>2</sub> em asa de frango imersas por até 1 min em 500 mL de água sobre bactérias *Salmonella* Typhimurium foi perdido já no 3° dia de armazenamento à 7°C. RAHMAN *et al* (2013) obtiveram aproximadamente 7 dias de armazenamento ao tratarem carne de porco por imersão em AEA (pH 2,54 e 50 mg/L de Cl<sub>2</sub>) e AEFA (pH 6,80 e 10 mg/L de Cl<sub>2</sub>), uma vez que o número de colônias de bactérias mesófilas aeróbias passou de números de 5 para 3,5 log UFC/g, logo após aplicada AEA ou AEFA por imersão durante 5 minutos à 23°C armazenados em embalagens aeróbias à 4°C.

MANSUR *et al* (2015) relataram que AEFA (pH 6,2 e 30 mg/L de Cl<sub>2</sub>) e AEA (pH 2,3 e 30 mg/L de Cl<sub>2</sub>) individualmente apresentaram efeitos semelhantes a uma solução de 0,5% de ácido fumárico frente à bactérias mesófilas aeróbias ao tratarem carne de porco durante 3 minutos a 40 °C por imersão, obtendo redução de 2,0 log UFC/g, e tempo de prateleira de 6 dias e controle de 4 dias. O spray de AE apresentou diminuição de log UFC/g menor do que o trabalho de MANSUR *et al* (2015), pois a maior redução obtida foi 1,67 log UFC/g em AEA no E3 (tabela 1B). Mas ao associarem AEFA e ácido fumárico (0,5%) ocorreu redução de 2,7 log UFC/g no dia 1 e tempo de prateleira de 10 dias armazenados em condições aeróbias a 4 °C, indicando um sinergismo dos tratamentos.

As bactérias psicrótróficas estão envolvidas na deterioração do alimento em temperaturas de refrigeração (FORSYTHE, 2013). O E1 (tabela 1C) não teve

diferença estatística significativa ( $p > 0,05$ ). Por outro lado, houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) no dia 1 em bactérias psicotróficas em AEFA no E2, com esta sendo menor que o controle (tabela 1C).

O E3 apesar de não apresentar diferença estatística ( $p > 0,05$ ), mostrou o maior log de redução de UFC/g (1,18 para AEA e 0,96 para AEFA) nas bactérias psicotróficas, com 200 mL de água aplicada em temperatura de 18°C. Nesse mesmo experimento a AEB apresentou efeito, no entanto ele foi menor do que a AEA e a AEFA em cerca de 35%. PINTO, IPPOLITO e BARUZZI (2015) verificaram que AEFA com 80 mg/L de  $Cl_2$  reduziu em 50% culturas puras de espécies diferentes de *Pseudomonas* spp, reduzindo a viabilidade de  $10^8$  para  $10^4$ , o que foi maior que as maiores reduções obtidas % em e E2 e E3 (25 e 20% respectivamente).

**Tabela 1C.** Número de colônias de bactérias psicotróficas (log UFC/g) em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperatura, durante armazenamento de 29 dias a 4°C ( $\pm 1$ ).

Experimento	Dia 1	Dia 15	Dia 29
<b>E1- 20'' 18°C</b>			
AEA	3,15 <sup>ab</sup> (0,21) [0,00]	6,82 <sup>aA</sup> (0,56) [0,17]	6,78 <sup>aA</sup> (0,29) [0,14]
AEFA	2,89 <sup>ab</sup> (0,17) [0,26]	7,01 <sup>aA</sup> (0,20) [0,00]	7,15 <sup>aA</sup> (0,33) [0,00]
AEB	3,40 <sup>ab</sup> (0,37) [0,00]	6,87 <sup>aA</sup> (0,17) [0,12]	7,38 <sup>aA</sup> (0,39) [0,00]
Controle	3,15 <sup>ab</sup> (0,27)	6,99 <sup>aA</sup> (0,45)	6,92 <sup>aA</sup> (0,17)
<b>E2- 20'' 30°C</b>			
AEA	2,02 <sup>abB</sup> (0,35) [0,47]	6,32 <sup>aA</sup> (0,36) [0,08]	6,62 <sup>aA</sup> (0,37) [0,15]
AEFA	1,89 <sup>bB</sup> (0,17) [0,60]	6,25 <sup>aA</sup> (0,25) [0,15]	6,48 <sup>aA</sup> (0,42) [0,29]
AEB	2,02 <sup>abB</sup> (0,35) [0,47]	6,18 <sup>aA</sup> (0,43) [0,22]	7,06 <sup>aA</sup> (0,58) [0,00]
Controle	2,49 <sup>ab</sup> (0,17)	6,40 <sup>aA</sup> (0,33)	6,77 <sup>aA</sup> (0,53)
<b>E3- 40'' 18°C</b>			
AEA	3,41 <sup>ab</sup> (0,53) [1,18]	6,79 <sup>aA</sup> (0,27) [0,55]	7,16 <sup>aA</sup> (0,32) [0,45]
AEFA	3,63 <sup>ab</sup> (1,05) [0,96]	6,77 <sup>aA</sup> (0,32) [0,57]	7,45 <sup>aA</sup> (0,12) [0,16]
AEB	3,92 <sup>ab</sup> (0,44) [0,67]	7,20 <sup>aA</sup> (0,23) [0,14]	7,30 <sup>aA</sup> (0,40) [0,31]
Controle	4,59 <sup>ab</sup> (0,26)	7,34 <sup>aA</sup> (0,28)	7,61 <sup>aA</sup> (0,21)
<b>E4- 40'' 30°C</b>			
AEA	<1,69 <sup>cC</sup> (0,00) [0,59]	6,39 <sup>bB</sup> (0,26) [0,33]	7,13 <sup>aA</sup> (0,29) [0,12]
AEFA	2,68 <sup>aC</sup> (0,20) [0,00]	6,93 <sup>ab</sup> (0,19) [0,00]	7,29 <sup>aA</sup> (0,09) [0,00]
AEB	1,79 <sup>cC</sup> (0,17) [0,49]	6,62 <sup>abB</sup> (0,18) [0,10]	7,23 <sup>aA</sup> (0,14) [0,02]
Controle	2,28 <sup>bC</sup> (0,27)	6,72 <sup>abB</sup> (0,14)	7,25 <sup>aA</sup> (0,28)

**Nota:** As letras minúsculas/maiúsculas diferentes nas colunas/linhas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) dentro do mesmo experimento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão) [log de redução em relação ao controle].

O E3 ainda mostrou efeito frente as bactérias psicotróficas, com redução de 0,5 log UFC/g em relação ao controle em AEA e AEFA no dia 15, apesar de não

haver diferença estatística ( $p > 0,05$ ). FELICIANO *et al* (2010) obtiveram reduções de *Pseudomonas putida* quando conservaram camarão em gelo feito de AEFA com pH 6,80 e 150 mg/L de  $Cl_2$ , porém esta diminuição foi da ordem de aproximadamente 0,5 log UFC/g quando avaliados 12 horas depois, em uma carga inicial de quase 7 log UFC/g, ou seja, proporcionalmente é possível perceber que o spray pode ser mais eficaz do que a imersão em gelo.

A AEB teve efeito nas bactérias mesófilas e psicotróficas (embora não significativo ( $p > 0,05$ ), como pode se verificar em E2 e E3 nas tabelas 1B e 1C. Todavia de maneira geral, este efeito não foi superior ao causado por AE de pH ácido (AEA e AEFA), o que também foi verificado por FELICIANO, PASCALL e LEE (2012).

No E3 os tratamentos com os diferentes tipos de AE proporcionaram valores de redução maiores das bactérias pertencentes ao gênero *Staphylococcus sp.* em relação aos demais experimentos, embora sem diferença estatística ( $p > 0,05$ ) em relação ao controle (tabela 1D). Assim, AEA e AEFA reduziram 0,95 e 0,82 UFC/cm<sup>2</sup> respectivamente, enquanto que a AEB, reduziu 0,78 log UFC/cm<sup>2</sup>. Ainda é possível verificar efeito da AEA no dia 15, com redução de 0,88 log UFC/cm<sup>2</sup> em relação ao controle. AEFA com pH 6,3-6,5 e 50 mg/L de  $Cl_2$  reduziu de 4,62 para 1,15 log UFC/mL *S. aureus* presentes na água pós-imersão de folhas de espinafre por 10 minutos, ou seja, mais de 75% contra os 35% do spray (GUENTZEL *et al* 2008).

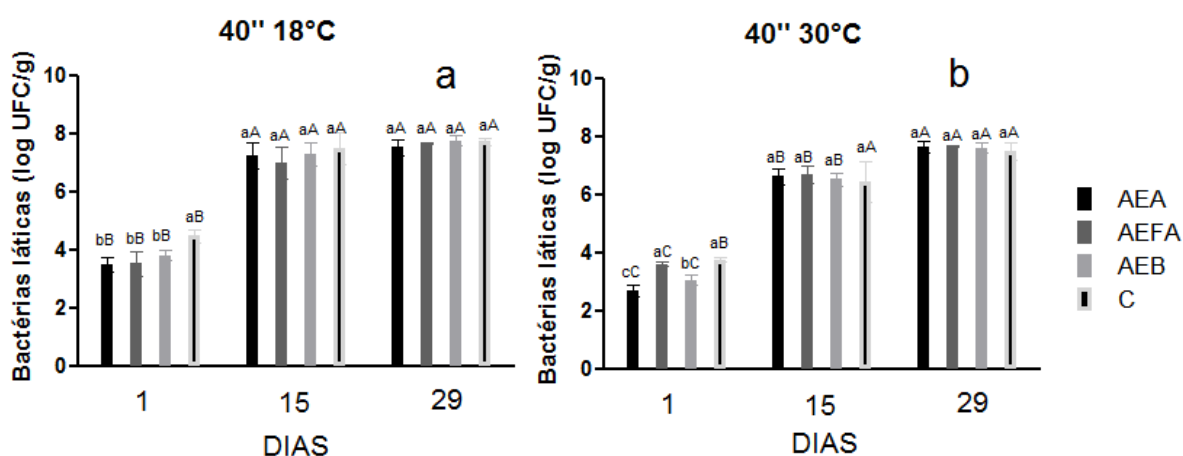
**Tabela 1D.** Número de colônias de bactérias *Staphylococcus sp.* (log UFC/g) aeróbias em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperatura, durante armazenamento de 29 dias a 4°C ( $\pm 1$ ).

Experimento	Dia 1	Dia 15	Dia 29
<b>E1- 20'' 18°C</b>			
AEA	1,40 <sup>ac</sup> (0,35) [0,06]	2,15 <sup>ab</sup> (0,27) [0,00]	3,76 <sup>abA</sup> (0,11) [0,25]
AEFA	1,10 <sup>abC</sup> (0,13) [0,36]	2,05 <sup>ab</sup> (0,09) [0,10]	3,28 <sup>ba</sup> (0,53) [0,73]
AEB	0,87 <sup>bc</sup> (0,20) [0,59]	2,17 <sup>ab</sup> (0,00) [0,00]	3,61 <sup>abA</sup> (0,12) [0,40]
Controle	1,46 <sup>ac</sup> (0,16)	2,15 <sup>ab</sup> (0,15)	4,01 <sup>aa</sup> (0,19)
<b>E2- 20'' 30°C</b>			
AEA	1,19 <sup>abC</sup> (0,15) [0,42]	5,08 <sup>aa</sup> (0,19) [0,02]	3,67 <sup>ab</sup> (0,39) [0,06]
AEFA	1,00 <sup>bc</sup> (0,43) [0,61]	5,17 <sup>aa</sup> (0,13) [0,00]	4,05 <sup>ab</sup> (0,46) [0,00]
AEB	1,42 <sup>abB</sup> (0,11) [0,19]	5,02 <sup>aa</sup> (0,45) [0,08]	4,24 <sup>aa</sup> (0,87) [0,00]
Controle	1,61 <sup>ac</sup> (0,23)	5,10 <sup>aa</sup> (0,23)	3,73 <sup>ab</sup> (0,81)
<b>E3- 40'' 18°C</b>			
AEA	1,40 <sup>aa</sup> (0,65) [0,95]	2,23 <sup>ba</sup> (0,20) [0,88]	2,38 <sup>aa</sup> (0,54) [0,66]
AEFA	1,53 <sup>ab</sup> (0,60) [0,82]	2,86 <sup>aa</sup> (0,36) [0,25]	2,98 <sup>aa</sup> (0,59) [0,06]
AEB	1,57 <sup>ab</sup> (0,37) [0,78]	3,30 <sup>aa</sup> (0,26) [0,00]	2,86 <sup>aa</sup> (0,80) [0,18]
Controle	2,35 <sup>aa</sup> (0,27)	3,11 <sup>aa</sup> (0,12)	3,04 <sup>aa</sup> (0,61)
<b>E4- 40'' 30°C</b>			
AEA	2,27 <sup>aa</sup> (0,53) [0,27]	2,99 <sup>aa</sup> (0,60) [0,62]	3,46 <sup>aa</sup> (0,68) [0,37]
AEFA	2,31 <sup>aa</sup> (0,40) [0,23]	3,31 <sup>aa</sup> (0,89) [0,30]	3,48 <sup>aa</sup> (0,72) [0,35]
AEB	2,28 <sup>aa</sup> (0,23) [0,26]	3,18 <sup>aa</sup> (0,38) [0,43]	2,82 <sup>aa</sup> (0,75) [1,01]
Controle	2,54 <sup>ab</sup> (0,08)	3,61 <sup>aa</sup> (0,29)	3,83 <sup>aa</sup> (0,15)

**Nota:** As letras minúsculas/maiúsculas diferentes nas colunas/linhas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) dentro do mesmo experimento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão) [log de redução em relação ao controle]

A AEB apresentou efeito de redução significativo ( $p < 0,05$ ) maior do que o controle no E1, e nos E3 e E4 apresentaram redução equivalente as AEA e AEFA (tabela 1D). O mecanismo de atividade da AEB neste caso é diferente das AEA e AEFA, sendo mais atribuído ao potencial limpante que esta água apresenta, em virtude de compostos como NaOH diluído assim como a saponificação que ocorre quando mistura-se a base com ácidos graxos, formando um sabão que possui facilidade de se dissolver em água, e o mesmo poderia estar acontecendo com as bactérias presentes na superfície da pele, além da presença do hipoclorito que possui ação frente à bactérias (EIFERT & SANGLAY, 2002). Nesta análise, o swab é passado na pele (somente na pele (figura 11) da amostra após aplicação do spray (este ensaio foi planejado justamente pensando-se na possibilidade de limpeza de carcaça antes ou após o abate). Com o caráter limpante da AEB, é importante que estudos sejam desenvolvidos usando AEB também e não somente com AEA ou AEFA, porque muitas vezes ela pode ser tratada como sub-produto de eletrólise e não pudesse ter uma aplicação.

No E3 o efeito de todos os tipos de AE logo após aplicadas promoveram reduções significativas ( $p < 0,05$ ) nas bactérias lácticas (figura 1A), sendo que as contagens para AEA foi de 3,47, AEFA foi 3,51 e na AEB foi 3,80 log UFC/g, ao passo que o controle apresentou 4,36 log UFC/g. No E4, somente AEA (2,67) e AEB (3,04) tiveram reduções significativas ( $p < 0,05$ ) no número de bactérias lácticas em relação ao controle (3,75 log UFC/g) logo após aplicadas as AE. Nestas bactérias, é importante ressaltar que a AEB evidenciou efeito em ambos os experimentos. JADEJA e HUNG (2014) aplicando 60 mL de spray de AEFA (pH 6,5 e 150 mg/L de  $Cl_2$ ) e AEB (pH 11,60) em couro bovino obtiveram reduções de cerca de 1,50 log UFC/cm<sup>2</sup> com AEFA e AEB sobre *E. coli* e aeróbios totais, partindo de concentrações de aproximadamente 4,50 log UFC/cm<sup>2</sup> para *E. coli* e aproximadamente 6,50 log UFC/cm<sup>2</sup> para aeróbios totais, perfazendo um total de 25% de redução para aeróbios totais e 34% para *E. coli*. Ao comparar estes dados (não foram encontrados trabalhos que relatem aplicação de spray de AE sobre bactérias lácticas na literatura), percebeu-se redução no E3, de 20% para AEFA e 13% para AEB frente à bactérias lácticas à 18°C, conforme figura 1Aa. Entre E3 e E4 é importante ressaltar que os efeitos de AEA foram semelhantes, os efeitos de AEFA foram maiores no experimento 3, e o melhor desempenho de AEB foi no E4. Isto colabora com a ideia de que não houve diferença entre as temperaturas testadas nestes experimentos (18°C e 30°C).



**Figura 1A.** Bactérias lácticas de E3 (a) e E4 (b). Nota: Letras minúsculas/ maiúsculas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Duncan no mesmo dia entre os tratamentos/ entre os dias para o mesmo tratamento.

No decorrer do tempo (dia 15), as bactérias lácticas multiplicaram-se e atingiram número de colônias entre 6,44 a 6,67 log UFC/g, no experimento E3 e entre 6,99 e 7,48 log UFC/g no E4. Este fato já havia sido verificado nos mesófilos (tabela 1B) e nos psicrotróficos (tabela 1C), o que indica que os tratamentos haviam perdido o efeito no dia 15. No dia 29, ambos os experimentos já apresentam carga de 7,5 log UFC/g de bactérias lácticas, perdendo-se qualquer resquício de atividade do tratamento aplicado (figura 1A), possivelmente pela afinidade deste tipo de bactéria por ambiente com redução de oxigênio.

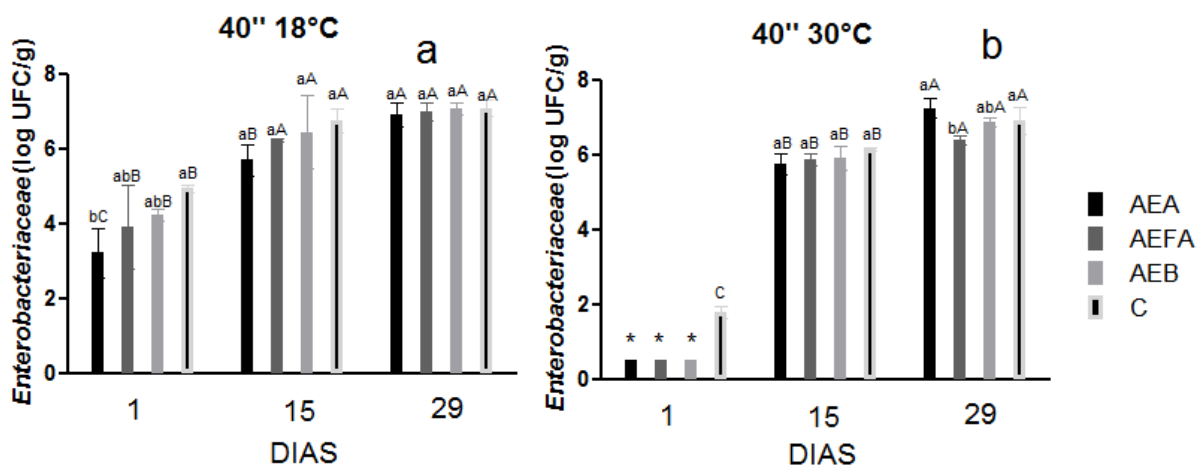
Quando a carga bacteriana encontra-se elevada, incluindo bactérias lácticas, com valores em torno de  $10^6$  log UFC/g, algumas características começam a tornarem-se evidentes na carne, tal como cheiro ácido, devido à produção de ácido láctico. Conforme esta carga vai aumentando, o cheiro torna-se pútrido-ácido, devido à combinação de *Pseudomonas* sp e bactérias lácticas com atividade proteolítica e com liberação no meio de ácido sulfídrico ( $H_2S$ ) (BROWN 2008; DOULGERAKI *et al*, 2012; NYCHAS *et al*, 2008).

Em contagens altas também refere-se que estas bactérias produzem bacteriocinas, que às protegem de outros microrganismos, inclusive patogênicos ao ser humano. No entanto, mesmo com a existência destes compostos, esta condição não é desejável em carne *in natura* ( $10^6$ - $10^7$  log UFC/g de bactéria lácticas), e sim em produtos cárneos fermentados, como o salame (HUI 2006) no qual essas bactérias influenciam de maneira desejável na obtenção do produto final e suas características.

Não foram encontrados na literatura trabalhos que mostrem aplicação de AEB em bactérias ácido lácticas. No entanto, esta mostra interessante efeito sobre este tipo de bactérias, não possuindo diferença significativa ( $p > 0,05$ ) de AEA e AEFA e possuindo efeito de redução de carga bacteriana em relação ao controle ( $p < 0,05$ ).

As *Enterobacteriaceae*, mostradas na figura 1B, apresentaram diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) de 1,72 log UFC/g no tratamento AEA do E3 (figura 1Ba). Tendo este tratamento uma contagem de 3,21 log UFC/g e o controle 4,93 log UFC/g no dia 1, ele foi um tratamento mais eficaz do que AEFA, que apresentou uma diminuição de 1 log UFC/g. Neste mesmo experimento, AEB ainda apresentou certo efeito, sendo 0,70 log UFC/g menor do que o controle, apesar de não haver diferença estatística ( $p > 0,05$ ). FABRIZIO & CUTTER (2004) obtiveram redução de

1,2 log UFC/cm<sup>2</sup> em coliformes totais após aplicarem AEA com 50 mg/L de Cl<sub>2</sub> na forma de spray em carne suína.



**Figura 1B.** *Enterobacteriaceae* de E3 (a) e E4 (b) de pedaços de carne de porco tratados com AE e armazenados à 4°C. Nota: Letras minúsculas/ maiúsculas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Duncan no mesmo dia entre os tratamentos/ entre os dias para o mesmo tratamento. Nota 2: \* são contagens < 10 estimado.

No E4 (figura 1Bb), a carga bacteriana da matriz estava muito baixa, e isto colaborou para a supressão dos resultados no dia 1 do experimento. No dia 15 porém, o crescimento bacteriano quase igualou-se ao E3 em termos de carga bacteriana. Este fato comprova então que os tratamentos aplicados neste experimento não foram suficientemente eficazes em manter o efeito ao longo do tempo, ou seja, a carga microbiana de *Enterobacteriaceae* na carne tratada com AE foi estatisticamente igual ao controle no dia 15 e 29 ( $p > 0,05$ ), com exceção de AEFA no dia 29, porém com números acima de 6 log UFC/g, esta carne apresentava condições impróprias para o consumo.

#### 4.2.3 Oxidações lipídicas

As tabelas 1E e 1F trazem dados de dienos conjugados (DC) e trienos conjugados (TC) respectivamente. A AEFA no dia 1, apresentou valores de DC e TC que não diferiram significativamente ( $p > 0,05$ ) do controle (DC no E1, TC no E1, E2 e E3), e valores que foram superiores ao controle, verificado em DC no E2, E3 e E4



(tabela 1E), TC somente no E4 (tabela 1F). Isto demonstra que ocorre maior oxidação dos ácidos graxos poli-insaturados quando é empregada a AEFA (com AEA, somente o E2 possui DC e TC significativamente ( $p < 0,05$ ) maiores que o controle, conforme tabela 1E e 1F), decorrente de que em sua composição há HOCl como molécula predominante no meio, o qual é um agente oxidante forte (WHITE, 2010).

**Tabela 1E.** Dienos conjugados (Abs/ mg de lipídio/ 3 mL de ciclohexano) em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperatura, durante armazenamento de 29 dias a 4°C ( $\pm 1$ ).

Experimento	Dia 1	Dia 15	Dia 29
<b>E1- 20'' 18°C</b>			
AEA	253,5 <sup>aA</sup> (8,53)	245,3 <sup>aA</sup> (31,07)	210,3 <sup>aA</sup> (35,85)
AEFA	228,5 <sup>aB</sup> (16,09)	261,0 <sup>aA</sup> (10,99)	189,8 <sup>aC</sup> (9,85)
AEB	235,0 <sup>aA</sup> (11,39)	230,4 <sup>aA</sup> (22,88)	191,8 <sup>aB</sup> (12,51)
Controle	236,8 <sup>aA</sup> (25,90)	226,0 <sup>aA</sup> (2,17)	204,3 <sup>aA</sup> (13,95)
<b>E2- 20'' 30°C</b>			
AEA	258,0 <sup>aA</sup> (21,62)	147,0 <sup>bB</sup> (14,82)	68,8 <sup>bC</sup> (7,33)
AEFA	252,2 <sup>aA</sup> (35,26)	156,3 <sup>bB</sup> (28,03)	70,0 <sup>bC</sup> (7,47)
AEB	188,4 <sup>bA</sup> (10,02)	219,2 <sup>aA</sup> (37,23)	96,0 <sup>aB</sup> (10,24)
Controle	181,3 <sup>bA</sup> (32,75)	141,0 <sup>bAB</sup> (24,55)	114,8 <sup>aB</sup> (14,44)
<b>E3- 40'' 18°C</b>			
AEA	165,3 <sup>bB</sup> (17,37)	213,0 <sup>bB</sup> (3,03)	343,5 <sup>aA</sup> (42,98)
AEFA	335,1 <sup>aA</sup> (43,42)	360,1 <sup>aA</sup> (14,58)	173,1 <sup>bB</sup> (34,36)
AEB	268,9 <sup>abA</sup> (58,22)	362,4 <sup>aA</sup> (7,19)	343,1 <sup>aA</sup> (49,14)
Controle	191,2 <sup>bA</sup> (93,54)	311,7 <sup>aA</sup> (54,92)	350,6 <sup>aA</sup> (63,08)
<b>E4- 40'' 30°C</b>			
AEA	153,2 <sup>bB</sup> (1,51)	181,6 <sup>bA</sup> (8,44)	178,5 <sup>aA</sup> (2,80)
AEFA	190,3 <sup>aB</sup> (0,71)	239,2 <sup>aA</sup> (28,98)	170,3 <sup>aB</sup> (9,57)
AEB	161,1 <sup>bA</sup> (9,15)	147,8 <sup>bA</sup> (28,53)	177,8 <sup>aA</sup> (31,89)
Controle	147,5 <sup>bA</sup> (12,86)	161,9 <sup>bA</sup> (40,98)	167,3 <sup>aA</sup> (11,23)

**Nota:** As letras minúsculas/maiúsculas diferentes nas colunas/linhas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) dentro do mesmo experimento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão).

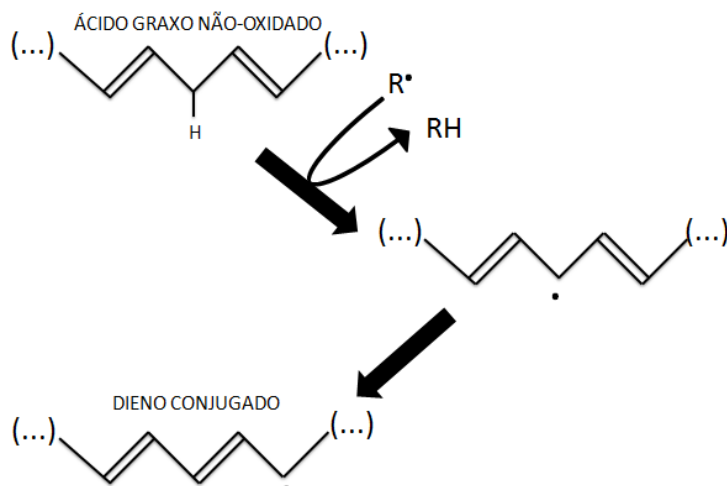
Durante o período de armazenamento os tratamentos com os diferentes tipos de AE (AEA, AEFA e AEB), nos experimentos E2 e E3 para DC e TC, apresentaram comportamento estatisticamente diferente ( $p < 0,05$ ), sendo maiores que o controle nos dias de análise.

**Tabela 1F.** Trienos conjugados (Abs/ mg de lipídio/ 3 mL de ciclohexano) em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperatura, durante armazenamento de 29 dias a 4°C (±1).

