

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS  
MESTRADO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

ANA PAULA ROSSI

**EFEITO DO ULTRASSOM E DIÓXIDO DE CLORO (ClO<sub>2</sub>) NA  
REDUÇÃO DE ENTEROBACTÉRIAS NO TANQUE DE  
RESFRIAMENTO DE CARÇAÇAS DE AVES**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

MEDIANEIRA

2020

**ANA PAULA ROSSI**

**EFEITO DO ULTRASSOM E DIÓXIDO DE CLORO (ClO<sub>2</sub>) NA  
REDUÇÃO DE ENTEROBACTÉRIAS NO TANQUE DE  
RESFRIAMENTO DE CARÇAÇAS DE AVES**

**Effect of ultrasound and chlorine dioxide (ClO<sub>2</sub>) on the enterobacteria reduction  
in poultry chiller tank water**

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cristiane Canan

Coorientadora: Dr<sup>a</sup>. Daneysa Lahis Kalshne

**MEDIANEIRA**

**2020**



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite que outros remixem, adaptem e criem a partir do seu trabalho para fins não comerciais, desde que atribuam o devido crédito e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

### **Dados Internacionais de Catalogação na Publicação**

---

Rossi, Ana Paula

Efeito do ultrassom e dióxido de cloro (ClO<sub>2</sub>) na redução de enterobactérias no tanque de resfriamento de carcaças de aves / Ana Paula Rossi. – Medianeira, 2020.

1 arquivo de texto (57 f): PDF ; 594 KB.

Orientadora: Cristiane Canan

Coorientadora: Daneysa Lahis Kalschne

Dissertação (Mestrado) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Medianeira, 2020.

1. Testes químicos e reagentes. 2. Refrigeração. 3. Carne de ave. 4. Tecnologia de Alimentos – Dissertações. I. Canan, Cristiane, orient. II. Kalschne, Daneysa Lahis, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. IV. Título.

---

**Biblioteca da UTFPR - Câmpus Medianeira**

Bibliotecária/Documentalista:

**Marci Lucia Nicodem Fischborn – CRB-9/1219**



ANA PAULA ROSSI

## **EFEITO DO ULTRASSOM E DIÓXIDO DE CLORO (ClO<sub>2</sub>) NA REDUÇÃO DE ENTEROBACTÉRIAS NO TANQUE DE RESFRIAMENTO DE CARÇAÇAS DE AVES**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Tecnologia de Alimentos.

Data de aprovação: 24 de agosto de 2020.

Membro 1: Profa. Dra. Cristiane Canan – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Medianeira – Presidente da Banca

Membro 2: Profa. Dra. Cristina Tostes Filgueiras – Universidade Federal da Grande Dourados – Membro Externo

Membro 3: Prof. Dr. Valdemar Padilha Feltrin – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Medianeira – Membro Interno

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em

<https://sei.utfpr.edu.br/sei/controlador.php?>

acao=procedimento\_trabalhar&acao\_origem=procedimento\_controlar&acao\_retorno=procedimento\_controlar&id\_procedimento=1703946&infra\_sistema=100000100&infra\_unidade\_atual=110000598&infra\_hash=7fb8e80664a6852d28332ac23c5f0fe0b3325d9adf6714ddac260ecea2bcc18a

A minha mãe Maristela e ao meu pai Mercio,  
exemplos de carinho, paciência e sabedoria.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por me conceder saúde e sabedoria para seguir sempre em frente. Obrigada por ser a minha força e o meu guia em todos os momentos. A ti, Senhor, toda honra e toda a glória.

Aos meus pais, pelo apoio e incentivo em todos os momentos da minha vida. Por acreditarem em mim, e não medirem esforços para a concretização dos meus sonhos. Obrigada pela educação fornecida.

Meu agradecimento a professora Cristiane Canan e a Daneysa L. Kalschne por terem me orientado nesta caminhada, direcionando-me de forma generosa, com sabedoria, conhecimento e por toda a paciência e contribuições que embelezaram esse trabalho.

Aos professores do PPGTA, por todo o conhecimento e direcionamento durante esse período que fiz parte como aluna da instituição.

Ao meu noivo Gean, por estar todo tempo ao meu lado, secando minhas lágrimas, sempre me fazendo acreditar que chegaria ao final desta difícil e gratificante etapa. A você todo o meu amor.

A Luiza Canci e Luiza Castro por toda ajuda e solidariedade aos trabalhos realizados no Lamag, com a ajuda de vocês ficou mais fácil.

Ao Rodrigo Siqueira, que tirou toda a angústia ocasionada pela perda do notebook dias antes da defesa dessa dissertação salvando com maestria todos os arquivos utilizados nessa elaboração.

A todos que contribuíram para o desenvolvimento e finalização deste trabalho, muito obrigada!

“Embora os mestres e os livros sejam auxiliares, é do esforço próprio que resultam os mais completos e brilhantes resultados.”

Garfield

## RESUMO

ROSSI, Ana P. **Efeito do ultrassom e dióxido de cloro (ClO<sub>2</sub>) na redução de enterobactérias no tanque de resfriamento de carcaças de aves.** 2020. 63 folhas. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Medianeira, 2020.

O ultrassom vem se destacando como uma tecnologia inovadora capaz de inibir e/ou reduzir o crescimento de microrganismos de forma segura e quando combinado com compostos químicos, reduz o uso destes. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a aplicação do ultrassom isoladamente e/ou na combinação com dióxido de cloro (ClO<sub>2</sub>) na redução de *Salmonella* Typhimurium e *Escherichia coli* na água do tanque de resfriamento de carcaças de aves. Inicialmente, foi realizado um Planejamento Fatorial Completo (PFC) 2<sup>3</sup> com 3 pontos centrais, sendo as variáveis independentes: amplitude de frequência do ultrassom (x<sub>1</sub>: 40 a 100%), tempo de sonicação (x<sub>2</sub>: 5 a 15 min) e concentração de ClO<sub>2</sub> (x<sub>3</sub>: 1 a 9 ppm) e a variável resposta expressa em log<sub>10</sub> UFC/g para a *Salmonella* Typhimurium em água destilada. Na sequência, dois PFC 2<sup>2</sup> com 3 pontos centrais foram utilizados para avaliar o efeito das variáveis independentes tempo de sonicação (x<sub>1</sub>: 1 a 9 min) e concentração de ClO<sub>2</sub> (x<sub>2</sub>: 1 a 17 ppm) na inibição da *Salmonella* Typhimurium e *Escherichia coli* em água destilada, tendo fixo a frequência de 40 kHz; a potência de 330 W e a temperatura de 25 °C. Nas condições que o PFC 2<sup>3</sup> foi realizado não houve redução da *Salmonella* Typhimurium. Ao contrário, nos PFC 2<sup>2</sup>, para ambos os microrganismos, o aumento de x<sub>2</sub> (concentração de ClO<sub>2</sub>) contribuiu para a inativação dos microrganismos, enquanto que um aumento de x<sub>1</sub> (tempo de sonicação) teve maior efeito somente na inativação da *Escherichia coli*. Desta forma, para a validação do modelo foi utilizado o menor nível de x<sub>1</sub> e maior nível de x<sub>2</sub> em amostras de água do tanque de resfriamento de carcaças de aves a 25, 16 e 4 °C. Observou-se a 25 °C redução na contagem *Salmonella* Typhimurium e *Escherichia coli* de 49% e 31%, respectivamente, quando comparada a condição experimental ao controle (sem ultrassom e ClO<sub>2</sub>). Além disso, nas temperaturas utilizadas para a água no pré-resfriamento (16 °C) e resfriamento (4 °C) de carcaça de aves, a combinação do ultrassom e ClO<sub>2</sub> promoveu a redução de até 100% da contagem de *Salmonella* Typhimurium.

**Palavras-chave:** Agentes químicos; Resíduo de cloro; Refrigeração; Tecnologia verde; Carne de aves.



## ABSTRACT

ROSSI. Ana P. **Effect of ultrasound and chlorine dioxide (ClO<sub>2</sub>) on the enterobacteria reduction in poultry chiller tank water.** 2020. 63 sheets. Dissertation (Master in Food Technology), Federal Technological University of Paraná. Medianeira, 2020.

Ultrasound has been evidence as an innovative technology capable of safely inhibiting and/or reducing the growth of microorganisms and when combined with chemical compounds, it reduces reduces the use of these. Thus, the aim of this study was to evaluate the application of ultrasound alone and/or in combination with chlorine dioxide (ClO<sub>2</sub>) in the reduction of *Salmonella* Typhimurium and *Escherichia coli* in poultry cooling water tanks. Initially, a Complete Factorial Planning (PFC) 2<sup>3</sup> was carried out with 3 central points, with independent variables: ultrasound frequency amplitude (x<sub>1</sub>: 40 to 100%), sonication time (x<sub>2</sub>: 5 to 15 min) and concentration of ClO<sub>2</sub> (x<sub>3</sub>: 1 to 9 ppm) and the response variable expressed in log<sub>10</sub> CFU/g for *Salmonella* Typhimurium in distilled water. In the sequence, two PFC 2<sup>2</sup> with 3 central points were used to evaluate the effect of the independent variables sonication time (x<sub>1</sub>: 1 to 9 min) and ClO<sub>2</sub> concentration (x<sub>2</sub>: 1 to 17 ppm) in the inhibition of *Salmonella* Typhimurium and *Escherichia coli* in distilled water, having fixed the frequency of 40 kHz; the power of 330 W at 25 °C. Under the conditions that PFC 2<sup>3</sup> was performed, there was no reduction in *Salmonella* Typhimurium. In contrast, in PFC 2<sup>2</sup>, for both microorganisms, the increase in x<sub>2</sub> (ClO<sub>2</sub> concentration) contributed to the inactivation of the microorganisms, while an increase in x<sub>1</sub> (sonication time) had a greater effect only in the inactivation of *Escherichia coli*. Thus, for the model validation, the lowest level of x<sub>1</sub> and the highest level of x<sub>2</sub> was used in water samples from the cooling tank of poultry carcasses at 25, 16 and 4 °C. Reducing *Salmonella* Typhimurium and *Escherichia coli* count was 49% and 31%, respectively, at 25 °C, when compared to the experimental control condition (without ultrasound and ClO<sub>2</sub>). In addition, at the temperatures used for water in the pre-chilling (16 °C) and chilling (4 °C) of poultry carcasses, the combination of ultrasound and ClO<sub>2</sub> promoted a reduction of up to 100% in the count of *Salmonella* Typhimurium.

