



**SANIFICAÇÃO DE CARCAÇAS DE FRANGO:  
PROCESSOS ALTERNATIVOS**

**SANDRA MARIA OLIVEIRA MORAIS VEIGA**

**2003**

56954

048.669

**SANDRA MARIA OLIVEIRA MORAIS VEIGA**

**SANIFICAÇÃO DE CARCAÇAS DE FRANGO:  
PROCESSOS ALTERNATIVOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Doutorado em Ciência dos Alimentos, para obtenção do título de “Doutor”.

**Orientador**

**Dr. João Evangelista Fiorini**

**LAVRAS**

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Veiga, Sandra Maria Oliveira Morais

Sanificação de carcaças de frango: processos alternativos / Sandra  
Maria Oliveira Morais Veiga. -- Lavras : UFLA, 2003.  
291 p. : il.

Orientador: João Evangelista Fiorini.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Carcaça de frango. 2. Sanificação. 3. Dicloroisocianurato de sódio.  
4. Ozônio. 5. Ultra-som. 6. Trihalometano. 7. Análise sensorial. I.  
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-636.513

**SANDRA MARIA OLIVEIRA MORAIS VEIGA**

**SANIFICAÇÃO DE CARCAÇAS DE FRANGO:  
PROCESSOS ALTERNATIVOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras  
como parte das exigências do Curso de Doutorado em  
Ciência dos Alimentos, para obtenção do título de  
“Doutor”.

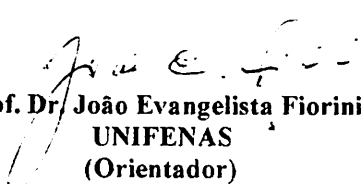
**APROVADA em 17 de julho de 2003**

**Prof. Dra. Eliana Pinheiro de Carvalho** **UFLA**

**Prof. Dr. Paulo Márcio de Faria e Silva** **Efoa/Ceufe**

**Prof. Dr. Jorge Kleber Chavasco** **Efoa/Ceufe**

**Prof. Dr. Eduardo Valério de Barros Vilas Boas** **UFLA**

  
**Prof. Dr. João Evangelista Fiorini**  
**UNIFENAS**  
**(Orientador)**

**LAVRAS**  
**MINAS GERAIS – BRASIL**

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Antônio e Maria Izabel, pela possibilidade de vir a ser e pelo apoio e incentivo constantes.

Ofereço.

A Deus, pela proteção e permissão desta oportunidade.

Ao meu esposo, Marco Valério, pelo estímulo, paciência e compreensão, suportes essenciais nos mais diversos momentos.

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. João Evangelista Fiorini, meu orientador e amigo, responsável por toda minha formação pós-acadêmica e pela conclusão de mais este trabalho, que vem concretizar um grande sonho. Agradecer-lhe seria pouco, diante de tão grande generosidade, paciência, incentivo, atenção e confiança. Expresso aqui o meu mais profundo reconhecimento.

À Professora Dra. Eliana Pinheiro de Carvalho, minha co-orientadora, pela amizade, atenção, paciência e pelas colaborações e sugestões em todo o desenvolvimento deste trabalho. Deixo aqui a minha sincera gratidão.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), pela oportunidade do desenvolvimento deste programa de doutorado.

À Escola de Farmácia e Odontologia de Alfenas – Centro Universitário Federal (Efoa/Ceufe), professores e funcionários do Departamento de Farmácia, por tornarem possível a minha participação neste curso.

Ao amigo Wilson Geraldo de Almeida, pela sua atenção especial e colaboração técnica inestimável na minha rotina de trabalho.

Ao PICDT/CAPES, pelo apoio financeiro, fundamental para a viabilização deste estudo.

À Universidade José do Rosário Velano (UNIFENAS), por disponibilizar suas dependências e equipamentos, suportes essenciais para o desenvolvimento dos meus experimentos.

A White Martins Gases Industriais S.A. e seus funcionários, por todo apoio técnico, equipamentos e insumos fornecidos para os ensaios realizados.

Ao Professor Ms. Luiz Carlos do Nascimento, amigo e parceiro desta jornada, com quem compartilhei as minhas responsabilidades técnicas, gráficas e profissionais, durante a realização deste curso. “Lulu”, pela sua bondade e

presteza, meu eterno agradecimento, pois sei que só Deus pode reconhecer toda a grandeza de sua alma.

À Médica-Veterinária e Consultora da White Martins Gases Industriais S.A., Cláudia Catelani Cardoso, pela parceria e apoio técnico-científico em todo o desenvolvimento deste trabalho.

Às amigas Maria de Fátima Barbosa e Maria Aparecida Pereira (Neném), funcionárias do Laboratório de Biologia e Fisiologia de Microrganismos da UNIFENAS, pela convivência saudável, por toda colaboração técnica e pelo estímulo constante. Poder contar com a amizade e o carinho de vocês foi muito importante para a conclusão deste estudo.

Aos bolsistas e pesquisadores do Laboratório de Biologia e Fisiologia de Microrganismos da UNIFENAS, pela amizade, atenção e carinho, além dos auxílios nas horas de *rush*.

Às Professoras Dra Roberta Hilsdorf Piccoli do Valle e Ms. Emília Cristina Mões Oliveira, pela gentileza de verificarem a adequação desta tese às normas para redação de dissertações e teses da UFLA.

Ao amigo Jaime Manuel Leiria de Nóbrega, pela colaboração e supervisão no preparo dos abstracts.

A todos os meus amigos e familiares, por compreenderem minhas muitas ausências.

A todos que cruzaram o meu caminho e me fizeram diferente.

*Tudo vale a pena se a alma não é pequena.*

Fernando Pessoa.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	iii
CAPÍTULO 1: Aspectos sanitários relacionados ao processamento de carcaças de frango.....	1
1 Introdução.....	2
2 Referencial teórico.....	5
2.1 Aves – produção, mercado e valor nutritivo.....	5
2.2 Processamento de aves.....	8
2.2.1 Insensibilização.....	9
2.2.2 Sangria.....	10
2.2.3 Escaldagem.....	10
2.2.4 Depenagem.....	11
2.2.5 Evisceração.....	11
2.2.6 Resfriamento.....	13
2.2.7 Gotejamento.....	15
2.2.8 Classificação.....	15
2.2.9 Embalagem.....	16
2.2.10 Conservação pelo frio.....	17
2.3 Microbiologia da carne de aves e vida de prateleira.....	19
2.3.1 Indicadores de vida de prateleira.....	23
2.4 Importância da água no processamento de aves.....	25
2.5 Cloro: características e utilização.....	28
2.5.1 Dicloroisocianurato de sódio.....	32
2.5.2 Trihalometanos.....	35
2.6 Ozônio: características, regulamentação e utilização.....	38
2.7 Ultra-som.....	47
2.8 Propriedades sensoriais.....	51
3 Referências bibliográficas.....	55
CAPÍTULO 2: Estudo <i>in vitro</i> da eficácia da água ozonizada frente a alguns microrganismos associados à carne de frango.....	73
1 Resumo.....	74
2 Abstract.....	76

3	Introdução .....	78
4	Material e métodos.....	83
4.1	Microrganismos utilizados .....	83
4.2	Obtenção das suspensões microbianas .....	83
4.3	Produção da água ozonizada .....	84
4.4	Limpeza e esterilização do sistema .....	84
4.5	Experimento.....	85
5	Resultados e discussão .....	88
6	Conclusões .....	92
7	Referências bibliográficas .....	93
<b>CAPÍTULO 3: Utilização de água potável, hiperclorada e ozonizada e do ultra-som, combinados ou não, em um protótipo de <i>chiller</i>, para sanificação de carcaças de frango.....</b>		
<b>99</b>		
1	Resumo .....	100
2	Abstract.....	102
3	Introdução .....	104
4	Material e métodos.....	110
4.1	Amostras .....	110
4.2	Procedência e seleção da amostra.....	110
4.3	Metodologia .....	111
4.3.1	Tratamento .....	111
4.3.2	Determinação dos residuais de cloro e de ozônio.....	118
4.3.2.1	Cloro .....	118
4.3.2.2	Ozônio.....	118
4.3.3	Verificação da temperatura dos tratamentos.....	119
4.3.4	Determinação do pH .....	119
4.3.5	Análises microbiológicas .....	119
4.3.5.1	Preparo das amostras – técnica da “lavagem superficial”.....	119
4.3.5.2	Contagem de microrganismos mesófilos aeróbios, <i>Staphylococcus</i> coagulase positivos, psicrotróficos e de fungos filamentosos e leveduras.....	120
4.3.5.3	Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e <i>Escherichia coli</i> .....	121
4.3.5.4	Pesquisa de <i>Salmonella</i> sp.....	122
4.3.5.5	Pesquisa de <i>Pseudomonas</i> sp.....	123
4.3.6	Análise dos aspectos visíveis da deterioração .....	123
5	Resultados e discussão .....	125

5.1	Sanificação de carcaças de frango .....	125
5.2	Vida de prateleira .....	146
6	Conclusões .....	155
7	Referências bibliográficas .....	156
<b>CAPÍTULO 4: Eficiência do dicloroisocianurato de sódio, ozônio e do ultra-som em reduzir microrganismos em água de <i>chiller</i> de frangos .....</b>		
		167
1	Resumo .....	168
2	Abstract .....	170
3	Introdução .....	172
4	Material e métodos .....	182
4.1	Amostragem .....	182
4.2	Tratamento .....	183
4.2.1	Coleta das amostras de água .....	186
4.2.2	Ensaio microbiológicos .....	187
4.2.2.1	Determinação do NMP de aeróbios mesófilos .....	187
4.2.2.2	Determinação do NMP de coliformes totais e <i>Escherichia coli</i> .....	188
5	Resultados e discussão .....	189
5.1	Água da rede .....	189
5.2	Água dos reservatórios .....	190
5.3	Água do <i>chiller</i> .....	190
6	Conclusões .....	198
7	Referências bibliográficas .....	199
<b>CAPÍTULO 5: Detecção de trihalometanos em água de sistema de resfriamento de carcaças de frango, após o tratamento com dicloroisocianurato de sódio, ozônio e ultra-som .....</b>		
		211
1	Resumo .....	212
2	Abstract .....	214
3	Introdução .....	216
4	Material e métodos .....	225
4.1	Amostragem .....	225
4.2	Tratamento .....	225
4.3	Coleta das amostras de água .....	229
4.4	Determinação de trihalometanos (THM) .....	230

5	Resultados e discussão .....	232
6	Conclusões .....	242
7	Referências bibliográficas .....	243
<b>CAPÍTULO 6: Avaliação do ganho de peso e das propriedades sensoriais da carne de frango processada com dicloroisocianurato de sódio, ozônio e ultra-som.....</b>		
1	Resumo .....	254
2	Abstract .....	256
3	Introdução .....	258
4	Material e métodos.....	263
4.1	Amostragem.....	263
4.2	Tratamento .....	263
4.3	Obtenção das amostras .....	266
4.4	Determinação do percentual de ganho de peso das carcaças nos tratamentos propostos.....	266
4.5	Análise sensorial .....	267
5	Resultados e discussão .....	270
5.1	Ganho de peso.....	270
5.2	Análise sensorial .....	273
5.2.1	Carne crua .....	273
5.2.2	Carne assada.....	274
6	Conclusões .....	282
7	Referências bibliográficas .....	283
<b>ANEXO .....</b>		<b>289</b>

## RESUMO

VEIGA, Sandra Maria Oliveira Morais. **Sanificação de carcaças de frango: processos alternativos.** 2003. 291p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos)-Universidade Federal de Lavras, Lavras

Reconhecendo que existe uma crescente demanda de frangos com alto perfil de qualidade, a redução dos níveis e da incidência de patógenos tornou-se uma prioridade mundial. Conseqüentemente, os métodos de sanificação passaram a ocupar espaço relevante no processamento de aves. Para retardar a multiplicação de bactérias deteriorantes e controlar a disseminação de patógenos, as aves são resfriadas em tanques de água gelada (*chiller*), os quais são normalmente adicionados de cloro. Atualmente, tem-se o conhecimento de que a utilização de compostos clorados, principalmente de origem inorgânica, podem gerar subprodutos indesejáveis. O consumo dos produtos avícolas processados pode implicar, então, em sérios riscos microbiológicos e químicos para a saúde pública, tornando-se altamente necessária a pesquisa de sanificantes alternativos. Considerando o exposto, este trabalho objetivou estudar o emprego do dicloroisocianurato de sódio (DCIS), ozônio (O<sub>3</sub>) e do ultra-som (US) para a sanificação de carcaças de frango. Na primeira fase, avaliou-se a eficácia da água ozonizada frente a alguns microrganismos associados à carne de frango, constatando-se que o ozônio a 0,6 mg/L foi altamente eficaz na eliminação instantânea dos microrganismos estudados. Na segunda, verificou-se a eficiência da utilização do DCIS e do ozônio, ambos na concentração de 3,0 a 3,5 mg/L, e da aplicação US, na frequência de 37KHz, combinados ou não, em água de resfriamento de um protótipo de *chiller*. Avaliou-se a influência desses processos no padrão microbiológico, vida útil do produto, ganho de peso e propriedades sensoriais da carne de frango, e, ainda, em reduzir microrganismos na água do *chiller* e suas implicações na formação de trihalometanos. A partir dos dados obtidos, verificou-se que, apesar da combinação água ozonizada e US ter apresentado melhor desempenho na descontaminação das carcaças, a aplicação isolada da água ozonizada também eliminou satisfatoriamente microrganismos patogênicos e deteriorantes nas mesmas, proporcionando maior vida útil para as amostras. A adição do O<sub>3</sub> e do DCIS, principalmente

---

\* Comitê Orientador: Dr. João Evangelista Fiorini - UNIFENAS (Orientador), Dr<sup>a</sup>. Eliana Pinheiro de Carvalho - UFLA (Co-orientadora)

conjugados ao ultra-som, resultou em reduções logarítmicas na população microbiana da água de resfriamento, tendo a combinação O<sub>3</sub> e US sido a mais efetiva. Em relação aos trihalometanos, a adição do DCIS à água do *chiller* produziu baixas concentrações de clorofórmio e bromodiclorometano, enquanto o uso do ozônio implicou somente em traços de clorofórmio e pequenas concentrações de bromodiclorometano. Diferentemente, a aplicação do US, principalmente associado aos sanificantes químicos, promoveu a redução desses derivados halogenados. Por fim, constatou-se que os processos alternativos empregados não resultaram em hidratação excessiva das carcaças, nem em alterações importantes nos atributos sensoriais da carne de frango crua ou assada. Concluiu-se, portanto, que as tecnologias sanificantes testadas apresentam alto potencial para aplicação em plantas processadoras de aves, sendo necessários estudos adicionais para a adequação das corretas doses e frequência, bem como do tempo de contato, para a otimização dos processos.

## ABSTRACT

VEIGA, Sandra Maria Oliveira Morais. **Chicken carcasses sanitization: alternative procedures.** 2003. 291p. Thesis (Doctorate in Food Science)-Universidade Federal de Lavras, Lavras\*

Recognizing the existence of an increasing market demand of high quality chicken, it has become a worldwide priority to reduce the incidence of pathogenic levels. Consequently, sanitization methods have become highly relevant on poultry processing. In order to delay damaging bacteria multiplication, and control the spread of pathogens, poultry are dipped in ice-cold water tanks (chiller) to which are usually added chlorine. It is presently known that the use of chlorine compounds, mainly the ones inorganically originated may generate undesirable derivatives. Processed poultry products consumption may so imply serious microbiological and chemical hazard to public health, being highly necessary the research on alternative sanitizing methods. Considering the explanation above, this work aimed to study the use of sodium dichloroisocyanurate (Na-DCI), ozone (O<sub>3</sub>) and ultra-sound (US) to sanitize chicken carcasses. On the first stage, the ozonated water effectiveness was evaluated face to some microorganisms related to chicken meat, verifying that the ozone concentration of 0,6 mg/L was highly effective in the elimination of the studied microorganisms. On the second stage, the effectiveness of Na-DCI and ozone use were verified, both with the concentration of 3,0 to 3,5 mg/L and the US application, at 37KHz frequency, combined or not with a chiller water prototype. The influence of these procedures on the microbiological patterns, validity of the product, weight gain and the sensitive properties of chicken meat was evaluated; in addition, on the reduction of microorganisms from the chiller water and its implications on the formation of trihalomethanes. From the obtained data, it was observed that although the ozonated water combined with US has carried out a better role on the decontamination of the poultry carcasses, so has the ozone water alone, eliminated spoilage and pathogenic microorganisms, in a satisfactory manner, providing a longer lasting validity to the samples. The O<sub>3</sub> and Na-DCI addition, mainly combined with the ultra-sound, resulted on a logarithmic reduction of the microbic population in the chilling water, being more effective the combination of O<sub>3</sub> and US. Reporting to the trihalomethanes, the addition of Na-DCI to the chiller water resulted on low

---

\* Guidance Committee: Dr. João Evangelista Fiorini - UNIFENAS (Major Professor), Dra. Eliana Pinheiro de Carvalho - UFLA (Co-Professor)

chloroform and bromodichloromethane concentrations; while the ozone use resulted only on chloroform vestiges and small concentrations of bromodichloromethane. On the hand, the application of US, mainly associated to chemical sanitizers, caused the reduction of those halogen derivatives. At last, it was noticed that the used alternative procedures didn't result on excessive hydration of the poultry carcasses neither caused important alterations on the sensorial qualities of the raw nor roasted chicken meat. Therefore, it was concluded that the tested sanitizing technologies presented a high potential to their application in poultry processing factories, such that, additional studies will be necessary for adapting the correct doses and frequency as well as time contact with them, for the procedures optimization.

# CAPÍTULO 1

## **Aspectos sanitários relacionados ao processamento de carcaças de frango**

*As enfermidades veiculadas por alimentos são problemas sérios em todo o mundo e não existe sociedade imune a esse flagelo.*  
(Figueiredo, 1999)

## 1 Introdução

Apesar dos significativos avanços na ciência e tecnologia, anualmente, centenas de milhões de pessoas adoecem em função da contaminação de alimentos. Microrganismos, tais como *Salmonella*, *Campylobacter*, *Listeria*, *Staphylococcus* e cepas patogênicas de *Escherichia coli*, estão entre os principais responsáveis pelas enfermidades transmitidas por alimentos (Adams & Moss, 1997; Germano & Germano, 2000; International Food Information Service-IFIS, 2002).

A eliminação de germes patogênicos, tanto em água como em alimentos, é um aspecto de grande importância sanitária, econômica e social (Padrón et al., 1986).

As carnes bovina e de frango estão entre os alimentos mais freqüentemente relacionados aos surtos de doenças de origem alimentar. Inúmeros microrganismos patogênicos já tiveram sua presença relatada em carcaças de frango, incluindo *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Clostridium sp.*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, assim como deteriorantes, particularmente proteolíticos e lipolíticos, tais como as *Pseudomonas* (Almeida et al., 1993; Cotta, 1997; Ritter, 2000; Forsythe, 2002; Castillo, 2002; Figueiredo, 2003).

Para retardar a multiplicação de bactérias deteriorantes e para evitar o crescimento de germes patogênicos, após o abate e a evisceração, as aves são resfriadas em tanques de água gelada (*chiller*), os quais são normalmente adicionados de sanificantes. O cloro é o produto mais utilizado para reduzir microrganismos no *chiller* e, por conseguinte, a contaminação cruzada entre as carcaças (*International Commission on Microbiological Specifications for Foods-ICMSF*, 1997; Ritter, 2000).

Entretanto, Block (1991) relata que vários tipos de microrganismos, tais como cepas de *Escherichia coli* e *Salmonella typhi*, vêm apresentando resistência ao cloro. Além disso, presentemente, tem-se o conhecimento de que a utilização do cloro para a sanificação de alimentos pode levar a formação de subprodutos químicos, os trihalometanos, que são potencialmente carcinogênicos (Richardson et al., 1998; Macedo, 2000; Macedo et al. 2001).

É fato que o consumo de aves tem aumentado de forma acentuada nos últimos anos, quer como decorrência da elevação dos preços de outras fontes de proteína animal, quer como consequência de uma alteração dos hábitos alimentares da população. Assim, é de grande interesse industrial, social e econômico que se consiga melhorar a qualidade sanitária e prolongar a vida de prateleira desses produtos.

Somando-se ao exposto, deve-se ressaltar que existe, atualmente, uma crescente demanda de frangos com alto perfil de qualidade e, dessa forma, a redução dos níveis e da incidência de patógenos tornou-se uma prioridade mundial. Conseqüentemente, os métodos de sanificação passaram a ocupar espaço relevante nas plantas processadoras de aves.

Considerando que o amplo consumo dos produtos avícolas processados pode implicar em sérios efeitos sobre a saúde pública, tanto do ponto de vista microbiológico quanto químico, o presente trabalho, de forma bastante elaborada, teve como premissa o estudo de processos alternativos para a sanificação de carcaças de frango por meio de ensaios microbiológicos, físicos e químicos.

Os sanificantes químicos escolhidos foram o dicloroisocianurato de sódio e o gás ozônio, e, como descontaminante físico, aplicou-se o ultra-som.

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Biologia e Fisiologia de Microrganismos da Universidade José do Rosário Velano (UNIFENAS), Alfenas, MG.

As análises realizadas buscaram verificar:

- a eficácia da água ozonizada frente a alguns microrganismos associados à carne de frango;
- a eficiência da utilização de água potável, hipoclorada, ozonizada e do ultra-som, combinados ou não, em tanques de resfriamento, para a sanificação das carcaças de frango em relação às suas influências no padrão microbiológico, vida útil do produto, ganho de peso e propriedades sensoriais;
- a capacidade do dicloroisocianurato de sódio, do ozônio e do ultra-som, combinados ou não, em reduzir microrganismos na água do *chiller*; e
- a formação de trihalometanos na água do *chiller* após os tratamentos com dicloroisocianurato de sódio, ozônio e ultra-som, de forma combinada ou não.

Por fim, buscou-se fornecer subsídios para a aplicabilidade das técnicas sanitizantes estudadas no processamento de aves.

## 2 Referencial teórico

### 2.1 Aves – produção, mercado e valor nutritivo

A avicultura é um dos setores da produção animal que têm evoluído muito nas últimas décadas, constituindo-se, atualmente, em uma variedade econômica de grande destaque (Santos, 1998).

A indústria brasileira de aves consolidou-se na década de 1970 e, apesar das dificuldades inerentes a qualquer setor produtivo do país, a avicultura tem apresentado crescimento elevado praticamente todos os anos desde sua implantação, atingindo a segunda posição no ranking mundial de produtores, sendo superada apenas pelos Estados Unidos (Talamini, 2001).

A exportação de aves congeladas tem contribuído para o crescimento da produção industrial do Brasil, que tem como principal destino a Ásia, mas vem também conquistando novos mercados como os da Comunidade Econômica Européia, África e, principalmente, o da Rússia. O Brasil vem disputando o mercado de frangos do Oriente Médio com a União Européia (EU) e os EUA, e o mercado japonês com a China e Tailândia (Bliska, 1997; Produto..., 2002; Talamini, 2001).

A região Sul do país foi a pioneira na produção e tem aumentado continuamente sua participação. Seus três estados respondem por mais de 50% da produção de frangos no Brasil. Em 2001, a participação da região Sul foi de 55,2%; o Sudeste, mesmo tendo a segunda maior produção, teve um decréscimo de 3,8%, baixando de 31% em 98 para 27,2% em 2001; o Nordeste participou com 8,7%, o Centro-Oeste com 7,9% e o Norte com menos de 1,5% (Ritter, 2000; Talamini, 2001).

O consumo per capita de carne de frango no país saltou de 2,3

kg/habitante/ano em 1970 para 23,8 kg em 1997, apresentando um crescimento de 935% no período (Schorr, 1999). O brasileiro tem mudado seu hábito de consumo de carnes, passando de um país preponderantemente consumidor de carne bovina para o de consumidor de carne de frango. A qualidade, a facilidade de preparo, a imagem de produto saudável e os preços acessíveis auxiliaram na conquista dessa posição. Em média, nos últimos seis anos, o consumo per capita brasileiro aumentou 1,63 kg/ano, sendo que em 2000, já estava em 29,9 kg/habitante/ano (Talamini, 2001; 2002). Atualmente, o consumo interno é de 34 kg/habitante/ano (Avicultura..., 2003b).

Os produtos avícolas que até pouco tempo eram um item de luxo, a partir da década de 1990, passaram a responder por mais de 35% do total de vendas alimentícias. Aumentaram as vendas de produtos resfriados, particularmente do produto em porções (coxas, sobrecoxas, peitos, etc.), ou processados (empanados), responsáveis pela maior atração dos consumidores para este tipo de alimento (Prodlove, 1996).

De acordo com a Revista Nacional da Carne (fev/2001), a produção brasileira de carne de frango apresentou, em 2000, um crescimento de 3,6% em relação ao ano de 1999, atingindo 5,7 milhões de toneladas. A exportação também vem crescendo, tendo maior expressividade o embarque de cortes do que do produto inteiro (Produção..., 2001).

Em 2001, a produção de frangos de corte ficou em 6,6 milhões de toneladas e, apesar das dificuldades no fornecimento de milho ocorridas durante o ano de 2002, a avicultura brasileira conseguiu continuar crescendo. Foram produzidas de 7,6 milhões de toneladas para esse período, com exportação de 1,3 milhão (Talamini, 2002; Avicultura..., 2003a;b).

Segundo Schorr (1999), os principais desafios da indústria avícola brasileira são:

- atender às exigências do consumidor;

- manter-se tecnicamente competente;
- reduzir ainda mais os custos de produção;
- implantar programas de higiene, controle sanitário e biossegurança;
- preocupar-se com o bem-estar das aves e o meio ambiente;
- reduzir a utilização de subprodutos de origem animal na alimentação de aves;
- limitar a utilização de antibióticos e promotores de crescimento;
- pesquisar o uso de matérias-primas alternativas;
- maximizar o uso de aditivos alimentares (enzimas, probióticos, emulsificantes, etc.);
- implantar os preceitos de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC).

Superados estes desafios, o setor estará preparado para atender adequadamente ao mercado doméstico e superar os competidores no mercado internacional.

Os produtos avícolas variam desde os tipos de carnes brancas, como as de frangos, contendo 25% a 30% de proteínas e somente 5% de gordura, até as carnes mais escuras, como a de pato, que contém 11% de proteínas e 43% de gordura (Prodlove, 1996).

Favier et al. (1999) relatam que 100 gramas de carne de frango crua contém 125 Kcalorias, 72,9 g de água, 22,2 g de proteínas, 4,0 g de lipídios, 75 mg de colesterol, além de sais minerais (magnésio, fósforo, potássio, cálcio, ferro) e vitaminas (precursores de vitamina A, vitaminas do complexo B e vitamina E).

Como foi anteriormente relatado, o aumento do consumo de carnes de aves também está relacionado aos indesejáveis malefícios à saúde, atribuídos às carnes vermelhas e às gorduras saturadas. A carne de frango contém menos

gordura e um maior conteúdo de ácidos graxos insaturados, diminuindo os possíveis problemas cardiovasculares associados. Em compensação, as carnes brancas contêm menos ferro que as vermelhas (Prodlove, 1996).

A carne de aves e o ovo são considerados pelos nutricionistas como alimentos ideais para todas as pessoas, pois essa carne é magra e de baixa caloria e o ovo é um dos alimentos mais completos da natureza, só perdendo para o leite materno (Lana, 2000).

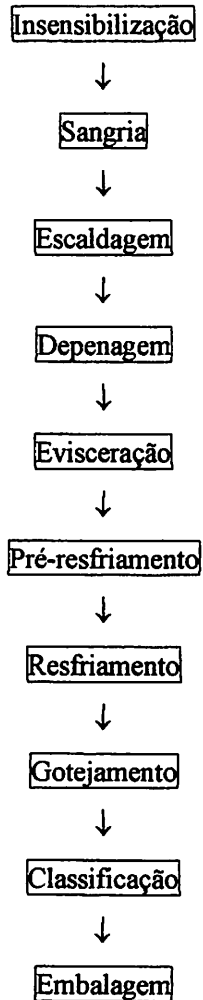
## **2.2 Processamento de aves**

As estruturas industriais e tecnológicas de abate de aves no início da década de 1970, quando houve o desenvolvimento da avicultura de corte, eram simples. A comercialização baseava-se quase que exclusivamente em aves evisceradas inteiras, resfriadas ou congeladas, e os cortes eram provenientes apenas do aproveitamento de aves com contusões.

Após esta fase inicial, os frigoríficos começaram a investir mais em tecnologia e estrutura, a fim de aperfeiçoarem a qualidade, aumentarem a produtividade e, conseqüentemente, obterem melhores resultados num mercado bastante disputado.

Após 1980, a produção de cortes de frangos (peito, asa, coxa e sobrecoxa) sofreu incremento significativo em função do mercado exterior e da evolução dos hábitos dos consumidores brasileiros, principalmente dos grandes centros urbanos.

O frango de granja, até o preparo no abatedouro, na forma de carcaças ou mesmo de corte, deverá passar por vários estádios importantes. Esses estádios precisam ser programados, para serem realizados de maneira eficiente e higiênica. De acordo com Lana (2000), as etapas realizadas no abate são:



### 2.2.1 Insensibilização

O primeiro equipamento utilizado no abatedouro é o insensibilizador ou atordoador. A finalidade da insensibilização é a melhora da sangria e depenagem. Geralmente, esse atordoamento é feito por um processo de eletronarcose, como preconizado pela Portaria nº210/99, do Ministério da

Agricultura. Neste, a cabeça da ave é mergulhada num tanque com um líquido, normalmente salmoura, por onde é passada uma corrente elétrica (20 a 50 volts e frequência de 60 Hertz por um tempo de 7 segundos) (Brasil, 1999c; Lana, 2000).

### **2.2.2 Sangria**

Preconiza-se um intervalo de 12 segundos entre a insensibilização e a sangria, que pode ser realizada de forma manual ou mecânica. O tempo de sangria é de 2 minutos (Brasil, 1999c; Lana, 2000).

A sangria deverá ser realizada em instalações próprias e exclusivas, denominadas “túnel de sangria”, que devem estar voltadas para a plataforma de recepção de aves, totalmente impermeabilizadas em suas paredes e tetos (Brasil, 1999c).


### **2.2.3 Escaldagem**

O processo de escaldagem tem como objetivo liberar as penas e é realizado por imersão da ave num tanque de água quente (por volta de 52°C) com agitação (Lana, 2000).

De acordo com a Portaria nº210/99, do Ministério da Agricultura, as aves poderão ser escaldadas pelos seguintes processos: imersão em tanque com água aquecida por meio de vapor ou por pulverização de água quente e vapor.

Castillo (1997) sugere que as aves destinadas à comercialização sob refrigeração devam ser escaldadas na faixa de 50-55°C. A permanência da ave no tanque de escaldagem não deve ser inferior a 1,5 minuto. Além dos aspectos microbiológicos, deve-se considerar a maior facilidade da remoção das plumas, evitando assim a repetição de medidas, o que aumenta o manuseio.

Este mesmo autor relata que microrganismos de contaminação, incluindo *Pseudomonas* sp, são facilmente destruídos na água de escaldagem e que o uso



de temperaturas altas acima de 58°C pode reduzir a vida útil da carcaça por remoção subsequente da cutícula, tornando-a mais suscetível ao crescimento de bactérias contaminantes. Ainda assim, microrganismos psicotróficos presentes na ave podem sobreviver à escaldagem, pois ficam firmemente ligados à pele e não são facilmente removidos por lavagens subsequentes.

#### **2.2.4 Depenagem**


O processo de depenagem é feito por ação mecânica de dedos de borracha que são presos a tambores rotativos. A operação da depenadora deve ser controlada para que se possa obter uma carcaça de boa aparência, evitando-se assim machucados, rupturas e arranhões na pele e até quebra de ossos, pois, caso contrário, pode haver introdução da microbiota externa na musculatura. Apesar das precauções, as contagens microbianas geralmente aumentam nesta fase, como resultado da contaminação cruzada. Este é um fato inevitável, mesmo utilizando-se tecnologias modernas.

Os microrganismos presentes na pele, penas e intestinos chegam até o tanque de escaldagem e depenadoras (Lana, 2000; Castillo, 1997). Os dedos de borracha da depenadora naturalmente ocultam microrganismos e não são fáceis de lavar e desinfetar. O equipamento está sujeito à colonização microbiana, particularmente por *Staphylococcus aureus* (Castillo, 1997).

#### **2.2.5 Evisceração**

Os trabalhos de evisceração devem ser executados em instalações próprias, isoladas por meio de paredes das áreas de escaldagem e depenagem, compreendendo desde a operação de corte de pele do pescoço até a “toailete final” das carcaças (Brasil, 1999c).

A evisceração é uma etapa muito importante no processamento de aves e é composta de vários subprocessos. Inicia-se pela remoção da glândula do



uropígio ou sambiquira; em seguida, vem o corte ou remoção da traquéia. Posteriormente, faz-se a remoção da cloaca e evacuação do intestino grosso. Segue-se depois a abertura do abdômen, a eventração, que é a exposição das vísceras (moela) para a inspeção.

Com as vísceras fora da carcaça, segue-se a inspeção, na qual a carcaça é aprovada ou reprovada por inteiro ou em partes. Durante a inspeção feita pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF), são eliminadas as aves condenadas por doenças (Brasil, 1952; Lana, 2000).

Após a inspeção, são, então, retiradas as vísceras: coração, fígado e moela. No caso do coração, remove-se o saco pericardial; no caso do fígado, evita-se o derramamento da vesícula biliar para evitar a contaminação. Quanto às moelas, removem-se as gorduras em excesso: são elas abertas, com a retirada, em seguida, do seu conteúdo. Depois de lavadas, remove-se a cutícula interna (Lana, 2000).

Após o preparo desses miúdos, é feita a extração dos pulmões, por meio de uma pistola a vácuo; segue-se a toailete com a remoção do papo, esôfago e traquéia. A retirada da traquéia é feita por fusos rotatórios que descem pelo interior da carcaça e pele do pescoço.

Finalmente, chega-se à última operação dessa fase, que é a lavagem final, interna e externa, com remoção de sangue, membranas e resíduos de vísceras. Só então a ave estará preparada para a operação de resfriamento. Impedir a entrada dos resíduos da evisceração no *pré-chiller* é medida importante para a manutenção da qualidade da água e redução dos riscos de contaminação cruzada. O enxágüe final das carcaças, feito por jatos de água com alta pressão na lavadora final, é a última barreira contra o arraste de resíduos da evisceração para dentro do *chiller*. Assim, para assegurar que a ação de limpeza seja adequada, é importante monitorar o funcionamento dos bicos de água, que devem ser periodicamente inspecionados e limpos (Brasil, 1999c; Lana, 2000).

Castillo (1997) sugere que, após a evisceração, as carcaças devem ser lavadas utilizando-se de duchas de água clorada, pois este procedimento provoca a remoção por arraste da microbiota superficial da carcaça. Sugere ainda que a instalação de um chuveiro com água hiperclorada (5,0 mg/L de cloro livre) é uma medida de segurança adicional.

### 2.2.6 Resfriamento

Depois da evisceração, é importante resfriar as aves rapidamente para impedir o crescimento bacteriano, particularmente de organismos causadores de doença como a *Salmonella* sp. Para o resfriamento são utilizados banhos de água fria, equipados com um sistema de contra-corrente.

Segundo Lana (2000), várias técnicas são utilizadas na operação de resfriamento, desde o uso de tanques com gelo (uma técnica já superada) à pulverização com água gelada, tanques com água e gelo ou resfriadores contínuos.

A Portaria n°210/99 aprova o uso de resfriadores contínuos, tipo rosca, no qual as carcaças são imersas em água gelada ou água e gelo, o resfriamento por aspersão com água a 4°C e o resfriamento por ar (câmaras frias) (Brasil, 1999c).

Quando estiverem funcionando entre 0 e 5°C, os resfriadores contínuos são eficientes (Lana, 2000).

O resfriamento consiste, basicamente, de dois estágios: no primeiro estágio, ou *pré-chiller*, a temperatura da água fica entre 16° e 18°C (a inspeção permite que a temperatura da água chegue aos 20°C), visando evitar o encolhimento do músculo e residual mínimo de cloro, em 2,0 mg/L. Em seguida, no segundo estágio ou *chiller*, a água de entrada no tanque deverá ter sua temperatura abaixada para 4°C e residual mínimo de cloro de 3,0 mg/L (Lana, 2000; Castillo, 1997).

De acordo com a legislação brasileira (Portaria nº210/99), para garantir a qualidade das carcaças de frango, sob o aspecto microbiológico, a água dos tanques de resfriamento deverá ser hiperclorada. Devem ser permitidos, no máximo, 5,0 mg/L de cloro livre e seu fluxo de renovação mínimo deve ser de 1,5 litro por carcaça no *pré-chiller* e 1,0 litro por carcaça no *chiller*.

Apesar da legislação brasileira recomendar uma hipercloração de 2,0 a 2,5 mg/L para a água de resfriamento das carcaças, o cloro vem sendo empregado nos tanques de *chiller*, por vários abatedouros, em altas concentrações (5,0 a 200 mg/L). Isto pode gerar resíduos químicos indesejados e alterar a qualidade sensorial da carcaça (Brasil, 1999c; Prodlove, 1996; Martins et al., 1998; Lana, 2000).

Geralmente, o desejável nessa operação é que, ao término do processo, a temperatura da carcaça fique entre 2° a 4°C, pois é nesta temperatura que a ave deve ser estocada, quando comercializada sob refrigeração. O Serviço de Inspeção Federal (SIF) exige que a temperatura máxima dessas carcaças seja de 8°C. Caso elas sejam comercializadas congeladas, a temperatura máxima pode ser maior, em torno de 12°C (Lana, 2000).

Para os frangos apresentarem melhor qualidade sensorial e vida de prateleira mais longa, é importante que sua população microbiana seja a menor possível ao final do processamento. Assim, é importante controlar nessa operação de resfriamento, os seguintes fatores: concentração de cloro, temperatura, fluxo de água e absorção da mesma pelas aves. Para controlar essa absorção, a ave deve ser pesada antes e após o *chiller*. Ainda, o tempo de permanência das carcaças no *pré-chiller* e *chiller* que, ao todo, deve ficar por volta de 45 minutos a 1 hora (Brasil, 1999c; Lana, 2000; Bressan & Perez, 2001).

A *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* reconhece apenas um ponto crítico de controle do tipo PPC1 no

processamento de aves. Trata-se do resfriamento realizado no *chiller*, quando se pode assegurar o controle do crescimento de patógenos causadores de toxinfecções alimentares, desde que as carcaças sejam resfriadas abaixo de 10°C. A água de resfriamento tem um potencial considerável para ocasionar uma contaminação cruzada, caso o controle do sistema de resfriamento não seja rigoroso (ICMSF, 1988).

Os resfriadores de imersão contínua podem efetuar uma redução global da contaminação bacteriana, contanto que sejam convenientemente controladas as condições de uso e de temperatura da água. O cloro pode ser acrescentado à água do resfriador e reduz eficientemente qualquer contaminação cruzada. Isto diminui os níveis microbianos na água, mas não na carcaça (ICMSF, 1997).

### **2.2.7 Gotejamento**

O gotejamento é feito para reduzir o excesso de água absorvida na etapa anterior. É destinado ao escoamento da água na carcaça. Ao final desta fase, a absorção da água pelas carcaças no pré-resfriamento por imersão não deve ultrapassar a 8%. Nessa operação, as aves são suspensas pela asa ou pela coxa ou pescoço, dependendo do tipo de processamento (Brasil, 1999c; Lana, 2000).

O tempo de gotejamento é de 2,5 a 4,0 minutos. Há abatedouros que ampliam esse tempo para até 5,0 minutos (Lana, 2000).

### **2.2.8 Classificação**

Em seguida, as aves passam por um processo de classificação, com a remoção de carcaças com danos. Caso o abatedouro tenha seção de cortes, elas irão para esta operação e, se forem comercializadas por tamanho e peso, serão classificadas e conduzidas para a embalagem. Os miúdos são embalados individualmente e inseridos dentro das aves (Lana, 2000).

### 2.2.9 Embalagem

Após o resfriamento e gotejamento, as carcaças são acondicionadas em bolsas plásticas e refrigeradas à temperatura entre 0 e 4°C, ou congeladas a 20°C negativos (Castillo, 1997).

A permeabilidade dos materiais de embalagem ao oxigênio é um parâmetro importante associado às embalagens de aves resfriadas. À medida que a permeabilidade dos filmes ao oxigênio decresce, atinge-se um estado no qual o oxigênio utilizado, em um certo nível de pressão parcial, favorece a reação do pigmento e acarreta a descoloração do produto. Assim, devem ser usados materiais de alta permeabilidade ao oxigênio, a fim de manter a coloração do produto fresco.

Outro requisito que a embalagem para aves resfriadas deve atender é o de baixa permeabilidade ao vapor d'água. Dessa forma, evita-se a desidratação superficial e, conseqüentemente, a perda de peso e o escurecimento do produto, devido à concentração de pigmentos na sua superfície, quando a estocagem é feita em ambientes com baixa umidade relativa.

Uma embalagem para aves resfriadas ainda deve apresentar baixa permeabilidade a odores estranhos, flexibilidade, resistência à gordura e resistência mecânica à temperatura de refrigeração. A embalagem plástica mais utilizada no mercado nacional para o acondicionamento de aves congeladas é o filme de polietileno com espessura entre 25 e 60µm, muitas vezes pigmentado de branco. A pigmentação oferece certa barreira à luz e melhora a apresentação visual, porque possibilita melhor impressão e não permite a visualização do produto que, por si só, não tem boa aparência. O polietileno apresenta baixo custo, boa resistência ao rasgo e à perfuração, flexibilidade a baixas temperaturas, baixa permeabilidade ao vapor d'água e boa soldagem (Lana, 2000).

### 2.2.10 Conservação pelo frio

Dentre os agentes físicos que podem intervir na vida útil de aves, tem-se o efeito das diferentes temperaturas de resfriamento e refrigeração (Hoffman, 1984).

O tratamento pelo frio constitui a técnica mais generalizada para a conservação de carnes, tanto para o armazenamento como para o transporte. Temperaturas baixas são importantes na preservação de carnes de aves. Contudo, a atividade microbiana pode ocorrer, mesmo em temperaturas de refrigeração, com efetiva deterioração de carnes ou, em alguns casos, com possibilidade de toxinfecções alimentares (Pardi et al., 2001; Martins et al., 1998).

As baixas temperaturas são empregadas para retardar as reações químicas e a atividade das enzimas, assim como para retardar ou deter a multiplicação dos microrganismos presentes nos alimentos. Quanto mais baixas as temperaturas, mais lentas serão as reações químicas, a atividade enzimática e a multiplicação dos microrganismos (Carvalho, 1999; Ritter, 2000).

Xavier & Beraquet (1993) relatam que o método mais usado para a conservação de carnes frescas de aves é a refrigeração, utilizando-se de temperatura entre 0 a 10°C.

De acordo com a Portaria CVS nº6/99, do Centro de Vigilância Sanitária da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, os alimentos perecíveis devem cumprir os seguintes critérios de temperatura: congelados, a -18°C, com tolerância de até -12°C; resfriados, entre 6° a 10°C, conforme especificação do fabricante, e refrigerados, até 6°C, com tolerância até 7°C. Já para o transporte de carnes e produtos cárneos, o Decreto nº6538/RJ, de 1983, prevê a exigência de transporte fechado, isotérmico ou refrigerado e o respeito às seguintes faixas de temperatura: sob refrigeração, entre 4° a 6°C, com tolerância até 7°C;

alimento resfriado, entre 6° a 10°C ou conforme especificações do fabricante, e congelados, entre -18° a -15°C, com tolerância até -12°C (Madeira & Ferrão, 2002; Figueiredo, 1999).

Figueiredo (1999) relata que as carnes bovina, suína e de aves podem ser armazenadas sob refrigeração, ou seja, em temperaturas de até 4°C, por 72 horas.

Franco & Landgraf (1996) relatam que a refrigeração, entre 0 e 10°C, diminui a velocidade de crescimento dos microrganismos, enquanto o congelamento evita a viabilidade de grande parte dos microrganismos. Destacam que temperaturas de 5° ou 6°C retardam a multiplicação dos microrganismos produtores de intoxicação alimentar, com exceção do *C. botulinum* tipo E. Salientam, ainda, que é possível encontrar microrganismos viáveis em até 17°C negativos.

Sheldon & Brown (1986) armazenaram carcaças de frango a 4,4°C e analisaram-nas nos dias 0, 4, 7, 9 e 11 para determinar a contagem total de mesófilos aeróbios e de psicrotróficos. Encontraram os seguintes resultados, citados em log<sub>10</sub>UFC/g. Contagem de mesófilos: 4,93; 4,96; 5,03; 5,14 e 6,08, respectivamente. Contagem de psicrotróficos: 3,73; 5,24; 6,47; 7,56 e 9,00, respectivamente.

Forsythe (2002) cita que os limites de temperatura e tempo de conservação de alimentos são baseados no conhecimento das faixas de temperatura e taxas de crescimento dos patógenos de origem alimentar mais comuns. A zona de maior perigo microbiano tem limite inferior de -1,5°C para controlar *L. monocytogenes*, *Y. enterocolitica* e *A. hydrophila* e o limite superior é de 53°C, em função do *C. perfringens*.

Entretanto, estes limites diferem daqueles estabelecidos nos padrões nacionais (04° a 60°C), que foram definidos antes da emergência de certos patógenos de origem alimentar, como a *L. monocytogenes* (Forsythe, 2002).

### 2.3 Microbiologia da carne de aves e vida de prateleira

A carne de aves é facilmente deteriorável, devido às suas características intrínsecas, como composição química apresentando elevado teor de nutrientes, alta atividade de água e pH próximo da neutralidade. Estes fatores possibilitam a proliferação e o desenvolvimento de microrganismos contaminantes da própria ave ou de fontes externas, devendo, por esse motivo, ser processada adequadamente e ser mantida sob refrigeração ou congelamento (ICMSF, 1980; Terra, 1998; Forsythe, 2002).

O músculo do animal vivo, normalmente, é isento de germes. Porém, a partir do abate e do processamento, inicia-se a sua contaminação proveniente da pele, penas, trato intestinal, dos funcionários, dos equipamentos e utensílios e da água utilizada no processo (Terra, 1998).

Esses microrganismos poderão ser patogênicos, colocando em risco a saúde do consumidor, ou deteriorantes, que vão prejudicar a qualidade do produto e seu período de conservação (Terra, 1998).

A microbiota das aves frescas depenadas provém de bactérias normalmente presentes em aves vivas e de organismos introduzidos durante o abate, a retirada de penas e a evisceração (Pelczar Jr., 1997).

Bactérias, leveduras e fungos filamentosos têm sido isolados da superfície de aves processadas, tais como, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Listeria*, *Trichosporum*, *Torulopsis*, *Candida*, *Rhodotorula*, *Penicilium*, *Alternaria* e *Aspergillus*. Para o homem, a *Salmonella* é o patógeno mais significativo, porém, o *Campylobacter* e a *Listeria* também são alvos de preocupações de saúde pública (Pelczar Jr., 1997; Parry & Pawsey, 1984; ICMSF, 1997).

Atualmente, a maioria dos frangos na Europa, exceto na Suécia, que

exige rigorosa qualidade na higiene dos alimentos, está infectada pela *Salmonella*, em até 60%. Esta infecção é causada principalmente pela forragem infectada (Möller, 1999).

Infecções causadas por *Campylobacter* são um tanto frequentes nos países nórdicos. Nos Estados Unidos, atualmente 70% a 90% dos frangos comercializados têm infecções por *Campylobacter*, causando oito milhões de casos por ano de envenenamento por comida (Möller, 1999).

Em 1996, o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), preocupado com os patógenos emergentes e com o grande número de enfermidades veiculadas por alimentos, publicou o Programa de Redução de Patógenos (PRP). A obrigatoriedade do programa se aplica também aos países que exportam carnes e produtos avícolas para o mercado norte-americano. O PRP tem quatro componentes, descritos a seguir: implementação do sistema APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle); padrões de desempenho para *Salmonella*; desenvolvimento e implementação dos Padrões e Procedimentos Operacionais de Sanificação e provas microbianas para *E. coli* genérica. Foram traçadas metas para a redução da porcentagem de carcaças contaminadas com *Salmonella*, o que implica também na redução de outros patógenos (Figueiredo, 1999).

No Brasil, durante o ano de 2002, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) implantou o Programa Brasileiro de Análises de Risco para *Salmonella* sp em carcaças de frango congeladas. O objetivo foi o de determinar a prevalência desse microrganismo em carcaças de frango congeladas expostas à venda em estabelecimentos comerciais e de melhorar a qualidade do produto (Figueiredo, 2002).

Forsythe (2002) descreve que a *Salmonella* e o *Campylobacter* têm aumentado suas resistências a antibióticos clinicamente importantes, chegando a um grau considerado preocupante. Este relato reforça a importância de realizar o

controle destes patógenos em carcaças de frango.

A presença de microrganismos pertencentes aos gêneros *Salmonella*, *Clostridium* e *Staphylococcus*, que podem acarretar toxinfecções alimentares, deve-se às técnicas higiênico-sanitárias inadequadas empregadas no abatedouro, na distribuição e no consumo de aves, uma vez que tais microrganismos não se reproduzem nas temperaturas ideais de estocagem (Hoffman, 1984).

Outro fator importante em relação aos produtos de origem animal é o controle de microrganismos psicrotróficos, especialmente as bactérias do gênero *Pseudomonas*, pois as mesmas são responsáveis por alteração de odor, sabor e cor destes alimentos (Ayres et al., 1950).

As bactérias pertencentes ao gênero *Pseudomonas* são originárias da pele, pés, intestinos ou outras partes de animais, assim como da água, gelo e dos equipamentos utilizados no processamento (Toule & Murphy, 1978).

A deterioração de carcaças de aves evisceradas, armazenadas à temperatura de refrigeração, ocorre principalmente devido aos microrganismos psicrotróficos do gênero *Pseudomonas* e *Acinotobacter*, sendo detectada pelo desenvolvimento de odor e limo superficial nas carcaças (Hoffman, 1984). Além desses microrganismos, Martins et al. (1998) isolaram também *Moraxella*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Alteromonas* e *Flavobacterium*.

Franco & Landgraf (1996) relatam que, em frangos eviscerados, mantidos a 10°C ou abaixo, ocorre deterioração, principalmente por *Pseudomonas* e leveduras (*Torulopsis* e *Rhodotorula*) e que acima dessa temperatura, tem-se o crescimento de *Alcaligenes* e *Flavobacterium* sp.

De acordo com Forsythe (2002), as carcaças armazenadas em temperaturas maiores que 20°C serão prontamente deterioradas por bactérias provenientes do intestino dos animais, as quais contaminaram a carne durante a evisceração. A microbiota deteriorante é composta por microrganismos mesófilos, tais como *E. coli*, *Aeromonas* sp, *Proteus* sp e *Micrococcus* sp. Em

temperaturas abaixo de 20°C, a predominância será de psicrotróficos, tais como *Pseudomonas* sp (fluorescente ou não), *Brochothrix thermosphacta*, *Acinetobacter* sp e *Shewanella putrefaciens*. À temperatura de refrigeração de 5°C ou menos, a microbiota deteriorante será, predominantemente, de *Pseudomonas*. O crescimento de fungos ocorre em estocagem prolongada.

A deterioração é resultado da degradação de proteínas, o que produz compostos voláteis desagradáveis, tais como indol, dimetil sulfito e amônia (Forsythe, 2002).

No caso de aves não evisceradas, a deterioração pode ser constatada pelo esverdeamento da carcaça e odor pútrido, ocasionados pelo desenvolvimento de bactérias intestinais (Hoffman, 1984).

Conforme a Resolução nº12/01, que estabelece os padrões microbiológicos sanitários de alimentos, para as carnes de aves resfriadas ou congeladas *in natura* (carcaças inteiras, fracionadas ou cortes), os microrganismos indicadores são os coliformes a 45°C, que não devem exceder a contagem de 10<sup>4</sup>/g do produto e a *Salmonella* sp, que deve estar ausente em 25g de carne (Brasil, 2001b).

Considerando as exposições acima, constituem fatores importantes no processamento de aves: a qualidade da água utilizada, que deve ser no mínimo potável, pois caso contrário pode contaminar diretamente as aves ou superfícies e equipamentos; as boas práticas de processamento; os procedimentos padrões de higiene e sanificação e o abate de animais descansados (a carne proveniente de animais fatigados deteriora-se mais rapidamente devido à falta de glicogênio de reserva, que se transforma em ácido lático após a morte do animal, o que diminui o pH do músculo, dificultando a multiplicação microbiana) e, ainda, a suspensão da alimentação 12 horas antes do abate e a limpeza das gaiolas (Pardi et al., 2001; Carvalho, 1999; Terra, 1998; Forsythe, 2002).

Outro relevante fator é o resfriamento das carcaças para retardar a

multiplicação de bactérias deteriorantes e para evitar o crescimento de germes patogênicos. O resfriamento sob imersão em água resfriada contra corrente geralmente diminui a contagem microbiana e minimiza a contaminação cruzada. O cloro geralmente é acrescentado à água do resfriador para reduzir a contaminação cruzada. Como anteriormente exposto, o cloro elimina sensivelmente os níveis de microrganismos na água, mas não nas carcaças (ICMSF, 1997).

Em recente revisão sobre os métodos de produção da carne de frango, em particular o método sueco, por conseguir obter carcaças livres de *Salmonella*, o *International Consultative Group on Food Irradiation* (ICGFI) apresentou um relatório sobre a segurança da carne de frango, no qual estão descritos os principais métodos de descontaminação de carcaças. Entre os métodos químicos, tem-se a utilização do ácido láctico, lactato tamponado, fosfatos e misturas, peróxido de hidrogênio, dióxido de cloro, cloro orgânico e ozônio. Quanto aos métodos físicos, são citados a irradiação, as ondas ultra-sônicas e o vapor (ICGFI, 1999).

### **2.3.1 Indicadores de vida de prateleira**

A carne de frango pode ter sua vida útil limitada a apenas três dias, quando estocada aerobicamente, em temperatura de refrigeração. Após este período, ocorrem os primeiros sinais de deterioração, que são evidenciados com o aparecimento de odores estranhos e de um limo superficial, ocasionados basicamente pelo crescimento de bactérias Gram-negativas (Xavier & Beraquet, 1993).

Como anteriormente descrito, Figueiredo (1999) também relata que as carnes bovina, suína e de aves podem ser armazenadas sob refrigeração, ou seja, entre 0 e 4°C, por 72 horas.

A contagem de bactérias aeróbias mesófilas tem sido utilizada como

indicador da qualidade higiênica dos alimentos, fornecendo também uma idéia sobre seu tempo útil de conservação. Sua presença em grande número indica matéria-prima excessivamente contaminada e/ou condições inadequadas de processamento (Siqueira, 1995).

Os psicrotóxicos também estão relacionados com a microbiota deteriorante que atua nas carnes, porém, são especialmente importantes na deterioração de carnes refrigeradas (Franco & Landgraf, 1996; Forsythe, 2002). Quando presentes, podem causar uma variedade de alterações. Sua detecção está associada à falha no processamento ou contaminação pós-processamento, à estocagem prolongada sob refrigeração ou à manutenção de frio inadequado (Brasil, 1991/1992).

Consideram-se como próprios para consumo os alimentos que apresentam contagem total de microrganismos inferior a  $10^7$ UFC/cm<sup>2</sup> (Goetz & Terra, 1998).

Ayres et al. (1950) detectaram odor e limo em carcaças estocadas a 4,4°C, quando a contagem padrão de aeróbios mesófilos alcançou  $10^8$ UFC/cm<sup>2</sup> do produto.

Sobre os indicadores de vida de prateleira, Forsythe (2002) descreve que, para a carne crua, é apontada a contagem de aeróbios mesófilos em placas, cujo limite sugerido é de  $1,0 \times 10^6$ UFC/g. Este autor relata que a deterioração visível e/ou limo ocorre a partir de  $10^7$ UFC/g.

As carcaças de frango são consideradas impróprias para o consumo quando atingem o nível de  $10^7$ UFC/g de microrganismos aeróbios mesófilos ou psicrotóxicos, que é o limite para iniciar o aparecimento de odor e limosidade (ICMSF, 1980). Russel (1997) afirma que a contagem padrão de psicrotóxicos em carcaças de frango armazenadas sob refrigeração, tem sido utilizada como o principal indicador do potencial de deterioração da carne.

Segundo Ritter (2000), a carne de frango geralmente é considerada

deteriorada quando os níveis microbianos chegam ao redor de  $10^6$  a  $10^7$ UFC/cm<sup>2</sup> na superfície da pele. Fliickiger et al. (1980) mostram que a deterioração ocorre quando a contagem de psicrotóxicos atinge  $10^6$ UFC/g em alimentos. Sawaya et al. (1997) observaram que as carcaças começam a entrar em deterioração quando os números de psicrotóxicos atingem  $\log 7,0$ UFC/g. Em pesquisa desenvolvida por esses autores, os frangos armazenados à temperatura de 4°C atingiram  $\log 7,0$ UFC/g em 6 a 7 dias. Os sinais de deterioração analisados foram: mau aspecto, mau cheiro, substância viscosa na superfície dos frangos e alteração na cor.

#### **2.4 Importância da água no processamento de aves**

O controle sanitário da água e dos alimentos constitui fator preponderante para a prevenção de enfermidades e da deterioração e alimentos.

A água que irá entrar em contato com alimentos deve cumprir as mesmas normas da água potável, além de satisfazer qualidades particulares, de acordo com o tipo de alimento a que se destina, como, por exemplo, ausência de microrganismos deteriorantes e minerais que possam afetar a qualidade do alimento ou a saúde do consumidor (Brasil, 1999c; Carvalho, 1999; Madeira & Ferrão, 2002).

A água nos estabelecimentos de processamento de produtos de origem animal destinados à alimentação humana deverá apresentar, obrigatoriamente, as características de potabilidade especificadas no Artigo 62, do Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA. Será compulsoriamente clorada como garantia de sua inocuidade microbiológica, independente de sua procedência (água de superfície, represadas, nascentes, poços comuns ou tubulares profundos, rede pública de abastecimento). A cloração obrigatória, não exclui, obviamente, o prévio tratamento químico

(floculação, sedimentação, filtração e neutralização), tecnicamente exigido para certas águas impuras, notadamente as de superfície, cuja necessidade será julgada pela Inspeção Federal (Brasil, 1952; Brasil, 1999c).

Segundo o RIISPOA, esta água não deve conter mais de 500 germes/mL, nem demonstrar, no teste presuntivo para a pesquisa de coliformes, maior número de germes do que os fixados pelos padrões para 5 (cinco) tubos positivos na série de 10mL e 5 (cinco) tubos negativos nas séries de 1,0mL e 0,1mL de amostra. Quanto ao cloro livre, o padrão é de, no máximo, 1,0 mg/L e, no mínimo, 0,5 mg/L, apesar de estar redigido como 0,05 mg/L, o que se acredita ter sido erro de impressão (Brasil, 1952).

Para a indústria de alimentos, a qualidade da água é fundamental, pois a mesma é utilizada em todas as fases do processamento, nas operações de higiene, limpeza e sanificação (Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas-SEBRAE, 1999; Figueiredo, 1999).

Figueiredo (1999) recomenda que o cloro residual livre em água utilizada na indústria de alimentos não deve ser inferior a 0,3 mg/L. Ainda, que a água deve ser monitorada por meio de análise mensal dos parâmetros físicos, químicos e bacteriológicos e também por sistemática higienização dos reservatórios, pelo menos de seis em seis meses. O residual de cloro livre deve ser monitorado diariamente.

Figueiredo (1999), considerando as características microbiológicas, admite no máximo 500UFC/mL para bactérias heterotróficas e o padrão de ausência, para os coliformes.

Pardi et al. (2001) relatam que o padrão microbiológico da água exigido para estabelecimentos que exportam carnes para o Reino Unido é o seguinte: ausência de coliformes totais em 95% das amostras, ausência definitiva de *Escherichia coli* em 100mL de amostra e número máximo aceitável para aeróbios mesófilos de 100UFC/mL.

Entre os países que melhor realizam o controle de qualidade da água para a indústria de alimentos, estão aqueles da Comunidade Econômica Européia (CEE). A “*Directive CEE 80/778*”, publicada no Diário Oficial da CEE, em 30 de agosto de 1980, harmoniza as diferentes recomendações dos países membros. Quanto ao padrão bacteriológico, os coliformes totais e fecais e os *Estreptococos* fecais devem estar ausentes em 100mL. *Clostridium* sulfito redutores devem também estar ausentes em 20mL de amostra (Cotta, 1997).

Durante todo o processamento de aves, a água desempenha um papel preponderante, pois auxilia na limpeza e remoção de microrganismos contaminantes das carcaças (Ritter, 2000). Vale lembrar que são gastos aproximadamente 30 litros de água por carcaça de ave processada, incluindo-se aí todas as seções do abatedouro (Brasil, 1999c).

Em grandes abatedouros, cerca de 7.000 a 8.000 carcaças são processadas/hora e a quantidade de água utilizada é muito grande, até mesmo quando é feito o seu reaproveitamento, por meio da filtração e posterior reutilização da água nos processos iniciais. De ordem, o uso de água limpa só ocorre mesmo na última fase do processo (*chiller*) e o seu reaproveitamento auxilia a disseminar contaminações (Parry & Pawsey, 1984).

A agitação da água e dos frangos nos tanques de resfriamento resulta numa remoção de microrganismos e outros sólidos, que são transferidos para a água. A população de microrganismos aeróbios na água do *chiller* gira em torno de até milhões de células/mL, dependendo da temperatura da água, número de bactérias na carcaça, relação entre o fluxo de água e de carcaça, tempo de processamento e outros fatores (Tsai et al., 1992; Ritter, 2000).

Para garantir a qualidade dos produtos que passam pelo *chiller*, desinfetantes químicos são utilizados na água, com a finalidade de controlar a população microbiana e melhorar a vida de prateleira dos produtos finais (Tsai et al., 1992; Thomson et al., 1976).

O cloro tem sido relatado como o bactericida de uso mais freqüente em água de *chiller* para reduzir a contaminação cruzada entre carcaças de frango, durante o resfriamento por imersão (Lillard & Thomson, 1983) e aumentar a vida de prateleira dos produtos (Schade et al., 1990; Ritter, 2000).

Thiessen et al. (1984) e Lillard (1980), ao utilizarem cloro e dióxido de cloro em água de *chiller*, observaram significativa redução microbiana na água, mas somente ligeira redução de contagens em carcaças.

Para prevenir o aumento da concentração de sólidos, bem como do número de microrganismos na água dos tanques, a legislação americana exige um fluxo mínimo constante de 1,89 litro de água por carcaça processada. Como anteriormente relatado, a legislação brasileira exige que o *pré-chiller* tenha um fluxo mínimo de 1,5 litro de água por carcaça e o *chiller* 1,0 litro de água por ave (Brasil, 1999c; Ritter, 2000).

Filtração e tratamentos químicos têm sido utilizados como maneira de controlar a população microbiana e permitir a reutilização da água do *chiller* (Ritter, 2000).