Experimento	Dia 1	Dia 15	Dia 29
<b>E1- 20'' 18°C</b>			
AEA	19,25 <sup>aAB</sup> (1,05)	19,66 <sup>aA</sup> (1,12)	16,16 <sup>aB</sup> (2,40)
AEFA	18,65 <sup>aA</sup> (2,38)	20,83 <sup>aA</sup> (2,25)	14,56 <sup>aB</sup> (1,03)
AEB	17,96 <sup>aA</sup> (2,61)	21,42 <sup>aA</sup> (2,04)	17,56 <sup>aA</sup> (1,61)
Controle	18,06 <sup>aB</sup> (1,78)	22,12 <sup>aA</sup> (0,99)	17,06 <sup>aB</sup> (1,17)
<b>E2- 20'' 30°C</b>			
AEA	41,87 <sup>aA</sup> (9,31)	13,92 <sup>bB</sup> (1,50)	0,91 <sup>bC</sup> (0,26)
AEFA	25,75 <sup>bA</sup> (7,61)	14,92 <sup>abA</sup> (2,64)	2,83 <sup>bB</sup> (0,61)
AEB	17,32 <sup>bA</sup> (4,02)	21,52 <sup>aA</sup> (2,18)	3,20 <sup>bB</sup> (0,42)
Controle	27,12 <sup>bA</sup> (3,47)	18,04 <sup>abAB</sup> (5,59)	8,58 <sup>aB</sup> (4,28)
<b>E3- 40'' 18°C</b>			
AEA	18,94 <sup>aB</sup> (0,92)	16,00 <sup>cC</sup> (0,68)	22,50 <sup>aA</sup> (1,20)
AEFA	18,12 <sup>aB</sup> (0,50)	22,41 <sup>bA</sup> (2,08)	20,70 <sup>aAB</sup> (1,87)
AEB	20,10 <sup>aA</sup> (2,36)	22,05 <sup>bA</sup> (0,15)	21,40 <sup>aA</sup> (1,65)
Controle	20,79 <sup>aB</sup> (2,70)	24,73 <sup>aA</sup> (0,30)	21,30 <sup>aB</sup> (0,79)
<b>E4- 40'' 30°C</b>			
AEA	15,64 <sup>bA</sup> (1,46)	12,05 <sup>bB</sup> (1,25)	12,71 <sup>aB</sup> (0,53)
AEFA	18,73 <sup>aA</sup> (1,13)	18,88 <sup>aA</sup> (1,57)	12,50 <sup>aB</sup> (0,44)
AEB	16,68 <sup>bA</sup> (0,59)	10,61 <sup>bB</sup> (0,23)	14,92 <sup>aA</sup> (2,87)
Controle	15,90 <sup>bA</sup> (0,11)	11,36 <sup>bA</sup> (1,66)	14,28 <sup>aA</sup> (4,21)

**Nota:**As letras minúsculas/maiúsculas diferentes nas colunas/linhas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) dentro do mesmo experimento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão).

Os DC e TC são produtos de oxidação primária de lipídios (LAGUERRE; LECOMTE; VILLENEUVE, 2007), e para ocorrer a formação desses compostos é preciso que haja deslocamento de duas ou três ligações duplas na molécula de ácido graxo. Este fato ocorre quando há a abstração de um átomo de hidrogênio da molécula, com posterior ressonância em conjugações de ligas duplas ou triplas (figura 1a). A carne suína foi a escolhida em virtude de conter ácidos graxos insaturados como oleico, linoleico (BRAGAGNOLO & RODRIGUEZ-AMAYA, 2002) que são susceptíveis à ação dos compostos oxidantes, tal como Cl<sub>2</sub>, HCl, HOCl presentes na AEA e AEFA.



**Figura 1a.** Formação de DC e TC.

No 29º dia de armazenamento nos tratamentos E2 e E3, as carnes suínas tratadas com AEFA apresentaram valores de DC significativamente ( $p < 0,05$ ) menores do que o do controle, indicando rearranjo destas moléculas durante o período de armazenamento e formação de novos constituintes de oxidação secundária ou compostos avançados de oxidação (KUBOW, 1992) em virtude que o processo de oxidação é dinâmico.

As AE que contém espécies de cloro com atividade oxidante (AEA e AEFA), possuem em geral comportamento diferente da AEB, sendo que esta segue comportamento mais semelhante ao controle, como pode ser verificado em E3 e E4 para DC (tabela 1E) e TC (tabela 1F), o qual estes dois tratamentos apresentaram igualdade estatística ( $p > 0,05$ ) tanto entre os dias, quanto no mesmo dia entre os diferentes tratamentos. Estes resultados estão de acordo com KANAOKA (2001), o qual verificou que a AEB foi capaz de sequestrar substâncias oxidantes, tal como o peróxido de hidrogênio, e isto poderia proteger a carne da ação de espécies oxidantes.

No E1 para DC (tabela 1E) e TC (1F) em todos dias analisados, não foi observado nenhum efeito dos diferentes tipos de AE utilizados, demonstrando que o tempo empregado nesse experimento (20 segundos) e a temperatura de aplicação ( $18^{\circ}\text{C}$ ), não interferiram na carne.

Um comportamento indesejável esperado, porém não apresentado em nenhum dos experimentos nas análises de oxidação primária (tabela 1G), foi o aumento rápido e muito superior ao controle dos tratamentos com AEA e AEFA por

causa da presença de espécies oxidantes como  $\text{Cl}_2$  e  $\text{HOCl}$ . Este resultado está de acordo com o relatado por CHEN *et al* (2015), que trataram carne de peixe com AEFA contendo 27,3 mg/L de  $\text{Cl}_2$  e pH 5,50 por imersão durante 5 minutos à 25 °C e 100 rpm de agitação, no qual o tratamento apresentou resultados que acompanharam o controle nos valores de peróxidos (nos experimentos realizados foram exceções o dia 1 E4, dia 15 E1 e E3, e dia 29 E4) durante o armazenamento por 18 dias à 4°C. O efeito tampão frente ao HCl, conforme relato de TAN, LEE e DYKES (2014), poderia ser um mecanismo de proteção intrínseca da carne contra a oxidação. Este fato torna-se importante principalmente nesta análise de peróxidos, uma vez que este tipo de composto possui atividade biológica negativa nos organismos vivos (KUBOW, 1992).

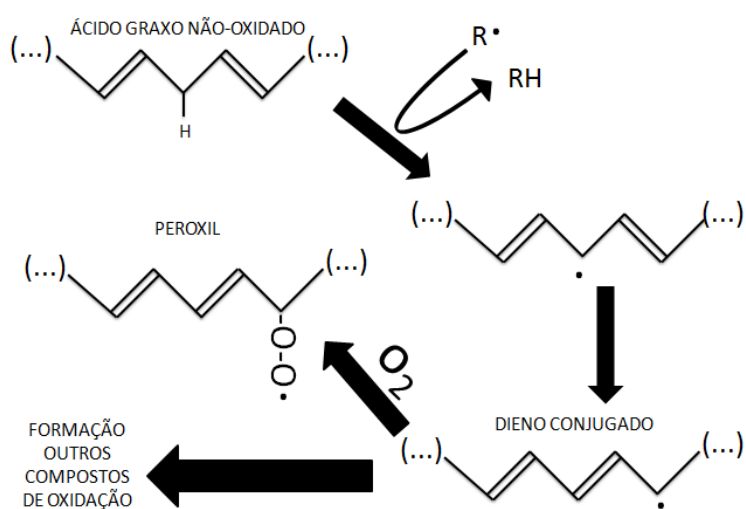
A formação dos peróxidos nos pedaços de carnes tratados com AEB apresentaram comportamento semelhante ao controle em todos os experimentos realizados, durante todo o período avaliado, onde os valores não aumentaram muito (tabela 1G).

**Tabela 1G.** Peróxidos (miliequivalentes de peróxidos/ Kg de amostra) em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperatura, durante armazenamento de 29 dias a 4°C ( $\pm 1$ ).

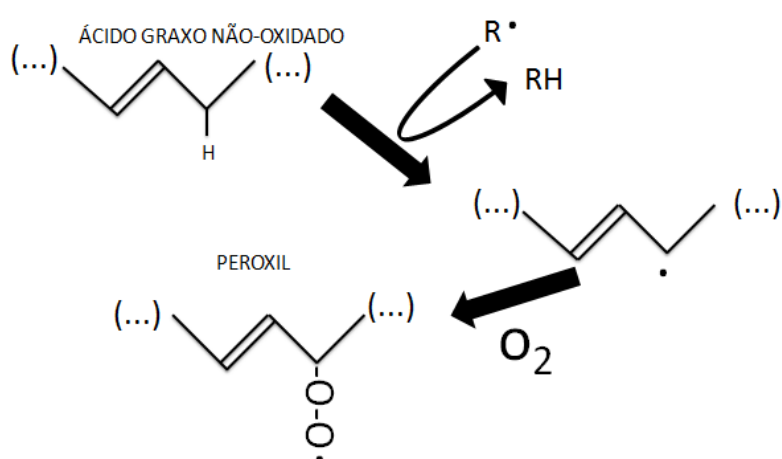
Experimento	Dia 1	Dia 15	Dia 29
<b>E1- 20'' 18°C</b>			
AEA	0,249 <sup>ab</sup> (0,063)	0,534 <sup>aA</sup> (0,159)	0,182 <sup>aB</sup> (0,028)
AEFA	0,274 <sup>ab</sup> (0,072)	0,578 <sup>aA</sup> (0,105)	0,207 <sup>aB</sup> (0,066)
AEB	0,188 <sup>aA</sup> (0,053)	0,279 <sup>bA</sup> (0,063)	0,162 <sup>aA</sup> (0,060)
Controle	0,158 <sup>aA</sup> (0,050)	0,275 <sup>bA</sup> (0,122)	0,188 <sup>aA</sup> (0,050)
<b>E2- 20'' 30°C</b>			
AEA	0,013 <sup>aB</sup> (0,012)	0,603 <sup>aAB</sup> (0,336)	0,998 <sup>abA</sup> (0,005)
AEFA	0,014 <sup>aC</sup> (0,007)	0,376 <sup>aB</sup> (0,077)	0,911 <sup>bA</sup> (0,099)
AEB	0,007 <sup>aB</sup> (0,001)	0,358 <sup>aB</sup> (0,150)	1,171 <sup>abA</sup> (0,288)
Controle	0,012 <sup>aB</sup> (0,005)	0,365 <sup>aB</sup> (0,117)	1,466 <sup>aA</sup> (0,219)
<b>E3- 40'' 18°C</b>			
AEA	0,084 <sup>aB</sup> (0,028)	0,303 <sup>aA</sup> (0,054)	0,284 <sup>aA</sup> (0,088)
AEFA	0,061 <sup>aB</sup> (0,022)	0,104 <sup>cB</sup> (0,010)	0,267 <sup>aA</sup> (0,074)
AEB	0,077 <sup>aB</sup> (0,025)	0,173 <sup>bcA</sup> (0,009)	0,118 <sup>bAB</sup> (0,039)
Controle	0,087 <sup>aB</sup> (0,067)	0,263 <sup>abA</sup> (0,064)	0,195 <sup>abAB</sup> (0,047)
<b>E4- 40'' 30°C</b>			
AEA	0,022 <sup>bB</sup> (0,000)	0,467 <sup>aA</sup> (0,134)	0,179 <sup>bB</sup> (0,059)
AEFA	0,010 <sup>bC</sup> (0,009)	0,075 <sup>bB</sup> (0,001)	0,114 <sup>bA</sup> (0,019)
AEB	0,037 <sup>bB</sup> (0,013)	0,283 <sup>abA</sup> (0,149)	0,201 <sup>bAB</sup> (0,050)
Controle	0,151 <sup>aB</sup> (0,057)	0,266 <sup>abAB</sup> (0,103)	0,353 <sup>aA</sup> (0,076)

**Nota:** As letras minúsculas/maiúsculas diferentes nas colunas/linhas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) dentro do mesmo experimento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão).

Nos tratamentos com AEA (E1 e E4) e com AEFA (E1), os valores de peróxidos aumentaram significativamente ( $p < 0,05$ ) entre o dia 1 ao dia 15, e diminuíram entre o dia 15 ao dia 29, formando uma espécie de curva em “sino”. Este comportamento de queda justifica-se em virtude destas espécies combinarem-se com outros ácidos graxos e outros peróxidos (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010a). O HOCl tem característica de atacar ácidos graxos poli-insaturados e estes formarem DC (figura 1b), bem como atacar os ácidos graxos mono-insaturados para formarem peróxidos (figura 1c).



**Figura 1b.** Formação de peróxidos à partir de poli-insaturados.



**Figura 1c.** Formação de peróxidos à partir de ácidos graxos mono-insaturados.

Uma vez que os peróxidos podem provir de duas rotas (figura 14 e 15), e analisando-se os valores obtidos nas tabelas 1E e 1G, a AEFA por conter HOCl,

possui maior ação oxidativa em ácidos graxos poli-insaturados. Isto está de acordo com a literatura, pois quanto mais insaturações o ácido graxo apresenta, maior é sua reatividade com radicais livres e moléculas quimicamente reativas (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010a). MAHMOUD *et al* (2006) ao aplicarem AEA (pH 2,22 e 40 mg/ de Cl<sub>2</sub>) em peixe por 15 minutos sob a forma de imersão e posterior conservação à 5°C, verificaram que este tratamento ao longo do experimento seguia comportamento semelhante ao controle, assim como no E3 (figura 1G)

A tabela 1H trás os resultados do teste de TBARS, e analisando-a é possível verificar que no dia 1 em E1, E2 e E4 os valores de TBARS dos tratamentos não diferiram significativamente ( $p>0,05$ ) do controle. No E3 até o 15° dia de armazenamento, os tratamentos com os diferentes tipos de AE utilizadas apresentaram valores de TBARS significativamente menores ( $P<0,05$ ) do que os controle (tabela 1H). RAHMAN *et al* (2012b) encontraram resultados diferentes do encontrado em E3 no dia 1, quando aplicaram AEA (com 50 mg/L de Cl<sub>2</sub>) e AEFA (10 mg/L de Cl<sub>2</sub>) em peito de frango imersos por 10 minutos, não havendo diferença significativa nos tratamentos até o 4° dia de armazenamento à 4°C em embalagem aeróbia.

Em carne de porco tratada por imersão em AEA e AEFA, com 50 e 10 mg/L de Cl<sub>2</sub> à 23 °C, RAHMAN, WANG e OH (2013), não encontraram diferença estatística dos tratamentos e o controle até o 6° dia de armazenamento à 4°C em embalagem aeróbia. No entanto à partir destes dias, o controle começou à apresentar valores de TBARS maiores que os tratados com AEA e AEFA, o que aconteceu nos experimentos E1 (dia 29), E3 (no dia 1 e 15), e no E4 (no dia 29 tabela 1H), e desde o início no E3. Neste trabalho, os autores não chegaram à discutir possíveis mecanismos que poderiam justificar este fato. O tratamento de carne de porco com lactato de potássio apresentou valores de TBARS maiores ( $p<0,05$ ) que o controle até o 11° dia de armazenamento à 2°C em embalagem aeróbia (TAN & SHELEF, 2002), diferente do tratamento com AEA em lombo suíno, que no dia 15 do E3 e E4, apresentaram valores iguais ou menores que o controle.

**Tabela 1H.** TBARS (mg MDA/Kg de amostra) em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperatura, durante armazenamento de 29 dias a 4°C ( $\pm 1$ ).

Experimento	Dia 1	Dia 15	Dia 29
<b>E1- 20'' 18°C</b>			
AEA	0,025 <sup>aB</sup> (0,028)	0,406 <sup>aA</sup> (0,082)	0,281 <sup>cA</sup> (0,040)
AEFA	0,033 <sup>aB</sup> (0,014)	0,311 <sup>abA</sup> (0,089)	0,198 <sup>cA</sup> (0,017)
AEB	0,037 <sup>aC</sup> (0,028)	0,307 <sup>abB</sup> (0,030)	0,627 <sup>bA</sup> (0,104)
Controle	0,010 <sup>aC</sup> (0,002)	0,261 <sup>bB</sup> (0,037)	1,131 <sup>aA</sup> (0,174)
<b>E2- 20'' 30°C</b>			
AEA	0,286 <sup>aA</sup> (0,005)	0,252 <sup>bcAB</sup> (0,063)	0,137 <sup>aB</sup> (0,017)
AEFA	0,124 <sup>aB</sup> (0,061)	0,506 <sup>aA</sup> (0,131)	0,051 <sup>bB</sup> (0,028)
AEB	0,217 <sup>aB</sup> (0,020)	0,294 <sup>bA</sup> (0,001)	0,157 <sup>aC</sup> (0,022)
Controle	0,321 <sup>aA</sup> (0,167)	0,110 <sup>cA</sup> (0,025)	0,135 <sup>aA</sup> (0,006)
<b>E3- 40'' 18°C</b>			
AEA	0,235 <sup>bA</sup> (0,061)	0,173 <sup>bA</sup> (0,081)	0,385 <sup>aA</sup> (0,130)
AEFA	0,165 <sup>bB</sup> (0,092)	0,202 <sup>bAB</sup> (0,040)	0,315 <sup>aA</sup> (0,017)
AEB	0,331 <sup>abA</sup> (0,125)	0,202 <sup>bA</sup> (0,040)	0,312 <sup>aA</sup> (0,057)
Controle	0,424 <sup>aA</sup> (0,029)	0,404 <sup>aA</sup> (0,000)	0,385 <sup>aA</sup> (0,021)
<b>E4- 40'' 30°C</b>			
AEA	0,178 <sup>aA</sup> (0,016)	0,063 <sup>aB</sup> (0,032)	0,265 <sup>cA</sup> (0,066)
AEFA	0,226 <sup>aAB</sup> (0,032)	0,151 <sup>aB</sup> (0,150)	0,345 <sup>bcA</sup> (0,037)
AEB	0,226 <sup>aB</sup> (0,008)	0,102 <sup>aB</sup> (0,064)	0,438 <sup>abA</sup> (0,108)
Controle	0,257 <sup>aB</sup> (0,098)	0,110 <sup>aB</sup> (0,076)	0,504 <sup>aA</sup> (0,036)

**Nota:** As letras minúsculas/maiúsculas diferentes nas colunas/linhas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) dentro do mesmo experimento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão).

Os tratamentos com AEFA no E2 apresentaram aumento entre o dia 1 e 15 e queda entre os dias 15 e 29. Este comportamento pode ser explicado pois à medida que o Malonaldeído (MDA) é formado, ele pode combinar-se com outras substâncias presentes no meio, como aminas e o próprio grupamento tiol da cisteína (ESTERBAUER; SCHAUR; ZOLLNER, 1991).

O dia 29 no experimento 1 apresentou os maiores valores de TBARS entre todos os experimentos realizados (tabela 1H), indicando que o estado de rancidez oxidativa das amostras estava avançado. CAMPO *et al* (2006) relataram que quanto maior é valor de TBARS, maior é a rancidez e menor é o cheiro característico de carne. O valor de 2,28 mg MDA/Kg de amostra foi caracterizado como o ponto em que o cheiro de ranço sobressai o cheiro de carne.

O experimento onde ocorreu melhor efeito dos diferentes tipos de AE utilizadas (AEA, AEFA e AEB) frente à TBARS foi o E3, uma vez que até o 15° dia de armazenamento, os valores foram significativamente ( $p < 0,05$ ) menores em relação ao grupo controle (tabela 1H).

Os tratamentos com AEA e AEFA no experimento E3 além de bons resultados em mesófilos, bactérias lácticas e *Enterobacteriaceas*. Houve ainda o benefício de AEB não promover a oxidação lipídica. A maior quantidade de AE aplicada além de ter melhores efeitos em bactérias, mostrou efeito “protetor” às amostras, pelo menos no que refere-se à produtos mais avançados de oxidação em comparação à DC e TC, sem do que estes sofreram um pequeno aumento quando AEA e AEFA foram aspergidas.

#### 4.2.4 Oxidações proteicas

As análises de oxidação proteica estão representadas nas tabelas 1I e 1J, com carbonil e tiol respectivamente. Os tratamentos AEA (E1, E2 e E4) e AEFA (E4) apresentaram maiores valores de carbonil em relação ao controle (tabela 1I). Este comportamento seria decorrente das espécies moleculares (HCl, Cl<sub>2</sub>, HOCl) presentes nestes tipos de AE, que favorecem a oxidação e conseqüentemente a produção de carbonil proteico (STADTMAN & LEVINE, 2003). A formação de carbonil possui algumas vias de formação, como a fragmentação proteica, ligação com compostos provenientes de oxidação lipídica (ZHANG; XIAO; AHN, 2013), oxidação direta do aminoácido proteico (STADTMAN & LEVINE, 2003).

O caráter antioxidante da AEB (LEE *et al*, 2006) foi verificado em todos os experimentos, decorrente que a média de compostos carbonílicos formados ao longo do período de armazenamento foi menor do que a do controle e dos demais tratamentos. Isso demonstra que a AEB remove maior quantidade de substância na superfície da carne, diretamente expostas à oxidação e possibilita menores valores de carbonil. Essa ação também estaria relacionada ao OH e H<sub>2</sub> presentes na AEB que anulariam o efeito oxidante do OCl<sup>-</sup> também presente nesse tipo de AE, mesmo que em baixa concentração. E isto seria benéfico, uma vez que a oxidação ocasionaria características indesejáveis na carne (ESTÉVEZ, 2011).



**Tabela 1I.** Valores de carbonil (nanomol de DNPH/ mg de proteína) em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperatura, durante armazenamento de 29 dias a 4°C ( $\pm$ 1).

<b>Experimento</b>	<b>Dia 1</b>	<b>Dia 15</b>	<b>Dia 29</b>
<b>E1- 20'' 18°C</b>			
AEA	8,15 <sup>aA</sup> (0,65)	10,57 <sup>aA</sup> (2,46)	6,40 <sup>aA</sup> (0,49)
AEFA	4,96 <sup>bB</sup> (0,53)	8,71 <sup>abA</sup> (0,80)	6,44 <sup>abB</sup> (1,26)
AEB	1,75 <sup>cB</sup> (0,75)	6,29 <sup>bA</sup> (1,91)	5,35 <sup>aA</sup> (0,39)
Controle	2,49 <sup>cB</sup> (0,61)	7,42 <sup>abA</sup> (1,07)	5,60 <sup>aA</sup> (1,05)
<b>E2- 20'' 30°C</b>			
AEA	9,29 <sup>abB</sup> (0,44)	10,47 <sup>aA</sup> (0,04)	5,33 <sup>bC</sup> (0,32)
AEFA	5,77 <sup>bB</sup> (0,81)	9,81 <sup>aA</sup> (0,78)	6,28 <sup>bB</sup> (1,69)
AEB	3,93 <sup>bB</sup> (0,91)	8,27 <sup>abA</sup> (0,96)	0,47 <sup>cC</sup> (0,52)
Controle	5,07 <sup>bA</sup> (0,32)	6,04 <sup>bA</sup> (2,74)	8,86 <sup>aA</sup> (0,86)
<b>E3- 40'' 18°C</b>			
AEA	4,75 <sup>aAB</sup> (0,46)	6,65 <sup>aA</sup> (2,17)	3,14 <sup>abB</sup> (0,89)
AEFA	5,60 <sup>aA</sup> (1,34)	6,16 <sup>aA</sup> (3,53)	6,24 <sup>aA</sup> (2,85)
AEB	3,27 <sup>aA</sup> (1,64)	4,01 <sup>aA</sup> (2,10)	6,97 <sup>aA</sup> (2,06)
Controle	4,32 <sup>aA</sup> (1,87)	5,42 <sup>aA</sup> (1,17)	6,42 <sup>aA</sup> (2,51)
<b>E4- 40'' 30°C</b>			
AEA	4,67 <sup>aA</sup> (0,45)	8,83 <sup>aA</sup> (4,40)	9,09 <sup>aA</sup> (2,95)
AEFA	6,09 <sup>aA</sup> (0,09)	5,40 <sup>aA</sup> (3,11)	4,45 <sup>bA</sup> (0,98)
AEB	2,86 <sup>bA</sup> (0,18)	5,10 <sup>aA</sup> (2,56)	3,94 <sup>bA</sup> (0,32)
Controle	2,55 <sup>bB</sup> (1,54)	8,45 <sup>aA</sup> (0,28)	8,08 <sup>abA</sup> (2,37)

**Nota:** As letras minúsculas/maiúsculas diferentes nas colunas/linhas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) dentro do mesmo experimento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão).

No dia 15 os valores de carbonil nos pedaços de carnes tratados com AEA (E1 e E2) e AEFA (E2) foram significativamente ( $p < 0,05$ ) maiores que os valores do controle (tabela 1I). Do dia 15 ao dia 29, os valores de carbonil dos experimentos E1, E2 e E3 diminuíram, e isso é decorrente de reações do grupo carbonil com ligações inter e intra proteína (PATTISON; RAHMANTO; DAVIES, 2012) e grupos moleculares como aminas.

AEA e AEFA favoreceram a formação de carbonil praticamente somente no dia 1, sendo a formação diminuída no dia 15 (tabela 1I). Este fato colabora com a ideia de que os diferentes tipos de águas eletrolisadas utilizados (AEA, AEFA) possuem um efeito momentâneo, ou seja, apresentam atividade no momento de aplicação, quando ocorre o consumo de cloro e atividade, e este efeito instalado é o melhor possível, inviabilizando o efeito durante o tempo, como ocorre com ácidos orgânicos e os conservantes artificiais. AEB apresenta comportamento semelhante ao controle, indicando que este tratamento não afetou a proteína, o que está de

acordo com LEE *et al* (2006) além de poder intervir em agentes oxidantes e assim funcionar como um agente anti-oxidante (KANAOKA *et al* 2004).

No dia 1 em E2, E3 e E4 não ocorreu diferença significativa ( $p>0,05$ ) nos valores de tiol em relação ao tratamento controle, com os três diferentes tipos de AE utilizados (tabela 1J).

**Tabela 1J.** Valores de tiol (nanomol de SH/ mg de proteína) em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperatura, durante armazenamento de 29 dias a 4°C ( $\pm 1$ ).

Experimento	Dia 1	Dia 15	Dia 29
<b>E1- 20'' 18°C</b>			
AEA	112,13 <sup>bA</sup> (4,19)	117,10 <sup>aA</sup> (8,08)	114,93 <sup>aA</sup> (15,28)
AEFA	126,38 <sup>abA</sup> (3,33)	118,00 <sup>aA</sup> (0,81)	123,46 <sup>aA</sup> (5,98)
AEB	132,09 <sup>aA</sup> (3,01)	121,55 <sup>ab</sup> (8,98)	116,19 <sup>ab</sup> (1,05)
Controle	132,37 <sup>aA</sup> (18,56)	118,01 <sup>aA</sup> (5,31)	110,63 <sup>aA</sup> (8,57)
<b>E2- 20'' 30°C</b>			
AEA	112,43 <sup>aA</sup> (3,18)	118,33 <sup>bA</sup> (1,04)	102,46 <sup>bB</sup> (2,54)
AEFA	118,21 <sup>aA</sup> (2,70)	127,10 <sup>abA</sup> (4,84)	118,97 <sup>aA</sup> (3,92)
AEB	121,59 <sup>aA</sup> (6,71)	127,78 <sup>abA</sup> (6,41)	99,08 <sup>bB</sup> (5,94)
Controle	123,09 <sup>ab</sup> (1,05)	132,52 <sup>aA</sup> (3,23)	121,16 <sup>ab</sup> (3,63)
<b>E3- 40'' 18°C</b>			
AEA	110,17 <sup>aA</sup> (8,83)	109,97 <sup>bA</sup> (6,58)	115,68 <sup>aA</sup> (3,56)
AEFA	106,33 <sup>aA</sup> (11,80)	112,73 <sup>bA</sup> (5,34)	119,28 <sup>aA</sup> (4,03)
AEB	122,40 <sup>aA</sup> (2,33)	129,11 <sup>aA</sup> (6,40)	124,49 <sup>aA</sup> (1,20)
Controle	120,63 <sup>aA</sup> (11,80)	118,22 <sup>abA</sup> (9,97)	118,80 <sup>aA</sup> (11,63)
<b>E4- 40'' 30°C</b>			
AEA	114,68 <sup>aA</sup> (2,78)	104,87 <sup>bA</sup> (4,98)	89,39 <sup>bB</sup> (6,26)
AEFA	118,72 <sup>aA</sup> (11,22)	110,37 <sup>abA</sup> (12,53)	114,49 <sup>aA</sup> (4,72)
AEB	111,02 <sup>aA</sup> (16,19)	129,28 <sup>aA</sup> (15,99)	107,33 <sup>aA</sup> (10,08)
Controle	131,83 <sup>aA</sup> (15,15)	118,45 <sup>abA</sup> (8,29)	113,57 <sup>aA</sup> (5,59)

**Nota:** As letras minúsculas/maiúsculas diferentes nas colunas/linhas indicam diferença estatística ( $p<0,05$ ) dentro do mesmo experimento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão).