**Palavras-chave:** Chemical agents; Chlorine residue; Refrigeration; Green technology; Poultry meat.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> – Fluxograma das etapas de abate e processamento de aves.....	13
<b>Figura 2</b> – Ilustração do funcionamento do pré-chiller e chiller.....	15
<b>Figura 3</b> – Esquema da geração e colapso de uma bolha de cavitação acústica. ...	25
<b>Figura 4</b> – Superfície de resposta PFC 2 <sup>2</sup> empregado o ultrassom combinado com ClO <sub>2</sub> na redução da contagem microbiana de <i>Salmonella</i> Typhimurium.....	41
<b>Figura 5</b> – Curva de contorno PFC 2 <sup>2</sup> empregado o ultrassom combinado com o ClO <sub>2</sub> na redução da contagem microbiana de <i>Salmonella</i> Typhimurium.....	41
<b>Figura 6</b> – Superfície de resposta PFC 2 <sup>2</sup> empregado o ultrassom combinado com ClO <sub>2</sub> na redução da contagem microbiana de <i>Escherichia coli</i> .....	44
<b>Figura 7</b> – Curva de contorno PFC 2 <sup>2</sup> empregado o ultrassom combinado com o ClO <sub>2</sub> na redução da contagem microbiana de <i>Escherichia coli</i> .....	45

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Variáveis e níveis de variação.....	30
<b>Tabela 2</b> – Matriz dos ensaios do planejamento fatorial ( $2^3$ ) com as variáveis independentes.....	30
<b>Tabela 3</b> – Matriz dos ensaios do PFC $2^3$ com as variáveis independentes reais e codificadas e resposta para redução da contagem microbiana de <i>Salmonella</i> Typhimurium em água pura.....	34
<b>Tabela 4</b> – Estimativa dos efeitos do PFC $2^3$ na redução da contagem microbiana de <i>Salmonella</i> Typhimurium em água pura.....	36
<b>Tabela 5</b> – ANOVA do modelo de PFC $2^3$ com as três variáveis independentes pra <i>Salmonella</i> Typhimurium.....	36
<b>Tabela 6</b> – Matriz dos ensaios do PFC $2^2$ com as variáveis independentes reais e codificadas e resposta para redução da contagem microbiana <i>Salmonella</i> Typhimurium em água pura.....	38
<b>Tabela 7</b> – Estimativa dos efeitos do PFC $2^2$ na redução da contagem microbiana de <i>Salmonella</i> Typhimurium em água pura.....	38
<b>Tabela 8</b> – ANOVA do modelo de PFC $2^2$ com as duas variáveis independentes para <i>Salmonella</i> Typhimurium.....	39
<b>Tabela 9</b> – Matriz dos ensaios do PFC $2^2$ com as variáveis independentes reais e codificadas e resposta para redução da contagem de <i>Escherichia coli</i> em água pura.....	42
<b>Tabela 10</b> – Estimativa dos efeitos do PFC $2^2$ na redução da contagem microbiana de <i>Escherichia coli</i> em água pura.....	43
<b>Tabela 11</b> – ANOVA do modelo de PFC $2^2$ com as duas variáveis independentes para <i>Escherichia coli</i> .....	44
<b>Tabela 12</b> – Validação do modelo PFC $2^2$ para a redução da contagem microbiana de <i>Salmonella</i> Typhimurium e <i>Escherichia coli</i> em água de tanque de resfriamento.....	47

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>08</b>
<b>2.</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>10</b>
2.1	Objetivo Geral	10
2.2	Objetivos Específicos	10
<b>3.</b>	<b>Revisão Bibliográfica</b>	<b>11</b>
3.1	Processamento e Obtenção da Carne de Aves	11
3.2	Sistema de Resfriamento de Carcaças de Frangos Chiller	14
3.3	Contaminação Microbiológica	16
3.3.1	<i>Salmonella</i> spp.	18
3.3.2	<i>Escherichia coli</i>	20
3.4	Medidas de Controle de Contaminação em Carcaças de Frangos	21
3.5	Ultrassom na Tecnologia de Alimentos	24
<b>4.</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>28</b>
4.1	Preparo e Caracterização da Água de Chiller	28
4.2	Microrganismos, Meio de Cultura e Reagentes Químicos	28
4.3	Reativação da Cepa De <i>Salmonella</i> Typhimurium e <i>Escherichia Coli</i>	29
4.4	Estratégia Experimental	29
4.4.1	Planejamento Fatorial Completo 2 <sup>3</sup>	29
4.4.2	Planejamento Fatorial Completo 2 <sup>2</sup>	31
4.4.2.1	Validação do Modelo	31
4.5	Aplicação do Ultrassom	32
4.6	Métodos Analíticos	32
4.6.1	Determinação de Cloro Total de ClO <sub>2</sub> em Água	32
4.6.2	Contagem de <i>Salmonella</i> Typhimurium e <i>Escherichia coli</i>	32
4.6.3	Determinação de Proteínas e Lipídios na Água de chiller	33
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>34</b>
5.1	PFC 2 <sup>3</sup> para Redução Microbiana de <i>Salmonella</i> Typhimurium em Água Pura	34
5.2	PFC 2 <sup>2</sup> para Redução Microbiana se <i>Salmonella</i> Typhimurium em Água Pura	36

<b>5.3 PFC 2<sup>2</sup> PARA Redução Microbiana de <i>Escherichia coli</i> em Água Pura.....</b>	<b>42</b>
<b>5.4 Concentração de Clo<sub>2</sub> em Água de Chiller para Validação Do Modelo.....</b>	<b>46</b>
<b>5.5 Validação do Modelo do PFC 2<sup>2</sup> para Redução da Contagem Microbiana de Salmonella Typhimurium e Escherichia coli.....</b>	<b>46</b>
<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>48</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>49</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A cadeia produtiva de frangos de corte no Brasil tem vantagens competitivas devido ao rápido ciclo produtivo, ao fato de ter a possibilidade de uma estrutura organizacional verticalizada e de ser uma proteína de baixo custo, o que atrai consumidores de diferentes classes sociais (SCHMIDT; DA SILVA, 2018).

A avicultura no Brasil encontra-se entre as mais eficientes do mundo, devido ao moderno e complexo abate de aves, sendo altamente um processo automatizado tornando-o rápido (LORETZ et al., 2010). Em 2020, a produção deverá crescer 2,5%, passando a 13,975 milhões de toneladas, sendo o Brasil o segundo produtor e o maior exportador de carne de frango do mundo (USDA, 2019).

A carne de frango apresenta um interessante teor de vitaminas e minerais, como é o caso das vitaminas do complexo B, em particular niacina, vitamina B6 e vitamina B12, ferro, fósforo e zinco, fornecendo em média mais do que 25% da dose diária recomendada destes nutrientes. A carne de frango tem muitas características nutricionais desejáveis, como baixo teor de lipídios e concentrações relativamente altas de ácidos graxos poliinsaturados, considerados alimentos saudáveis pelos consumidores (MILICEVIC et al., 2015). Em média, cada brasileiro consome 43 kg de carne de frango por ano, in natura e nas mais variadas formas de processamento seja inteiro, em pedaços, salsichas, alimentos prontos, entre outros (EMBRAPA, 2018).

O controle microbiano durante as etapas de processamento das aves é um fator chave que influencia a qualidade e a vida útil dos produtos, visto que a carne geralmente carrega altas taxas de contaminação microbiana, incluindo microrganismos patogênicos causadores de doenças transmitidas pelos alimentos (PARRA et al., 2018), sendo uma questão de preocupação contínua que é dependente de vários fatores, incluindo o nível de contaminação das aves vivas e da contaminação cruzada entre as carcaças, equipamentos e da água utilizada durante o processamento, centrada em bactérias como *Campylobacter*, *Salmonella* e *Listeria monocytogenes* (WANG et al., 2019). As aves também são frequentemente infectadas com *Escherichia coli* quando atingem principalmente idade de 4 a 5 semanas (EL-SAWAH et al., 2018).

A água de processamento no tanque de escaldagem e no tanque de resfriamento têm sido abordadas como fonte de contaminação cruzada em carcaças

que potencialmente afetam a carga microbiológica no produto final (MUNTHE et al., 2015). Embora pareça razoável que a contaminação bacteriana de carcaças de frangos esteja associada à contaminação da água nos tanques, atualmente há pouca informação disponível no que diz respeito à relação entre a contaminação da água de processamento e das carcaças de frangos (WANG et al., 2019). Em seu estudo, Wang et al. (2019) observaram que embora o resfriamento por imersão tenha mostrado um efeito positivo na redução da carga bacteriana das carcaças, foi revelada a ocorrência de contaminação cruzada durante o processo de resfriamento, indicando a necessidade do controle microbiológico da água nesta etapa.

Os impactos na saúde pública devido a DTA's são enormes além de encargos sociais e econômicos significativos. Assim sendo, todas as etapas de produção e distribuição devem garantir que os consumidores recebam alimentos saudáveis (NAGEL et al., 2013).

As tecnologias convencionais de conservação de alimentos baseiam-se principalmente no uso da remoção de calor (congelamento), adição de calor (enlatamento), ou aditivos químicos (cloro) para garantir a segurança e o prazo de validade dos produtos alimentares por inativação de microrganismos e enzimas patogênicos ou de deterioração (OJHA et al., 2018).

Com base nas exigências dos consumidores, além do crescimento da demanda de fornecer alimentos saudáveis e de alta qualidade, há a necessidade no avanço dos processos tecnológicos em escala mundial e a melhor opção disponível para alcançar essa funcionalidade incluem o uso de microfiltração, alta pressão, impulsos elétricos e ultrassônicos que são desenvolvidos especificamente para flexibilidade, eficiência energética, economia e sustentabilidade. O ultrassom é utilizado na indústria para obter alta qualidade e segurança nos produtos alimentícios, é uma tecnologia usada para melhorar as características bioquímicas e funcionais dos produtos cárneos (AL-HILPHY et al., 2020).

Considerando o risco da contaminação cruzada na etapa de resfriamento das carcaças de frangos em *chillers*, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a aplicabilidade do ultrassom isoladamente e/ou em combinação com o dióxido de cloro em amostras de água de *chillers* obtidas por simulação reduzindo a contagem microbiana das bactérias *Salmonella Typhimurium* e *Escherichia coli*.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito do ultrassom de alta potência e baixa frequência em combinação com o dióxido de cloro em amostras de água do *chiller* obtidas por simulação, para a redução microbiana das bactérias *Salmonella* Typhimurium e *Escherichia coli*.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Realizar um delineamento fatorial completo (PFC)  $2^3$  para avaliar as variáveis independentes amplitude de frequência (%), tempo de ultrassom (min) e concentração de dióxido de cloro (ppm) na inibição da *Salmonella* Typhimurium em água pura.
- Realizar dois delineamentos fatoriais completos (PFC)  $2^2$  para avaliar o efeito do tempo de ultrassom (min) e concentração de dióxido de cloro (ppm) na inibição da *Salmonella* Typhimurium e *Escherichia coli* em água pura.
- Validar os modelos após estabelecida a melhor condição para a redução da *Salmonella* Typhimurium e *Escherichia coli* obtida nos PFC  $2^2$  em água de *chiller*.



### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Processamento e Obtenção da Carne De Aves

A carne de frango é um dos alimentos mais presentes na dieta do brasileiro devido a sua qualidade nutricional, facilidade de preparo, disponibilidade e custo, garantindo uma nutrição saudável (EMBRAPA, 2018). Os principais produtores de carne avícola são os Estados Unidos, o Brasil, a União Europeia, a China e a Rússia, que de forma conjunta concentraram cerca de 65,0% do total produzido no mundo no ano de 2019. Além disso, destaca-se um aumento na produção mundial de carne avícola, que em 2010 foi de 78,17 milhões de toneladas e veio a se expandir para 98,6 milhões de toneladas em 2019, um aumento de 26,13%. Do total de frangos produzidos pelo Brasil em 2019, 68,0% foram destinados ao mercado interno e 32,0%, para exportação, sendo o estado do Paraná o maior produtor de carne de frango do país (ABPA, 2020).

A produção de carne de frango é cercada de tecnologia e de avanços tecnológicos, mesmo assim há grande possibilidade de significativas contaminações bacterianas das carcaças durante o abate e consideráveis oportunidades para a disseminação de bactérias durante o seu processamento o que pode vir a comprometer a segurança alimentar (LORETZ et al., 2010), pois a carne de frango é globalmente um dos alimentos mais populares. No entanto, também é um dos principais reservatórios de patógenos transmitidos por alimentos, resultando anualmente em incidências contínuas de mortalidade em todo o mundo (FEYE et al., 2020).