Parry & Pawsey (1984) descrevem que a filtração, a cloração, a ozonização e a utilização de raios ultravioleta podem ser aplicadas para a melhora da qualidade da água.

A reciclagem da água do *chiller* não somente evita o maior gasto, mas também reduz o volume de efluente produzido, a quantidade de gelo utilizada e a energia necessária (Chang et al., 1989).

## **2.5 Cloro: características e utilização**

O uso de derivados clorados, como o gás cloro, hipoclorito de sódio, hipoclorito de cálcio, cloraminas orgânicas e dióxido de cloro, tem contribuído, ao longo dos anos, para o controle de doenças de origem hídrica (Macedo,

2000).

O cloro foi descoberto em 1808 por Sir Humprey Davy e teve suas propriedades bactericidas demonstradas sob condições de laboratório por Koch, em 1881. O uso da substância como desinfetante foi aprovado pela *American Public Health Association* (APHA), em 1886. A partir do início do século XX, o cloro passou, então, a ser de uso contínuo para o tratamento da água em todo o mundo (Macedo, 2000).

As indústrias de alimentos também aderiram rapidamente ao uso dos compostos clorados para melhorar a qualidade da água que utilizavam e também para descontaminação de pisos, paredes e utensílios. Sua utilização foi recomendada pelo *United States Milk Ordinance and Code*, em 1939 (Macedo, 2000).

O cloro e os compostos clorados atuam sobre os microrganismos por meio do ácido hipocloroso (HClO), que libera oxigênio nascente, o qual combina com componentes do protoplasma da célula. Ainda, o próprio cloro (Cl) é capaz de combinar com proteínas da membrana celular, interferindo no metabolismo microbiano (Block, 1991).

Conforme relatam Prodlove (1996) e Torres et al. (1996), no Brasil, o agente desinfetante mais utilizado para o tratamento de água destinada, tanto para consumo direto como para a indústria de alimentos, é o cloro.

No processamento de aves, os compostos clorados são utilizados em diferentes etapas, aumentando a vida útil do produto (Hoffman, 1984; Prodlove; 1996; Martins et al., 1998; Lana, 2000). Geralmente, a cloração da água é feita com o cloro gasoso, hipoclorito de sódio ou dióxido de cloro. O hipoclorito de sódio é a solução mais amplamente utilizada, pois possui custo relativamente baixo, maior disponibilidade e aplicabilidade simplificada. Por outro lado, o dióxido de cloro não deixa odor na água tratada, não produz sabor alterado nos alimentos, possui maior estabilidade em soluções aquosas e reage com menor

intensidade com a matéria orgânica. Porém, o seu uso é restrito em função dos problemas de estocagem, manuseio e de exigir capacitação técnica (Block, 1991; Macedo, 2000; Ritter, 2000).

A Portaria nº152, de março de 1999, da Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, apresenta o regulamento técnico para produtos destinados à desinfecção da água para consumo humano, na qual hipoclorito de sódio e hipoclorito de cálcio são os compostos autorizados (Brasil, 1999a).

O cloro reage com microrganismos da água, mas também com muitos materiais orgânicos e inorgânicos presentes que, juntos, criam a demanda de cloro na água. Dessa forma, o residual de cloro livre na água vai depender da qualidade da água (Macedo, 2000).

Como anteriormente descrito, as ações oxidantes e sanificantes do cloro são controladas pelo ácido hipocloroso (HClO), que é um produto da hidrólise da substância clorada. Porém, o ácido hipocloroso é um ácido fraco, que pode dissociar em hidrogênio e íon hipoclorito. Portanto, os compostos clorados são mais efetivos em pH baixos, nos quais a presença de ácido hipocloroso é dominante. O dióxido de cloro (ClO<sub>2</sub>) é derivado clorado que não hidrolisa em solução aquosa, sendo sua ação sanificante associada somente à sua molécula (Macedo, 2000).

De acordo com Hoffman (1984), o cloro é efetivo contra várias espécies microbianas, contra esporos bacterianos e bacteriófagos, não é afetado pela água dura e é relativamente barato quando comparado a outros agentes químicos.

Entretanto, Block (1991) relata que vários tipos de microrganismos, tais como cepas de *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Aspergillus niger* e *Trichophyton* vêm apresentando diferentes graus de resistência ao cloro, o que pode comprometer a qualidade microbiológica e sanitária das carcaças tratadas com o produto.

Nas concentrações utilizadas para a desinfecção da água, o cloro apresenta também limitações na efetividade contra *Giardia*, Enterovirus e *Cryptosporidium*, e altera o gosto e produz compostos potencialmente mutagênicos (Restaino et al., 1995; Aeppli, 1997; Richardson et al., 1998; Gradus, 2000).

Somando-se ao exposto, deve-se destacar que a utilização do cloro requer alguns cuidados, pois essa substância é corrosiva, pode provocar irritações na pele dos manipuladores, é afetada pela matéria orgânica e sua atividade decresce com o armazenamento e com o aumento do pH (ICMSF, 1978). Entretanto, os riscos relacionados ao emprego dos compostos clorados estão associados muito mais aos seus subprodutos do que aos produtos disponíveis no mercado, pois a matéria orgânica presente na água e nos alimentos pode reagir com o cloro livre, levando à formação dos trihalometanos (Tominaga & Midio, 1999). Assim sendo, o grande problema do emprego do cloro é a formação de subprodutos potencialmente carcinogênicos, como os trihalometanos (triclorometano, bromodiclorometano, dibromoclorometano e tribromometano) (Block, 1991; Meyer, 1994; Macedo, 2000).

Haddon et al. (1996) citam que potentes mutagênicos foram identificados em experimentos com *poultry chiller*, nos quais a água era tratada com o cloro. Destacam ainda, que identificar bactérias mutantes na água do *chiller* é importante para se avaliar os riscos do processo de cloração e seus efeitos sobre processos variados, incluindo a reutilização da água do *chiller*.

Tsai et al. (1995) afirmam que, embora os impactos causados por compostos mutagênicos na saúde humana não estejam bem estudados, providenciar métodos alternativos para desinfetar a água do *chiller*, é altamente desejável.

### 2.5.1 Dicloroisocianurato de sódio

Os derivados clorados do ácido cianúrico (sais de sódio do ácido dicloroisocianúrico, sais de potássio do ácido dicloroisocianúrico e ácido tricloroisocianúrico) são compostos clorados de origem orgânica, utilizados no campo da sanificação, podendo ser empregados na indústria de alimentos (Block, 1991).

Estes compostos surgiram na década de 1970 e são também denominados “cloraminas orgânicas”, tendo o dicloroisocianurato de sódio e o ácido tricloro isocianúrico se destacado com o passar do tempo (Dychdala, 1977; 1991; Odlaug & Pflug, 1976; Leitão, 1976; Blatchley III, 1994; Blatchley III & Xie, 1995).

Os compostos clorados orgânicos, cujo uso tem-se expandido no Brasil, são produtos de reações do ácido hipocloroso com aminas, iminas, amidas e imidas (Dychdala, 1991). Dentre as cloraminas orgânicas destacam-se os derivados anteriormente citados, ou seja, os ácidos dicloroisocianúrico e tricloroisocianúrico e seus sais de sódio e potássio (Macedo & Barra, 2003).

O dicloroisocianurato de sódio (DCIS) tem-se apresentado como uma alternativa viável para a desinfecção de água e alimentos, pois é menos reativo com substâncias húmicas, resultando em baixos níveis de formação de triclorometanos (TCM) (Macedo, 2000).

Geralmente, os derivados clorados de origem orgânica são comercializados sob a forma de pó ou comprimidos efervescente e apresentam uma maior estabilidade no armazenamento do que os compostos clorados inorgânicos. Por exemplo, os derivados clorados de origem inorgânica possuem um prazo de validade que varia de 3 a 6 meses, chegando a, no máximo, 1 ano, enquanto os orgânicos chegam a alcançar um prazo de validade de 3 a 5 anos (Hidroall, 2000a; 2000b; Lever Industrial, 1991; 1995; Bayer, [199-?]b; HTH,



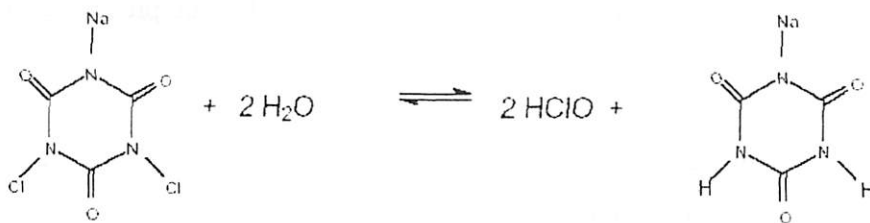
1999; Genco Química Industrial, 1998).

Atualmente, o DCIS pode ser encontrado no mercado em diversas concentrações, que são utilizadas em função do volume da solução sanitizante a ser preparada e do teor de cloro residual livre que se deseja, o que evita erros na dosagem do princípio ativo e na perda do produto pelo consumo em excesso (Macedo & Barra, 2003).


Estes compostos também são mais estáveis em solução aquosa, o que implica numa liberação mais lenta de ácido hipocloroso e, conseqüentemente, os mesmos permanecem efetivos por períodos de tempo maiores, ainda que na presença de matéria orgânica (Macedo & Barra, 2003).

O DCIS apresenta características físico-químicas superiores em relação a quaisquer outros produtos clorados, tais como hipoclorito de sódio, hipoclorito de cálcio e ácido tricloro isocianúrico. Este composto apresenta alta tecnologia para a desinfecção em geral, podendo ser empregado para a desinfecção de água para consumo humano, frutas, verduras, legumes, artigos e superfícies que entram em contato com alimentos (Bayer [199-]a; [199-?]b; Hidrosan, 2003).

O dicloroisocianurato de sódio é o sal de sódio do 1,3 – dicloro – 1,3,5 – triazina – 2,4,6 (1H, 3H, 5H) – triona, sendo representado empiricamente pela fórmula  $C_3Cl_2N_3NaO_3$ . Ao diluir-se em água, o ácido hipocloroso (composto ativo) e o cianurato de sódio (composto atóxico) são liberados, conforme se pode observar na equação abaixo.



(Dicloroisocianurato  
de sódio)



Considera-se geralmente que a ação letal sobre os microrganismos seja devida a cloração de proteínas celulares ou sistemas enzimáticos, pelo ácido hipocloroso não ionizado, causando hidrólise das cadeias peptídicas das membranas celulares microbianas (Bayer [199-?]b; Block, 1991; Macedo & Barra, 2003).

Testes foram feitos pelo Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), em Campinas, SP, para avaliar a capacidade do DCIS em reduzir contagens bacterianas em frutas artificialmente inoculadas com *Salmonella enteritidis* e *Escherichia coli*. Os resultados permitiram concluir que o produto deve ser utilizado na concentração 100 mg/L por litro, por 15 minutos, para a desinfecção de frutas. Além disso, nessas condições foram obtidas as respectivas reduções de 90% e 91,3%, para os microrganismos estudados (ITAL, 1997).

De acordo com Moraes et al. (1997) cerca de 0,8 a 1,0 ciclo  $\log_{10}$  de esporos bacterianos mesófilos e termófilos obtidos de pele de aves pode ser reduzido com o emprego do DCIS.

A Resolução nº150, de maio de 1999, da ANVISA autoriza a inclusão do ácido dicloroisocianúrico e seus sais de sódio e potássio, como princípio ativo para uso em formulações de produtos destinados a desinfecção de água para consumo humano (Brasil, 1999b).

O uso de derivados clorados de origem orgânica, principalmente o DCIS, tem-se expandido nos laticínios, em função da praticidade de manuseio, medição, transporte, armazenamento e da maior durabilidade do produto, além da reduzida ou nula formação de subprodutos da desinfecção (Macedo & Barra, 2003).

Conforme relatório técnico feito pelo ITAL a pedido da Bayer Saúde S.A., os estudos mostram que o DCIS não é considerado genotóxico, mutagênico e muito menos teratogênico. Devido ao conteúdo de cloro, a matéria-prima é irritante para a pele, olhos e mucosa nasal, se inalado em

quantidades suficientes. Pelo fato, de o material ser apresentado sob a forma de comprimidos efervescentes, a possibilidade de reações adversas severas é minimizada. A dose letal média ( $DL_{50}$ ) para o homem está estimada em 3,57g do produto por quilo de peso, sendo equivalente à ingestão de 214g do produto por um adulto de 60 kg (Bayer [199-?]b).

### **2.5.2 Trihalometanos**

Como anteriormente citado, no processo de desinfecção da água para abastecimento público ou para utilização na indústria de alimentos com produtos à base de cloro, há possibilidade de formação de subprodutos clorados, considerados cancerígenos, entre estes os trihalometanos (Macedo, 1997).

Os trihalometanos (THM) originam-se da reação entre o cloro e as substâncias orgânicas. Os principais compostos oriundos dessa reação e que apresentam concentrações mais significativas em água de abastecimento são: triclorometano (clorofórmio), bromodiclorometano, dibromoclorometano e tribromometano, sendo o clorofórmio o derivado clorado mais comumente detectado (Santos, 1987; Macedo, 1997).

Os ácidos húmicos e fúlvicos, resultantes da decomposição da matéria orgânica, são chamados de precursores dos THM. Quanto maior a concentração desses ácidos na água, maior será a probabilidade de formação de THM. A dosagem de cloro empregada no tratamento da água também influencia a formação de THM, sendo que o cloro livre tem maior capacidade de geração dessas substâncias que o cloro combinado (Meyer, 1994; Macedo, 1997; Macedo, 2001).

A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA) após detectar a presença dos quatro THM em amostras de água de várias estações de tratamento, propôs, em 1978, o limite máximo permissível de  $100\mu\text{g/L}$  para THM totais em águas de abastecimento (Meyer, 1994). Posteriormente, em

2000, a EPA diminuiu o limite acima, para o total para 80µg/L (Macedo, 2001).

Estudos epidemiológicos já realizados, a fim de se correlacionar a incidência de diversos tipos de câncer à presença de THM em água de abastecimento, sugerem que existe uma alta probabilidade de relação entre os cânceres de bexiga, estômago, intestino e cérebro com a ingestão desses compostos (Meyer, 1994; Tominaga & Midio, 1999).

Considerando este fato,, vários países estabeleceram limites para estas substâncias: no Canadá, o limite é de 350µg/L; na Alemanha é de 25µg/L; na Holanda é de 75µg/L e na França, 10µg/L (Meyer, 1994).

A Organização Mundial de Saúde recomenda um valor-guia de 30µg/L para o clorofórmio na água potável, para um consumo médio de 2 litros diários. Tal concentração deverá produzir menos de um caso de câncer a cada 100.000 habitantes, durante toda a vida. Estes dados foram obtidos aplicando-se um modelo estatístico em experimentos com ratos (Tominaga & Midio, 1999).

No Brasil, as Portarias nº36/90 e nº1469/01, ambas do Ministério da Saúde, trazem como limite para os THM, 100µg/L (Brasil, 1990; 2001a). Porém, Meyer (1994) e Macedo (2001) discorrem sobre o fato de que a maioria dos estados brasileiros não monitora essas substâncias, como preconiza a legislação.

Na composição dos trihalometanos podem-se encontrar espécies cloradas, bromadas e iodadas ou, ainda, uma combinação destas. Na água de abastecimento, normalmente as espécies mais encontradas são as cloradas e bromadas. Estes compostos já foram detectados em diversos alimentos e bebidas preparados a partir de água clorada (sorvetes, sucos e refrigerantes) (Tominaga & Midio, 1999).

Em estudos realizados na Inglaterra, analisando diversos tipos de alimentos, foram encontradas as seguintes concentrações de clorofórmio: 1,4 a 33µg/kg em produtos lácteos; 1 a 4µg/kg na carne; 2 a 10µg/kg em azeites e óleos; 0,4 a 18µg/L em bebidas e 2 a 18µg/kg em frutas e verduras (Tominaga &

Midio, 1999).

Os THM são rapidamente absorvidos pelo trato gastrointestinal, atingindo concentração sanguínea máxima de 1 a 1,5 hora após a ingestão. Os principais órgãos de biotransformação são o fígado e os rins (Tominaga & Midio, 1999).

A exposição aos trihalometanos por meio da água de abastecimento tratada por cloração pode levar ao aparecimento de efeitos tóxicos sistêmicos decorrentes da alta frequência e do tempo prolongado de exposição, mesmo em baixas concentrações ( $\mu\text{g/L}$ ), podendo ser verificada hepatotoxicidade e nefrotoxicidade. Todavia, a maior importância desses compostos reside nos seus possíveis efeitos mutagênicos, carcinogênicos e teratogênicos (Tominaga & Midio, 1999).

Gray (1994), citado por Macedo (2001), ressalta que a presença destes compostos na água de abastecimento tem importância também como indicadora da possível presença de outros compostos organoclorados (ácido acético clorado, haloacetosnitrilos, cloropicrin, clorofenóis, cloropropanonas), segundo o autor, mais perigosos que os próprios trihalometanos.

Macedo (1997) e Macedo et al. (2001) avaliaram a formação de trihalometanos a partir da aplicação de compostos clorados, em processos de pré e pós-cloração da água, em uma estação de tratamento. Foi observado que níveis consideráveis de THM foram detectados após a aplicação do hipoclorito de sódio; na etapa de pré-cloração, a média foi de  $117,52\mu\text{g/L}$  e na pós-cloração, de  $56,67\mu\text{g/L}$ . Quando utilizou-se o dicloroisocianurato de sódio (DCIS) foram detectados apenas traços de trihalometanos. Análises realizadas em amostras coletadas em um determinado ponto da rede de abastecimento (panificadora) evidenciaram que, após o percurso através de tubulações, as concentrações de trihalometanos tendem a aumentar, em função do maior tempo de contato do sanitizante com as substâncias húmicas presentes no interior dos encanamentos.

Como alternativas para a desinfecção da água, que geram níveis baixos

de trihalometanos, são sugeridos a utilização de cloraminas, dióxido de cloro, ozônio e radiação ultravioleta (Meyer, 1994; Tominaga & Midio, 1999).

Na Europa e nos Estados Unidos, o ozônio está sendo muito utilizado como opção aos compostos clorados. Entretanto, a presença de íons bromo, mesmo em pequenas quantidades, pode influenciar fortemente a formação de THM (Siddiqui & Amy, 1993).

Recentemente, observou-se que a ozonização pode levar à formação de compostos orgânicos bromados, por oxidação de íons bromo para HOBr e OBr<sup>-</sup> em presença de precursores de trihalometanos (Siddiqui & Amy, 1993).

O bromofórmio é somente uma parte dos subprodutos bromados, os quais incluem ácidos acéticos bromados, bromoacetonas, bromoacetronitrilas, bem como outros ainda mal-definidos (Siddiqui & Amy, 1993).

Desta forma, é importante assinalar que a ozonização da água não implica diretamente na formação de trihalometanos. Porém, quando a mesma contém íons bromo, estes podem influenciar intensamente na massa total de THM. Entretanto, os dados ainda são escassos, pois a maioria dos estudos que tem investigado o ozônio como um desinfetante alternativo para o cloro, tem sido feita em água que não apresenta íons bromo. Conseqüentemente, muito pouco é conhecido em relação à reação do ozônio em água contendo traços deste elemento (Siddiqui & Amy, 1993; Gunten & Hoigne, 1992).

Os mesmos autores ressaltam também que a adição de amônia resulta em menor formação de subprodutos orgânicos bromados.

## **2.6 Ozônio: características, regulamentação e utilização.**

Na década de 1970, após a identificação de resíduos de trihalometanos em água de abastecimento, os Estados Unidos começaram a interessar-se por métodos alternativos para a desinfecção de água e alimentos, por exemplo, pelo

emprego do ozônio (O<sub>3</sub>) (Rice et al., 1981; Meyer, 1994; Macedo, 2000).

Considerando as necessidades de reforçar o controle de patógenos emergentes e de reduzir os níveis de trihalometanos na água potável, Kim et al. (1999) propõem a utilização do ozônio como uma alternativa sanificante em relação aos compostos clorados.

Devido aos avanços tecnológicos dos últimos anos, o mercado vem oferecendo equipamentos industriais de produção de ozônio que permitem à ozonização competir vantajosamente com a cloração e outros métodos de desinfecção tradicionalmente utilizados na área de alimentos (Torres et al., 1996).

O ozônio (O<sub>3</sub>), forma triatômica e instável do oxigênio, formada pela excitação do oxigênio molecular a oxigênio atômico em um ambiente energizado, que permite a recombinação com outras moléculas de oxigênio, é um gás instável, solúvel em água, de odor característico (frescor) e um potente oxidante (Rice, 1986).

Esta substância foi descoberta e nomeada por Shönbein, em 1840. Posteriormente, em 1891, verificou-se que o ozônio era capaz de destruir bactérias presentes na água. O primeiro experimento para o tratamento de água foi realizado em Leyde, na Holanda, em 1893, para tratar as águas do rio Reno. Desde 1906, o ozônio é utilizado para o tratamento da água potável na Europa. Muitos trabalhos realizados na França, Suíça e Canadá, no decorrer da década de 1980, comprovaram a eficiência do ozônio na produção de água potável de alta qualidade microbiológica (Torres et al., 1996; Rice et al., 1997).

O ozônio tem alta capacidade desinfetante e sanificante, amplo espectro de ação, atuando sobre bactérias, vírus, fungos filamentosos e leveduras, e sobre formas esporuladas. A concentração e o tempo de ação são menores que os exigidos pelo cloro. Ainda, o ozônio tem a capacidade de oxidar alguns poluentes orgânicos e inorgânicos (Padrón et al., 1986; Torres et al., 1996).

---

... método alternativo para sanificação de galões de água. Trinta recipientes de 20 litros foram sanificados com ozônio (4 mg/L/2min.). Esses autores observaram reduções de 99,95%, 100% e 100%, respectivamente, para as contagens de bactérias heterotróficas, coliformes totais e *E. coli*.

Nebel et al. (1984) relatam que o ozônio, em baixas concentrações, controla eficientemente enterovirose em água. Esses vírus podem ser completamente removidos com 30 segundos de contato com um residual de 0,5 mg/L.

Smith et al. (1995) analisaram a concentração e o tempo requeridos pelo ozônio para eliminar 2 ciclos log<sub>10</sub> de cistos de *Giardia* a pH 7,0, os quais foram de 0,53 mg/min/L a 5°C e de 0,17 mg/min/L a 25°C.

Aeppli (1997) relata e compara a eficiência do hipoclorito, dióxido de cloro, peróxido de hidrogênio, iodo e ozônio para desinfecção de suspensões de *Cryptosporidium parvum*. Este autor constatou que só o ozônio é capaz de inativar mais que 90% dos oocistos, em concentrações que são possíveis de praticar-se no tratamento de água.

O ozônio não altera as características organolépticas da água. Sua ação sobre os microrganismos é muito eficaz, além de não deixar resíduos tóxicos ou

O mecanismo de ação desta substância está relacionado com a rápida oxidação de compostos insaturados, aminoácidos e proteínas contendo o grupo SH. No âmbito da célula microbiana, o ozônio oxida grupos sulfidríla e amino, coagula proteínas e inativa as enzimas catalase, peroxidase e desidrogenase. O ponto de ataque primário parece ser a membrana, possivelmente por meio da lise de duplas ligações dos lipídios insaturados (Gurley, 1985; Kim et al., 1999).

A eficiência do ozônio depende da temperatura, pH, teor de umidade, presença de matéria orgânica e do tipo de microorganismo presente (Graham, 1997; Kim et al., 1999).

O decréscimo da temperatura em meio aquoso resulta no aumento da solubilidade do ozônio e sua estabilidade aumenta com a diminuição do pH (Kim et al., 1999).

Além de o ozônio contribuir na oxidação da matéria orgânica e inorgânica, também auxilia na floculação e na remoção da turbidez ou de sólidos suspensos na água. Ainda, elimina sabor e odor desagradáveis (Rice et al., 1981; Padrón et al., 1986).

A água ozonizada com uma concentração de 0,15 a 0,20 mg/L pode destruir efetivamente microorganismos deteriorantes (*Pseudomonas aeruginosa* e *Zigosaccharomyces bailli*), contaminantes fecais (*Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis*) e patógenos causadores de infecções alimentares (*Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhimurium*, *Yersinia enterocolitica* e *Staphylococcus aureus*) (Restaino et al., 1995).

Korol (1995) relata que a utilização de 0,35 mg/L de ozônio em amostras de água, que foram inoculadas com populações  $1 \times 10^6$  células/mL de *E. coli*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhi*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*, produziu a redução de pelo menos 5 ciclos log na população bacteriana; já para o *Bacillus subtilis*, a redução obtida com a concentração de 0,35 a 0,70

Assim, o emprego do ozônio torna-se particularmente atrativo, podendo ser aplicado na forma de gás ou dissolvido em água. Esta substância dissipa-se rapidamente e seu residual é muito baixo ou nulo (Richardson et al., 1998). Tais propriedades permitem a ingestão de alimentos ozonizados sem oferecer qualquer risco à saúde. O tratamento com ozônio é capaz de remover até 78% dos microorganismos aeróbios mesófilos dos alimentos, 91% dos coliformes, 91% dos coliformes fecais e 81% de *Salmonella*. É considerado um processo que, certamente, terá grande utilidade no futuro, porém, necessita de mais pesquisas, segundo investigações realizadas por Torres et al. (1996).

Na Europa, o ozônio vem sendo utilizado há várias décadas na indústria de alimentos. Ele é empregado na maturação da sidra e do vinho, na sanificação de carnes e no armazenamento de alimentos, retardando o crescimento de microorganismos deteriorantes (Torres et al., 1996; Rice et al., 1997).

O Código Federal dos EUA, de 18 de outubro de 1982, relata que o *Food and Drugs Administration* (FDA) reconhecia a utilização do ozônio como agente desinfetante com específicas limitações para águas engarrafadas e linhas de engarrafamento *Generally Recognized As Safe* (GRAS Status). A dosagem recomendada foi de 0,4 mg/L com 4 minutos de contato. Ainda, o FDA impunha a restrição de que todas as outras aplicações do ozônio estariam sujeitas a *Food Additive Petition* (FAP) apropriada (Rice & Graham, 2001).

emprego do ozônio ( $O_3$ ) (Rice et al., 1981; Meyer, 1994; Macedo, 2000).

Considerando as necessidades de reforçar o controle de patógenos emergentes e de reduzir os níveis de trihalometanos na água potável, Kim et al. (1999) propõem a utilização do ozônio como uma alternativa sanificante em relação aos compostos clorados.

Devido aos avanços tecnológicos dos últimos anos, o mercado vem oferecendo equipamentos industriais de produção de ozônio que permitem à ozonização competir vantajosamente com a cloração e outros métodos de desinfecção tradicionalmente utilizados na área de alimentos (Torres et al., 1996).

O ozônio ( $O_3$ ), forma triatômica e instável do oxigênio, formada pela excitação do oxigênio molecular a oxigênio atômico em um ambiente energizado, que permite a recombinação com outras moléculas de oxigênio, é um gás instável, solúvel em água, de odor característico (frescor) e um potente oxidante (Rice, 1986).

Esta substância foi descoberta e nomeada por Shönbein, em 1840. Posteriormente, em 1891, verificou-se que o ozônio era capaz de destruir bactérias presentes na água. O primeiro experimento para o tratamento de água foi realizado em Leyde, na Holanda, em 1893, para tratar as águas do rio Reno. Desde 1906, o ozônio é utilizado para o tratamento da água potável na Europa. Muitos trabalhos realizados na França, Suíça e Canadá, no decorrer da década de 1980, comprovaram a eficiência do ozônio na produção de água potável de alta qualidade microbiológica (Torres et al., 1996; Rice et al., 1997).

O ozônio tem alta capacidade desinfetante e sanificante, amplo espectro de ação, atuando sobre bactérias, vírus, fungos filamentosos e leveduras, e sobre formas esporuladas. A concentração e o tempo de ação são menores que os exigidos pelo cloro. Ainda, o ozônio tem a capacidade de oxidar alguns poluentes orgânicos e inorgânicos (Padrón et al., 1986; Torres et al., 1996).

O mecanismo de ação desta substância está relacionado com a rápida oxidação de compostos insaturados, aminoácidos e proteínas contendo o grupo SH. No âmbito da célula microbiana, o ozônio oxida grupos sulfidríla e amino, coagula proteínas e inativa as enzimas catalase, peroxidase e desidrogenase. O ponto de ataque primário parece ser a membrana, possivelmente por meio da lise de duplas ligações dos lipídios insaturados (Gurley, 1985; Kim et al., 1999).

A eficiência do ozônio depende da temperatura, pH, teor de umidade, presença de matéria orgânica e do tipo de microrganismo presente (Graham, 1997; Kim et al., 1999).

O decréscimo da temperatura em meio aquoso resulta no aumento da solubilidade do ozônio e sua estabilidade aumenta com a diminuição do pH (Kim et al., 1999).

Além de o ozônio contribuir na oxidação da matéria orgânica e inorgânica, também auxilia na floculação e na remoção da turbidez ou de sólidos suspensos na água. Ainda, elimina sabor e odor desagradáveis (Rice et al., 1981; Padrón et al., 1986).

A água ozonizada com uma concentração de 0,15 a 0,20 mg/L pode destruir efetivamente microrganismos deteriorantes (*Pseudomonas aeruginosa* e *Zigosaccharomyces bailli*), contaminantes fecais (*Escherichia coli* e *Enterococcus fecalis*) e patógenos causadores de infecções alimentares (*Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Salmonella tiphymurium*, *Yersinia enterocolitica* e *Staphylococcus aureus*) (Restaino et al., 1995).

Korol (1995) relata que a utilização de 0,35 mg/L de ozônio em amostras de água, que foram inoculadas com populações  $1 \times 10^6$  células/mL de *E. coli*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhi*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*, produziu a redução de pelo menos 5 ciclos log na população bacteriana; já para o *Bacillus subtilis*, a redução obtida com a concentração de 0,35 a 0,70

mg/L, foi de 3 ciclos log.

Cardoso et al. (2003) avaliaram o emprego da água ozonizada como método alternativo para sanificação de galões de água. Trinta recipientes de 20 litros foram sanificados com ozônio (4 mg/L/2min.). Esses autores observaram reduções de 99,95%, 100% e 100%, respectivamente, para as contagens de bactérias heterotróficas, coliformes totais e *E. coli*.

Nebel et al. (1984) relatam que o ozônio, em baixas concentrações, controla eficientemente enterovirose em água. Esses vírus podem ser completamente removidos com 30 segundos de contato com um residual de 0,5 mg/L.

Smith et al. (1995) analisaram a concentração e o tempo requeridos pelo ozônio para eliminar 2 ciclos log<sub>10</sub> de cistos de *Giardia* a pH 7,0, os quais foram de 0,53 mg/min/L a 5°C e de 0,17 mg/min/L a 25°C.

Aeppli (1997) relata e compara a eficiência do hipoclorito, dióxido de cloro, peróxido de hidrogênio, iodo e ozônio para desinfecção de suspensões de *Cryptosporidium parvum*. Este autor constatou que só o ozônio é capaz de inativar mais que 90% dos oocistos, em concentrações que são possíveis de praticar-se no tratamento de água.

O ozônio não altera as características organolépticas da água. Sua ação sobre os microrganismos é muito eficaz, além de não deixar resíduos tóxicos ou carcinogênicos nos alimentos, se concentrações adequadas forem utilizadas (Torres et al., 1996).

Comprovadamente, a utilização do ozônio na desinfecção da água tem, além do efeito bactericida, poder de inativação viral, oxidação do ferro e do manganês, remoção da cor por oxidação, remoção do gosto, de odor, de algas, de pesticidas, detergentes e fenóis, aumentando o fator biodegradável e a dissolução de compostos orgânicos, bem como a ativação do carbono para a extração da amônia e dos solutos orgânicos (De Renzo, 1981).

Assim, o emprego do ozônio torna-se particularmente atrativo, podendo ser aplicado na forma de gás ou dissolvido em água. Esta substância dissipa-se rapidamente e seu residual é muito baixo ou nulo (Richardson et al., 1998). Tais propriedades permitem a ingestão de alimentos ozonizados sem oferecer qualquer risco à saúde. O tratamento com ozônio é capaz de remover até 78% dos microrganismos aeróbios mesófilos dos alimentos, 91% dos coliformes, 91% dos coliformes fecais e 81% de *Salmonella*. É considerado um processo que, certamente, terá grande utilidade no futuro, porém, necessita de mais pesquisas, segundo investigações realizadas por Torres et al.(1996).

Na Europa, o ozônio vem sendo utilizado há várias décadas na indústria de alimentos. Ele é empregado na maturação da sidra e do vinho, na sanificação de carnes e no armazenamento de alimentos, retardando o crescimento de microrganismos deteriorantes (Torres et al., 1996; Rice et al., 1997).

O Código Federal dos EUA, de 18 de outubro de 1982, relata que o *Food and Drugs Administration* (FDA) reconhecia a utilização do ozônio como agente desinfetante com específicas limitações para águas engarrafadas e linhas de engarrafamento *Generally Recognized As Safe (GRAS Status)*. A dosagem recomendada foi de 0,4 mg/L com 4 minutos de contato. Ainda, o FDA impunha a restrição de que todas as outras aplicações do ozônio estariam sujeitas a *Food Additive Petition* (FAP) apropriada (Rice & Graham, 2001).

Nos anos seguintes, várias petições foram submetidas ao FDA para aprovação do uso do ozônio em alimentos específicos, particularmente em frangos. Entretanto, cada uma dessas petições foi retirada por uma razão ou outra (Rice & Graham, 2001).

No Japão, desde 1995, o ozônio está incluído na lista de aditivos para alimentos. No mesmo ano, a França aprovou o emprego do ozônio aquoso para o branqueamento de peixes. A Austrália, em 1996, incluiu o ozônio como apropriado para auxiliar no processamento de alimentos (Graham, 1997).

Na tentativa de quebrar o fechado regulamento do FDA com respeito à ampliação do uso do ozônio para o tratamento de alimentos, em 1996, o *Electric Power Research Institute* (EPRI) patrocinou o estabelecimento de um painel com a participação de cientistas e peritos para estudar a história e os aspectos sanitários da utilização do ozônio no processamento de alimentos.

Na literatura revisada foram encontrados trabalhos que sustentavam a aplicação do ozônio na estocagem de carnes, queijos, ovos, peixes e frutas, tais como bananas, pêras e uvas; utilização em aquíicultura; uso para lavagem de vegetais folhosos e dados sobre a aplicação em água de *chiller* para frangos (Rice et al., 1997).

Sobre a toxicologia, o painel observou que o ozônio tem sido amplamente estudado *in vitro* e *in vivo*, e que o mesmo não é mutagênico, nem carcinogênico. Estudos realizados com animais expostos a longo tempo de inalação do ozônio não mostraram resultados carcinogênicos. Também não foram detectados produtos carcinogênicos após o tratamento de 18 diferentes aminoácidos e 10 açúcares (Rice et al., 1997).

Os subprodutos da reação do ozônio com ácidos graxos insaturados são primariamente aldeídos, cetonas e peróxido de hidrogênio (Rice et al., 1997).

Richardson et al. (1998) encontraram, em trabalho experimental, que os subprodutos formados, quando a água é tratada com ozônio, são basicamente, aldeídos, cetonas, ácido carboxílico e, raramente, benzenoacetonitrila.

Em maio de 1997, baseando-se em todas as informações críticas, o Painel de Peritos do EPRI concluiu que a avaliação das informações presentes na literatura respaldava a segurança do ozônio, quando utilizado como um desinfetante ou sanificante. Concluiu, ainda, que a mesma avaliação também permitia uma classificação *GRAS* do ozônio como desinfetante ou sanificante para alimentos, quando utilizado em níveis e por métodos de aplicação consistentes com as boas práticas de fabricação (Rice et al., 1997).

Os cientistas redigiram, então, a declaração de *GRAS Status* para o uso do ozônio no processamento de alimentos. Esse passo foi considerado o marco do 2º milênio em ozôniotecnologia, auxiliando na expansão do seu emprego na indústria alimentícia nos EUA, assim como em outros países (Rice et al., 1997).

Porém, no mesmo ano, o FDA publicou uma nota informando que o *Status GRAS* emitido pelo painel não implicava em regulamentação formal de aprovação.

Rice et al. (1997) relatam que o tratamento e a possível reciclagem da água utilizada para a lavagem de carcaças de frangos foram aprovados pelo *United States Department Agriculture (USDA)*, desde que o ozônio não entrasse em contato direto com o alimento.

Posteriormente, em 1999, o FDA sugeriu ao EPRI que fizesse uma FAP que fornecesse dados específicos mostrando as propriedades do ozônio e suas possíveis aplicações na indústria de alimentos. Dessa forma, poderia ser regulamentado seu *Status GRAS* para outros usos e a inclusão do ozônio na lista de aditivos para alimentos (Rice & Graham, 2001).

O EPRI entrou com tal FAP em agosto de 2000, considerando o interesse de várias indústrias em utilizar o ozônio no processamento de alimentos (Rice & Graham, 2001).

Finalmente, o FDA aprovou a FAP/EPRI e a publicou em junho de 2001, regulamentando o uso seguro do ozônio no tratamento e estocagem de alimentos, incluindo carne e frango. Também regulamentou o uso em silos (FDA, 2001).

A FAP submetida ao FDA era acompanhada de uma tabela, a qual sintetizava dados de dosagem e tempo de exposição obtidos em estudos específicos. Esses dados estão norteando o uso atual do ozônio, ou seja, o nível de dosagem para o intervalo de exposição, no qual se obtenha o efeito desejado (Rice & Graham, 2001).

Para aplicação em carcaças e água de *chiller*, a tabela reporta os trabalhos de Sheldon & Brown (1986), *Arkansas Agriculture Experimental Station-AAES*, (1997), Sheldon & Chang (1987), Caracciolo (1990) e do *Electric Power Research Institute-EPRI* (1999).

Várias pesquisas já foram realizadas utilizando o ozônio para a sanificação de alimentos. Porém, a literatura ainda é muito escassa, principalmente quando se trata de experimentos realizados em países menos desenvolvidos, como o Brasil.

O ozônio tem numerosos potenciais de aplicações na indústria de alimentos. Sua alta reatividade e decomposição espontânea em produtos não tóxicos fazem desta substância uma alternativa viável para a segurança microbiológica de produtos alimentícios (Kim et al., 1999).

Quando utilizado no âmbito industrial, o ozônio é normalmente gerado no ponto de aplicação e em sistema fechado. Ele é produzido em baixas concentrações por meio da utilização do oxigênio do ar atmosférico sob radiação de 185 nm, emitida por lâmpadas de UV de alta transmissão. Para obterem-se altas concentrações de ozônio, o método utilizado é o descarga corona, no qual uma corrente alternada de alta voltagem é aplicada sobre as moléculas de oxigênio (Kim et al., 1999).

Para trabalhadores em sistemas de ozonização, recomenda-se um limite semanal de exposição de  $0,1 \text{ mg/m}^3/40\text{h}$ , pois, acima deste surgem os efeitos tóxicos para o trato respiratório e para a mucosa ocular. Exposições em níveis superiores a  $1 \text{ mg/m}^3$  podem levar ao edema de pulmão e a  $50 \text{ mg/m}^3/30\text{min}$ , o ozônio pode ser fatal (Torres et al., 1996; Rice & Graham, 2001).

Whistler & Sheldon (1989) avaliaram a atividade biocida do ozônio em relação ao formaldeído contra os patógenos encontrados no ar de incubadoras de frangos. A substância foi estudada como uma alternativa desinfetante para as incubadoras, uma vez que a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos

considera o formaldeído uma substância tóxica, possivelmente carcinogênica. *Escherichia coli*, algumas espécies de *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas* e *Aspergillus fumigatus* são os principais causadores de morbidade e mortalidade de pintos em incubadoras. Neste estudo, o ozônio reduziu contagens microbianas, mas não tão eficazmente como o formaldeído. Porém, os testes foram eficientes para indicá-lo como uma alternativa possível.

Sheldon & Brown (1986) recomendam a utilização de 3,0 a 4,5 mg/L de ozônio em água de *chiller* por 45 minutos, como suficiente para reduzir em 37% a contagem de psicrotróficos, em 78% a contagem de aeróbios mesófilos, em 91% dos coliformes e em 81% das células de *Salmonella*. Ainda descrevem que coloração, sabor e odor anormais não foram detectados nas carcaças após o tratamento, concluindo que, nas condições testadas, o ozônio não apresentou efeitos adversos sobre os atributos sensoriais. Quanto à redução microbiana na água do *chiller*, observaram a inativação de cerca de 7 ciclos log de aeróbios mesófilos e de 3 ciclos para coliformes.

Sheldon & Brown (1986) concordam com Barnes & Impey (1968), relatando que a redução na carcaça é dificultada porque os microrganismos ficam fortemente aderidos à pele da ave, alguns no interior do folículo piloso, o que geralmente os protege da ação do desinfetante.

Sheldon & Chang (1987) trabalharam com 3,0 a 4,5 mg/L de ozônio em água de *chiller* por 15 minutos, concentração e tempo suficientes para reduzir 99,5% dos aeróbios mesófilos, 99,52% de coliformes, 99,5% de *Escherichia coli* e 99,9% de *Salmonella*.

Chang & Sheldon (1989) descrevem que a utilização da água de lavagem com o emprego do ozônio em solução de 2,1 mg/L, sob a forma de pulverização das carcaças, é capaz de reduzir em 99% a contagem microbiana, sem que haja perda de coloração da carne, alterações no sabor, odor ou promova a oxidação lipídica.

Torres et al. (1996) fizeram análises para avaliar a eficiência do ozônio sobre os aspectos microbiológicos em cortes de frango, bem como sua influência na oxidação lipídica. Porém, esses autores concluíram que os dados encontrados mostraram-se inconsistentes, necessitando, portanto, de estudos com diferentes concentrações de ozônio e amostras mais homogêneas.

Caracciolo (1990) tratou a água do *chiller* com 0,35 mg/L de ozônio por 30 minutos e detectou redução na contaminação cruzada por *Salmonella*. O EPRI (1999) propõe o uso de 6,0 mg/L por 30 minutos em água de *chiller*, para a desinfecção das carcaças. AAES (1997) encontrou reduções maiores de 90% na contagem de aeróbios mesófilos, coliformes e *E. coli*, quando 3,0 a 7,0 mg/L de ozônio foram adicionados ao *chiller* por 15 a 30 minutos.

O relatório apresentado pelo ICGFI (1999) aponta a redução na contagem *Salmonella* quando carcaças de frango foram tratadas com água ozonizada na concentração de 3,0 a 4,5 mg/L. Enquanto carcaças controle apresentaram  $\log_{10}$  1,36UFC/g, nas tratadas a contagem ficou em  $\log_{10}$  0,64UFC/g.

## 2.7 Ultra-som

As ondas de ultra-som inativam microrganismos pela introdução de ciclos alternados de compressão e expansão em um meio líquido. O efeito bactericida destas ondas de alta intensidade ocorre durante a fase de expansão do ultra-som, quando pequenas bolhas crescem até explodir (Forsythe, 2002).

As vibrações ultra-sônicas são semelhantes às ondas sonoras, porém, com uma frequência muito mais alta. Estas vibrações causam altas de pressão e temperatura localizadas, resultando na destruição de estruturas celulares (ICGFI, 1999). A máquina de ultra-som converte a energia elétrica, por meio de um transdutor, em vibrações mecânicas. Esta conversão é obtida por inversão do

efeito piezoelétrico (Campani, 1986).

Datta (2002) descreve que a destruição de microrganismos pelo ultra-som é devido à combinação de seus efeitos: cavitação e suas forças (formação e difusão de bolhas que causam mudanças físicas na célula microbiana), calor localizado e formação de radicais livres na água ( $\text{OH}^-$ ,  $\text{H}^+$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ), que possuem efeitos bactericidas e, ainda que, a força mecânica do ultra-som decresce com a viscosidade do meio.

Radiação ultravioleta, peróxido de hidrogênio, ozônio, fotocatalise e ultra-som são alguns exemplos de processos avançados de oxidação, ou seja, que geram grandes quantidades do radical  $\text{OH}^-$ . A hidroxila é um poderoso oxidante que apresenta potencial de oxidação de 2,80V, sendo este maior que de outros agentes, tais como ozônio (2,07V) e cloro (1,39V) (Schwikkard et al., 2002).

O ultra-som é uma tecnologia emergente na área de alimentos, porém, apresenta grandes perspectivas de aplicações atuais e futuras na indústria de gêneros alimentícios. Para eliminar ou reduzir microrganismos em alimentos, as ondas ultra-sônicas podem ser utilizadas isoladamente ou combinadas a outros métodos. O *Food and Drug Administration* (FDA), analisando vários trabalhos publicados, propõe o uso do ultra-som combinado a outros processos (Datta, 2002; FDA, 2000).

De acordo com Datta (2002), o ultra-som tem aplicação na indústria alimentícia em alta (1 a 10MHz) e baixa frequência (20 a 100KHz). Nesta última, é recomendado para os testes não destrutivos.

A revisão da literatura mostra que patógenos entéricos Gram-negativos têm sido facilmente alvejados com o ultra-som, quando aplicado em alimentos perecíveis de origem animal, tais como frango e leite (Lillard, 1994).

Lee et al. (1989) obtiveram redução de 4 ciclos log, quando uma população de *Salmonella*, suspensa em água peptonada, foi tratada pelo ultra-som por 10 minutos. Entretanto, no leite achocolatado, o tratamento ultra-sônico

por 30 minutos baixou o número de *Salmonella* em apenas 0,8 ciclo log.

O ultra-som pode ser combinado com o calor (*thermoultrasonication*), sendo que as bactérias tornam-se mais sensíveis ao tratamento térmico após sofrerem o tratamento pelo ultra-som (Datta, 2002).

*Listeria monocytogenes* em leite são destruídas a 60°C em 2,1 minutos; com a utilização da *pré-sonicação* a 38KHz, o microrganismo pode ser eliminado em 0,3 minuto, quando exposto à temperatura de 60°C (Datta, 2002).

O ultra-som pode ser combinado também com calor e pressão (*manothermosonication* ou MTS). Esta combinação é utilizada para destruir microrganismos esporulados, tais como os esporos do *Bacillus stearothermophilus* (Datta, 2002).

Outra combinação do ultra-som pode ser realizada com os tratamentos químicos, implicando no incremento da efetividade de ambos. Ainda, a combinação do ultra-som e tratamentos químicos pode reduzir o uso de agentes sanitizantes e também reduzir os níveis de resíduos nos alimentos e no ambiente (Datta, 2002).

São escassas as informações existentes na literatura sobre a aplicação de ondas ultra-sônicas em alimentos sólidos, como, por exemplo, em frangos (Lillard, 1993; 1994).

Considerando que as práticas atuais de produção de carne de frango, não resultam em carcaças livres de *Salmonella* ou *Campylobacter*, Lillard (1993; 1994) relata a realização de ensaios utilizando cloro e ultra-som em tanques de *chiller*, com objetivo de eliminar bactérias que ficam incrustadas na pele das aves. O ultra-som foi aplicado na frequência de 20KHz, combinado a um residual de cloro de 0,5 mg/L, por 30 minutos. Os resultados mostraram que, quando cloro e ultra-som são aplicados simultaneamente no tanque de *chiller*, apresentam efeito sinérgico, reduzindo assim as contagens bacterianas. Parece que as ondas ultra-sônicas deslocam as células dos microrganismos aderidas à

pele do frango, tornando-as, então, mais acessíveis ao efeito bactericida do cloro (Lillard, 1994)

Estudos realizados por Wrigley & Llorca (1992) e Lillard (1993; 1994) demonstraram que as células de *Salmonella* aderidas à pele de frango podem ser reduzidas de 1,0 a 1,5 ciclos  $\log_{10}$  por *sonicação* em água peptonada (20KHz por 30min); em menos de 1,0 ciclo  $\log_{10}$ , quando se utiliza somente solução clorada e de 2,5 a 3,9 ciclos  $\log_{10}$ , quando se aplica a tecnologia do ultra-som combinada à descontaminação por solução clorada, contendo 0,5 mg/L de cloro residual.

O ICGFI (1999) aponta o uso das ondas ultra-sônicas como principalmente apropriadas para aplicação em tanques de escaldagem para prevenir a disseminação de microrganismos entre as carcaças. Porém, ressalta que algumas qualidades sensoriais do produto podem ser alteradas por este tratamento.

Burleson et al. (1975) utilizaram a combinação do ozônio e ultra-som para inativar microrganismos importantes em saúde pública: *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* 0126:B16 enteropatogênica, *Shigella flexneri*, *Pseudomonas fluorescens* e *Vibrio cholerae* (569B Inaba). Os padrões de inativação foram os mesmos para todos os microrganismos. Bactérias, suspensas em solução salina fosfatada, e tamponada, tornaram-se completamente inativas após 15 segundos de exposição ao tratamento com ozônio ou simultâneo, com ozônio e sonicação. Posteriormente, aplicaram o processo em um efluente secundário contendo  $8,0 \times 10^1$  coliforme fecal/mL. Bactérias suspensas neste requereram um tempo maior de contato com o tratamento: 10 minutos. A sonicação reduziu ou alterou a oxidabilidade do material orgânico medida pela demanda biológica de oxigênio e por determinações químicas de demanda de oxigênio e, assim, reduziu a demanda de ozônio no efluente secundário. Ainda, a ozonização deste também não produziu reconhecidos compostos tóxicos para a vida aquática. Esses autores concluíram que a aplicação simultânea do ozônio e

ultra-som é, então, um processo de tratamento efetivo com ação bactericida para efluentes.

Engelmann (1995) relata que o ultra-som realmente pode ser combinado a outras tecnologias, aplicadas no tratamento da água, com o propósito de eliminar compostos orgânicos clorados biorrefratários. Experimentos realizados no Laboratório de Monitoração Ambiental do EPA, em Las Vegas, apontam que esta tecnologia pode ser eficiente para a eliminação do triclorometano, tricloroetileno e tetraclorocarbono.

Ying-Shih & Jih-Gaw (1998) constataram que o pré-tratamento da água com o ultra-som remove a matéria orgânica, o que resulta em menos formação de ácidos húmicos clorados. Completam, observando que o aumento da biodegradabilidade é proporcional ao tempo de aplicação da técnica.

O *Food and Drugs Administration*, por meio do *Center for Food Safety and Applied Nutrition* (FDA/CFSAN), elaborou um plano de três anos para investigar novas tecnologias para melhorar a segurança de produtos agrícolas e produtos processados. Várias estratégias de intervenção estão sendo exploradas para a redução ou eliminação de patógenos em alimentos. Dentre essas, a utilização do ultra-som (FDA, 2000).

O FDA acredita no potencial da tecnologia do ultra-som para os processos de preservação de alimentos, porém, considera que são necessárias novas pesquisas para determinar uma metodologia eficiente para a sua utilização prática na indústria de gêneros alimentícios. Acrescenta que um importante objeto de pesquisa é a avaliação do efeito das ondas ultra-sônicas nos atributos sensoriais do alimento (FDA, 2000).

## **2.8 Propriedades sensoriais**

As propriedades sensoriais estão relacionadas com a qualidade do

produto, pois são aspectos que serão observados no momento da compra ou durante a degustação. Sendo assim, a satisfação sensorial é um determinante importante no consumo de alimentos (Anzaldúa-Morales, 1994; Modesta, 1994; Cotta, 1997).

Entre as qualidades sensoriais da carne de frango estão, principalmente, o aspecto, a maciez, a suculência e o paladar. Para se avaliar essas características podem-se utilizar métodos instrumentais (medidas físico-químicas) e métodos sensoriais (juri de degustadores) (Cotta, 1997).

Um teste de degustação é concebido como um estudo planejado, no qual os consumidores são convidados a avaliar um determinado produto. Para que a descrição sensorial seja rigorosa e concreta, o teste deve constar de um questionário simples, que conduza à obtenção de respostas precisas. O número de juizes utilizado por diferentes autores varia de 04 a 30 (Cotta, 1997).

Por meio da avaliação sensorial, podem-se observar os efeitos dos tratamentos dispensados no processamento de alimentos, sobre textura do tecido animal e em relação às propriedades sensoriais.

A maciez da carne está relacionada com as sensações que se manifestam principalmente na boca, englobando o tato, a tensão e a textura. A maciez é também chamada de textura e determina freqüentemente a recusa ou a aceitação da carne pelo consumidor (Rodrigues, 1994; Cotta, 1997).

Touraille et al. (1981), citados por Rodrigues (1994), observaram que quanto maior a maturidade sexual da ave, mais dura é a sua carne. A maciez parece depender também do tamanho das fibras musculares, pois Mac Neil & Mast (1981) *apud* Cotta (1997) descrevem que o tecido muscular da coxa é mais macio do que aquele do peitoral, cujas fibras apresentam maior diâmetro.

Para alguns grupos de consumidores, uma carne muito macia não é agradável, sendo uma certa dureza considerada um critério de boa qualidade. Provavelmente, o ótimo em termos de preferência esteja ligado ao paladar mais

intenso da carne (Cotta, 1986; Rodrigues, 1994).

O paladar da carne é uma característica que diz respeito ao odor (aroma) e ao gosto (sabor). O aroma pode ser definido como a sensação olfativa percebida pela via retro-nasal no ato de se degustar um alimento. O sabor distingue a noção de ácido, amargo, salgado e doce. O paladar pode, então, ser conceituado como a mistura destas sensações, percebidas ao se degustar, no caso, a carne de frango. Estas impressões devem provocar uma satisfação bucal (Rodrigues, 1994).

Segundo Cotta (1979), o sabor da carne de frango de corte não apresentou diferenças significativas quando os efeitos de quatro métodos de conservação foram comparados entre si, ou seja, resfriamento, presença de CO<sub>2</sub>, conservação com gelo e congelamento.

A suculência da carne está também relacionada com a produção de suco durante a mastigação (Rodrigues, 1994).

As razões que levam um consumidor a preferir um tipo de frango a um outro podem estar ligadas, de um lado, à percepção de paladar; por outro lado, esta escolha pode recair sobre a textura, englobando a maciez e a suculência. Isto quer dizer que certas pessoas preferem uma ave jovem e macia, enquanto outras preferem o paladar mais forte das aves mais velhas (Cotta, 1997).

Segundo Cotta & Campos (1991), citados por Rodrigues (1994), a preferência por um determinado tipo de ave parece originar-se da impressão geral dos consumidores a respeito da sua carne. Em grande parte, os diferentes componentes que definem a preferência devem levar em consideração o conjunto sabor, maciez e suculência.

Os autores acima citados relatam que diferentes métodos de conservação (em gelo, resfriamento, congelamento e presença de CO<sub>2</sub>) não afetaram a suculência da carne de frango.

Por outro lado, os métodos de descontaminação das carcaças utilizados

no processamento podem interferir nas propriedades sensoriais, dependendo de modificações físicas e químicas que possam ocorrer, assim como as de paladar (ICGFI, 1999).

Miller (1968) *apud* Baran et al. (1973) afirma que o excesso de cloro (hipoclorito) na água do *chiller* resultará na produção de odores indesejáveis na carcaça de frango. De acordo com Ranken (1973), citado por Mead (1974), concentrações de 5-20 mg/L de hipoclorito podem ser utilizadas em *chiller*, sem que ocorram efeitos adversos no sabor, odor ou na aparência das carcaças.

Sheldon & Brown (1986) utilizaram 3,0 a 4,5 mg/L de ozônio em água de *chiller* por 45 minutos e relataram que coloração, sabor e odor anormais não foram detectados nas carcaças após o tratamento, concluindo que, nas condições testadas, o ozônio não alterou os atributos sensoriais. Chang & Sheldon (1989) descrevem a utilização de 2,1 mg/L de ozônio em água de lavagem de carcaças de frango sob a forma de pulverização, sem que houvesse perda de coloração da carne, alterações no sabor, odor ou promovesse a oxidação lipídica.

Doyle (1999) relata que a aplicação do ultra-som para a descontaminação de carnes provoca efeitos mínimos sobre as propriedades sensoriais da mesma.

Conforme Miya (1972), o método empregado para o cozimento também apresenta efeitos marcantes na palatibilidade da carne.

### 3 Referências bibliográficas

ADAMS, M. R.; MOSS, M. O. **Microbiologia de los alimentos**. Tradução de Manuel Ramis Vergés Zaragoza, Espanha: Acribia, 1997. 478p. Título original: Food Microbiology.

AEPPLI, J. Review of protozoa elimination with ozone. In: WORLD CONGRESS, 13., 1997, Kyoto, Japan. **Proceedings...** Kyoto, Japan, 1997. v.2.

ALMEIDA, P. F.; SILVA, E. N.; ALMEIDA, R. C. C. Contaminação e disseminação bacterianas de carcaças de frango em abatedouros. **Higiene Alimentar**, v. 7, n. 2, p. 12-17, 1993.

ANZALDÚA-MORALES, A. **La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la plática**. Zaragoza: Acribia, 1994.

ARKANSAS AGRICULTURE EXPERIMENTAL STATION. **Executive summary for conagra**. Murray Hill, NJ: BOC Gases, 1997.

AVICULTURA industrial. Frango de corte. **Produção cresce 12% ao ano**. Disponível em: <<http://www.aviculturaindustrial.com.br>>. Acesso em: 31 jan. 2003a.

AVICULTURA industrial. **A história da avicultura brasileira**. Disponível em: <<http://www.aviculturaindustrial.com.br>>. Acesso em: 27 maio 2003b.

AYRES, J. C.; OGILVY, W. S.; STEWART, G. F. Post mortem changes in stored meats. I. Microorganisms associated with development so slime on eviscerated cut-up poultry. **Food Technology**, v. 4, n. 5, p. 199-205, 1950.

BARAN, W. L.; DAWSON, L. E.; LECHOWICH, R. V. Influence of chlorine dioxide water treatment on numbers of bacteria associated with processed turkey. **Poultry Science**, v.52, p.1053-1058, 1973

BARNES, E. M.; IMPEY, C. Psychrophilic spoilage bacteria of poultry. **Journal Applied Bacteriology**, v.31, n.97, p.97-107, 1968.

BAYER SA. **Saúde animal e saúde ambiental - catálogo de produtos; linha saúde ambiental**. São Paulo: Aquatabs, [199-]a.

BAYER SAÚDE SA. **Aquatabs: relatório técnico**. Campinas, [199-?]b.

BLATCHLEY III, E. R., Disinfection and antimicrobial processes. **Water Environment Research**, v.66, n.4, p.361-368, 1994.

BLATCHLEY III, E. R., XIE, Y. Disinfection and antimicrobial processes. **Water Environment Research**, v.67, n.4, p.475-481, 1995

BLISKA, F. M. M. Tendências do mercado da carne de aves. In: SEMINÁRIO E WORKSHOP “INDUSTRIALIZAÇÃO DA CARNE DE AVES”, 1997, Campinas. **Anais ...** Campinas: Centro de Tecnologia de Carnes do Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1997. p.1-10.

BLOCK, S. S. **Disinfection, sterilization, and preservation**. 4<sup>th</sup>ed. Philadelphia, PA: Lea & Febiger, 1991. 1162p.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal**. Brasília, 1952.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria MS n.36. Normas e padrão de potabilidade da água destinada ao consumo humano. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 19 de jan. de 1990.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Métodos de análise microbiológica para alimentos**. 2.ed.rev. Brasília, 1991/1992. 136p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria n.152. Regulamento técnico para produtos destinados a desinfecção de água para consumo humano e de produtos algicidas e fungicidas para piscinas. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 1999a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n.150. Autoriza a inclusão do ácido dicloroisocianúrico e seus sais de sódio e potássio. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 1999b.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria n.210. Inspeção tecnológica e higiênico-sanitária de carnes de aves. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, n.43, 05 mar.1999c. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. Portaria MS n.1469. Norma de qualidade da água para consumo humano. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 02 jan. de 2001a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC n.12. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Brasília: ANVISA, 2001b.

BRESSAN, M. C.; PEREZ, J. R. O. **Tecnologia de carnes e pescados**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 240p.

BURLESON, G. G; MURRAY, M.T; POLLARD, M. Inactivation of viruses and bacteria by ozone, with and without sonication. **Applied Microbiology**, v. 29, p.340-344,1975.

CAMPANI, A. B. Uso do ultra-som na fisioterapia. **Associação Brasileira de Fisioterapia**, v. 3, n. 2, p.27-61,1986.

CARACCILO, L. **Ozone treatment of turkey scap meat**. Data submitted to U.S. FDA in support of Food Additive Petition #0A4207, subsequently withdrawn without prejudice, 1990.

CARDOSO, C. C. et al. Avaliação microbiológica de um processo de sanificação de galões de água com a utilização do ozônio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, n.1, p.59-61, 2003.

CARVALHO, E. P. **Microbiologia de alimentos** Lavras: UFLA/FAEPE, 1999. 76p.

CASTILLO, C. J. C. Pontos críticos no processo de abates de frangos. In: SEMINÁRIO E WORKSHOP “INDUSTRIALIZAÇÃO DA CARNE DE AVES”, 1997, Campinas. **Anais ...** Campinas: Centro de Tecnologia de Carnes do Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1997. p.11-19.

CASTILLO, C. J. C. et al. **Higiene e sanitização na indústria de carnes e derivados**. São Paulo: Varela, 2002. 181p.

CHANG, Y. H.; SHELDON, B. W. Application of ozone with physical wastewater treatments to recondition poultry process waters. **Poultry Science**, v. 68, p. 1078-1087, 1989.

CHANG, Y. H; TOLEDO, R. T.; LILLARD, H. S. Clarification and decontamination of poultry chiller water for recycling. **Poultry Science**, v. 68, p.1100-1108,1989.

COTTA, J. T. B. **Estudo comparativo entre alguns métodos de conservação de carcaças de frangos**. 1979. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)- Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

COTTA, J. T. B. **Qualité des carcasses de poulets: aspects zootechniques, technologiques et sensoriels**. 1986. Tese. Université des Sciences et Techniques du Languedoc, França.

COTTA, T. **Produção de carne de frango**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1997. 197p.

DATTA, N. **Food 4002 Emerging food technologies and biotechnology lectures notes; Ultrasonication**. Disponível em: <<http://library.uq.edu.au/bio/lectures/food4002-2002/ultrasonication.doc>>. Acesso em: 16 out. 2002

DE RENZO, D. J. **Pollution control technology for industrial wastewater**. Parke Ridge, New Jersey: Noyes Data, 1981. 712p.

DOYLE, M. E. **Use of high pressure to control *Listeria* in meat**. October, 1999. p. 1-3. Disponível em: <<http://www.amif.org/Listeria%20ultrasound.Pdf>>. Acesso em: 06 maio 2003.

DYCHDALA, G. R. Chlorine and chlorine compounds. In: BLOCK, S. S. (Ed.). **Disinfection, sterilization and preservation**. 2.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1977. p. 167-195.

DYCHDALA, G. R. - Chlorine and chlorine compounds. In: BLOCK, S. S. (Ed.). **Disinfection, sterilization and preservation**, 4.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p.131-151.

ENGELMANN, W. H. Ultrasound examined for in situ monitoring. **From Ground Water Currents**, n.11, Apr. 1995. Disponível em: <<http://www.clu-in.org/products/newsletters/gwc/gwcultra.htm>>. Acesso em: 16 out. 2002.

ELECTRIC POWER RESEARCH INSTITUTE. **Membrane filtration and ozonation of poultry chiller overflow water: study of membrane treatment to reduce water use and ozonation for sanitation at a poultry processing plant in California**. California: EPRI, 1999. (Technical Report TR-114435).