Em todos os experimentos realizados, nos dias 1, 15 e 29, os pedaços de lombo tratados com AEA e AEFA apresentaram o menor valor de média do tiol, enquanto que os tratados com a AEB apresentaram o maior valor de média, semelhante ao tratamento controle (tabela 1J).

Presente nos aminoácidos metionina e cisteína, o enxofre é formador do grupamento tiol, sendo muito reativo frente à substâncias oxidantes (BIRBEN *et al*, 2012), como as presentes em AEA (HCl, Cl<sub>2</sub>) e AEFA (HOCl) (HAWKINS; PATTISON; DAVIES, 2003) mas no fim, os produtos formados são similares (ZHANG; XIAO; AHN, 2013) (figura 7, p. 17) como na formação de dissulfeto ou

produtos de quebra molecular como compostos sulfurados (GAONKAR & McPHERSON, 2005). KERKAERT *et al* (2011) ao estudarem a influência de HOCl em proteínas como a caseína verificaram que cisteína, metionina e triptofano foram os aminoácidos mais susceptíveis à oxidação, e este ácido conduziu à agregação proteica através de ligações dissulfeto (-S-S-) entre aminoácidos ao longo da cadeia proteica e entre cadeia proteicas (ver figura 7, p. 17), sendo este um dos motivos também da diminuição do grupamento tiol afetado por agentes oxidantes.

Assim como ocorreu com o grupo carbonil (tabela 1I) a AEB apresentou comportamento semelhante ao tratamento controle no estudo do tiol, decorrente de sua capacidade “protetora” frente aos grupamentos reativos proteicos.

As análises de carbonil e tiol são inversamente proporcionais quanto ao estado oxidativo proteico, sendo que quanto maior o carbonil e menor for o valor de tiol, mais avançado o estado oxidativo, como mostrado por DALLE-DONNE *et al* (2001) ao colocarem em contato HOCl e actina purificada durante 30 minutos sobre concentrações crescentes de agente oxidante.

O tiol é um grupamento muito importante no balanço oxidativo de proteínas e enzimas, visto que está presente em algumas enzimas envolvidas em mecanismos antioxidantes, tal como a glutatona (GSH). Quando a GSH entra em atividade, ela se oxida doando átomos de hidrogênio para estabilizar radicais livres, ficando na forma de glutatona reduzida (GSSG), que poderá ser reestabelecida pelo aporte de hidrogênios provindo de moléculas tais como o NADPH (MEISTER, 2013). Levando-se em conta esta linha de pensamento, proteínas que contém o grupamento tiol, presentes na carne suína poderiam ter uma capacidade intrínseca de defesa contra o ataque de agentes oxidantes. Sendo assim, a oxidação causada pela AEA e AEFA à carne submetidas à aplicação de spray poderia ser muito maior, mas este fato não ocorreu.

A ideia que se cria então ao analisar-se os dados em conjunto, tanto de oxidações lipídicas como oxidações proteicas é de que a forte atividade oxidante que a AEA e AEFA possuem (POR > 800 mV) não seriam capazes de estimular as oxidações lipídicas e a produção de compostos avançados de oxidações, como o MDA, afetando aparentemente a oxidação lipídica em etapas mais iniciais, como aconteceu com com DC e TC, assim como teriam pouco efeito em proteínas. Estes efeitos no entanto estão situados na superfície da carne, pois foi o local de coleta, não afetando em princípio, locais onde a AE não entra em contato, o que é muito

bom para o tratamento. A AEB pode ter um comportamento de não acelerar as oxidações, possivelmente porque além da presença de  $H_2$ , o NaOH pode saponificar ácidos graxos (SASSER, 1990) disponíveis na superfície, e estes em sequência possivelmente sejam lixiviados da superfície da carne suína. Desta maneira, essa parcela de lipídios oxidados não são contabilizados, o que poderia superestimar o resultado.

#### 4.2.5 pH e POR

O pH é um importante indicativo de qualidade de carnes. Nos experimentos, de maneira geral notou-se que o pH da AE (AEA, AEFA e AEB com aproximadamente pH 2,60, 6,20 e 11,50 respectivamente) não influenciou no pH de superfície da carne 24 horas após aplicadas sob a forma de spray, variando entre 5,5-5,75 (tabela 1K), sendo estes valores normais para carne suína neste tempo de abate (GOMIDE; RAMOS; FONTES, 2013). Este fato é importante, uma vez que HOCl e HCl diluídos estão presentes em AEFA e AEA, e na AEB, hipoclorito (RAHMAN; DING; OH, 2010) e NaOH diluído. Como o pH não muda, possibilita manutenção de características organolépticas intrínsecas e desejáveis da carne, tal como a cor, entre outras.

No dia 15, os valores de pH das carnes tratadas com AE permaneceram praticamente os mesmos do dia 1, sem diferir estatisticamente ( $p > 0,05$ ) do controle. Este é um indicativo que os diferentes tipos de AE não alteraram o pH da carne. Esses valores de pH apresentados pelas carnes tratadas com diferentes tipos de AE são menores do que normalmente se encontram após esse mesmo tempo de armazenamento, onde autores mencionam valores acima de 6,0 inclusive até no 6º dia de armazenamento sob condições aeróbias à 4°C (RAHMAN *et al*, 2013). Um fator que pode ter influenciado para que os valores de pH não variassem muito são o grande número de colônias de bactérias lácticas encontradas nesse dia nos pedaços de carnes tratados com AE (figura 1A).

**Tabela 1K.** Valores de pH em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperatura, durante armazenamento de 29 dias a 4°C ( $\pm 1$ ).

Experimento	Dia 1	Dia 15	Dia 29
<b>E1- 20'' 18°C</b>			
AEA	5,60 <sup>aA</sup> (0,03)	5,55 <sup>aA</sup> (0,03)	5,60 <sup>aA</sup> (0,05)
AEFA	5,61 <sup>aA</sup> (0,01)	5,56 <sup>aA</sup> (0,03)	5,40 <sup>bB</sup> (0,05)
AEB	5,59 <sup>aA</sup> (0,02)	5,56 <sup>aA</sup> (0,01)	5,52 <sup>abA</sup> (0,14)
Controle	5,58 <sup>aA</sup> (0,01)	5,56 <sup>aA</sup> (0,06)	5,55 <sup>abA</sup> (0,05)
<b>E2- 20'' 30°C</b>			
AEA	5,50 <sup>aA</sup> (0,03)	5,51 <sup>aA</sup> (0,06)	5,52 <sup>aA</sup> (0,04)
AEFA	5,56 <sup>aA</sup> (0,03)	5,55 <sup>aA</sup> (0,02)	5,49 <sup>aA</sup> (0,10)
AEB	5,54 <sup>aA</sup> (0,01)	5,50 <sup>aA</sup> (0,05)	5,52 <sup>aA</sup> (0,04)
Controle	5,51 <sup>aA</sup> (0,02)	5,61 <sup>aA</sup> (0,09)	5,50 <sup>aA</sup> (0,06)
<b>E3- 40'' 18°C</b>			
AEA	5,69 <sup>aA</sup> (0,09)	5,68 <sup>aA</sup> (0,10)	5,71 <sup>aA</sup> (0,25)
AEFA	5,70 <sup>aA</sup> (0,00)	5,64 <sup>aA</sup> (0,03)	5,61 <sup>aA</sup> (0,04)
AEB	5,75 <sup>aA</sup> (0,03)	5,68 <sup>aA</sup> (0,03)	5,98 <sup>aA</sup> (0,49)
Controle	5,63 <sup>aA</sup> (0,06)	5,80 <sup>aA</sup> (0,21)	5,89 <sup>aA</sup> (0,27)
<b>E4- 40'' 30°C</b>			
AEA	5,68 <sup>aB</sup> (0,07)	5,55 <sup>aB</sup> (0,01)	5,92 <sup>aA</sup> (0,10)
AEFA	5,74 <sup>aA</sup> (0,00)	5,72 <sup>aA</sup> (0,20)	5,89 <sup>aA</sup> (0,06)
AEB	5,66 <sup>aA</sup> (0,02)	5,65 <sup>aA</sup> (0,11)	5,84 <sup>aA</sup> (0,23)
Controle	5,71 <sup>aA</sup> (0,04)	5,63 <sup>aA</sup> (0,11)	5,81 <sup>aA</sup> (0,14)

**Nota:** As letras minúsculas/maiúsculas diferentes nas colunas/linhas indicam diferença estatística ( $P < 0,05$ ) dentro do mesmo experimento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão).

Nos E3 e E4 os valores de pH entre o dia 15 e o dia 29 aumentaram, porém de maneira não significativa ( $p > 0,05$ ), enquanto que nos experimentos E1 e E2 os valores foram praticamente os mesmos (tabela 1K). Essa pouca variação de pH ocorrida em E1 e E2, pode estar relacionada à produção de ácidos orgânicos pelas bactérias lácticas (LEVERING *et al*, 2012). Nestes dois experimentos não foram realizadas as análises de bactérias ácido lácticas, mas esses dados colaboraram para a inserção de dois novos grupos de bactérias durante os testes (bactérias ácido lácticas e *Enterobacteriaceae*).

No E4, o tratamento com AEA teve um pequeno aumento numérico do pH no tempo, passando de um valor médio de 5,60 para 5,92. Este fato pode estar relacionado com a produção de compostos aminados provenientes de proteólise causada por bactérias psicrótróficas (tabela 1C) tal como as do gênero *Pseudomonas* (FORSYTHE, 2013). Isso pode ter ocorrido nos demais experimentos, mas como ocorreu grande desenvolvimento das bactérias lácticas, o ácido produzido pelas mesmas, deve ter tido maior influência no resultado final do que a ação

proteolítica. RAHMAN *et al* (2012b) verificaram que o tratamento de peitos de frango por imersão em AEA contendo 50 mg/L de  $\text{Cl}_2$  e pH 2,54 manteve menor o pH da carne tratada em relação ao controle durante os 10 dias de armazenamento à 5°C. Este comportamento foi diferente do encontrado em carne suína, pois os valores de pH das carnes tratadas com os diferentes tipos de AE não diferiram significativamente ( $p>0,05$ ) dos valores do controle (tabela 1K).

A evolução do POR não é comumente avaliado em carnes, assim não foram encontrados trabalhos para discutir os resultados. Sua evolução é importante, pois estes valores indicam os tipos de reações que estão ocorrendo na carne (JAY, 2005), susceptíveis aos compostos presentes no meio, tal como ácidos orgânicos, produtos de metabolismo de bactérias, proteólise, entre outros. E uma vez que com o passar do tempo, os mV da carne passam de positivos para negativos, ou seja, a oxidação está aumentando.

O POR não apresentou o mesmo comportamento nos quatro experimentos realizados, podendo ser dividido em dois grupos (1° grupo com E1 e E2 e 2° grupo com E3 e E4). No dia 1, nos experimentos E1 e E2, o tratamento AEB apresentou valores significativamente ( $p<0,05$ ) menores dos demais tratamentos. No E1 esse comportamento persistiu no dia 15, porém somente em relação ao tratamento com AEA, enquanto que no dia 29 não houve diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos aplicados. Esses menores valores de POR apresentados pelas carnes suínas tratadas com AEB poderiam estar relacionadas com o valor de POR da AEB que foi de -884 mv no E1 e de -870 mv no E2 (tabela 1A). Mas provavelmente o motivo seja o valor de POR da própria carne, uma vez que no E2 não ocorreu diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre o tratamento com AEB e o controle (tabela 1L).

Essa diminuição nos valores de POR no tempo podem indicar também que vários compostos presentes na carne tenham recebido elétrons e assim oxidaram, o que acontece com carnes através do seu tempo de armazenamento (JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005)

**Tabela 1L.** Valores de potencial redox (POR em mV) em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperatura, durante armazenamento de 29 dias a 4°C ( $\pm 1$ ).

<b>Experimento</b>	<b>Dia 1</b>	<b>Dia 15</b>	<b>Dia 29</b>
<b>E1- 20'' 18°C</b>			
<b>AEA</b>	246,7 <sup>abA</sup> (9,45)	145,2 <sup>abB</sup> (8,27)	105,0 <sup>aC</sup> (13,53)
<b>AEFA</b>	250,7 <sup>abA</sup> (10,07)	104,4 <sup>bB</sup> (12,33)	116,5 <sup>abB</sup> (6,55)
<b>AEB</b>	242,3 <sup>baA</sup> (4,25)	106,5 <sup>bbB</sup> (27,24)	107,8 <sup>abB</sup> (6,55)
<b>Controle</b>	261,6 <sup>aA</sup> (10,92)	119,11 <sup>abB</sup> (5,42)	102,2 <sup>aC</sup> (5,33)
<b>E2- 20'' 30°C</b>			
<b>AEA</b>	380,4 <sup>aA</sup> (19,60)	127,8 <sup>abB</sup> (16,94)	102,1 <sup>abB</sup> (9,66)
<b>AEFA</b>	345,2 <sup>baA</sup> (8,87)	110,0 <sup>abB</sup> (2,08)	60,8 <sup>cC</sup> (8,52)
<b>AEB</b>	290,5 <sup>caA</sup> (16,07)	122,0 <sup>abB</sup> (3,84)	80,4 <sup>bcC</sup> (6,00)
<b>Controle</b>	288,2 <sup>caA</sup> (12,22)	117,0 <sup>abB</sup> (5,45)	90,6 <sup>abcC</sup> (12,16)
<b>E3- 40'' 18°C</b>			
<b>AEA</b>	95,4 <sup>aC</sup> (19,82)	149,2 <sup>abB</sup> (8,87)	188,0 <sup>aA</sup> (21,00)
<b>AEFA</b>	94,6 <sup>aC</sup> (4,93)	138,8 <sup>abB</sup> (6,30)	216,3 <sup>aA</sup> (7,62)
<b>AEB</b>	104,0 <sup>abB</sup> (5,92)	120,1 <sup>bbB</sup> (10,87)	188,7 <sup>aA</sup> (17,49)
<b>Controle</b>	101,0 <sup>abB</sup> (7,88)	100,5 <sup>cbB</sup> (12,79)	176,0 <sup>aA</sup> (29,24)
<b>E4- 40'' 30°C</b>			
<b>AEA</b>	231,5 <sup>aA</sup> (16,94)	75,5 <sup>abB</sup> (13,08)	58,4 <sup>bbB</sup> (19,59)
<b>AEFA</b>	248,5 <sup>aA</sup> (8,05)	73,0 <sup>abB</sup> (19,51)	81,0 <sup>abB</sup> (20,03)
<b>AEB</b>	244,3 <sup>aA</sup> (7,85)	75,6 <sup>aC</sup> (19,55)	103,7 <sup>abB</sup> (6,25)
<b>Controle</b>	240,8 <sup>aA</sup> (8,38)	72,7 <sup>aC</sup> (25,65)	107,1 <sup>abB</sup> (8,00)

**Nota:** As letras minúsculas/maiúsculas diferentes nas colunas/linhas indicam diferença estatística ( $P < 0,05$ ) dentro do mesmo experimento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão).

No dia 1 do segundo grupo (experimentos E3 e E4) não ocorreu diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos realizados, persistindo esse comportamento até o dia 15 no experimento E4. Analisando-se os resultados de POR entre os tratamentos, igualdade estatística ( $p > 0,05$ ) indica que o POR das AE não interferem no POR da carne, fato semelhante ocorrido no pH da carne no dia 1 de aplicação por exemplo (tabela 1K).

Durante o período de armazenamento no E4, os valores de POR diminuíram em alguns tratamentos (AEB e controle) e outros permaneceram praticamente constantes (AEA e AEFA). O que chama atenção é o E3, uma vez que nos quatro tratamentos ocorreu aumento significativo ( $p < 0,05$ ) de médias, destacando que AEA e AEFA aumentaram do dia 1 ao 15 e do dia 15 ao 29, enquanto AEB e o controle aumentaram significativamente ( $p < 0,05$ ) somente do 15º para o 29º dia (tabela 1L). Valores altos de POR indicam ambiente propício à ocorrer oxidação (JAY 2005). Nesse sentido, em E3, o tratamento com AEB apresentou os menores valores de

oxidação de carbonil (tabela 1I), e os maiores valores de tiol (tabela 1J), indicando um ambiente pouco alterado.

#### 4.2.6 Cor

A cor é um atributo associado ao frescor da carne e esta característica é julgada consciente ou inconscientemente pelo consumidor (RENERRE; DUMONT; GATELLIER, 1996). Qualquer nova tecnologia ou tratamento que vise a mudança de alguma característica, como melhorar a qualidade microbiológica, aumentar o tempo de prateleira, entre outros, não pode acarretar danos à carne, pois de nada adianta aumentar a durabilidade da carne, ou torná-la menos contaminada microbiologicamente, se alguma característica sensorialmente negativa for implementada, como um sabor ou aroma diferente, bem como uma cor fora do “normal” (PROCTOR, 2011).

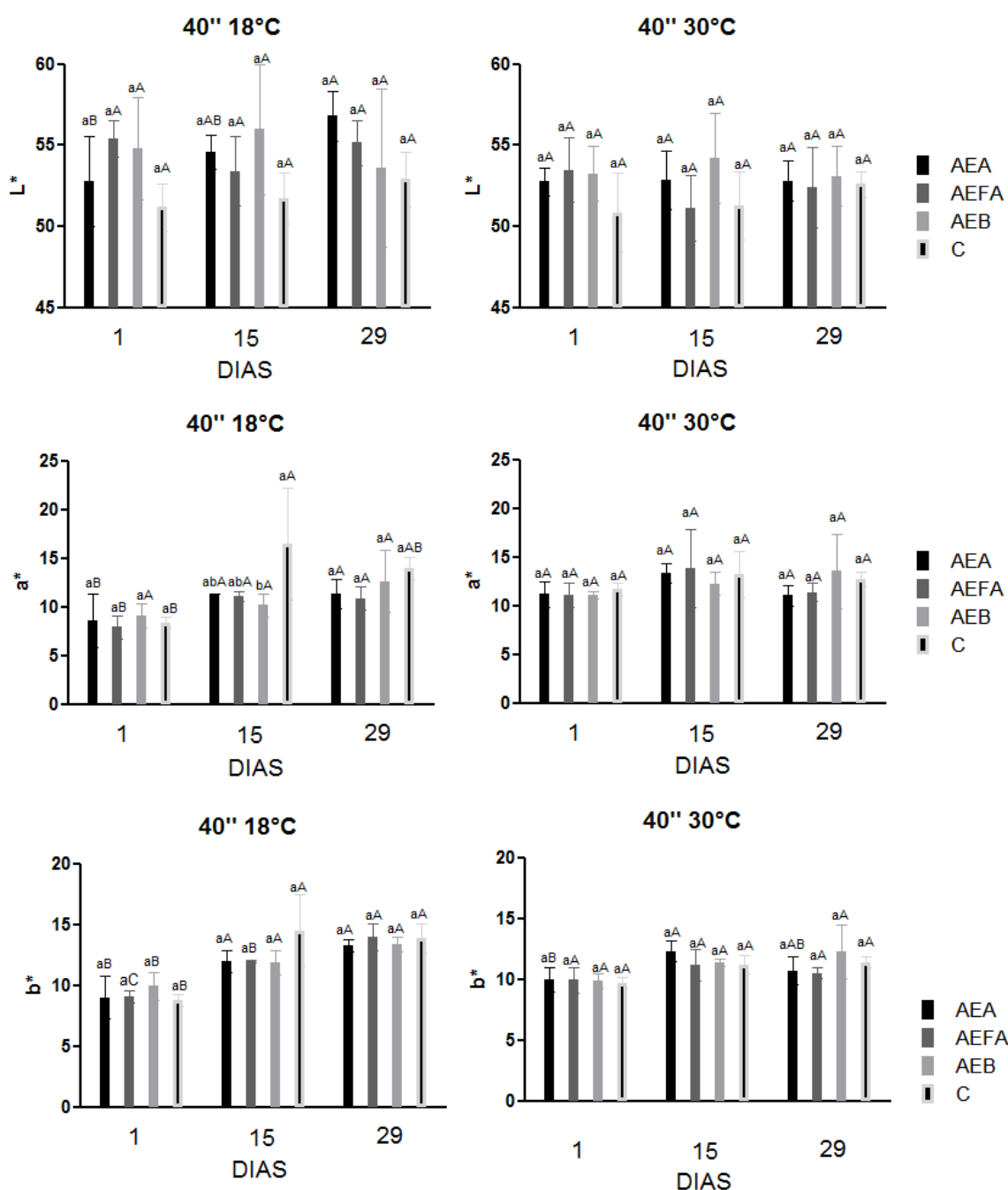
A maior dificuldade enfrentada na obtenção de resultados de cor foi a tomada de amostra (ŠKRLEP e CANDEK-POTOKAR, 2007), uma vez que o lombo suíno em sua totalidade é composto por um grupo de músculos e isso implica diferenças de intensidade de metabolismo, concentração de tipos de fibras (brancas e vermelhas) e outras (BREWER *et al*, 2001). Por isso, 6 leituras da superfície da carne foram efetuadas de maneira aleatória. Para obtenção de uma média.

Os valores de  $L^*$  não diferiram significativamente ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos e no decorrer do período de armazenamento, nos experimentos E3 e E4 (figura 1Ca1 e 1Ca2). O parâmetro  $L^*$  está relacionado com a percepção de luminosidade da carne, ou seja, o quanto ela reflete a luz, e isto está relacionado com a quantidade de água presente na superfície do pedaço de carne. Assim em valores de pH próximos ao ponto isoelétrico (em torno de 5,6) os valores de  $L^*$  tendem à serem mais elevados (AMSA 2012; BREWER *et al* 2001).

Como os valores de pH da carne suína tratadas com os diferentes tipos de AE variaram entre 5,63 a 5,98 em E3 e E4 (tabela 1K), não influenciou os valores de  $L^*$  nesses experimentos (figura 1Ca1 e 1Ca2) com exceção de AEA em E3, que aumentou com o tempo. FERNÁNDEZ-LÓPEZ *et al* (2004) estudaram o efeito do pH em carne de porco e verificaram que em pH 6, a carne de porco apresentou um  $L^*$



de 49,7, enquanto que em pH 5 o  $L^*$  foi de 51,05 e pH 4 foi de 54,87. A carne de porco teve em média pH 5,7 em E3 dia 1 (tabela 1K e figura 1Ca1), com  $L^*$  de 52,5 aproximadamente, o que está de acordo com este trabalho e de acordo com a figura 1Ca2, os valores de AEA aumentam em  $a^*$ , indicando cor mais vermelha, e esta combinação leva esta carne à uma tonalidade menos rosa, cor esta que aparece em pH mais elevado (BREWER *et al*, 2001).



**Figura 1C.** Cor no E3 e E4 com  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  em pedaços de carne de porco tratados com AE e armazenados à 4°C. Nota: Letras minúsculas/ maiúsculas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Duncan no mesmo dia entre os tratamentos/ entre os dias para o mesmo tratamento.

O aumento destes parâmetros juntamente com o aumento do pH está relacionado com atividade máxima de enzimas redutoras e consumidoras de oxigênio quando estão operando na velocidade máxima (BREWER *et al*, 2001).

Quando aplicaram AEA com pH 2,54 e 50 mg/L de Cl<sub>2</sub> e AEFA com pH 6,80 e 10 mg/L de Cl<sub>2</sub> por imersão em carne de porco por 5 minutos, RAHMAN, WANG e OH (2013) verificaram que a carne tratada com AE demorava mais tempo para se tornar escura do que o controle, sob refrigeração à 4°C em embalagem aeróbia. Neste trabalho, a avaliação foi feita por scores de avaliação de painelistas.

O fato da carne não se tornar escura é um benefício, uma vez que para estes autores, o pH da carne no dia 10 já estava em torno de 5,90 nos tratamentos, enquanto que o controle já apresentava valores de 6,50 aproximadamente. Em peixe, a imersão por 15 minutos em AEA contendo 70-80 mg/L de Cl<sub>2</sub> e pH de 2,40 e armazenamento em 4°C apresentou resultados de L\* iguais até o dia 15, com diferença significativa à partir do dia 20 em L\*, sendo que o a\* não mudou no tempo entre tratamento e controle (XU *et al*, 2014). Os autores citam que esta diferença é devido ao tratamento de certa forma proteger a carne.

No parâmetro a\* (figura 1Ca2 e 1Cb2) não foram encontradas diferenças significativas (p>0,05) entre os tratamentos no dia 1. No entanto no dia 15, o controle apresentou maiores valores de a\* no E3 em relação aos tratamentos (p<0,05). Conforme relatado por BRYCHCY *et al* (2015), a aplicação de AEA com 16 mg/L de Cl<sub>2</sub> em carne de porco durante 120 s por spray e armazenados à 4°C, os valores de a\* nestes pedaços tiveram um aumento entre o dia da aplicação e o dia 7 de armazenamento, com mudanças de 4,75 para 5,60 no controle e 4,67 para 5,55 no tratamento, sendo estes dados de acordo com E4. Eles também relataram que o controle apresentou aumento de concentração de oximioglobina em relação ao tratamento, o que poderia justificar o número maior do controle no E3. Em relação ao dia 29, os dados não variaram do controle em relação ao tratamento (p>0,05).

O parâmetro b\* no E3 (figura 1Ca2) teve uma tendência ao aumento (p<0,05) durante o tempo em seu valor em todos os tratamentos. No mesmo dia estes tratamentos não tiveram diferença significativa (p>0,05). O E4 (figura 1Cb2) manteve-se constante no tempo, e entre os tratamentos também não houve

diferença significativa ( $p > 0,05$ ), com exceção de AEA que teve aumento significativo ( $p < 0,05$ ) do dia 1 ao 15 e diminuição nos dias 15 à 29 ( $p < 0,05$ ).

O valor de  $b^*$  parece interligado com o acontecimento das oxidações, principalmente a proteica, que acontece com o decorrer do tempo (LI *et al*, 2011; CHAIJAN *et al*, 2005). Conforme FERNÁNDEZ-LÓPEZ, PÉREZ-ALVAREZ e ARANDA-CATALÁ (2000), o parâmetro  $b^*$  é afetado pela formação de metamioglobina, que é produto da mioglobina oxidada, e importante, pois confere à carne cor marrom.

### 4.3 CONCLUSÕES

De uma maneira geral, a aspersão de AE não foi influenciada pela temperatura da água aplicada e sim pela quantidade da mesma, visto que os experimentos com 200 mL mostraram maior eficácia em redução de microrganismos em relação à 100 mL. Estes resultados foram fundamentais para a escolha destas características (18°C por ser uma temperatura menor e ter menor possibilidade de afetar as oxidações dos pedaços de carne, e 200 mL) utilizadas no capítulo 2.

As oxidações lipídicas parecem ser mais influenciadas por AEA e AEFA (oxidações primárias), assim como houve influência desta em oxidações proteicas. Por outro lado, a AEB teve um efeito pequeno em bactérias, aliado ao fato de seu comportamento ser parecido com o controle nos aspectos oxidativos.

A cor não foi afetada pelos tratamentos, e o pH manteve-se durante o tempo de armazenamento, e ainda os tratamentos não afetaram o pH logo após a aplicação dos tratamentos.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABCS. **Produção de suínos: teoria e prática**. 1ªed. 905 p. Brasília, DF. 2014.

ADDIS, P.B. Occurrence of lipid oxidation products in foods. **Fd Chem. Toxic.** 24. 10/11. p. 1021-1030. 1986.

ALBRICH, J.M.; McCARTHY, C.A.; HURST, J.K. Biological reactivity of hypochlorous acid: Implications for microbicidal mechanisms of leukocyte myeloperoxidase. **Proc. Natl. Acad. Sci.** V78. N1. p. 210-214. 1981.

AMERICAN MEAT SCIENCE ASSOCIATION. **Meat color measurement guidelines.** 124 p. USA. 2012.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods.** 4<sup>a</sup> ed. APHA: Washington DC. 2001.

AREVALOS-SÁNCHEZ, M. *et al.* Effect of neutral electrolyzed water and nisin on *Listeria monocytogenes* biofilms, and on listeriolysin O activity. **Food Control.** 24. p. 116-122. 2012. doi:10.1016/j.foodcont.2011.09.012

AREVALOS-SÁNCHEZ, M. *et al.* 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.** 34. p. 472-477. 2013. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.05.021>

AUDENAERT, K. *et al.* Neutralized electrolyzed water efficiently reduces *Fusarium* spp. *in vitro* and on wheat kernels but can trigger deoxynivalenol (DON) biosynthesis. **Food Control.** 23. p. 515-521. 2012. doi:10.1016/j.foodcont.2011.08.024

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

BIRBEN, E. *et al.* Oxidative stress and antioxidant defense. **World Allergy Organization.** p. 9-19. 2012.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology.** 37. 8. p. 911-917. 1959.