A contaminação das aves se inicia na granja, com a contaminação da ração, comedouros, bebedouros e com a cama do aviário, que pode ser renovada a cada ciclo de produção ou reutilizada várias vezes de acordo com a necessidade de cada produtor, nos EUA, a cama de aviário pode ser reutilizada por períodos de até 2 anos, o que ocasiona preocupação com a segurança alimentar (CHINIVASAGAM et al., 2016). Cada lote fica alojado por aproximadamente 45 dias, de modo geral, a densidade situa-se entre 12 a 15 aves por m<sup>2</sup> de aviário. Um estudo realizado por Chinivasagam (2016) em 6 granjas monitoradas durante dois anos apresentou níveis de *Campylobacter* spp e *Escherichia coli* na cama de aviário (log 8,0 e log 7,0 UFC/g respectivamente). Outro fator importante é o número de diferentes cepas do

microrganismo, Fernanda et al. (2018) identificaram 6 diferentes cepas de *Campylobacter jejuni* nas instalações de uma granja. Os autores citam que o uso correto das Boas Práticas de Biossegurança evita a contaminação cruzada na planta frigorífica, além das aves apresentarem melhor desempenho.

O bem-estar animal e a segurança alimentar são questões importantes na produção de alimentos de origem animal. Existem evidências científicas que o bem-estar animal não deve ser considerado apenas uma questão ética, mas também do ponto de vista da segurança alimentar, pois fatores de estresse podem aumentar a suscetibilidade de animais em desenvolver doenças e causar riscos aos consumidores, por exemplo, através de alimentos contaminados por *Salmonella*, *Campylobacter* e *Escherichia coli* (IANNETTI et al., 2020).

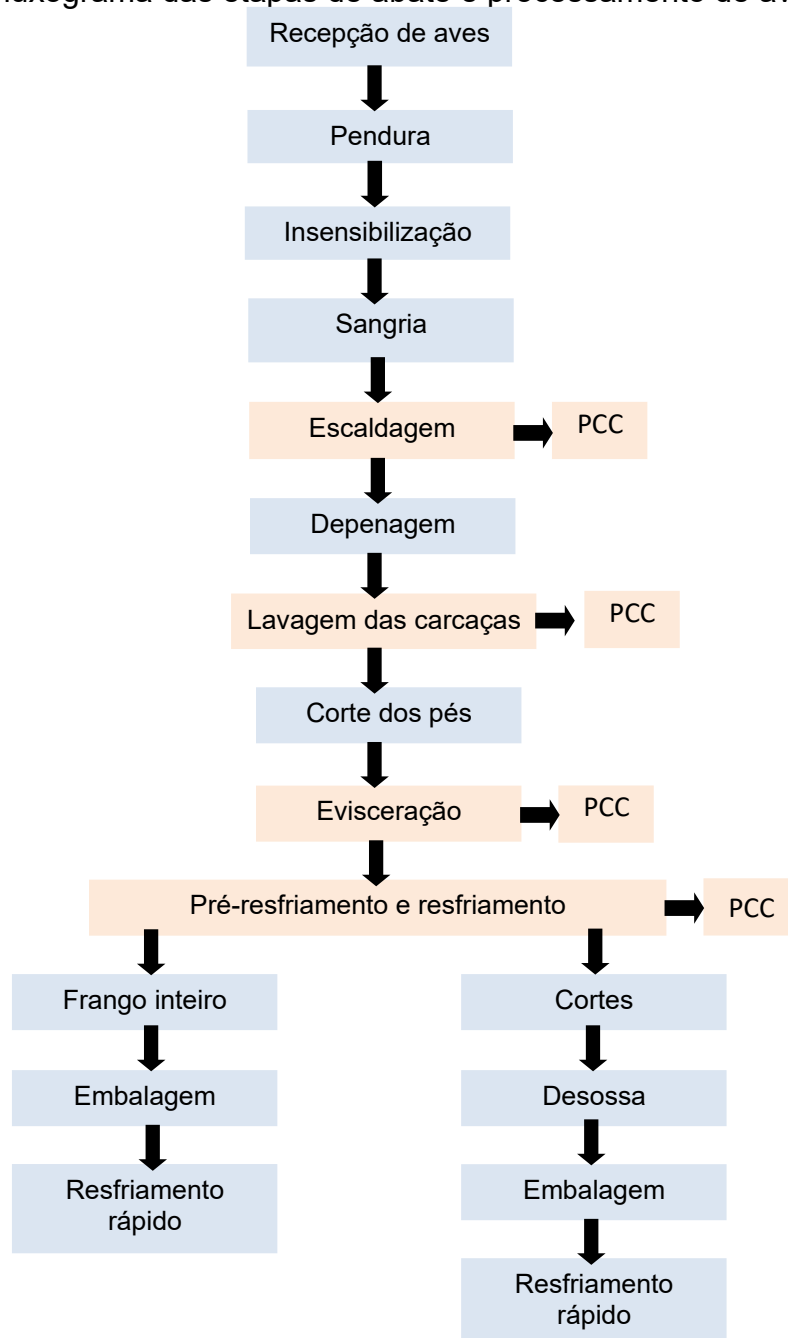
O carregamento das aves no caminhão, transporte e chegada das aves ao abatedouro devem seguir critérios adequados de higiene e bem estar animal, fornecendo conforto térmico e jejum adequado (BRASIL, 1998) e estrutura de maneira a prevenir quedas ou lesões nos animais (BRASIL, 2018). Considerando que a contaminação das aves na granja influencia diretamente na qualidade do produto final, princípios de Boas Práticas de Fabricação (BPF), Procedimentos Padrão de Higiene Operacional (PPHO) e a Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) são fatores importantes que devem ser adotados, em conjunto com o sistema de inspeção para garantir a segurança alimentar (SILVA, 2018).

Durante o abate, a Comissão Internacional de Especificações Microbiológicas para Alimentos (ICMSF, 2006) define como pontos críticos de controle (PCC) do abate de aves a escaldagem, a lavagem após depenagem, a evisceração, o pré-resfriamento e resfriamento realizado em *chiller* de imersão com água e gelo à temperatura de 0 a 4 °C sendo um ponto significativo para a contaminação de carcaças. Geralmente, as carcaças de frango, com temperatura entre 40 a 42 °C passam por um sistema de pré-resfriamento (*pré-chiller*), onde a temperatura da água é de 16 °C, com renovação contínua de 1,5 L de água por carcaça, para frangos com massa média de 2,5 a 5,0 kg, com cerca de 1 h de passagem das carcaças pelo *pré-chiller* (BRASIL, 1998). Estas etapas podem ser observadas no fluxograma de abate e processamento de aves apresentado na Figura 1.

Órgãos de fiscalização, como a Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA), o Departamento de Inspeção de Produto de Origem Animal (DIPOA) e o Ministério da

Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) foram criados para fiscalizar a qualidade e a segurança sanitária da agroindústria avícola brasileira para atender a requisitos do mercado importador e as expectativas do consumidor final. Estes órgãos são responsáveis pela aplicação de normas e regulamentos que compõem a legislação brasileira de sanidade animal, em total consonância com as normas internacionais de referência (AVILA, 2006).

**Figura 1** – Fluxograma das etapas de abate e processamento de aves.



Fonte: Fries (2017)

No Brasil, o abate de aves é realizado conforme o estabelecido no Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal (RIISPOA) e pela Portaria nº 210 de 10 de novembro de 1998, ora alterada pela Portaria nº 74 de 07 de maio de 2019 dos itens 4.5.6, 4.6 e 5.2.4 do Anexo II e item 2.15.2.9 do Anexo VI, tendo como principal alteração no âmbito do controle da contaminação o completo esvaziamento, limpeza e desinfecção de cada tanque do sistema de pré-resfriadores contínuos por imersão pelo menos nos intervalos dedicados a higienização pré-operacional, o qual antes era realizado no final de cada período de trabalho (oito horas) ou, quando se fizer necessário, a juízo da inspeção federal, sendo assim com a nova Portaria essa atividade é realizada a intervalos de tempo maiores, sendo necessário um maior controle e eficiência dos Pontos Críticos de Controle (PCC).

### **3.2 Sistema de Resfriamento de Carcaças de Frangos *Chiller***

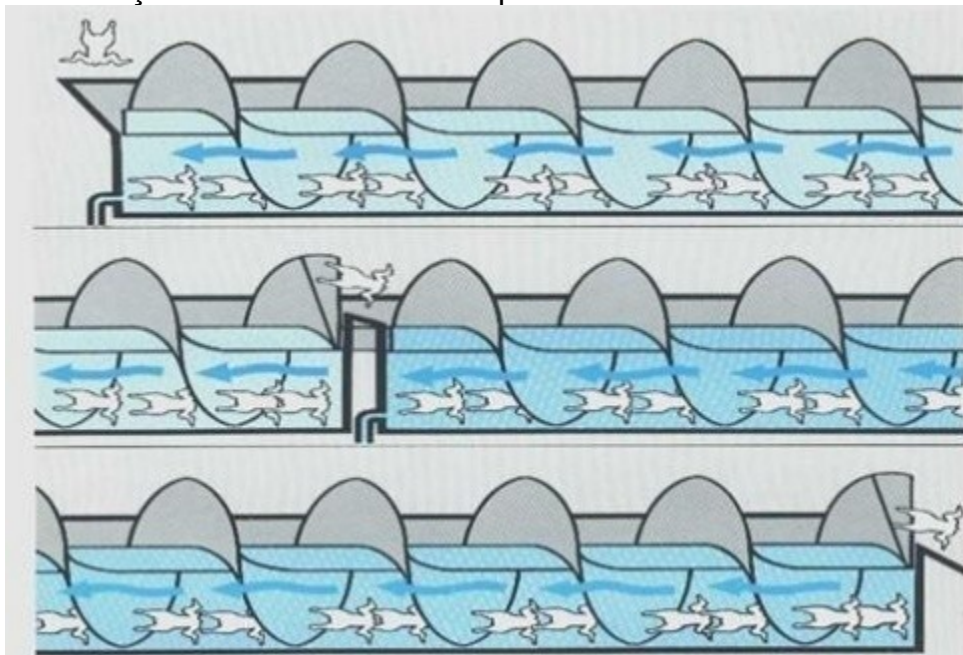
Dentre as operações envolvidas no processamento da carne de frango, o resfriamento *post mortem* é importante para a qualidade final da carne. As carcaças depois de evisceradas são submetidas ao pré-resfriamento para reduzir a temperatura o qual influencia os principais indicadores de qualidade da carne, como sabor, aparência e textura, além de controlar o crescimento microbiano, uma vez que a baixas temperaturas, as taxas de reações bioquímicas e microbiológicas são reduzidas, mantendo ou prolongando a vida útil dos produtos, requisitos das leis nacionais e internacionais (LORENZETTI et al., 2019). Comercialmente ou industrialmente esses tanques com água e gelo são conhecidos como *chillers* (Figura 2), construídos em aço inoxidável que possuem sistemas de movimentação e transporte de carcaças, renovação de água e borbulhamento por meio de injeção de ar comprimido no fundo do tanque. O resfriamento de carcaças de aves por imersão tem um custo relativamente baixo e é amplamente utilizado na América do Sul e do Norte, enquanto as indústrias de processamento europeias costumam usar ar frio forçado (LORENZETTI et al., 2018).

A temperatura *post mortem* é um fator crítico para a obtenção da qualidade, sendo necessário iniciar a redução da temperatura da carcaça tão logo possível após o abate (MASTROGIACOMO, 2006), a qual não poderá exceder 7 °C (BRASIL, 2019), a fim de reduzir a taxa de crescimento dos microrganismos de deterioração e

o crescimento da maioria dos microrganismos patogênicos. Quanto mais rápido o resfriamento das carcaças, menor será o desenvolvimento de microrganismos.