FAVIER, JEAN-CLAUDE; IRELAND-RIPERT, J.; TOQUE. C.; FEINBERG, M. **Repertório geral dos alimentos**. São Paulo: Roca, 1999.

FIGUEIREDO, R. M. **SSOP: padrões e procedimentos operacionais de sanitização**. São Paulo: R. M. Figueiredo, 1999. 164p. (Coleção Higiene dos Alimentos, 1)

FIGUEIREDO, A. V. A. O programa brasileiro de análises de risco de *Salmonella* sp em carcaças de frango congeladas. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE SEGURANÇA MICROBIOLÓGICA DOS ALIMENTOS, 2002, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Universidade de São Paulo, 2002. p.2.

FIGUEIREDO, R. M. **As armadilhas de uma cozinha**. São Paulo: Manole, 2003. 228p. (Coleção Higiene dos Alimentos, 3).

FLICKIGER, E.; WAES, G.; WINTERE, H. Contamination of milk by bacteria and their multiplication init during transport and at the processing dairy. **Bulletin of the IDF**, v. 120, p. 25-29, 1980. Abstract.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Center for Food Safety and Applied Nutrition. **Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies - ultrasound**. 02 June 2000. Disponível em:

<<http://vm.cfsan.fda.gov>>. Acesso em: 16 out. 2002.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Department of Health and Human Services. **Docket N. 00F-1482**. Secondary direct food additives permitted in food for human consumption PART 173. Sec.173.368. Ozone. June 2001.

Disponível em: <<http://www.fda.gov/OHRMS/DOCKETS>>. Acesso em: 16 jul. 2002.

FORSYTHE, J. S. **Microbiologia da segurança alimentar**. Tradução de Maria Carolina Minardi Guimarães e Cristina Leonhardt. Porto Alegre: Artmed, 2002. 424p.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 1996. 182p.

GENCO QUÍMICA INDUSTRIAL LTDA **Fichas de dados de segurança de materiais**: Hipoclorito de cálcio. São Paulo, 1998. 7p.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. A vigilância sanitária de alimentos como fator de promoção da saúde. **O Mundo da Saúde**, São Paulo, v.24, p.59-66, jan./fev. 2000.

GOETZ, H.; TERRA, N. N. Aumento da vida útil de carcaças de frango resfriadas. **Higiene Alimentar**, v. 12, n. 54, p. 51-57, 1998.

GRADUS, M. S. *Cryptosporidium* and public health: from watershed to water glass. **Clinical Microbiology Newsletter**, v. 22, n. 4, p.25-31, Feb. 2000.

GRAHAM, D.M. Use of ozone for food processing. **Food Technology**, v. 51, n. 06, p. 72-75, 1997.

GUNTEN, U.V.; HOIGNE, J. Factors controlling the formation of bromate during ozonation of bromide-containing waters. **Journal Aqua**, v.41, n. 5, p. 299-304, 1992.

GURLEY, B. Ozone: pharmaceutical sterililant of the future? **Journal of Parenteral Science and Technology**, v.39, n.6, p. 256-261, 1985.

HADDON, W. F. et al. Potent bacterial mutagens produced by chlorination of simulated poultry chiller water. **Journal Agricultural Food Chem.**, v. 44, p. 256-263, 1996.

HIDROALL LTDA. **HCL60** – Ácido tricloro isocianúrico. Campinas, 2000a. 19p.

HIDROALL LTDA. **HCL90 E HCL56** – Dicloroisocianurato de sódio. Campinas, 2000b. 19p.

HIDROSAN LTDA. **Hidrosan plus, Hidrosan efervescente**. Disponível em: <[www.banhosmae.com.br/quimicos.html](http://www.banhosmae.com.br/quimicos.html)>. Acesso em: 27 de fev. 2003.

HOFFMAN, F. L. **Identificação de microrganismos isolados de água, gelo e carcaças em diferentes fases de processamento**. 1984. 44p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)-Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

HTH. **Fichas de dados de segurança de materiais** – Hipoclorito de cálcio. Salto: Arch Química Brasil, 1999. 3p.

INTERNATIONAL CONSULTATIVE GROUP ON FOOD IRRADIATION. **Safety of poultry meat: From Farm to Table**. Vienna: ICGFI/BARC, 1999. 36p.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Microorganisms in food: their significance and methods of enumeration**. 2.ed. Toronto: University of Toronto, 1978. v.1

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Microbial ecology of foods**. New York: Academic, 1980. v.2.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Microorganisms in foods**. Application of the hazard analysis critical control point (HACCP) system to ensure microbiological safety and quality. Oxford U.K, 1988. v.4.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **APPCC na qualidade e segurança microbiológica de alimentos**. Tradução de Anna Terzi Giova. São Paulo: Varela, 1997. 377p.

INTERNATIONAL FOOD INFORMATION SERVICE. Iain Swadling. **Food safety**. Disponível em <<http://www.ifis.org/index.html>>. Acesso em: 16 out. 2002.

INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. **Teste de eficiência de Aquatabs na desinfecção de verduras e frutas**. Campinas: ITAL – Laboratório de Microbiologia/ BAYER SAÚDE SA. 1997.

KIM, JIN-GAB; YOUSEF, A. E.; DAVE, S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. **Journal of Food Protection**, v. 62, n. 9, p. 1071-1087, 1999.

KOROL, S. Desinfección de agua: acción comparativa del ozono y cloro sobre un amplio espectro bacteriano. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 27, p. 175-183, 1995

LANA, G. R. Q. **Avicultura**. São Paulo: Livraria e Editora Rural, 2000. 268p

LEE, B. H.; KERMASHA, S.; BAKER, B. E. Thermal, ultrasonic and ultraviolet inactivation of *Salmonella* in thin films of aqueous media and chocolate. **Food Microbiology**, v. 6, p. 143-152, 1989.

LEITÃO, M. F. F. **Controle de sanificação na indústria de alimentos**. Campinas: ITAL, 1976. 71p. (Instruções Técnicas, 11).

LEVER INDUSTRIAL. **Hipoclor** – Ficha sobre segurança do produto. São Paulo: Lever Industrial, 1991. 4p.


LEVER INDUSTRIAL. **Sumaveg** – Hazard classification. London: Unilever U.K. Central Resources, 1995. 4p.

LILLARD, H. S. Effect on broiler carcasses and water of treatment chilling water with chlorine on chlorine dioxide. **Poultry Science**, v. 59, p. 1761-1766, 1980.

LILLARD, H. S. Bactericidal effect of chlorine on attached *Salmonella* with and without sonication. **Journal Food Protection**, v.56, p. 716-717, 1993.

LILLARD, H. S. Decontamination of poultry skin by sonication. **Food Technology**, v. 48, n. 12, p.72-73, 1994.

LILLARD, H. S.; THOMSON, J. E. Efficacy of hydrogen peroxide as a bactericide in poultry chiller water. **Journal of Food Science**, v. 48, p.125-126, 1983.



MACEDO, J. A. B. **Determinação de Trihalometanos em águas de abastecimento público e de indústria de alimentos**. 1997. 90p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

MACEDO, J. A. B. **Águas & águas**. Juiz de Fora: Ortofarma, 2000. 505p.

MACEDO, J. A. B. **Subprodutos do processo de desinfecção de água pelos derivados clorados: disinfection byproducts – DBP**. Juiz de Fora: J. Macedo, 2001. 67p.


MACEDO, J. A. B. et al. Cloraminas orgânicas, uma solução para evitar a formação de trihalometanos no processo de desinfecção de águas para abastecimento público. **Higiene Alimentar**, v. 15, n. 90/91, p. 93-103, 2001.

MACEDO, J. A. B.; BARRA, M. M. **Derivados clorados de origem orgânica uma solução para o processo de desinfecção de laticínios e para a desinfecção de água potável**. Disponível em <<http://www.aguaseaguas.ufjf.br>>. Acesso em: 28 fev. 2003.

MADEIRA, M.; FERRÃO, M. E. M. **Alimentos conforme a lei**. São Paulo: Manole, 2002. 443p.

MARTINS, R. T. et al. Caracterização da microbiota psicotrófica deteriorativa em carcaças de frango sob efeito de soluções sanificadoras, na linha de produção de abatedouros industriais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 50, n. 3, p. 337-340, 1998.

MEAD, G. C. Bacteriological control in the processing of poultry. **Veterinary Recod**, v. 95, p.569-572, 1974.

  
MEYER, S. T. O uso de cloro na desinfecção de águas, a formação de trihalometanos e os riscos potenciais à saúde pública. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 1, p. 99-110, 1994.

MIYA, E. E Textura: sua definição, medida e relação a outros atributos de qualidade. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v. 32, p. 71-83, 1972.

MODESTA, R. G. D. **Manual de análise sensorial de alimentos e bebidas**. Rio de Janeiro, 1994.

MÖLLER, A. L. Problemas causados por contaminantes vivos na área de alimentos. **Controle de contaminação**, v.3, n. 9, p. 21-13, 1999.

MORAES, M. S. V. et al. Isolation of aerobic mesophilic and thermophilic spores from poultry slaughter equipment and their resistance against chemical disinfectants. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 17, n. 3, p.325-329, 1997.

NEBEL, C.; NEBEL, T.; PRICE, J. M. Ozone, the process water sterilant. **Pharmaceutical Industry**, v. 1, n. 2, p. 16, Apr. 1984.

ODLAUG, T. E.; PFLUG., I. J. Sporicidal properties of chlorine compounds: applicability to cooling water for canned foods. **Journal Milk Food Technology**, v.39, n.7, p.493-498, 1976.

PADRÓN, G. et al. Utilización del ozono como agente desinfectante de aguas contaminadas con Salmonellas. **Revista Cubana Hig. Epidemiology**, v. 24, n. 4, p. 435-438, oct./dic. 1986

PARDI, M. C. et al. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. 2.ed. Goiânia: UFG, 2001. 1v. 623p.

- PARRY, T. J.; PAWSEY, R. K. **Principles of microbiology for students of food technology**. 2.ed. Great Britain: Stanley Thornes, 1984. 214p.
- PELCZAR Jr., M. J. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. 2.ed. Tradução de Sueli F. Yamada et al. São Paulo: Makron Books, 1997. 2v.
- PRODLOVE, R. K. **Os alimentos em debate: uma visão equilibrada**. Tradução de Anna Terzi Giova. São Paulo: Livraria Varela, 1996.
- PRODUÇÃO brasileira cresce 3,6% em 2000 segundo USDA. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, n. 288, p.22, fev. 2001.
- PRODUTO agrícola salva a indústria. **Estado de Minas**, Belo Horizonte, 07 fev. 2002. Caderno Economia, p.9.
- RESTAINO, L. et al. Efficacy of ozonated water against various food-related microorganisms. **Applied and Environmental Microbiology**, v.61, n.9, p. 3471-3475, 1995.
- RICE, R.G. Application of ozone in water and wastewater treatment. In: RICE, R. G. (Ed.). **Analytical aspects of ozone: treatment of water and wastewater**. Chelsea, MI: Lewis, 1986. p. 7-26.
- RICE, R. G. et al. Uses of ozone in drinking water treatment. **Journal American Water Works Association**, n.73, p.44-56, Jan. 1981.
- RICE, R. G. et al. Ozone preservation of foods and foodstuffs. In: OZONE WORLD CONGRESS, 13., 1997, Kyoto, Japan. **Proceeding...** Kyoto, Japan: International Ozone Association, 1997. p.785-790.

RICE, R. G.; GRAHAM, D. M. U. S. FDA regulatory approval of ozone as an antimicrobial agent – what is allowed and what needs to be understood. In: OZONE WORLD CONGRESS, 15., 2001, London. **Proceedings...** London: International Ozone Association, 2001. 13p.

RICHARDSON, S. D. et al. Chemical by-products of chlorine and alternative disinfectants. **Foodtechnology**, v. 52, n. 4, p. 58-61. Apr. 1998.

RITTER, R. **Contaminação bacteriana da água do sistema de pré-resfriamento de frangos e sua influência na vida de prateleira de frangos resfriados e refrigerados**. 2000. 88p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)-Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

RODRIGUES, K. F. **Avaliação do rendimento, da composição química e qualidades sensoriais de carcaças comerciais de frangos**. 1994. 70p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)-Universidade federal de Lavras, Lavras.

RUSSEL, S. M. A rapid microbiological method for enumeration of *Pseudomonas fluorescens* from broiler chicken carcasses. **Journal of Food Protection**, v. 60, n. 4, p. 385-390, 1997.

SANTOS, C. L. Trihalometanos: resumo atual. **Engenharia Sanitária**, v. 26, p. 190-194, 1987.

SANTOS, D. M. S. **Pesquisa de *Salmonella* em carcaças de frango congeladas utilizando diferentes meios de cultivo para o isolamento e avaliação de sensibilidade a agentes antimicrobianos**. 1998. 59p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)-Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

SAWAYA, W. N. et al. Die vermarktung ausgeweideter broilerkarkassen unter gekühlten bedingungen. **Fleischwirtschaft**, v. 77, p. 365-371, 1997.

SCHADE, J. E. et al. Extraction of mutagens from chlorinated chiller water. **Journal of Food Science**, v. 55, n.3, p.535-639, 1990.

SCHORR, H. Avicultura de corte: qual o modelo empresarial do futuro? In: SIMPÓSIO "PERSPECTIVAS PARA A INDÚSTRIA AVÍCOLA BRASILEIRA, 1999, Campinas. **Anais...** Campinas: Centro de Tecnologia de Carnes do Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1999. p.1-22.

SCHWIKKARD, G. W.; WINSHIP, S. J.; BUCKLEY, C. A. **Design of a sonochemical reactor**. Extended Abstract. Disponível em: <[www.und.ac.za/und/prg/posters/gavab2html](http://www.und.ac.za/und/prg/posters/gavab2html)>. Acesso em: 16, out. 2002.

SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS. **Manual sobre conservação de alimentos**. São Paulo, 1999. 143p.

SHELDON, B. W.; BROWN, A. L. Efficacy of ozone as a disinfectant for poultry carcasses and chill water. **Journal of Food Science**, v. 51, n. 2, p. 305-309, 1986.

SHELDON, B. W.; CHANG, Y. H. The Application of ozone and other physical processes for treating spent poultry chiller water. **Proceedings Food Processing Waste Conf.**, Atlanta, p.1-2, Sept. 1987.

SIDDIQUI, M. S.; AMY, G. L. Factors affecting DBP formation during ozone-bromide reactions. **Journal American Water Works Association**, v. 85, n. 01, p.63-72, 1993.

SIQUEIRA, R. S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília: EMBRAPA-SPI/Rio de Janeiro: EMBRAPA.-CNPTAA, 1995. 159p.

SMITH, H. V.; ROBERTSON, L. J.; ONGERTH, J. E. Cryptosporidiosis and giardiasis; o impacto of waterborne transmission. **Journal Water SRT-Aqua**, n. 44, p. 258-274, 1995.

TALAMINI, D. Organização garante mais um bom ano. **Suínos e Aves**, Concórdia, v.9, n.29, p.4,dez. 2001.

TALAMINI, D. Exportações garantem mais um bom ano. **Suínos e Aves**, Concórdia, v.10, n.31, p.4, dez. 2002.

TERRA, N. N. **Apontamentos de tecnologia de carnes**. São Leopoldo: UNISINOS, 1998. 216p.

THIESSEN, G. P.; USBORNE, W. R.; ORR, H. L. The efficacy of chlorine dioxide in controlling salmonella contamination and its effect on product quality of chicken broiler carcasses. **Poultry Science**, v. 63, n. 647, p.647-653, 1984

THOMSON, J. E.; COX, N. A.; BAILEY, J. S. Chlorine, acid and heat treatments to eliminate Salmonella on broiler carcasses. **Poultry Science**, v. 55, p. 1513-1517, 1976.

TOMINAGA, M. Y.; MIDIO, A. F. Exposição humana a trihalometanos presentes em água tratada. **Revista de Saúde Pública**, v. 33, n. 4, p. 413-421, 1999.

TORRES, E. A. F. S. et al. Estudo das propriedades desinfetantes do ozônio em alimentos. **Higiene Alimentar**, v. 10, n. 42, p. 18-23, 1996.

TOULE, G.; MURPHY, O. A study of bacterial contaminating refrigerated cooked chicken; their spoilage potential and possible origin. **Journal of Hygiene**, v. 81, n. 8, p. 1301-1302, July/Aug. 1978.

TSAI, L.; HIGBY, R.; SCHADE, J. Disinfection of poultry chiller water with chlorine dioxide: consumption and byproduct formation. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, v. 43, p. 2768-2773, 1995.

TSAI, L.; SCHADE, J. E.; MOLYNEUX, B. T. Chlorination of poultry chiller water: chlorine demand and disinfection efficiency. **Poultry Science**, v. 71, p. 188-196, 1992.

WHISTLER, P. E.; SHELDON, B. W. Biocidal activity of ozone versus formaldehyde against poultry pathogens inoculated in prototype setter. **Poultry Science**, v. 68, p. 1068-1073, 1989.

WRIGLE, D. M.; LLORCA, N. Decrease of *Salmonella typhimurium* in skim milk and egg by heat and ultrasonic wave treatment. **Journal Food Protection**. v. 55, p. 678-680, 1992.

XAVIER, C. V. A.; BERAQUET, N. J. Vida de prateleira da carne de frango refrigerada – Alternativas tecnológicas I. Atmosfera modificada. **Boletim da Sociedade de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 41-47, 1993.

YING-SHIH, M.; JIH-GAW, L. Effect of pre-sonication on removal of organic matters resulting from chlorinated humic acids. **Water Science and Technology**, v.38, n. 6, p. 253-260,1998.

## **CAPÍTULO 2**

### **Estudo *in vitro* da eficácia da água ozonizada frente a alguns microorganismos associados à carne de frango**

## 1 Resumo

VEIGA, Sandra Maria Oliveira Morais. Estudo *in vitro* da eficácia da água ozonizada frente a alguns microrganismos associados à carne de frango. In: \_\_\_\_\_. **Sanificação de carcaças de frango: processos alternativos**. 2003. Cap. 2, p. 73-98, 291p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

Inúmeros microrganismos já foram detectados em carcaças de frango, muitos considerados patogênicos, colocando em risco a saúde do consumidor e outros, deteriorantes, influenciando na qualidade do produto e no seu período de conservação. Dentre os patogênicos, encontram-se *Salmonella* sp, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium* sp, *Staphylococcus aureus* e linhagens toxigênicas de *Escherichia coli*. No grupo dos deteriorantes, a *Pseudomonas* sp é o principal representante. Entretanto, *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Shewanella putrefaciens*, *Lactobacillus*, *Brochotrix thermosphacta* e alguns tipos de fungos, tais como *Trichosporum*, *Torulopsis*, *Candida*, *Rhodotorula*, *Penicilium*, *Alternaria* e *Aspergillus*, também estão associados à deterioração da carne de aves. A sanificação de carcaças é incluída, como operação de rotina, no processo de abate de aves, no sentido de eliminar, ou pelo menos reduzir a incidência desses contaminantes. O cloro é o produto mais utilizado. Entretanto, presentemente tem-se o conhecimento de que os compostos clorados podem levar à formação de subprodutos indesejáveis na água e nos alimentos e, ainda, que algumas cepas microbianas vêm apresentando resistência aos mesmos. Dessa forma, torna-se altamente desejável a pesquisa por métodos sanificantes alternativos, mais eficazes e menos tóxicos, para a descontaminação de carcaças de frango. O ozônio tem conquistado espaço como uma alternativa para o processamento de alimentos, pois esta substância apresenta alta capacidade desinfetante e sanificante, atua sobre um grande número de microrganismos, não deixa resíduos tóxicos na água e nos alimentos. Além disso, a concentração necessária e o tempo de ação são menores que os exigidos pelo cloro. O objetivo deste trabalho foi realizar o estudo *in vitro* da eficácia da água ozonizada frente a alguns microrganismos associados à carne de frango. As cepas escolhidas foram *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* ATCC 6583, *Pseudomonas aeruginosa*

---

\* Comitê Orientador: Dr. João Evangelista Fiorini - UNIFENAS (Orientador),  
Dr<sup>a</sup>. Eliana Pinheiro de Carvalho - UFLA (Co-orientadora)

ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Candida albicans* ATCC 10231. Recuperaram-se os microrganismos 24h antes do experimento e, posteriormente, preparou-se, para cada cepa, duas suspensões, considerando como padrão comparativo o tubo número 01 da escala de McFarland. Em seguida, 01mL de cada suspensão foi adicionado a um reator de cristal contendo 99mL de água destilada com uma saturação de 0,6 mg/L de ozônio. Foram colhidas alíquotas do ensaio, nos tempos 05, 15, 30 e 60 segundos. Estas foram inoculadas *in natura* e após diluições seriadas, em meios apropriados. Foram realizados também os inóculos controles das suspensões microbianas preparadas. Com apenas 05 a 15 segundos de exposição, obteve-se a inativação de 100% dos microrganismos estudados. Nas condições testadas, a água ozonizada mostrou-se altamente eficaz. Os resultados obtidos neste experimento permitem propor a utilização do ozônio como um sanificante potencial para água a ser utilizada em *chiller* ou em indústrias processadoras de aves.

## 2 Abstract

VEIGA, Sandra Maria Oliveira Morais. Study *in vitro* about the ozone water facing some microorganisms in association with chicken meat. In: \_\_\_\_\_ . **Chicken carcasses sanitization: alternative procedures.** 2003. Cap. 2, p. 73-98, 291p. Thesis (Doctorate in Food Science)-Universidade Federal de Lavras, Lavras. \*

There have already been detected countless microorganisms on chicken carcasses, many of which are considered pathogenic, hazarding consumer's health and some others, considered spoilage, exerting influence on the quality of the product and its conservation period. Among the pathogenic, there are *Salmonella sp*, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium sp*, *Staphylococcus aureus*, and toxicant traces of *Escherichia coli*. The spoilage group is represented by the *Pseudomonas sp*. Nevertheless, *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Shewanella putrefaciens*, *Lactobacillus*, *Brochotrix thermosphacta*, and some kinds of fungi, such as *Trichosporum*, *Torulopsis*, *Candida*, *Rhodotorula*, *Penicillium*, *Alternaria*, and *Aspergillus*, are also linked to the decomposing of poultry meat. Carcasses sanitization is include as a routine operation, in the killing process of poultry, in the sense of eliminating or at least reduce the incidence of such microbial contaminating. The most used product is chlorine. Meanwhile, there is, presently, the knowledge that chlorine compounds may lead to undesired by-products in the water and food and also that certain microbial forms have been building resistance to them. This way, it becomes highly desirable to research on more effective and less toxic alternative sanitizing methods, for decontaminating chicken carcasses. Ozone has been gaining space as an alternative to food processing because this substance presents high disinfecting and sanitizing capacity, acts on a great number of microorganisms, doesn't leave toxic traces in water and food. Besides, the necessary concentration and timing exposure are minor than that of chlorine. The objective of this work was to study *in vitro* the effectiveness of ozonated water versus some microorganisms linked to chicken meat. The chosen ones were, *Salmonella typhimurum* ATCC 14028, *Escherichia coli* 0157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* ATCC 6583, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Candida albicans* ATCC 10231. The microorganisms were recuperated 24 hours

---

\* Guidance Committee: Dr. João Evangelista Fiorini - UNIFENAS (Major Professor), Dra. Eliana Pinheiro de Carvalho - UFLA (Co-Professor)

before the experiment and subsequently were prepared two suspensions for each of them, considering as comparative pattern, tube 01 from McFarland scale. Then, 01ml from each suspension was added to a crystal reactor, containing 99ml of distilled water with a 0,6 mg/L concentration of ozone. Samples were collected from the test, within 05, 15, 30 and 60 seconds timing. In nature and after dilutions arranged in series, these were inoculated into appropriate means. Inoculations controls of the microbial suspensions were also done. It was obtained the inactivation of 100% of the studied microorganisms within 5 to 15 seconds exposure. Under the tested conditions, ozonated water became highly effective. The obtained results of this experiment permit us to propose the use of ozone as potential water sanitizer as chiller or to be used in poultry processing plants.

### 3 Introdução

A eliminação de germes patogênicos, tanto da água como de alimentos, é um aspecto de grande importância sanitária, econômica e social. Isto porque a contaminação microbiológica de água e alimentos está relacionada com a ocorrência anual, nos países em desenvolvimento, de mais de um bilhão de casos de diarreia aguda em crianças menores de cinco anos (Padrón et al., 1986; Germano & Germano, 2000).

Embora as estatísticas brasileiras sejam precárias, acredita-se que a incidência de doenças microbianas de origem alimentar é bastante elevada. Mesmo em países desenvolvidos, nos quais o abastecimento de gêneros alimentícios é considerado seguro do ponto de vista de higiene e saúde pública, a ocorrência de doenças desta natureza é significativa e vem aumentando, apesar dos avanços científicos e tecnológicos nas áreas de produção e controle de alimentos. Nos Estados Unidos, por exemplo, estima-se a ocorrência de 33 milhões de casos por ano, afetando, anualmente, pelo menos um em cada dez habitantes (Franco & Landgraf, 1996; Figueiredo, 2003).

O *Center for Disease Control* (CDC) considera *Escherichia coli* 0157:H7, *Salmonella sp.*, *Listeria monocytogenes* e *Campylobacter jejuni* grandes problemas de saúde pública, seja pelo número atual de casos, seja pela gravidade das doenças por estes agentes provocadas (Richardson et al., 1998). As carnes bovina e de frango estão entre os alimentos mais frequentemente relacionados aos surtos de doenças de origem alimentar (Lederer, 1991; Johnston, 1990; Perales & Garcia, 1990; Centorbi, 1990; Ritter, 2000; Forsythe, 2002; Figueiredo, 2003).

O músculo do animal vivo normalmente é isento de germes. Porém, a partir do abate e do processamento, inicia-se a sua contaminação proveniente da

pele, penas, trato intestinal, dos funcionários, dos equipamentos e utensílios e da água utilizada no processo (Terra, 1998). Esses microrganismos poderão ser patogênicos, colocando em risco a saúde do consumidor, ou deteriorantes, influenciando na qualidade do produto e no seu período de conservação (Terra, 1998).

Inúmeros microrganismos patogênicos já tiveram sua presença relatada em carcaças de frango, incluindo *Salmonella* sp, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium* sp, *Staphylococcus aureus* e linhagens toxigênicas de *Escherichia coli*. Entretanto, para o homem, a *Salmonella* é considerada o patógeno mais significativo. Porém, atualmente, *Campylobacter*, *Listeria* e a enterohemorrágica *E. coli* tornaram-se também alvos de preocupação para a saúde pública (Pelczar Jr., 1997; Parry & Pawsey, 1984; Hoffman, 1984; International Commission on Microbiological Specifications for Foods-ICMSF, 1997; Silva, 1998; Cotta, 1997; Franco & Landgraf, 1996).

Dentre os deteriorantes, particularmente os proteolíticos e lipolíticos, a *Pseudomonas* é o principal representante. Entretanto, *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Shewanella putrefaciens*, *Lactobacillus*, *Brochetrix thermosphacta* e alguns tipos de fungos, tais como *Trichosporum*, *Torulopsis*, *Candida*, *Rhodotorula*, *Penicilium*, *Alternaria* e *Aspergillus* também estão associados à deterioração da carne de aves (Pelczar Jr., 1997; Parry & Pawsey, 1984; Silva, 1998; Franco & Landgraf, 1996; Forsythe, 2002; Castillo et al., 2002).

As sujeiras e o material fecal que se encontram nas patas e nas penas das aves, assim como o conteúdo intestinal, são as principais fontes de contaminação. Os germes ainda podem ser oriundos da água, do ar, do pessoal, dos equipamentos e do gelo utilizado no abatedouro (Cotta, 1997).

O trato intestinal das aves, principalmente galinhas e perus, é um dos principais reservatórios naturais de microrganismos patogênicos como a

*Salmonella* (Silva, 1998).

Os *Staphylococcus* sp estão muito relacionados com a contaminação do maquinário. Especialmente depenadoras são facilmente colonizadas por esses microrganismos (Castillo, 1997).

As bactérias pertencentes ao gênero *Pseudomonas* são originárias da pele, pés, intestinos ou outras partes do animal, assim como da água, gelo e dos equipamentos utilizados no processamento (Toule & Murphy, 1978).

Franco & Landgraf (1996) relatam que, em frangos eviscerados mantidos a 10°C ou abaixo, ocorre deterioração, principalmente por *Pseudomonas* e leveduras e que, acima dessa temperatura, tem-se o crescimento de *Alcaligenes* e *Flavobacterium* sp.

Muitos levantamentos realizados em diferentes países mostraram que 30% a 50% das carcaças de frango congelados ou refrigerados estavam contaminados com *Salmonella* (Maxcy, 1981). Recentemente, verificou-se que a maioria dos frangos na Europa, exceto na Suécia, que exige rigorosa qualidade na higiene dos alimentos, estava infectada pela *Salmonella*, em até 60%. Esta infecção é causada principalmente pela forragem infectada (Möller, 1999).

O fator mais importante para controlar o grau de contaminação da carne fresca, é sem dúvida, a higiene dos locais de criação, abate e manipulação (Nottingham, 1982; Schmidt, 1989; Smulders & Woolthuis, 1985). No entanto, apesar do aumento da sofisticação nos cuidados higiênicos e na sanificação da superfície das carcaças, muitas vezes ainda são encontrados contaminantes patogênicos, como a *Salmonella* (Dickson, 1988; Siragusa & Dickson, 1993; Smulders, 1986).

Grandes esforços têm sido feitos para reduzir a incidência da contaminação e controlar a disseminação de *Salmonella* e outros patógenos nas indústrias de processamento de aves (Maxcy, 1981).

A sanificação é incluída, como operação de rotina, no processo de abate

de animais para consumo humano, no sentido de eliminar ou, pelo menos, reduzir a incidência desses contaminantes (Dickson & Anderson, 1992; Schmidt, 1989; Smulders et al., 1986).

Para retardar a multiplicação de bactérias deteriorantes e para evitar o crescimento de germes patogênicos, as aves são resfriadas em tanques de água gelada (*chiller*), os quais são normalmente, adicionados de sanificantes. O cloro é o produto mais utilizado para reduzir microrganismos no *chiller* e, conseqüentemente, a contaminação cruzada (ICMSF, 1997; Ritter, 2000).

Atualmente, tem-se o conhecimento que a utilização do cloro, principalmente do hipoclorito de sódio, para a desinfecção de águas e sanificação de alimentos pode levar à formação de subprodutos químicos, os trihalometanos, que são potencialmente carcinogênicos. Além disso, vários tipos de microrganismos, tais como cepas de *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* e *Aspergillus niger*, têm apresentado resistência a este desinfetante (Brasil 1999a; Brasil, 1999b; Associação Brasileira das Empresas de Refeições Coletivas-ABERC, 1999; Macedo et al., 1999; Block, 1991).

Diante do exposto, torna-se altamente desejável o estudo de métodos sanificantes alternativos, mais eficazes e menos tóxicos, para a descontaminação de carcaças de frango (Haddon et al., 1996; Graham, 1997; Ritter, 2000; *International Consultative Group on Food Irradiation-ICGFI*, 1999).

Nesta linha, o ozônio vem ganhando espaço como mais uma opção para a indústria de alimentos. Na Europa, especialmente na França e Alemanha, o ozônio é utilizado para o tratamento da água desde o início do século XX. Neste mesmo continente, esta substância é utilizada no processamento de alimentos há várias décadas (Torres et al., 1996; Rice et al., 1997).

O ozônio (O<sub>3</sub>), forma triatômica do oxigênio, é um gás instável, solúvel em água e de odor característico, que é formado pela excitação do oxigênio molecular a oxigênio atômico em um ambiente energizado, no qual ocorre a

recombinação com outras moléculas de oxigênio (Rice, 1986).

O ozônio é um potente oxidante que apresenta um amplo espectro de ação sobre os microrganismos, atuando rapidamente sobre compostos insaturados, aminoácidos e proteínas contendo o grupo SH. No âmbito celular, oxida grupos sulfidril e amino, coagula proteínas e inativa as enzimas catalase, peroxidase e desidrogenase (Gurley, 1985).

Dessa forma, esta substância apresenta alta capacidade desinfetante e sanificante, amplo espectro de ação, atuando sobre bactérias, vírus, fungos filamentosos e leveduras, e sobre formas esporuladas. A concentração e o tempo de ação são menores que os exigidos pelo cloro. Ainda, o ozônio tem a propriedade de oxidar alguns poluentes orgânicos e inorgânicos (Padrón et al., 1986; Torres et al., 1996). Além disso, ele não altera as características organolépticas da água e dos alimentos, além de não deixar resíduos tóxicos ou carcinogênicos nos mesmos, quando concentrações adequadas são utilizadas (Torres et al., 1996).

Assim, o ozônio é particularmente atrativo, pois pode ser aplicado na forma de gás ou dissolvido em água, dissipa-se rapidamente e o residual é muito baixo ou nulo (Richardson et al., 1998).

Considerando a necessidade de agentes sanificantes mais eficazes para o processamento de aves, que não interfiram na cadeia alimentar e no ambiente, o presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de realizar o estudo *in vitro* da eficácia da água ozonizada frente a alguns microrganismos associados à carne de frango.

## 4 Material e métodos

### 4.1 Microrganismos utilizados

- *Salmonella typhimurium* ATCC 14028
- *Staphylococcus aureus* ATCC 6583
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- *Escherichia coli* ATCC 25922
- *Candida albicans* ATCC 10231

Estas cepas foram obtidas das coleções de bactérias e de fungos do Laboratório de Biologia e Fisiologia de Microrganismos da Universidade José do Rosário Velano (UNIFENAS), Alfenas, MG. Além delas, foram utilizadas:

- *Escherichia coli* 0157:H7 - cedida pela Fundação Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro, RJ), foi isolada de um paciente que apresentava sintomas da Síndrome Urêmica Hemorrágica;
- *Listeria monocytogenes* - cortesia da Fundação Ezequiel Dias, Belo Horizonte, MG.

### 4.2 Obtenção das suspensões microbianas

As cepas foram recuperadas 24 horas antes do experimento e, com estes microrganismos em fase logarítmica, foram preparadas, para cada cepa, duas suspensões em solução salina, cujas concentrações aproximavam-se do padrão comparativo escolhido, o tubo número 01 da escala de McFarland<sup>1</sup>, contendo aproximadamente  $3,0 \times 10^8$  bactérias/mL.

### 4.3 Produção da água ozonizada

O sistema para a obtenção de água ozonizada foi composto pelos seguintes elementos (Figura 1A):

- cilindro de oxigênio e válvulas redutoras com manômetro;
- gerador de ozônio (Marca Ozone, modelo EAS 30 – UV), com capacidade de produção de 0,5 g/h (0,25%, p/p, na mistura  $O_2/O_3$ ). O ozônio, nesse sistema, foi gerado pela ação dos raios ultravioleta sobre as moléculas de oxigênio de alta pureza.
- reator de cristal com capacidade de 100mL de água destilada, acoplado ao gerador de ozônio formando um sistema de difusão de bolhas finas.

Para a produção de água ozonizada, foram adicionados 99mL de água destilada e autoclavada ao reator de cristal, no qual se fez borbulhar a mistura  $O_2/O_3$  (Figura 1B).

### 4.4 Limpeza e esterilização do sistema

Para assegurar a esterilização do sistema, ozonizou-se o volume de 100mL de água destilada e autoclavada contida no reator de cristal, durante 20 minutos. Após este procedimento, a água foi desprezada e 99mL de água destilada e autoclavada foram recolocados no reator para dar início ao experimento.

---

<sup>1</sup> A escala de McFarland é uma escala turbidimétrica que relaciona a concentração bacteriana com o grau de turvação de uma suspensão de sulfato de bário e ácido sulfúrico (Bier, 1990).

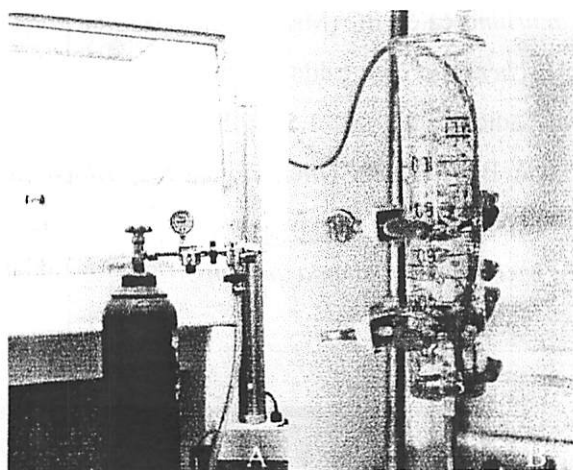


FIGURA 1 A. Sistema gerador de ozônio. B. Reator de cristal.

#### 4.5 Experimento

Após a limpeza e esterilização do sistema de difusão de bolhas finas, foram colocados 99mL de água destilada e estéril no reator de cristal. O sistema foi acionado, deixando-se ocorrer a ozonização da água por 20min, obtendo-se assim, a saturação de 0,6 mg/L. Em seguida, adicionou-se ao reator 1mL da suspensão de bactérias a ser tratada, cronometrando-se e mantendo-se o fluxo de ozônio constante até a finalização do experimento (Figura 2A).

Foram colhidas alíquotas de 1mL, nos tempos 05, 15, 30 e 60 segundos, as quais eram rapidamente transferidas para tubos, contendo 10 $\mu$ L de tiosulfato de sódio a 1%, para que o ozônio remanescente fosse imediatamente consumido (Figura 2B). Posteriormente, 0,1mL das amostras coletadas, nos tempos pré-determinados, foi inoculado, em triplicata, *in natura* e após diluições seriadas, em meios apropriados: ágar Salmonella-Shigella (ágar SS, Merck), para a

*Salmonella typhimurium*; caldo EC (Merck) adicionado de 1,5% de ágar em pó para as cepas de *Escherichia coli*; caldo de enriquecimento para *Listeria* (LEB, Merck), também adicionado de 1,5% de ágar em pó para *Listeria monocytogenes*; ágar Baird Parker (Merck) para *Staphylococcus aureus*; ágar cetrimide (Merck) para *Pseudomonas aeruginosa* e ágar batata dextrose acidificado (PDA, Merck) para *Candida albicans*.

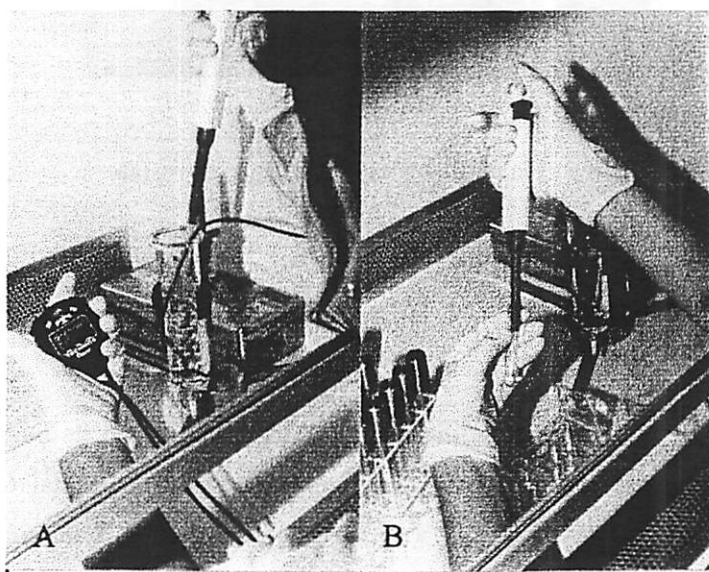


FIGURA 2 A. Inóculo de suspensão microbiana no reator de cristal.  
B. Transferência de alíquotas para tubos contendo tiosulfato de sódio, seguida de diluição seriada.

Paralelamente, foram realizados os inóculos controles das suspensões microbianas, obedecendo ao mesmo esquema adotado para as amostras. Todas as placas inoculadas foram incubadas em estufa a 37°C e, após 24 horas,

efetuou-se as contagens das unidades formadoras de colônia (UFC).

O experimento foi realizado com um tratamento, quatro tempos de avaliação e duas repetições.

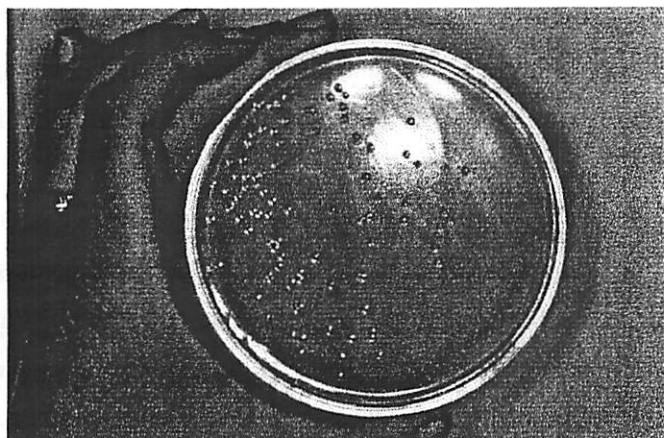


FIGURA 3 Contagem microbiana.

## 5 Resultados e discussão

Os dados obtidos neste trabalho, sintetizados nas Tabelas 1 e 2, demonstraram o efeito antimicrobiano instantâneo do ozônio sobre as cepas estudadas, mesmo em suspensões com alta concentração de células ( $10^6$  a  $10^8$ UFC/mL). Água ozonizada com uma saturação de 0,6 mg/L, em apenas 05 a 15 segundos de exposição, foi eficiente para a inativação de 100% das células microbianas testadas.

Outros trabalhos apresentaram resultados semelhantes aos encontrados neste estudo, tais como o de Gurley (1985), que relata a exposição de suspensões de *Escherichia coli* e *Salmonella sp*, contendo entre  $10^6$  e  $10^7$ UFC/mL, à água ozonizada em concentrações menores de 0,2 mg/L, durante 30 segundos, sendo suficiente para a inativação de 100% das células microbianas; Padrón et al. (1986) realizaram testes com suspensões de *Salmonella typhimurium* na concentração de  $10^7$  e  $10^8$ UFC/mL, utilizando 1,2 mg/L de ozônio durante 06 minutos e obtiveram a redução de 05 ciclos logarítmicos; e Restaino et al. (1995) avaliaram a sensibilidade das cepas de *S. typhimurium* ATCC 6994, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 15442, *S. aureus* ATCC 6583, *C. albicans* ATCC 22572 e *Listeria monocytogenes* (cortesia do Silliker Laboratories, Chicago) frente ao ozônio (0,15 a 0,20 mg/L), utilizando suspensões microbianas com  $10^6$ UFC/mL, podendo observar inativação de 05 ciclos logarítmicos em menos de 01 minuto.

Conforme a Tabela 1, pode-se constatar que 06 a 08 ciclos  $\log_{10}$  de *Salmonella typhimurim*, *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli*, inclusive enterohemorrágica *E. coli*, foram inativados em apenas 05 segundos de exposição.

Observando a Tabela 2, pode-se verificar que a inativação total de 6 a 8

ciclos  $\log_{10}$  de *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* só ocorreu com 15 segundos de exposição. Entretanto, pode-se observar, na Tabela 1, que com apenas 5 segundos de exposição, 04  $\log_{10}$  de *Pseudomonas aeruginosa*, 03 a 05  $\log_{10}$  de *Staphylococcus aureus* e 04  $\log_{10}$  de *Candida albicans* foram inativados.

TABELA 1 Porcentagem de redução das células microbianas estudadas frente à água ozonizada (0,6 mg/L), com 5 segundos de exposição.

Microrganismos	(UFC/mL)	5 segundos (UFC/mL)	Redução (%)
<i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	$9,0 \times 10^7$	0,0	100,00%
	$2,5 \times 10^8$	0,0	100,00%
<i>S. aureus</i> ATCC 6583	$6,0 \times 10^6$	$4,0 \times 10^3$	99,93%
	$5,5 \times 10^8$	$5,8 \times 10^3$	99,99%
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	$2,0 \times 10^8$	$1,5 \times 10^4$	99,99%
	$1,8 \times 10^8$	$7,5 \times 10^4$	99,96%
<i>E. coli</i> ATCC 25922	$8,0 \times 10^6$	0,0	100,00%
	$6,0 \times 10^7$	0,0	100,00%
EHEC 0157:H7	$1,0 \times 10^6$	0,0	100,00%
	$1,5 \times 10^8$	0,0	100,00%
<i>L. monocytogenes</i>	$1,0 \times 10^8$	0,0	100,00%
	$1,5 \times 10^8$	0,0	100,00%
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	$3,0 \times 10^6$	$4,0 \times 10^2$	99,99%
	$1,7 \times 10^8$	$2,0 \times 10^4$	99,99%

TABELA 2 Porcentagem de redução das células microbianas estudadas frente à água ozonizada (0,6 mg/L), com 15 segundos de exposição.

Microrganismos	(UFC/mL)	15 segundos (UFC/mL)	Redução (%)
<i>S. aureus</i> ATCC 6583	$6,0 \times 10^6$	0,0	100,00%
	$5,5 \times 10^8$	0,0	100,00%
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	$2,0 \times 10^8$	0,0	100,00%
	$1,8 \times 10^8$	0,0	100,00%
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	$3,0 \times 10^6$	0,0	100,00%
	$1,7 \times 10^8$	0,0	100,00%

Como anteriormente relatado, a pesquisa foi realizada com quatro tempos de avaliação: 5, 15, 30 e 60 segundos. É interessante relatar que nas alíquotas coletadas aos 30 e 60 segundos de exposição não foi detectada a sobrevivência de nenhum microrganismo.

Velano (1998) estudou a inativação de *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa* frente à água previamente ozonizada (0,6 mg/L), na mesma concentração utilizada no presente ensaio. Como padrão para o preparo das suspensões bacterianas, este autor utilizou o tubo 10 da escala de McFarland. Para as suspensões de *S. aureus*, as concentrações variou entre  $1,7 \times 10^6$  a  $1,0 \times 10^{16}$  UFC/mL, obtendo-se mais de 99% de redução em menos de 2 minutos. Para a *P. aeruginosa*, as suspensões apresentaram concentrações  $2,0 \times 10^7$  a  $7,4 \times 10^{16}$  UFC/mL, tendo a inativação de mais de 99% das células bacterianas ocorrido em menos de um minuto de exposição. Nos testes para a *E. coli*, as suspensões apresentaram entre  $5,0 \times 10^{10}$  a  $8,4 \times 10^{13}$  UFC/mL e a morte de mais de 99% das células ocorreu em menos de 30 segundos.

Kim (1998) determinou a eficiência do ozônio contra patógenos alimentares, tais como *Pseudomonas fluorescens*, *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli* 0157:H7. Esse autor encontrou que todos os microrganismos estudados foram inativados em 1,5 a 5,0 log, quando expostos a 1,5 mg/L do sanificante por 15 segundos. Observou também que a *Listeria monocytogenes* foi o menos resistente.

Restaino et al. (1995) descrevem que a taxa de morte entre bactérias Gram-negativas frente ao ozônio não é muito diferente. Porém, entre as Gram-positivas, a *Listeria monocytogenes* é mais sensível que *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*. A consideração feita sobre a *L. monocytogenes* foi também observada no presente estudo, porém, a *Pseudomonas aeruginosa* mostrou-se mais resistente que as demais bactérias Gram-negativas testadas.

Segundo Nebel et al. (1984), a lise bacteriana, no caso da *Escherichia coli*, ocorre em segundos, com concentrações de ozônio residual na faixa de 0,005 a 0,5 mg/L, fato reproduzido nesta pesquisa.

Neste trabalho, a *Candida albicans* foi inativada em 6 a 8 log, com apenas 15 segundos de exposição. Segundo Restaino et al. (1995), o ozônio é o mais efetivo agente fungicida, sendo as leveduras mais sensíveis a essa substância que os fungos filamentosos.

A padronização dos tempos de análise e a utilização de suspensões microbianas, com concentrações variando entre  $10^6$  a  $10^8$  UFC/mL, neste ensaio, permitiram comprovar os resultados anteriormente obtidos pelos autores citados e a obtenção de dados mais reprodutíveis.

## 6 Conclusões

Nas condições testadas, a água ozonizada mostrou-se altamente eficaz para a inativação das células microbianas estudadas.

Os resultados obtidos neste experimento permitem propor a utilização do ozônio como um sanificante potencial para água a ser utilizada em *chiller* ou em indústrias processadoras de aves.

## 7 Referências bibliográficas

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS EMPRESAS DE REFEIÇÕES COLETIVAS. **Manual Aberc de práticas de elaboração e serviço de refeições para coletividades**. 5.ed. São Paulo, 1999.

BIER, O. **Microbiologia e imunologia**. 24.ed. São Paulo: Melhoramentos, 1990. 1234p.

BLOCK, S. S. **Disinfection, sterilization, and preservation**. 4.ed. Philadelphia, PA: Lea & Febiger, 1991. 1162p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria n.152. Regulamento técnico para produtos destinados a desinfecção de água para consumo humano e de produtos algicidas e fungicidas para piscinas. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 1999a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n.150. Autoriza a inclusão do ácido dicloroisocianúrico e seus sais de sódio e potássio. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 1999b.

CASTILLO, C. J. C. Pontos críticos no processo de abates de frangos. In: SEMINÁRIO E WORKSHOP “INDUSTRIALIZAÇÃO DA CARNE DE AVES”, 1997, Campinas. **Anais...** Campinas: Centro de Tecnologia de Carnes do Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1997. p.11-19.

CASTILLO, C. J. C. et al. **Higiene e sanitização na indústria de carnes e Derivados**. São Paulo: Varela, 2002. 181p.

CENTORBI, O. N. P. Primer aislamiento de cepas de *Staphylococcus aureus* productores de toxina del síndrome de shock tóxico –I em manipuladores de alimentos em Argentina. **Rev. Arg. de Microbiologia**, n. 22, p.142-145,1990.

COTTA, T. **Produção de carne de frango**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1997. 197p.

DICKSON, J. S. Reduction of bacteria attached to meat surfaces by washing with selected compounds. **Journal Food Protection**, v. 51, n. 11, p. 869-873, 1988.

DICKSON, J. S.; ANDERSON, M. E. Microbiological decontamination of food animal carcasses by washing and sanitizing systems: A review. **Journal Food Protection**, v. 55, n. 1, p. 133-140, 1992.

FIGUEIREDO, R. M. **As armadilhas de uma cozinha**. São Paulo: Manole, 2003. 228p. (Coleção Higiene dos Alimentos, 3).

FORSYTHE, J. S. **Microbiologia da segurança alimentar**. Tradução de Maria Carolina Minardi Guimarães e Cristina Leonhardt. Porto Alegre: Artmed, 2002. 424p.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 182p.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. A vigilância sanitária de alimentos como fator de promoção da saúde. **O Mundo da Saúde**, São Paulo, v.24, p.59-66, jan./fev. 2000.

GRAHAM, D.M. Use of ozone for food processing. **Food Technology**, v. 51, n. 06, p.72-75, 1997.

GURLEY, B. Ozone: pharmaceutical sterililant of the future? **Journal of Parenteral Science and Technology**, v.39, n.6, p.256-261, 1985.

HADDON, W. F. et al. Potent bacterial mutagens produced by chlorination of simulated poultry chiller water. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 44, p. 256-263, 1996.

HOFFMAN, F. L. **Identificação de microrganismos isolados de água, gelo e carcaças em diferentes fases de processamento**. 1984. 44p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)-Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

INTERNATIONAL CONSULTATIVE GROUP ON FOOD IRRADIATION. **Safety of poultry meat: from farm to table**. Vienna: ICGFI/BARC, 1999. 36p.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **APPCC na qualidade e segurança microbiológica de alimentos**. Tradução de Anna Terzi Giova. São Paulo: Varela, 1997. 377p.

JOHNSTON, A. M. Foodborne illness: veterinary sources of food illness. **Lancet**, n. 336, p. 856-858, 1990

KIM, J. G. **Ozone as an antimicrobial agent in minimally processed foods**. 1998. (Ph. D. Thesis)-The Ohio State University, Columbus,

LEDERER, L. Intoxicações alimentares. In: \_\_\_\_\_. **Enciclopédia moderna da higiene alimentar**. São Paulo: Manole Dois, 1991. v.4.

MACEDO, J. A. B. et al. Formação de trihalometanos em soluções sanificantes utilizadas no processo de desinfecção de indústrias alimentação. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 16., 1999, Juiz de Fora. **Anais ... Juiz de Fora: Centro de Pesquisa e Ensino do Instituto Candido Tostes**, 1999. p. 217-230.

MAXCY, R. B. Surface microenvironment and penetration of bacteria into meat. **Journal Food Protection**, v. 44, n. 7, p. 550-552, 1981.

MÖLLER, A. L. Problemas causados por contaminantes vivos na área de alimentos. **Controle de Contaminação**, v. 3, n. 9, p. 21-13, 1999.

NEBEL, C.; NEBEL, T.; PRICE, J. Ozone, the process water sterilant. **Pharmaceutical Industry**, v. 1, n. 2, p. 16, Apr. 1984.

NOTTINGHAM, P. M. Microbiology of carcass meats. In: BROWN, M. H. **Meat microbiology**. London: Applied Science, 1982. p. 13-65.

PADRÓN, G.; et al. Utilización del ozono como agente desinfectante de aguas contaminadas con *Salmonellas* **Rev. Cub. Hig. Epid.**, v. 24, n. 4, p. 435-438, oct./dic. 1986

PARRY, T. J.; PAWSEY, R. K. **Principles of microbiology for students of food technology**. 2.ed. Great Britain: Stanley Thornes, 1984. 214p.

PELCZAR JR., M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. 2.ed. Tradução de Sueli Fumie Yamada et al. São Paulo: Makron Books, 1997. 2v.

PERALES, I.; GERCIA, M. I. The influence of pH and temperature on the behaviour of *Salmonella enteritidis* phase type 4 in homemade mayonnaise. **Letters Applied Microbiology**, n. 10, p. 1-13, 1990.

RESTAINO, L. et al. Efficacy of ozonated water against various food-related microorganisms. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, n. 09, p. 3471-3475, 1995.

RICE, R.G. Application of ozone in water and wastewater treatment. In: RICE, R.G. et al. **Analytical aspects of ozone: treatment of water and wastewater.** Chelsea, MI: Lewis, 1986. p. 7-26.

RICE, R. G. et al. Ozone preservation of foods and foodstuffs. In: OZONE WORLD CONGRESS, 13., 1997, Kyoto, Japan. **Proceedings...Kyoto, Japan:** International Ozone Association, 1997, p.785-790.

RICHARDSON, S. D. et al. Chemical by-products of chlorine and alternative disinfectants. **Food Technology**, v. 52, n. 4, p. 58-61, Apr. 1998.

RITTER, R. **Contaminação bacteriana da água do sistema de pré-resfriamento de frangos e sua influência na vida de prateleira de frangos resfriados e refrigerados.** 2000. 88p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

SCHMIDT, U. Cleaning and disinfection methods, effects of rinsing on surface bacterial count. **Fleischwirtschaft**, v. 69, n. 1, p. 71-74, 1989.

SILVA, J. A. Microrganismos patogênicos em carnes de frangos. **Higiene Alimentar**, v. 12, n. 58, p. 9-14, 1998.

SIRAGUZA, G. R.; DICKSON, J. S. Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* 0157:H7 on beef muscle tissue by lactic or acetic acid contained in calcium alginate gels. **Journal Food Safety**, v. 13, n. 2, p. 147-158, 1993.

SMULDERS, F. J.M.; WOOLTHUIS, C. H. J. Immediate and delayed microbiological effects of lactic acid decontamination of calf carcasses influence on conventionally boned versus hot-boned and vacuum-packaged cuts. **Journal Food Protection**, v. 48, n. 10, p. 838-847, 1985.

SMULDERS, F. J. M. et al. Review: Lactic acidic: considerations in flavor of its acceptance as a meat decontamination. **Journal Food Technology**, v. 21, n. 4, p. 419-436, 1986.

SMULDERS, F. J.M. Elimination of pathogenic organisms from meat and poultry. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM - PREVENTION OF CONTAMINATION AND DECONTAMINATION IN THE MEAT INDUSTRY, 1986, Zeist. **Proceedings...** Zeist: Elsevier Science, 1986. p. 319-344.

TERRA, N. N. **Apontamentos de tecnologia de carnes**. São Leopoldo: UNISINOS, 1998. 216p.

TORRES, E. A. F. S. et al. Estudo das propriedades desinfetantes do ozônio em alimentos. **Higiene Alimentar**, v. 10, n. 42, p. 18-23, 1996.

TOULE, G.; MURPHY, O. A study of bacterial contaminating refrigerated cooked chicken; their spoilage potential and possible origin. **Journal of Hygiene**, v. 81, n. 8, p. 1301-1302, July/Aug. 1978.

VELANO, H. E. **Avaliação in vitro da atividade antibacteriana da água ozonizada**. 1998. 83p. Dissertação. (Mestrado em Ciências da Saúde)- Universidade de Alfenas, Alfenas.



### CAPÍTULO 3

**Utilização de água potável, hiperclorada e ozonizada e do ultra-som, combinados ou não, em um protótipo de *chiller*, para sanificação de carcaças de frango**

## 1 Resumo

VEIGA, Sandra Maria Oliveira Moraes. Utilização de água potável, hiperclorada e ozonizada e do ultra-som, combinados ou não, em um protótipo de *chiller*, para sanificação de carcaças de frango. In: \_\_\_\_\_. **Sanificação de carcaças de frango: processos alternativos**. 2003. Cap. 3, p. 99-166, 291p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

Considerando o amplo reconhecimento do problema de infecção de carcaças de frango por microrganismos patogênicos e a necessidade de produzir carcaças com melhor perfil microbiológico e que se mantenham bem sob refrigeração, idealizou-se o presente estudo. O objetivo foi o de avaliar a eficiência da utilização de água potável, hiperclorada e ozonizada e do ultra-som, combinados ou não, em tanques de resfriamento, para a sanificação das carcaças de frango e aumento da vida útil do produto. O pré-resfriamento das amostras foi realizado em uma cuba lavadora ultra-sônica, de aço inoxidável, com capacidade de 15L. Padronizou-se o tempo em 20 minutos, a temperatura entre 3,0 e 5,0°C, o fluxo de água em 4,0L/minuto e a concentração dos sanificantes entre 3,0 e 3,5 mg/L. Para os experimentos, utilizou-se o dicloroisocianurato de sódio (Aquatabs industrial da Bayer SA.) e, para a obtenção do ozônio, trabalhou-se com o gerador Ozone - 470DC. Os ensaios foram realizados com três repetições. Após os tratamentos, as carcaças foram embaladas e armazenadas a 1,5°C ( $\pm 0,5$ ). Nos tempos pré-determinados, realizaram-se as análises microbiológicas e/ou de conservação das amostras. Efetuaram-se as contagens de microrganismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos, coliformes totais, *Escherichia coli*, fungos filamentosos e leveduras e *Staphylococcus* coagulase positivos, e as pesquisas de *Salmonella* sp e *Pseudomonas* sp. Nas condições testadas, o tratamento isolado com água ozonizada reduziu os microrganismos testados, nas respectivas porcentagens, aeróbios mesófilos (89,85%), psicrotróficos (75,45%), coliformes totais (78,95%), *Escherichia coli* (75,00%), fungos filamentosos e leveduras (58,62%), *Staphylococcus* coagulase positivos (70,00%), *Salmonella* sp (100,00%) e *Pseudomonas* sp (100,00%). O mesmo processo, conjugado ao ultra-som, apresentou, para os microrganismos acima descritos, as respectivas reduções de 96,67%, 89,72%, 94,65%, 90,48%, 82,73%, 100,00%, 100,00% e 100,00%. A utilização da tecnologia do ultra-som combinada à água hiperclorada também

---

\* Comitê Orientador: Dr. João Evangelista Fiorini - UNIFENAS (Orientador),  
Drª. Eliana Pinheiro de Carvalho - UFLA (Co-orientadora)

apresentou efeito sinérgico sobre a inativação dos microrganismos estudados. O uso isolado da água hiperclorada mostrou-se ineficaz para a eliminação de *Salmonella* sp e *Pseudomonas* sp. As ondas ultra-sônicas, isoladamente ou combinadas aos sanificantes químicos estudados, foram altamente efetivas no controle da *Salmonella* sp. Ambos os processos de resfriamento, água potável e a conjugação água potável e ultra-som, apresentaram-se ineficazes para o controle dos *Staphylococcus* coagulase positivos. Concluiu-se que apesar do tratamento com água ozonizada combinada ao ultra-som ter apresentado melhor desempenho na descontaminação das carcaças, os ensaios realizados durante a estocagem do produto mostraram que o emprego isolado da água ozonizada foi mais efetivo para prolongar a vida útil das amostras. Dicloroisocianurato de sódio, ozônio e ultra-som apresentam potencial de aplicação na indústria processadora de aves, necessitando, porém, de maiores estudos para a determinação da correta dose/frequência de aplicação, assim como do tempo de contato, para a otimização dos resultados.

## 2 Abstract

VEIGA, Sandra Maria Oliveira Morais. The use of super chlorinated, ozonated and potable water and ultra-sound, combined or not, in a chiller prototype for chicken carcasses sanitization. In: \_\_\_\_\_. **Chicken carcasses sanitization: alternative procedures.** 2003. Cap. 3, p. 99-166, 291p. Thesis (Doctorate in Food Science)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.\*

Considering the wide knowledge on the contamination of chicken carcasses by pathogenic microorganisms, and the need to produce parts with better microbiological features which may be well kept under refrigerated conditions, it was idealized the present study. The objective was to evaluate the efficacy of superchlorinated, ozonated and potable water and ultra-sound, combined or not, in chilling tanks, for chicken carcasses sanitization and increase of the product validity. The samples pre-chilling were done in a stainless-steel ultra-sonic washing sink, with capacity of 15L. The time was standardized in 20min., the temperature between 3,0° and 5,0°C, the flow of water in 4,0L/min. and the concentration of the sanitizers between 3,0 and 3,5 mg/L. For the experiment, it was used sodium dichloroisocyanurate (Bayer SA – Aquatabs industrial) and for ozone obtaining it was used the generator Ozone, model 470DC. The tests were realized in three repetitions. After being treated, the carcasses were wrapped up and stored at 1,5°C ( $\pm$  0,5) temperature. During pre-set timing, microbiological and/or conservation exams of the samples were realized. The counting of microorganisms such as, *aerobic mesophilic*, *psychrotrophic bacteria*, *total coliforms*, *Escherichia coli*, *filamentous fungi* and *yeast*, and *positive Staphylococcus coagulase* were made, as well as, research on *Salmonella sp* and *Pseudomonas sp* was done. Under the tested conditions, the isolated ozonated water treatment reduced the tested microorganisms on the following percentages; *aerobic mesophilic* (89,85%), *Psychrotrophic bacteria* (75,45%), *total coliforms* (78,95%), *Escherichia coli* (75,00%), *filamentous fungi and yeast* (58,62%), *positive Staphylococcus coagulase* (70,00%), *Salmonella sp* (100%) and *Pseudomonas sp* (100%). The same proceedings conjugated with ultra-sound, presented for the microorganisms above described, the respective reduction percentages as follows, 96,67%, 89,72%, 94,65%, 90,48%, 82,73%, 100%, 100%, and 100%. The utilization of ultra-sound technology associated to superchlorinated water, has also shown synergic effect

---

\* Guidance Committee: Dr. João Evangelista Fiorini - UNIFENAS (Major Professor), Dra. Eliana Pinheiro de Carvalho - UFLA (Co-Professor)

on the studied microorganisms inactivation. The isolated use of superchlorinated water was proven ineffective for the elimination of *Salmonella* sp and *Pseudomonas* sp. The ultra-sonic waves, alone or combined with the studied chemical sanitizers, were highly effective on controlling *Salmonella* sp. Both chilling procedures, potable water and potable water conjugated with ultra-sound, were shown ineffective on the control of positive *Staphylococcus coagulase*. It has been concluded that, although the ozonated water combined with ultra-sound, has presented a better performance on the decontamination of the carcasses, the tests realized during the storage of the product, have shown that the isolated use of ozonated water was more effective to prolong the validity of the samples. sodium dichloroisocyanurate, ozone and ultra-sound present potential usefulness in the poultry processing industries, being nevertheless necessary further studies to determine the correct dose/frequency to be applied as well as the correct time of contact, for the results optimization.