BRAGAGNOLO, N.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Teores de colesterol, lipídios totais e ácidos graxos em cortes de carne suína. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 22(1). p. 98-104. 2002.

BRASIL (1992) **Métodos de análise microbiológica para alimentos.** 2<sup>a</sup> revisão.

BRASIL (2003) **Instrução normativa número 62**, de 26 de agosto de 2003. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento.

BREWER, M.S., *et al.* Measuring pork color: effects of bloom time, muscle, pH and relationship to instrumental parameters. **Meat Science.** 57. p. 169-176. 2001.

BROWN, M. **Chilled foods: A comprehensive guide.** 3 ed. 688 p. CRC Press: Cambridge. 2008.

BRUNTON, N.P. *et al.* A comparison of solid-phase microextraction (SPME) fibres for measurement of hexanal and pentanal in cooked turkey. **Food Chemistry**. 68. p. 339-345. 2000.

BRYCHCY, E. *et al.* (2015) Low-concentrated acidic electrolysed water treatment of pork: inactivation of surface microbiota and changes in product quality. *International Journal of Food Science and Technology*. doi:10.1111/ijfs.12899

CAMPO, M.M. *et al.* Flavour perception of oxidation in beef. **Meat Science**. 72. p. 303-311. 2006. doi:10.1016/j.meatsci.2005.07.015

CAO, W. *et al.* Efficiency of slightly acidic electrolyzed water for inactivation of *Salmonella enteritidis* and its contaminated shell eggs. **International Journal of Food Microbiology**. 130. p. 88-93. 2009. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2008.12.021

CHAIJAN, M.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; FAUSTMAN, C. Changes of pigments and color in sardine (*Sardinella gibbosa*) and mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) muscle during iced storage. *Food Chemistry*. 93. p. 607-617. 2005. doi:10.1016/j.foodchem.2004.10.035

CHEN, J. *et al.* Effect of combined pretreatment with slightly acidic electrolyzed water and botanic biopreservative on quality and shelf life of Bombay duck (*Harpadon nehereus*). **Journal of Food Quality**. 2015. doi: 10.1111/jfq.12182

CHOULIARA, E.; KARATAPANIS, A.; SAVVAIDIS, I.N.; KONTOMINAS, M.G. Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of fresh chicken breast meat, stored at 4°C. **Food Microbiology**. 24. p. 607-617. 2007. doi:10.1016/j.fm.2006.12.005

CUI, X. *et al.* Physicochemical properties and bactericidal efficiency of neutral and acidic electrolyzed water under different storage conditions. **Journal of Food Engineering**. 91. p. 582-586. 2009. doi:10.1016/j.jfoodeng.2008.10.006

DALLE-DONNE, I. *et al.* Actin carbonylation: from a simple marker of protein oxidation to relevant signs of severe functional impairment. **Free Radical Biology & Medicine**. V31. N9. p. 1075-1083. 2001.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. Lipídeos *In: Química de Alimentos de Fennema*. 4ª edição. 900 p. Artmed: Porto Alegre. 2010a.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. Aminoácidos, Peptídeos e Proteínas *In: Química de Alimentos de Fennema*. 4ª edição. 900 p. Artmed: Porto Alegre. 2010b.

DEZA, M.A.; ARAUJO, M.; GARRIDO, M.J. Inactivation of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* on stainless steel and glass surfaces by neutral electrolysed water. **Letters in Applied Microbiology**. 40. p. 341-346. 2005. doi:10.1111/j.1472-765X.2005.01679.x

DING, T.; RAHMAN, S.M.E.; OH, D.-H. Inhibitory effects of low concentration electrolyzed water and other sanitizers against foodborne pathogens on oyster mushroom. **Food Control**. 22. p. 318-322. 2011. doi:10.1016/j.foodcont.2010.07.030

DOULGERAKI, A.I. *et al* Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. **International Journal of Food Microbiology**. 157. p. 130-141. 2012. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2012.05.020

DUBOIS, M. *et al*. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**. V 28. N 3. p. 350-356. 1956.

EIFERT, J.D.; SANGLAY, G.C. Chemistry of chlorine sanitizers in food processing. **Dairy, Food and Environmental Sanitation**. v.22. n. 7. p. 534-538. 2002.

ELISIA, I.; KITTS, D.D. Quantification of hexanal as an index of lipid oxidation in human milk and association with antioxidant components. **J. Clin. Biochem. Nutr.** V 49. N 3. p. 147-152. 2011. doi: 10.3164/jcbtn.10\_142

ELLMAN, G.L. Tissue sulfhydryl groups. **Archives of Biochemistry and Biophysics**. 82. p. 70-77. 1959.

ESTERBAUER, H.; SCHAUR, R.J.; ZOLLNER, H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. **Free Radical Biology & Medicine**. 11. p. 81-128. 1991.

ESTÉVEZ, M. Protein carbonyls in meat systems: A review. **Meat Science**. 89. p. 259-279. 2011. doi:10.1016/j.meatsci.2011.04.025

ESTÉVEZ, M.; MORCUENDE, D.; VENTANAS, S. **Determination of oxidation. Handbook of Processed Meats and Poultry Analysis**. 760 p. CRC Press: Boca Ratón. 2008.

FABRIZIO, K.A.; CUTTER, C.N. Comparison of electrolyzed oxidizing water with other antimicrobial interventions to reduce pathogens on fresh pork. **Meat Science**. 68. p. 463-468. 2004. doi:10.1016/j.meatsci.2004.04.013

FAO/STAT- Food and agriculture organization of the United Nations. 2014. Disponível em <<http://faostat3.fao.org/compare/E>> acesso em: 09 nov. 2014.

FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. *et al* Effect of sodium chloride, sodium tripolyphosphate and pH on color properties of pork meat. **COLOR Research and Application**. V29. N1. p. 67-74. 2004

FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; PÉREZ-ALVAREZ, J.A.; ARANDA-CATALÁ, V. Effect of mincing degree on colour properties in pork meat. **Color**. 25(5). p. 376-380. 2000.

FERNANDO, L.N.; BERG, E.P.; GRÜN, I.U. Quantitation of hexanal by automated SPME for studying dietary influences on the oxidation of pork. **Journal of Food Composition and Analysis**. 16. p. 179-188. 2003. doi:10.1016/S0889-1575(02)00173-4

FELICIANO, L. *et al* Efficacy of sanitized ice in reducing bacterial load on fish fillet and in the water collected from melted ice. **Journal of Food Science**. 74 (4). p. M231-M238. 2010. doi: 10.1111/j.1750-3841.2010.01583.x

FELICIANO, L.; LEE, J.; PASCALL, M.A. Transmission electron microscopic analysis showing structural changes to bacterial cells treated with electrolyzed water and acidic sanitizer. **Journal of Food Science**. V 77. N 4. p. M182-M187. 2012. doi: 10.1111/j.1750-3841.2012.02633.x

FORSYTHE, S.J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 607 p. 2 edição. Artmed: Porto Alegre. 2013.

GAONKAR, A.G.; McPHERSON, A. **Ingredient interactions: Effects on Food Quality**. 2ª ed. 576 p. CRC Press: Boca Raton. 2005.

GARCÍA-LLATAS, G. *et al*. A headspace solid-phase microextraction method of use in monitoring hexanal and pentane during storage: Application to liquid infant foods and powdered infant formulas. **Food Chemistry**. 101. p. 1078-1086. 2006. doi:10.1016/j.foodchem.2006.03.007

GOMEZ-LOPES, V.M. *et al*. Minimum free chlorine residual level required for inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and trihalometane generation during dynamic washing of fresh-cut spinach. **Food Control**. 42. p. 132-138. 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.01.034>

GOMIDE, L.A.M.; RAMOS, E.M.; FONTES, P.R. **Ciência e qualidade da carne: fundamentos**. 197 p. Editora UFV: Viçosa. 2013.

GRAÇA, A. *et al*. The use of electrolyzed water as a disinfectant for minimally processed apples. **Postharvest Biology and Technology**. 61. p. 172-177. 2011. doi:10.1016/j.postharvbio.2011.04.001

GUENTZEL, J.L. *et al*. Reduction of bacteria on spinach, lettuce and surfaces in food service areas using neutral electrolyzed oxidizing water. **Food Microbiology**. 25. p. 36-41. 2008. doi:10.1016/j.fm.2007.08.003

GUENTZEL, J.L. *et al*. Postharvest management of gray mold and brown rot on surfaces of peaches and grapes using electrolyzed oxidizing water. **International Journal of Food Microbiology**. 143. p. 54-60. 2010. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2010.07.028

HAO, J. *et al*. Roles of hydroxyl radicals in electrolyzed oxidizing water (EOW) for the inactivation of *Escherichia coli*. **International Journal of Food Microbiology**. 155. p. 99-104. 2012. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.12.031

HAO, J. *et al*. Reduction of pesticide residues on fresh vegetables with electrolyzed water treatment. **Journal of Food Science**. V 76. N 4. p. C520-C524. 2011. doi: 10.1111/j.1750-3841.2011.02154.x

HARROWER, J.R.; BROWN, C.H. Blood acid lactic – a micromethod adapted to field collection of microliter samples. **Journal of Applied Physiology**. V 32. N 5. p. 709-711. 1972.

HAWKINS, C.I.; PATTISON, D.I.; DAVIES, M.J. Hypochlorite-induced oxidation of amino acids, peptides and proteins. **Amino Acids**. 25. p. 259-274. 2003. DOI 10.1007/s00726-003-0016-x

HSU, S.-Y. Effects of flow rate, temperature and salt concentration on chemical and physical properties of electrolyzed oxidizing water. **Journal of Food Engineering**. 66. p. 171-176. 2005. doi:10.1016/j.jfoodeng.2004.03.003

HUANG, Y.-R. *et al.* Application of electrolyzed water in the food industry. **Food Control**. 19. p. 329-345. 2008. doi:10.1016/j.foodcont.2007.08.012

HUI, Y.H. **Handbook of food science, technology, and engineering**. Vol 1. CRC Press: Boca Raton. 2006.

IAL. **Métodos físico-químicos para análises de alimentos**. 4° Ed. 1020 p. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz. 2008.

İPLİKÇİOĞLU ÇİL, G.; DEMİREL, Y.N.; ŞİRELİ, U.T. Inactivation of *Salmonella* Typhimurium on poultry meat by electrolyzed water. **Vet Hekim Der Derg**.83(2). p. 48-53. 2012

ISSA-ZACHARIA, A. *et al.* Application of slightly acidic electrolyzed water as a potential non-thermal food sanitizer for decontamination of fresh ready-to-eat vegetables and sprouts. **Food Control**. 22. p. 601-607. 2011. doi:10.1016/j.foodcont.2010.10.011

JADEJA, R and 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**. 41. p. 17-20. 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.12.030>

JAY, J.M. **Microbiologia dos Alimentos**. 6ª ed. Artmed: Porto Alegre. 2005.

JAY, J.M.; LOESSNER, M.J.; GOLDEN, D.A. **Modern Food Microbiology**. 7ª ed. SPRINGER: USA. 2005.

KANAOKA, H. Antioxidant effects of reduced water produced by electrolysis of sodium chloride solutions. **Journal of Applied Electrochemistry**. 31. p. 1307-1313. 2001.

KANAOKA, K. *et al.* The mechanism of the enhanced antioxidant effects against superoxide anion radicals of reduced water produced by electrolysis. **Biophysical Chemistry**. 107. p. 71-82. 2004. doi:10.1016/j.bpc.2003.08.007

KERKAERT, B. *et al.* Hypochlorous and peracetic acid induced oxidation of dairy proteins. **J. Agric. Food Chem**. 59. p. 907-914. 2011. DOI:10.1021/jf1037807



KUBOW, S. Routes of formation and toxic consequences of lipid oxidation products in foods. **Free Radical Biology & Medicine**. 12. p. 63-81. 1992.

LAGUERRE, M.; LECOMTE, J.; VILLENEUVE, P. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: existing methods, new trends and challenges. **Progress in Lipid Research**. 46. p. 244-282. 2007. doi:10.1016/j.plipres.2007.05.002

LEE, M.Y. *et al.* Electrolyzed-reduced water protects against oxidative damage to DNA, RNA, and protein. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. 135. p. 133-144. 2006.

LEN, S.-V. *et al.* Effects of storage conditions and pH on chlorine loss in electrolyzed oxidizing (EO) water. **J. Agric. Food. Chem.** 50. p. 209-212. 2002. doi:10.1021/jf010822v

LEVINE, R.L. *et al.* Determination of carbonyl content in oxidatively modified protein. **Methods in Enzymology**. 186. p. 464-478. 1990.

LI, X. *et al.* Postmortem changes in yellow grouper (*Epinephelus awoara*) fillets stored under vacuum packaging at 0°C. **Food Chemistry**. 126. p. 896-901. 2011. doi:10.1016/j.foodchem.2010.11.071

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**. 78. p. 1326-1332. 2007. doi:10.1016/j.jfoodeng.2006.01.004

LIN, T. *et al.* Use of Acidic electrolyzed water ice for preserving the quality of shrimp. **J. Agric. Food Chem.** 61. p. 8695-8702. 2013. doi: dx.doi.org/10.1021/jf4019933

LOI-BRADEN, M.H. *et al.* Use of electrolyzed oxidizing water for quality improvement of frozen shrimp. **Journal of Food Science**. V. 70, N. 6. p. M310-M315. 2005.

LOWRY, O.H. *et al.* Protein measurement with the folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.** 193. p. 265-275. 1951.

LUND, M.N. *et al.* Protein oxidation in muscle foods: A review. **Mol. Nutr. Food Res.** 55. p. 83-95. 2011. doi: 10.1002/mnfr.201000453

MAHMOUD, B.S.M., *et al.* A new technology for fish preservation by combined treatment with electrolyzed NaCl solutions and essential oil compounds. **Food Chemistry**. 99. p. 656-662. 2006. doi:10.1016/j.foodchem.2005.08.037

MANSUR, A.R. *et al.* Combined effects of slightly acidic electrolyzed water and fumaric acid on the reduction of food borne pathogens and shelf life extension of fresh pork. **Food Control**. 47. p. 277-284. 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.07.019>

MCCARTHY, S.; BURKHARDT III, W. Efficacy of electrolyzed oxidizing water against *Listeria monocytogenes* and *Morganella morganii* on conveyor belt and raw fish surfaces. **Food Control**. 24. p. 214-219. 2012. doi:10.1016/j.foodcont.2011.09.030

MEISTER, A. On the cycles of glutathione metabolism and transport. *In*: ESTABROOK, R.W. and SRERE, P. **Biological cycles: current topics in cellular regulation**. v. 18. 594 p. Academic Press: USA. 2013.

MOKUDAI, T. *et al.* Presence of hydrogen peroxide, a source of hydroxyl radicals, in acid electrolyzed water. **Plos One**. V7. N7. p. 1-8. 2012. doi:10.1371/journal.pone.0046392

MOKUDAI, T.; KANNO, T.; NIWANO, Y. Involvement of reactive oxygen species in the cytotoxic effect of acid-electrolyzed water. **J. Toxicol. Sci.** V40. N1. p. 13-19. 2015.

MONTGOMERY, R. Determination of glycogen. **Archives of Biochemistry and Biophysics**. N 67. p. 378-386. 1957.

NOLLET, L.M.L. *et al* **Handbook of meat, poultry and seafood quality**. 2° ed. 576 p. John Wiley & Sons Inc. 2012.

NORTHCUTT, J. *et al* Recovery of bacteria from broiler carcasses after spray washing with acidified electrolyzed water or sodium hypochlorite solutions. **Poultry Science**. 86. p. 2239-2244. 2007.

NYCHAS, G.-J.E. *et al* Meat spoilage during distribution. **Meat Science**. 78. p. 77-89. 2008. doi:10.1016/j.meatsci.2007.06.020

PANSERI, S. *et al.* A headspace solid-phase microextraction gas-chromatographic mass-spectrometric method (HS-SPME-GC/MS) to quantify hexanal in butter during storage as marker of lipid oxidation. **Food Chemistry**. 127. p. 886-889. 2011. doi:10.1016/j.foodchem.2010.12.150

PATTISON, D.I.; RAHMANTO, A.S.; DAVIES, M.J. Photo-oxidation of proteins. **Photochem. Photobiol. Sci.** 11. 38. p. 38-53. 2012. DOI: 10.1039/c1pp05164d

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**. 21. p. 286-291. 2010. doi:10.1016/j.foodcont.2009.06.007

PINTO, L. ; IPPOLITO, A. ; BARUZZI, F. Control of spoiler *Pseudomonas* spp. On fresh cut vegetables by neutral electrolyzed water. **Food Microbiology**. 50. p. 102-108. 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2015.04.003>

PROCTOR, A. **Alternatives to conventional food processing**. 481 p. RSC Green Chemistry : UK. 2011.

QUAN, Y. *et al.* Evaluation of bactericidal activity of weakly acidic electrolyzed water (WAEW) against *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus*. **International**

**Journal of Food Microbiology.** 136. p. 255-260. 2010.  
doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2009.11.005

RAHARJO, S.; SOFOS, J.N.; SCHIMIDT, G.R.; Improved speed, specificity, and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid- C18 method for measuring lipid peroxidation in beef. **J. Agric. Food Chem.** V 40, p. 2182- 2185, 1992.

RAHMAN, S.M.E.; DING, T.; OH, D.-H. Effectiveness of low concentration electrolyzed water to inactivate foodborne pathogens under different environmental conditions. **International Journal of Food Microbiology.** 139. p. 147-153. 2010. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2010.03.020

RAHMAN, S.M.E.; JIN, Y.-G.; OH, D.-H. Combination treatment of alkaline electrolyzed water and citric acid with mild heat to ensure microbial safety, shelf-life and sensory quality of shredded carrots. **Food Microbiology.** 28. p. 484-491. 2011. doi:10.1016/j.fm.2010.10.006

RAHMAN, S.M.E. *et al.* Stability of low concentration electrolyzed water and its sanitization potential against foodborne pathogens. **Journal of Food Engineering.** 113. p. 548-553. 2012. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.07.011>

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-M41. 2012b. doi: 10.1111/j.1750-3841.2011.02454.x

RAHMAN, S.M.E.; WANG, J.; OH, D.-H. Synergistic effect of low concentration electrolyzed water and calcium lactate to ensure microbial safety, shelf life and sensory quality of fresh pork. **Food Control.** 30. p. 176-183. 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.06.041>

RAMOS, E.M.; GOMIDE, L.A.M. Cor e pigmentos em carnes. *In: Avaliação da qualidade de carnes.* 599 p. Ed UFV: Viçosa. 2007.

RECKNAGEL, R. O.; GLENDE Jr, E. A. Spectrophotometric detection of lipidic conjugated dienes. **Methods enzymatic.** 105. p. 331- 337. 1984.

RENERRE, M.; DUMONT, F.; GATELLIER, P. Antioxidant enzyme activities in beef in relation to oxidation of lipid and myoglobin. **Meat Science.** 43(2). p. 111-121. 1996.

ROMEU-NADAL, M.; CASTELLOTE, A.I.; LÓPEZ-SABATER, M.C. Headspace gas chromatographic method for determining volatile compounds in infant formulas. **Journal of Chromatography A.** 1046. p. 235-239. 2004. doi:10.1016/j.chroma.2004.06.032

ROSS, C.F.; SMITH, D.M. Use of volatiles as indicators of lipid oxidation in muscle foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.** Vol 5. p. 18-25. 2006.

SASSER, M. Identification of bacteria by gas chromatography of cellular fatty acids. **MIDI**. Technical note #101. 1990.

SEMB, T.N. Analytical methods for determination of the oxidative status in oil. Tese. NTNU: Noruega. 60 p. 2012.

SHANTA, N. L.; DECKER, E. A.; Rapid, sensitive, iron- based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. **Journal of AOAC International**. Vol. 77, nº 2, p. 421- 424, 1994.

ŠKRLEP, M.; CANDEK-POTOKAR, M. Pork color measurement as affected by bloom time and measurement location. **Journal of Muscle Foods**. 18. p. 78-87. 2007.

SMEWW. 4500- Cl I. Iodometric electrode technique. *In*: **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 1999.

STADTMAN, E.R.; LEVINE, R.L. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. **Amino Acids**. 25. p. 207-218. 2003.

STANGA, M. Disinfectants and sanitation technology. *In*: **Sanitation cleaning and disinfection in the food industry**. 589 p. Wiley-VCH: Germany. 2010.

SUN, J.-L. *et al.* Efficacy of acidic and basic electrolyzed water in eradicating *Staphylococcus aureus* biofilm. **Can. J. Microbiol.** 58. p. 448-454. 2012. doi:10.1139/W2012-005

TAMAKI, S. *et al.* Virucidal effect of acidic electrolyzed water and neutral electrolyzed water o avian influenza viruses. **Arch. Virol.** 159. p. 405-412. 2014. doi: 10.1007/s00705-013-1840-2

TAN, S.M.; LEE, S.M.; DYKES, G.A. Buffering eddect of chicken skin and meat protects *Salmonella enteric* strains against hydrochloric acid but not organic acid treatment. **Food Control**. 42. p. 329-334. 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.02.031>

TAN, W.; SHELEF, L.A. Effects of sodium chloride and lactates on chemical and microbiological changes in refrigerated and frozen fresh ground pork. **Meat Science**. 62. p. 27-32. 2002.

TRAORE, S. *et al.* Higher drip loss is associated with protein oxidation. **Meat Science**. 90. p. 917-924. 2012. doi:10.1016/j.meatsci.2011.11.033

VALENTE, A.L.P.; AUGUSTO, F. Microextração por fase sólida. **Química Nova**. 23(4). p. 523-530. 2000.

XIE, J. *et al.* Physicochemical properties and bactericidal activities of acidic electrolyzed water used or stored at different temperatures on shrimp. **Food Research International**. 47. p. 331-336. 2012. doi:10.1016/j.foodres.2011.07.041

XIONG, K. *et al.* Differences in fungicidal efficiency against *Aspergillus flavus* for neutralized and acidic electrolyzed oxidizing waters. **International Journal of Food Microbiology**. 137. p. 67-75. 2010. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2009.10.032

XU, G. *et al.* 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**. 46. p. 397-402. 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.06.010>

WANG, J.J. *et al.* Fate of *Vibrio parahaemolyticus* on shrimp after acidic electrolyzed water treatment. **International Journal of Food Microbiology**. 179. p. 50-56. 2014a. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.03.016>

WANG, J.J. *et al.* Modeling *Vibrio parahaemolyticus* inactivation by acidic electrolyzed water on cooked shrimp using response surface methodology. **Food Control**. 36. p. 273-279. 2014b. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.08.031>

WANG, J.J. *et al.* Effect of acidic electrolyzed water ice on quality of shrimp in dark condition. **Food Control**. 35. p. 207-212. 2014c. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.07.005>

WHITE, G.C. Chemistry of Aqueous Chlorine. *In: White's handbook of chlorination and alternative disinfectants*. pg: 152-153. 5<sup>th</sup> edition. John Wiley & Sons: New Jersey. 2010.

ZENG, X. *et al.* Studies on disinfection mechanism of electrolyzed oxidizing water on *E. coli* and *Staphylococcus aureus*. **Journal of Food Science**. V 75, N 5. p. M253-M260. 2010. doi: 10.1111/j.1750-3841.2010.01649.x

ZENG, X. *et al.* Fungicidal efficiency of electrolyzed oxidizing water on *Candida albicans* and its biochemical mechanism. **Journal of Bioscience and Bioengineering**. V 112. N 1. p. 86-91. 2011. doi:10.1016/j.jbiosc.2011.03.003

ZHANG, Q. *et al.* Elimination of aflatoxin B<sub>1</sub> in peanuts by acidic electrolyzed oxidizing water. **Food Control**. 27. p. 16-20. 2012. doi:10.1016/j.foodcont.2012.02.029

ZHANG, W.; XIAO, S.; AHN, D.U. Protein oxidation: basic principles and implications for meat quality. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. 53. p. 1191-1201. 2013. doi: 10.1080/10408398.2011.577540

## 6. CAPÍTULO 2

Original paper

Qualidade oxidativa e microbiológica em carne suína tratada com spray de diferentes tipos de água eletrolisada (AE) aplicadas de maneira alternada

**RESUMO:** O cenário atual do meio ambiente necessita de aplicações de tecnologias na indústria de carnes cada vez mais econômicas e racionais sobre o uso de recursos como água e energia. Neste estudo foi avaliado o efeito da aplicação combinada de AEB com AEA ou AEFA na qualidade microbiológica e oxidativa de carne suína. As AEs foram aplicadas à 18°C na forma de spray nas pressões de 30 e 45 psi. As AE aplicadas com pressões de 30 e 45 psi diminuem contagem de mesófilos, bactérias lácticas, *Enterobacteriaceae*. A AEA+AEB e AEFA+AEFA não desencadearam as oxidações lipídicas e proteicas. AEB+AEB parece aumentar o hexanal antes do que em relação aos outros tratamentos em 45 psi. O pH da carne bem como sua cor (L\*, a\* e b\*) não foram afetados pelos tratamentos no decorrer dos dias de armazenamento. A aplicação de AE na forma de spray de AEB seguida de AEA ou AEFA, parece trazer benefícios microbiológicos à carne, sem afetar as características físico-químicas, e isso é possível com redução da quantidade de água utilizada em relação à quantidades relatadas na literatura.

**Palavras-chave:** água eletrolisada; microbiologia; qualidade físico-química; carne suína; spray.

## 6.1 INTRODUÇÃO

No atual cenário mundial, e em virtude do caráter cada vez mais econômico dos recursos naturais, qualquer alternativa que venha à preservar o meio ambiente é bem-vinda. Menor consumo de água e baixa produção de resíduos químicos são alguns dos pontos de ancoragem do conceito de “química verde” (Proctor 2011). A indústria de carnes é um grande consumidor de água ao longo de sua linha de produção, uma vez que necessitam grandes quantidades de água, como para lavagem de carcaças e do próprio local.

A AE é uma tecnologia emergente que surge com forte justificativa de encaixar-se na preservação do meio ambiente, porque pode proporcionar redução no consumo de água e minimizar a produção de resíduos químicos, já que usa apenas água e um sal clorado (como o cloreto de sódio) para sua fabricação. Muitas são as vantagens da AE, e dentre elas, as que assumem papel de grande importância são: evitar o transporte de produtos químicos, pois a AE é gerada in-situ, uso de apenas uma solução contendo sal (como o cloreto de sódio) ou ácidos clorados para sua produção, e talvez o mais importante no conceito de meio ambiente é que retorna ao estado original após aplicação, uma vez que o cloro gerado é consumido durante o contato com a carne ou com a matéria orgânica em geral (Al-Haq et al. 2005).

Três tipos de AE podem ser geradas, e o que diferencia elas é o pH. A AE ácida (AEA) possui pH entre 2 e 3, a AE fracamente ácida (AEFA) próximo à neutralidade (entre 5,5 e 7) e a AE básica (AEB) entre 10 e 12. Decorrente de seu pH, o potencial de oxidação-redução (POR) varia entre valores  $>1000$  mV na AEA, 800-900 mV na AEFA e em torno de -800 mV na AEB. O último parâmetro de variação é a concentração de cloro livre (CCL), que é influenciada principalmente pela concentração da salmoura, tempo de eletrólise e corrente elétrica (Hsu 2005). Dentre estes parâmetros citados, o pH figura como peça-chave, pois além da CCL, a forma como o cloro encontra-se na AE é muito importante. Na AEA, a principal forma de cloro é o  $\text{Cl}_2$ , na AEFA o ácido hipocloroso ( $\text{HOCl}$ ), e na AEB o hipoclorito ( $\text{OCl}^-$ ) (Rahman et al 2010).

A principal atividade dos diferentes tipos de AE relatada na literatura é sua ação frente à microrganismos, inclusive sendo essa mais eficaz do que produtos comumente utilizados para essa finalidade, como o hipoclorito de sódio, ácido peroxiacético, entre outros (Cao et al 2009; Martínez-Hernández et al 2015). A literatura possui vários trabalhos que estudam a aplicação por imersão, e poucos na forma da aplicação em spray (Brychey et al, 2015).