As indústrias de avicultura dos EUA utilizam rotineiramente o resfriamento por imersão em água porque o Departamento de Agricultura, Segurança Alimentar e Serviço de Inspeção dos Estados Unidos exige o resfriamento de carcaças abaixo de 4,4 °C até 4 horas após a morte (BRASIL, 2018). No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento (MAPA) realiza por meio do Serviço de Inspeção Federal (SIF) o controle de absorção e temperatura das carcaças nos frigoríficos. A Portaria nº 210 de 10 de novembro de 1998 prevê que a água no sistema de pré-resfriamento (*pré-chiller*) não deve ser superior a 4 °C e deve estar em constante renovação, podendo a mesma ser hipoclorada, permitindo-se o máximo de 5 ppm de cloro (BRASIL, 1998). A temperatura da água residente, medida nos pontos de entrada e saída das carcaças do sistema de pré-resfriamento por imersão não pode ser superior a 16 °C e 4 °C, respectivamente, no primeiro e último estágio, sendo o tempo máximo de permanência no primeiro *chiller* de trinta minutos tendo um fluxo de água por carcaça com peso entre 2,5 e 5,0 kg de no mínimo 1,5 L no *pré-chiller* e 1,0 L no *chiller* (BRASIL, 1998).

**Figura 2** – Ilustração do funcionamento do *pré-chiller* e *chiller*



Fonte: MAPA, (2014)

Para que o pré-resfriamento seja feito de forma eficiente e adequada, alguns parâmetros devem ser monitorados, dentre eles: a renovação adequada, a temperatura e o sentido contracorrente da água, os níveis adequados de cloro livre, o tempo adequado de passagem da carcaça e a carga bacteriana inicial (NORTHCUTT et al., 2008).

Na Europa um método também utilizado para o resfriamento das carcaças é por meio de ar forçado e está avançando significativamente em países como o Canadá e Estados Unidos, nesse sistema o ar frio é soprado nas partes mais grossas da carcaça, na cavidade abdominal e na parte externa da coxa, para melhorar a eficácia e a uniformidade da refrigeração oferecendo grande potencial de melhoria da qualidade da carne, como por exemplo menor contaminação cruzada quando comparada com o resfriamento por imersão em água que irá minimizará o consumo de água (JEONG et al., 2011). Outra vantagem do ar forçado é que não se faz o uso de produtos químicos, como o cloro, que segundo James et al. (2016) pode deixar resíduos na carne.

A grande desvantagem do resfriamento por ar forçado é que esse método induz uma aparência seca na carcaça e uma perda de peso de 0,8 a 2,5% quando comparada com o resfriamento por imersão que mantém a suculência da carne, além de um ganho de peso nas carcaças o que economicamente é vantajoso (JEONG et al., 2011). Tais diferenças contribuem para as restrições do comércio internacional entre os países que utilizam os dois diferentes métodos de resfriamento (PÉREZ-GRIJALVA et al., 2018).

### **3.3 Contaminação Microbiológica**

As DTA's são um problema de saúde pública, resultando em dados significativos tanto na parte social quanto econômica em todo o mundo (PARRA et al., 2018). A carne de frango é reconhecida como um importante reservatório de microrganismos patogênicos e é um dos alimentos mais frequentemente associados a DTA's (SILVA et al., 2018).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) (WHO, 2017), a carne de frango é um alimento propício para o desenvolvimento microbiano de *Salmonella*, *Campylobacter* e *Escherichia coli* enterohemorrágica, que estão entre os patógenos

alimentares mais comuns que afetam milhões de pessoas anualmente, muitas vezes com desfechos graves e fatais.

A Organização Mundial de Saúde (WHO, 2017) estima que, anualmente, uma de cada dez pessoas sofrem com DTA's, sendo que uma boa parte dessas doenças pode levar a óbito. Em uma estimativa de 2015, as DTA's foram responsáveis por 420.000 mortes em todo o mundo, sendo que 33% destas foram em crianças com idade inferior a 5 anos.

Desde 1999 o Brasil iniciou a vigilância de surtos de DTA's onde são contabilizados episódios em que duas ou mais pessoas apresentam os mesmos sinais ou sintomas após ingerir alimentos e/ou água da mesma origem. De acordo com dados do Ministério da Saúde, através da Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis, durante os anos de 2010 a 2017 no Brasil, foram registrados 5.712 casos de surtos envolvendo 104.264 doentes e 78 mortes, sendo causados por agentes etiológicos de origem bacteriana como a *Salmonella* spp. responsável por 33,1% e a *Escherichia coli* por 27,3% dos surtos de DTA's identificados no período. Já na União Européia o *Campylobacter* é o patógeno que causa a maior das infecções transmitidas por alimentos, em 2017 foram notificados 250.161 casos em humanos provenientes do consumo de carne de frango (ELLIS-IVERSEN et al., 2020) e nos Estados Unidos a Campilobacteriose é reconhecida como um problema de saúde pública e cerca de 76 milhões de ocorrências com identificação predominante de *Campylobacter jejuni*, já no Brasil não foi possível encontrar dados relacionados a surtos envolvendo a *Campylobacter* spp. (CISCO et al., 2017).

No abate das aves, as carcaças são altamente suscetíveis a contaminação bacteriana, principalmente nas etapas de evisceração e resfriamento, provenientes pela contaminação cruzada do intestino das aves (LIN et al., 2020).

Durante o processo de resfriamento das carcaças, conforme as carcaças entram e se movem pelo tanque do *chiller*, liberam grandes quantidades de material orgânico na forma de sangue, gordura, proteína e outros na água (MUNTHEER et al., 2015) e esse material é importante porque altera a composição química dessa água de resfriamento de carcaças de aves e afeta diretamente a contagem microbiana (RUSSELL, 2012). Por isso, ter o entendimento da dinâmica da carga microbiana média das aves e do material orgânico desprendido no tanque de resfriamento é importante para compreender as questões microbiológicas propagadas das carcaças

independentes umas das outras, sempre deixando claro o volume do tanque e a quantidade da matéria orgânica espalhada (MUNTHER et al., 2015) garantindo que os *chillers* funcionem de maneira eficaz (SKOVGAARD, 2010). A água do tanque de resfriamento pode ficar contaminada com bactérias presente na superfície da carcaça e na cavidade, levando à contaminação cruzada e comprometendo a segurança do produto (PAVIC et al., 2015). Portanto, as regulamentações europeias, brasileiras, americanas e australianas estabelecem que os tanques devem ser esvaziados, limpos e higienizados após cada turno (8 horas), ou no mínimo uma vez por dia (BRASIL, 2018).

Alguns autores relataram que mais de  $4,5 \log_{10}$  UFC/g de microrganismos são normalmente encontrados em carcaças de aves inteiras, pois toda linha de abate inclui vários procedimentos frequentemente associados à contaminação cruzada por bactérias (BARTENFELD et al., 2014; DUAN et al., 2017; KIM et al., 2017).

Lin et al. (2020) avaliaram 125 carcaças de frango em que 22 apresentaram positividade para *Salmonella* antes do início do processamento das aves e que após a etapa de resfriamento 35 carcaças de frangos tiveram resultado positivo para o patógeno, indicando possível contaminação cruzada durante as etapas do processamento.

### 3.3.1 *Salmonella* spp.

As salmonelas pertencem à família *Enterobacteriaceae*, sendo que morfologicamente são bastonetes gram-negativos, geralmente móveis, capazes de formar ácido e, na maioria das vezes, gás a partir da glicose, com exceção de *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Pullorum, e *Salmonella* Gallinarum ( $\leq 5\%$  produzem gás). A adaptabilidade fisiológica da *Salmonella* é demonstrada por sua habilidade para proliferar em valores de pH entre 7.0 e 7.5 (extremos 3.8 e 9.5) temperatura de 35 °C a 43 °C (extremos 5 °C a 46 °C) e uma atividade de água ( $> 0,94$ ), ocorrendo variações entre sorovares e/ou cepas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

Segundo WHO (2018), dentre os microrganismos patogênicos importantes em aves, capazes de causar zoonose de origem alimentar em humanos, que trazem transtorno à saúde pública mundial devido à capacidade de causar toxinfecção



alimentar podendo levar o indivíduo ao óbito (FILHO et al., 2014), destaca-se a *Salmonella*, uma bactéria onipresente e resistente que pode sobreviver várias semanas em um ambiente seco e vários meses na água.

Salmonelose é uma das mais comuns DTA's em todo o mundo. Nos Estados Unidos, a salmonelose é responsável por 1 milhão dos casos de doenças e a 400 mortes por ano e até 155.000 mortes em todo o mundo (ZWE et al., 2018), em 2017 foi à segunda zoonose mais frequentemente relatada na União Europeia representando quase 27% dos casos (KURE et al., 2020).

A *Salmonella* é uma bactéria predominantemente em animais de produção, podendo ser encontrada no intestino de aves, suínos, bovinos, mas é também isolada em animais domésticos, incluindo cães, gatos, aves e répteis. Por ser normalmente encontrada no ambiente de produção animal, e por isso, relacionada a grandes problemas de saúde pública, pelo seu envolvimento com doenças de origem alimentar em todo o mundo. Portanto, trata-se de uma doença zoonótica que pode ser transmitida diretamente entre os animais e os seres humanos (MENDONÇA, 2016). A carne de frango é um dos alimentos mais comuns responsáveis pelas salmoneloses em humanos devido a sua capacidade de residir nas aves saudáveis sem causar doenças no animal (ZWE et al., 2018).

A transmissão de *Salmonella* spp. para as aves pode ocorrer de forma vertical, via ovo, desencadeando o nascimento de pintainhos infectados, ou horizontal, com a ingestão de água, ração, cama de aviário, matéria fecal e poeira contaminada. As barreiras sanitárias, o monitoramento dos lotes e os princípios de biossegurança, em conjunto com os métodos atualmente empregados, não bastam para garantir que um lote esteja livre da ocorrência de um surto de salmonelose (PRA et al., 2009).

Segundo a Organização Mundial da Saúde, 25% dos surtos de origem alimentar estão intimamente associados à contaminações cruzadas provenientes de eventos envolvendo práticas de higiene deficiente, equipamentos contaminados, contaminação por manipuladores de alimentos, processamento e/ou armazenamento inadequado (CARRASCO et al., 2012).

A dose infectante varia de  $10^5$  a  $10^8$  células, porém, em pacientes imunocomprometidos, têm sido observadas doses  $\leq 10^3$  células para alguns sorovares envolvidos em surtos de DTA's e sintomas da infecção por *Salmonella*

spp. são febre, dor de cabeça, náusea, vômito, dor abdominal e diarreia (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

Em um estudo realizado por Vinueza-Burgos (2019), foram coletadas 314 amostras de carcaças de frangos durante o abate em um frigorífico, observou que 70 carcaças (20%) apresentaram positividade para *Salmonella* antes de iniciar o abate, dessas carcaças 25 foram coletadas após o processo final de lavagem e foi observado que 22 amostras (88%) apresentaram resultado positivo para *Salmonella*, sendo que 56% das amostras apresentaram positividade após o processo de resfriamento, concluindo que a presença de *Salmonella* pode estar relacionada à contaminação cruzada durante as etapas de processamento, como evisceração e ambiente de abate (OLSEN, 2003; RASSCHAERT, 2007).