### 3 Introdução

A carne de frango é um dos mais populares alimentos no mundo. Esta popularidade deve-se aos aspectos sensoriais e dietéticos, bem como aos econômicos (*International Consultative Group on Food Irradiation-ICGFI*, 1999).

No Brasil, a avicultura foi um setor que cresceu e sofreu inúmeras mudanças nas últimas décadas, transformando o país no segundo maior produtor mundial. Aliado a isso houve também um grande desenvolvimento dos mercados interno e externo (Carvalho et al., 2002).

Tem-se observado, recentemente, um aumento significativo no consumo da carne de frango, pois existe uma grande oferta no mercado. Além disso, o preço é acessível e a mesma é considerada saudável. Por outro lado, há uma grande preocupação com a segurança desse alimento e seus derivados, do ponto de vista microbiológico, pelo fato dessa carne ser veículo de transmissão de vários patógenos. Bactérias, leveduras e fungos filamentosos têm sido isolados da superfície de aves processadas, tais como *Salmonella*, *Campylobacter*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Listeria*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Trichosporum*, *Torulopsis*, *Candida*, *Rhodotorula*, *Penicilium*, *Alternaria* e *Aspergillus*. Entretanto, para o homem, a *Salmonella* é o patógeno mais significativo, embora o *Campylobacter*, a *E. coli* enteropatogênica e a *Listeria* também sejam alvos de preocupações de saúde pública (Pelczar Jr. et al., 1997; Parry & Pawsey, 1984; *International Commission on Microbiological Specifications for Foods-ICMSF*, 1997; Castillo et al., 2002).

Conseqüentemente, a carne de frango e seus derivados estão entre os alimentos mais freqüentemente relacionados aos surtos de doenças de origem

alimentar (Lederer, 1991; Johnston, 1990; Perales & Gercia, 1990; Centorbi, 1990; Ritter, 2000; Forsythe, 2002; Figueiredo, 2003; Castillo et al., 2002).

A microbiota superficial de aves frescas depenadas origina-se de microrganismos normalmente presentes em aves vivas e de outros que são introduzidos durante o abate. Os processos nos quais ocorre maior contaminação são a sangria, escaldamento, depenagem, evisceração e resfriamento. Assim sendo, uma variedade de métodos tem sido proposta para minimizar a contaminação e disseminação bacteriana, durante as fases de abate e processamento das aves (Torres et al., 1996; Almeida et al., 1993; Cotta, 1997; Ritter, 2000; Fries, 2002; Castillo et al., 2002).

Para retardar a multiplicação de bactérias deteriorantes e para evitar o crescimento dos germes patogênicos, as aves são imediatamente resfriadas em tanques de água gelada (*chiller*), os quais são normalmente adicionados de sanificantes. O cloro é o produto mais utilizado para reduzir a incidência de contaminantes patogênicos nas carcaças (ICMSF, 1997; Ritter, 2000; Castillo et al., 2002).

Porém, no processamento de alimentos, a preocupação com a segurança alimentar frequentemente encontra-se em conflito com a questão dos impactos ambientais produzidos pelos desinfetantes. Perigosos patógenos parecem demandar um aumento na concentração de substâncias químicas. Entretanto, o acúmulo de tais produtos químicos e seus subprodutos na cadeia alimentar e no ambiente é uma crescente preocupação de saúde pública (*Electric Power Research Institute-EPRI*, 2001).

Apesar da legislação brasileira vigente recomendar uma hipercloração de 2 a 5 mg/L na água de resfriamento das carcaças, o cloro vem sendo empregado nos tanques de *chiller*, por vários abatedouros, em altas concentrações (5 a 200 mg/L) (Prodlove, 1996; Martins et al., 1998; Brasil, 1999b; Lana, 2000).

Atualmente, tem-se conhecimento de que a utilização do cloro para a

sanificação de alimentos pode levar à formação de subprodutos químicos, os trihalometanos, que são potencialmente carcinogênicos. Além disso, vários tipos de microrganismos, tais como cepas de *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Aspergillus niger* e *Trichophyton* vêm apresentando resistência ao cloro (Block, 1991; Richardson et al., 1998; Macedo, 2000).

Na tentativa de evitar ou reduzir a formação de subprodutos orgânicos clorados e obter sanitizantes mais eficientes, uma variedade de substâncias e métodos tem sido pesquisada para garantir a qualidade sanitária da carne de frango (ICGFI, 1999; Castillo et al., 2002).

Dentre os métodos alternativos para a descontaminação de carcaças, têm-se estudado o emprego do cloro orgânico (dicloroisocianurato de sódio), do ozônio e do ultra-som (Lillard, 1993; 1994; ICGFI, 1999; *Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health-SCVPH*, 1998).

O dicloroisocianurato de sódio tem-se mostrado uma alternativa viável para a desinfecção de água e alimentos, pois reage menos com substâncias húmicas, precursoras de subprodutos orgânicos clorados, resultando em baixos níveis de trihalometanos (Block, 1991; Macedo, 2000).

A utilização do ácido dicloroisocianúrico e seus sais de sódio e potássio como princípio ativo para a desinfecção de água para consumo humano está autorizada pela Resolução nº150/99, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (Brasil, 1999a).

Testes feitos pelo Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) para avaliar a capacidade do dicloroisocianurato de sódio em reduzir contagens bacterianas em frutas artificialmente inoculadas com *Salmonella enteritidis* e *Escherichia coli* evidenciaram as respectivas reduções de 90% e 91,3% (ITAL, 1997).

O uso de derivados clorados de origem orgânica, principalmente o dicloroisocianurato de sódio, está expandindo-se entre os laticínios com

inúmeras vantagens em relação ao hipoclorito de sódio (Macedo & Barra, 2003).

O ozônio é um potente oxidante, fortemente reativo, que tem sido utilizado na Europa e nos Estados Unidos como desinfetante de água para consumo humano, desde de 1893. O primeiro uso do gás ozônio como preservativo de alimentos deu-se em 1909, sendo utilizado para a estocagem de carnes em câmaras frias. A recente afirmação de *GRAS Status*, concedida em 1997 por um painel de peritos convocados pelo *Electric Power Research Institute* (EPRI), criou oportunidades adicionais para o uso do ozônio como sanificante de alimento (Yuan et al., 1999).

Sendo assim, o ozônio vem ganhando espaço no processamento de alimentos, especialmente de carne e frango, pois esta substância tem alto poder sanificante, reage rapidamente e sofre posterior inativação. Como consequência, seu residual é baixo ou nulo. Estas propriedades permitem a ingestão de alimentos tratados com o ozônio sem que haja riscos à saúde (Rice et al., 1997; Graham, 1997).

O uso seguro do ozônio no tratamento e estocagem de alimentos, incluindo carne e frango, foi aprovado e publicada pelo FDA, em junho de 2001. Com isso, a utilização dessa substância tem-se expandido nos Estados Unidos e nos países que fundamentam suas leis nas regulamentações do FDA. Na Europa, o ozônio é aplicado no processamento de alimentos como método auxiliar de descontaminação, há quase um século (Graham, 1997; *Food and Drug Administration-FDA*, 2001).

Várias pesquisas já foram realizadas utilizando o ozônio para a sanificação de alimentos. Porém, a literatura ainda é muito escassa, principalmente quando se trata de experimentos realizados em países menos desenvolvidos como o Brasil.

Sheldon & Brown (1986) recomendam a utilização de 3,0 a 4,5 mg/L de ozônio em água de *chiller* por 45 minutos, enquanto Sheldon & Chang (1987)

trabalharam com a mesma concentração (3,0 a 4,5 mg/L de ozônio em água de *chiller*), porém, o tempo foi de 15 minutos. O *Electric Power Research Institute-EPRI* (1999) propõe o uso de 6,0 mg/L por 30 minutos em água de *chiller*, para a desinfecção das carcaças. O *International Consultative Group on Food Irradiation* (ICGFI) relata a utilização de água ozonizada na concentração de 3,0 a 4,5 mg/L como suficiente para reduzir *Salmonella* em carcaças de frango, na proporção de  $1,36\log_{10}\text{UFC/g}$  para  $0,64\log_{10}\text{UFC/g}$  (ICGFI, 1999).

Como mais uma alternativa para os processos de descontaminação na indústria de alimento, o ultra-som está sendo testado, principalmente quando combinado ao calor, pressão e produtos químicos. Para a produção da carne de frango, o ultra-som é uma tecnologia emergente que começa a ser estudada como um método auxiliar de descontaminação (ICGFI, 1999; Datta, 2002).

As vibrações ultra-sônicas são semelhantes às ondas sonoras, porém, com uma frequência muito mais alta. Estas vibrações causam altas de pressão e temperatura localizadas, resultando na destruição de estruturas celulares (ICGFI, 1999).

Datta (2002) descreve que a destruição de microrganismos pelo ultra-som deve-se à combinação de seus efeitos: cavitação e suas forças (formação e difusão de bolhas que causam mudanças físicas na célula microbiana), calor localizado e formação de radicais livres na água ( $\text{OH}^\cdot$ ,  $\text{H}^\cdot$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ), que possuem efeitos bactericidas. Revela ainda, que a força mecânica do ultra-som decresce com a viscosidade do meio.

Apesar da literatura sobre a aplicação de ondas ultra-sônicas em alimentos sólidos, tais como frango, ainda ser muito escassa, Lillard (1994) relata que patógenos entéricos Gram-negativos têm sido facilmente alvejados com o ultra-som, quando aplicado em alimentos perecíveis de origem animal, tais como frango e leite.

Considerando que as práticas atuais de produção de carne de frango, não

resultam em carcaças livres de *Salmonella* ou *Campylobacter*, Lillard (1993, 1994) realizou ensaios, utilizando cloro e ultra-som em tanques de *chiller*, com objetivo de eliminar bactérias que ficam incrustadas na pele das aves. Os resultados mostraram que quando o cloro e o ultra-som são aplicados simultaneamente, apresentam efeitos sinérgicos, reduzindo assim as contagens bacterianas.

Tendo em vista as considerações apresentadas, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência da utilização de água potável, hiperclorada, ozonizada e do ultra-som, combinados ou não, em tanques de resfriamento, para a sanificação das carcaças de frango em relação às suas influências no padrão microbiológico e vida útil do produto.

## 4 Material e métodos

### 4.1 Amostras

Foram utilizadas neste experimento 192 meias carcaças de frango evisceradas, sem pés, cabeça e pescoço, totalizando seis tratamentos, quatro tempos de avaliação e três repetições.

### 4.2 Procedência e seleção da amostra

As carcaças foram procedentes de um abatedouro de Alfenas, MG, com produção de 10.000 frangos/semana.

Coletaram-se 32 amostras em seis turnos, num total de 192, sendo 96 para os tratamentos com água potável, água hipoclorada e água ozonizada e 96 para a repetição dos tratamentos acima descritos, porém conjugados com a ultrassonicação.

As amostras foram colhidas de forma aleatória e selecionadas por uniformidade de peso (entre 1,5 e 2,0 kg, apresentando peso médio de aproximadamente 1,75 kg), padronizando-se as mesmas da seguinte forma: meias-carcaças de frango, sem pés, cabeça e pescoço.

Realizou-se a coleta das amostras pela manhã, 08 a cada 20 minutos, após o processamento convencional, utilizando apenas água da rede de abastecimento municipal. No próprio abatedouro, as carcaças sofreram os cortes necessários à padronização das amostras.

A coleta foi efetuada segundo Silva et al. (2001), de forma manual, observando a higiene dos manipuladores (asseio corporal, uso de avental e luvas). As amostras foram rapidamente padronizadas e acondicionadas em sacos

plásticos estéreis, próprios para alimentos, conforme sugestão de Goetz & Terra (1998).

Em seguida, acondicionaram-se as mesmas em caixas isotérmicas tipo “isopor”, com gelo potável picado e imediatamente realizou-se o transporte das amostras para o Laboratório, onde receberam os tratamentos propostos.

### **4.3 Metodologia**

#### **4.3.1 Tratamento**

O tratamento das amostras foi efetuado no Laboratório de Biologia e Fisiologia de Microrganismos da Universidade José do Rosário Velano (UNIFENAS), Alfenas, MG. Foram montadas duas plantas-piloto para o resfriamento e descontaminação das amostras, sendo uma sistematizada para operar com ozônio e a outra com água potável e água hiperclorada. Ambas as plantas foram projetadas, desenvolvidas e instaladas pela White Martins Gases Industriais S.A. (Figuras 1 e 2).

Dentre as 32 amostras coletadas, para cada turno de tratamentos, oito serviram de controle, sendo duas para cada tempo de análise. Sendo assim, foram submetidas à refrigeração sem passar por nenhum tratamento. O padrão microbiológico encontrado nas mesmas serviu de referência para a avaliação da eficiência dos tratamentos propostos.

As demais amostras foram subdivididas em três grupos de oito unidades, tendo cada um deles foi submetido a um dos tratamentos estudados. Os processos de descontaminação das amostras foram efetuados para subgrupos de quatro unidades.

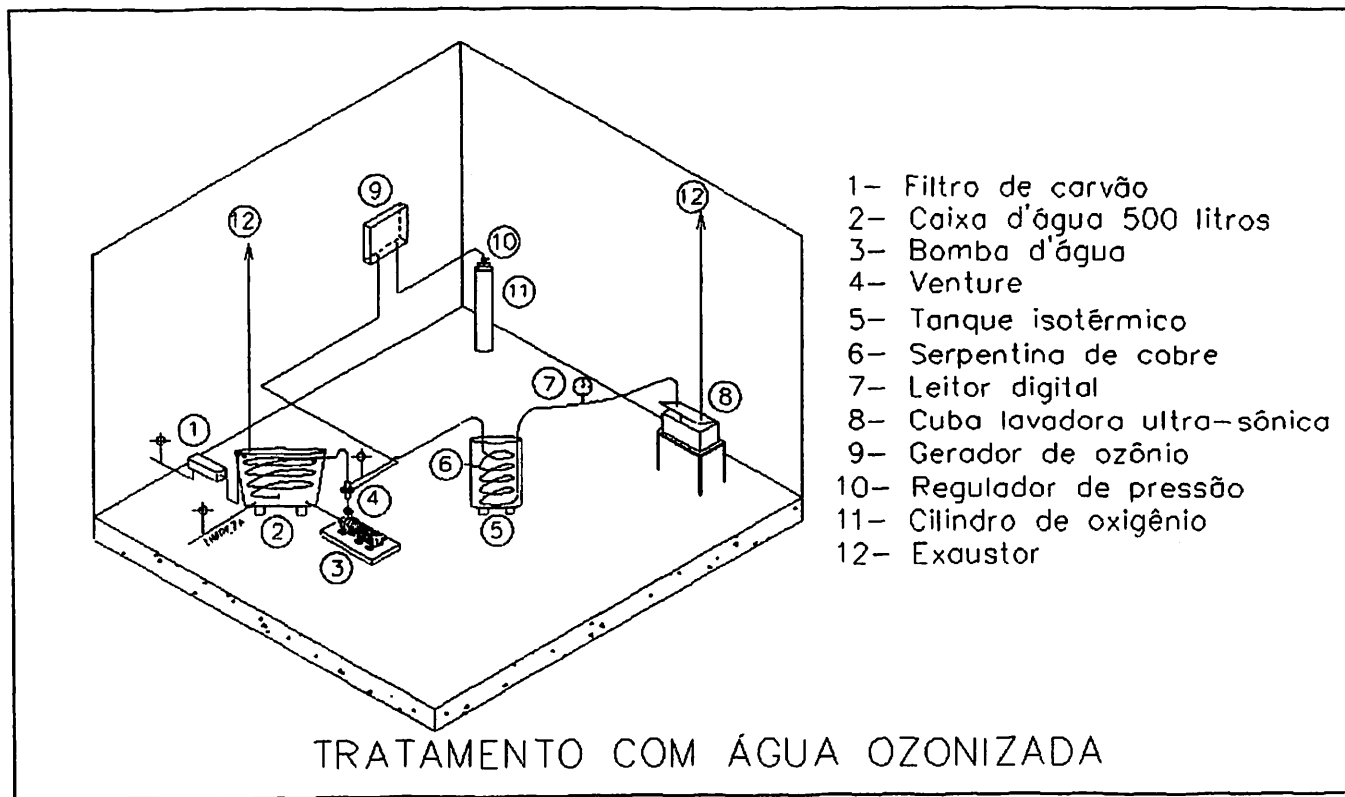


FIGURA 1 Planta piloto do tratamento com água ozonizada.

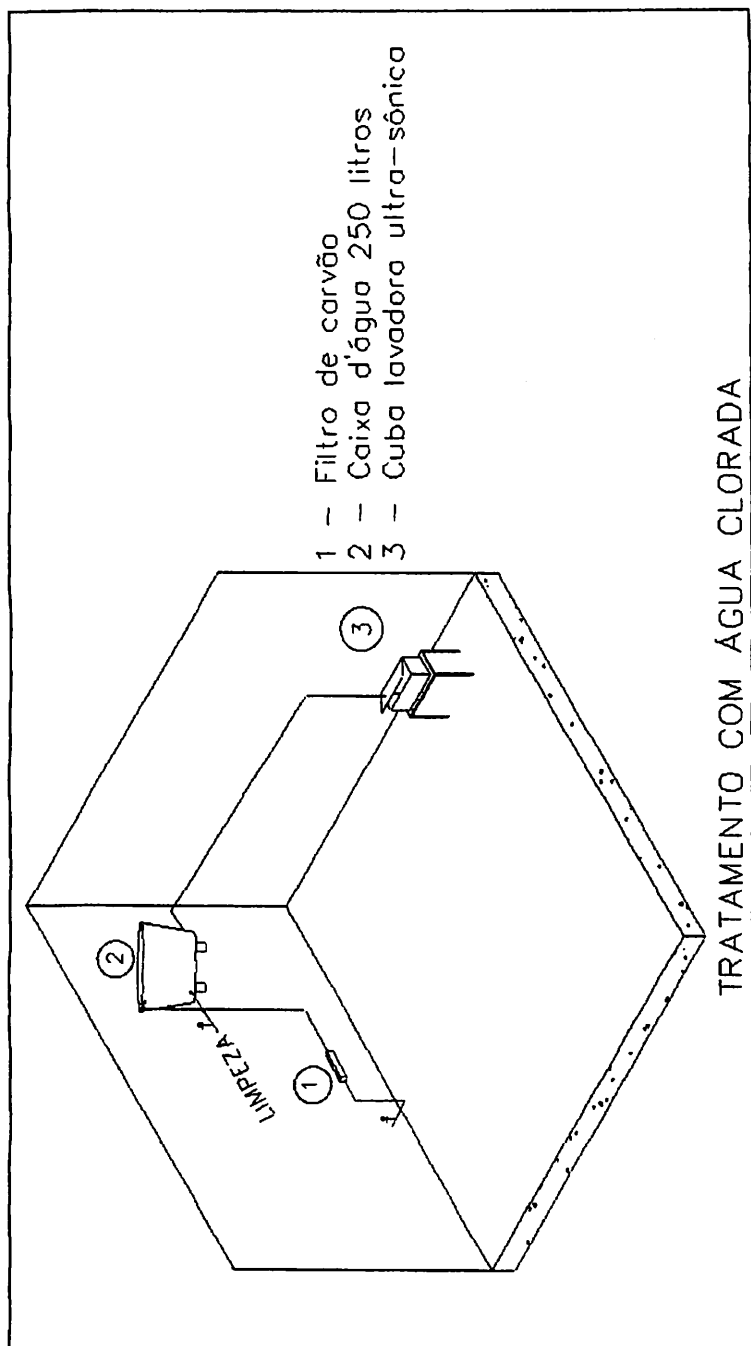


FIGURA 2 Planta piloto para água potável e água hipoclorada.

Utilizou-se uma cuba lavadora ultra-sônica de aço inoxidável, marca Sercon, modelo USC 5080A, para realizar os tratamentos. A mesma passava por higienização prévia, desinfecção com álcool 70% e enxágue com a própria água de tratamento, antes de cada processamento.

O primeiro grupo foi tratado apenas com água potável da rede de abastecimento do Campus da Universidade; o segundo, com água hiperclorada com 3,0 a 3,5 mg/L e o terceiro, com água ozonizada apresentando saturação de 3,0 a 3,5 mg/L. Todos estes processos foram aplicados por um tempo de 20 minutos. Todos os tratamentos foram repetidos, sob as mesmas condições, com o diferencial da aplicação o ultra-som (US), recurso disponível na cuba lavadora, utilizada como protótipo de tanque de *chiller*. Deste modo, as amostras foram também submetidas aos tratamentos com água potável e US, água hiperclorada e US e água ozonizada e US.

A definição da concentração dos sanificantes fundamentou-se nas seguintes referências: para o cloro, em Lana (2000) e Brasil (1999b) e para o ozônio, nos trabalhos de Sheldon & Brown (1986), Sheldon & Chang (1987), EPRI (1999) e ICGFI (1999).

O tempo de 20 minutos, determinado para os tratamentos, foi estabelecido após a revisão dos trabalhos de Macedo (2000); Sheldon & Brown (1986), Sheldon & Chang (1987) e, ainda, conforme Bressan & Perez (2001).

Como fonte refrigeradora, utilizou-se de gelo potável picado para trabalhar com água potável e água hiperclorada, e de gelo seco para a água ozonizada.

Os testes pilotos realizados indicaram a quantidade de gelo a ser utilizada. Em média, 40 kg do gelo potável picado foram necessários para resfriar 250 litros de água e mantê-la entre 3-5°C por aproximadamente 30 minutos.

Para trabalhar com a água ozonizada utilizou-se um sistema fechado de

resfriamento, no qual primeiro o ozônio era concentrado em caixa d'água de fibra de vidro, com capacidade para 500 litros, através do conjunto venturabomba de recirculação, por 30 minutos. Posteriormente, a água ozonizada sofria o resfriamento, passando por uma serpentina, imersa em tanque isotérmico, contendo uma mistura de 40 kg de gelo seco, 20 litros de água e 2,5 litros de álcool, fazendo com que a mesma alcançasse a temperatura desejada, cerca de 3 a 5°C. Durante todo o processamento, a saturação da água com o ozônio era mantida, para garantir o intervalo de concentração desejado.

Em todos os tratamentos, o sistema foi operado com uma vazão de 4 litros por minuto, o que era regulado antes do início de cada tratamento.

Como anteriormente relatado, no processo utilizando a água potável, o sistema foi alimentado com a água da rede de abastecimento da Universidade. A mesma é represada em açude, captada e passa por tratamento convencional no próprio campus. Para a sua utilização, instalou-se um filtro de carvão ativado para reter o cloro, no ponto de chegada da mesma, nas dependências do Laboratório.

Para sanificação das carcaças com a água hipoclorada, a substância escolhida foi o dicloroisocianurato de sódio, produto que pode ser adquirido no comércio, e é fabricado por várias indústrias. Neste trabalho, utilizou-se o Aquatabs industrial (Bayer S.A.) (Figura 3A), empregando-se um comprimido efervescente de 2,5 g para 250 litros de água, obtendo assim o residual de cloro livre desejado (3,0 a 3,5 mg/L). A escolha do produto teve como referencial o trabalho de Macedo (2000).

Para a descontaminação das carcaças com o ozônio, o mesmo foi produzido em sistema fechado, na própria planta de tratamento, utilizando-se de um cilindro de oxigênio de 100 kg como fonte alimentadora. O gerador utilizado neste estudo foi o da marca Ozone, modelo EAS 470DC (Figura 3B), cuja capacidade nominal é de 10 g/h a 3% de concentração em peso de ozônio

gerado, quando operado com uma vazão de oxigênio de 4,2 litros/minuto a 1,0 kgf/cm<sup>2</sup> de pressão. O cilindro de oxigênio foi conectado ao gerador por meio do regulador de pressão e fluxômetro.

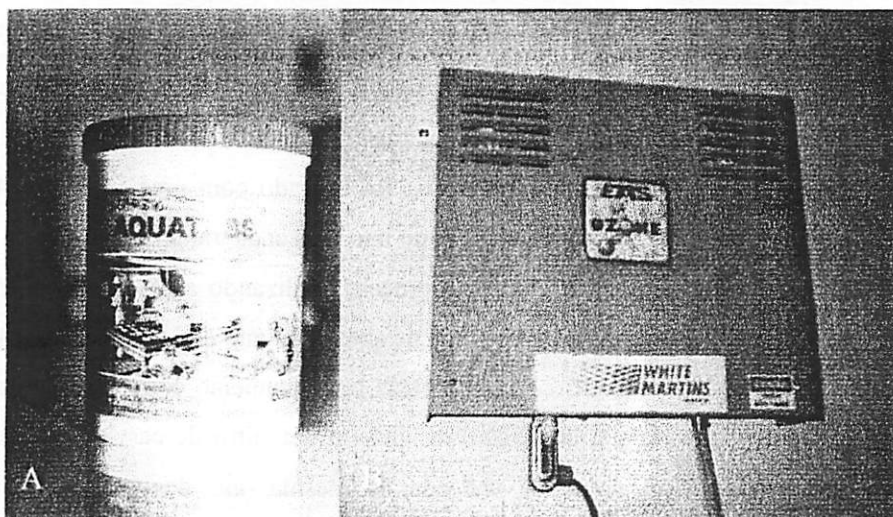


FIGURA 3 A. Dicloroisocianurato de sódio. B. Gerador de ozônio.

Porém, conforme testes pilotos, operou-se o sistema com 5 litros de oxigênio/minuto e pressão de 0,5 kgf/cm<sup>2</sup>. Desta forma, ao serem aplicados os cálculos corretivos para definir a concentração de ozônio gerada, obteve-se que a produção real de ozônio foi de 6,88 g/h. Nos testes acima referidos, pôde-se observar que, trabalhando sob estas condições, após 30 minutos de saturação, 500 litros de água adquiriram um residual de ozônio situado entre 3,0 a 3,5 mg/L.

Nos tratamentos conjugados ao ultra-som, este foi aplicado com a frequência de 37KHz, disponível na cuba lavadora ultra-sônica utilizada no

experimento. Considerando os trabalhos de Datta (2002) e Lillard (1993; 1994), pode-se verificar que a frequência aplicada está dentro da faixa apropriada para alimentos (20 a 100 KHz).

Em todos os tratamentos, as concentrações dos sanitizantes, a temperatura média e o pH da solução de banho foram verificados por meio de testes químicos e instrumentais, como à frente descritos.

Ao término dos tratamentos aplicados, retirava-se cada amostra da cuba de resfriamento, segurando-a pela coxa (Figura 4). A meia carcaça ficava assim suspensa por aproximadamente 60 segundos para o gotejamento. Imediatamente após esse procedimento, acondicionava-se cada amostra, de forma asséptica, em embalagem plástica, estéril, própria para o armazenamento de alimentos, como sugerido por Goetz & Terra (1998). Em seguida, cada amostra era identificada e rapidamente encaminhada para o armazenamento sob refrigeração, em estufa BOD marca Fanem, modelo 347-CD, com temperatura regulada em 1,5°C ( $\pm 0,5$ ).

As análises microbiológicas e/ou de aspectos visíveis de deterioração ocorreram nos dias 1, 5, 10 e 15 de estocagem, respectivamente representados como T0, T1, T2 e T3, sendo utilizadas amostras em duplicata de carcaças controles e tratadas, dos respectivos processamentos. No tempo zero, os seguintes ensaios foram realizados: contagem padrão em placa de aeróbios mesófilos, psicrotróficos, *Staphylococcus* coagulase positivos e fungos filamentosos e leveduras, determinação do NMP de coliformes totais e fecais (*E. coli*), e pesquisa de *Salmonella* sp e *Pseudomonas* sp. Para os demais tempos, realizaram-se somente as contagens de aeróbios mesófilos e psicrotróficos, como indicadoras da vida útil do produto.

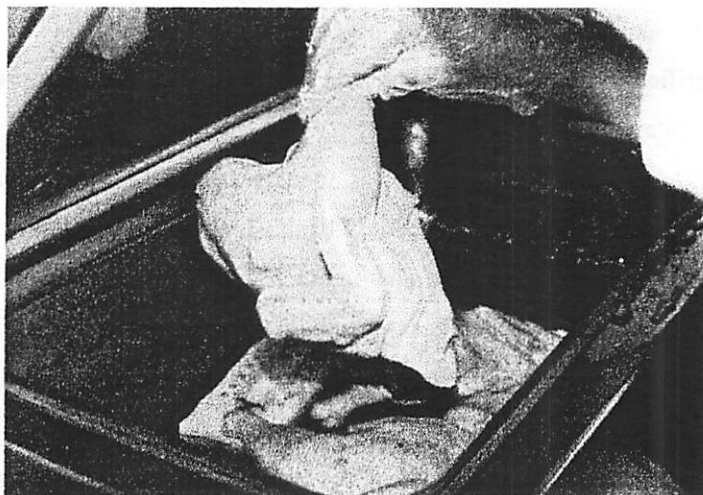


FIGURA 4 Retirada das amostras da cuba de resfriamento.

### 4.3.2 Determinação dos residuais de cloro e de ozônio

#### 4.3.2.1 Cloro

Para a verificação do residual de cloro, aplicaram-se os métodos colorimétrico por comparação visual, utilizando a solução de N. N. dietil-p-fenilendiamina (DPD) e o iodimétrico indireto, tendo como solução titulante o tiosulfato de sódio a 0,1N (*American Public Health Association-APHA*, 1992).

#### 4.3.2.2 Ozônio

A concentração de ozônio dissolvida na água de resfriamento foi mensurada por meio de monitor do tipo *Residual Ozone System* (ROS), com instrumento indicador modelo 26506 e sensor 31.331.15 (*Orbisphere*

*Laboratories*<sup>6</sup>). Este possui uma célula eletroquímica do tipo Clark, a qual determina o resíduo de ozônio por diferença de condutividade (Cardoso, 1999). Confirmou-se a mesma pelo método iodimétrico, utilizando-se como solução titulante o tiosulfato de sódio a 0,1N (APHA, 1992).

#### **4.3.3 Verificação da temperatura dos tratamentos**

Utilizou-se de um termômetro acoplado à cuba lavadora para monitorar a temperatura no início, meio e fim dos tratamentos, obtendo-se assim a temperatura média dos mesmos.

#### **4.3.4 Determinação do pH**

Determinou-se o pH por meio de tiras reagentes, marca Merck, com escala de 0 a 14 e intervalo de 0,2, em amostras de água do *chiller*, em todos os tratamentos.

#### **4.3.5 Análises microbiológicas**

##### **4.3.5.1 Preparo das amostras – técnica da “lavagem superficial”**

A opção pela técnica da lavagem superficial fundamentou-se em Lillard (1988) *apud* Almeida et al. (1993), Silva et al. (2001), Sheldon & Brown (1986) e Ritter (2000).

Nos tempos pré-determinados, tomaram-se duas amostras de carcaças provenientes de cada um dos seis tratamentos e essas amostras foram preparadas adicionando-se 300mL de água peptonada a 0,1% às embalagens das mesmas. O conjunto foi agitado mecanicamente em mesa agitadora, tipo *Shake*, por 2 minutos.

O “rinse” obtido de cada amostra foi transferido para frasco de plástico,

estéril, com capacidade para 100mL, contendo 0,1mL tiosulfato de sódio a 10% para a neutralização de possíveis resíduos de ozônio ou cloro. A partir deste material prepararam-se diluições de  $10^{-1}$  a  $10^{-6}$  para as análises microbiológicas quantitativas.

Para as pesquisas de *Salmonella* sp e *Pseudomonas* sp, inoculou-se o rinse *in natura*.

Para o cálculo de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) por grama do produto utilizou-se a seguinte relação: se a meia carcaça pesa 750 g, sendo lavada com 300mL de diluente (solução “rinse”), cada mL do lavado corresponderia a 2,5 g de amostra. Para encontrar o Número Mais Provável (NMP) ou UFC/g, divide-se o NMP ou UFC/mL encontrado por 2,5 (Silva et al., 2001; Costa, 1996; Santos, 1998).

#### **4.3.5.2 Contagem de microrganismos mesófilos aeróbios, *Staphylococcus* coagulase positivos, psicrotróficos e de fungos filamentosos e leveduras**

A partir de diluições seriadas do “rinse”, procedeu-se à inoculação em triplicatas, utilizando-se os métodos e meios de cultura conforme descritos a seguir.

A contagem de aeróbios mesófilos foi realizada em ágar padrão (*Plate Count Agar*, marca Oxoid). O inóculo foi realizado em profundidade pela técnica de *Pour Plate*. As placas foram incubadas a 35°-37°C por 48 horas (Silva et al., 2001; Brasil, 1991/1992).

Para a quantificação de psicrotróficos, fungos filamentosos e leveduras e *Staphylococcus* coagulase positivos, os ensaios foram realizados conforme Silva et al. (2001).

O inóculo foi realizado em superfície, de acordo com a técnica de *Spread Plate*. Para os psicrotróficos, o meio escolhido foi também o ágar padrão para contagem (*Plate Count Agar*, marca Oxoid), sendo as placas incubadas a

7°C por 10 dias. A contagem de fungos filamentosos e leveduras foi realizada no ágar batata dextrose acidificado (*Potato Dextrose Agar*, marca Difco), sendo o material incubado a 25°C por 3 a 5 dias. Para a contagem de *Staphylococcus* coagulase positivos, o meio de cultura utilizado foi o *Agar Baird Parker*, marca Difco, com incubação das placas a 35°C por 24 horas.

Para a confirmação dos *Staphylococcus* coagulase positivos, as colônias características do microrganismo desenvolvidas no *Baird Parker* foram testadas por meio de provas bioquímicas auxiliares, tais como, produção das enzimas catalase, coagulase e DNase e crescimento em *Manitol Salt Agar*. Os meios de cultura empregados foram de procedência Merck.

#### **4.3.5.3 Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e *Escherichia coli***

Empregou-se o sistema reagente *Colilert* da *Idexx Laboratories Inc.* A solução “rinse” foi diluída de  $10^{-1}$  a  $10^{-6}$ , transferindo-se, subseqüentemente, alíquotas de 11mL para 99mL de solução salina estéril a 0,9%. Adicionou-se o meio *Colilert* a cada diluição e o conjunto foi vertido para uma cartela de 97 células, sendo a mesma imediatamente submetida à termo-selagem. Todas as diluições foram inoculadas em triplicatas. Ao término do processo, as cartelas foram incubadas à temperatura de 35°C por 24 a 28 horas.

Após o tempo de incubação, efetuou-se a contagem das células da cartela que apresentavam coloração amarela, encontrando-se, com o auxílio de uma tabela apropriada fornecida pelo fabricante do teste, o NMP de coliformes totais. Em seguida, incidiu-se sobre as cartelas luz ultravioleta (365nm e 6 Watts), observando-se a produção de fluorescência pelas células, que foram novamente contadas. Com o auxílio da tabela acima referida, encontrou-se o NMP de coliformes fecais, representado pela reação de fluorescência produzida pela *Escherichia coli*.

O sistema *Colilert* baseia-se na metodologia do substrato cromogênico

definido e é semelhante à técnica descrita no *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*, 18ª edição (APHA, 1992; Silva et al., 2001).

#### 4.3.5.4 Pesquisa de *Salmonella* sp

A metodologia empregada para a detecção de *Salmonella* sp em alimentos utiliza várias etapas. O experimento foi conduzido da seguinte forma: para o pré-enriquecimento, cerca de 10mL da solução “rinse”, obtido da lavagem superficial de carcaças tratadas e controles, representado o conteúdo bacteriano de aproximadamente 25g do produto, foram adicionados a 90mL de água peptonada tamponada a 1,0%. O recipiente foi imediatamente vedado e colocado em um agitador mecânico por um período de um minuto. Posteriormente, incubado a 35°-37°C/18h (ICMSF *apud* Silva et al. 2001).

O enriquecimento seletivo foi realizado transferindo-se, em triplicatas, alíquotas de 1,0mL do pré-enriquecimento para duas baterias, contendo tubos com 9,0mL dos seguintes meios: caldo selenito-cistina (caldo SC, Merck), caldo de enriquecimento tetrionato (base) (Caldo TT, Merck) e caldo Rappaport Vassiliadis (*RVS Broth*, Difco). Logo em seguida, Incubou-se uma bateria a 43°C e a outra a 35°C, por um período de 24 horas (Siqueira, 1995; Silva et al., 2001).

A partir de tubos positivos do enriquecimento seletivo, realizou-se o plaqueamento seletivo, utilizando-se dos meios de cultura ágar Rambach, ágar para enterobactérias, segundo Hektoen e ágar *Salmonella-Shigella* (Agar SS), todos da Merck. Em seguida, efetuou-se a incubação das placas a 35-37°C/24 horas (Siqueira, 1995; Silva et al., 2001).

Transcorrido o período de incubação do plaqueamento seletivo, foi realizada a triagem bioquímica das colônias suspeitas de *Salmonella*, repicando-as para o *Triply Sugar Iron Agar* (Agar TSI, Merck) e agar lisina ferro (LIA, Merck), tendo que os mesmos sidos incubados à temperatura 35°-37°C/24 horas

(Siqueira, 1995; Silva et al., 2001).

Para as bactérias suspeitas de *Salmonella*, com crescimento característico nos meios TSI/LIA, realizou-se a confirmação do gênero por meio de provas bioquímicas complementares, utilizando-se do Sistema api 20 E Reactivos da Bio Merieux (Silva et al., 2001).

#### 4.3.5.5 Pesquisa de *Pseudomonas* sp

Cerca de 10mL da solução “rinse”, obtidos da lavagem superficial de carcaças tratadas e controles, representando o conteúdo bacteriano de aproximadamente 25g do produto, foram adicionados a 90mL de caldo BHI (*Brain Heart Infusion*, Merck) com 1% de solução de nitrofurantoína<sup>2</sup>. O recipiente foi imediatamente vedado e colocado em um agitador mecânico por um período de um minuto. Posteriormente, foi incubado a 35°-37°C/24 a 48 horas.

Após o período de incubação, fez-se o repique do material, em triplicata, para o ágar cetrimide (Merck). O mesmo foi incubado a 42°C/18 a 24 horas. Para as colônias características de *Pseudomonas*, realizaram-se as seguintes provas: teste da oxidase por meio de tiras reagentes, confirmação de metabolismo oxidativo em meio para oxidação/fermentação (*OF Broth*, Merck) e a identificação bioquímica por meio do Sistema BacTray III, da Difco (Cardoso et al., 1989).

#### 4.3.6 Análise dos aspectos visíveis da deterioração

Considerando que, a presença de odores estranhos e/ou limo superficial

---

<sup>2</sup> A solução de nitrofurantoína foi obtida dissolvendo-se um comprimido de 100mg do medicamento Macrodantina em 100mL de água destilada. Posteriormente, a solução foi esterilizada por filtração em membrana de filtro porosa, com 0,22µm de diâmetro, marca Millipore.

em carcaças de frango representa os sinais visíveis da deterioração (Xavier & Beraquet, 1993; Franco & Landgraf, 1996; Ritter, 2000; Forsythe, 2002).

Nos tempos de análise pré-determinados, dois analistas observaram no momento de obtenção das amostras os aspectos visíveis da deterioração para as carcaças tratadas e controles, armazenadas sob refrigeração a  $1,5\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , sendo que as amostras consideradas deterioradas eram descartadas.

## 5 Resultados e discussão

Em todos os tratamentos realizados, as amostras estiveram expostas às concentrações médias de sanificantes, que variaram entre 3,0 e 3,5 mg/L, à variação de temperatura entre 3,0° e 5,0°C, com média de 4,0°C e ao potencial hidrogeniônico do banho que em todos os ensaios foi igual a 6,0.

Considerando que a técnica escolhida para o preparo das amostras foi a lavagem superficial, torna-se interessante destacar que Lillard (1988) *apud* Almeida et al. (1993) comparou métodos de amostragem para recuperação de bactérias em carcaças de frangos e verificou que a enxaguadura da carcaça ou a trituração da amostras em *Stomacher* resultaram no isolamento de números comparáveis de microrganismos aeróbios, bem como de enterobactérias.

Para facilitar a compreensão dos benefícios dos tratamentos de resfriamento, conjugados ou não aos métodos químicos e/ou físicos de descontaminação, em relação ao padrão microbiológico das carcaças, optou-se pela divisão didática dos resultados. Dessa forma, no primeiro momento serão analisados os benefícios dos tratamentos em relação à sanificação das carcaças e no segundo, em relação à vida de prateleira do produto.

### 5.1 Sanificação de carcaças de frango

A sanificação das carcaças foi verificada nas amostras analisadas por meio da redução das contagens de microrganismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos, coliformes, *E. coli*, fungos filamentosos e leveduras e *Staphylococcus* coagulase positivos; também em função da redução do número de carcaças positivas para *Salmonella* sp e *Pseudomonas* sp.

A contagem de bactérias aeróbias mesófilas tem sido utilizada como

indicadora da qualidade higiênica dos alimentos, fornecendo também uma idéia sobre seu tempo útil de conservação. Sua presença em grande número indica matéria-prima excessivamente contaminada e/ou condições inadequadas de processamento (Siqueira, 1995).

De acordo com a Figura 5, pode-se verificar que os tratamentos com água potável, hiperclorada e ozonizada reduziram, em média, os microrganismos aeróbios mesófilos nas carcaças, com as respectivas porcentagens, 54,10%, 70,00% e 89,85%. Percebe-se ainda, que os mesmos tratamentos, conjugados à aplicação do ultra-som resultaram respectivamente, em média, nas reduções de 89,13%, 91,96% e 96,67%.

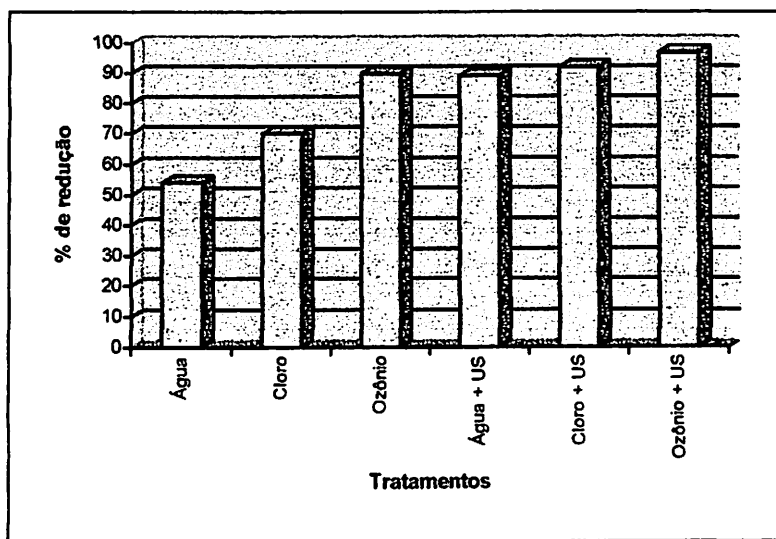


FIGURA 5 Porcentagem de redução de aeróbios mesófilos nos tratamentos propostos.

Considerando-se os tratamentos aplicados, visualiza-se por meio da

Figura 5, que a utilização do ozônio, de forma isolada ou combinada ao ultrassom (US), implicou nas maiores reduções obtidas para os aeróbios mesófilos, em cada bateria de testes. Entretanto, a aplicação das ondas ultra-sônicas, isoladamente ou combinada aos sanificantes químicos, provocou um efeito marcante na redução desses microrganismos, pois a ação das mesmas foi semelhante à água ozonizada.

O simples resfriamento das amostras em água potável (3,0° a 5,0°C) contribuiu para a redução dos aeróbios mesófilos nas mesmas. Este fato foi também observado por outros pesquisadores, os quais descrevem que a contaminação bacteriana total de carcaças é reduzida com sua passagem pelo *chiller* (Surkiwicz et al., 1969; Thomson et al., 1974 e 1975; Campbell et al., 1983; Reiber et al., 1990). Entretanto, torna-se importante destacar que no presente estudo tal redução foi substancialmente menor em comparação aos sanificantes utilizados.

Sheldon & Brown (1986) constataram que o resfriamento de carcaças, utilizando apenas água potável, foi capaz de reduzir em 46% a contagem padrão de aeróbios mesófilos por mL de rinse. O atual estudo mostrou que a água potável refrigerada pôde reduzir em 54,10% os microrganismos aeróbios mesófilos por grama do produto.

Ritter (2000) observou uma redução menor de um ciclo logaritmo para os aeróbios mesófilos em carcaças resfriadas em tanques de *chiller* tratados, em média, com 3,18 mg/L de hipoclorito de sódio. Resultado semelhante foi encontrado neste estudo. Porém, a diferença é que na atual pesquisa empregou-se o cloro de origem orgânica.

Sheldon & Brown (1986), ao utilizarem uma saturação de 3,0 a 4,5 mg/L de ozônio em água de *chiller*, durante 45 minutos, detectaram uma redução de 78% na contagem padrão de aeróbios mesófilos.

Em *Arkansas Agriculture Experimental Station-AAES* (1997), pode-se

verificar que a aplicação de água ozonizada, em concentração de 3,0 a 7,0 mg/L, durante 15 a 30 minutos, produziu uma redução de mais de 90% dos aeróbios mesófilos nas carcaças.

Como se pode averiguar, a utilização de ozônio por tempo e/ou concentração maiores que os empregados na atual pesquisa também não proporciona reduções iguais ou maiores que um ciclo logarítmico dos aeróbios mesófilos nas amostras tratadas.

Observando-se novamente a Figura 5, nota-se que o ultra-som, empregado isoladamente ou combinado aos sanificantes químicos, pode ser um método auxiliar de descontaminação com potencial para aplicação na indústria de carnes, como anteriormente registrado por Lillard (1993; 1994).

Ozônio e ultra-som proporcionaram bons níveis de redução de aeróbios mesófilos nas carcaças, com especial ênfase no ultra-som conjugado aos sanificantes químicos.

Os microrganismos psicrotróficos estão relacionados com a microbiota deteriorante que atua nas carnes sob refrigeração (Franco & Landgraf, 1996; Forsythe, 2002). Quando presentes, podem causar uma variedade de alterações. Sua detecção está associada a falhas no processamento ou contaminação pós-processamento. E ainda, à estocagem prolongada sob refrigeração, ou manutenção de frio inadequado (Brasil, 1991/1992).

A Figura 6 mostra o percentual de redução para os microrganismos psicrotróficos nas amostras tratadas. Pode-se observar que os tratamentos com água potável, cloro e ozônio proporcionaram, em média, as respectivas reduções de 40,91%, 75,00% e 73,94%. A execução destes mesmos processos, combinados à tecnologia do ultra-som (US), proporcionou, em média, os seguintes resultados: água potável e US (56,82%), água hipoclorada e US (63,64%) e água ozonizada e US (89,72%).

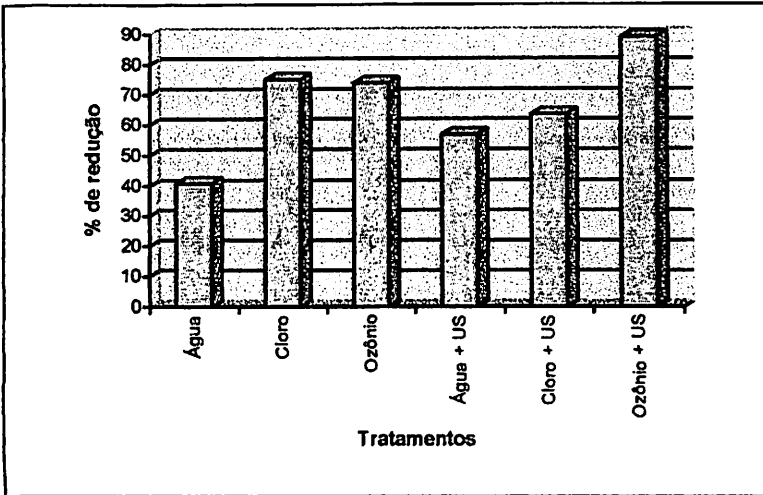


FIGURA 6 Porcentagem de redução de psicotróficos nos tratamentos propostos.

O tratamento utilizando somente água potável contribuiu para a diminuição dos números de psicotróficos em 40,91%. Sheldon & Brown (1986) encontraram resultado semelhante, ou seja, redução de 46,00%. A pequena diferença para mais detectada por esses autores possivelmente se deve ao tempo de contato empregado, 45 minutos, enquanto no presente experimento o mesmo foi de 20 minutos.

Nos tratamentos isolados, o dicloroisocianurato de sódio e o ozônio produziram resultados bem semelhantes; já nos processamentos conjugados, a combinação ozônio e US mostrou-se mais eficiente para a redução de psicotróficos.

Ritter (2000) constatou pequena redução dos psicotróficos (4,13%) em carcaças de frango tratadas, em média, com 3,18 mg/L de hipoclorito de sódio. No presente ensaio, o dicloroisocianurato de sódio foi muito mais eficiente para

inativação dos microrganismos em questão, como se pode constatar na Figura 6.

Martins et al. (1998), ao empregarem hipoclorito de sódio na concentração de 50 mg/L em tanques de *chiller*, obtiveram redução na incidência de microbiota psicrotrófica proteolítica/lipolítica em carcaças de frango, sendo que o número de amostras positivas entre os controles (60,00%) passou a ser de 24,00% entre as tratadas. Considerando a Portaria nº210/99 (Brasil, 1999b), verifica-se que o teor de cloro empregado neste mesmo trabalho foi dez vezes maior que o máximo recomendado. Mesmo assim, o resultado encontrado foi menor que o detectado na atual pesquisa, a qual utilizou o dicloroisocianurato de sódio, dentro dos limites estabelecidos pela portaria acima citada.

Conforme Macedo & Barra (2003), os compostos clorados de origem orgânica são mais estáveis em solução aquosa do que os inorgânicos, mesmo na presença de matéria orgânica. Isso implica numa liberação mais lenta do ácido hipocloroso e, conseqüentemente, em um período maior de atividade.

Sheldon & Brown (1986) ao realizarem o resfriamento de carcaças de frango, aplicando como descontaminante o ozônio, com residual entre 3,0 e 4,5 mg/L, durante 45 minutos, obtiveram reduções de 37% a 75% no número de microrganismos psicrotróficos. Observa-se, por meio da Figura 6, que a redução de 75% foi também reproduzida neste experimento.

O índice de coliformes totais é utilizado para avaliar as condições higiênicas. Altas contagens significam contaminação pós-processamento, limpezas e sanificações deficientes, tratamentos térmicos ineficientes ou multiplicação durante o processamento ou estocagem (Siqueira, 1995; Franco & Landgraf, 1996).

Visualizando-se a Figura 7, pode-se observar que os tratamentos com água potável, água hiperclorada e água e ozonizada levaram a uma redução média na contagem de coliformes totais nas carcaças, apresentando os

respectivos percentuais de 10,00%, 75,00% e 78,95%.

James et al. (1992) utilizaram 25 mg/L de cloro gasoso em tanques-de *chiller*, observando uma redução de 31,90% na contagem de enterobactérias. Comparando esse resultado com o obtido na presente pesquisa, constata-se que o DCIS proporcionou melhor efeito sobre os coliformes (75% de inativação), mesmo sendo aplicado em menor concentração (3,0 a 3,5 mg/L).

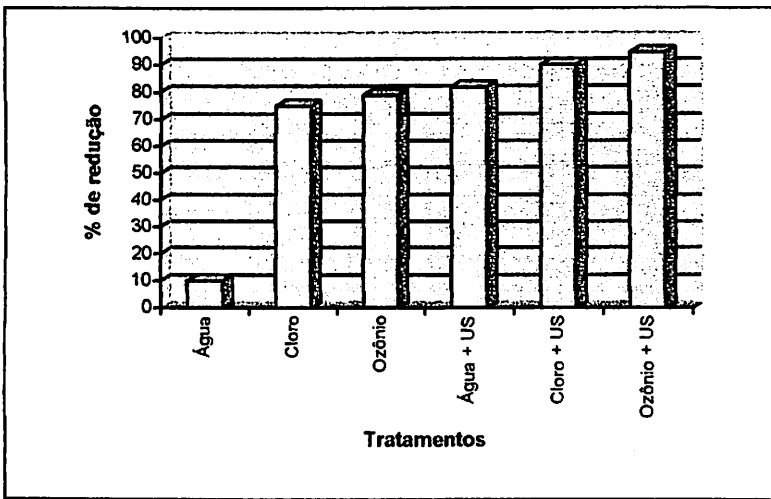


FIGURA 7 Porcentagem de redução do NMP de coliformes totais nos tratamentos propostos.

A combinação do ultra-som (US) aos tratamentos acima referidos mostrou, mais uma vez, efeito sinérgico. As respectivas diminuições foram, em média, de 81,73% para a água e US, 90,00% para o cloro e US e 94,65% para o ozônio e US. Vale destacar o efeito isolado do ultra-som, em meio aquoso, sobre os coliformes totais. Este fato confirma a observação de Lillard (1994) de que microrganismos entéricos Gram-negativos, presentes em leite e frango, são

facilmente alvejados pelas ondas ultra-sônicas.

O índice de coliformes fecais, representado principalmente por *E. coli*, é empregado como indicador de contaminação fecal, ou seja, das condições higiênico-sanitárias do alimento. Assim, sua presença indica a possibilidade de ocorrerem outros microrganismos entéricos na amostra, inclusive aqueles potencialmente patogênicos. Por outro lado, alguns sorotipos de *E. coli* são também responsáveis por gastroenterites, especialmente em crianças, pessoas idosas ou convalescentes (Siqueira, 1995; Franco & Landgraf, 1996).

Por meio da Figura 8, pode-se verificar que as reduções de *Escherichia coli*, quando se submeteram as meias carcaças de frango aos tratamentos com água potável, água hiperclorada e ozonizada, foram, em média, respectivamente: 15,56%, 75,00% e 75,00%. A conjugação dos mesmos tratamentos ao ultra-som produziu, em média, as respectivas reduções de 83,53%, 84,05% e 90,48%.

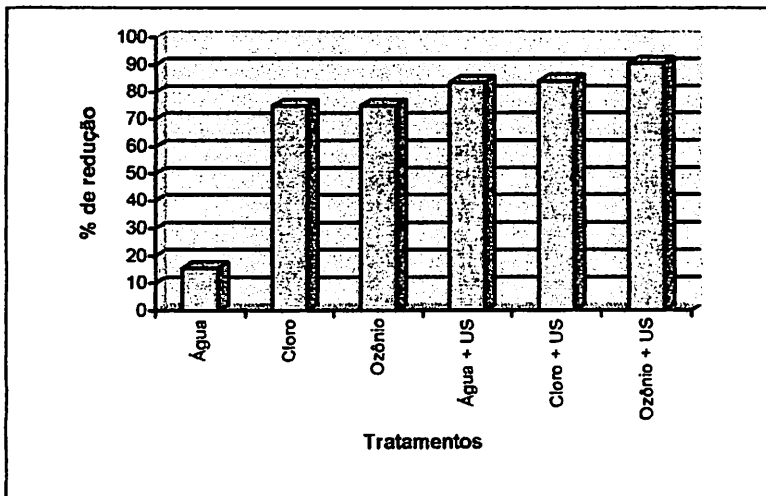


FIGURA 8 Porcentagem de redução do NMP de *Escherichia coli* nos tratamentos propostos.

Torna-se importante destacar novamente o efeito isolado das ondas ultrassônicas, aplicadas em meio aquoso sobre as amostras. Ainda, o efeito sinérgico das mesmas ondas combinadas aos desinfetantes químicos.

Yun (1994) verificou o efeito de soluções cloradas em relação à diminuição do número de coliformes totais e fecais em carcaças de patos, tratando as amostras com 0, 10, 20, 30, 40, 100, 200, 300 e 400 mg/L de cloro em solução aquosa. Este autor constatou que o aumento da concentração até 100 mg/L implica no aumento da redução de coliformes. A partir deste ponto não há aumento da redução, proporcionalmente ao aumento da concentração.

Bautista et al. (1997) observaram que a utilização de soluções cloradas não produziu reduções significantes na carga microbiana total e de coliformes em carcaças de perus.

James et al. (1992), aplicando 25 mg/L de cloro gasoso em tanques de resfriamento, obtiveram redução de 40% das células de *Escherichia coli*. No presente ensaio, o DCIS apresentou melhor desempenho, implicando na inativação de 75% deste microrganismo.

Sheldon & Brown (1986) obtiveram redução de 91% dos coliformes totais e fecais por mL de rinse, quando utilizaram o ozônio entre 3,0 e 4,5 mg/L, durante 45 minutos. A redução foi um pouco maior que a encontrada neste estudo, porém, o tempo de contato foi maior que o dobro do aplicado.

Trabalho realizado por AAES (1997), aplicando 3,0 a 7,0 mg/L de ozônio em tanques de *chiller*, resultou em redução maior que 90,00% dos coliformes totais e fecais em carcaças de frango.

Reduções para coliformes totais e *E. coli* (Figuras 7 e 8), em torno de 90,00% ou mais, foram detectadas na presente pesquisa, quando se combinou o ozônio e ultra-som.

A menor inativação dos coliformes verificada neste experimento, quando aplicou-se água hiperclorada e ozonizada, talvez se deva ao padrão

microbiológico das aves utilizadas como amostras. Isso porque tem-se a consciência de que carcaças abatidas e preparadas em países menos desenvolvidos, principalmente em pequenos abatedouros, podem apresentar alta carga microbiana, principalmente de microrganismos intestinais.

A presença de fungos filamentosos e leveduras viáveis e em índices elevados nos alimentos fornece várias informações, tais como condições higiênicas deficientes de equipamentos, multiplicação no produto em decorrência de falhas no processamento e/ou estocagem e matéria-prima com contaminação excessiva (Siqueira, 1995).

Na Figura 9 nota-se que nos tratamentos com água potável, água hiperclorada e água ozonizada, as respectivas reduções detectadas para os microrganismos estudados, em média, foram de 21,21%, 33,33% e 58,62%. Utilizando os mesmos tratamentos, porém combinados ao ultra-som, encontraram-se, em média, os respectivos resultados de 60,61%, 72,12% e 82,73%.

O emprego da água ozonizada no tanque de resfriamento e dos três tratamentos estudados, conjugados ao ultra-som, resultou em importantes reduções. É interessante observar, mais uma vez, o desempenho isolado do ultra-som, em meio aquoso, sobre os fungos filamentosos e leveduras.

Kaess & Weidmann (1968) reportam que a utilização do ozônio gasoso (concentração maior que  $2\mu\text{g/L}$ ) para a estocagem de carnes aumentou a fase lag dos fungos *Taminidium* sp e *Penicilium* sp.

Kaess & Weidmann (1973) relatam o uso simultâneo de radiação ultravioleta ( $0,2\mu\text{W/cm}^2$ ) e ozônio gasoso ( $0,5\mu\text{g/L}$ ), produzindo um efeito inibidor sinérgico contra os fungos *Taminidium* sp e *Penicilium* sp.

No presente estudo, a sanificação das carcaças foi realizada em meio aquoso. Entretanto, pôde-se verificar também o bom desempenho do ozônio e da combinação ozônio e ultra-som sobre fungos filamentosos e leveduras.

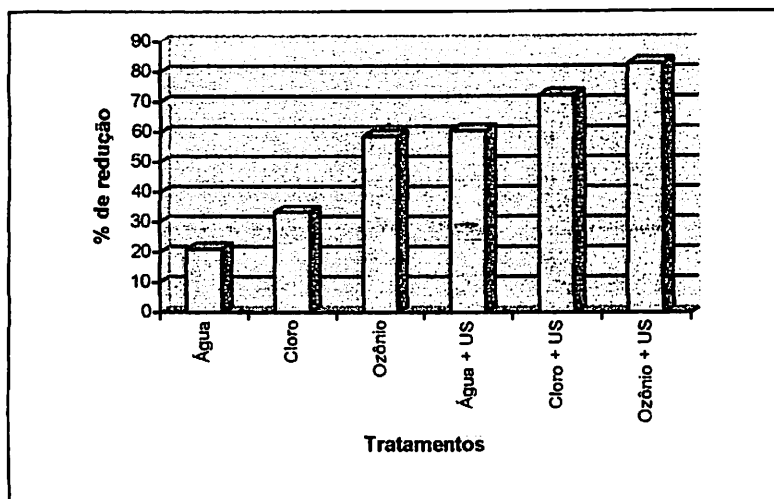


FIGURA 9 Porcentagem de redução de fungos filamentosos e leveduras nos tratamentos propostos.

A detecção de *Staphylococcus coagulase* positivos nos alimentos é interpretada, em geral, como indicativo de contaminação a partir da pele, boca, e das fossas nasais dos manipuladores de alimentos, bem como da limpeza e da sanificação inadequada dos materiais e dos equipamentos. Considerando o processamento de aves, os *Staphylococcus* estão bastante relacionados com a contaminação do maquinário. Especialmente as depenadoras são facilmente contaminadas por esse microrganismo (Siqueira, 1995; Carvalho, 1999; Castillo, 1997).

Observando-se a Figura 10 nota-se que os tratamentos com água hipercolorada e água ozonizada produziram reduções percentuais menores que um ciclo  $\log_{10}$  na contagem de *Staphylococcus coagulase* positivos, apresentando as mesmas, em média, respectivamente, 35,29% e 70,00%. Porém, os mesmos tratamentos conjugados ao ultra-som produziram, em média,

respectivamente, 88,89% e 100,00% de redução. Deve-se ressaltar que dois ciclos  $\log_{10}$  do microrganismo foram inativados após o tratamento simultâneo, com o ozônio e ultra-som. Este fato evidencia o aumento da eficiência do ozônio, quando combinado às ondas ultra-sônicas.

Bolton et al. (1988) *apud* Block (1991) mostraram que cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas de vários equipamentos de abatedouros foram oito tempos mais resistentes ao cloro do que aquelas isoladas da microbiota natural da pele humana. Como se pôde verificar no presente estudo, os *Staphylococcus* coagulase positivos detectados também apresentaram pequena sensibilidade ao composto clorado utilizado. Entretanto, a conjugação do ultra-som à água hiperclorada aumentou efetivamente a capacidade do DCIS em eliminar o microrganismo.