A grande maioria dos trabalhos com AE estudam a ação frente a bactérias (Cao et al, 2009; Jadeja & Hung, 2014) e sua ação em relação as oxidações que ocorrem nos alimentos foi pouco explorada. Além disso, informações como a quantidade de AE utilizada no tratamento são muitas vezes sequer mencionadas, e nos que são mencionados são utilizados grandes quantidades de AE, como Cao et al (2009), que imergiu ovo em 500 mL de água e Fabrizio e Cutter (2005), com imersão de salsicha em 500 mL de água e Xu et al (2014), que usou a proporção de 2:1 de água:peixe. O spray pode ser uma alternativa à estes métodos de estudo comumente utilizados, uma vez que torna possível a redução do volume de AE utilizada em virtude da pressão a ser empregada na aplicação. Ainda, conforme Hao et al (2015), o uso alternado de AEB e AEA poderia ser mais eficaz do que o uso das mesmas de maneira individual sobre microrganismos. Porém, pouco se sabe sobre os efeitos da AE aplicada na forma alternada sobre oxidações em carne. Assim, neste trabalho, aplicou-se spray de AE de maneira alternada em duas combinações AEB+AEA e AEB+AEFA. As AE foram aplicadas nas pressões de 30 e 45 psi em carne suína, que depois foram embaladas a vácuo e armazenadas à 4°C durante 29 dias, onde foram avaliados os aspectos oxidativos, microbiológicos, e cor ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ).

## 6.2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 6.2.1 Produção dos diferentes tipos de AE e tratamentos aplicados.

À partir de uma salmoura de cloreto de sódio a 0,05% (DINÂMICA® BRASIL) elaborada com água filtrada e deionizada em deionizador (PERMUTION® BRASIL), obteve-se AEA, AEB e AEFA que foram produzidas com eletrólise à 18°C em eletrolisador de bancada (ENVIROLYTE® ESTÔNIA). Foi utilizada membrana de separação para AEB e AEA, bem como mistura de AE no momento da eletrólise no equipamento para obtenção da AEFA, sendo posteriormente determinadas as suas características (tabela 1). O pH foi medido com leitura direta com eletrodo (DIGIMED® BRASIL), o potencial redox (POR) foi medido com eletrodo de platina (DIGIMED® BRASIL) e a CCL foi avaliada conforme metodologia de SMEWW (1999).

### 6.2.2 Obtenção das amostras e aplicação dos tratamentos.

Lombos inteiros de suínos coletados em dias diferentes e de suínos diferentes com temperatura de 38 °C ± 1 foram obtidos em um frigorífico no centro do estado do Rio Grande Sul, Brasil, e foram transportados imediatamente ao laboratório da universidade dentro de embalagem térmica. Chegando, procedeu-se ao corte dos lombos em pedaços de 250 ± 50 g (contendo pele, gordura e carne), e procedeu-se a aplicação do spray dos diferentes tipos de AE. Estando as unidades amostrais dos lombos suínos à 36°C quando da aplicação do spray, tomando a simulação o mais próximo possível do ambiente industrial. O teste simula a etapa de lavagem da carcaça antes da entrada da câmara de resfriamento da carcaça.

Com um aplicador de spray manual, as amostras foram pulverizadas nas seguintes combinações: AEB+AEA e AEB+AEFA à 18°C nas pressões de 30 e 45 psi na distância de 10 cm. Os diferentes tipos de AE foram aplicadas em sequência uma da outra, sendo o tratamento 1 (T1) 100 mL de AEB e 100 mL de AEA, o tratamento 2 (T2) 100 mL de AEB e 100 mL de AEFA e o tratamento 3 (C) controle sem nenhum tratamento. Aplicadas as AE com spray, deixou-se escorrer a AE durante 30 segundos, e posteriormente foram empacotadas em embalagens à vácuo (espessura 24 micras, nylon com polietileno de baixa densidade e com taxa de permeabilidade ao oxigênio menor que 30 cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>.dia) as quais foram armazenadas à 4°C ± 1, e analisadas no 1º, 15º e 29º dia.

### 6.2.3 Análises Microbiológicas

Vinte gramas de carne foram homogeneizadas em 180 mL peptona de carne à 0,1% (HIMEDIA® INDIA) que posteriormente foram diluídas conforme a necessidade, sendo os resultados expressos em log UFC/g. Aeróbios mesófilos totais foram avaliados conforme BRASIL (2003) em meio agar contagem padrão (OXOID® ENGLAND), bactérias ácido lácticas foram avaliadas conforme APHA (2001) em meio MRS Agar (ACUMEDIA® USA), *Enterobacteriaceae* foram avaliadas conforme BRASIL (2003) em violet red bile glucose agar (ACUMEDIA® USA) e psicrotróficos foram avaliados conforme BRASIL (1992). Os *Staphylococcus* sp. foram avaliados conforme BRASIL (2003) em meio Baird Parker (FLUKA® USA) acrescido de gema de ovo (LABORCLIN® BRASIL). Para o *Staphylococcus* sp. a coleta foi por swab numa área de 10 cm<sup>2</sup> da superfície da amostra, sendo o resultado expresso em log UFC/cm<sup>2</sup>. As placas para contagem total de Aeróbios mesófilos, *Staphylococcus* sp. e bactérias lácticas foram incubadas por 48 horas à 36°C, *Enterobacteriaceae* foram incubadas por 24 horas à 36°C e psicrotróficos foram incubadas por 7 dias à 7°C.



#### 6.2.4 pH e POR

O pH da amostra é importante, pois pode nortear algumas características que a carne pode apresentar como cor, suculência, e foi avaliado ao homogeneizar-se (MIXER PHILLIPS WALLITA® BRASIL) 2,5 g de carne proveniente da superfície da carne e 2,5 g de gordura com 50 mL de água destilada com posterior leitura em pHmetro (DIGIMED® BRASIL) conforme AOAC (2006). O POR da amostra foi avaliado da mesma maneira que o pH, porém com leitura em eletrodo de platina (DIGIMED® BRASIL).

#### 6.2.5 Peróxidos

A técnica de peróxidos foi baseada em Shanta and Decker (1994), e utilizou-se uma quantidade 50 mg de gordura previamente extraída pela técnica de Bligh and Dyer (1959) e posteriormente seca em bomba de vácuo (TECNAL® BRASIL) em temperatura de 35°C para realização da análise. O resultado obtido em absorvância à 500 nm em espectrofotômetro (AGILENT® CHINA) foi utilizado para comparação com a reta obtida de curva padrão previamente confeccionada. Os resultados de peróxidos foram expressos em miliequivalentes de peróxido/ g de lipídio.

#### 6.2.6 TBARS

As espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico foram avaliadas conforme a técnica de Raharjo et al (1992) e baseou-se em homogeneizar 5 g de carne e 5 g de gordura com uma solução de ácido tricloroacético, com posterior filtração e reação com ácido tiobarbitúrico à 95°C por 5 minutos e leitura de absorvância em 531 nm quando a amostra atingiu 25°C. Os resultados foram expressos em mg de malonaldeído (MDA) / Kg de amostra após comparação com curva padrão à partir de concentrações crescentes de tetraetóxipropano (TEP).

#### 6.2.7 Carbonil

As proteínas carboniladas foram avaliadas conforme técnica descrita por Levine (1990) com algumas modificações. Em tubo Falcon, 1 g de carne foi homogeneizada em Ultra Turrax (TECNAL®BRASIL) por 30 segundos com tampão fosfato pH 6,9 0,04 M. Feito 2 tubos com dinitrofenilhidrazina (DNPH), e outro contendo ácido clorídrico 2M, após a formação do pellet, e lavagem com acetato de etila: etanol (1:1 v/v), e 10 minutos de incubação à 37°C, o mesmo foi solubilizado em solução de dodecil sulfato de sódio (SDS) 2%, sendo que um tubo continha DNPH e foi lido em espectrofotômetro à 370 nm e o tubo branco lido à 280 nm para quantificação de proteína e 370 nm. O grupo carbonil foi quantificado como [A 370nm com DNPH- A 370 tubo branco] para eliminação de efeito de absorvância da proteína, e no cálculo foi utilizado o coeficiente de extinção molar da hidrazona  $22.000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  e o resultado expresso em nanomol de DNPH/ mg de proteína.

#### 6.2.8 Tiol

O grupamento tiol foi analisado na proteína conforme análise descrita por Ellman (1959) com algumas modificações. Para a quantificação o resultado da absorvância obtida em espectrofotômetro foi comparado com uma curva padrão previamente confeccionada com o aminoácido cisteína. Esta técnica baseia-se em formação de cromóforo entre tiol e ácido ditionitrobenzóico (DTNB), sendo que este absorve em comprimento de onda de 412 nm, e a proteína é quantificada em 280 nm, em outro tubo de ensaio, sendo um tubo de reação de cor e um tubo de quantificação proteica. O resultado foi expresso em nanomol de tiol por mg de proteína.

### 6.2.9 Cor

A análise de cor foi efetuada 30 minutos após abertura da embalagem à vácuo com temperatura em torno de 20 °C ( $\pm 1$ ) em equipamento colorímetro (KONICA MINOLTA®) com leitura direta de 5 pontos aleatórios da carne. Após obtenção das medidas, uma média foi obtida. O iluminante A, componente especular incluso e abertura de 10° foram usados para mensurar L, a\*, b\* (Brewer et al 2001). O índice de vermelho foi calculado como a\*/b\* (Chen et al 1997).

### 6.2.10 Determinação de hexanal

Os compostos voláteis dos dias 1, 15 e 29 foram extraídos do *headspace* do vial contendo 5g de carne previamente moída e homogeneizada, utilizando a técnica de microextração em fase sólida (HS-SPME). A fibra de SPME de revestimento Carboxen/polidimetilsiloxano (Car/PDMS) (75  $\mu\text{m} \times 10$  mm, Supelco, Bellefonte, PA, USA) foi utilizada na extração. Os frascos contendo as amostras foram submetidas à extração por 45 min, em banho-maria a 40°C. Antes da extração, cada frasco contendo as amostras foi submetido a um tempo de pré-equilíbrio na mesma temperatura de extração, sem exposição da fibra por 15 min. Após o término da extração, a fibra foi removida e inserida no injetor do cromatógrafo para dessorção térmica dos analitos.

O hexanal foi avaliado por um cromatógrafo de fase gasosa Varian Star 3400CX (CA, EUA) equipado com um detector de ionização de chama (GC-FID). A fibra foi dessorvida termicamente na porta de injeção a uma temperatura de 250 °C durante 10 min, em um modo de *splitless* durante 2 min. Os compostos foram separados numa coluna capilar polar de sílica fundida ZB-WAX Plus (60 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.25  $\mu\text{m}$ ). O hidrogênio foi utilizado como gás de arraste a uma pressão constante (30 psi). A temperatura inicial da coluna foi ajustada para 35 °C e mantida durante 3 min. Em seguida, um gradiente de temperatura foi iniciado subindo a 2 °C  $\text{min}^{-1}$  até 80 °C, seguido por um aumento a 5 °C  $\text{min}^{-1}$  até 230 °C, e mantida em condições isotérmicas durante 5 min. A temperatura do detector foi mantida a 230 °C. Uma série de n-alcenos homólogos foram analisados sob as mesmas condições cromatográficas para calcular o índice de retenção linear (IRL). O hexanal foi identificado por comparação de índice de retenção e espectro de massas obtidos por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC/MS QP-2010 Plus, Shimadzu Corporation, Tokyo, Japan) na mesmas condições de análise descrita. A comparação entre os tratamentos foi realizada pela comparação de área cromatográfica obtida do hexanal no GC-FID.

### 6.2.11 Análises estatísticas

Foi aplicado o teste ANOVA, e havendo diferença nesta, o teste de Duncan ( $p < 0,05$ ) foi utilizado para comparações de médias. Os experimentos foram realizados em triplicata. Foi utilizado o software STATISTICA 7,0 (STATSOFT®) para cálculos estatísticos, PRISM (GRAPHPAD®) para confecção dos gráficos e EXCEL (MICROSOFT®) para tabelas.

## 6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.3.1 Características das águas eletrolisadas

Os teores de cloro livre (CCL) presentes nas águas eletrolisadas antes da aplicação do spray (tabela 1), estão relacionados com a temperatura da salmoura na eletrólise e com a sua concentração de sal (0,05%), decorrente que no aparelho utilizado nesse trabalho, não é possível controlar o fluxo de água e a amperagem.

**Tabela 1.** Características dos diferentes tipos de águas eletrolisadas aplicadas nos pedaços de carne suína e concentração de cloro (CCL) nas águas eletrolisadas pós-spray.

Tipo de água	pH	POR (mV)	CCL	CCL na água pós-spray <sup>1</sup>
AEA	2,60	1200	74	23
AEFA	6,15	930	51	25
AEB	11,40	-830	0	0

**Nota:** <sup>1</sup>Concentração de cloro livre (CCL) nas águas eletrolisadas que escorreram dos pedaços de carnes tratados.

A CCL nas AE aplicadas no modo de spray (AEA 74 mg/L de Cl<sub>2</sub> e AEFA 51mg/L de Cl<sub>2</sub>) foram menores do que as aplicadas por Jadeja and Hung (2014) que trabalharam com AEFA (150 mg/L de Cl<sub>2</sub>) em spray sob couro bovino, e de Martinez-Hernandez et al (2015) trataram brócolis com AEFA (100 mg/L de Cl<sub>2</sub>), e maiores do que Rahman et al (2013) (AEFA contendo 10 mg/L de Cl<sub>2</sub> e AEA 50 mg/L de Cl<sub>2</sub>) em carne de porco por imersão, Rahman et al (2010) (AEFA contendo 5 mg/L de Cl<sub>2</sub> e AEA 50 mg/L de Cl<sub>2</sub>) com imersão de folhas de alface. No entanto as informações sobre a CCL na água eletrolisada após entrar em contato com a carne e escorrer são praticamente inexistentes, e por conter cloro, esta AE residual poderia ainda ser útil.

A AEA e AEFA após aplicação nos pedaços de carnes apresentaram CCL de 23 mg/L de Cl<sub>2</sub> e 25 mg/L de Cl<sub>2</sub> respectivamente. Esse é um ponto positivo, uma vez que essas AE poderiam vir a funcionar como um mecanismo de autocontrole de contaminação na linha de processamento, já que AEFA com concentração em torno de 40 mg/L de Cl<sub>2</sub> por 10 minutos diminuiu populações de biofilmes de *Listeria monocytogenes* (Arévalos-Sanchez et al 2013) e 7 mg/L de Cl<sub>2</sub> apresentaram efeito positivo de inibição ao crescimento de *E. coli* O157:H7 (Gómez-López et al 2014).

A diminuição da CCL após aplicação na carne deu-se principalmente pelo contato desta com a matéria orgânica, visto que esta consome o CCL.

### 6.3.2 Microbiologia

Os microrganismos mesófilos aeróbios totais estão envolvidos diretamente com infecções de origem tóxico-alimentar e produção de compostos patogênicos (Forsythe 2010). Ao analisar a ação dos diferentes tipos de AE aplicadas frente à este tipo de microrganismo (tabela 2), pode-se verificar que em ambas as pressões utilizadas, o tratamento AEB + AEA promoveu redução significativa ( $p < 0,05$ ) no número de bactérias no dia 1 em relação ao tratamento controle (0,74 log a 30 psi e 1,03 log a 45 psi) e maior do que a AEB + AEFA (0,31 log à 30 psi e 0,77 log à 45 psi). A AEA caracteriza-se por apresentar moléculas de Cl<sub>2</sub> e ácido clorídrico diluído, que desencadeiam um POR extremamente oxidante (tabela 1) à ponto de promover alterações nas membranas internas e externas da célula, causando necrose na mesma (Liao et al 2007). Huang et al (2006) banharam files de peixe com AE em uma razão de 10 volumes com AEA com pH 2,5 e 50 mg/L de Cl<sub>2</sub> durante 5 minutos, e obtiveram reduções de 20% em aeróbios no dia da aplicação, enquanto obteve-se 36% de redução utilizando 45 psi e AEB+AEA em mesófilos e utilizando menos água. Wang et al (2004) lavaram coentro (1,5 Kg em 45 L) em AEA com pH 2,45 e 16,8 mg/L de Cl<sub>2</sub> durante 5 minutos e o tratamento reduziu 0,66 log UFC/g em relação ao controle, enquanto obteve-se no mínimo 0,74 log UFC/g de redução no experimento com 30 psi.

Há predomínio de estudos com AEA e AEFA em virtude de sua CCL presente, e pouco com AEB, decorrente que a mesma não apresenta cloro e como consequência não teria

ação frente a microrganismos. Hao et al. (2015) mencionam que a ação da AEA poderia ser otimizada com uma aplicação prévia de AEB.

Sun et al (2012) relataram que AEB apresentou capacidade removedora de biofilme, e assim a AEA com CCL de 40 mg/L de Cl<sub>2</sub> teve a sua atividade melhorada. A atividade de AEB poderia favorecer a ação de AEA e AEFA, em virtude que a primeira pode ter efeito limpante, porque o NaOH presente pode saponificar ácidos graxos e deixar menos moléculas interferentes na superfície da carne, como uma lixiviação, facilitando a ação da AEA ou AEFA frente às bactérias. A imersão de folhas de alface em 1,5L de AEB (pH 11,4) por 5 minutos seguida de imersão por 5 minutos em 1,5L de AEA (40 mg/ de Cl<sub>2</sub> e pH 2,6) à 20°C e trouxe diminuição de 7,14 para 5,32 log UFC/g de *E. coli* O157:H7, este tratamento foi melhor do que somente imersão em AEA por duas seções de imersão durante 5 minutos cada, que diminuiu de 7,14 para 5,61 log UFC/g, no entanto, estatisticamente (p<0,05) a diminuição no tratamento com águas diferentes foi maior do que utilizando somente AEA (Koseki et al 2004).

**Tabela 2.** Número de colônias de bactérias mesófilas (log UFC/g), em carne suína que foram submetidas a aplicação de AE em diferentes pressões de spray e embaladas à vácuo durante período de armazenamento a 4 °C.

Experimento	Dia 1	Dia 15	Dia 29
<b>30 psi</b>			
AEB + AEA	3,38 <sup>cB</sup> (0,11) [0,74]	6,71 <sup>aA</sup> (0,31) [0,31]	7,03 <sup>bA</sup> (0,32) [0,46]
AEB + AEFA	3,81 <sup>bC</sup> (0,11) [0,31]	6,69 <sup>aB</sup> (0,27) [0,33]	7,29 <sup>abA</sup> (0,13) [0,20]
Controle	4,12 <sup>aB</sup> (0,07)	7,02 <sup>aA</sup> (0,56)	7,49 <sup>aA</sup> (0,10)
<b>45 psi</b>			
AEB + AEA	1,89 <sup>bC</sup> (0,17) [1,03]	6,55 <sup>aB</sup> (0,12) [0,24]	7,35 <sup>aA</sup> (0,19) [0,11]
AEB + AEFA	2,15 <sup>bC</sup> (0,21) [0,77]	5,58 <sup>bB</sup> (0,57) [1,21]	6,79 <sup>bA</sup> (0,25) [0,67]
Controle	2,92 <sup>aC</sup> (0,25)	6,79 <sup>aB</sup> (0,27)	7,46 <sup>aA</sup> (0,07)

**Nota:** As letras minúsculas/maiúsculas diferentes nas colunas/linhas indicam diferença estatística (p<0,05) dentro do mesmo experimento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão) [log de redução em relação ao controle].

No decorrer do armazenamento (15° e 29° dia) a AEB+AEFA aplicada a 45 psi, continuaram apresentando boa ação frente as bactérias mesófilas ( redução de 1,21 log e 0,67 log respectivamente), enquanto que a AEB+AEA perderam sua ação (tabela 2). O tratamento com AEFA possui um forte diferencial em relação a AEA, que é a presença de HOCl (White 2010). Este ácido juntamente com a aplicação de uma maior pressão de spray, parece ter mantido o efeito neste tratamento ao longo dos 29 dias, por apresentar log de redução significativamente maior (p<0,05) que o tratamento com AEA (0,24 log e 0,11 log) e do controle (tabela 2).

O mecanismo pelo qual o HOCl é capaz de afetar as bactérias e outros microrganismos ainda não foi completamente elucidado (Mokudai et al 2012; White 2010). Um dos mecanismos relatados é que o HOCl possui a capacidade de ultrapassar membranas, e dentro da célula seria capaz de produzir o radical OH<sup>•</sup>, desestabilizando o equilíbrio do POR (Mokudai et al 2015).

As contagens bacterianas de mesófilas à partir de 7,0 log indicam que a vida de prateleira da carne está chegando ao fim, porque estará apresentando odores desagradáveis (FAO 1991), no dia 15 somente o tratamento com AEFA em 45 psi, apresentou número de colônias de 5,58 log, indicando que essa carne estava em boa condição para o consumo (tabela 2).

A aplicação de spray por 10s de 6 L de AEA (50 mg/L de  $\text{Cl}_2$  e pH 2,40) reduziu 1 log UFC/mL de aeróbios totais em frangos, passando de 6,70 para 5,70, ou seja, proporcionalmente foi utilizado mais água em relação ao tratamento AEB+AEA com 45 psi (200 mL) e o efeito foi menor (Northcutt et al 2007).

O efeito da AEB+AEA e AEB+AEFA frente as bactérias lácticas ocorreu somente no 1º dia, reduzindo significativamente ( $p < 0,05$ ) o número de colônias de bactérias em relação ao controle, mas somente na pressão de 30 psi (tabela 3). Essa redução no número de bactérias ácido lácticas no dia 1, sem persistência de efeito pode ter influenciado no desenvolvimento da oxidação lipídica (tabela 9 e 10), uma vez que estas bactérias podem produzir água oxigenada (Hui 2006) que é uma espécie reativa de oxigênio que pode desencadear a oxidação (Choe and Min 2005).

**Tabela 3.** Número de colônias de bactérias lácticas (log UFC/g), em carne suína que foram submetidas a aplicação de AE em diferentes pressões de spray e embaladas à vácuo durante período de armazenamento a 4 °C.

Experimento	Dia 1	Dia 15	Dia 29
<b>30 psi</b>			
AEB + AEA	3,35 <sup>bb</sup> (0,11) [0,78]	7,40 <sup>aa</sup> (0,11) [0,30]	7,84 <sup>aa</sup> (0,54) [0,00]
AEB + AEFA	3,67 <sup>bb</sup> (0,17) [0,46]	7,56 <sup>aa</sup> (0,16) [0,14]	7,55 <sup>aa</sup> (0,09) [0,14]
Controle	4,13 <sup>ab</sup> (0,26)	7,70 <sup>aa</sup> (0,20)	7,69 <sup>aa</sup> (0,14)
<b>45 psi</b>			
AEB + AEA	1,84 <sup>ac</sup> (0,21) [0,65]	6,68 <sup>ab</sup> (0,08) [0,00]	7,46 <sup>aa</sup> (0,10) [0,01]
AEB + AEFA	1,93 <sup>ac</sup> (0,33) [0,56]	6,43 <sup>ab</sup> (0,25) [0,24]	7,32 <sup>aa</sup> (0,09) [0,15]
Controle	2,49 <sup>ac</sup> (0,50)	6,67 <sup>ab</sup> (0,27)	7,47 <sup>aa</sup> (0,15)

**Nota:** As letras minúsculas/maiúsculas diferentes nas colunas/linhas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) dentro do mesmo experimento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão) [log de redução em relação ao controle].

As bactérias ácido lácticas são um problema no armazenamento de carnes e de produtos cárneos embalados à vácuo (Doulgeraki et al 2012). No experimento com 30 psi a partir do dia 15 e no experimento com 45 psi no 29 dia as bactérias lácticas apresentaram valores acima de 7,0 log UFC/g, e o pH em ambos os experimentos permaneceu entre 5,54 a 5,86 (tabela 6). Números desta magnitude de bactérias ácido lácticas podem trazer algumas características ao alimento, como produção de odores indesejáveis (Koutsoumanis et al 2005; Pothakos et al 2015). Valores de 7,6 log UFC/g de bactérias ácido lácticas, e queda do pH foram encontrados em carne bovina embalada a vácuo no 14º dia de armazenamento a 5°C, e estes números de bactérias produziram odores desagradáveis (Flores-Rondón et al 2011).

As bactérias lácticas alimentam-se de açúcares, no entanto como estes perfazem cerca de 1% do conteúdo da carne (Gomide et al 2013), e ele acaba, logo, este substrato de carbono não seria mais utilizado para seu crescimento. Então entraria em ação um outro mecanismo de nutrição que é a utilização de aminoácidos (Pothakos et al 2015) ou outras formas de fontes de carbono, disponíveis à estas bactérias que sofreriam ação de enzimas proteolíticas ácidas, como a catepsina D (Bechet et al 2005), em que sua ação não foi afetada por AEA contendo 44 mg/L de  $\text{Cl}_2$  (Wang et al 2015). Também poderia ocorrer a utilização de substratos como os nucleosídeos e inosina presentes no meio, que desencadeariam a produção de odor de manteiga na carne (Jääskeläinen et al 2015).

No dia 15, a carne apresentava odor de produto lácteo, com característica ácida. A elevada carga de bactérias ácido lácticas propiciou dois ambientes à carne: o ambiente

competitivo, em virtude de ácidos produzidos, e o ambiente danoso à carne, uma vez que a utilização de aminoácidos contidos neste favorece a sintetização de aromas desagradáveis, afetando diretamente a qualidade da carne (Pothakos et al 2015). O aroma cheesy off-odour desenvolvido na carne é caracterizado pela produção de diacetil e acetoína pelas bactérias lácticas (Hui 2006).

Como a atuação das enzimas catepsinas está bastante intensa com o passar dos dias de armazenamento, há fornecimento de peptídeos e aminoácidos ao meio, além da atividade proteolítica das bactérias lácticas (Aguirre et al 2008). Estes produtos estão alimentando as bactérias ácido lácticas, e sua presença torna a sobrevivência de *Staphylococcus* sp bastante complicada (Forsythe 2010), uma vez que cepas como a de *L. sakei* apresentam capacidade bactericida e bacteriostática frente à estes microrganismos (Castellano et al 2012), que utilizam alguns pontos de atuação contra estas bactérias, tal como o pH, a síntese de ácido láctico e a possível produção de bacteriocinas no meio (Zacharof and Lovitt 2012). No dia 29, o cheiro de produto lácteo estava impregnado com cheiro de putrefação, indicando que a carne não estava mais em condições de consumo.

As combinações de AEB + AEA e AEB + AEFA na pressão de 30 psi, apresentaram bom efeito frente as *Enterobacteriaceae*, no dia 1, uma vez que reduziram significativamente ( $p < 0,05$ ) em 1,31 log e 1,11 log respectivamente o número de colônias de bactérias pertencentes a essa família (tabela 4). Na pressão de 45 psi os pedaços de carne suína estudados apresentaram baixo número inicial de colônias de *Enterobacteriaceae*, e não foi possível avaliar o efeito das diferentes combinações de AE empregadas (tabela 4). Neste experimento, somente no 15º dia é que se pode observar o efeito da AEB+AEA e AEB+AEFA, uma vez que os pedaços tratados apresentaram número de colônias significativamente ( $p < 0,05$ ) menores ao do controle. As bactérias pertencentes a essa família indicam diretamente o grau de higienização que a carne está apresentando, sendo essa informação mais indicada do que o próprio teste de coliformes (Forsythe 2010).

Ao estudarem o efeito de AEA e AEFA isoladamente contendo 15 mg/L de  $Cl_2$  em ovos contaminados com *Salmonella enteritidis*, Cao et al (2009) verificaram que além destas soluções diminuiriam a carga microbiana em 5 log aproximadamente para números não-detectáveis através do mergulho por 3 minutos, a água residual de lavagem não apresentava bactérias viáveis, reforçando a ideia de auto-controle de contaminação pela AE residual após o tratamento dos pedaços de carne (tabela 1) ainda no ambiente industrial. As reduções do lombo suíno foram menores, no entanto, o volume de AE utilizada no trabalho de Cao et al (2009) foi de 500 mL, além do tempo de contato prolongado (3 minutos).

**Tabela 4.** Número de colônias de *Enterobacteriaceae* (log UFC/g) em carne suína que foram submetidas a aplicação de AE em diferentes pressões de spray e embaladas à vácuo durante período de armazenamento a 4 °C.