A pesquisa de *Salmonella* em carcaças de aves tem demonstrado resultados discrepantes, independente se as amostras foram coletadas ainda na indústria, imediatamente após o *chiller* ou no comércio varejista, quando se encontram submetidas à refrigeração por vários dias (DE CARVALHO et al., 2016). Em um estudo realizado por Possebon et al. (2012) foram coletas 130 carcaças de frango, sendo que 65 foram obtidas ainda na indústria, após o resfriamento realizado em *chiller* e imediatamente analisadas e 65 carcaças embaladas e estocadas a 5 °C por 72 horas (simulando o varejo), onde 58 carcaças apresentaram presença de *Salmonella* após a etapa de resfriamento e 50 carcaças (38,5%) apresentaram presença de *Salmonella* nas amostras estocadas.

Li et al. (2019) analisaram 2.331 amostras de carne de frangos coletados em vários supermercados, estabelecimentos de carnes e restaurantes e observaram que 15,83% estavam contaminadas com *Salmonella* e concluíram que as condições de armazenamento desempenham um papel fundamental no desenvolvimento deste microrganismo.

### 3.3.2 *Escherichia coli*

A *Escherichia coli* compreende um grupo de bactérias gram-negativas que residem normalmente no intestino de pessoas saudáveis, mas algumas cepas podem causar infecção, como a *Escherichia coli* O157:H7, também conhecida como *Escherichia coli* enterohemorrágica. Os casos de pessoas infectadas por essas

cepas provem do consumo de alimentos, principalmente carnes, verduras e água contaminada com fezes de animais causando sintomas como: diarreia, cólicas abdominais, enjoo e vômito (ASLAM et al., 2014).

Várias bactérias podem ser selecionadas como indicadores de higiene do processo. A contagem de colônias aeróbias é comumente usada para avaliar a higiene de todo o processo de produção de carne e a *Escherichia coli* é o indicador mais utilizado de contaminação fecal em alimentos (BELLUCO et al., 2016).

O monitoramento da presença da *Escherichia coli* ou de indicadores de qualidade em diferentes fases do abate é realizado sobre os pontos críticos de controle (PCC) da Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) (RODRIGUES et al., 2008). Na Coréia do Sul e no Japão, o governo estabeleceu uma lei para controlar a *Escherichia coli* a níveis de produtos cárneos (KIM et al., 2017).

Em um estudo realizado por Flores et al. (2018) observou-se que de um total de 240 carcaças de frango, 9 (3,75%) apresentaram resultado positivo para *Escherichia coli* O157:H7. A presença de *Escherichia coli* também foi positiva e superior em amostras de carne de frango temperado em que 55% de um total de 80 amostras deram resultado positivo (SILVA et al., 2018).

No Brasil, ao serem elencados os principais agentes causadores de DTA's, no período compreendido entre os anos de 2007 a 2017, o agente *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* lideraram os números de casos de surtos registrados e confirmados no país, sendo percentual de 7,5% para casos envolvendo *Salmonella* spp. e 7,2% para *Escherichia coli* (BRASIL, 2018).

### **3.4 Medidas de Controle de Contaminação em Carcaças De Frangos**

A indústria alimentícia é constantemente desafiada a atender às demandas de alimentos saudáveis, seguros, de alta qualidade, nutritivos e naturais com um prazo de validade prolongado. Além disso, os consumidores estão se tornando cientes das preocupações com a saúde em relação aos produtos químicos e as substâncias antimicrobianas (LI et al., 2019).

As aves vivas contêm um alto nível de microrganismos na pele, penas e no sistema digestivo e a contaminação das carcaças durante o processo de abate nem sempre é evitada. Existe, portanto, um grande interesse em métodos que poderiam

contribuir para reduzir o nível de bactérias nas carcaças, principalmente as patogênicas (KURE et al., 2020).

Durante o processamento da carne de frango, a implementação do processo de higiene da carcaça é muito importante e pode ser obtida essencialmente por dois objetivos: um consiste em reduzir o impacto negativo das etapas de processamento ligadas ao aumento da contaminação microbiológica e reduzir a contaminação bacteriana em outras etapas. A redução da contaminação está relacionada as bactérias de deterioração, aumentando assim possivelmente o prazo de validade do produto, bem como a contaminação com microrganismos patogênicos evitando a ocorrência de DTA's (BELLUCO et al., 2016).

Na indústria a descontaminação é tradicionalmente alcançada usando alguns métodos químicos e físicos que incluem tecnologias de limpeza de animais, desinfecção química no abate, lavagem da carcaça, pulverização com alguns agentes antimicrobianos ou com água a temperatura e pressão adequada ou com o uso de combinações destas tecnologias (BILGILI et al., 2002), algumas indústrias avícolas incluem tratamento com sódio acidificado, clorito, bromo, dióxido de cloro, ácido orgânico, ácido peracético, fosfato trissódico, monoclорamina ou água eletrolisada para eliminar os microrganismos (SEO et al., 2019).

O processo de descontaminação durante o processo de resfriamento é utilizado como um passo para a preservação dos alimentos, desta forma a necessidade de um processo eficaz de descontaminação na indústria alimentícia é incontestável. Alguns dos antimicrobianos utilizado na água de resfriamento mais comumente usados nas indústrias brasileiras são substâncias a base de cloro, dióxido de cloro, cloreto de cloro acidificado, entre outros (SKOVGAARD, 2010). Por isso que o contato de cloro com microrganismos aderidos às superfícies das carcaças deve ser significativamente menor do que o contato de cloro com contaminação na água do *chiller* (MCCARTHY et al., 2017).

Nagel (2013) traz em um dos seus estudos inovações no processamento de aves que incluem a implementação de antimicrobianos em tanques de descontaminação pós-resfriamento. Neste estudo, um total de 160 carcaças de frango foram analisadas para avaliar a eficácia de cinco tratamentos pós-resfriamento com 0,004% (40 ppm) de cloro total, 0,04% (400 ppm) ou 0,1% (1000 ppm) de ácido peracético, e 0,1% (1000 ppm) ou 0,5% (5000 ppm) de lisozima contra *Salmonella* e *Campylobacter* spp. Além disso, foi realizada análise sensorial

para avaliar quaisquer efeitos associados aos antimicrobianos nos atributos de qualidade da carne de peito de frango. No tratamento com 0,04% e 0,1% de ácido peracético foi mais eficaz ( $p \leq 0,05$ ) na redução das populações de *Salmonella* e *Campylobacter* em comparação com o tratamento com cloro a 0,004% e tratamentos com lisozima a 0,1% e 0,5%. O tratamento com os vários antimicrobianos não foi possível verificar impactos negativos ( $p \leq 0,05$ ) sobre os atributos sensoriais. Os resultados deste estudo sugerem que a utilização de ácido peracético como um antimicrobiano em um tanque de imersão pós-resfriamento é uma aplicação eficaz para reduzir *Salmonella* e *Campylobacter* em carcaças, mantendo a qualidade do produto.

Concentrações adequadas de cloro livre são essenciais para reduzir ou controlar a contaminação, ainda que esse cloro venha a ser inativado pela quantidade excessiva de matéria orgânica (HIGGINS et al., 2005). Mesmo com as imposições do mercado de carne mais competitivo do mundo, o europeu, o Serviço de Inspeção e Segurança Alimentar (FSIS) do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos recomenda a utilização de 5 ppm de hipoclorito de sódio na água dos *chillers* (ORLANDELLI; FELBER, 2012).

O  $\text{ClO}_2$  é outro agente químico muito usado para higienização de materiais e atua na inativação de patógenos devido sua característica mais sutil no contato com a célula bacteriana quando comparado ao gás cloro ( $\text{Cl}_2$ ) (ZHOU et al., 2018). O dióxido de cloro é um forte oxidante, bactericida, fungicida, algicida e antisséptico. Na água de *chiller*, segundo MAPA (BRASIL, 1998), é permitido o uso do nível de cloro livre de até 5 ppm não havendo limite mínimo estabelecido, mas, em contrapartida, a fixação bacteriana a superfícies irregulares gera a resistência para esses desinfetantes (MUKHOPADHYAY; RAMASWAMY, 2012).

Uma outra alternativa para a descontaminação das carcaças é o uso de água eletrolisada, incluindo água eletrolítica ácida, a qual tem sido amplamente identificada como um desinfetante alternativo ao cloro para uso na indústria alimentícia, já que apenas sal e água são usados para produzir os desinfetantes, que podem beneficiar o meio ambiente e a saúde humana (BARTENFELD et al., 2014). Além disso, a água eletrolisada pode não resultar em odores ou cor ou aparência inaceitável em comparação com outros desinfetantes à base de cloro (MEIRELES et al., 2016).

Novas e complementares tecnologias de conservação de alimentos estão sendo continuamente investigadas dando uma atenção especial aos métodos físicos e de biopreservação para prolongar a vida útil, inibir os microrganismos indesejáveis nos alimentos e minimizar o impacto sobre as propriedades sensoriais (BILEK; TURANTA, 2013). As tecnologias alternativas são uma maneira simples de maximizar a eficiência dos métodos químicos trazendo economia de energia e de redução de custos operacionais. Entre os processos alternativos que pode reduzir os custos do processo e auxiliar na preservação de alimentos destaca-se o ultrassom de alta potência e baixa frequência (Flores et al., 2018).

### **3.5 Ultrassom na Tecnologia de Alimentos**

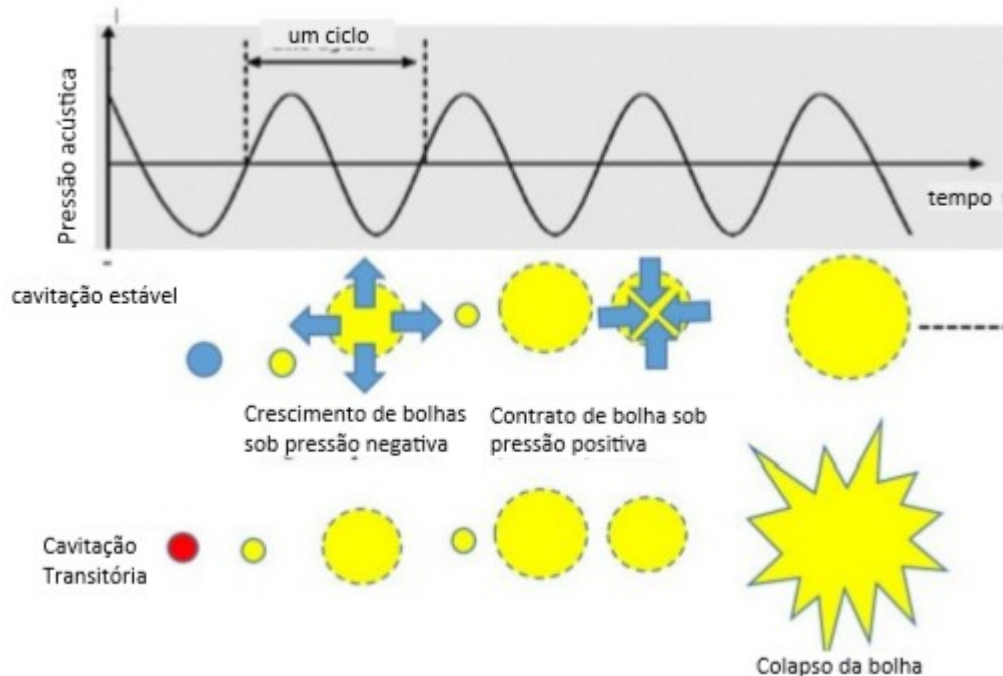
As tecnologias alternativas são uma maneira simples de maximizar a eficiência dos recursos naturais, economia de energia e redução de custos operacionais (FLORES et al., 2018).