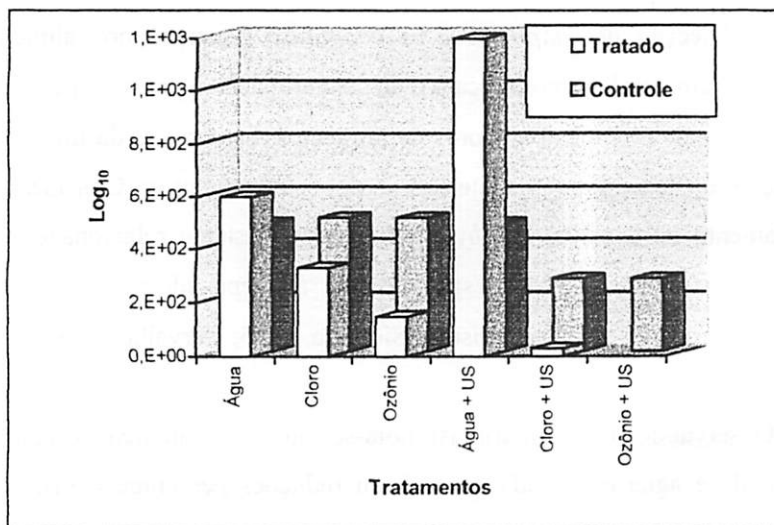


FIGURA 10 Detecção média ( $\log_{10}$ ) de *Staphylococcus* coagulase positivos em carcaças controles e tratadas.

Situações diferentes foram observadas nos tratamentos com água potável e água potável e ultra-som em relação aos *Staphylococcus* coagulase positivos aderidos à pele das amostras. Como demonstrado na Figura 10, o processamento das amostras com água potável proporcionou um aumento médio de 25% de detecção do microrganismo, ou seja, o número médio de *Staphylococcus* coagulase positivos passou de  $4,8 \times 10^2$  para  $6,0 \times 10^2$  UFC/g do produto. Quando se aplicou o ultra-som em meio aquoso, o aumento na detecção foi bem maior, em média, de 150%, ou seja, o número médio do microrganismo passou de  $4,8 \times 10^2$  para  $1,2 \times 10^3$  UFC/g do produto.

Vários autores relatam que o resfriamento por imersão em tanques de *chiller*, contendo apenas água potável, pode ser responsável por causar contaminações cruzadas entre as carcaças (Thomson et al., 1975; Cunningham & Cox, 1987; Almeida & Silva, 1992; Blank & Powell, 1995).

Acredita-se que o aumento nas contagens médias de *Staphylococcus* coagulase positivos nas amostras tratadas deva-se em parte, ao fato acima relatado. Outro fator que deve ser considerado é o tipo de agrupamento deste microrganismo, cujo tratamento com água pode contribuir para a dispersão das células.

Reddy et al. (1978), estudando os efeitos do resfriamento e posterior congelamento de carcaças de perus em relação à sobrevivência de microrganismos, depararam com situação semelhante. Estes autores verificaram que os *Staphylococcus* coagulase positivos persistiram na superfície das carcaças durante todo o processamento e mesmo após o congelamento.

Pôde-se constatar também que quando o tratamento das amostras foi realizado com água conjugada ao ultra-som, o percentual médio de aumento foi muito grande. Possivelmente, as ondas ultra-sônicas auxiliam mais ainda na disseminação das células microbianas agrupadas.

Datta (2002) considera que o ultra-som facilita o deslocamento de

microrganismos aderidos à pele do frango. O número médio de *Staphylococcus* coagulase positivos nas amostras pode ter aumentado em função da desagregação das colônias do microrganismo aderidas à pele da ave e de uma ineficiente ação das ondas ultra-sônicas, isoladamente, frente ao microrganismo estudado.

Doyle (1999), estudando os danos provocados na célula microbiana pelo aumento da pressão hidrostática, verificou que entre as bactérias Gram-positivas, a *Listeria* é a mais sensível, porém, as demais são bastante resistentes e que o *Staphylococcus aureus* é altamente barotolerante. Possivelmente, a ineficácia do ultra-som, aplicada de forma isolada, sobre os *Staphylococcus* coagulase positivos, se deva, em parte, a essa observação.

Porém, o uso da tecnologia do ultra-som, conjugada aos desinfetantes químicos, apresentou efeito sinérgico para ambos processos, fato que pode ser constatado na Figura 10 e que foi anteriormente descrito por Datta (2002) e Lillard (1993; 1994).

A *Salmonella* pode ser proveniente das próprias matérias-primas contaminadas, das técnicas de processamento e também de manipuladores portadores intestinais do agente (Associação Brasileira das Empresas de Refeições Coletivas-ABERC, 1999).

O trato intestinal de aves, principalmente galinhas e perus, é um dos principais reservatórios naturais da *Salmonella* (Silva, 1998). A salmonelose é uma das mais prevalentes e mais sérias doenças de origem alimentar e está freqüentemente associada ao consumo de carne de aves. Levantamentos estatísticos de diferentes países têm mostrado que 30% a 50% das carcaças de frango congeladas ou refrigeradas estão contaminadas com este microrganismo (Silva, 1998; Carvalho et al., 2002; Fries, 2002).

A inabilidade dos abatedouros, de diferentes partes do mundo, em livrar a carne de frango da contaminação por *Salmonella* e outros patógenos

alimentares é suficiente para justificar a pesquisa envolvendo sanificantes alternativos (ICGFI, 1999).

Observando-se a Figura 11, constata-se que entre 33,33% e 50,00% das amostras controles analisadas, nos diferentes tratamentos, apresentavam-se contaminadas pela *Salmonella* sp.

Em relação ao efeito dos tratamentos sobre as meias carcaças de frango resfriadas, pode-se visualizar na Figura 11, que o tratamento com água potável reduziu em 33,34% o percentual médio de amostras positivas, ou seja, de 50,00% para 33,33%. Porém, o tratamento com o dicloroisocianurato de sódio produziu efeito exatamente contrário, ou seja, proporcionou um aumento na detecção do microrganismo, da ordem de 50,02%, tendo o número de carcaças positivas passado de 33,33% para 50,00%. Por outro lado, a aplicação do ozônio no *chiller* reduziu em 100,00% o percentual médio de amostras positivas, ou seja, o mesmo passou de 50,00% para 0,00%. Após o tratamento com a água ozonizada, a *Salmonella* sp não foi mais isolada nas carcaças.

Em todos os tratamentos conjugados ao ultra-som houve inativação de 100,00% das células de *Salmonella* sp presentes nas amostras, o que evidencia a eficiência das ondas ultra-sônicas frente a esta bactéria.

Sheldon & Brown (1986) observaram redução de 48% no número de *Salmonella*, quando resfriaram carcaças de frango em água potável, durante 45 minutos.

Esses autores, ao repetirem o experimento utilizando água ozonizada (3,0 a 4,5 mg/L), verificaram, então, uma redução de 81% no número de *Salmonella* sp/100mL de rinse.

Assim como nos experimentos de Sheldon & Brown (1986), o presente estudo também constatou o efeito positivo do ozônio sobre as células de *Salmonella*.

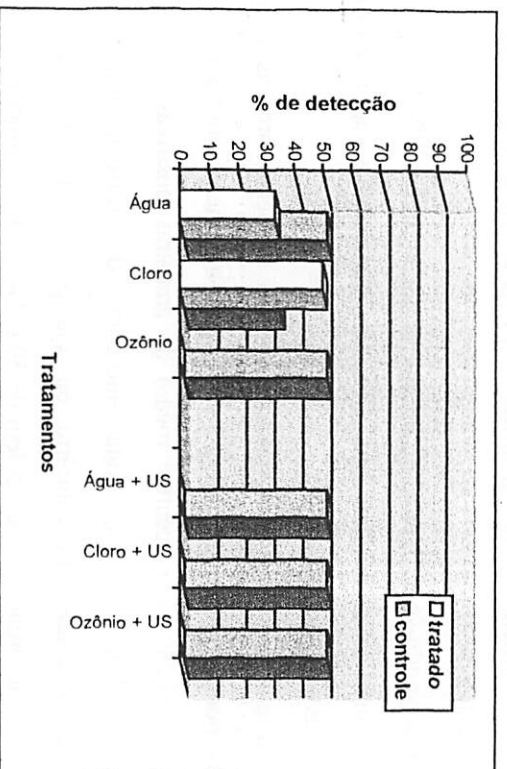


FIGURA 11 Percentagem média de detecção de *Salmonella* sp em carcaças de frango controles e tratadas.

Dougherty (1974) detectou, em seus experimentos, que o uso de cloro em concentrações menores que 8 mg/L, em água de *chiller*, não reduziu significativamente, o nível de *Salmonella* na superfície de carcaças de frango congeladas. O mesmo autor descreveu que o benefício do efeito do cloro em água de *chiller* está em reduzir a contaminação cruzada entre as carcaças. Esta última observação é também relatada pelo ICMSF (1997) e pelo SCVPH (1998).

Silva (1998) relata que as bactérias pertencentes à microbiota da pele da ave, aquelas que estão firmemente aderidas ou incrustadas na cutis, são de difícil remoção.

Considerando que o número de *Salmonella*, após a lavagem de carcaças de frango em água clorada, é alto, Mokgatha et al. (1998) utilizaram cepas do microrganismo, isoladas de diferentes abatedouros e as testou frente ao ácido hipocloroso. Estes autores cultivaram essas bactérias em meio de cultura

contendo 72 mg/L de HOCl, evidenciando que algumas cepas de *Salmonella* crescem, mesmo na presença de elevada concentração de ácido hipocloroso, principal elemento de desinfecção dos produtos clorados.

Vale lembrar que a legislação brasileira permite a hipercloração da água de *chiller*, resultando em um residual máximo de 5 mg/L (Brasil, 1999b).

James et al. (1992) confirmam as observações de Lillard (1989) e Dougherty (1974) de que os produtos clorados em água de *chiller* são mais letais para as células de *Salmonella* quando presentes na água de processamento do que quando estas estão aderidas à pele das aves. Neste caso, o acesso de produtos químicos é dificultado.

A cloração da água do tanque de *chiller*, segundo James et al. (1992), não reduz a detecção de *Salmonella* em carcaças (ou melhor, pode aumentar). Este fato foi também observado na atual pesquisa, na qual, conforme a Figura 7, pode-se constatar que o percentual de carcaças positivas para o microrganismo passou de 33,33% (antes do tratamento) para 50% após o resfriamento das carcaças em água hiperclorada (3,0 a 3,5 mg/L).

Mead & Thomas (1973) também observaram ineficácia do cloro sobre a *Salmonella*, pois, após o resfriamento, houve prevalência das carcaças positivas para o microrganismo. Em sua pesquisa, Sanders & Blackshear (1971) verificaram apenas pequeno efeito do cloro, em concentração de 40 mg/L, na redução de amostras positivas para a *Salmonella*. Kotula et al. (1967) lavaram carcaças após o resfriamento com água contendo 50 mg/L de cloro e não houve redução na proporção de amostras positivas para a *Salmonella*.

Há que se considerar que o aumento na detecção de carcaças positivas para a *Salmonella* sp, verificado no presente ensaio após o tratamento com dicloroisocianurato de sódio, possa estar também relacionado a um problema de ordem microbiológica, ou seja, possivelmente, a substância pode ter inativado competidores dessa bactéria, facilitando assim a sua detecção.

Todavia, outros estudos têm encontrado redução da contaminação por *Salmonella* em 0,5 a 1,0 ciclo  $\log_{10}$  quando o cloro é adicionado à água do *chiller* (Patterson, 1968; May, 1974).

Entretanto, segundo Dixon & Pooley (1961) grandes reduções na contaminação de carcaças por *Salmonella* têm sido encontradas somente em ensaios de laboratórios. Estes autores citam, como exemplo, que a eliminação desse microrganismo inoculado artificialmente em carcaças pode ser verificada com a aplicação de cloro na concentração de 200 mg/L por 10 minutos.

Estudos recentes realizados nos Estados Unidos mostram que a concentração necessária de cloro ativo na água do *chiller*, para que haja uma redução de 99,9% da carga microbiana da carcaça de frango, é de 1200 mg/L. Todavia, concentrações dessa ordem tornam-se impraticáveis por modificarem as características organolépticas da carne e gerarem altos níveis de subprodutos halogenados potencialmente cancerígenos (Christo, 2002).

Devido ao pequeno ou nulo efeito do cloro em bactérias firmemente aderidas à pele do frango, pesquisas estão sendo direcionadas para a combinação de tratamentos, químicos e físicos, tais como cloração e ultra-som (ICGFI, 1999).

Lillard (1993; 1994) estudou o efeito da cloração (0,5 mg/L) e da utilização de ondas ultra-sônicas, aplicadas por 30 minutos, sobre a *Salmonella typhimurium*, artificialmente inoculada em carcaças de frango. O autor concluiu que a aplicação isolada do ultra-som desloca as células bacterianas da pele da ave, reduzindo a contagem por 1,0 a 1,5 ciclo  $\log_{10}$  e, que a combinação cloração e ultra-som é mais efetiva, pois reduziu a contagem do microrganismo por 2,4 a 3,9  $\log_{10}$ .

Considerando o presente estudo, pôde-se observar que a ação do ultra-som, isolada ou combinada aos sanificantes químicos, é muito efetiva para o controle de *Salmonella* sp em carcaças de frango. Em ambos os casos, o

microrganismo não foi mais detectado.

O uso de *Pseudomonas aeruginosa* tem sido sugerido como indicador de contaminação. A presença deste microrganismo no trato intestinal das pessoas, assim como suas características fisiológicas, levam a um possível indicador de contaminação fecal (Carvalho, 1999).

As bactérias pertencentes ao gênero *Pseudomonas* isoladas de aves normalmente são originárias da pele, pés, intestinos ou outras partes do animal, assim como da água, do gelo e dos equipamentos utilizados no processamento (Toule & Murphy, 1978).

De acordo com Russel (1997), as contagens de psicrotóxicos e de *Pseudomonas* sp são consideradas os meios aceitáveis de se prever o potencial de vida de prateleira de frangos processados.

A Figura 12 apresenta o efeito dos tratamentos processados em relação à pesquisa de *Pseudomonas* sp. Pode-se notar, por meio da mesma, que o resfriamento com água potável promoveu uma redução média de 33,34% no percentual de carcaças positivas, ou seja, a detecção do microrganismo passou de 50,00% para 33,33%; entretanto, o processamento com água hiperclorada não proporcionou resultado semelhante, sendo observado, na realidade, um aumento médio de 66,66% no percentual de amostras positivas para o microrganismo. Desse modo, o número de carcaças positivas passou de 50,00% para 83,33%. Por outro lado, a utilização do ozônio em meio aquoso produziu uma redução média de 100,00% de positividade das carcaças, não tendo sido mais isolada esta bactéria após o referido tratamento.

Assim como no caso da dificuldade encontrada para produtos clorados em inativar *Salmonella* sp em carcaças de frango, fato observado por James et al. (1992), Mead & Thomas (1973), Dougherty (1974), Lillard (1989) entre outros, o mesmo se repete para a *Pseudomonas* sp.

Allen et al. (2000) registram que o resfriamento de carcaças de frango

por meio da imersão em tanques de *chiller*, contendo entre 20 a 45 mg/L de cloro, durante 40 minutos, diminui as contagens de aeróbios mesófilos e coliformes, embora o número de *Pseudomonas* sp tenda a aumentar.

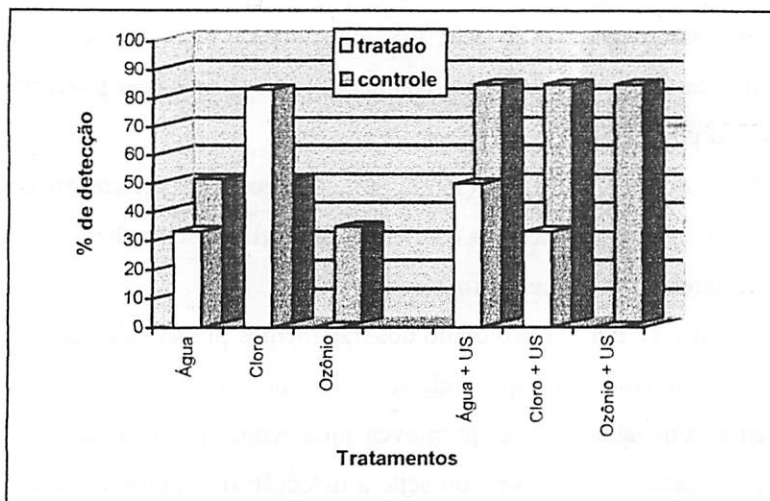


FIGURA 12 Porcentagem média de detecção de *Pseudomonas* sp em carcaças de frango, controles e tratadas.

Langsrud & Sundheim (1997) avaliaram o efeito do cloreto de benzalcônio (BC) em *Pseudomonas* isoladas de carcaças de frango, verificando que cerca de 30% das cepas foram capazes de crescer na presença de 200 mg/L de BC.

A mesma observação feita anteriormente, no caso do ensaio com a *Salmonella* sp em relação ao dicloroisocianurato de sódio, deve ser novamente relatada, ou seja, existe a possibilidade da água hiperclorada ter inativado competidores da *Pseudomonas* sp, facilitando assim sua detecção nas amostras.

Observando-se outra vez a Figura 12, visualiza-se que a utilização dos

tratamentos acima descritos, conjugados ao ultra-som, produziu, em média, as seguintes reduções do número de amostras positivas: água e US, de 83,33% para 50,00%; cloro e US, de 83,33% para 33,33% e ozônio e US, de 83,33% para 0,00%.

Dessa forma, pode-se constatar que a utilização do ultra-som em meio aquoso implicou em inativação média de 40,00% das células de *Pseudomonas*. A sua combinação com os sanificantes químicos empregados no estudo, cloro e ozônio, produziu efeito sinérgico, reduzindo, respectivamente, em 60,00% e 100,00%, o isolamento do microrganismo. Verifica-se, então, que as ondas ultrassônicas podem auxiliar no controle de *Pseudomonas* sp em carcaças de frango.

A aplicação do ozônio, isoladamente ou conjugado às ondas ultrassônicas, foi 100% efetiva para o controle do microrganismo pesquisado.

De acordo com os resultados apresentados nas Figuras 5 a 12, dentre os tratamentos isolados, os mais efetivos para a redução dos microrganismos estudados foram os seguintes: para os aeróbios mesófilos (ozônio, 89,85%), psicrotróficos (ozônio e cloro demonstraram ação semelhante, ou seja, reduziram, respectivamente, 75,45% e 75,00%), coliformes totais (ozônio, 78,95%), *E. coli* (ozônio e cloro foram equivalentes, 75,00%), fungos filamentosos e leveduras (ozônio, 58,62%), *Staphylococcus* coagulase positivos (ozônio, 70%), *Salmonella* sp (ozônio, 100,00%) e *Pseudomonas* sp (ozônio, 100,00%). Dessa forma, pode-se considerar que, nessa bateria de testes, o processamento das amostras com água ozonizada mostrou ser o tratamento mais efetivo.

Observando-se novamente as Figuras anteriormente citadas, verifica-se que, nos tratamentos conjugados ao ultra-som, os processos mais efetivos para a inativação dos microrganismos estudados foram: para os aeróbios mesófilos (cloro e ozônio eliminaram mais que 90% das células microbianas, respectivamente, 91,96% e 96,67%), psicrotróficos (ozônio, 89,72%), coliformes

totais (cloro e ozônio reduziram, respectivamente, 90,00% e 94,65%), *E. coli* (ozônio, 90,48%), fungos filamentosos e leveduras (ozônio, 82,73%), *Staphylococcus* coagulase positivos (ozônio, 100,00%), *Salmonella* sp (água potável, cloro e ozônio foram equivalentes, conjugados ao ultra-som eliminaram em 100,00% o microrganismo) e *Pseudomonas* sp (ozônio, 100,00%).

Considerando todos os tratamentos realizados para a sanificação das meias carcaças de frango, pôde-se observar que a água ozonizada, aplicada de forma isolada ou combinada ao ultra-som, foi o mais efetivo descontaminante.

A conjugação da tecnologia do ultra-som aos sanificantes químicos, dicloroisocianurato de sódio e ozônio, proporcionou efeito sinérgico para ambos processos.

Para a *Salmonella* sp, a combinação das ondas ultra-sônicas a qualquer um dos métodos propostos implicou em 100% de inativação.

Além do efeito isolado das ondas ultra-sônicas, em meio aquoso, sobre a *Salmonella* sp (100,00%), deve-se destacar também a sua ação sobre os aeróbios mesófilos (89,13%), coliformes totais (81,73%), *E. coli* (84,05%) e fungos e leveduras (60,61%).

Por outro lado, faz-se necessário observar a ineficácia do ultra-som (ou até aumento da detecção) sobre os *Staphylococcus* coagulase positivos. Fato semelhante também foi verificado no tratamento com água hiperclorada em relação às células de *Salmonella* sp e *Pseudomonas* sp.

## 5.2 Vida de prateleira

A vida útil das amostras (meias-carcaças de frango) foi avaliada por meio da quantificação de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos, pois a multiplicação destes nos alimentos origina a perda da qualidade dos mesmos. A mesma foi também verificada em função das características organolépticas visíveis da deterioração, presença de odor e limo (Franco &

Landgraf, 1996; Cotta, 1997, Castillo et al., 2002; Forsythe, 2002).

De acordo com o International Commission on Microbiological Specifications for Foods-ICMSF (1980), as carcaças de frango são consideradas impróprias para consumo quando atingem o nível de  $10^7$ UFC/g de microrganismos aeróbios mesófilos ou psicrotróficos, que é o limite para iniciar o aparecimento de odor e limosidade.

Segundo Ritter (2000), a carne de frango geralmente é considerada deteriorada, quando os níveis de microrganismos chegam ao redor de  $10^6$  a  $10^7$ UFC/cm<sup>2</sup> na superfície da pele.

Sobre os indicadores de vida de prateleira, Forsythe (2002) descreve que, para a carne crua, é apontada a contagem de aeróbios mesófilos em placas, cujo limite sugerido é de  $1 \times 10^6$ UFC/g. Relata ainda que a deterioração visível e/ou limo ocorre a partir de  $10^7$ UFC/g.

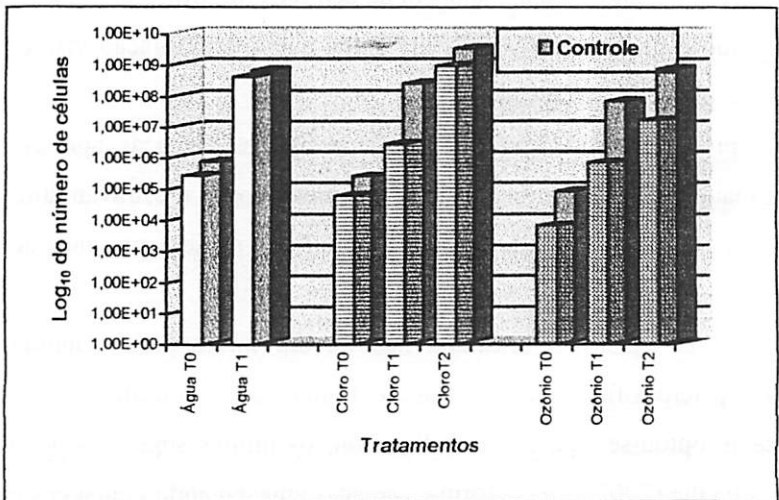
No presente estudo, pode-se observar que as carcaças apresentando contagem maior que  $1 \times 10^6$ UFC/g de aeróbios mesófilos já mostravam alteração de odor e, a partir de  $10^7$ , a deterioração já era visível, ou seja, presença de odor e limo.

Como na legislação brasileira não há um limite para o número de mesófilos e psicrotróficos em carcaças de frango, após consultar a literatura especializada, optou-se aqui por trabalhar com os limites sugeridos por Ritter (2000) e Forsythe (2002). Dessa forma, carcaças apresentando contagens menor ou igual a  $1 \times 10^6$ UFC/g foram consideradas dentro das condições higiênico-sanitárias aceitáveis e aquelas com contagem maior que  $1 \times 10^6$ UFC/g foram consideradas inadequadas para o consumo (deterioradas) e sem condições higiênicas satisfatórias. Desse modo, estabeleceu-se a vida útil do produto sob as condições do experimento.

De acordo com a Figura 13, pode-se notar que todas as amostras controles dos diferentes tratamentos apresentaram-se deterioradas com cinco

dias de estocagem (T1), pois a contagem média de aeróbios mesófilos encontrava-se entre  $10^7$  e  $10^8$ UFC/g do produto. Foi constatado ainda que as mesmas já apresentavam odor desagradável e limo.

Amostras tratadas apenas com água potável também se apresentaram deterioradas aos cinco dias de estocagem (T1), quando a contagem média de aeróbios mesófilos situava-se em torno de  $10^8$ UFC/g da carne, especificamente em  $4,5 \times 10^8$ UFC/g.



T0 = 1 dia de estocagem T1 = 5 dias de estocagem T2 = 10 dias de estocagem

FIGURA 13 Contagem média ( $\log_{10}$ ) de microrganismos aeróbios mesófilos em carcaças controles e tratadas (T0, T1 e T2), sem ultra-som.

Para as amostras processadas com água hipercloreada, aos cinco dias de estocagem, a contagem dos aeróbios mesófilos encontrava-se, em média, em  $3,0 \times 10^6$ UFC/g do produto, apresentando sinais iniciais de deterioração, ou seja, alteração de odor. Estas carcaças foram consideradas sem condições higiênico-

sanitárias satisfatórias.

As meias carcaças tratadas com água ozonizada apresentaram maior vida útil em relação aos aeróbios mesófilos. No T1 de análises, a contagem média desses microrganismos era de  $7,3 \times 10^5$ UFC/g.

Porém, no T2 (10 dias), as contagens das amostras tratadas com cloro e ozônio estavam, em média, respectivamente, em torno de  $10^9$  e  $10^7$ , já apresentando cheiro desagradável e a maioria, limo.

Aos quinze dias (T3) não foram realizados os ensaios microbiológicos porque 100% das amostras já se encontravam em estágio avançado de deterioração.

A Figura 14 apresenta os resultados da contagem média de aeróbios mesófilos para as carcaças controles e para as amostras que foram submetidas aos tratamentos com água potável, água hiperclorada e água ozonizada, todos conjugados ao ultra-som.

Pôde-se verificar que, aos cinco dias de estocagem (T1), as análises microbiológicas de todas as amostras controles demonstraram que as contagens médias de aeróbios mesófilos situavam-se entre  $10^8$  e  $10^9$ UFC/g, apresentando, as mesmas, cheiro desagradável e limo.

As amostras tratadas com água potável e ultra-som (US) apresentavam, em média, no T1, cerca de  $10^8$ UFC/g; enquanto que as tratadas com cloro e US e ozônio e US apresentavam, respectivamente,  $10^6$ UFC/g do produto ( $2,1 \times 10^6$  UFC/g e  $1,6 \times 10^6$ UFC/g).

Aos dez dias de estocagem (T2), não foram realizadas as análises porque 100% das amostras encontravam-se visivelmente deterioradas.

Considerando-se os resultados apresentados na Figura 14, duas observações fazem-se necessárias. Primeiro, que a execução dos testes conjugados ao ultra-som foram realizados em períodos mais quentes do ano, ou seja, entre os meses de janeiro a abril, enquanto os ensaios sem utilização do

ultra-som realizaram-se entre maio e setembro. Este fato pode ter favorecido para que a contagem inicial de aeróbios mesófilos nas carcaças ficasse um pouco mais elevada, contribuindo assim para a diminuição da vida de prateleira das amostras. Esta observação está relacionada com os relatos de Ayres et al. (1950), os quais explicam que a vida de prateleira é muito dependente do nível inicial de microrganismos presentes nas carcaças.

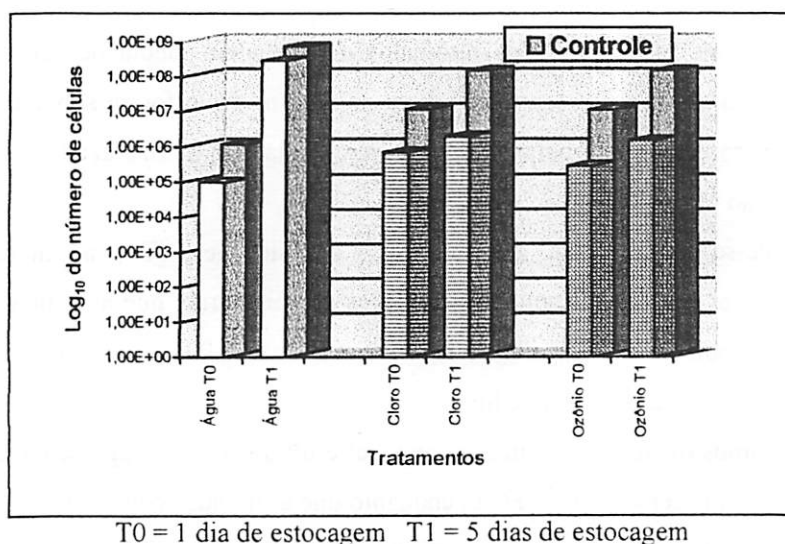


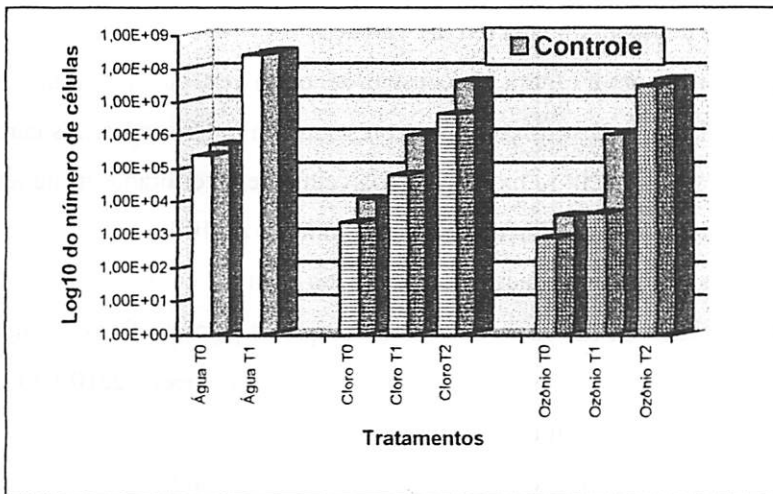
FIGURA 14 Contagem média ( $\log_{10}$ ) de microrganismos aeróbios mesófilos em amostras controles e tratadas (T0 e T1), com ultra-som.

Entretanto, deve-se esclarecer que, no laboratorial, as temperaturas nos experimentos e na estocagem das amostras foram rigorosamente controladas. Porém, anteriormente à aquisição das carcaças, estas poderiam ter sofrido influências não controláveis de tempo e temperatura.

A segunda observação seria em relação ao efeito mecânico de ultra-som,

pois o mesmo pode ter atuado sobre a película protetora da pele das aves, favorecendo o desenvolvimento microbiano. Esta observação está embasada em Castillo (1997), que relata que as altas temperaturas ( $>58^{\circ}\text{C}$ ) nos tanques de escaldagem podem reduzir a vida útil de carcaças de frango, por remoção da cutícula protetora, fazendo com que as mesmas fiquem mais suscetíveis ao crescimento de bactérias contaminantes.

Em relação aos microrganismos psicrotróficos, pode-se visualizar na Figura 15, que com cinco dias de estocagem (T1) das carcaças, sob refrigeração a  $1,5^{\circ}\text{C}\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , as amostras controles e tratadas do processamento com água potável apresentavam contagens médias dos mesmos no patamar de  $10^8\text{ UFC/g}$  do produto, sendo, portanto, consideradas deterioradas.



T0 = 1 dia de estocagem T1 = 5 dias de estocagem T2 = 10 dias de estocagem

FIGURA 15 Contagem média ( $\log_{10}$ ) de microrganismos psicrotróficos em amostras controles e tratadas (T0, T1 e T2), sem ultra-som.

Neste mesmo tempo de análise, as carcaças provenientes do resfriamento adicionado de cloro ou ozônio, apresentavam-se satisfatórias, pois a contagem média destes microrganismos situava-se, respectivamente, em  $6,7 \times 10^4$  e  $4,7 \times 10^4$  UFC/g do produto. Para os respectivos tratamentos em discussão, os psicrotróficos passam a ser problema a partir do décimo dia de estocagem (T2), atingindo, em média, as respectivas contagens  $4,5 \times 10^6$  e  $3,2 \times 10^7$  UFC/g de amostra, sendo que a de alteração de odor já era detectada nas meias carcaças.

No terceiro tempo de estocagem, 100% das amostras restantes encontravam-se deterioradas.

Sobre os microrganismos psicrotróficos, pôde-se constatar, na Figura 6 anteriormente inserida, que o ultra-som produziu um efeito sinérgico nas reduções destes, em amostras tratadas com água potável e ozônio. Entretanto, observando-se a Figura 16, verifica-se que o efeito do ultra-som em relação à contagem de psicrotróficos e à vida de prateleira das amostras não foi o mesmo, pois não houve aumento da vida útil das carcaças.

De acordo com a Figura 16, constata-se, outra vez, que, no quinto dia de estocagem, todas as amostras controles apresentavam deterioradas. As carcaças tratadas com água também se mostravam visivelmente deterioradas neste tempo, estando as contagens destes microrganismos em torno de  $10^8$  UFC/g.

Para as amostras tratadas com cloro ou ozônio, combinados ao ultra-som, pode-se observar, por meio da Figura 16, que os psicrotróficos alcançaram no T2 de análise, em ambas as situações, a contagem média de  $10^6$  UFC/g da carne de frango, especificamente ( $6,6 \times 10^6$  para o cloro e  $1,5 \times 10^6$  para o ozônio), sendo que todas as meias carcaças já demonstravam alteração de odor. No terceiro tempo de estocagem, todas as amostras restantes apresentavam-se visivelmente deterioradas.

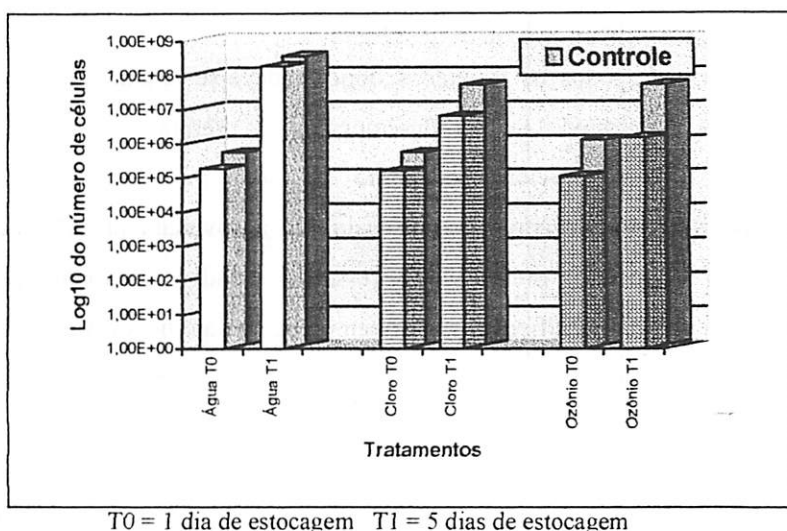


FIGURA 16 Contagem média ( $\log_{10}$ ) de microrganismos psicrotróficos em amostras controle e tratadas (T0 e T1), com ultra-som.

Segundo Xavier & Beraquet (1993) e Figueiredo (1999), a carne de frango pode ter sua vida útil limitada a apenas três dias (72h), quando estocada aerobicamente, em temperatura de refrigeração, ou seja, entre 0° e 4°C. Após este período, ocorrem os primeiros sinais de deterioração, sendo evidenciados com o aparecimento de odores estranhos e de um limo superficial. Estas alterações são ocasionadas basicamente pelo crescimento de bactérias Gram-negativas (Xavier & Beraquet, 1993).

Considerando esta afirmação e os indicadores de prateleira sugeridos pelo ICMSF (1980), Franco & Landgraf (1996), Ritter (2000) e Forsythe (2002), constata-se, ao analisar os efeitos dos tratamentos realizados sobre as contagens de aeróbios mesófilos e psicrotróficos nos diferentes tempos de avaliação, que o resfriamento utilizando água ozonizada foi o mais efetivo em relação à vida útil das carcaças. O mesmo prolongou a vida de prateleira das amostras entre 02 e 06 dias, pois estas foram consideradas deterioradas no décimo dia de estocagem.

Porém, não foi possível determinar o momento exato da deterioração para as amostras tratadas com água ozonizada.

Analisando todos os resultados obtidos, deve-se relatar que embora o ozônio tenha apresentado melhor desempenho no presente ensaio, todos os sanificantes testados, dicloroisocianurato de sódio, ozônio e ultra-som, representam tecnologias com alto potencial de aproveitamento na indústria processadora de aves. Porém, são necessários estudos adicionais para as definições da correta dose/freqüência, do tempo de contato necessário e da etapa ideal de aplicação para otimização desses processos.

## 6 Conclusões

Dentre os processos alternativos utilizados para a sanificação de carcaças de frango, a água ozonizada, aplicada de forma isolada ou combinada ao ultra-som, foi o mais efetivo descontaminante.

Apesar do tratamento com água ozonizada, combinada ao ultra-som, ter apresentado maior capacidade de descontaminação das carcaças, os ensaios realizados durante a estocagem das amostras evidenciaram que o resfriamento das mesmas em água ozonizada, sem a utilização ultra-som, foi o mais efetivo para prolongar a vida útil das carcaças.

Nas condições em que a pesquisa foi realizada, o resfriamento das carcaças em água ozonizada reduziu microrganismos patogênicos e deteriorantes (*Salmonella* sp, *Staphylococcus* coagulase positivos e *Pseudomonas* sp), sendo que as carcaças foram consideradas deterioradas no terceiro tempo de análises, ou seja, carcaças processadas com água ozonizada apresentaram contagens de aeróbios mesófilos e psicrotróficos acima dos níveis aceitáveis no décimo dia de estocagem.

## 7 Referências bibliográficas

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS EMPRESAS DE REFEIÇÕES COLETIVAS. **Manual Aberc de práticas de elaboração e serviço de refeições para coletividades**. 5.ed. São Paulo, 1999. 203p.

ALLEN, V. M. et al. Hygiene aspects of modern poultry chilling. **International Journal of Food Microbiology**, n. 58, p. 39-48, 2000.

ALMEIDA, P. F.; SILVA, E. N. Estudos sobre o controle e disseminação bacteriana em carcaças de frangos de abatedouros industriais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 44, n. 22, p. 105-120, 1992.

ALMEIDA, P. F.; SILVA, E. N.; ALMEIDA, R. C. C. Contaminação e disseminação bacterianas de carcaças de frango em abatedouros. **Higiene Alimentar**, v. 7, n. 2, p. 12-17, 1993.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for examination of water and wastewater**. 18<sup>th</sup>ed. Washington, 1992.

ARKANSAS AGRICULTURE EXPERIMENTAL STATION. **Executive Summary for Conagra**. Murray Hill, NJ: BOC Gases, 1997.

AYRES, J. C.; OGILVY, W. S.; STEWART, G. F. Post mortem changes in stored meats. I. Microorganisms associated with development so slime on eviscerated cut-up poultry. **Food Technology**, v. 4, n. 5, p. 199-205, 1950.

BAUTISTA, D. A. et al. The determination of efficacy of antimicrobial rinses on turkey carcasses using response surface designs. **International Journal of food Microbiology**, v. 34, n. 3, p. 279-292, 1997.

BLANK, G.; POWELL, C. Microbiological and hydraulic evaluation of immersion chilling for poultry, **Journal of Food Protection**, v. 58, n. 12, p.1386-1388, 1995.

BLOCK, S. S. **Disinfection, sterilization, and preservation**. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia, PA: Lea & Febiger, 1991. 1162p.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Métodos de análise microbiológica para alimentos**. 2.ed.rev.136p. Brasília, 1991/1992.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n.150. Autoriza a inclusão do ácido dicloroisocianúrico e seus sais de sódio e potássio. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 1999a.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria n.210. Inspeção tecnológica e higiênico-sanitária de carnes de aves. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, n.43, 05 mar. 1999b. Seção 1.

BRESSAN, M. C.; PEREZ, J. R. O. **Tecnologia de carnes e pescados**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 240p.

CAMPBELL, D. F. et al. The microbiology of raw eviscerated chickens: a ten year comparison. **Poultry Science**, v. 62, p. 437-444, 1983.

CARDOSO, C. C. **Avaliação microbiológica da eficiência de um processo de sanitização de latões de leite com o ozônio**. 1999. 78p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde)-Universidade de Alfenas, Alfenas.

- CARDOSO, W. M.; SILVA, G. G.; CANO, V. **Análise microbiológica de alimentos**. 2.ed. [S.l.]: Merck, 1989.
- CARVALHO, E. P. **Microbiologia de alimentos**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1999.
- CARVALHO, L. T.; COSTA, P. S.; CARVALHO, A. L. T. Análise de perigos e pontos críticos de controle na linha de produção de frango inteiro congelado. **Higiene Alimentar**, v. 16, n.95, p. 34-42, 2002.
- CASTILLO, C. J. C. Pontos críticos no processo de abates de frangos. In: SEMINÁRIO E WORKSHOP “INDUSTRIALIZAÇÃO DA CARNE DE AVES”, 1997, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1997. p. 11-19.
- CASTILLO, C. J. C. et al. **Higiene e sanitização na indústria de carnes e derivados**. São Paulo: Varela, 2002. 181p.
- CENTORBI, O. N. P. Primer aislamiento de cepas de *Staphylococcus aureus* productores de toxina del síndrome de shock tóxico –I em manipuladores de alimentos em Argentina. **Rev. Arg. de Microbiologia.**, n. 22, p.142-145,1990.
- CHRISTO, C. H. Aplicação do ácido peracético na desinfecção de carcaças de frango. In: CASTILLO, C. J. C. **Higiene e sanitização na indústria de carnes e derivados**. São Paulo: Varela: 2002. p. 161-165.
- COSTA, F. N. **Sorotipos de Salmonella em carcaças e cortes de frango obtidos na indústria e no comércio e comportamento das cepas isoladas frente à ação de antimicrobianos**. 1996. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)-Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- COTTA, T. **Produção de carne de frango**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1997. 197p.

CUNNINGHAM, F. E.; COX, N. **The microbiology of poultry meat products**. San Diego: Academic, 1987. 359p.

DATTA, N. **Emerging food technologies and biotechnology lectures notes; ultrasonication**. Disponível em: <<http://library.uq.edu.au/bio/lectures/food4002-2002/ultrasonication.doc>>. Acesso em: 16 out. 2002

DIXON, J. M. S.; POOLEY, F. E. The effect of chlorination on chicken carcasses infected with salmonellae. **Journal of Hygiene**, Cambridge, v. 59, p. 343-348, 1961.

DOUGHERTY, T. J. *Salmonella* contamination in a commercial poultry (broiler) processing operation. **Poultry Science**, v. 53, n. 2, p. 814-821, 1974.

DOYLE, M. E. **Use of high pressure to control *Listeria* in meat**. Oct. 1999. p. 1-3. Disponível em: <<http://www.amif.org/Listeria%20ultrasound.Pdf>>. Acesso em: 06 maio 2003.

ELECTRIC POWER RESEARCH INSTITUTE. Membrane filtration and ozonation of poultry chiller overflow water: study of membrane treatment to reduce water use and ozonation for sanitation at a poultry processing plant in California. **Technical Report TR-114435**, Dec. 1999.

ELECTRIC POWER RESEARCH INSTITUTE. **Ozone applications in food processing initiative**. California: United States Institute of America, 2001.

FIGUEIREDO, R. M. **SSOP: padrões e procedimentos operacionais de sanitização**. São Paulo: Manole, 1999. 164p. (Coleção Higiene dos Alimentos, 1).

FIGUEIREDO, R. M. **As armadilhas de uma cozinha**. São Paulo: Manole, 2003. 228p. (Coleção Higiene dos Alimentos, 3).

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Department of Health and Human Services **Docket N. 00F-1482**. Secondary direct food additives permitted in food for human consumption PART 173. Sec.173.368. June 2001.

FORSYTHE, J. S. **Microbiologia da segurança alimentar**. Tradução de Maria Carolina M. Guimarães e Cristina Leonhardt. Porto Alegre: Artmed, 2002. 424p.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 182p.

FRIES, R. Reducing *Salmonella* transfer during industrial poultry meat production. **World's Poultry Science Journal**, v. 58, p 527-540, Dec. 2002.

GOETZ, H.; TERRA, N. N. Aumento da vida útil de carcaças de frango resfriadas. **Higiene Alimentar**, v. 12, n. 54, p. 51-57, 1998.

GRAHAM, D.M. Use of ozone for food processing. **Food Technology**, v. 51, n. 6, p. 72-75, 1997.

INTERNATIONAL CONSULTATIVE GROUP ON FOOD IRRADIATION. **Safety of Poultry Meat: From Farm to Table**. Vienna: ICGFI/BARC, 1999. 36p.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Microbial ecology of foods**. New York: Academic, 1980. v.2.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **APPCC na qualidade e segurança microbiológica de alimentos**. Tradução de Anna Terzi Giova. São Paulo: Varela, 1997. 377p.

INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. **Teste de eficiência de Aquatabs na desinfecção de verduras e frutas**. Campinas: ITAL, Laboratório de Microbiologia / Bayer Saúde, 1997.

JAMES, W. O. et al. Effects of chlorination of chill water on the bacteriologic profile of raw chicken carcasses and giblets. **Journal American Veterinary Association.**, v. 200, p. 60-63, 1992.

JOHNSTON, A. M. Foodborne illness. Veterinary sources of food illness. **Lancet**, n. 336, p. 856-858, 1990

KAESS, G.; WEIDEMANN, J. F. Ozone treatment of chilled beef. I. Effect of low concentrations of ozone on microbial spoilage and surface color of beef. **Journal Food Technology**, v.3 p. 325-334, 1968

KAESS, G.; WEIDEMANN, J. F. Effects of ultraviolet irradiation on the growth of microorganisms on chilled beef slices. **Journal of Food Technology**, v.8, p. 59-69, 1973.

KOTULA, A. W.; BANWART, G. J.; KINNER, J. A. Effect of postchill washing on bacterial counts of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 46, p. 1594-1597, 1967.

LANA, G. R. Q. **Avicultura**. São Paulo: Livraria e Editora Rural, 2000. 268p

LANGSRUD, S.; SUNDHEIM, G. Factors contributing to the survival of poultry associated *Pseudomonas* spp exposed to quaternary ammonium compound. **Journal of Applied Microbiology**, v. 82, n. 6, p. 705-712, 1997.

LEDERER, L. Intoxicações alimentares. In: \_\_\_\_\_. **Enciclopédia moderna da higiene alimentar**. São Paulo: Manole Dois, 1991. v.4.

LILLARD, H. S. Incidence and recovery of salmonellae and other bacteria from commercially processed poultry carcasses at selected pre –and post-evisceration steps. **Journal Food Protection**, v. 52, p. 127-150, 1989.

LILLARD, H. S. Bactericidal effect of chlorine on attached *Salmonella* with and without sonication. **Journal Food Protection**, v.56, p. 716-717, 1993.

LILLARD H. S. Decontamination of poultry skin by sonication. **Food Technology**, v. 48, n. 12, p.72-73, 1994.

MACEDO, J. A. B. **Água & Águas**. Juiz de Fora: Ortofarma, 2000. 505p

MACEDO, J. A. B.; BARRA, M. M. **Derivados clorados de origem orgânica uma solução para o processo de desinfecção de laticínios e para a desinfecção de água potável**. Disponível em:

<<http://www.aguaseguas.ufjf.br>>. Acesso em: 28 fev. 2003.

MARTINS, R. T. et al. Caracterização da microbiota psicotrófica deteriorativa em carcaças de frango sob efeito de soluções sanificadoras, na linha de produção de abatedouros industriais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 50, n. 3, p. 337-340, 1998.

MAY, K. N. Changes in microbial numbers during final washing and chilling of commercially slaughtered broilers. **Poultry Science**, v. 53, p. 1282-1285, 1974.

MEAD, C. G.; THOMAS, N. L. The bacteriological condition of eviscerated chickens processed under controlled conditions in a spin-chilling system and sampled by two different methods. **British Poultry Science**, v. 14, p. 413-419. 1973.

MOGKATA, R. M.; BROZEL, V. S.; GOUWS, P. A. Isolation of *Salmonella* resistant to hypochlorous acid a poultry abattoir. **Letters in Applied Microbiology**, v. 27, n. 6, p. 379-383, 1998.

PARRY, T. J.; PAWSEY, R. K. **Principles of microbiology for students of food technology**. 2<sup>nd</sup>.ed. Great Britain: Stanley Thornes, 1984. 214p.

PATTERSON, J. T. Chlorination of water used for poultry processing. **British Poultry Science**, v. 9, 129-133, 1968.

PELCZAR JR., M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. 2.ed. Tradução de Sueli Fumie Yamada, et al. São Paulo: Makron Books, 1997. 2 v.

PERALES, I.; GERCIA, M. I. The influence of pH and temperature on the behaviour of *Salmonella enteritidis* phase type 4 in homemade mayonnaise. **Letters in Applied Microbiology**, n. 10, p. 1-13, 1990.

PRODLOVE, R. K. **Os alimentos em debate; uma visão equilibrada**. Tradução de Anna Terzi Giova. São Paulo: Varela, 1996.

REDDY, K. V. et al. Effect of spin chilling and freezing on bacteria on commercially processed turkeys. **Journal Food Science**, v. 43, p.334-336, 1978.

REIBER, M. A. et al. Effect of litter condition on microbiological quality of freshly killed and processed broilers. **Poultry Science**, v. 69, p. 2128-2133, 1990.

RICE, R. G. et al. Ozone preservation of foods and foodstuffs. In: OZONE WORLD CONGRESS, 13., 1997, Kyoto, Japan. **Proceeding...** Kyoto, Japan: International Ozone Association, 1997. p.785-790.

RICHARDSON, S. D. et al. Chemical by-products of chlorine and alternative disinfectants. **Food Technology**, v. 52, n. 4, p. 58-61, Apr. 1998.

RITTER, R. **Contaminação bacteriana da água do sistema de pré-resfriamento de frangos e sua influência na vida de prateleira de frangos resfriados e refrigerados**. 2000. 88p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)-Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

RUSSEL, S. M. A rapid microbiological method for enumeration of *Pseudomonas fluorescens* from broiler chicken carcasses. **Journal of Food Protection**, v. 60, n. 4, p. 385-390, 1997.

SANDERS, D. H.; BLACKSHEAR, C. D. Effect of chlorination in the final washer on bacterial counts of broiler chicken carcasses. **Poultry Science**, v. 50, p. 215-219, 1971.

SANTOS, D. M. S. **Pesquisa de *Salmonella* em carcaças de frango congeladas utilizando diferentes meios de cultivo para o isolamento e avaliação de sensibilidade a agentes antimicrobianos**. 1998. 59p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)-Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

SCIENTIFIC COMMITTEE ON VETERINARY MEASURES RELATING TO PUBLIC HEALTH. **Benefits and limitations of antimicrobial treatments for poultry carcasses**. 30 Oct. 1998. Disponível em: <[www.http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scv/out14\\_em.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scv/out14_em.pdf)>. Acesso em: 18 mar. 2003.

SHELDON, B. W.; BROWN, A. L. Efficacy of ozone as a disinfectant for poultry carcasses and chill water. **Journal of Food Science**, v. 51, n. 2, p. 305-309, 1986.

SHELDON, B. W.; CHANG, Y. H. The Application of ozone and other physical processes for treating spent poultry chiller water. In: FOOD PROCESSING WASTE CONFERENCE, 1987, Atlanta, GA. **Proceedings ... Atlanta, GA, 1987.**

SILVA, J. A. Microrganismos patogênicos em carnes de frangos. **Higiene Alimentar**, v. 12, n. 58, p. 9-14, 1998.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2.ed. São Paulo: Varela, 2001. 317p.

SIQUEIRA, R. S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília: EMBRAPA-SPI; Rio de Janeiro: EMBRAPA-CTAA, 1995. 159p.

SURKIEWICZ, B. F. et al. Bacteriological survey of chicken eviscerating plants. **Food Technology**, v. 23, p. 1066-1069, 1969.

THOMSON, J. E.; COX, N. A.; BAILEY, J. S. Chlorine, acid and heat treatments to eliminate *Salmonella* on broiler carcasses. **Poultry Science**, v. 54, p. 1452-1460, 1975.

THOMSON, J. E.; WHITEHEAD, W. K.; MERCURI, A. J. Chilling poultry meat – a literature review. **Poultry Science**, v. 53, p. 1268-1281, 1974.

TORRES, E. A. F. S. et al. Estudo das propriedades desinfetantes do ozônio em alimentos. **Higiene Alimentar**, v. 10, n. 42, p. 18-23, 1996.

TOULE, G.; MURPHY, O. A study of bacterial contaminating refrigerated cooked chicken; their spoilage potential and possible origin. **Journal of Hygiene**, v. 81, n. 8, p. 1301-1302, Jul.-Aug. 1978.

XAVIER, C. V. A; BERAQUET, N. J. Vida de prateleira da carne de frango refrigerada – alternativas tecnológicas I. atmosfera modificada. **Boletim da Sociedade de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 41-47, 1993.

YUAN, J.; STEINER, E.; NOVAK, J. Ozone processing: historical perspectives, system integration, and potential food applications. In: CONGRESS OF INTERNATIONAL OZONE ASSOCIATION, 14, 1999, Detroit. **Proceeding ...** Detroit, 1999. p. 337-341,

YUN, C. W. Effects of chlorination and agitation on duck met quality. **Journal of the Chinese Society of Animal Science**, v. 23, n. 1, p. 89-98, 1994.

## CAPÍTULO 4

**Eficiência do dicloroisocianurato de sódio, ozônio e do ultra-som em reduzir microrganismos em água de *chiller* de frangos**

## 1 Resumo

VEIGA, Sandra Maria Oliveira Morais. Eficiência do dicloroisocianurato de sódio, ozônio e do ultra-som em reduzir microrganismos em água de *chiller* de frangos. In: \_\_\_\_\_. **Sanificação de carcaças de frango: processos alternativos.**2003. Cap. 4, p. 167-210, 291p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

O resfriamento das carcaças, em tanques de *chiller*, é empregado para impedir o crescimento bacteriano, particularmente de organismos causadores de doença. Porém, a água de resfriamento tem um potencial considerável em ocasionar a contaminação cruzada entre as carcaças. Dessa forma, para garantir a qualidade microbiológica e melhorar a vida útil dos produtos que passam pelos tanques de resfriamento, desinfetantes químicos são utilizados. O cloro, sob a forma de hipoclorito de sódio, é o composto mais utilizado. Porém, atualmente tem-se o conhecimento que vários tipos de microrganismos, tais como cepas de *Escherichia coli* e *Salmonella typhi*, vêm apresentando resistência ao produto. Além disso, a utilização do cloro para a desinfecção de água e alimentos pode levar à formação de subprodutos químicos potencialmente carcinogênicos. As aplicações do cloro orgânico e do ozônio, bem como da tecnologia do ultra-som, têm sido recentemente investigadas, como alternativas para a descontaminação de alimentos. Considerando o exposto, este trabalho objetivou estudar a eficiência da utilização do dicloroisocianurato de sódio, ozônio e do ultra-som, conjugados ou não, em água de *chiller* de frangos, na redução da população microbiana da mesma. O experimento foi realizado em uma cuba lavadora ultrasônica, com capacidade para 15L. Padronizou-se o tempo de contato em 20 minutos; a temperatura entre 3,0° e 5,0°C, a vazão da água em 4,0L/minuto e a concentração dos sanificantes entre 3,0 e 3,5 mg/L. Para a geração do ozônio, utilizou-se do gerador marca Ozone, modelo 470DC e o dicloroisocianurato de sódio foi adquirido no comércio (Aquatabs industrial, Bayer S.A). O ultra-som foi aplicado na frequência de 37KHz. Realizaram-se os testes de pré-resfriamento das carcaças, para grupos de quatro amostras, sendo estes efetuados com três repetições. No tempo médio de cada processamento, duas amostras da água do banho foram coletadas, perfazendo um total de 36. Nestas amostras, realizou-se a determinação dos Números Mais prováveis (NMP) de aeróbios mesófilos, coliformes totais e *Escherichia coli*. Os dados obtidos revelaram que

---

\* Comitê Orientador: Dr. João Evangelista Fiorini - UNIFENAS (Orientador),  
Drª. Eliana Pinheiro de Carvalho - UFLA (Co-orientadora)

a adição de cloro ou ozônio à água do *chiller* implicou em reduções de três ciclos  $\log_{10}$  de aeróbios mesófilos e dois ciclos  $\log_{10}$  de coliformes totais e *E. coli*. Quando se utilizou a conjugação do ultra-som à água hiperclorada, esta produziu reduções de três ciclos  $\log_{10}$  para os aeróbios mesófilos e *E. coli* e de dois ciclos  $\log_{10}$  para os coliformes totais. A combinação das ondas ultra-sônicas à água ozonizada proporcionou reduções de três ciclos  $\log_{10}$  para todos os microrganismos estudados. Concluiu-se que a adição de ozônio ou cloro, combinada ou não à tecnologia do ultra-som, à água do *chiller*, resulta em reduções logarítmicas da população microbiana no tanque, fato importante para a minimizar a contaminação cruzada entre carcaças.

## 2 Abstract

VEIGA, Sandra Maria Oliveira Morais. The efficacy of sodium dichloroisocyanurate, ozone and ultra-sound, reducing microorganisms in chicken chiller water. In: \_\_\_\_\_. **Chicken carcasses sanitization: alternative procedures.** 2003. Cap. 4, p. 167-210, 291p. Thesis (Doctorate in Food Science)-Universidade Federal de Lavras, Lavras\*

The chilling of carcasses in chiller tanks is used to avoid bacterial growth, mainly of disease causing organisms. However, chilling water has considerable potential in causing crosswise contamination between carcasses. This way, in order to certify microbiological quality and increase the validity of the products which pass inside the chilling tanks, chemical disinfectants are used. Chlorine under the form of sodium hypochlorite is the most used compound. Nevertheless, there is actually the knowledge that several kinds of microorganisms such as *Escherichia coli* and *Salmonella typhi*, have presented resistance to such product. Besides, the use of chlorine for water and food disinfection may lead to the formation of potentially carcinogen by-products. The uses of organic chlorine and ozone as well as ultra-sound technology have recently been researched, as alternatives to food decontaminating. Considering this explanation, this work aimed to study the efficacy of the use of sodium dichloroisocyanurate, ozone and ultra-sound, conjugated or not, in chicken chiller water, over its microbial population. The experiment was realized in a stainless steel ultra-sonic washing sink with capacity of 15L. The time was standardized in 20min., the temperature between 3,0° and 5,0°C, the flow of water in 4,0L/min. and the concentration of the sanitizers between 3,0 and 3,5 mg/L. For the production of ozone it was used the generator Ozone, model 470DC and the sodium dichloroisocyanurate was acquired in a retail trade shop (Bayer SA - Aquatabs industrial). The ultra sound was applied at a 37KHz frequency. Pre-chilling tests on carcasses were realized on groups of four samples, occurring in three repetitions. During the average timing of each procedure, two samples from the dipping water were collected amounting to a total of 36. From these samples, it was established the Most Probable Numbers (MPN) for aerobic mesophilic, total coliforms and *Escherichia coli*. The obtained data revealed that the addition of chlorine or ozone to the chiller water caused reductions of 3,0log<sub>10</sub> cycles, of aerobic mesophilic, and 2,0log<sub>10</sub> cycles

---

\* Guidance Committee: Dr. João Evangelista Fiorini - UNIFENAS (Major Professor), Dra. Eliana Pinheiro de Carvalho - UFLA (Co-Professor)

of total coliforms and *E. coli*. When the combination of ultra-sound and superchlorinated water was used, this produced a reduction of  $3,0\log_{10}$  cycles for aerobic mesophilic and *E. coli*, and  $2,0\log_{10}$  cycles for total coliforms. The combination of ultra-sonic waves with ozonated water provided reductions of  $3,0\log_{10}$  cycles for all the studied micro-organisms. It has been concluded that the addition of ozone or chlorine, combined or not with ultra-sound technology, into chiller water results in logarithmic reductions of the microbial population in the tank, being an important fact to minimize the crosswise contamination among carcasses.

### 3 Introdução

A carne de frango e seus derivados estão entre os alimentos mais implicados em toxinfecções alimentares. A contaminação das carcaças ocorre principalmente durante as operações de abate. Os processos nos quais ocorre maior contaminação são a sangria, escaldamento, depenagem, evisceração e resfriamento. Sendo assim, uma variedade de métodos tem sido proposta para minimizar a contaminação e a disseminação bacteriana, durante o abate e processamento (Lederer, 1991; Perales & Gercia, 1990; Centorbi, 1990; Almeida et al., 1993; Torres et al., 1996; Silva, 1998; Ritter, 2000; Forsythe, 2002; Castillo et al., 2002; Figueiredo, 2003).

O resfriamento das carcaças, em tanques de *chiller*, é utilizado para impedir o crescimento bacteriano, particularmente de organismos causadores de doença, tais como a *Salmonella* sp e o *Campylobacter*. Porém a água de resfriamento tem um potencial considerável para ocasionar a contaminação cruzada entre as carcaças (Almeida & Silva, 1992; Almeida et al., 1993; Tsai et al., 1995; Torres et al., 1996; Cotta, 1997; Ritter, 2000; Castillo et al., 2002).

O processo consiste, basicamente, de dois estágios: no primeiro estágio, ou *pré-chiller*, a temperatura da água fica entre 16° e 18°C e o residual mínimo de cloro, em 2,0 mg/L; no segundo estágio ou *chiller*, a água de entrada no tanque deverá ter sua temperatura abaixada para 4°C e residual mínimo de cloro estar em 3,0 mg/L (Lana, 2000; Castillo, 1997).

De acordo com a legislação brasileira (Portaria nº210/99, do Ministério da Agricultura), a água dos tanques de resfriamento deverá ser hiperclorada para garantir a qualidade das carcaças de frango, sob o aspecto microbiológico. O residual máximo permitido é de 5,0 mg/L de cloro livre. Esta água também necessita ser renovada, sendo que o fluxo da mesma deve ser, no mínimo, de 1,5

litro por carcaça no *pré-chiller* e 1,0 litro por carcaça no *chiller* (Brasil, 1999b).

Para os frangos apresentarem melhor qualidade sensorial e vida de prateleira mais longa, é importante que sua carga microbiana seja a menor possível ao final do processamento. Assim, é importante que a operação de resfriamento seja bem controlada. O cloro acrescentado à água do resfriador auxilia na redução da contaminação cruzada, ou seja, reduz os níveis microbianos na água, mas não significativamente, na carcaça (*International Commission on Microbiological Specification for Foods-ICMSF*, 1997; Brasil, 1999b; Lana, 2000; Bressan & Perez, 2001).

Durante todo o processamento de aves, a água desempenha um papel preponderante, pois ela auxilia na limpeza, remoção de microrganismos contaminantes e no resfriamento das carcaças (Ritter, 2000).

São gastos aproximadamente 30 litros de água por carcaça de ave processada, incluindo-se aí todas as seções do abatedouro (Brasil, 1999b).