Experimento	Dia 1	Dia 15	Dia 29
<b>30 psi</b>			
AEB + AEA	2,01 <sup>bc</sup> (0,27) [1,31]	6,02 <sup>ab</sup> (0,20) [0,00]	6,48 <sup>aA</sup> (0,05) [0,10]
AEB + AEFA	2,21 <sup>bb</sup> (0,37) [1,11]	5,80 <sup>aA</sup> (0,08) [0,12]	6,24 <sup>aA</sup> (0,18) [0,34]
Controle	3,32 <sup>aB</sup> (0,47)	5,92 <sup>aA</sup> (0,36)	6,58 <sup>aA</sup> (0,32)
<b>45 psi</b>			
AEB + AEA	<10 <sup>1</sup>	5,57 <sup>bb</sup> (0,15) [0,99]	6,74 <sup>aA</sup> (0,37) [0,61]
AEB + AEFA	<10 <sup>1</sup>	4,82 <sup>cb</sup> (0,11) [1,74]	6,80 <sup>aA</sup> (0,17) [0,55]
Controle	1,79 <sup>C</sup> (0,17)	6,56 <sup>ab</sup> (0,20)	7,35 <sup>aA</sup> (0,35)

**Nota:** As letras minúsculas/maiúsculas diferentes nas colunas/linhas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) dentro do mesmo experimento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão) [log de redução em relação ao controle].

A redução de *Enterobacteriaceae* de 0,90 log foi encontrada por Bosilevac et al (2005) após aplicarem 10 s de AEB a 770 psi seguido de 10 s AEA a 250 psi (70 mg/L de Cl<sub>2</sub>) sob a forma de spray à 65 cm de distância em couro recém obtido. Além de utilizarem pressão muito maior para aplicação dos dois tipos de AE, o efeito resultante foi menor do que ocorreu nas carnes suínas, pois a redução com 30 psi utilizando AEB+AEA foi de 1,31 log (tabela 4). Proporcionalmente, este log UFC/g de redução de 30 psi com AEB+AEA (40%) foi igual ao encontrado por Mahmoud et al (2016) na aplicação de 0,1 KGy de raio-X em atum sobre *Salmonella enterica*, com o benefício de não ter toda a geração de resíduos radioativos e o perigo ocupacional quando utilizado AE.

As aplicações combinadas de AEB+AEA e AEB+AEFA apresentaram efeitos positivos na diminuição da carga microbiana de mesófilos, bactérias lácticas, *Enterobacteriaceae*. Pinto et al (2015) verificaram ação da AEFA (200g/ 4 L de AEFA com CCL de 200 mg/L de Cl<sub>2</sub>) em pés de alface previamente contaminados com cepas de *Enterobacteriaceae*, e obtiveram magnitude de 2 log UFC/g de redução após tratamento por mergulho durante 5 minutos. Nos lombos suínos tratados com spray de AEB+AEFA e pressão de 30 psi, a redução foi de 1,11 log UFC/g (tabela 4), mas usando menor quantidade de água proporcionalmente (0,8 partes de água para 1 parte de carne). ZENG et al (2010) ao estudarem o efeito de AEA em suspensão de bactéria *E. coli*, e observaram alterações a nível de cadeia respiratória, anabolismo, permeabilidade da membrana decorrente da alteração ocorrida em sua condutividade, sendo este um dos possíveis mecanismos de atividade da AEA. A imersão de 10 g de folhas de alface durante 1 minuto à 35°C em 200 mL de AEFA com 5 mg/L de Cl<sub>2</sub>, apresentou maior ação frente a *E.coli* O157:H7 do que em AEA com 50 mg/L de Cl<sub>2</sub> (Rahman et al 2010) diferentemente de nossos resultados, em que AEB+AEA mostrou-se mais efetiva no dia 1 comparada com AEB+AEFA, com 1,31 log UFC de redução em *Enterobacteriaceae*. contra 1,11 da AEB+AEFA (tabela 4).

Os tratamentos AEB+AEA e AEB+AEFA aplicados com pressão de 30 psi promoveram redução significativa ( $p < 0,05$ ) no número de bactérias psicrotólicas no dia 1. Com a pressão de 45 psi não foi possível avaliar o efeito da AE em função da baixa carga inicial destas bactérias nos pedaços analisados (tabela 5).

**Tabela 5.** Número de bactérias psicrotróficas (log UFC/g) em carne suína que foram submetidas a aplicação de AE em diferentes pressões de spray e embaladas à vácuo durante período de armazenamento a 4 °C.

Experimento	Dia 1	Dia 15	Dia 29
<b>30 psi</b>			
AEB + AEA	3,10 <sup>bb</sup> (0,16) [0,59]	7,13 <sup>aA</sup> (0,31) [0,16]	6,84 <sup>bA</sup> (0,15) [0,82]
AEB + AEFA	3,27 <sup>bb</sup> (0,06) [0,42]	7,41 <sup>aA</sup> (0,12) [0,00]	7,31 <sup>aA</sup> (0,27) [0,35]
Controle	3,69 <sup>aB</sup> (0,28)	7,29 <sup>aA</sup> (0,51)	7,66 <sup>aA</sup> (0,13)
<b>45 psi</b>			
AEB + AEA	<10 <sup>1</sup>	4,99 <sup>aB</sup> (0,43) [0,62]	6,57 <sup>aA</sup> (0,08) [0,33]
AEB + AEFA	<10 <sup>1</sup>	5,23 <sup>aB</sup> (0,33) [0,38]	6,57 <sup>aA</sup> (0,28) [0,33]
Controle	<10 <sup>1</sup>	5,61 <sup>aB</sup> (0,53)	6,90 <sup>aA</sup> (0,15)

**Nota:** As letras minúsculas/maiúsculas diferentes nas colunas/linhas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) dentro do mesmo experimento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão) [log de redução em relação ao controle].

Nos dias 15 e 29 os tratamentos com AEB+AEA e AEB+AEFA não apresentaram efeito significativo ( $p > 0,05$ ) nas duas pressões utilizadas frente ao grupo de bactérias psicrotróficas. Isto pode ser considerado um ponto negativo, uma vez que a vida de prateleira das carnes refrigeradas é limitada pelo número de colônias das bactérias psicrotróficas, que é de  $10^6$  UFC/g uma vez que em  $10^7$  UFC/g estão em deterioração (Forsythe, 2010), decorrente que estes microrganismos, produzem metabólitos que afetam a parte sensorial do alimento, pela produção de aldeídos, lactonas e de sua atividade proteolítica que produz substâncias sulfuradas (Gounot 1986; Ercolini et al 2009). Tielen et al (2013) relataram que *P. aeruginosa* foi capaz de utilizar como fonte de carbono os aminoácidos e lactato.

Para o grupo de bactérias psicrotróficas, o tipo de aplicação, o tipo de AE e a concentração de cloro (mg/L de  $Cl_2$ ) são fatores determinantes de ação. Contudo pode ser que o efeito dependa muito mais do tempo de contato da AE com as bactérias, do que da intensidade do tratamento. Outro fator que pode fazer com que a aplicação de AE possua diferenças de efeito é a espécie na qual a carne é proveniente, como foi verificado com hipoclorito (Sarjit and Dykes 2015).

### 6.3.3 pH

Os valores de pH obtidos em ambos os experimentos (30 e 45 psi) e nos tratamentos (AEB + AEA e AEB + AEFA) em todos os dias analisados foram menores do que 5,9 indicando que os lombos suínos pertencentes aos dois experimentos no final do período de armazenamento não apresentavam características de estado putrefativo avançado (Rahman et al 2013). No entanto, a carga bacteriana presente pode ter interferido nos valores de pH, que se avaliados isoladamente poderiam dar uma falsa ideia de conservação, mas é importante verificar-se que o dia 15 mostrava cargas de bactérias lácticas e mesófilas alta, podendo estas interferirem diretamente na qualidade sensorial da carne. O pH aumentou significativamente entre o dia 1 e o dia 15 ( $p > 0,05$ ) no experimento com 30 psi nos tratamentos AEB+AEA e AEB+AEFA, enquanto que no experimento com 45 psi isso ocorreu somente no tratamento AEB+AEA. Esse pequeno aumento pode estar relacionado com a produção de compostos aminados provenientes de bactérias proteolíticas (Mano et al 2002).



**Tabela 6.** Valores de pH em carne suína que foram submetidas a aplicação de AE em diferentes pressões de spray e embaladas à vácuo durante período de armazenamento a 4 °C.

<b>Experimento</b>	<b>Dia 1</b>	<b>Dia 15</b>	<b>Dia 29</b>
<b>30 psi</b>			
AEB + AEA	5,55 <sup>aB</sup> (0,03)	5,63 <sup>aA</sup> (0,01)	5,63 <sup>aA</sup> (0,02)
AEB + AEFA	5,57 <sup>aB</sup> (0,01)	5,74 <sup>aA</sup> (0,08)	5,56 <sup>aB</sup> (0,02)
Controle	5,58 <sup>aA</sup> (0,01)	5,67 <sup>aA</sup> (0,04)	5,74 <sup>aA</sup> (0,15)
<b>45 psi</b>			
AEB + AEA	5,46 <sup>aB</sup> (0,06)	5,60 <sup>aA</sup> (0,04)	5,49 <sup>bB</sup> (0,02)
AEB + AEFA	5,46 <sup>aA</sup> (0,03)	5,54 <sup>aA</sup> (0,07)	5,53 <sup>bA</sup> (0,00)
Controle	5,55 <sup>aA</sup> (0,24)	5,84 <sup>aA</sup> (0,30)	5,86 <sup>aA</sup> (0,11)

**Nota:** As letras minúsculas/maiúsculas diferentes nas colunas/linhas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) dentro do mesmo experimento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão).

Os tratamentos não promoverem alterações nos valores de pH na superfície das carnes suínas, uma vez que estes valores não diferiram significativamente ( $p > 0,05$ ) dos valores do pH do grupo controle, no primeiro e no 15° dia de armazenamento, em ambas as pressões utilizadas (tabela 6). Ocorreu diferença significativa ( $p < 0,05$ ) somente no 29° dia de armazenamento nos tratamentos com AEA e AEFA à 45 psi, sendo esse acontecimento relacionado com o crescimento dos diferentes tipos de bactérias. Rahman et al (2013) ao aplicarem somente AEA (50 mg/L de  $Cl_2$  e pH 2,5) e AEFA (10 mg/L de  $Cl_2$  e pH 6,8) durante cinco minutos na forma de imersão em carne suína, também observaram que o valor de pH na superfície das carnes tratadas com os dois tipos de AE não diferiram do grupo controle logo após a aplicadas. Desse modo a ação dos diferentes tipos de AE frente as bactérias, estaria relacionada com a concentração de  $Cl_2$  e HOCl e com o tempo de contato com a carne, diferentemente de outras substancias que além desses quesitos, também modificam o pH da superfície da carne (Smaoui et al 2012)

#### 6.3.4 Oxidações lipídicas

Os dois tipos de combinação utilizados AEB+AEA e AEB+AEFA, nas duas pressões de aplicação, no dia 1 não aceleraram a produção de peróxidos, uma vez que estes valores não diferiram significativamente ( $p > 0,05$ ) do controle. Esta informação torna-se interessante uma vez que a presença de HOCl (AEFA) ou HCl e  $Cl_2$  (AEA), poderiam acelerar as oxidações por serem agentes oxidantes (WHO 2000). Mahmoud et al (2006) logo após mergulharem peixes durante quinze minutos na combinação de AEB+AEA (40 mg/ L  $Cl_2$  e pH 2,2), também obtiveram resultado igual ao dos lombos suínos, no entanto no 5° dia o controle possuía valores de peróxidos maiores do que o tratamento com AE ao serem armazenados a 5 °C. Este fato não aconteceu no 15° e 29° dia de armazenamento, pois os valores de peróxidos dos tratamentos com as diferentes combinações de águas eletrolisadas continuaram não diferindo significativamente ( $p > 0,05$ ) dos valores do controle (tabela 7).

**Tabela 7.** Valores de peróxidos (miliequivalentes de peróxidos/ Kg de amostra) em carne suína que foram submetidas a aplicação de AE em diferentes pressões de spray e embaladas à vácuo durante período de armazenamento a 4 °C.

Experimento	Dia 1	Dia 15	Dia 29
<b>30 psi</b>			
AEB + AEA	0,057 <sup>aB</sup> (0,031)	0,227 <sup>aA</sup> (0,110)	0,283 <sup>aA</sup> (0,045)
AEB + AEFA	0,062 <sup>aB</sup> (0,010)	0,107 <sup>aAB</sup> (0,005)	0,259 <sup>aA</sup> (0,141)
Controle	0,083 <sup>aC</sup> (0,026)	0,196 <sup>aA</sup> (0,011)	0,140 <sup>aB</sup> (0,010)
<b>45 psi</b>			
AEB + AEA	0,133 <sup>aB</sup> (0,035)	0,275 <sup>aAB</sup> (0,058)	0,440 <sup>aA</sup> (0,184)
AEB + AEFA	0,091 <sup>aB</sup> (0,032)	0,297 <sup>aA</sup> (0,112)	0,271 <sup>aA</sup> (0,009)
Controle	0,089 <sup>aB</sup> (0,016)	0,183 <sup>aAB</sup> (0,077)	0,268 <sup>aA</sup> (0,075)

**Nota:** As letras minúsculas/maiúsculas diferentes nas colunas/linhas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) dentro do mesmo experimento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão).

Durante o tempo de armazenamento no experimento com 30 psi o controle apresentou aumento significativo ( $p < 0,05$ ) no valor de peróxidos entre o dia 1 e o dia 15, e diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) entre o dia 15 e o dia 29 (tabela 8). Os tratamentos com AE mostram aumento de peróxidos significativo ( $p < 0,05$ ) entre o dia 1 e dia 15 no tratamento com AEB + AEA a 30 psi, e não significativo ( $p > 0,05$ ) no tratamento com AEB + AEFA também a 30 psi. Mas entre o dia 15 e 29 em ambas as pressões e tratamentos com AE, não ocorreu aumento significativo ( $p > 0,05$ ) nos valores de peróxidos. Nesses dois experimentos e tratamentos parece que ocorreu estabilização no processo de oxidação, possivelmente causada pela AEB, em virtude de possuir NaOH diluído, mas principalmente hidrogênio, que apresenta capacidade de inativar algumas espécies reativas de oxigênio (Shirahata et al 1997) e peróxido de hidrogênio (Kanaoka 2001), que possivelmente tenham sido produzidas pelas bactérias lácticas e outras, que estavam presentes em grande quantidade nos lombos suínos.

No experimento com 45 psi (tabela 7) o comportamento foi um pouco diferente, sendo que no decorrer do tempo entre o dia 1 e o dia 15 somente no tratamento com AEB+AEFA os valores de peróxidos aumentaram significativamente ( $p < 0,05$ ), e entre o dia 15 e o dia 29 nos três tratamentos os valores de peróxidos não aumentaram significativamente ( $p < 0,05$ ). Há muito pouco na literatura sobre peróxidos após aplicação de AE em carne, no entanto, este teste figura como marcador de dano oxidativo aos lipídios nos estágios iniciais da oxidação, sendo importante uma vez que estes podem danificar à saúde do consumidor (Kubow 1992).

O teste de TBARS (tabela 8) detecta produtos mais avançados no processo de oxidação, como o malonaldeído (MDA), que é uma substância que também promove danos na saúde do consumidor, dentre eles mutagenicidade e aterogenicidade (Del Rio et al 2005 e Spickett and Forman 2015). No experimento de 30 psi os tratamentos AEB+AEA e AEB+AEFA, não aceleram o processo de oxidação durante o tempo de armazenamento, pois os valores não diferiram estatisticamente ( $p > 0,05$ ) do controle (tabela 7 e 8), o que é um bom indicativo, para a saúde do consumidor.

**Tabela 8.** Valores de TBARS (mg MDA/Kg de amostra) em carne suína que foram submetidas a aplicação de AE em diferentes pressões de spray e embaladas à vácuo durante período de armazenamento a 4 °C.

Experimento	Dia 1	Dia 15	Dia 29
<b>30 psi</b>			
AEB + AEA	0,304 <sup>aA</sup> (0,093)	0,346 <sup>aA</sup> (0,152)	0,096 <sup>aB</sup> (0,021)
AEB + AEFA	0,312 <sup>aA</sup> (0,109)	0,270 <sup>aA</sup> (0,034)	0,058 <sup>aB</sup> (0,049)
Controle	0,234 <sup>aAB</sup> (0,111)	0,347 <sup>aA</sup> (0,115)	0,119 <sup>aB</sup> (0,077)
<b>45 psi</b>			
AEB + AEA	0,238 <sup>bA</sup> (0,055)	0,243 <sup>bA</sup> (0,030)	0,294 <sup>aA</sup> (0,174)
AEB + AEFA	0,322 <sup>bB</sup> (0,064)	0,441 <sup>aA</sup> (0,022)	0,131 <sup>aC</sup> (0,012)
Controle	0,602 <sup>aA</sup> (0,149)	0,296 <sup>bB</sup> (0,038)	0,252 <sup>aB</sup> (0,074)

**Nota:** As letras minúsculas/maiúsculas diferentes nas colunas/linhas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) dentro do mesmo experimento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão).

No experimento com 45 psi, os tratamentos tiveram um nível de oxidação menor do que o controle (tabela 8) no dia 1, e no dia 15 com exceção do tratamento com AEB+AEFA também ocorreu menor valor em relação ao controle ( $p < 0,05$ ). Mahmoud et al (2006) obtiveram resultados semelhantes à 30 psi e diferentes à 45 psi no dia 1, ao aplicarem sob a forma de imersão, filés de peixe à 25°C em AEB+AEA por 15 minutos. No entanto no dia 15, ambos resultados foram diferentes, o que demonstra que o modo e possivelmente a matriz de aplicação tem grande influência sobre as reações oxidativas, bem como a pressão empregada no spray. Neste trabalho de Mahmoud et al (2006) também é possível verificar a influência de AEB na proteção oxidativa à carne, pois o tratamento com AEA apresentou o maior valor de TBARS 1,6 mg MDA/Kg de amostra enquanto que o tratamento com AEB+AEA apresentou 1,1 mg MDA/Kg de AEA no dia 20 de armazenamento à 5°C.

Com capacidade de atacar os lipídios presentes nas membranas, o HOCl presente na AEFA é um agente oxidante que possui grande ação frente à estes (Carr et al 1996). Pode ser que o efeito antioxidante da AEB em relação a ésteres de ácidos graxos, tais como linoleato e docosahexanoato (Miyashita et al 1999), tenha sido suprimido pela posterior aplicação da AEFA aliado à altas pressões de aplicação (45 psi), podendo ser o motivo dos produtos de oxidação secundária surgirem no dia 15 diferentemente de 30 psi (tabela 8).

O comportamento expressado em ambos os experimentos de queda nos valores de TBARS entre o dia 15 e 29 é justificado pela propriedade do MDA ligar-se à outros constituintes da carne, tal como os aminoácidos (Esterbauer et al 2001).

#### 6.3.4 Oxidações proteicas

O estudo de oxidação proteica, embora subestimado na literatura muitas vezes, começa a ter importância no momento em que pesquisas indicam que ela pode estar direta ou indiretamente envolvida em doenças como Parkinson, Alzheimer, catarata, entre outras (Xiong and Foegeding 2015). Informações científicas sobre oxidação proteica em carne suína após aplicação de AE não foram encontrados na literatura. A aplicação dos tratamentos AEB+AEA e AEB+AEFA com pressão de 30 psi, não interferiram nos valores de carbonil, porque os valores não diferiram do controle ( $p > 0,05$ ), no dia 1 e no dia 15 (figura 1a). Mas durante o período de armazenamento, os valores de carbonil aumentaram significativamente ( $p < 0,05$ ) no dia 29, nos dois tratamentos com águas eletrolisadas e no controle. A carbonilação de proteínas está diretamente relacionada com o grau de oxidação da mesma

(Estévez 2011) e seu aumento é proporcional ao avanço da oxidação. A figura 1 mostra os dados dos experimentos com 30 e 45 psi, valores de tiol, carbonil, POR e índice de cor  $a^*/b^*$  para inter-relação de análises.

No experimento com 45 psi (figura 1c), as combinações das águas eletrolisadas aplicadas não promoveram formação de compostos carbonil, uma vez que não houve diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos com AE e os valores do controle no dia 1. No dia 15, o tratamento com AEB+AEFA apresentou valor significativamente menor ( $p<0,05$ ) que o controle, mas no dia 29 apresentou-se mais oxidado ( $p<0,05$ ). Se relacionarmos estes valores com o teste de TBARS, à partir do dia 15 a oxidação lipídica apresentou maior valor no tratamento com AEB+AEFA (tabela 8), e assim deve ter favorecido a oxidação das proteínas neste tratamento (figura 1c).

Entre os dias 15 e 29 no tratamento com AEB+AEA à 45 psi e no controle os valores de carbonil diminuíram (figura 1b). Este fato estaria relacionado com a combinação dos grupamentos carbonílicos à outras substâncias presentes na carne, como aminoácidos, entre outros (Pattison et al 2012), e assim se o grupo carbonil não estiver livre e intacto, o DNPH não liga-se ao mesmo, justificando assim a diminuição do valor (Estévez 2011).

Embora a AEA e AEFA tenham moléculas cloradas e oxidantes como HCl e  $Cl_2$  (AEA) e HOCl (AEFA), nos dias 1 e 15 (figura 1a e 1c) suas ações não foram influenciadas pela pressão aplicada, uma vez que os valores de tiol não diferiram do controle ( $p>0,05$ ) e também porque durante esse tempo de armazenamento estes valores não diminuíram ( $p<0,05$ ), mostrando que a AEB possivelmente possui efeito antioxidante frente à proteína da carne (Lee et al 2006) protegendo a proteína do ataque de AEA e AEFA, além de que a própria proteína e aminoácidos podem ter uma capacidade antioxidante (Sakanaka et al 2004; Nimalaratne 2011), possivelmente sendo o efeito final, uma soma destes.

A queda dos valores de tiol ( $p<0,05$ ) entre o dia 15 e o dia 29 (figura 1a e 1c) ocorreu decorrente da oxidação deste, e devido também à ligação com os compostos de oxidação lipídica, como MDA e moléculas aldeídicas e cetônicas de cadeia curta (Huber et al 2008). A oxidação promovida pelo HOCl é dependente do pH e da concentração que esta espécie clorada está presente no meio (Pullar et al 1999) e que nos experimentos com AEFA era pH 6,15 e 51 mg/L de  $Cl_2$ . Diferentemente dos grupos carbonílicos, o grupo tiol é inversamente proporcional ao grau de formação de compostos carbonílicos, ou seja, quanto mais alto o valor de grupamento tiol, mais preservada está a proteína. Cisteína e metionina são aminoácidos que possuem alta reatividade e consequentemente facilidade de ligação à outras moléculas, como as cloradas (Na and Olson 2007). O valor de POR indica a concentração final de espécies oxidantes e redutoras contidas no meio, e não é comumente efetuada na análise de alimentos. No entanto pode trazer informações complementares sobre o estado de oxidação da carne, sendo que a carne suína apresentou inicialmente com AEB+AEA e AEB+AEFA a 30 psi valores de 174,4 mV e 169,1 mV respectivamente, enquanto o controle 161,3 mV. Esses maiores valores nos pedaços carnes tratados com as AE podem ser devidos ao POR das AE utilizadas (figura 1b e 1d).

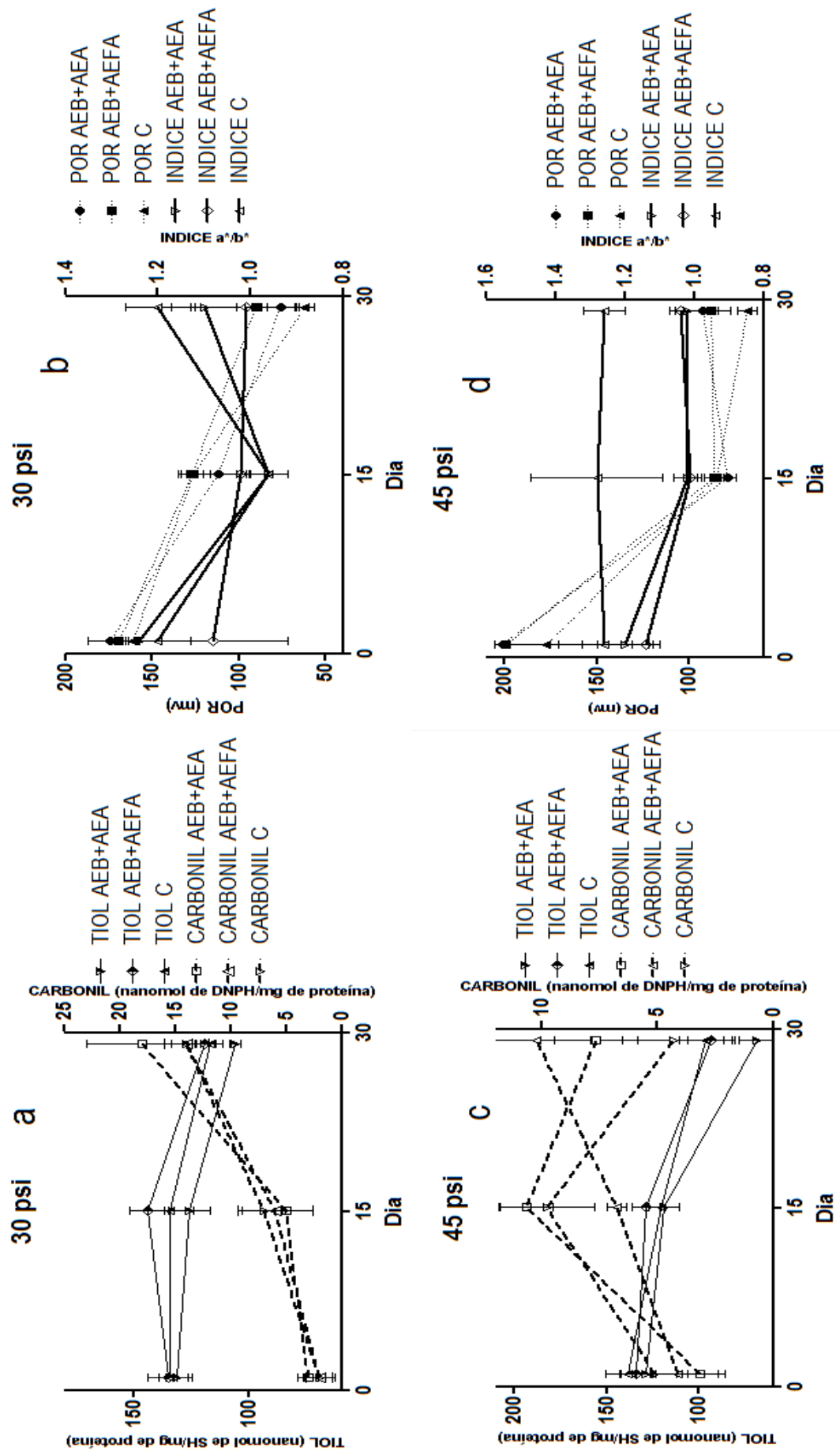


Figura 1. Valores de tiol, carbonil, POR e índice a<sup>2</sup>/b<sup>2</sup> de carne suína tratada com AEB+AEA e AEB+AEFA, e o controle (C) armazenadas à 4°C por 29 dias. a= tiol e carbonil com 30 psi, b= POR e índice com 30 psi, c= tiol e carbonil com 45 psi e d= POR e índice com 45 psi. Os resultados estão expressos em média e desvio padrão.

Com os valores de POR elevados (161 à 174 mV em 30 psi e 177 à 201 mV em 45 psi), no dia 1, os valores de tiol apresentavam-se elevados (131 à 134 nanomol de SH/mg de proteína em 30 psi e 128 à 138 nanomol de SH/mg de proteína em 45 psi) e carbonil encontrou-se com baixos valores (de 2,1 à 3,0 nanomol de carbonil/mg de proteína em 30 psi e 3,1 à 5,1 nanomol de carbonil/mg de proteína em 45 psi). Com o passar do tempo, o POR diminui (112 à 126 mV em 30 psi e 79 à 85 mV em 45 psi) assim como o tiol (126 à 144 nanomol de SH/mg de proteína e 118 à 128 nanomol de SH/mg de proteína em 45 psi). Por outro lado, o carbonil aumentou (5,1 à 7,3 nanomol de carbonil/mg de proteína em 30 psi e 6,6 à 9,7 nanomol de carbonil/mg de proteína) no dia 15 de armazenamento. E no dia 29, o POR encontrava-se menor (62 à 90 mV e 30 psi e 68 à 92 mV em 45 psi), assim como o tiol (106 à 117 nanomol de SH/mg de proteína em 30 psi e 68 à 96 nanomol de SH/mg de proteína em 45 psi), e o carbonil aumentou (valores de 14 à 18 nanomol de carbonil/mg de proteína em 30 psi e em 45 psi 4 à 10 nanomol de carbonil/mg de proteína, este último possivelmente por causa de reações citadas acima).