Dentro dessas alternativas, destaca-se a tecnologia de ultrassom que pode reduzir os custos e auxiliar na preservação de alimentos (FLORES et al., 2018). O ultrassom é uma tecnologia inovadora com aplicações tanto na análise quanto na modificação de alimentos, definida como ondas sonoras superiores àquelas que podem ser detectadas pelo ouvido humano (20 kHz). As faixas de som usadas são divididas em ultrassom de alta frequência e baixa potência ( $> 1 \text{ MHz}$ ,  $< 1 \text{ W cm}^{-2}$ ) e ultrassom de baixa frequência e alta potência (20 – 100 kHz com 10 – 1000  $\text{W/cm}^{-2}$ ). Ambos os tipos são úteis na tecnologia de alimentos (ALARCON-ROJO et al., 2015). O uso de baixas frequências (20 – 100 kHz) com alta potência (10 – 100  $\text{W/cm}^{-2}$ ) pode levar a mudanças físicas ou reações químicas em estruturas sonicadas, enquanto as altas frequências com baixa potência não induzem mudanças físico-químicas nas estruturas (FLORES et al., 2018).

As frequências principais usadas no processamento com o ultrassom parecem estar na região de potência com o intervalo de 20 a 25 kHz (PANIWNYH, 2017). O ultrassom induz efeitos mecânicos, químicos e efeitos bioquímicos em meio líquido pela produção e subsequente colapso de bolhas, a propagação das ondas em meio líquido induz a compressão e rarefação alternada nos ciclos de expansão, que formam bolhas dentro das estruturas. Esse fenômeno ocorre predominantemente em baixas frequências, o que é chamado de cavitação. A

ruptura dessas bolhas podem ser consideradas pequenas implosões, que geram altos níveis de energia (FLORES et al., 2018).

**Figura 3** – Esquema da Geração e Colapso de uma Bolha de Cavitação Acústica.



Fonte: Al-hilphy et al. (2020)

Vários estudos demonstraram a capacidade do ultrassom em inativar microrganismos e enzimas deteriorantes e patogênicas em laticínios e sucos de frutas. Isso é frequentemente atribuído ao rompimento das membranas da parede celular e produção de radicais livres (FREITAS et al., 2014). Afirma-se também que o uso do ultrassom produz forças que resultam na quebra e rompimento das paredes celulares de microrganismos (PANIWNYH, 2017).

Zeng et al. (2013) avaliaram o efeito do ultrassom quando aplicado por 0, 30, 60 e 90 min, a 20 °C e 25 kHz em suco de maçã, e observaram a redução da população microbiana de bolores e leveduras quando comparada com amostras controle (sem aplicação de ultrassom). Resultados semelhantes foram obtidos em suco de limão em que ocorreu a redução dos contaminantes microbianos e patogênicos de 5 ciclos log (ELVIRA et al., 2014) e devido a resultados como estes, pelo fato do ultrassom ser eficaz na redução microbiana de 5 ciclos log estabelecidos pelo FDA para sucos de frutas, está técnica pode ser considerada um método de pasteurização (PATIL et al., 2009).

No estudo realizado por Park e Ha (2019), os autores relataram que apenas aplicação do ultrassom (40 kHz por 5 min) em suco de maçã resultou em uma baixa inativação de patógenos, porém quando combinado ao ácido fumárico resultou em uma redução de 5,3 ciclos log na carga microbiana de *Escherichia coli* sem afetar as características sensoriais do suco.

O ultrassom, sozinho ou em combinação com outros métodos, tem demonstrado ter potencial para aplicações que vão desde melhorar parâmetros de qualidade da carne, tais como textura, modificando as propriedades funcionais de proteínas, aumento do prazo de validade, reestruturação de produtos de carne, reduzir o sal e aumentar o cozimento, bem como a inativação dos microrganismos na carne e produtos de carne (ALARCON-ROJO et al., 2015).

Em um estudo realizado por Liao et al. (2018), em que a carne de aves foi submetida ao ultrassom por sonda em uma potência de 198 W e frequência de 20 kHz por 12 minutos, foi possível observar a inativação de 98,1% da contagem microbiana de *Escherichia coli* e 81,3% de *Staphylococcus aureus*, semelhante ao estudo de Khandpur et al. (2016) que avaliaram o tratamento com ultrassom de 60 minutos e 40 kHz de frequência e 350 W de potência que resultou em mais de 90% de inativação de *Escherichia coli*.

Seo et al. (2019) avaliou a eficácia do tratamento do ultrassom (37 kHz por 5 min) combinado com etanol em uma concentração de 30% na inativação de *Salmonella Typhimurium* em pele de galinha apresentando uma redução de 2,49 log<sub>10</sub> UFC/g, porém quando aplicado o ultrassom isoladamente o tratamento não foi eficaz.

Voltado ainda para área cárnea, o tratamento do ultrassom em peito de frango foi eficaz no controle do crescimento de bactérias patogênicas como *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp. segundo estudos de Piñon et al. (2018). Segundo os autores o ultrassom contribuiu para prolongar a vida útil do produto, entretanto, destaca que outros tratamentos alternativos combinados com a cavitação gerada pelo ultrassom deveriam ser investigados para reduzir o número desses patógenos para futura aplicação na indústria cárnea, utilizado como um método de prevenção.

Bi (2020) em seu estudo investigou o potencial do uso do ultrassom combinado com o tratamento com lisozima (enzima hidrolítica) como uma tecnologia de pasteurização no processamento de ovo inteiro líquido. Os resultados mostraram



que a inativação de *Salmonella* Typhimurium foi aumentada pelo aumento das temperaturas de tratamento, potência e tempo aplicado, onde o melhor resultado foi alcançado utilizando 968 W/cm<sup>2</sup>, a 35 °C e 20 min, assim como a capacidade de inativação do tratamento do ultrassom com lisozima foi maior ( $p < 0,05$ ) quando comparada com o tratamento do ultrassom isoladamente, 4,26 log<sub>10</sub> UFC/g e 3,31 log<sub>10</sub> UFC/g respectivamente. Desta forma, é possível verificar que o ultrassom é uma tecnologia com grande potencial para aplicação em tecnologia de alimentos, no campo de inibição de microrganismos. Baseado em Huang et al. (2018), a metodologia sugerida no presente trabalho está fundamentada na utilização do ultrassom combinado com compostos químicos. Os autores citados realizaram a aplicação de cloro livre ativo juntamente com a lavagem ultrassônica em um estudo em folhas de alface, visando a redução da contaminação cruzada durante a etapa de lavagem para células de *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*, e observaram uma redução bacteriana de aproximadamente 0,5 log UFC/cm<sup>2</sup>, concluindo que o tratamento ultrassom tem potencial para ser uma alternativa para manter a segurança e a qualidade de alimentos frescos.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Preparo e Caracterização da Água de *Chiller*

Para evitar possíveis resíduos químicos, especialmente o cloro, a água do tanque de resfriamento (*chiller*) de carcaças de frango foi obtida por um processo de simulação. Para isso 3 frangos depenados, eviscerados e refrigerados (7 a 9 °C), sem pés, sem cabeça, com peso de 2,5 kg e abatidos segundo as Normas de Bem-estar Animal (BRASIL, 2018) no dia anterior a este procedimento foram tumbleados separadamente e sequencialmente em 4,5 L de água destilada (1.0 – 0.1 µS/cm) obtida de um destilador de água tipo Pilsen (Quimis, Q341-25, Brasil), a temperatura de aproximadamente 16 °C, mantida pela climatização do ambiente, por 1 hora cada. A água obtida após o tumbleamento foi armazenada em frascos de 1 L, autoclavada em autoclave (CS 75 L, Primatec, Itu, Brasil) a 121 °C por 15 min, e mantida a -18 °C.

### 4.2 Microrganismos, Meio de Cultura e Reagentes Químicos

As cepas utilizadas foram *Salmonella* entérica sorovar Typhimurium ATCC 14028 e *Escherichia coli* sorotipo O157:H7 ATCC 43888. Os meios de cultura Caldo Cérebro Coração (BHI – Brain Heart Infusion) e o Ágar para Contagem Padrão em Placas (PCA – Plate Count Ágar) adicionado de 5% Cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC) foram todos da marca Merck (Darmstadt, Alemanha) e o ClO<sub>2</sub> foi doado por um abatedouro de aves localizado no Oeste do Paraná, em seu estado líquido, obtido pela reação do ácido clorídrico (HCl<sub>2</sub>) e cloreto de sódio (NaClO<sub>2</sub>) por intermédio de geradores ácidos (Gerador de Dióxido de Cloro, Modelo: CDKC 32, Fabricante: Alcolina). O ClO<sub>2</sub> foi armazenado a temperatura ambiente ( $\cong$  25 °C) e utilizado por não mais que 24 h após sua obtenção levando em consideração sua pureza. Foram utilizados sachês com reagente de cloro livre da marca Hanna Instruments HI701-0 (Romania, Europa).

### 4.3 Reativação da Cepa de *Salmonella* Typhimurium e *Escherichia coli*

As cepas de *Salmonella* Typhimurium e *Escherichia coli* armazenadas em Ágar Nutriente (Merck, Darmstadt, Alemanha) foram ativadas inoculando-se separadamente uma alíquota de cada em 10 mL de caldo BHI e incubado a  $37 \pm 2$  °C por 12 h. A turbidez do caldo verificada visualmente após o período de incubação foi utilizada para conferir o crescimento do microrganismo. Posteriormente 1 mL do caldo BHI com o crescimento foi inoculado em 200 mL de caldo BHI. O crescimento dos microrganismos foi acompanhado por densidade óptica (Do) a 600 nm em espectrofotômetro (Lambda XLS Perkin Elmer, Beaconsfield, Reino Unido) e por contagem em placas PCA adicionado de 5% de TTC. Para a *Salmonella* Typhimurium e *Escherichia coli* as leituras da DO e a contagem padrão em placas foram realizadas nos tempos de 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 e 10 h até atingir a fase estacionária. Após realizada a curva de crescimento, foi estabelecida a fase de maior atividade, com concentração de cepa conhecida para posterior inoculação na água de *chiller*.

A Do foi determinada em triplicata e a contagem em placas em duplicata e os resultados foram expressos em  $\log_{10}$  UFC/g.

### 4.4 Estratégia Experimental

#### 4.4.1 Planejamento Fatorial Completo $2^3$

O primeiro microrganismo estudado foi a *Salmonella* Typhimurium sendo que os resultados obtidos serviram de parâmetro para o estudo da *Escherichia coli*. Desta forma, foi realizado um Planejamento Fatorial Completo (PFC) para três variáveis independentes ( $2^3$ ) e triplicata no ponto central, totalizando 11 ensaios que foram realizados aleatoriamente e mais 3 controles, sendo Controle 1 sem aplicação de ultrassom e adição de  $\text{ClO}_2$ , Controle 2 somente aplicação de ultrassom no nível superior e Controle 3 somente adição de  $\text{ClO}_2$  no nível superior. Para a realização deste PFC utilizou-se água destilada estéril ( $121$  °C por 15 min) (SILVA et al., 2018). Na Tabela 1 podemos visualizar as três variáveis independentes estudadas,  $x_1$  (amplitude de frequência, %),  $x_2$  (tempo, min) e  $x_3$  (concentração de  $\text{ClO}_2$ , ppm) e na Tabela 2 pode-se visualizar a matriz do planejamento experimental ( $2^3$ ). A variável

dependente ou função-resposta ( $y$ ) foi expressa como  $\log_{10}$  UFC/g de *Salmonella* Typhimurium. As variáveis e os níveis de variação foram selecionados com base em dados da literatura e de acordo com as condições de operação do banho de ultrassom (Elmasonic P120H, Singen, Alemanha).