Com o intuito de evitar gastos excessivos de energia, bem como de reutilizar a água, há grande interesse por parte das indústrias processadoras de frangos em reciclar a água do *chiller* (Lillard, 1978; 1980; Schade et al., 1990; Waldroup, 1993).

Em grandes abatedouros, cerca de 7.000 a 8.000 carcaças são processadas/hora e a quantidade de água utilizada é muito grande, até mesmo quando é feito o seu reaproveitamento, por meio da filtração e de tratamentos químicos para posterior reutilização da água nos processos iniciais. De ordem, o uso de água limpa só ocorre mesmo na última fase do processo (*chiller*) e o reaproveitamento da mesma auxilia a disseminar contaminações (Parry & Pawsey, 1984; Schade et al., 1990).

A agitação da água e dos frangos nos tanques de resfriamento resulta numa remoção de microrganismos e outros sólidos, que são transferidos para a água. A população de microrganismos aeróbios mesófilos na água do *chiller* gira

em torno de até de milhões de células/mL, dependendo da temperatura da água, da carga microbiana da carcaça, relação entre o fluxo de água e de carcaça, tempo de processamento, uso de sanificantes e outros fatores (Baran et al., 1973; Thomson, et al., 1974; Tsai et al., 1992; Ritter, 2000).

Dessa forma, vários autores descrevem que o *chiller* é um local que favorece a contaminação cruzada entre as carcaças, ou seja, pode até ocorrer um aumento da contaminação bacteriana nas carcaças (Xavier & Beraquet, 1993; Kotula et al., 1962; Peric et al., 1971; Blood & Jarvis, 1974; Mead, 1974; Mulder & Veerkamp, 1974; Clark & Lentz *apud* Lillard, 1980; Cunningham & Cox, 1987; Lillard, 1990).

Outros pesquisadores afirmam que os tanques de resfriamento, estando bem controlados, contribuem para a redução dos níveis microbianos das carcaças (Blank & Powell, 1995; Surkiewics et al., 1969; Thomson et al., 1974; 1975; Campbell et al., 1983; Reiber et al., 1990).

Desinfetantes químicos são utilizados na água do *chiller*, com a finalidade de reduzir a população microbiana, prevenir a contaminação cruzada entre as carcaças e aumentar a segurança e a vida de útil dos produtos finais (Surkiewicz et al., 1969; James et al., 1992; Tsai et al., 1992; Thomson et al., 1976).

O cloro tem sido relatado como o bactericida de uso mais freqüente em água de *chiller*, para reduzir a contaminação cruzada entre carcaças de frango, durante o resfriamento por imersão (Lillard & Thomson, 1983) e aumentar a vida de prateleira das mesmas (Schade et al., 1990; Ritter, 2000).

Thiessen et al. (1984) e Lillard (1980), ao utilizarem cloro e dióxido de cloro em água de *chiller*, observaram significativa redução microbiana na água, mas somente ligeira redução de contagens em carcaças.

Porém, atualmente, tem-se conhecimento de que a utilização do cloro para a desinfecção de água e alimentos pode levar à formação de subprodutos

químicos, os trihalometanos, que são potencialmente carcinogênicos. Além disso, vários tipos de microrganismos, tais como cepas de *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Aspergillus niger* e *Trichophyton*, vêm apresentando resistência ao produto (Block, 1991; Richardson et al., 1998; Macedo, 2000).

Haddon et al. (1996) detectaram potentes compostos mutagênicos em águas de *chiller* de aves tratadas pelo cloro.

Tsai et al. (1995) afirmam que, embora o impacto causado na saúde humana pela ingestão de produtos contaminados com estes subprodutos da cloração não esteja totalmente elucidado, providenciar métodos alternativos para a desinfecção da água do *chiller* é altamente desejável.

Dentre os métodos alternativos, tem-se estudado o emprego do cloro orgânico (dicloroisocianurato de sódio), do ozônio e do ultra-som como sanificantes alternativos para a água de resfriamento (Lillard, 1993; 1994; International Consultative Group on Food Irradiation-ICGFI, 1999; Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health-SCVPH, 1998).

Os derivados clorados de origem orgânica, denominados “cloraminas orgânicas”, utilizados para a sanificação, surgiram na década de 1970, tendo sido os compostos dicloroisocianurato de sódio e o ácido tricloro isocianúrico os que mais se destacaram com o passar do tempo (Dychdala, 1977;1991; Odlaug & Pflug, 1976; Leitão, 1976; Blatchley III, 1994; Blatchley III & Xie, 1995).

O dicloroisocianurato de sódio tem-se mostrado uma alternativa viável para a desinfecção de água e alimentos, pois reage menos com substâncias húmicas, precursoras de subprodutos orgânicos clorados, resultando em níveis baixos ou nulos de trihalometanos (Block, 1991; Macedo, 2000; Macedo & Barra, 2003).

Geralmente, os derivados clorados de origem orgânica são comercializados na forma de pó ou comprimidos efervescentes, e estes apresentam uma maior estabilidade no armazenamento do que os compostos

clorados inorgânicos. Por exemplo, os derivados clorados de origem inorgânica possuem um prazo de validade que varia de 3 a 6 meses, chegando, a no máximo, 1 ano, enquanto os orgânicos chegam a alcançar um prazo de validade de 3 a 5 anos (Hidroall, 2000a; 2000b; Lever Industrial, 1991; 1995; Bayer [199-?]b; HTH, 1999; Genco, 1998).

Estes compostos também são mais estáveis em solução aquosa, o que implica numa liberação mais lenta de ácido hipocloroso, e conseqüentemente, permanecem efetivos por períodos de tempos maiores, mesmo na presença de matéria orgânica (Macedo & Barra, 2003).

Os comprimidos efervescentes de dicloroisocianurato de sódio são encontrados no comércio, contendo concentrações variadas do composto, próprias para uso doméstico ou industrial. Estes são escolhidos em função do volume e do tipo de solução sanificante a ser preparada e, também, do teor de cloro residual livre que se deseja, o que evita erros na dosagem do princípio ativo e na perda do produto pelo consumo em excesso (Macedo & Barra, 2003).

O dicloroisocianurato de sódio apresenta, então, características físico-químicas superiores em relação a quaisquer outros produtos clorados, tais como hipoclorito de sódio, hipoclorito de cálcio e ácido tricloro isocianúrico. Este composto apresenta alta tecnologia para a desinfecção em geral, podendo ser utilizado para a desinfecção de água para consumo humano, frutas, verduras, legumes, artigos e superfícies que entram em contato com alimentos (Bayer [199-]a; [199-?]b; Hidrosan, 2003).

A utilização do ácido dicloroisocianúrico e seus sais de sódio e potássio como princípio ativo para a desinfecção de água para consumo humano está autorizada pela Resolução nº150/99, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (Brasil, 1999a).

Testes feitos pelo Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) para avaliar a capacidade do dicloroisocianurato de sódio em reduzir contagens

bacterianas em frutas artificialmente inoculadas com *Salmonella enteritidis* e *Escherichia coli*, evidenciaram as respectivas reduções, 90% e 91,3% (ITAL, 1997).

O uso de derivados clorados de origem orgânica, principalmente o dicloroisocianurato de sódio, também está expandindo-se entre os laticínios, justamente pelas vantagens de facilidade de manuseio e maior tempo de estocagem em relação ao hipoclorito de sódio (Macedo & Barra, 2003).

Por sua vez, o ozônio é um potente oxidante, fortemente reativo, que tem sido utilizado na Europa e nos Estados Unidos, como desinfetante de água para consumo humano, desde de 1893. O primeiro uso do gás ozônio como um preservativo de alimentos deu-se em 1909, sendo utilizado para a estocagem de carnes em câmeras frias. A recente afirmação de *GRAS Status*, concedida em 1997, por um painel de peritos convocados pelo *Electric Power Research Institute* (EPRI), criou oportunidades adicionais para o uso do ozônio como sanificante de alimentos (Yuan et al., 1999).

Sendo assim, a aplicação do ozônio vem ganhando espaço em indústrias processadoras de alimentos, inclusive para sanificação de carnes e aves, pois esta substância tem alto poder sanificante, reage rapidamente e sofre posterior inativação. Como consequência, seu residual é baixo ou nulo. Essas propriedades permitem a ingestão de alimentos tratados com o ozônio sem que haja riscos à saúde (Rice et al., 1997; Graham, 1997).

O uso seguro do ozônio no tratamento e estocagem de alimentos, incluindo carne bovina e frango, foi aprovado e publicado pelo *Food and Drugs Administration* (FDA), em junho de 2001. Com isso, a utilização dessa substância tem-se expandido nos Estados Unidos e nos países que fundamentam suas leis nas regulamentações norte-americanas. Na Europa, o ozônio é aplicado como auxiliar no processamento de alimentos, há quase um século (Graham, 1997; FDA, 2001).

De acordo com Scott & Lesher (1962) e Greene et al. (1993), pequenas doses de ozônio são capazes de destruir bactérias suspensas em água. A morte das mesmas dá-se por meio de um ataque primário à membrana da célula, com alteração de sua permeabilidade, seguido pela lise celular.

O ozônio oxida rapidamente compostos insaturados, aminoácidos e proteínas contendo o grupo SH. Na célula, oxida grupos sulfidrílica e amino, coagula proteínas e inativa as enzimas catalase, peroxidase e desidrogenase (Gurley, 1985).

O ozônio tem alta capacidade desinfetante e sanificante, amplo espectro de ação, atuando sobre bactérias, vírus, fungos filamentosos e leveduras, e sobre formas esporuladas. A concentração e o tempo de ação são menores que os exigidos pelo cloro (Padrón et al., 1986; Torres et al., 1996).

O potencial para a utilização do ozônio na descontaminação de carcaças de boi, porco, peru e frango vem sendo estudado por muitos anos. O ozônio tem-se mostrado efetivo e seguro para a lavagem de carcaças com adicionais benefícios para o reaproveitamento e a reutilização da água do *chiller*, obtendo inclusive maior rendimento no processo em curto espaço de tempo, gerando assim menos efluente e menos consumo de energia (Caracciolo, 1990).

Forsythe & Waldroup (1994) reportam sobre os benefícios econômicos para o uso do ozônio em plantas de processamento de aves, tais como reduções do consumo de água e dos custos com o tratamento do esgoto e menor consumo de energia elétrica para a reciclagem da água ozonizada. Ainda, completam, com o uso do ozônio, para uma planta que processa 1,3 a 1,5 milhão de aves por semana, a expectativa é de uma economia de 6,0 mil dólares/semana, quando comparado ao uso da água sem nenhum tratamento.

Várias pesquisas já foram realizadas utilizando o ozônio para a sanificação de alimentos. Porém, a literatura ainda é muito escassa, principalmente quando se trata de experimentos realizados em países menos

desenvolvidos, como o Brasil.

Sheldon & Brown (1986) recomendam a utilização de 3,0 a 4,5 mg/L de ozônio em água de *chiller* por 45 minutos, enquanto Sheldon & Chang (1987) trabalharam com a mesma concentração (3,0 a 4,5 mg/L de ozônio em água de *chiller*), porém, o tempo foi de 15 minutos.

*Arkansas Agriculture Experimental Station-AAES* (1997) recomenda a utilização de 3,0 a 7,0 mg/L de ozônio dissolvido em água, durante 15 a 30 minutos, para aplicação em *chiller* de aves.

Yang & Chen (1979) trataram suspensões de microrganismos, obtidas a partir da lavagem superficial de carcaças de frango, estocadas por dez dias sob refrigeração (4°C), aplicando 19 mg/L de ozônio, durante 4 minutos.

Garcia et al. (2001) submeteram 50 amostras de efluentes de matadouro-frigorífico ao borbulhamento com ozônio, durante 10 minutos, constatando redução na contagem de microrganismos aeróbios mesófilos.

Como mais uma alternativa para os processos de sanificação na indústria de alimento, a tecnologia do ultra-som está sendo testada, principalmente quando combinada ao calor, pressão e produtos químicos. Para a produção da carne de frango, o ultra-som começa a ser estudado como um método auxiliar de descontaminação (ICGFI, 1999; Datta, 2002).

As ondas ultra-sônicas apresentam um grande potencial de aplicações atuais e futuras na indústria de alimentos. Para eliminar ou reduzir microrganismos em alimentos, o ultra-som pode ser utilizado sozinho ou combinado com outros métodos. Analisando vários trabalhos publicados, o *Food and Drug Administration-FDA* (2000) e Datta (2002) propõem o uso do ultra-som combinado a outros processos.

Datta (2002) descreve que a destruição de microrganismos pelo ultra-som deve-se à combinação de seus efeitos: cavitação e suas forças (formação e difusão de bolhas que causam mudanças físicas na célula microbiana), calor

localizado e formação de radicais livres na água ( $\text{OH}^\cdot$ ,  $\text{H}^\cdot$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ), que possuem efeitos bactericidas. A força mecânica do ultra-som decresce com a viscosidade do meio.

De acordo com Datta (2002), o ultra-som tem aplicação na indústria de alimentos em alta (1 a 10MHz) e baixa frequência (20 a 100KHz). Em baixa frequência, é recomendado para testes não destrutivos.

A revisão da literatura mostra que patógenos entéricos Gram-negativos têm sido facilmente alvejados com o ultra-som, quando aplicado em alimentos perecíveis de origem animal, tais como frango e leite (Lillard, 1994).

Lee et al. (1989) obtiveram redução de 4 ciclos  $\log_{10}$ , quando uma população de *Salmonella*, suspensa em água peptonada, foi tratada pelo ultra-som por 10 minutos. Entretanto, no leite achocolatado, o tratamento ultra-sônico por 30 minutos baixou o número de *Salmonella* em apenas 0,8 ciclo log.

*Listeria monocytogenes* em leite são destruídas a 60°C em 2,1 minutos. Com a utilização da *pré-sonicação* a 38KHz, o microrganismo pode ser eliminado em 18 segundos, quando exposto à temperatura de 60°C (Datta, 2002).

Outra combinação do ultra-som pode ser realizada com tratamentos químicos, o que implica no incremento da efetividade de ambos. A combinação do ultra-som e tratamentos químicos pode reduzir o uso de agentes sanitizantes e também reduzir os níveis de resíduos nos alimentos (Datta, 2002).

Sabendo-se que as práticas atuais de produção de carne de frango não resultam em carcaças livres de *Salmonella* ou *Campylobacter*, Lillard (1993; 1994) relata a realização de ensaios, utilizando cloro e ultra-som em tanques de *chiller*, com objetivo de eliminar bactérias que ficam incrustadas na pele das aves. O ultra-som foi aplicado na frequência de 20KHz, combinado a um residual de cloro de 0,5 mg/L, por 30 minutos. Os resultados mostraram que quando cloro e ultra-som são aplicados simultaneamente, no tanque de *chiller*,

apresentam efeito sinérgico, reduzindo assim as contagens bacterianas.

Burleson et al. (1975) utilizaram a combinação simultânea do ozônio e ultra-som para inativar suspensões salinas de *Salmonella typhimurium*, enteropatogênica *Escherichia coli* 0126:B16, *Shigella flexneri*, *Pseudomonas fluorescens*, *Vibrio cholerae* (569B Inaba). Todos os microrganismos testados foram inativados após 15 segundos de exposição ao tratamento.

O FDA, por meio do *Center for Food Safety and Applied Nutrition*, elaborou de um plano de três anos (2000-2002) para investigar novas tecnologias para melhorar a segurança de produtos agrícolas e processados. Várias estratégias de intervenção estão sendo exploradas para a redução ou eliminação de patógenos em alimentos, dentre essas, a utilização do ultra-som (FDA, 2000).

Considerando a necessidade de minimizar o número de microrganismos suspenso em água de resfriamento de aves e de favorecer o reaproveitamento da mesma, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a eficiência do dicloroisocianurato de sódio, ozônio e ultra-som, de forma combinada ou não, em reduzir bactérias em um protótipo de tanque de *chiller*.

## 4 Material e métodos

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biologia e Fisiologia de Microrganismos da Universidade José do Rosário Velano (UNIFENAS), Alfenas, MG. Foram montadas duas plantas-piloto para a avaliação da eficiência de sanificantes químicos e/ou físicos, em um protótipo de *chiller* de aves. Uma das plantas foi sistematizada para operar com água potável e água hipercloreada e a outra, com o ozônio. Ambas as plantas foram projetadas, desenvolvidas e instaladas pela White Martins Gases Industriais S/A.

Como protótipo de um tanque *chiller*, utilizou-se da cuba lavadora ultra-sônica de aço inoxidável, marca Sercon, modelo USC 5080A (Figura 1).

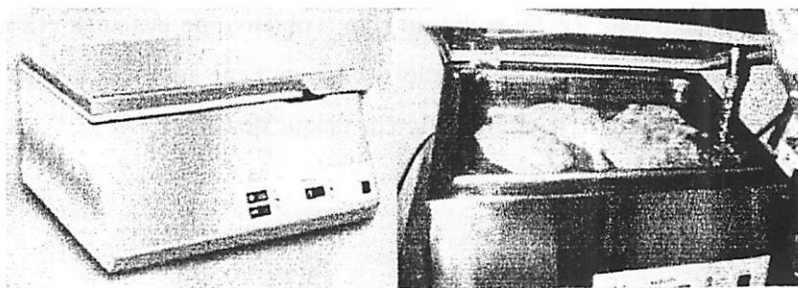


FIGURA 1 Cuba lavadora ultra-sônica.

### 4.1 Amostragem

A qualidade microbiológica da água de resfriamento foi avaliada nos seis tratamentos, inclusive com o monitoramento da água da rede e dos reservatórios,

tratada ou não. A mesma foi efetuada com três repetições, desenvolvendo-se as análises em duplicatas.

Foram coletadas 66 amostras de água para análise microbiológica, sendo 12 da rede, 18 dos reservatórios e 36 do tanque de *chiller*.

## 4.2 Tratamento

Realizaram-se os testes de pré-resfriamento de carcaças de frango, utilizando grupos de quatro unidades amostrais (meias-carcaças sem pés, cabeça e pescoço), que foram submetidas ao tratamento com água potável, água hiperclorada e água ozonizada. Posteriormente, todos estes testes foram repetidos conjugados à tecnologia do ultra-som. Dessa forma, 72 meias-carcaças de frango, procedentes de um abatedouro local, foram utilizadas nos ensaios para avaliar a eficiência dos sanificantes escolhidos, em reduzir bactérias presentes na água do *chiller*.

Para abastecer as plantas-piloto, montadas para a realização do presente estudo, utilizaram-se dois reservatórios, sendo o primeiro com capacidade de 500L para a concentração do ozônio e o segundo de 250L para trabalhar com a água da rede e água hiperclorada.

Os tratamentos, como anteriormente descrito, foram realizados em uma cuba lavadora ultra-sônica de aço inoxidável. Antes do início de cada processamento, a mesma passava por higienização prévia, ou seja, desinfecção com álcool 70%p/p e enxágüe com a própria solução de resfriamento.

Padronizou-se o tempo de tratamento, em 20 minutos; a temperatura do banho, entre 3,0° e 5,0°C; a vazão da água no protótipo de tanque de *chiller*, em 4,0L/minuto e a concentração dos sanificantes, entre 3,0 e 3,5 mg/L.

O tempo de 20 minutos, determinado para os ensaios, foi estabelecido após a revisão dos trabalhos dos seguintes autores Macedo (2000), Sheldon & Brown (1986), Sheldon & Chang (1987), Lillard (1993; 1994) e Bressan &

Perez (2001).

Como fonte refrigeradora, utilizou-se de gelo potável picado para trabalhar com água potável e água hiperclorada, e de gelo seco para a água ozonizada.

Os testes pilotos realizados indicaram a quantidade de gelo a ser utilizada. Em média, 40 kg do gelo potável picado foram necessários para resfriar 250 litros de água e mantê-la entre 3° a 5°C, por aproximadamente 30 minutos.

Para trabalhar com a água ozonizada utilizou-se de um sistema fechado de resfriamento, no qual, primeiro concentrou-se o ozônio em caixa d'água de fibra de vidro, com capacidade para 500 litros, por meio do conjunto venturabomba de recirculação, por 30 minutos. Posteriormente, a água ozonizada sofria o resfriamento, passando por uma serpentina imersa em tanque isotérmico, contendo uma mistura de aproximadamente 40 kg de gelo seco, 20 litros de água e 2,5 litros álcool, fazendo com que a mesma alcançasse a temperatura desejada, cerca de 3° a 5°C. Durante todo o processamento, a saturação da água com o ozônio era mantida para garantir o intervalo de concentração estabelecido.

Nos processos nos quais trabalhou-se com a água potável, o sistema foi alimentado com a água da rede de abastecimento da Universidade. Esta água é represada em açude, captada e passa por tratamento convencional, no próprio campus. Para a sua utilização, instalou-se, no seu ponto de chegada, um filtro de carvão para reter o cloro residual. Este ensaio funcionou como controle para os demais.

Antes do início de cada tratamento, foi averiguada a vazão do sistema, sendo realizada a medição do volume de água, em litros/minuto, por meio de recipiente, com capacidade adequada.

Verificou-se também o potencial hidrogeniônico das soluções de resfriamento, em todos os testes, por meio de tiras reagentes indicadoras de pH.

marca Merck, apresentando escala de 01 a 14, com intervalo de 0,2.

Os sanificantes químicos escolhidos foram o dicloroisocianurato de sódio (Aquatabs industrial, Bayer S.A.) e o gás ozônio, produzido *in locus*.

Como descontaminante físico, as ondas ultra-sônicas foram aplicadas, tecnologia esta disponível na cuba lavadora, utilizada neste experimento como protótipo de tanque de *chiller*.

Para o preparo da água hiperclorada, utilizou-se um comprimido efervescente de Aquatabs industrial (2,5 g) para 250 litros de água, obtendo-se assim o residual de cloro livre desejado (3,0 a 3,5 mg/L). A escolha do produto teve como referencial Macedo (2000).

O ozônio, como acima descrito, foi produzido em sistema fechado, na própria planta de tratamento, utilizando-se de um cilindro de oxigênio de 100 kg e de gerador. O equipamento para a produção de ozônio, deste estudo, foi da marca Ozone, modelo EAS 470DC, cuja capacidade nominal é de 10 g/h a 3% de concentração em peso de ozônio gerado, quando operado com uma vazão de oxigênio de 4,2 litros/minuto a 1,0 kgf/cm<sup>2</sup> de pressão. O cilindro de oxigênio foi conectado ao gerador por meio do regulador de pressão e fluxômetro.

Porém, conforme testes pilotos, operou-se o sistema com 05 litros de oxigênio/minuto e pressão de 0,5 kgf/cm<sup>2</sup>. Dessa forma, ao aplicar os cálculos corretivos para definir a concentração de ozônio gerada, obteve-se que a produção real de ozônio foi de 6,88 g/h. Nos testes, pôde-se observar que, trabalhando sob estas condições, após 30 minutos de saturação, 500 litros de água adquiriram um residual de ozônio situado entre 3,0 a 3,5 mg/L.

A definição da concentração dos sanificantes foi fundamentada nas seguintes referências: para o cloro, em Lana (2000) e Brasil (1999b), e para o ozônio, nos trabalhos de Sheldon & Brown (1986), Sheldon & Chang (1987), AAES (1997), EPRI (1999) e ICGFI (1999).

Para verificar o residual de cloro, foram utilizados os métodos

colorimétrico por comparação visual, no qual o N. N. dietil-p-fenilendiamina (DPD) é a solução reagente e o iodimétrico indireto (titulação empregando o tiosulfato de sódio a 0,1N) (*American Public Health Association-APHA*, 1992).

A concentração de ozônio dissolvida na água de resfriamento foi mensurada por meio de monitores do tipo *Residual Ozone System* (ROS) com instrumento indicador modelo 26506 e sensor 31.331.15 (*Orbisphere Laboratories*<sup>®</sup>). O equipamento possui uma célula eletroquímica do tipo Clark, a qual determina o resíduo de ozônio por diferença de condutividade (Cardoso, 1999). Confirmou-se a mesma pelo método iodimétrico, utilizando-se como solução titulante o tiosulfato de sódio a 0,1N (APHA, 1992).

O ultra-som foi aplicado sob a frequência de 37 KHz, estando esta de acordo com os trabalhos de Datta (2002) e Lillard (1993; 1994), que apontam a faixa de frequência entre 20 a 100 KHz, como apropriada para a descontaminação de alimentos.

#### **4.2.1 Coleta das amostras de água**

Foram obtidas amostras da água da rede que abastecia o sistema, dos reservatórios e do protótipo de tanque de *chiller*, sob os diferentes tratamentos.

Antes do início dos ensaios, realizava-se a coleta da água de abastecimento do sistema, sendo tomadas duas amostras para cada tempo de tratamento, o que resultou em doze amostras de água da rede. Subseqüentemente, duas amostras de água de cada reservatório foram coletadas, perfazendo um total de dezoito amostras, sendo seis de água potável, seis de água adicionada de dicloroisocianurato de sódio e seis de água ozonizada.

No tempo médio de cada processamento, realizou-se a coleta da água do banho, sendo tomadas duas amostras de cada ensaio realizado, totalizando 36 amostras de água do *chiller*.

A coleta das amostras de água foi realizada conforme os métodos de

análise microbiológica para alimentos, de acordo com Brasil (1991/1992). Todas as amostras foram acondicionadas em frascos estéreis, com capacidade de 250mL, contendo 250 $\mu$ L de tiosulfato de sódio a 10% para a neutralização do residual de sanificante. A utilização do tiosulfato de sódio para neutralizar resíduos de cloro ou ozônio em amostras de água de tanques de *chiller* é também sugerida por Allen et al. (2000).

#### **4.2.2 Ensaio microbiológicos**

Os ensaios microbiológicos realizados foram os de determinação do Número Mais Provável (NMP) de microrganismos aeróbios mesófilos e de coliformes totais e *Escherichia coli*.

##### **4.2.2.1 Determinação do NMP de aeróbios mesófilos**

A determinação do NMP de aeróbios mesófilos foi realizada por meio da inoculação de uma porção de 10mL de cada amostra de água, *in natura*, em duplicata, em tubos, contendo o meio *SimPlate* da *Idexx Laboratories Inc.* Após homogeneização, verteu-se o material de cada tubo para uma placa *SimPlate*, sendo a mesma submetida a movimentos circulares, para a distribuição do material nas cavidades da placa. Ao término do procedimento, todas as placas foram incubadas a 35°C por 48 horas. Para a leitura utilizou-se lâmpada UV de 365nm, procedendo-se à contagem das cavidades fluorescentes. Com auxílio de uma tabela de conversão fornecida pelo fabricante, determinou-se o NMP de bactérias aeróbias mesófilas/mL de amostra analisada.

Efetuarão-se também diluições seriadas das amostras entre  $10^{-1}$  e  $10^{-3}$ , que foram inoculadas de acordo com o procedimento acima descrito.

O *SimPlate* baseia-se na tecnologia do substrato cromogênico definido, a qual detecta bactérias viáveis em água por meio de enzimas sabidamente presentes nesses microrganismos. O *SimPlate* corresponde à técnica *Plate Count*

Agar, com incubação a 35°C por 48 horas (APHA, 1992; Silva et al., 2001).

#### 4.2.2.2 Determinação do NMP de coliformes totais e *Escherichia coli*

Empregou-se o sistema reagente *Colilert da Idexx Lab. Inc.* para a determinação do NMP de coliformes totais e *Escherichia coli* nas amostras analisadas. A partir de cada amostra de água coletada, obtiveram-se duas porções de 100mL que foram acondicionadas assepticamente, em frascos de polietileno estéreis. A cada porção acrescentou-se o meio de cultura *Colilert*. Após a homogeneização do conjunto, verteu-se o material para uma cartela de 97 células e esta foi então termo-selada. Em seguida, incubaram-se as mesmas a 35°C por 24 horas.

Passado o tempo de incubação, as células transparentes foram consideradas negativas para coliformes totais e *E. coli*. As células amarelas, positivas para coliformes totais e as que emitiram fluorescência, sob lâmpada de UV de 365nm, positivas para *E. coli*. Com auxílio de uma tabela de conversão fornecida pelo fabricante, determinou-se o NMP de coliformes totais e *Escherichia coli*/100mL de amostra analisada.

Foram efetuadas diluições seriadas das amostras entre  $10^{-1}$  e  $10^{-3}$ , transferindo-se assepticamente 11,0mL de cada amostra para 99,0mL de solução salina estéril. Estas diluições foram também inoculadas conforme o procedimento descrito (APHA, 1992; Silva et al., 2001).

O meio de *Colilert* baseia-se na metodologia do substrato cromogênico definido e é semelhante à técnica descrita no *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*, 18ª edição (APHA, 1992; Silva et al., 2001).

## 5 Resultados e discussão

Nos tratamentos propostos (água potável, água hiperclorada e água ozonizada), combinados ou não ao ultra-som, a temperatura variou entre 3,0° e 5,0°C, com média de 4,0°C e o potencial hidrogeniônico do banho, em todos os ensaios, foi igual a 6,0.

### 5.1 Água da rede

Como se pode observar por meio da Tabela 1, a água utilizada nos experimentos encontrava-se dentro dos padrões microbiológicos, recomendados para a água que entra em contato com alimentos, ou seja, contagem de aeróbios mesófilos inferior à 100UFC/mL e coliformes totais e *E. coli* ausentes em 100mL de amostra (Brasil, 1952; Figueiredo, 1999; Pardi, 2001).

TABELA 1 Número Mais Provável (NMP) de microrganismos encontrados, em média, na água da rede de abastecimento da planta piloto, após o filtro de carvão.

Ensaio	aeróbios mesófilos (UFC*/mL)	coliformes totais (UFC/100mL)	<i>E. coli</i> (UFC/100mL)
NMP	10	ND**	ND

\* Unidade formadora de colônia

\*\* Não detectado (sensibilidade do método: menos que 01UFC/100mL).

Os resultados encontrados para a água da rede são semelhantes aos descritos por Ritter (2000), que relata a ausência de crescimento de aeróbios

mesófilos na diluição  $10^{-1}$ , quando analisou amostras de água da rede de uma indústria processadora de aves.

## 5.2 Água dos reservatórios

Conforme Tabela 2, nota-se que a água potável do reservatório continuou apresentando as mesmas características microbiológicas dessa quando na rede e que a adição de sanificantes aos reservatórios tornou praticamente indetectáveis os microrganismos pesquisados.

TABELA 2 Número Mais Provável (NMP) de microrganismos encontrados, em média, na água dos reservatórios, adicionada ou não de sanificantes, e após resfriamento.

Ensaio	aeróbios mesófilos (UFC*/mL)	coliformes totais (UFC/100ml)	<i>E. coli</i> (UFC/100mL)
Água potável	10	ND**	ND**
Água hiperclorada	0,3	ND	ND
Água ozonizada	ND***	ND	ND

\* Unidade formadora de colônia

\*\* Não detectado (sensibilidade do método: menos que 01UFC/100mL).

\*\*\* Não detectado (sensibilidade do método: menos que 0,2UFC/100mL).

## 5.3 Água do chiller

Os dados obtidos das análises microbiológicas efetuadas nas amostras de água do *chiller* foram agrupados e plotados em tabelas que deram origem às Figuras 2 e 3.

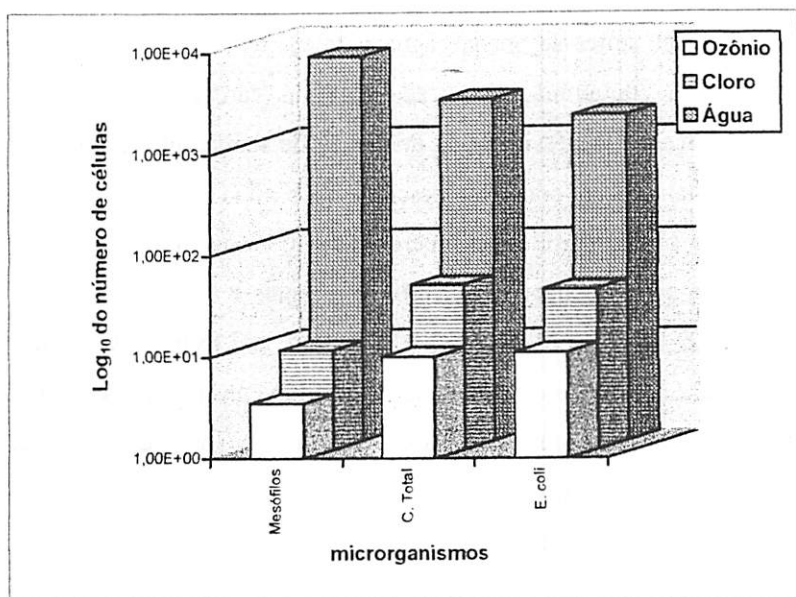


FIGURA 2 Número Mais Provável médio de aeróbios mesófilos, coliformes totais e *Escherichia coli* (em log<sub>10</sub>) detectados na água do tanque de *chiller*, sem a aplicação do ultra-som.

De acordo com a Figura 2, visualiza-se que a análise microbiológica da água do *chiller*, nos diferentes ensaios, sem a aplicação do ultra-som, revelou os dados apresentados a seguir.

No tratamento utilizando apenas água potável resfriada, os NMP, em média, encontrados para aeróbios mesófilos, coliformes totais e *Escherichia coli* foram, respectivamente,  $6,1 \times 10^3$  UFC/mL,  $2,3 \times 10^3$  UFC/100mL e  $1,6 \times 10^3$  UFC/100mL.

Lillard (1990), a partir de seus experimentos, relata que o tanque de *chiller* mostrou ser o ponto da planta de processamento que mais conduz à contaminação cruzada, principalmente por *Salmonella* sp.

Com os dados obtidos, no atual estudo, constata-se que o resfriamento

das aves, no qual aplica-se apenas água potável, realmente apresenta grande potencial para a contaminação cruzada entre as carcaças no tanque. Estes resultados reforçam a necessidade da utilização de sanificantes para diminuir o risco dessa contaminação, conforme descreve o ICGFI (1999).

Quando se empregou água hiperclorada no *chiller*, os NMP, em média, detectados para aeróbios mesófilos, coliformes totais e *Escherichia coli* foram, respectivamente, 9,5UFC/mL,  $4,2 \times 10^1$ UFC/100mL e  $3,8 \times 10^1$ UFC/100mL. Isso demonstra que a adição de cloro à água de resfriamento reduziu em três ciclos log a contagem de aeróbios mesófilos e em dois ciclos log a contagem de coliformes totais e *E. coli* no tanque.

Estes resultados, encontrados para o dicloroisocianurato de sódio, estão de acordo com os dados obtidos por Thiessen et al. (1984) e Lillard (1980), nos quais o uso de hipoclorito de sódio e dióxido de cloro, respectivamente, em água de *chiller*, provocou reduções significativas na contagem de microrganismos.

Tsai et al. (1997) trataram a água de resfriamento de carcaças de frango com hipoclorito de sódio (150 a 200 mg/L) e dióxido de cloro (30 a 40 mg/L) e observaram reduções de três ciclos logaritmos na contagem de aeróbios mesófilos. Na atual pesquisa, também se pôde detectar redução de mesma ordem para esses microrganismos, porém, utilizando concentração de cloro, conforme parâmetros legais (Brasil, 1999b).

Lillard (1978) avaliou o efeito da desinfecção de águas residuárias de *chiller* de aves, aplicando primeiro a filtração e, posteriormente, a cloração. Os dados obtidos revelaram redução de 3,7 a  $4,6 \log_{10}$  de aeróbios mesófilos.

Nos ensaios realizados com a água ozonizada encontraram-se, em média, para aeróbios mesófilos, coliformes totais e *E. coli*, respectivamente, NMP de 3,5UFC/mL,  $1,0 \times 10^1$ UFC/100mL e  $1,0 \times 10^1$ UFC/100mL. As reduções logarítmicas dos microrganismos estudados foram iguais às obtidas para o dicloroisocianurato de sódio, porém, neste caso, as contagens médias finais

ficaram abaixo das detectadas para o composto clorado, evidenciando um desempenho melhor do ozônio.

Sheldon & Brown (1986) ozonizaram, durante 60 minutos, água proveniente de *chiller* de frangos, para avaliar o potencial de reciclagem da mesma. Estes autores constataram reduções de cerca de 7,0 ciclos log de aeróbios mesófilos e 3,0 ciclos log de coliformes totais. *Escherichia coli* e *Salmonella* sp não foram mais detectadas após o tratamento. Deve-se observar que o tempo empregado foi maior do que o padronizado para a pesquisa atual e que os autores mencionados trataram apenas a água, sem a presença das carcaças, o que pode ter favorecido o melhor desempenho do ozônio.

A partir dos resultados extraídos de seus experimentos, Sheldon & Brown (1986) afirmam que o ozônio pode ser efetivo na redução de bactérias em água de *chiller* e, portanto, também na redução da contaminação cruzada entre as carcaças.

Posteriormente, Chang & Sheldon (1989) realizaram vários experimentos para o condicionamento de efluentes de água de processamento de aves, entre os quais, puderam verificar que a filtração do mesmo, seguida de ozonização, reduz os microrganismos totais em 87%, os coliformes totais e fecais em 65% e em 99%, a *Salmonella* sp.

No presente ensaio, o dicloroisocianurato de sódio e o ozônio reduziram respectivamente, 99,84% e 99,94% dos aeróbios mesófilos, 98,17% e 99,57% dos coliformes totais e 97,63% e 99,38% de *E. coli*.

Garcia et al. (2001) também trataram 50 amostras de água residuária proveniente de um matadouro frigorífico, por meio de um aparelho borbulhador de ozônio, durante 10 minutos, observando redução de cerca de um log de aeróbios mesófilos. Possivelmente, a pequena redução encontrada deva-se à concentração de ozônio obtida, geralmente baixa com este tipo de equipamento.

Torna-se interessante ressaltar que antes de junho de 2001, a utilização

do ozônio no processamento de aves era apenas admitida para o tratamento de acondicionamento da água do *chiller*, não sendo permitido o seu contato direto com o alimento. Atualmente, o uso do ozônio em *chiller* de aves já se encontra regulamentado pelo *Food and Drugs Administration* (Rice et al., 1997; FDA, 2001). Entretanto, a maior parte dos trabalhos conduzidos anteriormente à regulamentação do ozônio para indústrias processadoras de alimentos, utilizava-o somente para o tratamento do efluente.

Vale acrescentar que conforme a normalização do acondicionamento de água de *chiller* do *Code of Federal Regulations* (USDA, 1984), os métodos de acondicionamento, em relação ao padrão microbiológico, devem reduzir em mais de 60% os microrganismos totais, incluindo *E. coli* e *Salmonella*.

Conforme os percentuais de redução obtidos nos atual estudo e nos trabalhos de Sheldon & Brown (1986) e de Chang & Sheldon (1989), o ozônio, assim como o dicloroisocianurato de sódio, apresentam-se como alternativas viáveis para a descontaminação da água do *chiller* e para o tratamento do efluente.

A Figura 3 apresenta os dados da análise microbiológica da água do *chiller*, nos diferentes ensaios, conjugados ao ultra-som. Pode-se notar que quando se realizou o resfriamento de carcaças, empregando água potável conjugada às ondas ultra-sônicas, os respectivos NMP, em média, para aeróbios mesófilos, coliformes totais e *Escherichia coli* foram de  $2,3 \times 10^3$  UFC/mL,  $1,6 \times 10^3$  UFC/100mL e  $1,4 \times 10^3$  UFC/100mL.

Dessa forma, ao comparar estes dados com os obtidos na Figura 2, em relação ao processamento empregando-se apenas água potável, verifica-se que o efeito do ultra-som isoladamente é pequeno em relação aos coliformes. O estudo da porcentagem de redução, em relação ao experimento anterior, revela que a *sonicação* reduziu, em média, 62,30% dos aeróbios mesófilos, 30,43% dos coliformes totais e 12,5% de *E. coli* na água do tanque de resfriamento.

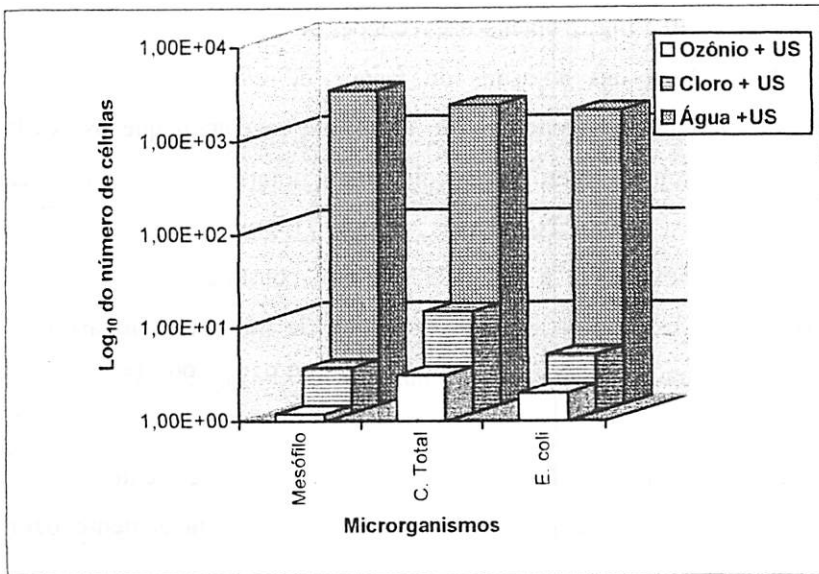


FIGURA 3 Número Mais Provável médio de aeróbios mesófilos, coliformes totais e *Escherichia coli* (em  $\log_{10}$ ) detectados na água do tanque de *chiller*, com a aplicação do ultra-som (US).

Lee et al. (1989) descrevem que a ação do ultra-som depende da viscosidade do meio. Pressupõe-se, então, que a matéria orgânica presente na água do *chiller*, aumentando sua turbidez, possa ter interferido na ação do mesmo.

Quando se utilizou a água hiperclorada conjugada ao ultra-som, os NMP, em média, para aeróbios mesófilos, coliformes totais e *E. coli* foram, respectivamente, 3,0UFC/mL,  $1,2 \times 10^1$ UFC/100mL e 4,1UFC/100mL. Podem-se verificar, por meio da Figura 3, reduções de três ciclos log de aeróbios mesófilos e *E. coli* e de dois ciclos log de coliformes totais.

Resultados semelhantes foram detectados por Lillard (1993, 1994), quando o autor tratou suspensões de *Salmonella* sp em água peptonada, contendo  $10^8$  células/mL, com as ondas ultra-sônicas (20 KHz) por 30 minutos e

cloro residual de 0,5 mg/L, obtendo-se reduções de 2,5 a 4,0 ciclos  $\log_{10}$ .

As análises das amostras do tanque de *chiller*, empregando água ozonizada combinada à tecnologia do ultra-som, revelaram que os NMP, em média, de aeróbios mesófilos, coliformes totais e *E. coli* ficaram, respectivamente, em 1,2UFC/mL, 3,1UFC/100mL e 2,0UFC/100mL. Observando-se novamente a Figura 3, pode-se constatar que, para todos os microrganismos estudados, as reduções foram de três ciclos logaritmos. Em termos percentuais, as mesmas foram de 99,95%, 99,81% e 99,88%, respectivamente.

Burleson et al. (1975) recondicionaram um efluente secundário, contendo  $8,0 \times 10^1$  coliformes fecais/mL, utilizando simultaneamente ozônio e ultra-som. A eliminação desta carga microbiana deu-se com 10 minutos de tratamento. Esse resultado foi confirmado no presente ensaio, pois a *E. coli*, principal representante dos coliformes fecais, foi reduzida em três ciclos log, na água do tanque de *chiller*.

Considerando os dados obtidos neste ensaio, deve-se relatar que uma adequação do tempo de contato e da correta frequência das ondas ultra-sônicas pode otimizar os processos realizados, tanto para a aplicação de forma isolada, quanto combinada. Esta adequação pode levar a uma redução das doses de sanificantes químicos empregados e, conseqüentemente, dos seus resíduos no alimento e no ambiente.

O emprego do dicloroisocianurato de sódio e do ozônio na água de resfriamento reduziu efetivamente os microrganismos estudados, apresentando, em média, as respectivas reduções de 98,55% e 99,63%.

A aplicação isolada do ultra-som em meio aquoso no tanque de *chiller* produziu, em média, pequeno efeito na redução percentual dos microrganismos analisados, sendo mais efetivo para os aeróbios mesófilos.

A conjugação da tecnologia do ultra-som às águas hiperclorada e

ozonizada provocou um pequeno aumento no percentual de reduções, produzindo, em média, respectivamente, 99,61% e 99,88%.

A utilização da água ozonizada e das combinações do ozônio e do cloro ao ultra-som, em meio aquoso, proporcionou reduções maiores que 99%, em todos os ensaios realizados.

Dicloroisocianurato de sódio, ozônio e ultra-som são promissoras alternativas, com altos potenciais de aplicação para descontaminação da água de *chiller*, principalmente quando utilizados de forma combinada.

Estudos adicionais seriam interessantes no sentido de avaliar a possível utilização das ondas ultra-sônicas em pré-tratamento de efluentes de indústrias processadoras de aves, facilitando assim a reciclagem dos mesmos.

## 6 Conclusões

A adição de cloro ou ozônio, combinada ou não, à tecnologia do ultra-som, em água de *chiller*, implicou em reduções logarítmicas da população microbiana.

Dentre os tratamentos empregados, a combinação ozônio e ultra-som foi a mais eficiente.

## 7 Referências bibliográficas

ALLEN, V. M. et al. Hygiene aspects of modern poultry chilling. **International Journal of Food Microbiology**, v.58, p.39-48, 2000.

ALMEIDA, P. F.; SILVA, E. N. Estudos sobre o controle e disseminação bacteriana em carcaças de frangos de abatedouros industriais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 44, n. 22, p. 105-120, 1992.

ALMEIDA, P. F.; SILVA, E. N.; ALMEIDA, R. C. C. Contaminação e disseminação bacterianas de carcaças de frangos em abatedouros. **Higiene Alimentar**, v.7, n.27, p. 12-17, 1993.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for examination of water and wastewater**. 18<sup>th</sup> .ed. Washington, 1992.

ARKANSAS AGRICULTURE EXPERIMENTAL STATION. **Executive Summary for Conagra**. Murray Hill, NJ: BOC Gases, 1997.

BARAN, W. L.; DAWSON, L. E.; LECHOWICH, R. V. Influence of chlorine dioxide water treatment on numbers of bacteria associated with processed turkey. **Poultry Science**, v. 52, p. 1053-1058, 1973

BAYER SA. **Saúde animal e saúde ambiental: catálogo de produtos; linha saúde ambiental**. São Paulo: Aquatabs, [199-]a.

BAYER SA. **Aquatabs: relatório técnico**. Campinas, [199-?]b.

BLANK, G.; POWELL, C. Microbiological and hydraulic evaluation of immersion chilling for poultry. **Journal of Food Protection**, v. 58, n. 12, p.1386-1388, 1995.

BLATCHLEY III, E. R. Disinfection and antimicrobial processes. **Water Environment Research**, v.66, n.4, p.361-368, 1994.

BLATCHLEY III, E. R.; XIE, Y. Disinfection and antimicrobial processes. **Water Environment Research**, v.67, n.4, p.475-481, 1995

BLOCK, S. S. **Disinfection, sterilization and preservation**. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia, PA: Lea & Febiger, 1991. 1162p.

BLOOD, R. M.; JARVIS, B. Chilling of poultry: the effects of process parameters on the level of bacteria in spin-chiller water. **Journal of Technology**, v.9, p.157-169, 1974.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal**. Brasília, 1952.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Métodos de análise microbiológica para alimentos**. 2.ed.rev. Brasília, 1991/1992. 136p.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n.150. Autoriza a inclusão do ácido dicloroisocianúrico e seus sais de sódio e potássio. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 1999a.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria n.210. Inspeção tecnológica e higiênico-sanitária de carnes de aves. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, n.43, 05 mar.1999b. Seção 1.



BRESSAN, M. C.; PEREZ, J. R. O. **Tecnologia de carnes e pescados**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 240p.

BURLESON, G. G; MURRAY, M.T; POLLARD, M. Inactivation of viruses and Bacteria by Ozone, with and without Sonication. **Applied Microbiology**, v. 29, p.340-344, 1975.

CAMPBELL, D. F. et al. The microbiology of raw, eviscerated chickens: a ten year comparison. **Poultry Science**, v.62, p.437-444, 1983.


CARACCILO, L. **Ozone treatment of turkey scap meat**; data submitted to U.S. FDA in support of Food Additive Petition #0A4207, subsequently withdrawn without prejudice, 1990

CARDOSO, C. C. **Avaliação microbiológica da eficiência de um processo de sanitização de latões de leite com o ozônio**. 1999. 78p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde)-Universidade de Alfenas, Alfenas.

CASTILLO, C. J. C. Pontos críticos no processo de abates de frangos. In: SEMINÁRIO E WORKSHOP "INDUSTRIALIZAÇÃO DA CARNE DE AVES", 1997, Campinas. **Anais...** Campinas: Centro de Tecnologia de Carnes do Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1997. p.11-19.

CASTILLO, C. J. C. et al. **Higiene e sanitização na indústria de carnes e derivados**. São Paulo: Varela, 2002. 181p.

CENTORBI, O. N. P. Primer aislamiento de cepas de *Staphylococcus aureus* productores de toxina del síndrome de shock tóxico –I em manipuladores de alimentos em Argentina. **Rev. Arg. de Microbiologia**, n. 22, p.142-145, 1990.



CHANG, H. Y.; SHELDON, B. W. Application of ozone with physical wastewater treatments to recondition poultry process waters. **Poultry Science**, v. 68, p. 1078-87, 1989.

COTTA, T. **Produção de carne de frango**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1997. 197p.

CUNNINGHAM, F. E.; COX, N. **The microbiology of poultry meat products**. San Diego: Academic, 1987. 359p.

DATTA, N. Food 4002. **Emerging food technologies and biotechnology lectures notes**; ultrasonication. Disponível em:

<<http://library.uq.edu.au/bio/lectures/food4002-2002/ultrasonication.doc>>. Acesso em: 16 out. 2002

DYCHDALA, G. R. Chlorine and chlorine compounds. In: BLOCK, S. S. (Ed.). **Disinfection, sterilization and preservation**. 2.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1977. p. 167-195.

DYCHDALA, G. R. Chlorine and chlorine compounds. In: BLOCK, S. S. (Ed.). **Disinfection, sterilization and preservation**. 4.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p. 131-151.

ELECTRIC POWER RESEARCH INSTITUTE. **Membrane filtration and ozonation of poultry chiller overflow water**: study of membrane treatment to reduce water use and ozonation for sanitation at a poultry processing plant in California. California: EPRI, 1999. (Technical Report TR-114435).

FIGUEIREDO, R. M. **SSOP**: padrões e procedimentos operacionais de sanitização. São Paulo: Manole, 1999.164p. (Coleção Higiene dos Alimentos, 1).

FIGUEIREDO, R. M. **As armadilhas de uma cozinha**. São Paulo: Manole, 2003. 228p. (Coleção Higiene dos Alimentos, 3).

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Center for Food Safety and Applied Nutrition. **Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing Technologies – ultrasound**. 02 June 2000.

Disponível em: <<http://vm.cfsan.fda.gov>>. Acesso em: 16 out. 2002.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Department of Health and Human Services. **Docket N. 00F-1482 - Secondary direct food additives permitted in food for human consumption PART 173. Sec.173.368**. June 2001. Disponível em: <<http://www.fda.gov/OHRMS/DOCKETS>>. Acesso em: 16 jul. 2002.

FORSYTHE, J. S. **Microbiologia da segurança alimentar**. Tradução de Maria Carolina Minardi Guimarães; Cristina Leonhardt. Porto Alegre: Artmed, 2002. 424p.

FORSYTHE, R. H.; WALDROUP, A. L. The economics of conservation of poultry processing water using ozone. **Poultry Science**, v.74, n. 87, supl. 1, 1994. (Abstract).

GARCIA, C. A. et al. Eficiência do ozônio na redução de bactérias aeróbicas mesófilas, em efluentes de matadouros-frigoríficos. **Higiene Alimentar**, v.15, n.90/91, p.60-63, 2001.

GENCO QUÍMICA INDUSTRIAL LTDA **Fichas de dados de segurança de materiais – Hipoclorito de cálcio**. São Paulo, 1998. 7p.

GRAHAM, D.M. Use of ozone for food processing. **Food Technology**, v. 51, n. 6, p. 72-75, 1997.

GREENE, A. K.; FEW, B. K.; SERAFINI, J. C. A comparison of ozonation and chlorination for the disinfection of stainless steel surfaces. **Journal Dairy Science**, v.76, p.3617-3620, 1993.

GURLEY, B. Ozone: pharmaceutical sterililant of the future? **Journal of Parenteral Science and Technology**, v.39, n.6, p. 256-261, 1985.

HADDON, W. F. et al. Potent bacterial mutagens produced by chlorination of simulated poultry chiller water. **J. Agric. Food. Chem**, v. 44, p. 256-263, 1996.

HIDROALL LTDA.. **HCL60** – Ácido tricloro isocianúrico. Campinas, 2000a. 19p.

HIDROALL LTDA. **HCL90 E HCL56** – Dicloroisocianurato de sódio. Campinas, 2000b. 19p.

HIDROSAN. **Hidrosan Plus, Hidrosan Efervescente**. Disponível em: <[www.banhosmae.com.br/quimicos.html](http://www.banhosmae.com.br/quimicos.html)>. Acesso em: 27 de fev. 2003.

HTH. **Fichas de dados de segurança de materiais** – Hipoclorito de cálcio. Salto: Arch Química Brasil, 1999. 3p.

INTERNATIONAL CONSULTATIVE GROUP ON FOOD IRRADIATION. **Safety of poultry meat: from farm to table**. Vienna: ICGFI/BARC, 1999. 36p.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **APPCC na qualidade e segurança microbiológica de alimentos**. Tradução de Anna Terzi Giova. São Paulo: Varela, 1997. 377p.

INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. **Teste de eficiência de Aquatabs na desinfecção de verduras e frutas**. Campinas: ITAL/Bayer, 1997.

JAMES, W. O. et al. Effects of chlorination of chill water on the bacteriologic profile of raw chicken carcasses and giblets. **Journal American Veterinary Association.**, v. 200, p. 60-63, 1992.

KOTULA, A. W.; THOMSON, J. E.; KINNER, J. A. Bacterial counts associated with the chilling of fryer chickens. **Poultry Science**, v.41, p.818-821, 1962.

LANA, G. R. Q. **Avicultura**. São Paulo: Livraria e Editora Rural, 2000. 268p

LEDERER, L. Intoxicações alimentares. In: \_\_\_\_\_. **Enciclopédia moderna da higiene alimentar**. São Paulo: Manole Dois, 1991. v.4.

LEE, B. H.; KERMASHA, S.; BAKER, B. E. Thermal, ultrasonic and ultraviolet inactivation of *Salmonella* in thin films of aqueous media and chocolate. **Food Microbiology**, v. 6, p. 143-152, 1989.

LEITÃO, M. F. F. **Controle de sanificação na indústria de alimentos**. Campinas: ITAL, 1976. 71p.(Instruções Técnicas, 11).

LEVER INDUSTRIAL. **Hipoclor** – Ficha sobre segurança do produto. São Paulo, 1991. 4p

LEVER INDUSTRIAL. **Sumaveg** – Hazard classification. London: Unilever U.K. Central Resources, 1995. 4 p.

LILLARD, H. S. Broiler necks flumed in recycled bird chiller water. **Poultry Science**, v.57, p.142-148, 1978.

LILLARD, H. S. Effect on broiler carcasses and water of treatment chilling water with chlorine on chlorine dioxide. **Poultry Science**, v. 59, p.1761-1766, 1980.

LILLARD, H. S. The impact of commercial processing procedures on the bacterial contamination and cross-contamination of broiler carcasses. **Journal of Food Protection**, v.53, p.202-204, 1990.

LILLARD, H. S. Bactericidal effect of chlorine on attached *Salmonella* with and without sonication. **Journal Food Protection**, v.56, p. 716-717, 1993.

LILLARD, H. S. Decontamination of poultry skin by sonication. **Food Technology**, v. 48, n. 12, p.72-73, 1994.

LILLARD, H. S.; THOMSON, J. E. Efficacy of hydrogen peroxide as a bactericide in poultry chiller water. **Journal of Food Science**, v. 48, p.125-126, 1983.

MACEDO, J. A. B. **Água & Águas**. Juiz de Fora: Ortofarma, 2000. 505p

MACEDO, J. A. B.; BARRA, M. M. **Derivados clorados de origem orgânica . uma solução para o processo de desinfecção de laticínios e para a desinfecção de água potável**. Disponível em:

<<http://www.aguaseaguas.ufjf.br>>. Acesso em: 28 fev. 2003.

MEAD, G. C. Bacteriological control in the processing of poultry. **Veterinary Record**, v. 95, p.569-572, 1974.

MULDER, R. W. A.W.; VEERKAMP, C. H. Improvements in poultry slaughterhouse hygiene as a result of cleaning before cooling. **Poultry Science**, v.15, p.573-585, 1974.

ODLAUG, T. E.; PFLUG., I. J. Sporicidal properties of chlorine compounds: applicability to cooling water for canned foods. **Journal Milk Food Technology**, v.39, n.7, p.493-498, 1976.

PADRÓN, G. et al. Utilización del ozono como agente desinfectante de aguas contaminadas con Salmonellas. **Rev. Cub. Hig. Epid.**, v. 24, n. 4, p. 435-438, oct./dic. 1986

PARDI, M. C. et al. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. 2.ed. Goiânia: UFG, 2001. 1v. 623p.

PARRY, T. J.; PAWSEY, R. K. **Principles of microbiology for students of food technology**. 2<sup>nd</sup>ed. Great Britain: Stanley Thornes, 1984. 214p.

PERALES, I.; GERCIA, M. I. The influence of pH and temperature on the behaviour of *Salmonella enteritidis* phase type 4 in homemade mayonnaise. **Letters Applied Microbiology**, n. 10, p. 1-13, 1990.

PERIC, M.; ROSSMANITH, E.; LEISTNER, L. Untersuchungen über die beeinflussung des oberflächenkeimgehaltes von schlachthähnchen durch die spinchiller-Kühlung. **Die Fleischwirtschaft**, n.2, p.216-218, 1971.

REIBER, M. A. et al. Effect of litter condition on microbiological quality of freshly killed and processed broilers. **Poultry Science**, v.69, p.2128-2133, 1990.

RICE, R. G. et al. Ozone preservation of foods and foodstuffs. In: OZONE WORLD CONGRESS, 13., 1997, Kyoto, Japan. **Proceeding...** Kyoto, Japan: International Ozone Association, 1997. p.785-790.

RICHARDSON, S. D. et al. Chemical by-products of chlorine and alternative disinfectants. **Food Technology**, v. 52, n. 4, p. 58-61, Apr. 1998.

RITTER, R. **Contaminação bacteriana da água do sistema de pré-resfriamento de frangos e sua influência na vida de prateleira de frangos resfriados e refrigerados**. 2000. 88p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)-Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

SCHADE, J. E. et al. Extraction of mutagens from chlorinated chiller water. **Journal of Food Science**, v. 55, n. 3, p. 535-639, 1990.

SCOTT, D. B. M.; LESHER, E. C. Effect of ozone on survival and permeability of *Escherichia coli*. **Journal Bacteriology**, v.85, p.567-576, 1992.

SCIENTIFIC COMMITTEE ON VETERINARY MEASURES RELATING TO PUBLIC HEALTH. **Benefits and limitations of antimicrobial treatments for poultry carcasses**. 30 Oct. 1998. Disponível em:

<[www.http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scv/out14\\_em.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scv/out14_em.pdf)>. Acesso em: 18 mar. 2003.

SHELDON, B. W.; BROWN, A. L. Efficacy of ozone as a disinfectant for poultry carcasses and chill water. **Journal of Food Science**, v. 51, n. 2, p. 305-309, 1986.

SHELDON, B. W.; CHANG, Y. H. The Application of ozone and other physical processes for treating spent poultry chiller water. In: FOOD PROCESSING WASTE CONFERENCE, 1987, Atlanta, GA. **Proceedings ... Atlanta, GA, 1987**.

SILVA, J. A. Microrganismos patogênicos em carnes de frangos. **Higiene Alimentar**, v. 12, n. 58, p. 9-14, 1998.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2ªed. São Paulo: Varela, 2001. 317p.

SURKIEWICZ, B. F. et al. Bacteriological survey of chicken eviscerating plants. **Food Technology**, v. 23, p. 1066-1069, 1969.

THIESSEN, G. P.; USBORNE, W. R.; ORR, H. L. The efficacy of chlorine dioxide in controlling salmonella contamination and its effect on product quality of chicken broiler carcasses. **Poultry Science**, v. 63, n. 647, p.647-653, 1984

THOMSON, J. E.; COX, N. A.; BAILEY, J. S. Chlorine, acid and heat treatments to eliminate *Salmonella* on broiler carcasses. **Poultry Science**, v. 54, p. 1452-1460, 1975.

THOMSON, J. E.; COX, N. A.; BAILEY, J. S. Chlorine, acid and heat treatments to eliminate *Salmonella* on broiler carcasses. **Poultry Science**, v. 55, p. 1513-1517, 1976.

THOMSON, J. E.; WHITEHEAD, W. K.; MERCURI, A. J. Chilling poultry meat – a literature review. **Poultry Science**, v. 53, p. 1268-1281, 1974.

TORRES, E. A. F. S. et al. Estudo das propriedades desinfetantes do ozônio em alimentos. **Higiene Alimentar**, v. 10, n. 42, p. 18-23, 1996.

TSAI, L.; SCHADE, J. E.; MOLYNEUX, B. T. Chlorination of poultry chiller water: chlorine demand and disinfection efficiency. **Poultry Science**, v. 71, p. 188-196, 1992.

TSAI, L.; HIGBY, R.; SCHADE, J. Disinfection of poultry chiller water with chlorine dioxide: consumption and byproduct formation. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, v. 43, p. 2768-2773, 1995.

TSAI, I. S.; WILSON, R.; RANDALL, V. Mutagenicity of poultry chiller water treated with either chlorine dioxide or chlorine. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, v. 45, n. 6, p.2267-2272, 1997.

U. S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Code of Federal regulations. Title 9, part 381. **Poultry products: chiller water reuse**. V. 49, N.50. Office Federal Register, Washington, 1984.

WALDROUP, A. L. Summary of work to control pathogens in poultry processing. **Poultry Science**, v.72, p.1177-1179, 1993.

XAVIER, C. V. A; BERAQUET, N. J. Vida de prateleira da carne de frango refrigerada – Alternativas tecnológicas I. Atmosfera modificada. **Boletim da Sociedade de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 41-47, 1993.

YANG, P. P. W.; CHEN, T. C. Stability of ozone and its germicidal properties on poultry meat microorganisms in liquid phase. **Journal Food Science**, v.44, p.501-504, 1979.