Estas reações indicam que durante o tempo de armazenamento o grupamento tiol e carbonil, diminuem e aumentam respectivamente, assim como o POR diminui. Este fator está relacionado com o acontecimento das oxidações e redução do meio, diminuindo seu POR. Um ambiente com alto POR pode então ter um efeito protetivo sobre as oxidações proteicas, uma vez que nestes valores mais altos de POR, temos números menos alterados nos marcadores oxidativos de proteínas, tal como tiol e carbonil.

### 6.3.5 Cor

A cor é uma propriedade importante do ponto de vista do consumidor (Mancini and Hunt 2005), pois de nada adianta que o tratamento utilizado na obtenção da carne tenha uma ótima redução de carga bacteriana, se afeta propriedades organolépticas do alimento. Os tratamentos com AEB+AEA e AEB+AEFA não influenciou ( $p > 0,05$ ) no dia 1 o  $L^*$  (tabela 9), em ambas as pressões testadas (tabela 9). No entanto, como no dia 15 e 29, os tratamentos com as AE apresentou um valor de  $L^*$  maior do que o controle. Xu et al (2014) mergulharam carne de peixe em AEA contendo 70-80 mg/L de  $Cl_2$  e pH 2,4 por 15 minutos, e observaram que mais ou menos à partir do dia 15 de armazenamento em embalagem aeróbia à 4°C, o controle começava à apresentar valor de  $L^*$  menor do que o tratamento, ocorrendo o mesmo com os lombos suínos, sendo esta diferença ( $p < 0,05$ ) mais evidente no tratamento com 45 psi. O valor de  $L^*$  maior durante o tempo pode ser um indicativo de maior oxidação proteica (Chaijan et al 2005), uma vez que os valores de tiol diminuem do dia 1 ao 29 em torno de 20% em 30 psi (figura 1a).

**Tabela 9.** Valores de brilho L\* em carne suína que foram submetidas a aplicação de AE em diferentes pressões de spray e embaladas à vácuo durante período de armazenamento a 4 °C.

Experimento	Dia 1	Dia 15	Dia 29
<b>30 psi</b>			
AEB + AEA	48,96 <sup>ab</sup> (2,92)	54,78 <sup>aA</sup> (0,57)	50,74 <sup>abAB</sup> (2,38)
AEB + AEFA	51,75 <sup>aA</sup> (2,68)	54,34 <sup>aA</sup> (3,12)	54,89 <sup>aA</sup> (2,73)
Controle	49,71 <sup>ab</sup> (1,90)	56,79 <sup>aA</sup> (1,41)	49,32 <sup>bB</sup> (0,92)
<b>45 psi</b>			
AEB + AEA	51,97 <sup>ab</sup> (2,62)	59,31 <sup>aA</sup> (1,94)	57,92 <sup>aA</sup> (2,08)
AEB + AEFA	51,61 <sup>aC</sup> (1,21)	58,95 <sup>aA</sup> (1,48)	55,63 <sup>ab</sup> (0,44)
Controle	52,16 <sup>aA</sup> (2,22)	47,82 <sup>bB</sup> (0,62)	50,74 <sup>abAB</sup> (0,68)

**Nota:** As letras minúsculas/maiúsculas diferentes nas colunas/linhas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) dentro do mesmo experimento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão).

Como os valores de pH (tabela 6) nos experimentos mantiveram-se em números próximos (5,5 e 5,7 no experimento com 30 psi e 5,4 e 5,8 no experimento com 45 psi), as mudanças no brilho (tabela 9) não são grandes em termos de valores, sendo estes entre 48 e 56 no experimento de 30 psi e 47 e 58 no experimento com 45 psi. A diferença maior no brilho em 45 psi é justificada pela maior variação de pH, sendo que quanto mais próximo do ponto isoelétrico das proteínas (pH em torno de 5,5), maior será o brilho (L\*) da carne por causa do maior espalhamento da luz (Brewer et al 2001) pela água mais disponível na superfície. De acordo com Faucitano et al (2010) carnes de porco apresentaram valores de pH 5,52 com L\* de 53,41 e pH 5,67 com L\*46,43, concordando com os resultados encontrados.

Os tratamentos não afetaram a cor vermelha (a\*) de lombos suínos em 30 psi, mas alteraram numericamente as médias de 45 psi (figura 1b e 1d respectivamente), o que indica que o pigmento mioglobina não sofre grandes alterações. Este fato da alteração da cor vermelha é mostrado nas figuras onde o índice a\*/b\* diminui com o tempo de armazenamento, porém esta diferença não é estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ). Rahman et al (2013) verificaram que a carne de porco tratada com AEA (pH 2,5 e 50 mg/L de Cl<sub>2</sub>) ou AEFA (pH 6,8 e 10 mg/L de Cl<sub>2</sub>) à 23°C através de mergulho por 5 minutos, que a AEFA no dia 1 não diferiu do controle, enquanto AEA foi menos vermelho-brilhante que estas duas, porém durante o tempo os tratamentos mantinham a cor vermelha mais tempo em relação ao controle. Isto também foi diferente em relação aos lombos suínos, uma vez que o valor do índice diminui. A diferença entre o estudo de Rahman et al (2013) na metodologia é que neste estudo os autores avaliaram a cor por escala de painelistas com análise sensorial e não com um equipamento. Ambas pressões, e nos diferentes tratamentos não diferiram ( $p > 0,05$ ) do controle (com exceção do dia 15, em que os tratamentos foram menores que o controle).

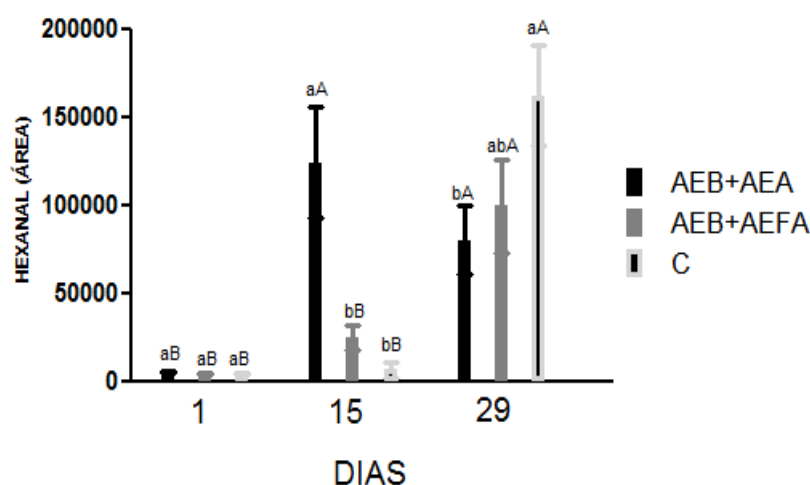
O experimento com 30 psi (figura 1b) manteve o índice a\*/b\*, enquanto no experimento de 45 psi (figura 1d) o índice dos tratamentos é menor numericamente do que o controle durante o tempo de armazenamento, o que indica que nos tratamentos com 45 psi a cor vermelha diminui. O grupamento carbonil (figura 1c) em 45 psi tem um comportamento de aumentar durante o tempo de armazenamento (AEB+AEFA), o que indica que a proteína sofreu influência do tratamento. A mioglobina é uma proteína muscular composta por 150 aminoácidos aproximadamente (Rossi-Fanelli et al 1955; Ordway and Garry 2004) dentre os quais muitos podem ser oxidados. Qualquer aspecto oxidativo perante a conformação da mioglobina altera sua cor, e isso foi verificado no experimento com 45 psi no tratamento com AEB+AEFA, com o indicativo de maior produção de grupamentos carbonílicos. O tratamento com AEB+AEA teve comportamento semelhante em virtude de que o carbonil é maior

numericamente do que o controle no dia 29 (tabela 1c), seguindo o mesmo mecanismo. Em peito de frango o índice a\*/b\* foi de 1,12 no tratamento com imersão em 100 mL de AEB e depois em AEA contendo 30 mg/L de Cl<sub>2</sub> e 1,03 no controle, enquanto no dia 7 com armazenamento à 4°C os tratamentos com AE tinham um índice de 0,67 e o controle de 0,90 (Shimamura et al 2015). Com lombo suíno, em 45 psi (figura 1d) o comportamento foi o mesmo, com igualdade no dia 1 entre tratamentos. Porém no último dia o controle tinha um índice maior, e no experimento com 30 psi (figura 1b) o comportamento foi o mesmo, porém com menos diferenças entre o tratamento e o controle, o que pode indicar que o spray de 30 psi (conforme figura 1a e 1b) não alterou as proteínas da mesma maneira que 45 psi.

### 6.3.6 Hexanal

O hexanal é um composto proveniente da oxidação de lipídios, particularmente de ácidos graxos do tipo ômega-6 (Romeu-Nadal et al 2004), e em virtude disso, é uma análise que complementa o estudo de oxidação lipídica junto com os testes de TBARS, peróxidos e outros. O hexanal quando formado, confere um odor desagradável à carne, sendo comparado com odor de verde, fruta (Machiels et al 2004). Inclusive Brunton et al (2000) relataram que em carne de peru cozida, este teste possui uma alta correlação com o teste de TBARS.

No dia 1 os valores de hexanal no experimento com 45 psi (figura 2) não diferenciaram-se ( $p > 0,05$ ). No entanto, no dia 15, o tratamento com AEB+AEA apresentou um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) em relação ao tratamento com AEB+AEFA e ao controle, indicando que AEA promoveu maior oxidação de ácidos graxos ômega-6.



**Figura 2:** Valores de hexanal (unidade de área arbitrária) em carne suína que foram submetidas a aplicação de AE em 45 psi armazenadas em embalagens à vácuo, durante período de armazenamento a 4 °C. **Nota:** As letras minúsculas/maiúsculas diferentes indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) dentro do mesmo dia/entre os dias para o mesmo tratamento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão).

O tratamento AEB+AEFA apresentou comportamento semelhante ao controle, sendo este de crescimento significativo ( $p < 0,05$ ) do dia 15 ao dia 29, ao passo que com AEB+AEA o hexanal aumentou do dia 1 para o dia 15 (figura 2) e manteve-se do dia 15 ao dia 29 sem diferença significativa ( $p > 0,05$ ). Estes comportamentos são interessantes porque primeiramente indicam que a AEB+AEA desencadearam um processo de oxidação antes do que AEB+AEFA ou o próprio controle e que o aldeído pode ter continuado a se formar.. No



entanto ele além de ser volátil, pode ter combinado-se com moléculas como proteínas (Zielinski et al 2001).

O teste baseou-se em detectar a área relativa do hexanal. AEB+AEA apresentou cerca de 4 vezes mais hexanal que o tratamento AEB+AEFA e o controle. Ao aplicarem radiação ionizante de 10 Kgy sobre lombo suíno, Carrasco et al (2005) obtiveram um aumento de 3 vezes a quantidade de hexanal em relação ao controle, enquanto que a fritura de carne de porco em manteiga aumentou quase 5 vezes o teor de hexanal (Ramirez et al 2004). Estes tratamentos afetam diretamente o aspecto oxidativo da amostra, logo o tratamento com spray de AE não foi mais oxidante que tratamentos comprovadamente oxidantes.

## 6.4 CONCLUSÃO

A aplicação de spray de AE tem influência na microbiologia da carne suína, sendo que aparentemente maiores pressões favorecem diminuição de bactérias mesófilas, *Enterobacteriaceas* e lácticas, apesar dos tratamentos não influenciarem bactérias psicrotóficas durante o período de armazenamento. É válido lembrar que estes resultados foram obtidos com quantidade reduzida de água aplicada em relação ao usualmente utilizado na indústria e em trabalhos da literatura. Outro ponto importante é que a água residual de spray de AE contém cloro livre, o que poderia funcionar como uma fonte de auto-controle de contaminação bacteriana no ambiente industrial. A oxidação lipídica da carne não foi de maior oxidação pelos testes de peróxidos nas duas pressões durante o período de armazenamento. O teste de TBARS não teve influência no dia 1 em 30 psi, mas os tratamentos foram menores no dia 1 em 45 psi. No tempo de armazenamento, os pedaços foram iguais em 30 psi, e com TBARS os efeitos dos tratamento do dia 1 tendem à igualar-se ao controle. No decorrer do tempo, o hexanal parece ter aumentado em AEB+AEA antes dos outros tratamentos, já que no dia 1 não houve diferença. De maneira geral o tratamento com 45 psi alterou a proteína um pouco mais do que o tratamento com 30 psi. Durante o armazenamento, a pressão de 30 psi manteve a carne mais semelhante ao controle quanto à cor vermelha, enquanto 45 psi parece diminuir o vermelho com o tempo de armazenamento em relação ao controle de maneira sutil pelo índice.

## 6.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIRRE, L.; GARRO, M.S.; GIORI, G.S. (2008) Enzymatic hydrolysis of soybean protein using lactic acid bacteria. *Food Chemistry*. doi:10.1016/j.foodchem.2008.05.018
- AL-HAQ, M.I., SUGIYAMA, J., ISOBE, S. (2005) Applications of electrolyzed water in agriculture & food industries. *Food Sci. Technol. Res.* 11(2), 135-150.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4<sup>a</sup> ed. APHA: Washington DC. 2001.
- AOAC, Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 18<sup>th</sup> ed. AOAC: Washington DC. 2006.
- ARÉVALOS-SANCHEZ, M. et al. (2013) 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*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.05.021>

- AYEBAH, B. & HUNG, Y.-C. (2005) Electrolyzed water and its corrosiveness on various surface material commonly found in food processing facilities. *Journal of Food Process Engineering*. 28. 247-264.
- BECHET, D. et al (2005) Lysosomal proteolysis in skeletal muscle. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. doi:10.1016/j.biocel.2005.02.029
- BLIGH, E.G. and DYER, W.J. (1959) A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. 37. 8. 911-917.
- BORCH, E.; KANT-MUERMANS, M.-L.; BLIXT, Y. (1996) Bacterial spoilage of meat and cured meat products. *International Journal of Food Microbiology*. 33. 103-120.
- BOSILEVAC, J.M.; SHACKELFORD, S.D.; BRICHTA, D.M.; KOOHMARAIE, M.K. (2005) Efficacy of ozonated and electrolyzed waters to decontaminate hides of cattle before slaughter. *Journal of Food Protection*. 68(7). 1393-1398.
- BRASIL (1992) Métodos de análise microbiológica para alimentos. 2ª revisão.
- BRASIL (2003) Instrução normativa número 62, de 26 de agosto de 2003. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento.
- BREWER, M.S.; ZHU, L.G.; BIDNER, B.; MEISINGER, D.J.; McKEITH, F.K. (2001) Measuring pork color: effect of bloom time, muscle, pH and relationship to instrumental parameters. *Meat Science*. 57.169-176.
- BRUNTON, N.P.; CRONIN, D.A.; MONAHAN, F.J.; DURCAN, R. (2000) A comparison of solid-phase microextraction (SPME) fibres for measurement of hexanal and pentanal in cooked turkey. *Food Chemistry*. 68. 339-345.
- CAO, W. et al. (2009) Efficiency of slightly acidic electrolyzed water for inactivation of *Salmonella enteritidis* and its contaminated shell eggs. *International Journal of Food Microbiology*. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2008.12.021
- CARR, A.C.; BERG, J.M.; WINTERBOURN, C.C. (1996) Chlorination of cholesterol in cell membranes by hypochlorous acid. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 332 (1). 63-69.
- CARRASCO, A.; TÁRREGA, R.; RAMÍREZ, M.R.; MINGOARRANZ, F.J.; CAVA, R. (2005) Colour and lipid oxidation changes in dry-cured loins from free-range reared and intensively reared pigs as affected by ionizing radiation dose level. *Meat Science*. doi:10.1016/j.meatsci.2004.10.010
- CASTELLANO, P.; ARISTOY, M.C.; SENTANDREU, M.A.; VIGNOLO, G.; TOLDRÁ, F. (2012) *Lactobacillus sakei* CRL1862 improves safety and protein hydrolysis in meat systems. *Journal of Applied Microbiology*. doi:10.1111/jam.12005
- CHAIJAN, M.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; FAUSTMAN, C. (2005) Changes of pigments and color in sardine (*Sardinella gibbosa*) and mackerel (*Rastrelliger*

*kanagurta*) muscle during iced storage. *Food Chemistry*.  
doi:10.1016/j.foodchem.2004.10.035

CHEN, H.-H.; CHIU, E.-M.; HUANG, J.-R. (1997) Color and gel-forming properties of horse mackerel (*Trachurus japonicus*) as related to washing conditions. *Journal of Food Science*. 62(5). 985-991.

CHOE, E. and MIN, D.B. (2005) Chemistry and reactions of reactive oxygen species in foods. *Journal of Food Science*. 70 (9). R142-R159

DEL RIO, D.; STEWART, A.J.; PELLEGRINI, N. (2005) A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*. doi:10.1016/j.numecd.2005.05.003

DOULGERAKI, A.I.; ERCOLINI, D.; VILLANI, F.; NYCHAS, G.-J. (2012) Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. *International Journal of Food Microbiology*. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2012.05.020

ELLMAN, G.L. (1959) Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 82. 70-77.

ERCOLINI, D. et al (2009) Mesophilic and psychrotrophic bacteria from meat and their spoilage potential in vitro and in beef. *Applied and Environmental Microbiology*. doi:10.1128/AEM.02762-08

ESTERBAUER, H.; SCHAUR, R.J.; ZOLLNER, H. (1991) Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radical Biology & Medicine*. 11. 81-128.

ESTÉVEZ, M. (2011) Protein carbonyls in meat systems: a review. *Meat Science*. doi:10.1016/j.meatsci.2011.04.025

FABRIZIO, K.A.; CUTTER, C.N. (2005) Application of electrolyzed oxidizing water to reduce *Listeria monocytogenes* on ready-to-eat meats. *Meat Science*. doi:10.1016/j.meatsci.2005.04.012

FAUCITANO, L. et al (2010) Shelf life of pork from five different quality classes. *Meat Science*. doi:10.1016/j.meatsci.2009.09.017

FLORES-RONDÓN, C. et al (2011) Storage time and identification of lactic acid bacteria in vacuum packed ground beef meat. *Revista Científica*. 21(5). 425-433

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (1991) Effect of bacterial growth on the shelf-life of meat and meat products. Guidelines for slaughtering, meat cutting and further processing. <http://www.fao.org/docrep/004/t0279e/t0279e03.htm>

FORSYTHE, S.J. (2010) Microbiologia da segurança dos alimentos. 2ª Ed. São Paulo: Brazil. ARTMED.

- GÓMEZ-LÓPEZ, V.M.; LANNO, A.-S.; GIL, M.I.; ALLENDE, A. (2014) Minimum free chlorine residual level required for the inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and trihalometane generation during dynamic washing of fresh-cut spinach. *Food Control*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.01.034>
- GOMIDE, L.A.M.; RAMOS, E.M.; FONTES, P.R. (2013) *Ciência e qualidade da carne: Fundamentos*. Viçosa: Brasil. Editora UFV,
- GOUNOT, A.-M. (1986) Psychrophilic and psychrotrophic microorganisms. *Experientia*. 42. 1192-1197.
- HAO, J.; LI, H.; WAN, Y.; LIU, H. (2015) Combined effect of acidic electrolyzed water (AcEW) and alkaline electrolyzed water (AIEW) on the microbial reduction of fresh-cut cilantro. *Food Control*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.09.027>
- HSU, S.-Y. (2005) Effects of flow rate, temperature and salt concentration on chemical and physical properties of electrolyzed oxidizing water. *Journal of Food Engineering*. doi:10.1016/j.jfoodeng.2004.03.003
- HUANG, Y.-R.; SHIAU, C.-Y.; HUNG, Y.-C.; HWANG, D.-F. (2006) Change of hygienic quality and freshness in tuna treated with electrolyzed water and carbon monoxide gas during refrigerated and frozen storage. *Journal of Food Science*. doi: 10.1111/j.1750-3841.2006.00023.x
- HUI, Y.H. (2006) *Handbook of food science, technology and engineering*. Boca Raton: USA. CRC Press.
- HUBER, P.C.; ALMEIDA, W.P.; FÁTIMA, A. (2008) Glutathione e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. *Química Nova*. 31(5). 1170-1179.
- JÄÄSKELÄINEN, E. et al (2015) Production of buttery-odor compounds and transcriptome response in *Leuconostoc gelidum* subsp. *Gasicomitatum* LMG11811<sup>T</sup> during growth on various carbon sources. *Applied and Environmental Microbiology*. 81(6). 1902-1908
- JADEJA, R. and HUNG, Y.-C. (2014) 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*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.12.030>
- JAY, J.M.; LOESSNER, M.J.; GOLDEN, D.A. (2005) *Modern Food Microbiology*. 7<sup>a</sup> ed. SPRINGER: USA. 2005.
- KANAOKA, K. (2001) Antioxidant effects of reduced water produced by electrolysis of sodium chloride solutions. *Journal of Applied Electrochemistry*. 31. 1307-1313.
- KOUTSOUMANIS, K.P.; GEORNARAS, I.; SOFOS, J.N. (2005) Microbiology of land muscle foods. In: HUI, Y.H. *Handbook of food science, technology and engineering*. Vol 4. Boca Raton: USA. CRC Press.

- KOSEKI, S. et al (2004) Effect of mild heat pre-treatment with alkaline electrolyzed water on the efficacy of acidic electrolyzed water against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on Lettuce. *Food Microbiology*. doi:10.1016/j.fm.2003.11.004
- KUBOW, S. (1992) Routes of formation and toxic consequences of lipid oxidation products in foods. *Free Radical Biology & Medicine*. 12. 63-81.
- LEE, M.Y.; KIM, Y.K.; RYOO, K.K.; LEE, Y.B.; PARK, E.J. (2006) Electrolyzed-reduced water protects against oxidative damage to DNA, RNA and protein. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 135. 133-144
- LIAO, B.L.; CHEN, W.M.; XIAO, X.M. (2007) The generation and inactivation mechanism of oxidation-reduction potential of electrolyzed oxidizing water. *Journal of Food Engineering*. doi:10.1016/j.jfoodeng.2006.01.004
- LEVINE, R.L. et al. (1990) Determination of carbonyl content in oxidatively modified protein. *Methods in Enzymology*. 186. 464-478.
- MACHIELS, D.; ISTASSE, L.; VAN RUTH, S.M. (2004) Gas chromatography-olfactometry analysis of beef meat originating from differently fed Belgian Blue, Limousin and Aberdeen Angus bulls. *Food Chemistry*. doi:10.1016/j.foodchem.2003.09.011
- MAHMOUD, B.S.M.; YAMAZAKI, K.; MIYASHITA, K.; SHIN, II. SUZUKI, T. (2006) A new technology for fish preservation by combined treatment with electrolyzed NaCl solutions and essential oil compounds. *Food Chemistry*. doi:10.1016/j.foodchem.2005.08.037
- MAHMOUD, B.S.M.; KAWAI, Y.; YAMAZAKI, K.; MIYASHITA, K.; SUZUKI, T. (2007) Effect of treatment with electrolyzed NaCl solutions and essential oil compounds on the proximate composition, amino acid and fatty acid composition of carp fillets. *Food Chemistry*. doi:10.1016/j.foodchem.2006.03.057
- MAHMOUD, B.S.M.; NANNAPANENI, R.; CHANG, S.; WU, Y.; COKER, R. (2016) Improving the safety and quality of raw tuna fillets by X-ray irradiation. *Food Control*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.08.039>
- MANCINI, R.A.; HUNT, M.C. (2005) Current research in meat color. *Meat Science*. doi:10.1016/j.meatsci.2005.03.003
- MANO, S.B.; PEREDA, J.A.O.; FERNANDO, G.D.G. (2002) Aumento da vida útil e microbiologia da carne suína embalada em atmosfera modificada. *Ciênc. Tecnol. Aliment. Campinas*. 22(1). 1-10.
- MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, G.B. et al. (2015) Combined sustainable sanitising treatments to reduce *Escherichia coli* and *Salmonella enteritidis* growth on fresh-cut kailan-hybrid broccoli. *Food Control*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.07.029>
- MIYASHITA, K.; YASUDA, M.; OTA, T.; SUZUKI, T. (1991) Antioxidative activity of a cathodic solution produced by the electrolysis of a dilute NaCl solution. *Biosci. Biotechnol. Biochem*. 63(2). 421-423.

- MOKUDAI, T.; NAKAMURA, K.; KANNO, T. and NIWANO, Y. (2012) Presence of hydrogen peroxide, a source of hydroxyl radicals, in acid electrolyzed water. *PLOS ONE*. doi:10.1371/journal.pone.0046392
- MOKUDAI, T.; KANNO, T.; NIWANO, Y. (2015) Involvement of reactive oxygen species in the cytotoxic effect of acid-electrolyzed water. *The Journal of Toxicological Sciences*. 40(1). 13-19.
- NA, C. and OLSON, T.M. (2007) Relative reactivity of amino acids with chlorine in mixtures. *Environ. Sci. Technol.* doi: 10.1021/es061999e
- NIMALARATNE, C.; LOPES-LUTZ, D.; SCHIEBER, A.; WU, J. (2011) Free aromatic amino acids in egg yolk show antioxidant properties. *Food Chemistry*. doi:10.1016/j.foodchem.2011.04.058
- NORTHCUTT, J.; SMITH, D.; INGRAM, D.; HINTON Jr., A.; MUSGROVE, M. (2007) Recovery of bacteria from broiler carcasses after spray washing with acidified electrolyzed water or sodium hypochlorite solutions. *Poultry Science*. 86. 2239-2244.
- ORDWAY, G.A.; GARRY, D.J. (2004) Myoglobin: an essential hemoprotein in striated muscle. *The Journal of Experimental Biology*. doi:10.1242/jeb.01172
- PATTISON, D.I.; RAHMANTO, A.S.; DAVIES, M.J. (2012) Photo-oxidation of proteins. *Photochem. Photobiol. Sci.* DOI: 10.1039/c1pp05164d
- PINTO, L; IPPOLITO, A.; BARUZZI, F. (2015) Control of spoiler *Pseudomonas* spp. on fresh cut vegetables by neutral electrolyzed water. *Food Microbiology*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2015.04.003>
- POTHAKOS, V. et al (2015) Lactic acid bacteria and their controversial role in fresh meat spoilage. *Meat Science*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.04.014>
- PROCTOR, A. (2011) Alternatives to Conventional Food Processing. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry.
- PULLAR, J.M.; WINTERBOURN, C.C.; VISSERS, M.C.M. (1999) Loss of GSH and thiol enzymes in endothelial cells exposed to sublethal concentrations of hypochlorous acid. *American Journal of Physiology*. 277(4). H1505-H1512
- RAHARJO, S.; SOFOS, J.N.; SCHIMIDT, G.R. (1992) Improved speed, specificity, and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid- C18 method for measuring lipid peroxidation in beef. *J. Agric. Food Chem.* 40. 2182- 2185.
- RAHMAN, S.M.E., DING, T., OH, D.-H. (2010) Effectiveness of low concentration electrolyzed water to inactivate foodborne pathogens under different environmental conditions. *International Journal of Food Microbiology*. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2010.03.020

- RAHMAN, S.M.E.; WANG, J.; OH, D.-O. (2013) Synergistic effect of low concentration electrolyzed water and calcium lactate to ensure microbial safety, shelf life and sensory quality of fresh pork. *Food Control*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.06.041>
- RAMIREZ, M.R.; ESTÉVEZ, M.; MORCUENDE, D.; CAVA, R. (2004) Effect of the type of frying culinary fat on volatile compounds isolated in fried pork loin chops by using SPME-GC-MS. *J. Agric. Food Chem.* doi: 10.1021/jf049207s
- ROMEU-NADAL, M.; CASTELLOTE, A.I.; LÓPEZ-SABATER, M.C. (2004) Headspace gas chromatographic method for determining volatile compounds in infant formulas. *Journal of Chromatography A*. doi:10.1016/j.chroma.2004.06.032
- ROSENGREN, A.; LINDBLAD, M.; LINDQVIST, R. (2013) The effect of undissociated lactic acid on *Staphylococcus aureus* growth and enterotoxin A production. *International Journal of Food Microbiology*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.01.006>
- ROSSI-FANELLI, A.; CAVALLINI, D.; MARCO, C. (1955) Amino-acid composition of human crystallized myoglobin and haemoglobin. *Biochimica et Biophysica Acta*. 17. 377-381.
- SAKANAKA, S.; TACHIBANA, Y.; ISHIHARA, N.; JUNEJA, L.R. (2004) Antioxidant activity of egg-yolk protein hydrolysates in a linoleic acid oxidation system. *Food Chemistry*. doi:10.1016/j.foodchem.2003.08.014
- SARJIT, A. and DYKES, G.A. (2015) Trisodium phosphate and sodium hypochlorite are more effective as antimicrobials against *Campylobacter* and *Salmonella* on duck as compared to chicken meat. *International Journal of Food Microbiology*. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2015.02.026
- SHANTA, N. L.; DECKER, E. A. (1994) Rapid, sensitive, iron- based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *Journal of AOAC International*. 77. 2. 421- 424
- SHIMAMURA, Y.; SHINKE, M.; HIRAISHI, M.; TSUCHIYA, Y. MASUDA, S. (2015) The application of alkaline and acidic electrolyzed water in the sterilization of chicken breasts and beef liver. *Food Science & Nutrition*. doi: 10.1002/fsn3.305
- SHIRAHATA, S. et al (1997) Electrolyzed-reduced water scavenges active oxygen species and protects DNA from oxidative damage. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 234. 269-274
- SILVA, N. et al. 2007. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água. São Paulo, Brasil: Varela.
- SMEWW. (1999). 4500- Cl I. Iodometric electrode technique. In: *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*.