**Tabela 1.** Variáveis e níveis de variação.

Variáveis	Níveis		
	-1	0	1
$x_1$ – Amplitude de frequência (%)	40	70	100
$x_2$ – Tempo (min)	5	10	15
$x_3$ – Dióxido de cloro (ppm)	1	5	9

Fonte: Autoria própria (2020).

**Tabela 2.** Matriz dos ensaios do Planejamento Fatorial Completo ( $2^3$ ) com as variáveis independentes.

Ensaio	Variáveis		
	$x_1$	$x_2$	$x_3$
1	-1	-1	-1
2	1	-1	-1
3	-1	1	-1
4	1	1	-1
5	-1	-1	1
6	1	-1	1
7	-1	1	1
8	1	1	1
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0
C1	-	-	-
C2	1	1	-
C3	-	-	1

$x_1$ : Amplitude de frequência (%);  $x_2$ : Tempo (min);  $x_3$ : Dióxido de cloro (ppm); C1: sem aplicação de ultrassom e adição de  $\text{ClO}_2$ ; C2: somente aplicação de ultrassom e C3: somente adição de  $\text{ClO}_2$ .

Fonte: Autoria própria (2020)

Para análise de regressão, variância e superfície de respostas foi utilizado o *software STATISTICA 10.0* (Statsoft Inc. Tulsa, USA). A fórmula geral do modelo de superfície de resposta será expressa conforme a Equação 1.

$$\hat{y} = \beta_0 + \beta_1x_1 + \beta_2x_2 + \beta_3x_3 + \beta_{12}x_1x_2 + \beta_{13}x_1x_3 + e \quad \text{Equação 1}$$

sendo:

$\hat{y}$  = função-resposta

$x_1, x_2$  e  $x_3$  = variáveis codificadas

$\beta$ 's = coeficientes estimados pelo modelo de superfície de resposta

e = resíduo (erro experimental)

#### 4.4.2 Planejamento Fatorial Completo 2<sup>2</sup>

Com base nos resultados obtidos no PFC 2<sup>3</sup> realizado para *Salmonella Typhimurium* optou-se por realizar um PFC 2<sup>2</sup> com as variáveis tempo de sonicação e concentração de dióxido de cloro nos níveis de 1, 5 e 10 min de sonicação e 1, 9 e 17 ppm de dióxido de cloro, respectivamente. Considerando os resultados satisfatórios obtidos com o PFC 2<sup>2</sup> para a *Salmonella Typhimurium*, optou-se por repeti-lo para a *Escherichia coli*.

##### 4.4.2.1 Validação do modelo

Após estabelecida a melhor condição para a redução da *Salmonella Typhimurium* e *Escherichia coli* obtida no PFC 2<sup>2</sup> em água pura, foi feita a validação do modelo para ambos microrganismos utilizando água de *chiller*. A validação foi necessária para verificação dos dados significativos e repetição das análises em triplicata para cada ensaio selecionado. Posteriormente, foi realizada a ANOVA e teste de comparação de médias Tukey ( $p \leq 0,05$ ) em programa *STATISTICA 10.0* (Statsoft Inc. Tulsa, USA).

## 4.5 Aplicação do Ultrassom

Para realização dos ensaios as amostras contendo 100 mL de água estéril foram inoculadas com 1 mL da suspensão contendo microrganismos reativados e submetido ao tratamento ultrassônico (Elmasonic P 120H, Singen, Alemanha) de acordo com os PFCs apresentados anteriormente. As amostras foram sonicadas homogeneamente, seguindo as recomendações de Nascentes et al. (2001), que estabeleceu condições de otimização para a obtenção de máxima intensidade de cavitação em banhos de ultrassom. Por tanto, as variáveis de controle foram o volume e substituição da água no tanque do ultrassom, temperatura de exposição, a quantidade e disposição dos erlenmeyers a partir do fundo do tanque e o tempo de sonicação. As vidrarias utilizadas foram da mesma marca e volume.

Durante a aplicação do ultrassom, a temperatura da água foi mantida em 25 °C com adição de gelo/água gelada, quando necessário e a amplitude de frequência foi fixada em 40 kHz.

## 4.6 Métodos Analíticos

### 4.6.1 Determinação de Cloro Livre de ClO<sub>2</sub> em Água

Para verificar o teor de cloro livre presente no dióxido de cloro (ClO<sub>2</sub>) e nas amostras adicionadas de ClO<sub>2</sub> foi utilizado o Colorímetro Digital Cheker (HANNA, HI701-0, Rio de Janeiro, RJ). Neste método, o composto N,N-dietil-p-fenilendiamina (DPD) é usado como indicador onde a cor rosada característica que se desenvolve em águas que não contêm iodeto e indica a presença de cloro residual livre. O DPD é oxidado por cloro livre, resultando numa solução com uma intensidade de cor proporcional a concentração de cloro livre. A medida da concentração é realizada utilizando o colorímetro digital onde a absorção da solução resultante é medida por fotometria (HELBLING; VANDRIESEN, 2007).

### 4.6.2 Contagem de *Salmonella* Typhimurium e *Escherichia coli*

Alíquotas de 1 mL dos ensaios dos PFC e da curva de crescimento foram utilizados para efetuar a diluição 10<sup>-1</sup> e as diluições seriadas subsequentes

plaqueadas em profundidade em Ágar PCA adicionado de 0,015% de cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC) e incubadas invertidas a  $37 \pm 1$  °C por  $24 \pm 2$  h conforme Beloti et al. (1999). As contagens foram realizadas em duplicata e expressas pela média  $\pm$  desvio padrão em  $\log_{10}$  de UFC/g.

#### 4.6.3 Determinação de Proteínas e Lipídios na Água de *Chiller*

Conforme as carcaças entram e se movem pelo tanque de resfriamento *chiller*, liberam grandes quantidades de material orgânico na forma de sangue, gordura, proteína e outros na água, fatores que interferem na impermeabilidade das células microbiológicas (MUNTHE et al., 2015) e esse material é importante porque altera a composição química dessa água de resfriamento de carcaças de aves e afeta diretamente a contagem microbiana (RUSSEL, 2012). Para isso, a determinação de proteínas e lipídeos na água de *chiller* foi realizada conforme instruções da Instrução Normativa nº 20 de 21 de julho de 1999 (MAPA, 1999) e pela Norma Técnica Interna SABESP NTS 005 (DE ENSAIO; PAULO, 1997) respectivamente.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 PFC 2<sup>3</sup> para Redução Microbiana de *Salmonella* Typhimurium em Água Pura

Os resultados obtidos no PFC 2<sup>3</sup> para redução da contagem microbiana de *Salmonella* Typhimurium podem ser visualizados na Tabela 3.

**Tabela 3.** Matriz dos ensaios do PFC 2<sup>3</sup> com as variáveis independentes reais e codificadas e resposta para redução da contagem microbiana de *Salmonella* Typhimurium em água pura.

Ensaio	Variáveis			
	$x_1$	$x_2$	$x_3$	$y_1$
1	-1 (40)	-1 (5)	-1 (1)	7,14 ± 0,01
2	1 (100)	-1 (5)	-1 (1)	7,14 ± 0,04
3	-1 (40)	1 (15)	-1 (1)	7,21 ± 0,02
4	1 (100)	1 (15)	-1 (1)	7,16 ± 0,04
5	-1 (40)	-1 (5)	1 (9)	6,98 ± 0,01
6	1 (100)	-1 (5)	1 (9)	6,70 ± 0,04
7	-1 (40)	1 (15)	1 (9)	7,06 ± 0,07
8	1 (100)	1 (15)	1 (9)	7,03 ± 0,02
9	0 (70)	0 (10)	0 (5)	6,96 ± 0,08
10	0 (70)	0 (10)	0 (5)	7,12 ± 0,05
11	0 (70)	0 (10)	0 (5)	7,17 ± 0,03
C1	-	-	-	7,02 ± 0,00
C2	1 (100)	1 (15)	-	7,11 ± 0,12
C3	-	-	1 (9)	7,06 ± 0,10

$x_1$ : Amplitude de frequência (%);  $x_2$ : Tempo (min);  $x_3$ : Dióxido de cloro (ppm);  $y_1$ : *Salmonella* Typhimurium ( $\log_{10}$  UFC/g) C1: sem aplicação de ultrassom e adição de ClO<sub>2</sub>; C2: somente aplicação de ultrassom e C3: somente adição de ClO<sub>2</sub>.

Fonte: Autoria própria (2020).

Não foram observados efeitos significativos para nenhuma das variáveis (amplitude de frequência, tempo e concentração de ClO<sub>2</sub>) nas faixas estudadas ( $p < 0,05$ ) (Tabela 4). Para as variáveis amplitude de frequência, tempo de aplicação e concentração de ClO<sub>2</sub>, as respostas obtidas para a contagem de *Salmonella* Typhimurium em água apresentaram-se muito próximas e sem efeito na redução



deste microrganismo. De acordo com os resultados apresentados os ensaios 5 e 6 em que foi utilizado uma concentração maior de  $\text{ClO}_2$  apresentou pequena redução, mas não significativa, para a *Salmonella* Typhimurium em comparação aos controles. Em um estudo realizado por Kocharunchitt et al. (2020), os autores identificaram que uma concentração de 15 ppm de  $\text{ClO}_2$  utilizado na água de resfriamento de carcaças bovinas foi igualmente eficaz na redução de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. verificando assim a necessidade de realizar experimentos com concentração maior de  $\text{ClO}_2$ .

A revisão bibliográfica realizada por Chen et al. (2020) aborda inúmeras aplicações do ultrassom (30 kHz) na redução da contagem de microrganismos, como, na superfície de peixes sem afetar a qualidade sensorial, e ainda, relata o efeito sinérgico do ultrassom com desinfetantes químicos, como por exemplo o hipoclorito de sódio, em que a combinação dos métodos não apenas reduziu a concentração necessária de hipoclorito de sódio mas também melhorou a segurança alimentar de vegetais folhosos. Vale ressaltar que o excesso de cloretos pode produzir substâncias cancerígenas como trihalometanos, cloranfenicol, entre outros, desta forma, tecnologias que viabilizem o seu efeito em quantidades melhores são importantes para a segurança dos alimentos (COELHO et al., 2007).

A maioria dos estudos apresenta a aplicação do ultrassom em frequência mais baixas, porém não foi encontrado estudos que comparam a eficácia de diferentes faixas de frequência para a inibição de *Salmonella* em carne de frango e de acordo com apresentado na Tabela 4, o aumento da amplitude de frequência promoveu efeito negativo nos ensaios propostos.

Para o efeito apresentado pela variável tempo de ultrassom em que foi positiva, mas não significativa, deve-se considerar que um tempo de exposição ao ultrassom suficientemente longo pode aumentar a ruptura da parede celular bacteriana, porém um tempo de aplicação excessivamente prolongado pode ocasionar oxidação lipídica dos lipídios na amostra, e que isso pode vir a afetar a qualidade da água e conseqüentemente, a carne podendo ocasionar degradação nutricional, organolépticas e sensoriais do produto (ALENYOREGE et al., 2020).

**Tabela 4.** Estimativa dos efeitos do PFC 2<sup>3</sup> na redução da contagem microbiana de *Salmonella* Typhimurium em água pura.