YUAN, J.; STEINER, E.; NOVAK, J. Ozone processing: historical perspectives, system integration, and potential food applications. CONGRESS OF INTERNATIONAL OZONE ASSOCIATION, 14., 1999, Detroit. **Proceeding...** Detroit, 1999. p.337-341

## **CAPÍTULO 5**

**Deteccção de trihalometanos em água de sistema de resfriamento de carcaças de frango, após o tratamento com dicloroisocianurato de sódio, ozônio e ultra-som**

## 1 Resumo

VEIGA, Sandra Maria Oliveira Morais. Detecção de trihalometanos em água de sistema de resfriamento de carcaças de frango, após o tratamento com dicloroisocianurato de sódio, ozônio e ultra-som. In: \_\_\_\_\_. **Sanificação de carcaças de frango: processos alternativos**. 2003. Cap. 5, p. 211-251, 291p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

Por causa do alto conteúdo de matéria orgânica, presente em água do *chiller*, o tratamento com o cloro pode resultar na formação de trihalometanos (THM), principalmente clorofórmio. Como opções, para a desinfecção da água de consumo, são sugeridos a utilização de cloraminas, dióxido de cloro, ozônio e radiação ultravioleta, pois estes processos vão gerar níveis baixos ou nulos de trihalometanos na mesma. Diante do problema da contaminação de carcaças de frango por diversos patógenos, presentes em água de tanques de resfriamento e a necessidade de processos eficientes para a sanificação das mesmas, que não levem ao acúmulo de subprodutos tóxicos ou cancerígenos na cadeia alimentar, o objetivo deste trabalho consistiu na determinação de trihalometanos em amostras de água utilizadas no processamento de aves, após os tratamentos com dicloroisocianurato de sódio (DCIS), ozônio e ultra-som, de forma combinada ou não. Foram utilizados dois reservatórios, sendo o primeiro para a concentração do ozônio e o segundo para trabalhar com a água da rede e a água hiperclorada. O experimento foi realizado em uma cuba lavadora ultra-sônica, marca Sercon, modelo USC 5080. Padronizou-se o tempo de contato em 20 minutos; a temperatura entre 3,0° e 5,0°C, a vazão da água em 4,0L/minuto e a concentração dos sanificantes entre 3,0 e 3,5 mg/L. O ultra-som foi aplicado na frequência de 37 KHz. Realizaram-se os testes de pré-resfriamento das carcaças, para grupos de quatro amostras. Foram coletadas 44 amostras de água, sendo oito da rede de abastecimento, 12 dos reservatórios e 24 do *chiller*, sob os diferentes tratamentos. A detecção e a quantificação de trihalometanos foram realizadas por meio da técnica MIMS – Espectrometria de Massa por Introdução via Membrana. A utilização dos sanificantes químicos produziu somente pequenos níveis de trihalometanos nas amostras analisadas, ou seja, o emprego do DCIS produziu baixas concentrações de clorofórmio e bromodiclorometano, enquanto o ozônio implicou na formação de apenas traços de clorofórmio e

---

\* Comitê Orientador: Dr. João Evangelista Fiorini - UNIFENAS (Orientador),  
Drª. Eliana Pinheiro de Carvalho - UFLA (Co-orientadora)

pequenas concentrações de bromodiclorometano. Por outro lado, a ozonização da água dos reservatórios levou à eliminação do clorofórmio, inicialmente presente na mesma. A aplicação do ultra-som no *chiller* proporcionou a redução dos subprodutos formados, principalmente quando o mesmo foi associado aos sanificantes químicos estudados, destacando-se a combinação ozônio e ultra-som. Considerando que os níveis de THM encontrados nas amostras analisadas situam-se bem abaixo do limite permissível de 100µg/L, estes ensaios fornecem subsídios para a utilização do DCIS, ozônio e do ultra-som em água de *chiller*, de forma combinada ou não, como tratamentos alternativos potenciais para processamento de aves, sem riscos preocupantes para a saúde do consumidor. Além disso, sugerem que a aplicação destes sanificantes no acondicionamento da água e no tratamento de efluentes pode resultar em benefícios para a indústria e para o meio ambiente.

## 2 Abstract

VEIGA, Sandra Maria Oliveira Morais. Trihalomethane detection in water from chilling system for chicken carcasses, after treatment with sodium dichloroisocyanurate, ozone and ultra-sound. In: \_\_\_\_\_. **Chicken carcasses sanitization: alternative procedures**. 2003. Cap. 5, p. 211-251, 291p. Thesis (Doctorate in Food Science)-Universidade Federal de Lavras, Lavras. \*

Because of the high organic material content, present into the chiller water, the chlorine treatment may result on the formation of trihalomethanes (THM), mainly chloroform. As options for the disinfection of consuming fresh-water, the use of chloramines, chlorine dioxide, ozone and ultra-violet radiation is advisable, because these procedures will generate low or no levels of trihalomethanes in the water. Face to the problem of chicken carcasses contamination by several pathogenic microorganisms, present in the water of chilling tanks and to the need of effective procedures for their sanitization, so that they aren't led to the accumulation of toxic or carcinogen by-products in the nourishment chain, the objective of this work consisted on the determination of trihalomethanes in samples of water used in poultry processing, after treatment with sodium dichloroisocyanurate (Na-DCI), ozone and ultra-sound, in a combined manner or not. Two reservoirs were used, being the first for the ozone concentration and the second for regular tap waters and superchlorinated water. The experiment took place in an ultra-sonic washing sink, Sercon made, model USC 5080. Contact timing of 20min., temperature from 3,0° to 5,0°C, water flow 4,0Lt/min, and sanitizers concentration from 3,0 to 3,5 mg/Lt, were standardized. The ultra-sound was applied at the frequency of 37KHz. Pre-chilling tests of the carcasses were realized, for groups of four samples. 44 water samples were collected, being eight from the regular water supply network (tap water), 12 from the reservoirs and 24 from the chiller, under different treatments. The detection and quantification of trihalomethanes was done by the MIMS technique – Mass Spectrometry by Introduction via Membrane. The use of chemical sanitizers produced just low levels of trihalomethanes among the analyzed samples, which means, the use of Na-DCI produced low concentrations of chloroform and bromodichloromethane. On other hand, the water ozonization led to the chloroform elimination, initially present in it. The use of ultra-sound in the chiller provided the reduction of the formed by-products, mainly when it was

---

\* Guidance Committee: Dr. João Evangelista Fiorini - UNIFENAS (Major Professor), Dra. Eliana Pinheiro de Carvalho - UFLA (Co-Professor)

associated to the studied chemical sanitizers, emphasizing the combination of ozone and ultra-sound. Considering that the THM levels found in the analyzed samples are well below the tolerating level of  $100\mu\text{g/Lt}$ , these tests provide subsidy to the use of Na-DCI, ozone and ultra-sound in chiller water, in a combined manner or not, as alternative potential treatments for poultry processing, without worrying hazard to consumer's health. Besides, they suggest that the use of such sanitizers in the water reconditioning and in the treatment of sources may result in benefits for industry and for the environment.

### 3 Introdução

No processamento de aves, o pré-resfriamento é feito em tanques de água gelada (*chiller*) que normalmente são adicionados de sanificantes para minimizar a contaminação cruzada entre as carcaças. O cloro é o produto mais utilizado para reduzir microrganismos no *chiller* e, conseqüentemente, a contaminação cruzada (*International Commission on Microbiological Specifications for Foods-ICMSF*, 1997; *International Consultative Group on food Irradiation-ICGFI*, 1999; Ritter, 2000).

Apesar da legislação brasileira vigente recomendar uma hipercloração de 2 a 5 mg/L na água de resfriamento das carcaças, o cloro vem sendo empregado rotineiramente nos tanques de *chiller*, por vários abatedouros, em altas concentrações (5 a 200 mg/L ou mais) (Prodlove, 1996; Martins et al., 1998; Silva, 1998; Brasil, 1999; Lana, 2000).

Atualmente, sabe-se que, além do cloro apresentar um efeito limitado sobre os alguns microrganismos, inclusive patogênicos, a utilização de compostos clorados, principalmente de origem inorgânica, mesmo em doses baixas, pode levar à formação de subprodutos halogenados indesejáveis, os trihalometanos, que são potencialmente carcinogênicos (Richardson et al., 1998; ICGFI, 1999; Garcia et al., 2001; Macedo, 2000).

Geralmente, o derivado clorado mais utilizado no processamento de aves é o hipoclorito de sódio, pois este composto apresenta custo relativamente baixo, grande disponibilidade no mercado e aplicabilidade simplificada (Hoffman, 1984; Prodlove, 1996; Martins et al., 1998; Lana, 2000; Block, 1991; Macedo, 2000; Ritter, 2000).

Entretanto, devido ao alto conteúdo de matéria orgânica presente em tanques de *chiller*, o tratamento da água, com o hipoclorito de sódio, resulta na

formação de trihalometanos, primariamente clorofórmio (Tsai et al., 1997).

Na década de 1970, após a identificação destes resíduos em água de abastecimento, os Estados Unidos começaram a interessar por métodos alternativos para a desinfecção de água e alimentos (Rice, 1981; Meyer, 1994; Macedo, 2000).

A toxicologia de produtos químicos utilizados para a preservação da carne de frango também tem sido alvo de estudos e preocupações. As pesquisas por métodos apropriados de descontaminação datam de mais de 30 anos (ICGFI, 1999).

Haddon et al. (1996) citam que potentes mutagênicos foram identificados em experimentos realizados em tanques de resfriamento de aves, nos quais a água era tratada com o cloro. Identificar bactérias mutantes na água do *chiller* é importante para se avaliar riscos da cloração e seus efeitos sobre processos variados, inclusive na reutilização da água.

De acordo com Schade et al. (1990), por causa da alta demanda de cloro pela água do *chiller*, há maiores chances de formação de substâncias mutagênicas na mesma.

Tsai et al. (1995) afirmam que, embora os impactos causados na saúde humana por estes compostos não estejam bem estudados, providenciar métodos alternativos para descontaminar a água do *chiller* é altamente desejável.

Entre os trihalometanos (THM), os quatro compostos que apresentam concentrações mais significativas em água de abastecimento são: triclorometano (clorofórmio), bromodiclorometano, dibromoclorometano e tribromometano, sendo o clorofórmio o mais comumente detectado (Santos, 1987).

Na composição dos trihalometanos podem-se encontrar espécies cloradas, bromadas e iodadas ou, ainda, uma combinação dessas. Na água de abastecimento, normalmente, as espécies mais encontradas são as cloradas e bromadas (Tominaga & Midio, 1999).



FIGURA 1 Coleta de amostra de água para detecção de trihalometanos.

#### 4.4 Determinação de trihalometanos (THM)

A detecção e quantificação de trihalometanos foram realizadas no Instituto de Química da UNICAMP, em Campinas, SP.

Para detectar e quantificar os compostos orgânicos clorados, utilizou-se da técnica de Espectrometria de Massa por Introdução via Membrana (MIMS).

A metodologia escolhida atende o propósito, ou seja, monitorar a formação de THM durante o resfriamento das carcaças no *chiller*, em água adicionada ou não de sanificante.

Este método é reconhecido pela APHA (1992) e, segundo Mendes et al. (1996), nos últimos anos, esta técnica vem mostrando-se como uma das mais eficientes, simples e sensíveis para a análise de compostos orgânicos voláteis na água de abastecimento e em efluentes.

A técnica MIMS baseia-se fundamentalmente na passagem seletiva do

formação de trihalometanos, primariamente clorofórmio (Tsai et al., 1997).

Na década de 1970, após a identificação destes resíduos em água de abastecimento, os Estados Unidos começaram a interessar por métodos alternativos para a desinfecção de água e alimentos (Rice, 1981; Meyer, 1994; Macedo, 2000).

A toxicologia de produtos químicos utilizados para a preservação da carne de frango também tem sido alvo de estudos e preocupações. As pesquisas por métodos apropriados de descontaminação datam de mais de 30 anos (ICGFI, 1999).

Haddon et al. (1996) citam que potentes mutagênicos foram identificados em experimentos realizados em tanques de resfriamento de aves, nos quais a água era tratada com o cloro. Identificar bactérias mutantes na água do *chiller* é importante para se avaliar riscos da cloração e seus efeitos sobre processos variados, inclusive na reutilização da água.

De acordo com Schade et al. (1990), por causa da alta demanda de cloro pela água do *chiller*, há maiores chances de formação de substâncias mutagênicas na mesma.

Tsai et al. (1995) afirmam que, embora os impactos causados na saúde humana por estes compostos não estejam bem estudados, providenciar métodos alternativos para descontaminar a água do *chiller* é altamente desejável.

Entre os trihalometanos (THM), os quatro compostos que apresentam concentrações mais significativas em água de abastecimento são: triclorometano (clorofórmio), bromodiclorometano, dibromoclorometano e tribromometano, sendo o clorofórmio o mais comumente detectado (Santos, 1987).

Na composição dos trihalometanos podem-se encontrar espécies cloradas, bromadas e iodadas ou, ainda, uma combinação dessas. Na água de abastecimento, normalmente, as espécies mais encontradas são as cloradas e bromadas (Tominaga & Midio, 1999).

Os ácidos húmicos e fúlvicos, resultantes da decomposição da matéria orgânica, são chamados de precursores dos THM. A formação dos trihalometanos é diretamente proporcional à concentração desses ácidos e à dosagem de cloro empregada no tratamento da água, tendo o cloro livre maior poder de formação do que o cloro combinado (Meyer, 1994; Macedo, 2001).

A formação destes subprodutos clorados é influenciada por outros fatores. Quanto maiores forem o tempo de contato com o sanificante, a temperatura da água, a concentração de íons brometos e o potencial hidrogeniônico do meio, tanto maior será a formação dos trihalometanos (Macedo, 1997).

A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (*Environmental Protection Ambiental*- EPA), após detectar a presença dos quatro THM em amostras de água de várias estações de tratamento, propôs, em 1978, o limite máximo permissível de 100µg/L para THM em águas de abastecimento (Meyer, 1994). Posteriormente, em 2000, a EPA diminuiu este limite, para o total de THM para 80µg/L (Macedo, 2001; Macedo et al., 2001). Entretanto, a EPA, considerando os riscos potenciais à saúde humana em relação aos derivados halogenados da cloração, em dezembro de 1993, estabeleceu que trinta substâncias químicas eram consideradas nocivas. Dentre elas, os THM, cuja tolerância deveria ser zero (Gray, 1994).

Estudos epidemiológicos já realizados a fim de se correlacionar a incidência de diversos tipos de câncer com a presença de THM em água de abastecimento sugerem que existe uma alta probabilidade de relação entre os cânceres de bexiga, estômago, intestino e cérebro com a ingestão desses compostos (Meyer, 1994; Tominaga & Midio, 1999).

Diante do exposto, vários países estabeleceram limites para estas substâncias: no Canadá, este é de 350µg/L, na Alemanha é de 25µg/L, na Holanda é de 75µg/L e na França, 10µg/L (Meyer, 1994).

A Organização Mundial de Saúde recomenda um valor-guia de 30µg/L para o clorofórmio na água potável, para um consumo médio de 2 litros diários. Tal concentração deverá produzir menos de um caso de câncer a cada 100.000 habitantes durante toda a vida. Estes dados foram obtidos aplicando-se um modelo estatístico em experimentos com ratos (Tominaga & Midio, 1999).

Os THM são rapidamente absorvidos pelo trato gastrointestinal, atingindo concentração sanguínea máxima dentro de 1 a 1,5 hora após a ingestão. Os principais órgãos de biotransformação são o fígado e os rins (Tominaga & Midio, 1999).

No Brasil, as Portarias nº36/90 e nº1469/01, ambas do Ministério da Saúde, trazem como limite para os THM 100µg/L (Brasil, 1990; Brasil, 2001). Porém, Meyer (1994), Macedo (2001) e Macedo et al. (2001) discorrem sobre o fato de que a maioria dos estados brasileiros não monitora os THM, como preconiza a legislação.

Ao analisar os dados históricos sobre a pesquisa de THM, Macedo (2001) relata que são poucos os trabalhos publicados neste país em relação à detecção de trihalometanos em água de abastecimento público. Fernícola & Azevedo (1984), Santos (1988), Queiroz et al. (1994) e Tominaga & Midio (1998) monitoraram a formação de THM no município de São Paulo e Macedo (1997), em Juiz de Fora, MG.

Como opções para a desinfecção da água de consumo, são sugeridos a utilização de cloraminas, dióxido de cloro, ozônio e radiação ultravioleta, pois estes processos vão gerar níveis baixos ou nulos de trihalometanos (Meyer, 1994; Richardson et al., 1998; Tominaga & Midio, 1999).

Esses compostos também já foram detectados em diversos alimentos e bebidas preparados a partir de água clorada (sorvetes, sucos e refrigerantes). Em estudos realizados na Inglaterra, analisando diversos tipos de alimentos, foram encontradas as seguintes concentrações de clorofórmio: 1,4 a 33µg/kg em

produtos lácteos; 1 a 4µg/kg na carne; 2 a 10µg/kg em azeites e óleos; 0,4 a 18µg/L em bebidas e 2 a 18µg/kg em frutas e verduras (Tominaga & Midio, 1999).

Na tentativa de evitar ou reduzir a formação de subprodutos orgânicos clorados na água do *chiller* e obter sanificantes mais eficientes, uma variedade de substâncias tem sido pesquisada para garantir a qualidade sanitária da carne de frango.

O dicloroisocianurato de sódio (DCIS) tem-se mostrado uma opção viável para a desinfecção de água e alimentos, pois reage menos com substâncias húmicas, resultando em baixos níveis de trihalometanos (Macedo, 2000).

Os derivados clorados de origem orgânica, denominados “cloraminas orgânicas”, surgiram na década de 1970, sendo que os compostos dicloroisocianurato de sódio e o ácido tricloro isocianúrico destacaram-se com o passar do tempo (Dychdala, 1977; 1991; Odlaug & Pflug, 1976; Leitão, 1976; Blatchley III, 1994; Blatchley III & Xie, 1995; Macedo & Barra, 2003).

O dicloroisocianurato de sódio possui características físico-químicas superiores em relação a quaisquer outros produtos clorados, tais como hipoclorito de sódio, hipoclorito de cálcio e ácido tricloro isocianúrico. Este composto apresenta alta tecnologia para a desinfecção em geral, podendo ser utilizado para a desinfecção de água para consumo humano, frutas, verduras, legumes, artigos e superfícies que entram em contato com alimentos (Bayer [199-]a; [199-?]b; Hidrosan, 2003).

Conforme relatório técnico feito pelo Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), os estudos mostram que o dicloroisocianurato de sódio não é considerado genotóxico, mutagênico e muito menos teratogênico. A dose letal média (DL<sub>50</sub>) para o homem está estimada em 3,57 g do produto por quilo de peso, sendo equivalente à ingestão de 214 g do produto por um adulto de 60 kg

(Bayer [199-?]b).

Moraes et al. (1997) verificaram a eficiência do DCIS em reduzir esporos bacterianos mesófilos e termófilos obtidos da pele de aves, verificando reduções entre 0,8 e 1,0 ciclo  $\log_{10}$  dos mesmos.

Macedo (1997) avaliou a formação de trihalometanos, a partir da aplicação de compostos clorados, em processos de pré e pós-cloração da água, em uma estação de tratamento. Níveis consideráveis de THM foram detectados após a aplicação do hipoclorito de sódio, sendo que na etapa de pré-cloração a média foi de 117,52 $\mu\text{g/L}$  e na pós-cloração, de 56,67 $\mu\text{g/L}$ . Quando utilizou-se do dicloroisocianurato de sódio foram detectados apenas traços de trihalometanos. Análises realizadas em amostras coletadas em um determinado ponto da rede de abastecimento (panificadora) evidenciaram que após o percurso através de tubulações, as concentrações de trihalometanos tendem a aumentar.

O ozônio é outro sanificante que vem conquistando espaço no processamento de alimentos, especialmente da carne e frango, pois esta substância tem alto poder sanificante, reage rapidamente e sofre posterior inativação. Como consequência, seu residual é baixo ou nulo (Rice et al., 1997; Graham, 1997; Kim et al., 1999).

O ozônio tem alta capacidade desinfetante e sanificante e amplo espectro de ação, atuando sobre bactérias, vírus, fungos filamentosos e leveduras, e sobre formas esporuladas. A concentração e o tempo de ação são menores que os exigidos pelo cloro. Ainda, a substância tem a capacidade de oxidar poluentes orgânicos e inorgânicos (Padrón et al., 1986; Torres et al., 1996).

Sobre a toxicologia, um painel de peritos, instituído pelo *Electric Power Research Institute* (EPRI), observou que o ozônio tem sido amplamente estudado *in vitro* e *in vivo* e que o mesmo não é mutagênico, nem carcinogênico. Estudos com animais expostos a longo tempo de inalação do ozônio não mostraram resultados carcinogênicos. Produtos carcinogênicos não foram

detectados após o tratamento de 18 diferentes aminoácidos e 10 açúcares. Subprodutos da reação do ozônio com ácidos graxos insaturados são, primariamente, aldeídos, cetonas e peróxido de hidrogênio (Rice et al., 1997).

Richardson et al. (1998) encontraram, em trabalho experimental, que os subprodutos formados, quando a água é tratada com ozônio, são basicamente, aldeídos, cetonas, ácido carboxílico, e raramente benzenoacetnitrila.

Na Europa e nos Estados Unidos, o ozônio está sendo muito utilizado como opção aos compostos clorados. Entretanto, a presença de íons bromo na água, mesmo em pequenas quantidades, pode influenciar fortemente a formação de THM (Siddiqui & Amy, 1993).

Recentemente, observou-se que a ozonização pode levar à formação de compostos orgânicos bromados por oxidação de íons bromo para HOBr e OBr<sup>-</sup> em presença de precursores de trihalometanos (Siddiqui & Amy, 1993).

Dessa forma, é importante assinalar que a ozonização de água contendo bromo realmente pode influenciar fortemente a massa total de THM. Porém, os dados ainda são escassos, pois a maioria dos estudos que tem investigado o ozônio, como um desinfetante alternativo para o cloro, tem sido feita em água que não apresenta íons bromo. Conseqüentemente, muito pouco é conhecido em relação à reação do ozônio em água contendo traços de íons bromo (Siddiqui & Amy, 1993; Gunten & Hoigne, 1992).

O ultra-som vem surgindo também como mais uma alternativa para a indústria de alimentos, principalmente quando combinado ao calor, pressão e produtos químicos. Para a produção da carne de frango, o ultra-som começa a ser estudado como um método auxiliar de descontaminação (ICGFI, 1999; Datta, 2002).

Datta (2002) descreve que a destruição de microrganismos pelo ultra-som deve-se à combinação de seus efeitos: cavitação e suas forças (formação e difusão de bolhas que causam mudanças físicas na célula microbiana), calor

localizado e formação de radicais livres na água ( $\text{OH}^\cdot$ ,  $\text{H}^\cdot$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) que possuem efeitos bactericidas. A força mecânica do ultra-som decresce com a viscosidade do meio.

Segundo Datta (2002) e o *Food and Drug Administration-FDA* (2000), a tecnologia do ultra-som tem um amplo campo de aplicações atuais e futuras na indústria de alimentos. Para eliminar ou reduzir microrganismos em alimentos, as ondas ultra-sônicas podem ser utilizadas sozinhas ou combinadas com outros métodos. O FDA (2000), analisando alguns trabalhos já publicados, propõe o uso do ultra-som combinado a outros processos.

Ainda, de acordo com Datta (2002), o ultra-som tem aplicação na indústria de alimentos em alta (1 a 10 MHz) e baixa frequência (20 a 100 KHz). Em baixa frequência, o mesmo é recomendado para os testes não destrutivos.

Considerando que as práticas atuais de produção de carne de frango não resultam em carcaças livres de *Salmonella* ou *Campylobacter*, Lillard (1993; 1994) relata a realização de ensaios, utilizando a combinação cloro e ultra-som em tanques de *chiller*, com o objetivo de eliminar bactérias que ficam incrustadas na pele das aves. O ultra-som foi aplicado na frequência de 20 KHz, combinado a um residual de cloro de 0,5 mg/L, por 30 minutos. Os resultados mostraram que quando cloro e ultra-som são aplicados ao mesmo tempo no tanque de *chiller*, apresentam efeito sinérgico.

Burleson et al. (1975) utilizaram a combinação do ozônio e ultra-som, durante 10 minutos, para tratar um efluente secundário. A sonicação reduziu ou alterou a oxidabilidade do material orgânico, medida pela demanda biológica de oxigênio e por determinações químicas de demanda de oxigênio e diminuiu a demanda de ozônio no efluente de secundário. A ozonização do efluente secundário, após a aplicação do ultra-som, também não produziu reconhecidos compostos tóxicos para a vida aquática.

Como anteriormente descrito, o FDA acredita que a tecnologia do ultra-

som tenha potencial para atuais e futuras aplicações nos processos de preservação de alimentos. Porém, considera que são necessárias novas pesquisas para determinar uma metodologia eficiente para a sua utilização prática na indústria de gêneros alimentícios (FDA, 2000).

Uma vez conhecido o problema da contaminação de carcaças de frango por diversos patógenos presentes em água de tanques de resfriamento e a necessidade de processos eficientes para a desinfecção da mesma, que não levem ao acúmulo de subprodutos tóxicos ou cancerígenos na cadeia alimentar e no ambiente, o objetivo deste trabalho consistiu na determinação de trihalometanos em amostras de água utilizadas no processo de resfriamento de aves, após os tratamentos com dicloroisocianurato de sódio, ozônio e ultra-som, de forma combinada ou não.

## 4 Material e métodos

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biologia e Fisiologia de Microrganismos da Universidade José do Rosário Velano (UNIFENAS), Alfenas, MG, onde foram montadas duas plantas-piloto para avaliar a formação de trihalometanos em água utilizada em um protótipo de tanque de *chiller* de aves, quando adicionada ou não de sanificantes.

Uma das plantas foi sistematizada para operar com as águas potável e hiperclorada e a outra, com água ozonizada. Ambas as plantas foram projetadas, desenvolvidas e instaladas pela White Martins Gases Industriais S/A.

Como protótipo de um tanque *chiller*, utilizou-se a cuba lavadora ultra-sônica de aço inoxidável, marca Sercon, modelo USC 5080A.

### 4.1 Amostragem

A pesquisa e a quantificação de trihalometanos foram realizadas para os seis tratamentos, inclusive com o monitoramento da água da rede e dos reservatórios. Efetuou-se a mesma em duplicata, com duas repetições.

Foram coletadas 44 amostras de água, sendo 8 da rede, 12 dos reservatórios, e 24 do tanque de *chiller*.

### 4.2 Tratamento

Realizaram-se os ensaios de pré-resfriamento de carcaças de frango, utilizando grupos de quatro unidades amostrais (meias-carcaças sem pés, cabeça e pescoço), que foram submetidas ao tratamento com água potável, água hiperclorada e água ozonizada. Posteriormente, todos esses testes foram repetidos conjugados à tecnologia do ultra-som. Dessa forma, 48 meias-carcaças de frango, procedentes de um abatedouro local, foram utilizadas nos ensaios

para verificar a formação de trihalometanos na água do *chiller* sob os diferentes tratamentos.

Para abastecer as plantas-piloto, foram utilizados dois reservatórios. O primeiro com capacidade de 500 litros para a concentração do ozônio e o segundo de 250 litros para trabalhar com a água da rede e água hiperclorada.

Como anteriormente descrito, os tratamentos foram realizados em uma cuba lavadora ultra-sônica de aço inoxidável. Antes do início de cada processamento, a mesma passava por higienização prévia, ou seja, desinfecção com álcool 70%p/p e enxágüe com a própria solução de resfriamento.

Padronizou-se o tempo de tratamento em 20 minutos, a temperatura do banho entre 3,0° e 5,0°C, a vazão da água no protótipo de tanque de *chiller* em 4,0L/minuto e a concentração dos sanificantes entre 3,0 e 3,5 mg/L.

O tempo de 20 minutos, determinado para os ensaios, foi estabelecido após a revisão dos trabalhos de Macedo (2000), Sheldon & Brown (1986), Sheldon & Chang (1987), Lillard (1993; 1994) e ainda, conforme Bressan & Perez (2001).

Como fonte refrigeradora, utilizou-se de gelo potável picado para trabalhar com as águas potável e hiperclorada, e de gelo seco para a água ozonizada.

Os testes pilotos indicaram a quantidade de gelo a ser utilizada. Em média, 40 kg do gelo potável picado foram necessários para resfriar 250 litros de água e mantê-la entre 3° a 5°C, por aproximadamente 30 minutos.

Para trabalhar com a água ozonizada, utilizou-se um sistema fechado de resfriamento, no qual, primeiro, concentrou-se o ozônio em caixa d'água de fibra de vidro, com capacidade para 500 litros, por meio do conjunto venture-bomba de recirculação, por 30 minutos. Posteriormente, a água ozonizada sofria o resfriamento, passando por uma serpentina, imersa em um tanque isotérmico, contendo uma mistura de aproximadamente 40 kg de gelo seco, 20 litros de água

e 2,5 litros álcool, fazendo com que a mesma alcançasse a temperatura desejada, cerca de 3° a 5°C. Durante todo o processamento, a saturação da água com o ozônio era mantida, para garantir o intervalo de concentração estabelecido.

Nos processos, nos quais trabalhou-se com a água potável, o sistema foi alimentado com a água da rede de abastecimento da Universidade. Esta água é represada em açude, captada e passa por tratamento convencional, no próprio campus. Para a sua utilização, instalou-se, no seu ponto de chegada, um filtro de carvão para reter o cloro residual. Este ensaio funcionou como controle para os demais.

Antes do início de cada tratamento, foi averiguada a vazão do sistema, sendo realizada a medição do volume de água, em litros/minuto, por meio de recipiente, com capacidade adequada. Verificou-se também o potencial hidrogeniônico das soluções de resfriamento, em todos os testes, por meio de tiras reagentes indicadoras de pH, marca Merck, apresentando escala de 01 a 14, com intervalo de 0,2.

Os sanificantes químicos escolhidos foram o dicloroisocianurato de sódio (Aquatabs industrial, Bayer S.A.) e o gás ozônio, produzido *in locus*. Como descontaminante físico, as ondas ultra-sônicas foram aplicadas, tecnologia esta disponível na cuba lavadora utilizada neste experimento como protótipo de tanque de *chiller*.

Para o preparo da água hiperclorada, utilizou-se um comprimido efervescente de Aquatabs industrial (2,5g) para 250 litros de água, obtendo, assim, o residual de cloro livre desejado (3,0 a 3,5 mg/L). A escolha do produto teve como referencial, Macedo (2000).

O ozônio, como descrito, foi produzido em sistema fechado, na própria planta de tratamento, utilizando-se um cilindro de oxigênio de 100 kg e de gerador. O equipamento para a produção de ozônio, neste estudo, foi da marca Ozone, modelo EAS 470DC, cuja capacidade nominal é de 10 g/h a 3% de

concentração em peso de ozônio gerado, quando operado com uma vazão de oxigênio de 4,2 litros/minuto a 1,0 kgf/cm<sup>2</sup> de pressão. O cilindro de oxigênio foi conectado ao gerador por meio do regulador de pressão e fluxômetro.

Porém, conforme testes pilotos, operou-se o sistema com cinco litros de oxigênio/minuto e pressão de 0,5 kgf/cm<sup>2</sup>. Dessa forma, ao aplicar os cálculos corretivos para definir a concentração de ozônio gerada, obteve-se que a produção real de ozônio foi de 6,88 g/h. Nos testes acima citados, pôde-se observar que, trabalhando sob estas condições, após 30 minutos de saturação, 500 litros de água adquiriram um residual de ozônio situado entre 3,0 a 3,5 mg/L.

A definição da concentração dos sanificantes fundamentou-se nas seguintes referências: para o cloro, Lana (2000) e Brasil (1999), e para o ozônio, Sheldon & Brown (1986), Sheldon & Chang (1987), *Arkansas Agriculture Experimental Station-AAES* (1997), EPRI (1999) e ICGFI (1999).

Para a verificação do residual de cloro, conforme proposto por Thiessen et al. (1984), utilizou-se do método colorimétrico por comparação visual, no qual o N.N. dietil-p-fenilendiamina (DPD) é a solução reagente. Para a confirmação dos resultados encontrados empregou-se o método iodimétrico indireto, que tem como solução titulante, o tiosulfato de sódio a 0,1N (*American Public Health Association-APHA*, 1992).

A concentração de ozônio dissolvida na água de resfriamento foi mensurada por meio de monitor do tipo *Residual Ozone System* (ROS), que apresenta instrumento indicador modelo 26506 e sensor 31.331.15 (*Orbisphere Laboratories*<sup>®</sup>). Este equipamento possui uma célula eletroquímica do tipo Clark, a qual determina o resíduo de ozônio por diferença de condutividade (Cardoso, 1999). O residual de ozônio foi confirmado pelo método iodimétrico, utilizando-se como solução titulante, o tiosulfato de sódio a 0,1N (APHA, 1992).

O ultra-som foi aplicado sob a frequência de 37KHz, estando esta de acordo com os trabalhos de Datta (2002) e Lillard (1993), que apontam a faixa de frequência entre 20 a 100 KHz, como apropriada para a descontaminação de alimentos.

### **4.3 Coleta das amostras de água**

Como já citado, foram obtidas amostras de água da rede, dos reservatórios e do protótipo de tanque de *chiller*, sob os diferentes tratamentos. Antes do início dos ensaios, fez-se a coleta da água de abastecimento, sendo tomadas duas amostras para cada tempo de tratamento, o que resultou em oito amostras de água da rede.

Subseqüentemente, coletaram-se duas amostras da água dos reservatórios, adicionada de sanificantes ou não, implicando em um total de doze.

Conforme sugerido por Thiessen et al. (1984), no tempo médio de cada processamento, realizou-se a coleta da água do banho, sendo obtidas duas amostras de cada ensaio realizado, perfazendo um total de 24 amostras de água do *chiller*.

A obtenção das amostras de água para análise de THM foi desenvolvida conforme proposto por Mendes et al. (1996), ou seja, coletaram-se as mesmas em frascos âmbar, com capacidade para 150mL, preenchendo-se totalmente os mesmos com as amostras, de forma a não restar coluna de ar nos recipientes (Figura 1). Em seguida, os frascos eram bem vedados. Imediatamente após a coleta, acondicionavam-se as amostras em caixas isotérmicas, tipo “isopor”, adicionadas de gelo reciclável, sendo então enviadas, no mesmo dia, para a Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), para a realização do ensaio.



FIGURA 1 Coleta de amostra de água para detecção de trihalometanos.

#### 4.4 Determinação de trihalometanos (THM)

A detecção e quantificação de trihalometanos foram realizadas no Instituto de Química da UNICAMP, em Campinas, SP.

Para detectar e quantificar os compostos orgânicos clorados, utilizou-se da técnica de Espectrometria de Massa por Introdução via Membrana (MIMS).

A metodologia escolhida atende o propósito, ou seja, monitorar a formação de THM durante o resfriamento das carcaças no *chiller*, em água adicionada ou não de sanificante.

Este método é reconhecido pela APHA (1992) e, segundo Mendes et al. (1996), nos últimos anos, esta técnica vem mostrando-se como uma das mais eficientes, simples e sensíveis para a análise de compostos orgânicos voláteis na água de abastecimento e em efluentes.

A técnica MIMS baseia-se fundamentalmente na passagem seletiva do

analito através de uma membrana semipermeável, o qual é então analisado e quantificado por espectrometria de massas. A membrana utilizada foi a Silastic 500-3, com 0,010" de espessura, Dow coming Co.

A sonda empregada na técnica MIMS fica localizada junto à fonte ionizadora do espectrômetro de massas, permitindo, dessa forma, a inserção direta da amostra, eliminando etapas preliminares de extração ou pré-concentração. Então, a sonda é conectada ao espectrômetro de massa Extrel Pentaquadrupolar, o qual é constituído de três quádruplos de varredura ou analisadores de massa ( $Q_1$ ,  $Q_3$  e  $Q_5$ ) e dois quádruplos do tipo "rf-only" ( $Q_2$  e  $Q_4$ ), os quais podem ser utilizadas como câmaras de dissociação de íons ou no estudo de reações íons/moléculas. A fonte de íons permite ionização por impacto de elétrons (EI) ou ionização química (CI) (Juliano et al., 1996; Gozzo & Eberlin, 1995).

Prepararam-se soluções padrões de triclorometano, bromodiclorometano, dibromoclorometano e tribromometano a partir de reagentes analíticos marca Merck ou Aldrich, em metanol, na concentração de 20 mg/L, obtendo-se, a partir dessas, as demais soluções para a construção da curva analítica.

A circulação das amostras no aparelho deu-se por meio de uma bomba peristáltica, com um fluxo de 3mL/minuto, conforme sugerido por Mendes et al. (1996).

## 5 Resultados e discussão

Foram detectados dois compostos organoclorados nos ensaios realizados, o triclorometano (clorofórmio) e o bromodiclorometano. O clorofórmio foi encontrado nas duas etapas do experimento, tanto sem a utilização do ultra-som, quanto na aplicação do mesmo. O bromodiclorometano só foi detectado nas amostras da segunda etapa, ou seja, quando se avaliou o efeito do ultra-som em relação à formação de trihalometanos, de forma isolada ou combinada aos tratamentos realizados.

De acordo com a Figura 2, pode-se constatar que foram detectados, em média, 4,8µg/L de triclorometano (clorofórmio) na água da rede de abastecimento. Quanto às amostras dos reservatórios, a água potável continuou apresentando, em média, 4,8µg/L de clorofórmio (CF). Entretanto, a água adicionada de dicloroisocianurato de sódio (DCIS) e a água ozonizada apresentaram, em média, respectivamente, 5,0µg/L e 4,7µg/L da substância. A pesquisa de THM para as amostras de água do *chiller* revelou que as concentrações médias de CF foram de 4,9µg/L quando realizou-se o resfriamento, utilizando apenas água potável; 7,2µg/L quando trabalhou-se com a água hiperclorada e de 5,2µg/L no ensaio com a água ozonizada.

Considerando as concentrações médias encontradas para o CF, em todos os pontos monitorados (rede, reservatório e *chiller*), verifica-se que as mesmas estão bem abaixo do valor guia recomendado pela OMS para a água de consumo, que é de, no máximo, 30µg/L, conforme discorrem Tominaga & Midio (1999). Entretanto, não se deve esquecer que a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos recomenda limite zero para trihalometanos em águas de abastecimento público (Macedo, 2001).

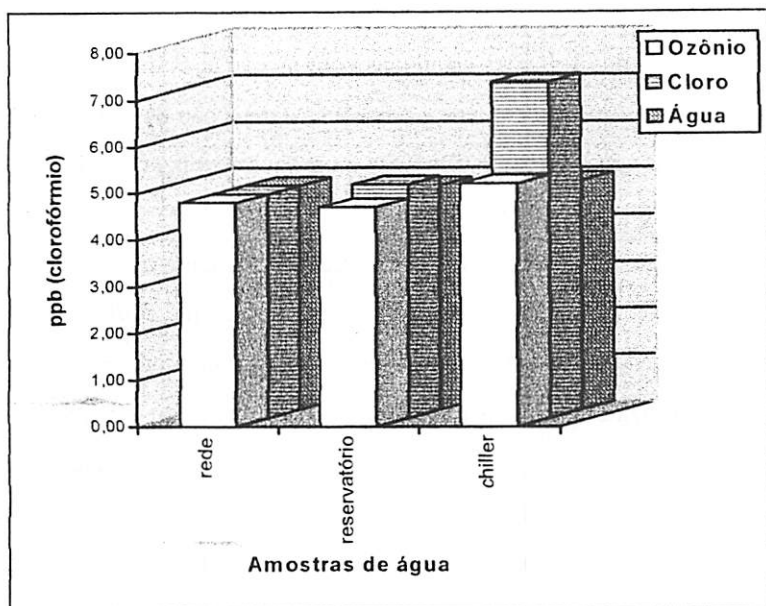


FIGURA 2 Detecção e quantificação de triclorometano (clorofórmio) nos tratamentos propostos, sem ultra-som.

A adição do DCIS à água do reservatório promoveu um pequeno aumento na concentração média da substância pesquisada, cerca de 4,20%. O fato, provavelmente, deve-se à presença de traços de substâncias húmicas na água e deve estar relacionado às observações feitas por Macedo (1997). Este autor relata que as cloraminas orgânicas, quando utilizadas em estação de tratamento de água, na etapa de pós-cloração, produzem baixos níveis de trihalometanos.

Por outro lado, a pequena redução de CF na água ozonizada do reservatório, em média 2,10%, pode estar relacionada à capacidade do ozônio em oxidar poluentes orgânicos e inorgânicos em águas de abastecimento, como relatam os trabalhos de Rice et al. (1981), Chang & Sheldon (1989), Padrón et

al. (1986), Torres et al. (1996) e Richardson et al. (1998).

O contato das soluções estudadas com as carcaças de frango, no tanque de resfriamento, promoveu aumentos variados na detecção de THM. A média foi de 2,10% para a água potável, 10,64% para a água ozonizada e 44,00% para a água hiperclorada.

Possivelmente, os pequenos percentuais de aumento de THM, detectados com os empregos de água potável e água ozonizada no *chiller*, devem estar relacionados a resíduos de cloro ou da própria substância em estudo, presentes nas carcaças utilizadas, pois as mesmas já haviam passado por processamento prévio no abatedouro de origem. Poderiam ainda estar relacionados com traços de cloro na água de abastecimento, considerando que nem sempre o residual deste desinfetante é totalmente adsorvido pelos filtros de carvão ativado.

Entretanto, constatou-se que o emprego de água adicionada de DCIS no *chiller* implicou em um percentual maior de aumento nos níveis de THM. Apesar de Macedo (1997) ter detectado apenas traços de THM em água de abastecimento público quando se utilizou dessa substância para realizar a pós-cloração, há que se considerar o fato exposto por Schade et al. (1990) e Tsai et al. (1997). Segundos estes autores, a água do *chiller* possui um alto conteúdo de matéria orgânica, conseqüentemente uma alta demanda de cloro e, portanto, tem maiores chances de formar substâncias mutagênicas.

Vários autores já detectaram a presença de substâncias mutagênicas em água de *chiller*, após o uso de produtos clorados. Schade et al. (1990) constataram a presença destas substâncias após trabalharem com o hipoclorito de sódio, observando que as mesmas formam-se em questão de minutos. Tsai et al. (1997) verificaram a presença destas substâncias, observando que o cloro gasoso leva à formação de altas concentrações, enquanto o dióxido de cloro produz apenas níveis muito baixos. Robinson et al. (1981) detectaram pequenas quantidades de clorofórmio em carcaças de frango resfriadas em água contendo

dióxido de cloro.

Outro paralelo importante a ser feito quanto à formação de THM em função do emprego do DCIS está na observação realizada por Tsai et al. (1997). De acordo com estes pesquisadores, embora o dióxido de cloro seja conhecido por não formar THM, quando utilizado em água de consumo, isto não é necessariamente válido para a água de *chiller* de aves.

Os autores Haddon et al. (1996) e Richardson et al. (1998) também relatam que potentes mutagênicos têm sido detectados na água do *chiller* quando a mesma é tratada pelo cloro, tais como clorofórmio e bromodiclorometano. Entretanto, Richardson et al. (1998) descrevem que a utilização de cloraminas orgânicas e do ozônio podem resultar na formação de menos subprodutos halogenados indesejáveis.

Considerando-se os dados abaixo inseridos, relacionados com os experimentos da segunda fase, deve-se relatar que em uma etapa, detectou-se o clorofórmio e na outra, o bromodiclorometano. Estes dados estão de acordo com Aizawa et al. (1989), os quais relatam que, na presença de brometos, os trihalometanos bromatados são preferencialmente formados, sendo que a concentração de clorofórmio decresce proporcionalmente.

Outro aspecto da pesquisa que deve ser exposto é quanto ao período de realização dos ensaios, os quais ocorreram em diferentes épocas do ano. Os testes da primeira fase, na qual utilizou-se de água potável, hiperclorada e ozonizada, foram realizados em meses mais frios, ou seja, maio a setembro, enquanto os testes da segunda fase, nos quais empregou-se o ultra-som, concentraram-se em meses mais quentes e chuvosos para a região, ou seja, de janeiro a abril. Pois, como descrito pelos pesquisadores Otson (1987); Willian et al. (1980); Santos (1988) e Macedo (1997), os níveis de trihalometanos em água de abastecimento podem sofrer influência sazonal.

Por meio da Figura 3, podem-se verificar os níveis de clorofórmio

encontrados na água da rede, reservatórios e *chiller* sob os diferentes tratamentos combinados à tecnologia do ultra-som.

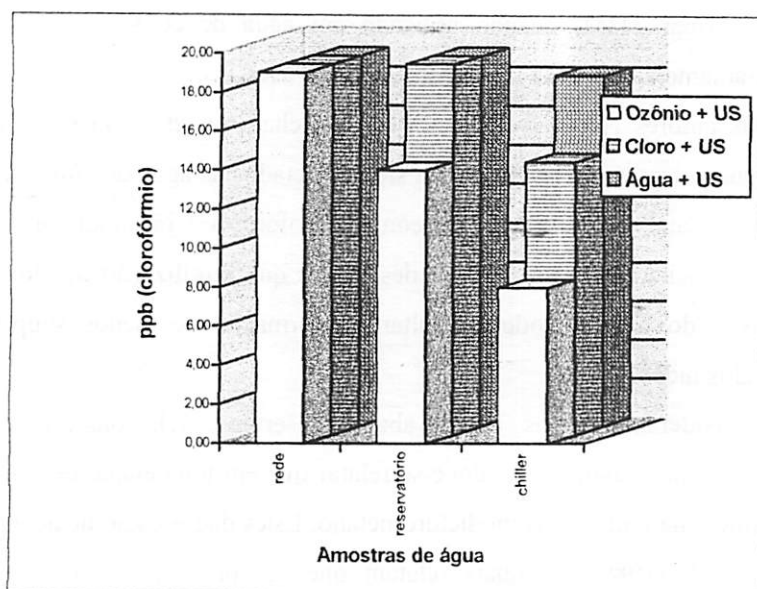


FIGURA 3 Detecção e quantificação de triclorometano (clorofórmio) nos tratamentos propostos, com ultra-som.

Constatou-se, nesta etapa do experimento, que o nível de clorofórmio (CF) na água da rede era mais alto do que na etapa anterior. Foram detectados, em média,  $19\mu\text{g/L}$  da substância nas amostras analisadas. Como anteriormente citado, possivelmente, estes dados estão relacionados ao período do ano no qual esses ensaios foram realizados, meses de janeiro a abril. Nesta época ocorrem maiores índices pluviométricos nessa região, o que promove um maior arraste de substâncias húmicas para os mananciais, ficando então favorecida a formação de trihalometanos, conforme observações feitas por Macedo (1997) e Santos

(1988).

Ainda, sobre a influência sazonal, Otson (1987) e Willian et al. (1980) ressaltam que, nos meses de inverno, os níveis de THM em água de consumo são consideravelmente baixos, ao contrário do que ocorre no verão.

Ao serem analisados os dados dos reservatórios, verificou-se que a água potável e a água adicionada de DCIS continuaram a apresentar o mesmo nível detectado na água da rede, ou seja, 19µg/L. Porém, a ozonização da água da rede promoveu uma diminuição nos níveis da substância, pois constatou-se que as amostras de água ozonizada apresentavam, em média, 14µg/L de clorofórmio. Detectou-se, então, uma diminuição de 26,32% nos níveis de triclorometano após a ozonização.

A mesma hipótese anteriormente aventada pode ser aplicada neste caso, ou seja, provavelmente o fato deve-se ao papel do ozônio em oxidar poluentes orgânicos e inorgânicos na água, conforme relatam as publicações de Rice et al. (1981), Chang & Sheldon (1989), Padrón et al. (1986), Torres et al. (1996) e Richardson et al. (1998).

De acordo com a Figura 3, também pode-se observar que nas amostras provenientes do *chiller* com a aplicação do ultra-som, os níveis de clorofórmio foram de 18µg/L para água potável, 14µg/L para a água hiperclorada e 8µg/L para água ozonizada. Dessa forma, pôde-se constatar que o emprego das ondas ultra-sônicas contribuiu para a diminuição dessa substância no tanque de resfriamento, principalmente quando esta tecnologia é combinada aos sanificantes químicos, DCIS e ozônio.

De acordo com Engelmann (2002), a utilização do ultra-som auxilia na decomposição de compostos organoclorados presentes em água, tais como tricloroetileno, clorofórmio e tetraclorocarbono. Ying-Shih & Jih-Gaw (1998) também relatam que o pré-tratamento da água com ultra-som reduz os subprodutos da cloração.

Outros pesquisadores utilizaram-se da ozonização para reduzir subprodutos halogenados na água. Entre eles estão Kusakabe et al. (1991), que promoveram a destruição de compostos orgânicos voláteis na água utilizando a combinação de ozônio e radiação ultravioleta e Kageyama et al. (1996), os quais fizeram uso da ozonização e adsorção em carvão ativado em uma estação de tratamento de água, para remoção de trihalometanos em águas superficiais.

Burleson et al. (1975), em seus experimentos, verificaram o papel do ultra-som na oxidação do material orgânico em um efluente secundário, verificando que o pré-tratamento com ondas ultra-sônicas alterou a oxidabilidade, reduzindo a demanda de ozônio. Após a aplicação das ondas ultra-sônicas, o tratamento com o gás ozônio não levou à produção de reconhecidos compostos tóxicos para a vida aquática.

Apesar de existirem poucos trabalhos monitorando os níveis de THM em água de abastecimento público, no Brasil, como descrevem Meyer (1994), Macedo (2001) e Macedo et al. (2001), pode-se verificar que, segundo os autores abaixo inseridos, o clorofórmio (CF), seguido do bromodiclorometano (BDCM) e do dibromoclorometano (DBCM) são as substâncias mais detectadas em águas de consumo.

Fernícola & Azevedo (1984) detectaram CF (0 – 97,8µg/L), BDCM (0 – 27,8µg/L) e DBCM (0 – 80µg/L) em amostras de água da cidade de São Paulo. Santos (1988) também constatou a presença de clorofórmio (54,80 a 160µg/L) em amostras de água de várias localidades de São Paulo; Queiroz et al. (1994) ao desenvolverem o programa de avaliação toxicológica da qualidade da água, feito pela Companhia de Tecnologia de Saneamento Básico de São Paulo (CETESB), no período de 1985 a 1990, encontraram níveis de THM totais variando entre 0 – 396µg/L. Tominaga e Midio (1998) igualmente pesquisaram THM em 20 amostras de água de abastecimento do município de São Paulo, detectando CF (18,1 - 78,2µg/L), BDCM (20,7 - 18,1µg/L) e DBCM (0,31 -

4,24µg/L).

Como anteriormente descrito, o pesquisador Macedo (1997) demonstrou que os níveis de trihalometanos gerados na água de abastecimento são diferentes quando se utilizam compostos clorados de origem distintas e também em função da etapa do tratamento, na qual os mesmos são aplicados. Verificou-se que o uso do hipoclorito de sódio na pré-cloração produziu, em média, 117,52µg/L de trihalometanos totais (CF e BDCM), enquanto que a utilização do mesmo, na pós-cloração, gerou 55,67µg/L dessas substâncias. Entretanto o autor relata que o emprego do dicloroisocianurato de sódio na pós-cloração levou à formação de apenas traços de THM (CF e BDCM).

Pode-se observar que os valores encontrados por alguns dos autores citados chegaram a ser superiores ao limite recomendado pela legislação brasileira vigente, que é de, no máximo, 100µg/L (Brasil, 2001).

A Figura 4 apresenta os resultados encontrados para o bromodiclorometano (BDCM) no atual estudo, por meio da qual pode-se verificar que a concentração média do BDCM detectada na água da rede foi de 7µg/L. Em relação às amostras dos reservatórios, nota-se que a água potável continuou apresentando, em média, o mesmo nível inicial da substância. Quanto às amostras de águas cloradas ou ozonizadas obtidas dos reservatórios, constatou-se que a adição do DCIS elevou, em média, a concentração de BDCM para 14µg/L e a ozonização também alterou o nível de BDCM, aumentando, em média, para 11µg/L, a concentração deste subproduto.

Observa-se, então, que o aumento do BDCM nas amostras de água dos reservatórios foi de 100,00%, quando se acrescentou o DCIS e de 57,14%, quando se empregou o ozônio.

Considerando que Siddiqui & Amy (1993) relatam que altos níveis de bromo na água exercem forte influência sobre a massa de trihalometanos totais, pode-se pensar na hipótese de que a elevação dos níveis de BDCM, na água

## 6 Conclusões

Os sanificantes estudados (dicloroisocianurato de sódio e ozônio) implicaram na formação de pequenos níveis de trihalometanos na água do *chiller*.

A utilização do ultra-som isoladamente no *chiller* provocou uma pequena redução dos trihalometanos detectados no estudo.

A combinação do dicloroisocianurato de sódio ou do ozônio com o ultra-som resultou em importantes reduções ou até mesmo na eliminação dos trihalometanos formados.

4,24 µg/L).

Como anteriormente descrito, o pesquisador Macedo (1997) demonstrou que os níveis de trihalometanos gerados na água de abastecimento são diferentes quando se utilizam compostos clorados de origem distintas e também em função da etapa do tratamento, na qual os mesmos são aplicados. Verificou-se que o uso do hipoclorito de sódio na pré-cloração produziu, em média, 117,52 µg/L de trihalometanos totais (CF e BDCM), enquanto que a utilização do mesmo, na pós-cloração, gerou 55,67 µg/L dessas substâncias. Entretanto o autor relata que o emprego do dicloroisocianurato de sódio na pós-cloração levou à formação de apenas traços de THM (CF e BDCM).

Pode-se observar que os valores encontrados por alguns dos autores citados chegaram a ser superiores ao limite recomendado pela legislação brasileira vigente, que é de, no máximo, 100 µg/L (Brasil, 2001).

A Figura 4 apresenta os resultados encontrados para o bromodiclorometano (BDCM) no atual estudo, por meio da qual pode-se verificar que a concentração média do BDCM detectada na água da rede foi de 7 µg/L. Em relação às amostras dos reservatórios, nota-se que a água potável continuou apresentando, em média, o mesmo nível inicial da substância. Quanto às amostras de águas cloradas ou ozonizadas obtidas dos reservatórios, constatou-se que a adição do DCIS elevou, em média, a concentração de BDCM para 14 µg/L e a ozonização também alterou o nível de BDCM, aumentando, em média, para 11 µg/L, a concentração deste subproduto.

Observa-se, então, que o aumento do BDCM nas amostras de água dos reservatórios foi de 100,00%, quando se acrescentou o DCIS e de 57,14%, quando se empregou o ozônio.

Considerando que Siddiqui & Amy (1993) relatam que altos níveis de bromo na água exercem forte influência sobre a massa de trihalometanos totais, pode-se pensar na hipótese de que a elevação dos níveis de BDCM, na água

tratada dos reservatórios, possivelmente deve-se à presença de íons bromo na água da rede.

Alguns trabalhos já destacaram o problema da presença do bromo em água a ser tratada pelo o ozônio, observando que o mesmo favorece a formação de THM durante a ozonização (Siddiqui & Amy, 1993; Macedo, 1997; Gunten & Hoigne, 1992).

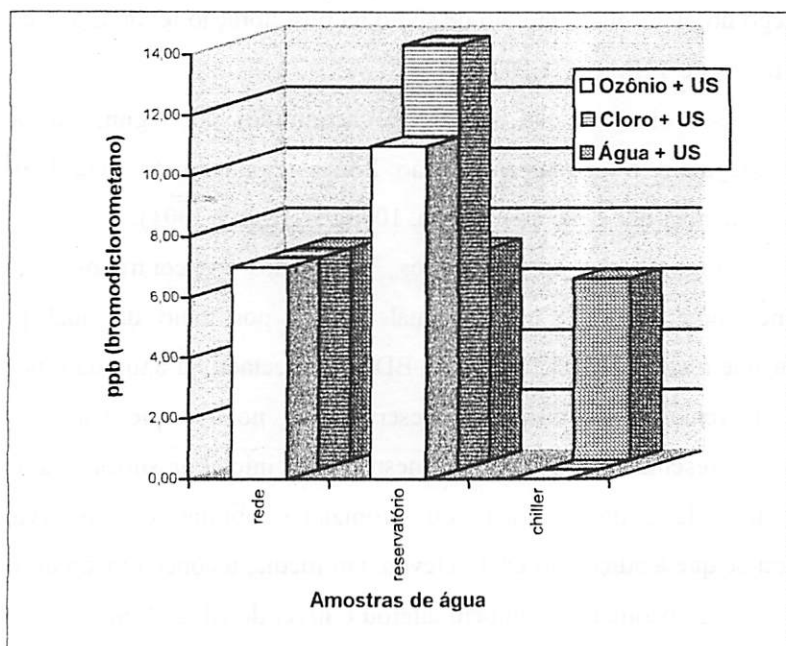


FIGURA 4 Detecção e quantificação de bromodiclorometano nos tratamentos propostos, com ultra-som.

Apesar da importância da discussão sobre a formação do BDCM, nos reservatórios de água sob a ação do DCIS ou do ozônio, deve-se ressaltar que as concentrações encontradas são baixas em relação ao limite permitido para THM

totais na água de consumo pela legislação vigente (Brasil, 2001).

Por outro lado, para as amostras de água coletadas no tanque de *chiller*, quando foram utilizados diferentes tratamentos conjugados à tecnologia do ultra-som, verifica-se que a concentração média de BDCM foi de 6,0µg/L para a água da rede e que a substância não foi mais detectada nas amostras de água hiperclorada e ozonizada, utilizadas no resfriamento das carcaças.

Novamente, observa-se o efeito do ultra-som de forma isolada sobre os compostos organoclorados e, principalmente, o efeito sinérgico do mesmo, quando combinado aos sanificantes químicos. Isto, mais uma vez, confirma os dados dos trabalhos anteriormente citados de Engelmann (2002); Ying-Shih & Jih-Gaw (1998) e Burleson et al. (1975).

Considerando as Figuras 3 e 4, pode-se verificar, então, a ação do ultra-som isoladamente ou combinada ao DCIS e ao ozônio na redução do clorofórmio e do bromodiclorometano em água de tanque de resfriamento de frangos.

Os dados obtidos no presente estudo sugerem que a aplicação das ondas ultra-sônicas e do ozônio no condicionamento da água do *chiller* e no tratamento do efluente pode resultar em grandes benefícios para a indústria e para o meio ambiente.

Para a utilização direta do ultra-som no *chiller*, outros estudos seriam necessários a fim de determinar a frequência ideal para aplicação, pois na faixa aplicada, apesar dos efeitos interessantes sobre a redução de trihalometanos, suspeita-se que o mesmo possa ter interferido na vida útil do produto.

## 6 Conclusões

Os sanificantes estudados (dicloroisocianurato de sódio e ozônio) implicaram na formação de pequenos níveis de trihalometanos na água do *chiller*.

A utilização do ultra-som isoladamente no *chiller* provocou uma pequena redução dos trihalometanos detectados no estudo.

A combinação do dicloroisocianurato de sódio ou do ozônio com o ultra-som resultou em importantes reduções ou até mesmo na eliminação dos trihalometanos formados.

## 7 Referências bibliográficas

- AIZAWA, T.; MAGARA, Y.; MUSASHI, M. Effect of bromide ions on trihalomethane (THM) formation in water. **Aqua**, v. 3, n. 165, 1989.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for examination of water and wastewater**. 18<sup>th</sup>ed.. Washington, 1992.
- ARKANSAS AGRICULTURE EXPERIMENTAL STATION. **Executive Summary for Conagra**.Murray Hill, NJ: BOC Gases, 1997.
- BAYER SA. **Saúde animal e saúde ambiental: catálogo de produtos - linha saúde ambiental**. São Paulo: Aquatabs, [199-]a.
- BAYER SAÚDE SA. **Aquatabs, relatório técnico**. Campinas, [199-?]b.
- BLATCHLEY III, E. R. Disinfection and antimicrobial processes. **Water Environment Research**, v.66, n.4, p.361-368, 1994.
- BLATCHLEY III, E. R.; XIE, Y. Disinfection and antimicrobial processes. **Water Environment Research**, v.67, n.4, p.475-481, 1995
- BLOCK, S. S. **Disinfection, sterilization, and preservation**. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia,PA: Lea & Febiger, 1991. 1162p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria MS n.36. Normas e padrão de potabilidade da água destinada ao consumo humano. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 19 de jan. de 1990.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria n.210. Inspeção tecnológica e higiênico-sanitária de carnes de aves. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, n.43, 05 mar.1999. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA. Portaria MS n.1469. Norma de qualidade da água para consumo humano. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 02 jan. de 2001.

BRESSAN, M. C.; PEREZ, J. R. O. **Tecnologia de carnes e pescados**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 240p.

BURLESON, G. G.; MURRAY, M.T.; POLLARD, M. Inactivation of viruses and bacteria by ozone, with and without Sonication. **Applied Microbiology**, v. 29, p.340-344, 1975.

CARDOSO, C. C. **Avaliação microbiológica da eficiência de um processo de sanitização de latões de leite com ozônio**. 1999.78p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde)-Universidade de Alfenas, Alfenas, MG.

CHANG, H. Y.; SHELDON, B. W. Application of ozone with physical wastewater treatments to recondition poultry process waters. **Poultry Science**, v. 68, p. 1078-1087, 1989a.

DATTA, N. Food 4002. **Emerging food technologies and biotechnology lectures notes; ultrasonication**. Disponível em: <<http://library.uq.edu.au/bio/lectures/food4002-2002/ultrasonication.doc>>. Acesso em: 16 out. 2002

DYCHDALA, G. R. Chlorine and chlorine compounds. In: BLOCK, S. S. (Ed.). **Disinfection, sterilization and preservation**. 2.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1977. p. 167-195.

DYCHDALA, G. R. Chlorine and chlorine compounds. In: BLOCK, S. S. (Ed.). **Disinfection, sterilization and preservation**. 4.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p. 131-151.

ENGELMANN, W. H. **Ultrasound examined for in situ monitoring**. From Ground Water Currents, Apr. 1995, Issue n. 11. Disponível em: <<http://www.clu-in.org/products/newsltrs/gwc/gwcultra.htm>>. Acesso em: 16 out. 2002.

FERNÍCOLA, N. A. G. G.; AZEVEDO, F. A. Water levels of trihalomethanes (THM) in four different supply systems from São Paulo, Brasil. **Journal Environ. Health**, v. 46, p.187-188, 1984.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Center for Food Safety and Applied Nutrition. **Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies – ultrasound**. 02 June 2000. Disponível em: <<http://vm.cfsan.fda.gov>>. Acesso em: 16 out. 2002.

GARCIA, C. A. et al. Eficiência do ozônio na redução de bactérias aeróbias mesófilas em efluentes de matadouros-frigoríficos. **Higiene Alimentar**, v.15, n.90/91, p.60-63, 2001.

GOZZO, F.C.; EBERLIN, M.N. The isomers of ionized dimethyl sulfoxide ( $C_2H_6OS^+$ ) and their  $CH_3OS^+$  fragments. an ab-initio and multiple-stage mass spectrometric (MS3) study. **Journal American Soc. Mass Spectrom.**, v.30, p.1553-1561, 1995.

GRAHAM, D. M. Use of ozone for food processing. **Food Technology**, v. 51, n. 6, p. 72-75, 1997.

GRAY, N. F. **Calidad del agua potable**. Zaragoza: Acribia, 1994. 365p.

GUNTEN, U.V.; HOIGNE, J. Factors controlling the formation of bromate during ozonation of bromide-containing waters. **Journal Aqua**, v. 41, n. 5, p. 299-304, 1992.