- SMAOUI, S. et al. 2012. The effect of sodium lactate and lactic acid combinations on the microbial, sensory, and chemical attributes of marinated chicken thigh. *Poultry Science*. <http://dx.doi.org/10.3382/ps.2011-01641>
- SPICKETT, C.M. and FORMAN, H.J. (2015) Lipid oxidation in health and disease. Boca Raton: USA. CRC Press.
- STAHNKE, L.H. (1995) Dried sausages fermented with *Staphylococcus xylosus* at different temperatures and with different ingredient levels- part I Chemical and bacteriological data. *Meat Science*. 41. 2. 179-191.
- SUN, J.-L. et al (2012) Efficacy of acidic and basic electrolyzed water in eradicating *Staphylococcus aureus* biofilm. *Can. L. Microbiol.* doi:10.1139/W2012-005
- TIELEN, P. et al. Regulatory and metabolic networks for the adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to urinary tract-like conditions. *PLoS ONE*. doi:10.1371/journal.pone.0071845
- XIONG, Y. and FOEGEDING, E.A. (2015) Protein oxidation- the less appreciated sibling of lipid oxidation. *Journal of Food Science*. 80(7). Editorial. iii
- XU, G.; TANG, X.; TANG, S.; YOU, H.; SHI, H.; GU, R. (2014) 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*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.06.010>
- WANG, H.; FENG, H.; LUO, Y. (2004) Microbial reduction and storage quality of fresh-cut cilantro washed with acidic electrolyzed water and aqueous ozone. *Food Research International*. doi:10.1016/j.foodres.2004.06.004
- WANG, M.; WANG, J.J.; SUN, X.H.; PAN, Y.J.; ZHAO, Y. (2015) Preliminary mechanism of acidic electrolyzed water ice on improving the quality and safety of shrimp. *Food Chemistry*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.089>
- WHITE, G.C. (2010) White's handbook of chlorination and alternative disinfectants. 5<sup>th</sup> edition. John Wiley & Sons: New Jersey.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (2000) Environmental Health Criteria 216. Disinfectants and disinfectants by-products. WHO, Geneva.
- ZACHAROF, M.P. and LOVITT, R.W. (2012) Bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *APCBEE Procedia*. 2. 50-56
- ZENG, X. et al. (2010) Studies on disinfection mechanism of electrolyzed oxidizing water on *E. coli* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Food Science*. doi: 10.1111/j.1750-3841.2010.01649.x
- ZIELINSKI, T.L.; SMITH, S.A.; PETSKA, J.J.; GRAY, J.I.; SMITH, D.M. (2001) ELISA to quantify hexanal-protein adducts in a meat model system. *J. Agric. Food Chem.* doi: 10.1021/jf001151o



## 7. DISCUSSÃO GERAL

### 7.1 Características dos experimentos e microbiologia

O planejamento dos experimentos versaram inicialmente a temperatura da AE (18°C e 30°C), e o volume de água aplicado (100 mL e 200 mL), enquanto a pressão utilizada foi fixada em 30 psi. Em um segundo momento variou-se somente a pressão (30 e 45 psi). Estas pressões foram selecionadas em virtude de serem aceitáveis em ambiente industrial, uma vez que a pressão influencia diretamente nos resultados microbiológicos (capítulo 2). Pressões maiores foram evitadas pois poderiam não simular uma técnica com capacidade de ser aplicada na prática. O fator norteador de todos os experimentos, foi a quantidade de água utilizada, sendo o tempo consequência desta.

A relação carne: volume de água foi pensada para o máximo de aproximadamente 0,8:1 (experimentos com 200 mL). Uma vez que trabalhos existentes na literatura (como por exemplo NORTH CUTT *et al*, 2007 e HAO *et al*, 2015) geralmente usam quantidades de água maiores do que as utilizadas no trabalho (relações de alimento: partes de água, 1:3 até 1:20) e relatam diversos resultados. No entanto, a minoria relata a quantidade de água utilizada, além do fato de a grande maioria aplicar AE sobre a forma de imersão, onde os tempos de contato variam de 1 a 45 minutos. Mesmo em condições diferentes do usualmente utilizado, obteve-se resultados microbiológicos bons em virtude do baixo tempo de aplicação dos diferentes tipos de AE (20 a 40 segundos), porém o maior diferencial do trabalho sem dúvida foi a economia de água, bem como a não produção de resíduos químicos.

Em virtude da temperatura da AE aplicada na carne suína (18 e 30°C), estas não promoveram diferenças do ponto de vista microbiológico, sendo que o fator que realmente trouxe benefícios microbiológicos foi a quantidade de AE utilizada em um primeiro momento. O capítulo 1 foi planejado para visualização de qual quantidade de água seria mais efetiva frente às bactérias. No capítulo 2, pesquisou-se o efeito da pressão na aplicação alternada da AE (experimento com AEB+AEA e AEB+AEFA

à 30 psi e 45 psi), decorrente que no primeiro capítulo a temperatura mais elevada não influenciou diretamente nos resultados, optou-se por 18°C, até porque poderíamos iniciar o resfriamento da carne, que no momento de aplicação apresentava-se com 33°C em média. Outro fato possível foi a diminuição do tempo de aplicação de AE (40 segundos eram aspergidos 200 mL em 30 psi, e com 45 psi,, estes 200 mL eram aspergidos em 27 segundos)

Durante o tempo de armazenamento verificou-se que de maneira geral no capítulo 1, o efeito de AE foi mínimo no 15° dia. No capítulo 2, este efeito permaneceu no 15° dia. A carga bacteriana atingiu valores em torno de 6 log UFC/g, neste dia, em ambos os capítulos, com despreendimento de odor desagradável, indicando que os tratamentos tiveram efeito frente as bactérias, menor do que 15 dias. No dia 29, o odor putrefativo era bem acentuado.

## **7.2 Aspectos físico-químicos**

A microbiologia é o grande objeto de estudo quando se fala em AE, por sua composição e comprovada ação frente à microrganismos (AL-HAQ *et al* 2005; HUANG *et al*, 2008), porém poucos trabalhos trazem dados das consequências oxidativas à carne, principalmente em termos de proteína. No capítulo 1 e no capítulo 2 de maneira geral os tratamentos (diferentes temperaturas, pressões e volumes em diferentes tipos de AE) influenciaram pouco na oxidação quando aplicadas individualmente, mas quando a aplicação de AEB foi seguida de AEA ou AEFA houve uma espécie de defesa oxidativa à carne, uma vez que AEB parece possuir um aspecto limpante e ao mesmo tempo evita o desencadear oxidativo de AEA e AEFA de maneira individual.

Quanto da aplicação individual das AE (capítulo 1), as proteínas e os marcadores de oxidação primária dienos e trienos foram mais afetados pelas AEA e AEFA, enquanto que a AEB apresentou comportamento mais semelhante ao controle.

Como os pedaços de carne suína utilizados provinham de diferentes regiões do lombo (para tornar a simulação mais aproximada da realidade), alguns testes apresentaram maiores variações do que outros.

A maioria dos tratamentos não afetaram os parâmetros de cor ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) de forma que não ocorreram diferenças entre os pedaços de carne analisados.

O pH dos pedaços de carne suína não sofreu interferências evidentes de todos os tratamentos. Neste atributo, as bactérias ácido láticas influenciaram de maneira à tornar o pH constante durante todo o período de armazenamento, decorrente de seu bom desenvolvimento e conseqüentemente produção de ácido láctico.

O potencial redox (POR) é um fator intrínseco da carne, e pouco explorado nos trabalhos científicos, assim procurou-se relacioná-lo com a oxidação proteica. Nesse sentido verificou-se a diminuição do grupamento tiol e POR, e o aumento do valor de carbonil, nos tratamentos realizados (capítulo 2), reforçando mais uma vez o aspecto protetivo da AEB em conjunto com um possível aspecto antioxidante de grupo tiol proteico.

No capítulo 1 parece que o grupamento tiol foi mais afetado pelos tratamentos individuais com AEA e AEFA no dia 1, uma vez que apresentaram menores valores do que o controle. Isto reforça o aspecto não produtor de oxidação conforme verificado no capítulo 2.

O hexanal foi significativamente ( $p < 0,05$ ) maior no tratamento com AEB+AEA entre os dias 1 e 15 do que no tratamento com AEB+AEFA e controle. Ocorrendo aumento em seus valores durante o armazenamento nos pedaços de carne tratados com AEB + AEFA, e diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) nos pedaços de carne tratados com AEB+AEA entre os dias 15 e 29. Porém não houve diferença de odor na hora da realização das técnicas, uma vez que o teste de hexanal foi feito de maneira semi-quantitativa, ou seja, foi verificado a quantidade de hexanal em relação aos outros compostos somente através da área do pico, e não através de um padrão interno para quantificação. Como somente com a área do composto, sem a área de um padrão ou teste olfatométrico, determinar se esta diferença entre os tratamentos teve diferença sensorial, possibilitando acusação de um tratamento mais influenciador no odor que outro.

## 8. CONCLUSÕES

- O uso dos diferentes tipos de AE na forma de spray proporcionou diminuição de carga microbiológica de mesófilos, bactérias lácticas, *Enterobacteriaceae*, e um pouco em psicrotólicas, sendo este efeito aprimorado com a utilização de AE de forma alternada (AEB+AEA e AEB+AEFA).
- Foi verificado diminuição em bactérias com 45 psi e 200 mL de AE (efeito no tempo de armazenamento).
- As bactérias lácticas interferiram no pH da carne através do seu crescimento, que foi favorecido pelo ambiente à vácuo.
- AEA e AEFA afetam aspectos iniciais de oxidação lipídica (DC e TC) com a aplicação individual, e pouco interferem em peróxidos e TBARS. A aplicação alternada parece não afetar estes parâmetros, possivelmente pelas ação protetiva de AEB.
- Durante o tempo de armazenamento, o carbonil é inversamente proporcional ao tiol e POR. Estes marcadores são mais afetados por AEA e AEFA em aplicações individuais. A AEB apresenta efeito protetivo em oxidações quando aplicada de maneira alternada e individual.
- O pH não foi alterado pelos tratamentos. O hexanal foi maior com AEB+AEA logo após aplicação da AE, enquanto AEB+AEFA foi igual ao controle. O índice de vermelho dos tratamentos com AE em 45 psi parecem ser menores que o controle.
- Mais estudos são necessários para otimização do processo e manutenção da atividade antimicrobiana ao longo do tempo de armazenamento.

## ANEXO

## Capítulo 1

**Tabela 1.** Bactérias lácticas (log UFC/g) em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperaturas, durante armazenamento de 29 dias à 4°C ( $\pm 1$ ).

Experimento	Dia 1	Dia 15	Dia 29
<b>E3- 40' 18°C</b>			
AEA	3,47 <sup>bB</sup> (0,26) [0,89]	7,24 <sup>aA</sup> (0,45) [0,24]	7,51 <sup>aA</sup> (0,27) [0,21]
AEFA	3,51 <sup>bB</sup> (0,41) [0,85]	6,99 <sup>aA</sup> (0,55) [0,49]	7,65 <sup>aA</sup> (0,04) [0,07]
AEB	3,80 <sup>bB</sup> (0,19) [0,56]	7,28 <sup>aA</sup> (0,40) [0,20]	7,75 <sup>aA</sup> (0,19) [0,00]
Controle	4,36 <sup>aB</sup> (0,21)	7,48 <sup>aA</sup> (0,53)	7,72 <sup>aA</sup> (0,13)
<b>E4- 40' 30°C</b>			
AEA	2,67 <sup>cC</sup> (0,19) [1,08]	6,61 <sup>aB</sup> (0,27) [0,00]	7,62 <sup>aA</sup> (0,21) [0,00]
AEFA	3,60 <sup>aC</sup> (0,07) [0,15]	6,67 <sup>aB</sup> (0,29) [0,00]	7,67 <sup>aA</sup> (0,03) [0,00]
AEB	3,04 <sup>bC</sup> (0,18) [0,71]	6,51 <sup>aB</sup> (0,24) [0,00]	7,60 <sup>aA</sup> (0,18) [0,00]
Controle	3,75 <sup>aB</sup> (0,07)	6,44 <sup>aA</sup> (0,69)	7,48 <sup>aA</sup> (0,29)

**Nota:** As letras minúsculas/maiúsculas diferentes nas colunas/linhas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) dentro do mesmo experimento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão) [log de redução em relação ao controle].

**Tabela 2.** *Enterobacteriaceae* (log UFC/g) em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperaturas, durante armazenamento de 29 dias à 4°C ( $\pm 1$ ).

Experimento	Dia 1	Dia 15	Dia 29
<b>E3- 40' 18°C</b>			
AEA	3,21 <sup>bC</sup> (0,67) [1,72]	5,69 <sup>aB</sup> (0,42) [1,05]	6,91 <sup>aA</sup> (0,31) [0,17]
AEFA	3,90 <sup>abB</sup> (1,13) [1,03]	6,24 <sup>aA</sup> (0,04) [0,50]	6,99 <sup>aA</sup> (0,23) [0,09]
AEB	4,23 <sup>abB</sup> (0,17) [0,70]	6,43 <sup>aA</sup> (0,98) [0,31]	7,08 <sup>aA</sup> (0,16) [0,00]
Controle	4,93 <sup>aB</sup> (0,10)	6,74 <sup>aA</sup> (0,31)	7,08 <sup>aA</sup> (0,22)
<b>E4- 40' 30°C</b>			
AEA	<1,69 <sup>aC</sup> (0,00) [0,10]	5,74 <sup>aB</sup> (0,28) [0,42]	7,24 <sup>aA</sup> (0,27) [0,00]
AEFA	<1,69 <sup>aC</sup> (0,00) [0,10]	5,86 <sup>aB</sup> (0,15) [0,30]	6,39 <sup>bA</sup> (0,12) [0,51]
AEB	<1,69 <sup>aC</sup> (0,00) [0,10]	5,91 <sup>aB</sup> (0,31) [0,25]	6,86 <sup>abA</sup> (0,13) [0,04]
Controle	1,79 <sup>aC</sup> (0,17)	6,16 <sup>aB</sup> (0,04)	6,90 <sup>aA</sup> (0,37)

**Nota:** As letras minúsculas/maiúsculas diferentes nas colunas/linhas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) dentro do mesmo experimento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão) [log de redução em relação ao controle].

**Tabela 3.** L\* em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperaturas, durante armazenamento de 29 dias à 4°C (±1).

Experimento	Dia 1	Dia 15	Dia 29
<b>E3- 40' 18°C</b>			
AEA	52,75 <sup>ab</sup> (2,77)	54,59 <sup>ab</sup> (1,04)	56,81 <sup>a</sup> (1,54)
AEFA	55,39 <sup>aa</sup> (1,15)	53,41 <sup>a</sup> (2,11)	55,15 <sup>aa</sup> (1,37)
AEB	54,80 <sup>aa</sup> (3,15)	55,97 <sup>aa</sup> (3,99)	53,62 <sup>aa</sup> (4,86)
Controle	51,17 <sup>aa</sup> (1,45)	51,71 <sup>aa</sup> (1,57)	52,89 <sup>aa</sup> (1,68)
<b>E4- 40' 30°C</b>			
AEA	52,75 <sup>aa</sup> (0,88)	52,85 <sup>aa</sup> (1,83)	52,78 <sup>aa</sup> (1,24)
AEFA	53,48 <sup>aa</sup> (1,97)	51,13 <sup>aa</sup> (2,03)	52,38 <sup>aa</sup> (2,47)
AEB	53,24 <sup>aa</sup> (1,70)	54,22 <sup>aa</sup> (2,78)	53,11 <sup>aa</sup> (1,86)
Controle	50,85 <sup>aa</sup> (2,45)	51,29 <sup>aa</sup> (2,11)	52,60 <sup>aa</sup> (0,79)

**Nota:** As letras minúsculas/maiúsculas diferentes nas colunas/linhas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) dentro do mesmo experimento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão) [log de redução em relação ao controle].

**Tabela 4.** a\* em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperaturas, durante armazenamento de 29 dias à 4°C (±1).

Experimento	Dia 1	Dia 15	Dia 29
<b>E3- 40' 18°C</b>			
AEA	8,62 <sup>ab</sup> (2,77)	11,31 <sup>ab</sup> (0,03)	11,30 <sup>aa</sup> (1,51)
AEFA	7,91 <sup>ab</sup> (1,15)	11,11 <sup>ab</sup> (0,52)	10,86 <sup>aa</sup> (1,21)
AEB	9,08 <sup>aa</sup> (1,30)	10,16 <sup>ba</sup> (1,19)	12,62 <sup>aa</sup> (3,17)
Controle	8,35 <sup>ab</sup> (0,57)	16,44 <sup>aa</sup> (5,76)	13,97 <sup>ab</sup> (1,14)
<b>E4- 40' 30°C</b>			
AEA	11,18 <sup>aa</sup> (1,29)	13,31 <sup>aa</sup> (1,00)	11,03 <sup>aa</sup> (1,03)
AEFA	11,12 <sup>aa</sup> (1,27)	13,83 <sup>aa</sup> (3,98)	11,35 <sup>aa</sup> (0,95)
AEB	11,09 <sup>aa</sup> (0,35)	12,26 <sup>aa</sup> (1,23)	13,56 <sup>aa</sup> (3,83)
Controle	11,70 <sup>aa</sup> (0,64)	13,22 <sup>aa</sup> (2,38)	12,71 <sup>aa</sup> (0,69)

**Nota:** As letras minúsculas/maiúsculas diferentes nas colunas/linhas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) dentro do mesmo experimento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão) [log de redução em relação ao controle].

**Tabela 5.** b\* em pedaços de carne suína, tratadas com diferentes tipos de águas eletrolisadas, tempos e temperaturas, durante armazenamento de 29 dias à 4°C (±1).

<b>Experimento</b>	<b>Dia 1</b>	<b>Dia 15</b>	<b>Dia 29</b>
<b>E3- 40' 18°C</b>			
AEA	8,97 <sup>ab</sup> (1,75)	11,94 <sup>aA</sup> (0,88)	13,28 <sup>aA</sup> (0,47)
AEFA	9,07 <sup>aC</sup> (0,51)	11,96 <sup>ab</sup> (0,07)	13,96 <sup>aA</sup> (1,06)
AEB	9,94 <sup>ab</sup> (1,16)	11,85 <sup>aA</sup> (1,01)	13,36 <sup>aA</sup> (0,57)
Controle	8,80 <sup>ab</sup> (0,50)	14,48 <sup>aA</sup> (2,96)	13,85 <sup>aA</sup> (1,19)
<b>E4- 40' 30°C</b>			
AEA	9,99 <sup>ab</sup> (1,02)	12,30 <sup>aA</sup> (0,86)	10,69 <sup>abB</sup> (1,15)
AEFA	9,92 <sup>aA</sup> (1,03)	11,15 <sup>aA</sup> (1,33)	10,50 <sup>aA</sup> (0,46)
AEB	9,88 <sup>aA</sup> (0,62)	11,38 <sup>aA</sup> (0,28)	12,27 <sup>aA</sup> (2,22)
Controle	9,71 <sup>aA</sup> (1,30)	11,20 <sup>aA</sup> (0,75)	11,39 <sup>aA</sup> (0,47)

**Nota:** As letras minúsculas/maiúsculas diferentes nas colunas/linhas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) dentro do mesmo experimento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão) [log de redução em relação ao controle].

## Capítulo 2

**Tabela 1.** Carbonil (nanomol de DNPH por mg de proteína) em carne suína que foi submetida a aplicação de AE em diferentes pressões de spray e embaladas à vácuo durante período de armazenamento a 4 °C.

<b>Experimento</b>	<b>Dia 1</b>	<b>Dia 15</b>	<b>Dia 29</b>
<b>30 psi 18°C</b>			
AEB + AEA	3,00 <sup>ab</sup> (0,97)	5,16 <sup>ab</sup> (0,16)	18,81 <sup>aA</sup> (4,90)
AEB + AEFA	2,11 <sup>ab</sup> (1,22)	6,45 <sup>ab</sup> (3,37)	14,78 <sup>aA</sup> (2,00)
Controle	2,81 <sup>aC</sup> (1,40)	7,34 <sup>ab</sup> (1,92)	14,94 <sup>aA</sup> (1,29)
<b>45 psi 18°C</b>			
AEB + AEA	3,15 <sup>aC</sup> (1,05)	10,67 <sup>aA</sup> (1,13)	7,66 <sup>abB</sup> (1,79)
AEB + AEFA	4,13 <sup>ab</sup> (1,76)	6,77 <sup>abB</sup> (0,43)	10,24 <sup>aA</sup> (2,34)
Controle	5,12 <sup>ab</sup> (1,44)	9,79 <sup>abA</sup> (2,08)	4,33 <sup>abB</sup> (2,20)

**Nota:** As letras minúsculas/maiúsculas diferentes nas colunas/linhas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) dentro do mesmo experimento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão).

**Tabela 2.** Tiol (nanomol de tiol por mg de proteína) em carne suína que foi submetida a aplicação de AE em diferentes pressões de spray e embaladas à vácuo durante período de armazenamento a 4 °C.

Experimento	Dia 1	Dia 15	Dia 29
<b>30 psi 18°C</b>			
AEB + AEA	131,66 <sup>aA</sup> (4,75)	126,49 <sup>aA</sup> (8,92)	106,73 <sup>bB</sup> (2,54)
AEB + AEFA	135,47 <sup>aA</sup> (4,02)	144,12 <sup>aA</sup> (7,63)	119,03 <sup>aB</sup> (4,53)
Controle	134,41 <sup>aA</sup> (9,49)	134,07 <sup>aA</sup> (9,90)	117,86 <sup>aA</sup> (5,86)
<b>45 psi 18°C</b>			
AEB + AEA	128,80 <sup>aA</sup> (5,58)	118,79 <sup>aA</sup> (8,25)	68,95 <sup>bB</sup> (9,66)
AEB + AEFA	134,04 <sup>aA</sup> (9,16)	128,45 <sup>aA</sup> (7,73)	93,74 <sup>aB</sup> (12,85)
Controle	138,31 <sup>aA</sup> (12,52)	120,79 <sup>aA</sup> (0,99)	96,57 <sup>aB</sup> (14,01)

**Nota:** As letras minúsculas/maiúsculas diferentes nas colunas/linhas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) dentro do mesmo experimento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão).

**Tabela 3.** POR (mV) em carne suína que foi submetida a aplicação de AE em diferentes pressões de spray e embaladas à vácuo durante período de armazenamento a 4 °C.

Experimento	Dia 1	Dia 15	Dia 29
<b>30 psi 18°C</b>			
AEB + AEA	174,4 <sup>aA</sup> (1,83)	112,2 <sup>aB</sup> (18,35)	76,1 <sup>abC</sup> (11,55)
AEB + AEFA	169,1 <sup>aA</sup> (4,40)	127,5 <sup>aB</sup> (6,67)	90,6 <sup>aC</sup> (6,65)
Controle	161,3 <sup>bA</sup> (3,05)	126,2 <sup>aB</sup> (9,19)	62,4 <sup>bC</sup> (5,74)
<b>45 psi 18°C</b>			
AEB + AEA	201,8 <sup>aA</sup> (3,94)	79,3 <sup>aB</sup> (4,40)	92,7 <sup>aB</sup> (14,99)
AEB + AEFA	199,1 <sup>aA</sup> (1,57)	86,5 <sup>aB</sup> (5,18)	88,1 <sup>aB</sup> (3,89)
Controle	177,6 <sup>aA</sup> (19,95)	85,3 <sup>aB</sup> (6,59)	68,7 <sup>bB</sup> (5,29)

**Nota:** As letras minúsculas/maiúsculas diferentes nas colunas/linhas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) dentro do mesmo experimento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão).

**Tabela 4.** Área de hexanal em carne suína que foi submetida a aplicação de AE em diferentes pressões de spray e embaladas à vácuo durante período de armazenamento a 4 °C.

Experimento	Dia 1	Dia 15	Dia 29
<b>45 psi 18°C</b>			
AEB + AEA	5185 <sup>aB</sup> (693)	123746 <sup>aA</sup> (31529)	79923 <sup>bA</sup> (19679)
AEB + AEFA	4174 <sup>aB</sup> (246)	24746 <sup>bB</sup> (6943)	99452 <sup>abA</sup> (26698)
Controle	4345 <sup>aB</sup> (341)	6237 <sup>bB</sup> (4601)	162010 <sup>aA</sup> (28295)

**Nota:** As letras minúsculas/maiúsculas diferentes nas colunas/linhas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) dentro do mesmo experimento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão).



**Tabela 5.** Valores de  $a^*$  em carne suína que foram submetidas a aplicação de AE em diferentes pressões de spray e embaladas à vácuo durante período de armazenamento a 4 °C.

<b>Experimento</b>	<b>Dia 1</b>	<b>Dia 15</b>	<b>Dia 29</b>
<b>30 psi 18°C</b>			
AEB + AEA	10,42 <sup>aC</sup> (0,37)	15,83 <sup>aA</sup> (1,30)	13,18 <sup>aB</sup> (0,60)
AEB + AEFA	8,79 <sup>aB</sup> (1,26)	15,16 <sup>aA</sup> (2,17)	12,46 <sup>aA</sup> (1,92)
Controle	10,01 <sup>aB</sup> (0,70)	15,19 <sup>aA</sup> (1,53)	13,32 <sup>aA</sup> (1,36)
<b>45 psi 18°C</b>			
AEB + AEA	14,04 <sup>aB</sup> (0,69)	18,47 <sup>bA</sup> (0,73)	17,73 <sup>aA</sup> (1,30)
AEB + AEFA	12,90 <sup>aC</sup> (1,09)	18,09 <sup>bA</sup> (0,38)	16,62 <sup>aB</sup> (0,31)
Controle	15,96 <sup>aB</sup> (3,23)	21,56 <sup>aA</sup> (0,29)	19,44 <sup>aAB</sup> (2,57)

**Nota:** As letras minúsculas/maiúsculas diferentes nas colunas/linhas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) dentro do mesmo experimento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão).

**Tabela 6.** Valores de  $b^*$  em carne suína que foram submetidas a aplicação de AE em diferentes pressões de spray e embaladas à vácuo durante período de armazenamento a 4 °C.

<b>Experimento</b>	<b>Dia 1</b>	<b>Dia 15</b>	<b>Dia 29</b>
<b>30 psi 18°C</b>			
AEB + AEA	8,43 <sup>aC</sup> (0,80)	16,36 <sup>aA</sup> (0,65)	12,02 <sup>aB</sup> (1,35)
AEB + AEFA	8,08 <sup>aC</sup> (0,19)	14,80 <sup>aA</sup> (1,88)	12,27 <sup>aB</sup> (0,88)
Controle	8,32 <sup>aC</sup> (0,42)	15,80 <sup>aA</sup> (0,89)	11,05 <sup>aB</sup> (0,56)
<b>45 psi 18°C</b>			
AEB + AEA	11,69 <sup>aB</sup> (0,24)	18,06 <sup>aA</sup> (1,35)	17,34 <sup>aA</sup> (0,35)
AEB + AEFA	11,23 <sup>aC</sup> (0,54)	17,80 <sup>aA</sup> (0,36)	15,86 <sup>abB</sup> (0,54)
Controle	12,54 <sup>aB</sup> (1,20)	17,10 <sup>aA</sup> (2,78)	15,32 <sup>bAB</sup> (1,31)

**Nota:** As letras minúsculas/maiúsculas diferentes nas colunas/linhas indicam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) dentro do mesmo experimento pelo teste de Duncan. Resultados expressos em média (desvio padrão).