HADDON, W. F. et al. Potent bacterial mutagens produced by chlorination of simulated poultry chiller water. **Journal Agricultural Food. Chem.**, v.44, p.256-263, 1996

HIDROSAN. **Hidrosan Plus, Hidrosan Efervescente**. Disponível em: <[www.banhosmae.com.br/quimicos.html](http://www.banhosmae.com.br/quimicos.html)>. Acesso em: 27 de fev. 2003.

HOFFMAN, F. L. **Identificação de microrganismos isolados de água, gelo e carcaças em diferentes fases de processamento**. 1984. 44p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)-Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **APPCC na qualidade e segurança microbiológica de alimentos**. Tradução de Anna Terzi Giova. São Paulo: Varela, 1997. 377p.

INTERNATIONAL CONSULTATIVE GROUP ON FOOD IRRADIATION. **Safety of poultry meat: from farm to table**. Vienna: ICGFI/BARC, 1999. 36p.

JULIANO, V. F. et al. Multidimensional (3D and 4D) MS2 and MS3 scans in a high transmission pentaquadrupole mass spectrometer. **Anal. Chem.**, v. 68, p.1328-1334, 1996.

KAGEYAMA, K. et al. Overall chemical reaction model of an ozone contactor for a water purification model. **Water Science and Technology**, v. 34, n. 3/4, p. 195-202, 1996.

KIM, JIN-GAB; YOUSEF, A. E.; DAVE, S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. **Journal of Food Protection**, v. 62, n. 9, p. 1071-1087, 1999.

KUSAKABE, K. et al. Destruction rate of volatile organochlorine compounds in water by ozonation with ultraviolet radiation. **Water Research**, v. 25, n. 10, p. 1199-1203, 1991.

LANA, G. R. Q. **Avicultura**. São Paulo: Livraria e Editora Rural, 2000. 268p

LEITÃO, M. F. F. **Controle de sanificação na indústria de alimentos**. Campinas: ITAL, 1976. 71p.(Instruções Técnicas, 11).

LILLARD, H. S. Bactericidal effect of chlorine on attached *Salmonella* with and without sonication. **Journal Food Protection**. v.56, p. 716-717, 1993.

LILLARD, H. S. Decontamination of poultry skin by sonication. **Food Technology**. v. 48, n. 12, p.72-73, 1994.

MACEDO, J. A. B. **Determinação de Trihalometanos em águas de abastecimento público e de indústria de alimentos**. 1997. 90 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

MACEDO, J. A. B. **Água & Águas**. Juiz de Fora: Ortofarma, 2000. 505p

MACEDO, J. A. B. **Subprodutos do processo de desinfecção de água pelos derivados clorados – Disinfection Byproducts**. Juiz de Fora: Jorge Macedo, 2001. 67p.

MACEDO, J. A. B. et al. Cloraminas orgânicas, uma solução para evitar a formação de trihalometanos no processo de desinfecção de águas para abastecimento público. **Higiene Alimentar**, v. 15, n. 90/91, p. 93-103, 2001.

MACEDO, J. A. B.; BARRA, M. M. **Derivados clorados de origem orgânica uma solução para o processo de desinfecção de laticínios e para a desinfecção de água potável.** Disponível em:

<<http://www.aguaseguas.ufjf.br>>. Acesso em: 28 fev. 2003.

MARTINS, R. T. et al. Caracterização da microbiota psicrotrófica deteriorativa em carcaças de frango sob efeito de soluções sanificadoras, na linha de produção de abatedouros industriais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 50, n. 3, p. 337-340, 1998.

MENDES, M. A. et al.. Construção de uma sonda de membrana e sua aplicação na análise de compostos orgânicos voláteis em água através da técnica MIMS e MIMS/MS. **Química Nova**, v. 19, n. 5, p.480-485, 1996.

MEYER, S. T. O uso de cloro na desinfecção de águas, a formação de trihalometanos e os riscos potenciais à saúde pública. **Cadernos Saúde Pública**, v. 10, n. 1, p. 99-110, Rio de Janeiro, 1994.

MORAES, M. S. V. et al. Isolation of aerobic mesophilic and thermophilic spores from poultry slaughter equipment and their resistance against chemical disinfectants. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 17, n. 3, p.325-329, 1997.

ODLAUG, T. E.; PFLUG, I. J. Sporicidal properties of chlorine compounds: applicability to cooling water for canned foods. **Journal Milk Food Technol.** v.39, n.7, p.493-498, 1976.

OTSON, R. Purgeable organics in Great Lakes raw and treated water. **International Journal Environ. Anal. Chem.**, v. 31, n. 41, 1987.

PADRÓN, G. et al. Utilización del ozono como agente desinfectante de aguas contaminadas con Salmonellas. **Rev. Cub. Hig. Epid.**, v. 24, n. 4, p. 435-438, oct./dic. 1986.

PRODLÖVE, R. K. **Os alimentos em debate**; uma visão equilibrada. Tradução de: Anna Terzi Giova. São Paulo: Livraria Varela, 1996.

QUEIROZ, I.R. et al. **Avaliação toxicológica da qualidade da água distribuída à população do Estado de São Paulo**. São Paulo: CETESB, 1994. 66p.

RICE, R. G. et al. Uses of ozone in drinking water treatment. **Journal American Water Works Association**, n.73, p.44-56, Jan. 1981.

RICE, R. G. et al. Ozone preservation of foods and foodstuffs. In: CONGRESS OF INTERNATIONAL OZONE ASSOCIATION, 13., 1997, Kyoto, Japan. **Proceeding...** Kyoto, Japan, 1997. p.785-790, .

RICHARDSON, S. D. et al. Chemical by-products of chlorine and alternative disinfectants. **Food Technology**, v. 52, n. 4, p. 58-61. Apr. 1998.

RITTER, R. **Contaminação bacteriana da água do sistema de pré-resfriamento de frangos e sua influência na vida de prateleira de frangos resfriados e refrigerados**. 2000. 88 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

ROBINSON, D.; MEAD, G. C.; BARNES, K. A. Detection of chloroform in the tissues of freshly eviscerated poultry carcasses exposed to water containing added chlorine or chlorine dioxide. **Bull. Envirom. Contam. Toxicol.**, v. 27, p.145-150, 1981.

RODRIGUES, K. F. **Avaliação do rendimento, da composição química e qualidades sensoriais de carcaças comerciais de frangos**. 1994. 70 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

RUSSEL, S. M. A rapid microbiological method for enumeration of *Pseudomonas fluorescens* from broiler chicken carcasses. **Journal of Food Protection**, v. 60, n. 4, p. 385-390, 1997.

SANTOS, C. L. Trihalometanos resumo atual. **Engenharia Sanitária**, v. 26, p. 190-194, 1987.

SANTOS, C. L. **O controle de trihalometanos (THM) nas águas de abastecimento público**. 1988. 217p. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública)-Universidade de São Paulo, São Paulo.

SANTOS, D. M. S. **Pesquisa de *Salmonella* em carcaças de frango congeladas utilizando diferentes meios de cultivo para o isolamento e avaliação de sensibilidade a agentes antimicrobianos**. 1998. 59p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)-Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

SAWAYA, W. N. et al. Die vermarktung ausgeweideter broilerkarkassen unter gekühlten bedingungen. **Fleischwirtschaft**, v. 77, p. 365-371, 1997.

SCHADE, J. E. et al. Extraction of mutagens from chlorinated chiller water. **Journal of Food Science**, v. 55, n. 3, p. 535-639, 1990.

SHELDON, B. W.; BROWN, A. L. Efficacy of ozone as a disinfectant for poultry carcasses and chill water. **Journal of Food Science**, v. 51, n. 2, p. 305-309, 1986.

SHELDON, B. W.; CHANG, Y. H. The Application of ozone and other physical processes for treating spent poultry chiller water. **Proceedings Food Processing Waste Conf. Atlanta, GA, Sept. 1-2, 1987**.

- SIDDQUI, M. S.; AMY, G. L. Factors affecting DBP formation during ozone-bromide reactions. **Journal American Water Works Association**, v. 85, n. 1, p.63-72, 1993.
- THIESSEN, G. P.; USBORNE, W. R.; ORR, H. L. The efficacy of chlorine dioxide in controlling salmonella contamination and its effect on product quality of chicken broiler carcasses. **Poultry Science**, v. 63, n. 647, p.647-653, 1984
- TOMINAGA, M. Y.; MIDIO, A. F. Exposição humana a trihalometanos presentes em água tratada. **Revista de Saúde Pública**, v. 33, n. 4, p. 413-421, 1999.
- TORRES, E. A. F. S. et al. Estudo das propriedades desinfetantes do ozônio em alimentos. **Higiene Alimentar**, v. 10, n. 42, p. 18-23, 1996.
- TSAI, L.; HIGBY, R.; SCHADE, J. Disinfection of poultry chiller water with chlorine dioxide: consumption and byproduct formation. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, v. 43, p. 2768-2773, 1995.
- TSAI, I. S.; WILSON, R.; RANDALL, V. Mutagenicity of poultry chiller water treated with either chlorine dioxide or chlorine. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, v. 45, n. 6, p.2267-2272, 1997.
- WILLIAMS, D. T. et al. Trihalomethane levels in Canadian drinking water. **Environ. Science Res.**, v. 16, n. 503, 1980.
- YING-SHIH, M.; JIH-GAW, L. Effect of pre-sonication on removal of organic matters resulting from chlorinated humic acids. **Water and Technology**, v. 38, n. 6, p.253-260, 1998.

## **CAPÍTULO 6**

**Avaliação do ganho de peso e das propriedades sensoriais da carne de frango processada com dicloroisocianurato de sódio, ozônio e ultra-som**

## 1 Resumo

VEIGA, Sandra Maria Oliveira Morais. Avaliação do ganho de peso e das propriedades sensoriais da carne de frango processada com dicloroisocianurato de sódio, ozônio e ultra-som. In: \_\_\_\_\_. **Sanificação de carcaças de frango: processos alternativos**. 2003. Cap. 6, p. 253-288, 291p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

Os atributos sensoriais estão relacionados com a qualidade do alimento, pois são aspectos observados no momento da compra, do preparo ou durante a degustação da carne. De fato, a cor, a aparência, a maciez, o paladar e a suculência influenciam na escolha do produto, assim como o rendimento da carcaça. No processamento de aves, a operação de resfriamento pode interferir no peso final e na aparência da carcaça, bem como na palatibilidade da carne de frango, dependendo de como o processo é conduzido e dos sanificantes empregados. O cloro e seus derivados de origem inorgânica são os produtos mais utilizados nas plantas de processamento de aves. Atualmente, tem-se conhecimento sobre o potencial desses compostos em formar subprodutos deletérios à saúde humana. Dessa forma, tornam-se altamente necessárias pesquisas por desinfetantes mais apropriados, com menos riscos para a saúde dos consumidores e, ao mesmo tempo, que não interfiram nas propriedades físicas, químicas e sensoriais do alimento. O presente trabalho objetivou avaliar o percentual de ganho de peso das carcaças e a qualidade sensorial da carne de frango submetida às operações de resfriamento, utilizando-se de água adicionada de dicloroisocianurato de sódio, água ozonizada e ultra-som em meio aquoso, de forma isolada ou combinada. O pré-resfriamento das amostras foi realizado em uma cuba lavadora ultra-sônica de aço inoxidável, com capacidade de 15L. Padronizou-se o tempo em 20 minutos, a temperatura entre 3,0° e 5,0°C, o fluxo de água em 4,0L/minuto e a concentração dos sanificantes entre 3,0 e 3,5 mg/L. Para os experimentos, utilizaram-se comprimidos efervescentes de dicloroisocianurato de sódio (Aquatabs Industrial, Bayer) e, para a obtenção do ozônio, trabalhou-se com o gerador marca Ozone, modelo 470DC. Para a avaliação do ganho de peso das carcaças, utilizou-se o método do controle interno, no qual as carcaças foram pesadas antes e após o resfriamento. Após os tratamentos, as carcaças destinadas à análise sensorial foram embaladas e armazenadas a 1,5°C ( $\pm 0,5$ ) por 24 horas. Avaliaram-se as características da

---

\* Comitê Orientador: Dr. João Evangelista Fiorini - UNIFENAS (Orientador),  
Drª. Eliana Pinheiro de Carvalho - UFLA (Co-orientadora)

carne crua e da carne cozida, ou seja, assada em forno elétrico a 200°C por 1:40h. Utilizou-se o teste de painel com cinco juízes para o estudo dos atributos sensoriais. Encontrou-se que o percentual médio de hidratação das carcaças, em função dos tratamentos dispensados, foi para água potável (1,07%), água hipoclorada (1,68%) e a água ozonizada (1,92%). Para os mesmos tratamentos conjugados ao ultra-som, os respectivos resultados foram de 3,37%, 2,90% e 4,96%. Todos os percentuais de hidratação detectados situaram-se dentro do limite permissível. Quanto à análise sensorial, verificou-se que não houve alterações de cor, cheiro e do aspecto geral das carcaças cruas ou assadas. Constatou-se também, que os tratamentos realizados não causaram modificações importantes na palatibilidade da carne de frango pronta para o consumo. Conforme os dados obtidos neste estudo, os processos sanitizantes empregados apresentam grande potencial para utilização em plantas de processamentos de aves.

## 2 Abstract

VEIGA, Sandra Maria Oliveira Morais. Evaluation of weight gain and sensorial properties of chicken meat processed with sodium dichloroisocyanurate, ozone and ultra-sound. In: \_\_\_\_\_. **Chicken carcasses sanitization: alternative procedures.** 2003. Cap. 6, p. 253-288, 291p. Thesis (Doctorate in Food Science)-Universidade Federal de Lavras, Lavras. \*

Sensorial characteristics are related with food quality, for they are observed features in the moment of the purchase, of the preparation or during the tasting of the meat. As a matter of fact, color, appearance, softness taste and sappiness, influence the choice of the product, as well as the carcass yield. In poultry processing, the chilling operation may interfere on the final weight and appearance of the carcass, as well as in the taste of chicken meat, depending on how the procedure is led and on the used sanitizers. Chlorine and its inorganic originated derivatives are the most used products in poultry processing plants. There is actually the knowledge about these compounds potential in generating harmful by-products to human health. This way, it becomes highly necessary to research for more appropriate disinfectants, with less hazard to consumer's health and which at the same time, don't interfere on the physical, chemical and sensorial properties of the nourishment. The present work aimed to evaluate the percentage of weight gain of the carcasses and of the chicken meat subdued to chilling operations, using added water with sodium dichloroisocyanurate, ozonated water and ultra-sound in waterish environment, in an isolated or combined manner. The pre-chilling of the samples was done in a stainless steel ultra-sonic washing sink, with capacity of 15L. A 20 minutes timing, temperature between 3,0° and 5,0°C, water flow 4,0Lt/min and sanitizers concentration from 3,0 to 3,5 mg/Lt, were standardized. For the experiments were used effervescent pills of sodium dochloroisocyanurate (Bayer SA. - Aquatabs Industrial) and for the ozone obtaining, generator Ozone, model 470DC, was used. For the evaluation of the carcasses weight, it was used the internal control method, in which the carcasses were weighed before and after the chilling. After the treatments the carcasses were wrapped and stored at 1,5°C ( $\pm 0,5$ ) temperature, and for a 24 hours period. Raw meat characteristics were evaluated, as well as cooked, which means, roasted in an electrical oven at 200°C temperature during 1:40 hours. Panel test was used, with five judges, for

---

\* Guidance Committee: Dr. João Evangelista Fiorini - UNIFENAS (Major Professor), Dra. Eliana Pinheiro de Carvalho - UFLA (Co-Professor)

the study of sensorial attributes. It was found that the average hydration percentage of the carcasses, resulting from the used treatments was, for fresh-water (1,07%), for super chlorinated water (1,68%) and ozonated water (1,92%). For the same treatments conjugated with ultra-sound, the respective results were 3,37%, 2,90% and 4,96%. All detected hydration percentages were within permissible limits. As about the sensorial exam, it was observed that there weren't changes in color or scent neither in the general features of raw or cooked carcasses. It was also verified that, the realized treatments didn't cause important changes in the taste of the meat ready for consumption. According to the obtained data in this study, the employed sanitizing procedures present a great potential for their use in poultry processing plants.

### 3 Introdução

A crescente expansão da produção de carne de frango no Brasil traz para a indústria avícola a necessidade de melhorar a qualidade das carcaças colocadas à disposição dos consumidores. Entende-se por qualidade o conjunto de atributos que condicionam a aceitação de um produto pelo consumidor e um dos principais caminhos para aumentar a presença do frango no cardápio doméstico (Rodrigues, 1994).

A hidratação exagerada das aves durante o processamento pode influenciar no comércio e consumo do produto. Primeiro, porque, ao adquirir um frango congelado, o consumidor estará pagando o preço de carne por boa porcentagem de gelo; segundo, pelo rendimento da carcaça após o cozimento, que será bem menor que o esperado (Rodrigues, 1994).

A observação e a denúncia pública do excesso de água em carcaças de frango são assuntos bastante atuais no país, tornando-se alvo de intervenções de vários Ministérios, dentre os quais o da Agricultura (via fiscalização do processamento); da Saúde, por meio da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), que cuida, entre outros assuntos, da rotulagem nutricional e do Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio, ao qual pertence o INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial), o qual vem tentando definir o regulamento técnico para a determinação do peso líquido do frango congelado. Cita-se, ainda, o Ministério Público que, em nome do consumidor, vem atuando contra o frango excessivamente hidratado. Há suspeitas, inclusive, de que os frigoríficos estejam até mesmo injetando água nos frangos para aumentar o peso da carne (AviSite notícias, 2003a).

No processamento de aves, após a evisceração, é importante resfriar as

aves rapidamente para impedir o crescimento bacteriano, particularmente de organismos causadores de doença como a *Salmonella* sp. Para os frangos apresentarem melhor qualidade sensorial e vida de prateleira mais longa, é necessário que sua população microbiana, seja a menor possível ao final do processamento. Assim, é importante controlar, nessa operação de resfriamento, os seguintes fatores: concentração dos sanificantes, tempo de contato, temperatura, fluxo de água e absorção da mesma pelas aves (Prodlove, 1996; Lana, 2000; Brasil, 1999).

Para controlar a absorção de água pela ave, a mesma deve ser pesada antes de entrar e após sair do *chiller*. Deve-se observar também o tempo de permanência das carcaças no *pré-chiller* e *chiller* que, ao todo, deve ficar por volta de 45 minutos a 1 hora (Brasil, 1999; Lana, 2000; Bressan & Perez, 2001).

Para reduzir o excesso de água absorvida pela ave na etapa de resfriamento, é feito o gotejamento. Nesta operação, as aves são suspensas pela asa ou pela coxa ou pescoço para o escoamento da água na carcaça, sendo que o tempo de gotejamento varia de 2,5 a 4,0 minutos. A absorção de água pelas carcaças no pré-resfriamento por imersão não deve ultrapassar a 8% (Brasil, 1999; Lana, 2000).

As propriedades sensoriais estão relacionadas com a qualidade do alimento, pois são aspectos que são observados no momento da compra, do preparo ou durante a degustação da carne. De fato, a cor, a aparência, a maciez, o paladar e a suculência influenciam na escolha do produto. Sendo assim, a satisfação sensorial é um determinante importante no consumo de gêneros alimentícios (Anzaldúa-Morales, 1994; Modesta, 1994; Cotta, 1997; Rodrigues, 1994; Xavier, 1997).

Entre as qualidades sensoriais da carne de frango estão, principalmente, os aspectos gerais, a maciez, a suculência e o paladar. Para se avaliar estas características pode-se utilizar métodos instrumentais (laboratoriais - medidas

físico-químicas) e métodos sensoriais ou organolépticos (juri de degustadores), neste caso utiliza-se de um grupo de pessoas treinadas, responsável pela avaliação das características sensoriais (Rodrigues, 1994; Cotta, 1997).

Um teste de degustação é concebido como um estudo planejado, no qual os consumidores são convidados a avaliar um determinado produto. Para que a descrição sensorial seja rigorosa e concreta, o teste deve constar de um questionário simples, que conduza à obtenção de respostas precisas. O número de juízes utilizado por diferentes autores varia de quatro a trinta (Rodrigues, 1994; Cotta, 1997).

Por meio da avaliação sensorial podem-se observar os efeitos dos tratamentos dispensados no processamento de alimentos sobre textura do tecido animal e em relação às propriedades organolépticas.

A maciez é também chamada de textura e determina freqüentemente a recusa ou a aceitação da carne pelo consumidor. A mesma está relacionada às sensações de tato, tensão, textura, sendo percebida principalmente na boca. Para alguns grupos de consumidores, uma carne muito macia não é agradável, sendo uma certa dureza considerada um critério de boa qualidade (Rodrigues, 1994; Cotta, 1986; Cotta, 1997).

O paladar diz respeito ao odor (aroma) e ao gosto (sabor), podendo, então, ser conceituado como a mistura destas sensações, percebidas ao se degustar, no caso, a carne de frango. Estas impressões devem provocar uma satisfação bucal, que compreende um estímulo à salivação, a qual deve ser agradável (Rodrigues, 1994).

A suculência da carne está relacionada com a produção de suco durante a mastigação (Rodrigues, 1994).

As razões que levam um consumidor a preferir um tipo de frango a um outro podem estar ligadas, de um lado, à percepção de paladar; por outro lado, esta escolha pode recair sobre a textura, englobando a maciez e a suculência

(Cotta, 1997).

Segundo Cotta & Campos (1991), citados por Rodrigues (1994), a preferência por um determinado tipo de ave parece originar-se da impressão geral dos consumidores a respeito da sua carne. Em grande parte, os diferentes componentes que definem a preferência devem levar em consideração o conjunto sabor, maciez e suculência.

Como anteriormente exposto, os métodos de descontaminação das carcaças utilizados no processamento podem interferir nas propriedades sensoriais, dependendo de modificações físicas e químicas que possam ocorrer, assim como as de paladar (*International Consultative Group on Food Irradiation-ICGFI*, 1999; Ritter, 2000).

Assim sendo, o ganho de peso das carcaças e as propriedades sensoriais da carne podem ser influenciados pelo tipo sanificante utilizado na água do *chiller* e sua respectiva concentração aplicada (Miller *apud* Baran et al. 1973; Demby & Cunnighan, 1980 *apud* Rodrigues, 1994).

A água hiperclorada é utilizada por mais de 40 anos no processamento de aves; normalmente utiliza-se do cloro gasoso ou da solução de hipoclorito de sódio. Porém, atualmente, tem-se o conhecimento que os compostos clorados, principalmente os de origem inorgânica, podem gerar subprodutos halogenados potencialmente cancerígenos, quando em contato com a matéria orgânica, situação esta que fica favorecida nos tanques de *chiller* (*Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health-SCVPH*, 1998).

Segundo o *International Consultative Group on Food Irradiation*, a pesquisa por métodos apropriados para a descontaminação de carcaças de aves vem sendo desenvolvida há mais de 30 anos (ICGFI, 1999).

Dentre os métodos alternativos para a descontaminação de carcaças, tem-se estudado o emprego do cloro orgânico (dicloroisocianurato de sódio), do ozônio e do ultra-som (Lillard, 1993; 1994; SCVPH, 1998; ICGFI, 1999).

O dicloroisocianurato de sódio é uma cloramina orgânica que tem-se apresentado como uma alternativa viável para a desinfecção de alimentos. O mesmo já é utilizado para a desinfecção de água para consumo humano, frutas, verduras, legumes, artigos e superfícies que entram em contato com alimentos (Block, 1991; Hidrosan, 2003; Macedo, 1997).

O ozônio é uma substância que vem sendo utilizada por mais de um século para a desinfecção de água na Europa e nos Estados Unidos. Apesar de também ser utilizada por várias décadas na Europa, para o processamento de alimentos, sua aprovação pelo *Food and Drug Administration* (FDA), para o contato direto com alimentos, ocorreu em meados de 2001. Este sanificante possui um amplo espectro de ação, dissipa rapidamente e não deixa resíduos em alimentos (Torres et al., 1996; Richardson et al., 1998; FDA, 2001).

A utilização das vibrações ultra-sônicas na descontaminação de alimentos está em fase bastante incipiente. Porém, acredita-se que as mesmas tenham potencial para aplicações atuais e futuras na indústria de alimentos (Datta, 2002; FDA, 2000).

Como a utilização destes sanificantes alternativos no campo da pesquisa e na área industrial é recente, um importante objeto de investigação é o efeito dos mesmos sobre os atributos sensoriais dos alimentos (ICGFI, 1999; FDA, 2000).

Tendo em vista os fatos expostos, o presente trabalho objetivou avaliar o percentual de ganho de peso das carcaças e a qualidade sensorial da carne de frango submetida às operações de resfriamento, utilizando-se de processos sanificantes alternativos, água adicionada de dicloroisocianurato de sódio, água ozonizada e ultra-som em meio aquoso, de forma isolada ou combinada.

## 4 Material e métodos

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biologia e Fisiologia de Microrganismos da Universidade José do Rosário Velano (UNIFENAS), Alfenas, MG. Foram montadas duas plantas-piloto para avaliar o ganho de peso de carcaças e a qualidade sensorial de frangos submetidos às operações de resfriamento, utilizando-se diferentes processos sanitizantes.

Uma das plantas foi sistematizada para operar com as águas potável e hiperclorada e a outra, com água ozonizada. Ambas as plantas foram projetadas, desenvolvidas e instaladas pela White Martins Gases Industriais S/A.

Como protótipo de um tanque *chiller*, utilizou-se a cuba lavadora ultrassônica de aço inoxidável, marca Sercon, modelo USC 5080A.

### 4.1 Amostragem

Os experimentos foram realizados com um total de seis tratamentos, uma data de avaliação e duas repetições. Foram utilizadas 112 meias carcaças de frango evisceradas, sem pés, cabeça e pescoço, sendo 48 para a avaliação do ganho de peso e 64 para a análise sensorial.

### 4.2 Tratamento

Realizaram-se os ensaios de pré-resfriamento de carcaças de frango utilizando-se grupos de quatro unidades amostrais (meias-carcaças sem pés, cabeça e pescoço), que foram submetidas ao tratamento com água potável, água hiperclorada e água ozonizada. Posteriormente, todos estes testes foram repetidos, conjugados à tecnologia do ultra-som.

Para abastecer as plantas-piloto, utilizou-se de dois reservatórios, sendo o primeiro com capacidade de 500 litros para a concentração do ozônio e o segundo de 250 litros para trabalhar com a água da rede e água hiperclorada.

Padronizou-se o tempo de tratamento em 20 minutos, a temperatura do banho entre 3,0° e 5,0°C, a vazão da água no protótipo de tanque de *chiller* em 4,0L/minuto e a concentração dos sanificantes, entre 3,0 e 3,5 mg/L.

O tempo de 20 minutos determinado para os ensaios foi estabelecido após a revisão dos trabalhos dos seguintes autores Macedo (2000), Sheldon & Brown (1986), Sheldon & Chang (1987) e Lillard (1993; 1994).

Como fonte refrigeradora, utilizou-se de gelo potável picado para trabalhar com as águas potável e hiperclorada, e de gelo seco para a água ozonizada.

Os testes pilotos realizados indicaram a quantidade de gelo a ser utilizada. Em média, 40 kg do gelo potável picado foram necessários para resfriar 250 litros de água e mantê-la entre 3° a 5°C por, aproximadamente, 30 minutos.

Para trabalhar com a água ozonizada utilizou-se um sistema fechado de resfriamento, no qual, primeiro, concentrou-se o ozônio em caixa d'água de fibra de vidro, com capacidade para 500 litros, por meio do conjunto ventura-bomba de recirculação, por 30 minutos. Posteriormente, a água ozonizada sofria o resfriamento, passando por uma serpentina, imersa em um tanque isotérmico, contendo uma mistura de aproximadamente 40 kg de gelo seco, 20 litros de água e 2,5 litros álcool, fazendo com que a mesma alcançasse a temperatura desejada, cerca de 3° a 5°C. Durante todo o processamento, a saturação da água com o ozônio era mantida para garantir o intervalo de concentração desejado.

Nos processos nos quais trabalhou-se com a água potável, o sistema foi alimentado com a água da rede de abastecimento da Universidade. Esta água é represada em açude, captada e passa por tratamento convencional, no próprio

campus. Para a sua utilização, instalou-se, no ponto de chegada, um filtro de carvão ativado para reter o cloro residual.

Os sanificantes químicos escolhidos foram o dicloroisocianurato de sódio (DCIS), comercializado com o nome de Aquatabs industrial, fabricado pela Bayer S.A. e o gás ozônio, produzido *in locus*.

Como descontaminante físico, as ondas ultra-sônicas foram aplicadas, tecnologia esta disponível na cuba lavadora, utilizada neste experimento, como protótipo de tanque de *chiller*.

O ultra-som (US) foi aplicado sob a frequência de 37KHz, estando esta de acordo com os trabalhos de Datta (2002) e Lillard (1993; 1994), que apontam a faixa de frequência entre 20 a 100KHz, como apropriada para a descontaminação de alimentos.

Para o preparo da água hiperclorada, utilizou-se um comprimido efervescente de Aquatabs industrial (DCIS - 2,5g) para 250 litros de água, obtendo-se assim o residual de cloro livre desejado (3,0 a 3,5 mg/L). A escolha do produto teve como referencial, Macedo (1997; 2000).

O ozônio, como acima descrito, foi produzido em sistema fechado, na própria planta de tratamento, utilizando-se de um cilindro de oxigênio de 100 kg e de gerador. O equipamento para a produção de ozônio deste estudo foi da marca Ozone, modelo EAS 470DC, cuja capacidade nominal é de 10g/h a 3% de concentração em peso de ozônio gerado, quando operado com uma vazão de oxigênio de 4,2 litros/minuto a 1,0 kgf/cm<sup>2</sup> de pressão. O cilindro de oxigênio foi conectado ao gerador por meio do regulador de pressão e fluxômetro.

Porém, conforme testes pilotos, operou-se o sistema com cinco litros de oxigênio/minuto e pressão de 0,5 kgf/cm<sup>2</sup>. Dessa forma, ao aplicar os cálculos corretivos para definir a concentração de ozônio gerada, obteve-se que a produção real de ozônio foi de 6,88 g/h. Nos testes citados, pôde-se observar que, trabalhando sob estas condições, após 30 minutos de saturação, 500 litros

de água adquiriram um residual de ozônio situado entre 3,0 a 3,5 mg/L.

### **4.3 Obtenção das amostras**

Ao término dos tratamentos aplicados, cada amostra foi retirada da cuba, segurando-a pela coxa. A meia carcaça ficava assim suspensa por aproximadamente três minutos para o gotejamento.

As amostras destinadas à avaliação do percentual de ganho de peso foram identificadas e pesadas antes do resfriamento e após o gotejamento, obtendo-se assim a diferença de peso para calcular-se a porcentagem de absorção de água.

As amostras destinadas à análise sensorial, após a etapa de gotejamento, foram imediatamente acondicionadas, de forma asséptica, em embalagem plástica, estéril, própria para o armazenamento de alimentos, como sugerido por Goetz & Terra (1998). Em seguida, as mesmas foram identificadas e armazenadas sob refrigeração, em estufa BOD marca Fanen, modelo 347-CD, com temperatura regulada em 1,5°C ( $\pm 0,5$ ), durante 24 horas.

### **4.4 Determinação do percentual de ganho de peso das carcaças nos tratamentos propostos.**

Utilizou-se do método de controle interno, proposto na Portaria nº210/99, do Ministério da Agricultura, para avaliar a absorção de água pelas carcaças durante o pré-resfriamento por imersão. Esta absorção está diretamente relacionada à temperatura da água nos resfriadores, assim como ao tempo de permanência no sistema e à concentração de sanificantes, entre outros fatores (Brasil, 1999).

A absorção de água determinada por este método é expressa em

porcentagem do peso total da carcaça de ave, sendo aceito o limite máximo de 8% do seu peso (Brasil, 1999).

A técnica baseia-se na comparação dos pesos das carcaças devidamente identificadas, antes e após o pré-resfriamento por imersão. A partir da diferença entre o peso inicial e o final, calcula-se o percentual de absorção de água (Brasil, 1999; Lana, 2000).

As amostras foram pesadas em uma balança eletrônica semi-analítica digital, marca Gehaka, modelo BG1000, com precisão de 0,01 grama.

#### **4.5 Análise sensorial**

Na avaliação sensorial, um painel de juízes observou os efeitos dos tratamentos na textura do tecido animal e nas propriedades organolépticas.

Realizou-se este experimento em duas etapas, sendo a primeira efetuada para os tratamentos com água da rede, água hipoclorada e água ozonizada e a segunda para os mesmos tratamentos combinados à sonicação.

Foram utilizadas duas meias carcaças de cada tratamento e duas amostras controles, todas anteriormente armazenadas por 24h a  $1,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ , tanto para a análise dos aspectos da carne crua, quanto das propriedades organolépticas da carne assada.

As carcaças provenientes de cada tratamento foram envolvidas, individualmente, em papel alumínio, acondicionadas em bandejas de alumínio e identificadas por um código, que serviu de gabarito final. Foram, então, levadas ao forno elétrico a  $200^\circ\text{C}$  por 1h:40. (Figura 1A e 1B). Para esse processamento, fundamentou-se em Miya (1972) e Rodrigues (1994).

Após o tempo determinado, foram obtidas fatias de carne do peito, coxa e sobre-coxa, as quais foram servidas, em placas de Petri, em cabines individuais para os cinco juízes (Figura 1C).

Cada juiz recebeu uma ficha de avaliação, a qual continha várias opções dentro dos itens suculência, sabor, maciez e qualidades gerais da carne assada (Anexo 2A).

Durante o processamento das amostras, os juizes também avaliaram as características das carcaças cruas tratadas e controles, devidamente codificadas, quanto aos aspectos de cor, cheiro e aparência geral, o que também foi registrado em outra ficha de avaliação (Anexo 1A).

As fichas de avaliação (Anexo A) foram elaboradas, utilizando-se como referencial, Cotta (1979).

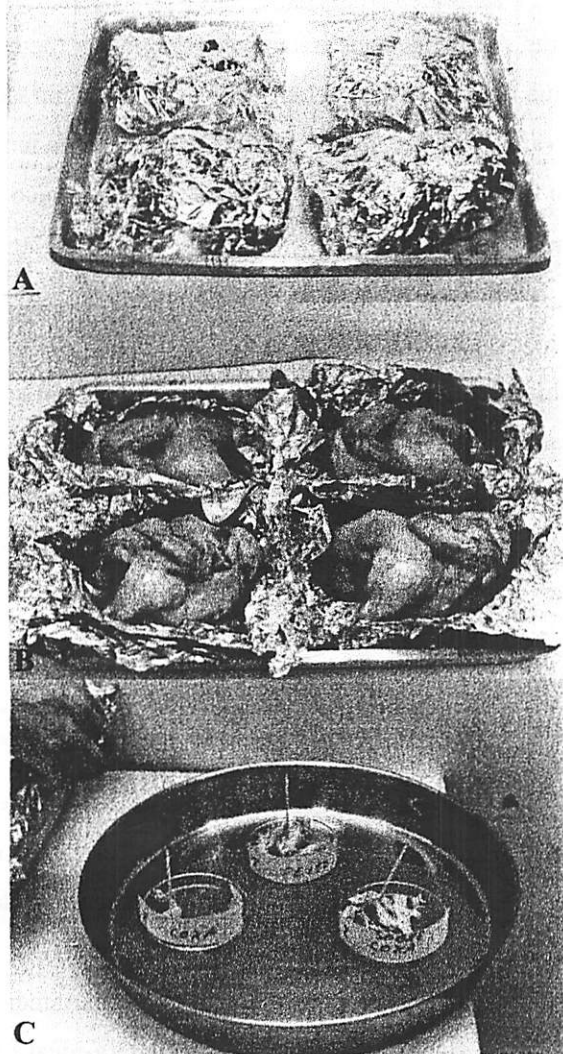


FIGURA 1 Análise sensorial. A. Amostras embaladas antes do cozimento. B. Amostras prontas para avaliação visual. C. Amostras prontas para degustação.

## 5 Resultados e discussão

As amostras submetidas aos tratamentos propostos (água potável, água hiperclorada e água ozonizada) estiveram expostas a concentrações médias de sanificantes, que variaram entre 3,0 e 3,5 mg/L, à variação de temperatura entre 3,0° e 5,0°C, com média de 4,0°C e ao potencial hidrogeniônico do banho que, em todos os ensaios, foi igual a 6,0.

Os dados obtidos em relação ao ganho de peso e à análise sensorial foram agrupados e organizados nas Tabelas de 1 a 8.

Para facilitar a compreensão dos resultados, optou-se pela divisão didática dos mesmos. Desta forma, no primeiro momento, analisar-se-á o percentual médio de ganho de peso das carcaças em relação aos diferentes tratamentos e no segundo momento, serão apresentados e discutidos os dados referentes à análise sensorial das mesmas.

### 5.1 Ganho de peso

Considerando-se os resultados apresentados na Tabela 1 e comparando-os com o limite de absorção de água pelas carcaças, estipulado pela Portaria n°210/99, que é de máximo 8%, pode-se verificar que nenhum dos tratamentos realizados excedeu esse percentual (Brasil, 1999; Lana, 2000).

Mesmo observando-se a Resolução n°4/02 do Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA), que considera ideal que as carcaças não ultrapassem o limite médio de 6% em relação à absorção de água, independente das variáveis que possam interferir no resfriamento, os tratamentos aplicados neste estudo não ultrapasaram este valor médio. Na maioria das vezes, ficaram bem abaixo do mesmo (Brasil, 2002).

Ao observar os tratamentos isolados apresentados na Tabela 1, nota-se que o tratamento com água ozonizada foi o que produziu maior aumento no percentual médio de absorção de água. Entre os tratamentos combinados, a conjugação da água ozonizada com o ultra-som (US) foi a responsável pelo maior aumento médio no percentual de ganho de peso. Porém, torna-se interessante destacar que em todos os tratamentos nos quais aplicou-se o US, o percentual médio de aumento da hidratação da carcaça foi maior.

TABELA 1 Percentual médio de aumento de peso das carcaças após os tratamentos realizados.

Tratamentos	% do ganho de peso
Água potável	1,07
DCIS*	1,68
Ozônio	1,92
Água + US**	3,37
DCIS + US	2,90
Ozônio + US	4,96

\*DCIS = dicloroisocianurato de sódio

\*\*US = ultra-som.

É importante avaliar o percentual de absorção de água pelas carcaças nos diferentes tratamentos, pois este pode influenciar no peso final da mesma e também nas propriedades sensoriais da carne, como relata Rodrigues (1994).

Possivelmente, a maior absorção de água observada nos tratamentos nos quais utilizou-se das ondas ultra-sônicas, deve-se ao provável efeito mecânico de ultra-som sobre a cutícula protetora da pele das aves, favorecendo o processo de

hidratação. Esta observação fundamenta-se em Castillo (1997), quando o autor relata que altas temperaturas (>58°C) nos tanques de escaldagem podem comprometer a vida útil de carcaças de frango, por remoção da cutícula protetora, fazendo com que as mesmas fiquem mais suscetíveis aos contaminantes.

Existe uma pobre literatura sobre a influência dos processos sanitizantes na absorção de água pelas carcaças de aves.

Denúncias recentes sobre o excesso de água em frangos congelados foram registradas no Programa de Proteção e Defesa do Consumidor (PROCON) de Maringá, PR e no Ministério da Agricultura, pela Associação de Avicultores do Espírito Santo. Nelas, os produtores relatam sobre as dificuldades enfrentadas na criação e comércio de aves, inclusive a de competir com frangos altamente hidratados provenientes de outros estados (Avicultura Industrial, 2003; AviSite notícias, 2003b).

O problema da luta contra o excesso de água no frango não é só do Brasil. Recentemente, na Inglaterra, os órgãos de segurança alimentar verificaram que algumas embalagens comerciais contendo 10 kg de peito, importadas de outros países, apresentaram entre 30% e 50% de água e outros aditivos, aí incluídos proteínas de origem suína ou bovina (AviSite notícias, 2003 c)

Vale ressaltar que a queixa inicialmente feita pelos ingleses, e posteriormente pelos países integrantes do Reino Unido, não recai sobre fornecedores do chamado “terceiro mundo”, mas sim sobre parceiros da União Européia, ou seja, um grupo de exportadores da Holanda e da Bélgica (AviSite notícias, 2003c).

## 5.2 Análise sensorial

### 5.2.1 Carne crua

A análise sensorial da carne fresca é um parâmetro muito importante a ser considerado, uma vez que o consumidor adquire a carne refrigerada com base em aspectos sensoriais de aparência, cor e odor.

Os resultados apresentados a seguir referem-se à média de conceitos atribuídos pelo painel juízes sobre as características da carne de frango crua, submetida aos diferentes tratamentos propostos.

De acordo com as Tabelas 2 e 3, pode-se constatar que nenhum dos tratamentos comprometeu a aparência da carne crua. Não houve alterações de cor, cheiro e do aspecto geral das carcaças, no tempo avaliado. Porém, torna-se necessário ressaltar que, nos testes sem aplicação do ultra-som, 100% dos provadores consideraram o cheiro das amostras tratadas pelo cloro mais agradável em relação ao aroma das demais. Nos testes, utilizando-se a tecnologia do ultra-som, somente 40% dos provadores fizeram a mesma observação.

De acordo com Jay (1992) e Xavier (1997), a alteração do odor em carnes está relacionada com crescimento de microrganismos na superfície da mesma, bem como às reações bioquímicas de autodegradação. Ainda, conforme Smulders et al. (1986), alguns tratamentos utilizados para a redução microbiana em carne de frango, tais como aplicação de ácidos, podem alterar o odor e o sabor característicos da mesma.

Possivelmente, o fato observado pelo painel, em relação às amostras tratadas pelo cloro, deve-se ao efeito residual do cloro na carne, o que, provavelmente, nas primeiras horas de estocagem pode comprometer o desenvolvimento microbiano.

TABELA 2 Conceitos atribuídos pelo painel de provadores referentes à carne de frango crua submetida aos tratamentos propostos - sem a aplicação do ultra-som.

Tratamentos	Parâmetros		
	cor	cheiro	aspecto
Controle	N**	N	N
Água potável	N	N	N
DCIS*	N	N	N
Ozônio	N	N	N

\*DCIS = dicloroisocianurato de sódio, \*\*N = normal

TABELA 3 Conceitos atribuídos pelo painel de provadores referentes à carne de frango crua submetida aos tratamentos propostos - com a aplicação do ultra-som.

Tratamentos	Parâmetros		
	cor	cheiro	aspecto
Controle	N**	N	N
Água potável + US***	N	N	N
DCIS* + US	N	N	N
Ozônio + US	N	N	N

\*DCIS = dicloroisocianurato de sódio; \*\*N = normal; \*\*\*US = ultra-som

### 5.2.2 Carne assada

Conforme Miya (1972), o método empregado para o cozimento tem efeitos marcantes na palatibilidade da carne e deve ser similar ao comumente

utilizado pelo consumidor. Assim, nesta pesquisa, a carne de frango foi cozida (assada) envolvida em papel alumínio, em forno fechado, para evitar a perda de substâncias voláteis presentes nas soluções de tratamento.

Os resultados abaixo apresentados referem-se à média de conceitos atribuídos pelo painel de juízes sobre as características da carne de frango, submetida aos diferentes tratamentos e, posteriormente, assada (Tabelas 4 a 8).

Observando-se as Tabelas 4 e 5, pode-se notar que as amostras tratadas foram mais bem aceitas, ou seja, conceituadas pelos provadores em relação às controles, pois 40% dos membros do painel consideraram a carne dos controles ligeiramente dura e seca ao comparar com a carne das carcaças tratadas.

TABELA 4 Conceitos atribuídos pelo painel de provadores à maciez/dureza da carne de frango assada submetida aos tratamentos propostos, em percentuais.

Conceitos	Normal	Ligeiramente dura
Controle	60%	40%
<b>Tratamentos sem a aplicação do ultra-som</b>		
Água potável	100%	0%
DCIS*	80%	20%
Ozônio	80%	20%
<b>Tratamentos com a aplicação do ultra-som</b>		
Água potável	80%	20%
DCIS	80%	20%
Ozônio	100%	0%

\*DCIS = dicloroisocianurato de sódio

TABELA 5 Conceitos atribuídos pelo painel de provadores à succulência da carne de frango assada submetida aos tratamentos propostos, em percentuais.

Conceitos	Normal	Ligeiramente seca
Controle	60%	40%
<b>Tratamentos sem a aplicação do ultra-som</b>		
Água potável	100%	0%
DCIS	80%	20%
Ozônio	80%	20%
<b>Tratamentos com a aplicação do ultra-som</b>		
Água potável	80%	20%
DCIS	100%	0%
Ozônio	100%	0%

\*DCIS = dicloroisocianurato de sódio

O item maciez/dureza, apresentado na Tabela 4, foi considerado 100% normal para as amostras tratadas com água potável e para aquelas processadas com água hiperclorada e água ozonizada, em ambos casos, utilizando a conjugação do ultra-som.

Deve-se lembrar que a avaliação da maciez/dureza de uma carne é bastante subjetiva. Pois, como anteriormente citado, de acordo com Cotta (1986) e Rodrigues (1994), alguns grupos de consumidores não consideram uma carne muito macia agradável, sendo uma certa dureza observada como um critério de boa qualidade.

A maioria absoluta dos provadores (80% a 100%) avaliou as amostras tratadas como normais em relação à maciez/dureza e succulência, podendo verificar-se que os tratamentos realizados não interferiram nestes atributos sensoriais da carne.

Analisando-se a Tabela 6, observa-se que o sabor da carne de frango não sofreu alterações após os diferentes tratamentos realizados, pois todos os provadores (100%) consideraram esta propriedade sensorial normal, para todas as amostras tratadas experimentadas. Quanto ao teste para as amostras controles, 80% dos membros do painel consideraram o sabor normal e 20%, regular.

TABELA 6 Conceitos atribuídos pelo painel de provadores ao sabor da carne de frango assada submetida aos tratamentos propostos, em percentuais.

<b>Conceitos</b>	<b>Normal</b>	<b>Regular</b>
<b>Controle</b>	<b>80%</b>	<b>20%</b>
<b>Tratamentos sem a aplicação do ultra-som</b>		
Água potável	100%	0%
DCIS	100%	0%
Ozônio	100%	0%
<b>Tratamentos com a aplicação do ultra-som</b>		
Água potável	100%	0%
DCIS	100%	0%
Ozônio	100%	0%

\*DCIS = dicloroisocianurato de sódio

Considerando Rodrigues (1994), pode-se ressaltar que o sabor da carne pode influenciar demasiadamente na escolha do produto. Assim, torna-se importante destacar a não interferência dos tratamentos neste atributo.

Conforme a Tabela 7, pode-se observar que a maioria absoluta dos provadores (80% a 100%) considerou as amostras tratadas normais em relação ao aroma. Deste modo, constata-se que os tratamentos realizados não causaram

modificações importantes nesta propriedade. Apenas 20% dos juizes avaliaram as amostras tratadas com água potável e ultra-som e água hiperclorada e ultra-som como apresentando sabor ligeiramente alterado.

Verificando os dados apresentados nas Tabelas 6 e 7, nota-se que os diferentes processamentos dispensados às amostras, neste estudo, não causaram modificações importantes no paladar da carne de frango, conforme os conceitos atribuídos pela maioria dos membros do painel de provadores.

TABELA 7 Conceitos atribuídos pelo painel de provadores ao cheiro da carne de frango assada submetida aos tratamentos propostos, em percentuais.

Conceitos	Normal	Ligeiramente alterado
Controle	100%	0%
<b>Tratamentos sem a aplicação do ultra-som</b>		
Água potável	100%	0%
DCIS	100%	0%
Ozônio	100%	0%
<b>Tratamentos com a aplicação do ultra-som</b>		
Água potável	80%	20%
DCIS	80%	20%
Ozônio	100%	0%

\*DCIS = dicloroisocianurato de sódio

Quanto aos aspectos gerais da carne de frango assada, os dados apresentados na Tabela 8 mostram que, mais uma vez, a maioria dos provadores (80% a 100%) considerou normais as amostras de carne submetidas aos

diferentes tratamentos; 20% dos provadores consideraram os aspectos dos controles e das amostras tratadas com água hiperclorada e água ozonizada, como ligeiramente alterados.

TABELA 8 Conceitos atribuídos pelo painel de provadores aos aspectos gerais da carne de frango assada submetida aos tratamentos propostos, em percentuais.

Conceitos	Normais	Ligeiramente alterados
Controle	80%	20%
<b>Tratamentos sem a aplicação do ultra-som</b>		
Água potável	100%	0%
DCIS	80%	20%
Ozônio	80%	20%
<b>Tratamentos com a aplicação do ultra-som</b>		
Água potável	100%	0%
DCIS	100%	20%
Ozônio	100%	0%

\*DCIS = dicloroisocianurato de sódio

Observando-se todas as propriedades sensoriais avaliadas e os dados obtidos (Tabelas 4, 5, 6, 7 e 8), constata-se que os tratamentos realizados não causaram modificações importantes nos aspectos gerais e na palatibilidade da carne de frango pronta para o consumo. Se pequenas alterações ocorreram, estas foram muito sutis, não comprometendo os atributos organolépticos da carne, como foi avaliado pela maioria dos provadores.

Os dados encontrados neste experimento, em relação às propriedades sensoriais da carne de frango submetida aos diferentes tratamentos, confirmam

alguns dados disponíveis na literatura sobre o assunto.

De acordo com Ranken (1973), citado por Mead (1974), concentrações de 5-20 mg/L de hipoclorito podem ser utilizadas em *chiller* sem que ocorram efeitos adversos no sabor, odor ou na aparência das carcaças de frango. Thiessen et al. (1984) também verificaram que o dióxido de cloro utilizado em *chiller* na concentração de até 1,39 mg/L, não alterou nem o aroma, nem o *flavor* das carcaças. Schuler (1976), em seu experimento, utilizou 30 mg/L de cloro na água do *chiller*, relatando também que não houve formação de odor desagradável ou qualquer alteração na coloração das carcaças.

Do mesmo modo, Erickson (1999), ao avaliar as propriedades sensoriais da carne de frango tratada em *chiller* com 18 mg/L de cloro (a partir de cloro gasoso), não observou diferenças significativas entre amostras tratadas e controles, concluindo que a cloração da água não afeta as propriedades sensoriais do frango cozido.

Conforme o *Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health*, a adição de cloro ou de hipoclorito de sódio em concentrações maiores que 200 mg/L não tem provocado efeitos adversos sérios na aparência, gosto e odor da carne de frango (SCVPH, 1998).

Por outro lado, Miller (1968) *apud* Baran et al. (1973) afirma que o excesso de cloro (hipoclorito) na água do *chiller* resultará na produção de odores indesejáveis na carcaça de frango.

Como, neste experimento, o dicloroisocianurato de sódio foi utilizado na concentração de 3,0 a 3,5 mg/L, talvez os resultados encontrados tenham sido favorecidos pela baixa concentração do produto. Porém, deve-se lembrar que a concentração aplicada está de acordo com a faixa de concentração recomendada para o uso do cloro em água de resfriamento, pela legislação nacional (Brasil, 1999).

Quanto à utilização do ozônio, Sheldon & Brown (1986) utilizaram 3,0 a

4,5 mg/L da substância em água de *chiller* por 45 minutos. Relataram que coloração, sabor e odor anormais não foram detectados nas carcaças de frango após o tratamento, concluindo que, nas condições testadas, não houve alterações nos atributos sensoriais do alimento; Chang & Sheldon (1989) igualmente descrevem que a utilização de 2,1 mg/L de ozônio em água de lavagem de carcaças, sob a forma de pulverização, não provocou alterações na coloração, no sabor e no odor da carne de frango e, além disso, não promoveu a oxidação lipídica da mesma.

Na concentração empregada, no atual ensaio, a utilização do ozônio confirmou as observações feitas pelos pesquisadores citados.

Em relação à aplicação das ondas ultra-sônicas, Lillard (1993; 1994) verificou o efeito positivo da utilização simultânea das mesmas e do cloro sobre a *Salmonella* sp, firmemente atachada à pele de carcaças de frango. Este autor concluiu que a possibilidade de aplicação de tal tratamento em plantas de processamento de aves dependeria da montagem de um equipamento de ultra-som apropriado e da avaliação do processo sobre as propriedades sensoriais do produto acabado.

Como se pode observar no presente estudo, o emprego do ultra-som (37KHz) em meio aquoso, ou combinado às águas hiperclorada ou ozonizada, não interferiu nos atributos sensoriais das carcaças de frango.

Este fato foi também confirmado por Doyle (1999), conforme artigo divulgado *on line*, no qual o autor discute a tecnologia do ultra-som, como uma das mais atrativas técnicas para a descontaminação de produtos minimamente processados, justamente pela mesma não alterar a qualidade dos produtos finais. Sobre carnes, este pesquisador relata que, embora a alta pressão provocada pelas ondas ultra-sônicas destrua as células microbianas, a mesma não degrada as vitaminas, nem altera o *flavor* (sabor/odor), apresentando, então, efeitos mínimos sobre a qualidade sensorial de carnes.

## **6 Conclusões**

Nas condições testadas, os tratamentos com dicloroisocianurato de sódio, ozônio e ultra-som não implicaram em absorção excessiva de água pelas carcaças, nem causaram modificações importantes na cor, cheiro e no aspecto geral da carne de frango crua ou cozida (assada). Também não houve alterações na palatibilidade da carne pronta para o consumo.

Os resultados encontrados reafirmam o potencial dos sanificantes estudados para aplicações atuais e futuras em plantas de processamentos de aves.

## 7 Referências bibliográficas

ANZALDÚA-MORALES, A. **La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la plática**. Zaragoza: Acribia, 1994.

AVICULTURA industrial. Procon de Maringá investiga excesso de água em frangos. Disponível em: <[www.aviculturaindustrial.com.br](http://www.aviculturaindustrial.com.br)>. Acesso em: 13 mar. 2003.

AVISITE notícias. **Fiscalização: INMETRO e o “enquadramento” do frango**. Disponível em: <[www.avisite.com.br/noticias](http://www.avisite.com.br/noticias)>. Acesso em: 23 abr. 2003a.

AVISITE notícias. **Fiscalização: AVES denuncia excesso de hidratação ao MAPA**. Disponível em: <[www.avisite.com.br/noticias](http://www.avisite.com.br/noticias)>. Acesso em: 19 mar. 2003b.

AVISITE notícias. **Fiscalização: Inglaterra luta contra água no frango**. Disponível em: <[www.avisite.com.br/noticias](http://www.avisite.com.br/noticias)>. Acesso em: 27 mar. 2003c.

BARAN, W. L.; DAWSON, L. E.; LECHOWICH, R. V. Influence of chlorine dioxide water treatment on numbers of bacteria associated with processed turkey. **Poultry Science**, v. 52, p. 1053-1058, 1973

BLOCK, S. S. **Disinfection, sterilization, and preservation**. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia, PA: Lea & Febiger, 1991. 1162p.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria n.210. Inspeção tecnológica e higiênico-sanitária de carnes de aves. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, n.43, 05 mar.1999. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Resolução n. 4. 29 de Outubro de 2002. - Normas técnicas e fiscais relativas aos níveis de hidratação de carne de frango: nova coleta de amostras, destinação das carcaças apreendidas e penalidades. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 08 dez. 2002.

BRESSAN, M. C.; PEREZ, J. R. O. **Tecnologia de carnes e pescados**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 240p..

CASTILLO, C. J. C. Pontos críticos no processo de abates de frangos. In: SEMINÁRIO E WORKSHOP “INDUSTRIALIZAÇÃO DA CARNE DE AVES”, 1997, Campinas. **Anais...** Campinas: Centro de Tecnologia de Carnes do Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1997. p. 11-19.

CHANG, H. Y.; SHELDON, B. W. Application of ozone with physical wastewater treatments to recondition poultry process waters. **Poultry Science**, v. 68, p. 1078-1087, 1989a.

COTTA, J. T. B. **Estudo comparativo entre alguns métodos de conservação de carcaças de frangos**. 1979. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)- Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

COTTA, J. T. B. **Qualité des carcasses de poulets – aspects zootechniques, technologiques et sensoriels**. 1986. Tese-Université des Sciences et Techniques du Languedoc, França.

COTTA, T. **Produção de carne de frango**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1997. 197p.

DATTA, N. **Emerging food technologies and biotechnology lectures notes: ultrasonication**. Disponível em: <<http://library.uq.edu.au/bio/lectures/food4002-2002/ultrasonication.doc>>. Acesso em: 16 out. 2002

DOYLE, M. E. Use of high pressure to control *Listeria* in meat. Oct. 1999. p. 1-3. Disponível em: <<http://www.amif.org/Listeria%20ultrasound.Pdf>>. Acesso em: 6 maio 2003.

ERICKSON, M. C. Flavor Quality implications in chlorination of poultry chiller water. **Food Research International**, v. 32, p.635-641, 1999.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Department of Health and Human Services Docket N. 00F-1482. Secondary direct food additives permitted in food for human consumption PART 173. Sec.173.368. June 2001.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Center for Food safety and Applied Nutrition. **Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies – ultrasound**. 02 June 2000. Disponível em: <<http://vm.cfsan.fda.gov>>. Acesso em: 16 out. 2002.

GOETZ, H.; TERRA, N. N. Aumento da vida útil de carcaças de frango resfriadas. **Higiene Alimentar**, v. 12, n. 54, p. 51-57, 1998.

HIDROSAN. **Hidrosan Plus, Hidrosan Efervescente**. Disponível em: <[www.banhosmae.com.br/quimicos.html](http://www.banhosmae.com.br/quimicos.html)>. Acesso em: 27 fev. 2003.

INTERNATIONAL CONSULTATIVE GROUP ON FOOD IRRADIATION. **Safety of poultry meat: from farm to table**. Vienna: ICGFI/BARC, 1999. 36p.

JAY, J. M. **Modern food microbiology**. 4<sup>th</sup> ed. New York: AVI, 1992. p.199-233.

LANA, G. R. Q. **Avicultura**. São Paulo: Livraria e Editora Rural, 2000. 268p

LILLARD, H. S. Bactericidal effect of chlorine on attached *Salmonella* with and without sonication. **Journal Food Protection**, v.56, p. 716-717, 1993.

LILLARD, H. S. Decontamination of poultry skin by sonication. **Food Technology**, v. 48, n. 12, p.72-73, 1994.

MACEDO, J. A. B. **Determinação de Trihalometanos em águas de abastecimento público e de indústria de alimentos**. 1997. 90 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

MACEDO, J. A. B. **Água & Águas**. Juiz de Fora: Ortofarma, 2000. 505p

MEAD, G. C. Bacteriological control in the processing of poultry. **Veterinary Recod**, v. 95, p.569-572, 1974.

MIYA, E. E. Textura: sua definição, medida e relação a outros atributos de qualidade. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v. 32, p. 71-83, 1972.

MODESTA, R. G. D. **Manual de análise sensorial de alimentos e bebidas**. Rio de Janeiro, 1994.

PRODLOVE, R. K. **Os alimentos em debate: uma visão equilibrada**. Tradução de Anna Terzi Giova. São Paulo: Livraria Varela, 1996.

RICHARDSON, S. D. et al. Chemical by-products of chlorine and alternative disinfectants. **Foodtechnology**, v. 52, n. 4, p. 58-61. Apr. 1998.

RITTER, R. **Contaminação bacteriana da água do sistema de pré-resfriamento de frangos e sua influência na vida de prateleira de frangos resfriados e refrigerados**. 2000. 88 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)-Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

RODRIGUES, K. F. **Avaliação do rendimento, da composição química e qualidades sensoriais de carcaças comerciais de frangos.** 1994. 70 p.

Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SCHULER, G. A. Effect of hypochlorite in chill water on shelf life of broiler carcasses stored at 2°C (35°F). **Poultry Science**, v. 55, n. 2, p. 2088, 1976.

SCIENTIFIC COMMITTEE ON VETERINARY MEASURES RELATING TO PUBLIC HEALTH. **Benefits and limitations of antimicrobial treatments for poultry carcasses.** 30 Oct. 1998. Disponível em:

<[www.http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scv/out14\\_em.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scv/out14_em.pdf)>. Acesso em: 18 mar. 2003.

SHELDON, B. W.; BROWN, A. L. Efficacy of ozone as a disinfectant for poultry carcasses and chill water. **Journal Food Science**, v. 51, n. 2, p. 305-309, 1986.

SHELDON, B. W.; CHANG, Y. H. The Application of ozone and other physical processes for treating spent poultry chiller water. In: FOOD PROCESSING WASTE CONFERENCE, 1987, Atlanta, GA. **Proceedings ... Atlanta, GA, 1987.**

SMULDERS, F. J. M. et al. Lactic acid: considerations in flavor of its acceptance as a meat decontaminant. **Journal Food Technology**, London, v.21, n. 4, p.419-436, 1986.

THIESSEN, G. P.; USBORNE, W. R.; ORR, H. L. The efficacy of chlorine dioxide in controlling salmonella contamination and its effect on product quality of chicken broiler carcasses. **Poultry Science**, v. 63, n. 647, 1984

TORRES, E. A. F. S. et al. Estudo das propriedades desinfetantes do ozônio em alimentos. **Higiene Alimentar**, v. 10, n. 42, p. 18-23, 1996.

XAVIER, C. V. A. **Métodos químicos e físicos para prolongamento da vida de prateleira da carne de frango refrigerada**. 1997. 126p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos)- Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

## ANEXO

<b>Anexo A</b>	<b>Página</b>
Ficha 1A Formulário para avaliação da qualidade sensorial da carne de frango crua .....	290
Ficha 2A Formulário para avaliação da qualidade sensorial da carne de frango assada .....	291

## Anexo A

Ficha 1A Formulário para avaliação da qualidade sensorial da carne de frango  
crua.

Juiz nº \_\_\_\_\_

Nome \_\_\_\_\_

Código da amostra \_\_\_\_\_

### Avaliação da qualidade sensorial da carne de frango crua.

Marque com um “x” a opção que melhor represente o seu conceito e faça os  
comentários que julgar necessários.

#### Cheiro

- Normal
- Ligeiramente alterado
- Alterado

#### Cor

- Normal
- Ligeiramente alterada
- Alterada

#### Aspecto geral

- Normal
- Ligeiramente alterado
- Alterado

#### Comentários:

---

---

Ficha 2A Formulário para avaliação da qualidade sensorial da carne de frango assada.

Juiz nº \_\_\_\_\_

Nome \_\_\_\_\_

Código da amostra \_\_\_\_\_

**Avaliação da qualidade sensorial da carne de frango assada**

**Marque com um "x" a opção que melhor represente o seu conceito e faça os comentários que julgar necessários.**

**1) Maciez ou dureza da carne de frango.**

- a) extremamente macia
- b) muito macia
- c) normal
- d) ligeiramente dura
- e) muito dura

**3) Sabor da carne de frango.**

- a) normal
- b) regular
- c) fraco
- d) muito fraco
- e) ruim

**2) Umidade ou secura da carne de frango (suculência).**

- a) demasiadamente úmida
- b) muito úmida
- c) normal
- d) ligeiramente seca
- e) muito seca

**4) Cheiro.**

- a) normal
- b) ligeiramente alterado
- c) alterado

**5) Aspectos gerais.**

- a) normal
- b) ligeiramente alterado
- c) alterado

**Comentários:**

---

---