Variável	Efeito	Erro padrão	t (3)	p-valor
Média	7,08	0,06	113,17	0,000*
Amplitude de frequência (x <sub>1</sub> )	-0,08	0,07	-1,14	0,334
Tempo de ultrassom (x <sub>2</sub> )	0,12	0,07	1,62	0,203
Concentração de ClO <sub>2</sub> (x <sub>3</sub> )	-0,22	0,07	-2,87	0,063
x <sub>1</sub> por x <sub>2</sub>	0,04	0,07	0,61	0,579
x <sub>1</sub> por x <sub>3</sub>	-0,06	0,07	-0,91	0,429
x <sub>2</sub> por x <sub>3</sub>	0,08	0,07	1,05	0,368

\* p < 0,05.

Fonte: Autoria própria (2020).

Na Tabela 5 pode-se visualizar a ANOVA do modelo com R<sup>2</sup> de 0,83, mostrando que a regressão não foi significativa, com um F<sub>calculado</sub> de 2,11 e um F<sub>tabelado</sub> de 8,88, concluindo que o modelo não é válido.

**Tabela 5.** ANOVA do modelo de PFC 2<sup>3</sup> com as três variáveis independentes para *Salmonella* Typhimurium.

	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média quadrática	F calculado	F tabelado	p-valor
Regressão	0,17364	7	0,02481	2,11	8,88	0,2899*
Resíduos	0,03528	3	0,01176			
Total	0,20892	10	0,02089			

\* p < 0,05.

Fonte: Autoria própria (2020).

## 5.2 PFC 2<sup>2</sup> para Redução Microbiana de *Salmonella* Typhimurium em Água Pura

As variáveis e níveis de variação estudados no PFC 2<sup>2</sup> foram definidos a partir dos resultados e efeitos obtidos no PFC 2<sup>3</sup>. No PFC 2<sup>3</sup> observou-se que a amplitude de frequência não favoreceu a redução da contagem da *Salmonella* Typhimurium. Desta forma, esta variável foi fixada em 40 kHz no PFC 2<sup>2</sup>. Diversos estudos empregando esta faixa de amplitude de frequência foram empregados, como Alenyorege et al. (2020) que aplicaram tratamento com ultrassom com frequência de 20 a 60 kHz e obtiveram maior redução na contagem de *Escherichia*

*coli* e *Listeria innocua* em repolho quando aplicado o ultrassom na frequência de 40 kHz, o mesmo foi relatado por Sienkiewicz et al. (2017) na redução da contagem de *Salmonella* Typhimurium em caldo líquido nutriente submetido às frequências de 20, 40 e 100 kHz, sendo a frequência de 40 kHz por 15 min a condição mais eficiente. Do Rosário et al. (2017) obtiveram a redução de 2,1 log<sub>10</sub> UFC/g de *Salmonella enterica* em morangos quando combinado um desinfetante e ultrassom (40 kHz por 5 min).

No PFC 2<sup>3</sup> ainda, como já citado, observou-se que o tempo de ultrassom apresentou efeito positivo, desta forma no PFC 2<sup>2</sup> esta variável foi estudada em níveis inferiores (1 a 9 min) e a concentração de ClO<sub>2</sub> não apresentou efeito significativo a 5% de significância, porém a 7% mostrou ter efeito negativo na redução da contagem de *Salmonella* Typhimurium, indicando que para o PFC 2<sup>2</sup> a concentração de ClO<sub>2</sub> poderia ser maior do que a utilizada no PFC 2<sup>3</sup>. Sendo assim no PFC 2<sup>2</sup>, apenas as variáveis independentes, tempo de sonicação e concentração de ClO<sub>2</sub> foram estudadas, e a temperatura da água do banho de ultrassom e da amostra foi mantida a 25 °C para todos os ensaios.

Os resultados obtidos para o PFC 2<sup>2</sup> com as variáveis independentes, tempo de sonicação e concentração de ClO<sub>2</sub> estão apresentados na Tabela 6.

**Tabela 6** - Matriz dos ensaios do PFC 2<sup>2</sup> com as variáveis independentes reais e codificadas e resposta para redução da contagem microbiana de *Salmonella* Typhimurium em água pura.

Ensaio	Variáveis		
	x <sub>1</sub>	x <sub>2</sub>	y <sub>1</sub>
1	- 1 (1)	-1 (1)	7,09 ± 0,03
2	1 (9)	-1 (1)	7,10 ± 0,02
3	-1 (1)	1 (17)	0,89 ± 1,26
4	1 (9)	1 (17)	3,12 ± 0,05
5	0 (5)	0 (9)	6,88 ± 0,05
6	0 (5)	0 (9)	7,01 ± 0,06
7	0 (5)	0 (9)	7,04 ± 0,06
C1	-	-	7,16 ± 0,00
C2	0 (5)	-	7,19 ± 0,14
C3	-	1 (17)	5,13 ± 0,07

x<sub>1</sub>: Tempo de sonicação (min); x<sub>2</sub>: Concentração de ClO<sub>2</sub> (ppm); y<sub>1</sub>: *Salmonella* Typhimurium (log<sub>10</sub> UFC/g) C1: sem aplicação de ultrassom e adição de ClO<sub>2</sub>; C2: somente aplicação de ultrassom e C3: somente adição de ClO<sub>2</sub>.

Fonte: Autoria própria (2020).

Os efeitos obtidos para o PFC 2<sup>2</sup> com as variáveis independentes estão apresentados na Tabela 7.

**Tabela 7.** Estimativa dos efeitos do PFC 2<sup>2</sup> na redução da contagem microbiana de *Salmonella* Typhimurium em água pura.

Variável	Efeito	Erro padrão	t (3)	p-valor
Média	4,55	0,04	105,22	0,0000*
Tempo de sonicação (x <sub>1</sub> )	1,12	0,09	12,97	0,0058*
Concentração de ClO <sub>2</sub> (x <sub>2</sub> )	-5,09	0,09	-58,85	0,0002*
x <sub>1</sub> por x <sub>2</sub>	1,10	0,09	12,81	0,0060*

\* p < 0,05.

Fonte: Autoria própria (2020).

As duas variáveis independentes apresentaram efeitos no crescimento de *Salmonella* Typhimurium, a variável tempo de sonicação (nível -1 para +1) contribuiu para um efeito positivo na contagem do patógeno, já a concentração de ClO<sub>2</sub> teve um efeito negativo indicando que ao aumentar a concentração de 1 a 17 ppm houve uma redução na contagem de *Salmonella* Typhimurium em média 5 log<sub>10</sub> UFC/g, indicando melhora na inativação do patógeno.

Os ensaios 3 e 4 apresentaram os melhores resultados para a redução de *Salmonella* Typhimurium, destacando o ensaio 3 com uma contagem do patógeno de 0,89 log<sub>10</sub> UFC/g, correspondente a uma redução na contagem das células de 88%, indicando que o melhor tratamento está relacionado ao nível inferior do tempo de sonicação (1 min) e ao nível superior da concentração de ClO<sub>2</sub> (17 ppm).

Entretanto, comparando C2 e C3 com C1, no primeiro caso, não foi observada significativa redução, mostrando que o ultrassom quando aplicado isoladamente não teve efeitos na inativação de *Salmonella* Typhimurium nas condições estudadas, além disso, comparando C3 com C1, apenas uma redução de 28% foi observada, reforçando que o ClO<sub>2</sub> teve um papel fundamental na inativação, mas atua mais eficaz na combinação com o ultrassom.

O ultrassom possui atividade de desestabilizar a membrana externa de bactérias gram-negativas. Essa desestabilização ocorre pelo processo de cavitação que provoca um dano físico e químico na parede celular da célula aumentando a atuação do desinfetante (FREITAS, 2017).

A ANOVA do modelo está apresentada na Tabela 8, com R<sup>2</sup> de 0,999 e R-ajustado de 0,998. A regressão foi significativa, com um F<sub>calculado</sub> de 1929,78 e um F<sub>tabelado</sub> de 9,12 (p = 0,0002), indicando que o modelo é válido com nível de confiança de 95%.

**Tabela 8** – ANOVA do modelo de PFC 2<sup>2</sup> com as duas variáveis independentes para *Salmonella* Typhimurium

	Soma	Graus de	Média	F	F	p-valor
	Quadrática	Liberdade	quadrática	calculado	tabelado	
Regressão	38,492760	3	9,62319	1929,78	9,12	0,000*
Resíduos	0,014960	3	0,00499			
Total	38,507720	6	5,5011			

\* p < 0,05

Fonte: Autoria própria (2020).

Considerando a análise de variância e a regressão significativa, um modelo matemático foi desenvolvido utilizando as variáveis independentes codificadas para a resposta significativa  $\hat{y}$ . A equação do modelo matemático representa a redução da contagem microbiana de *Salmonella* Typhimurium e as variáveis significativas como  $x_1$  tempo de sonicação,  $x_2$  concentração de ClO<sub>2</sub> e a interação entre  $x_1$  e  $x_2$ .

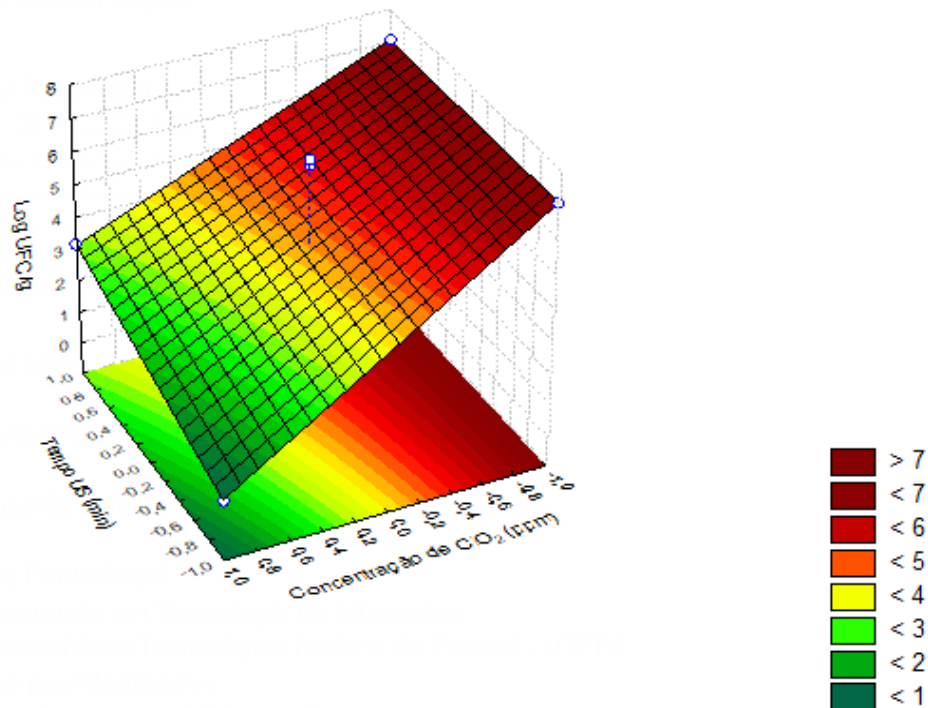
$$\hat{y} = 4,55 + 0,56x_1 - 2,54x_2 + 0,55x_1x_2 \quad \text{Equação 2}$$

O modelo sugere que uma menor exposição ao tempo do ultrassom e maior concentração de  $\text{ClO}_2$  na faixa estudada reduziram a contagem de células de *Salmonella* Typhimurium, melhorando a inativação do microrganismo. A exposição ao ultrassom pode ter efeito letal nos microrganismos por aumentar a permeabilidade da membrana celular devido ao efeito de sonoporação causado (OJHA et al., 2018); (IORIO et al., 2019). Por outro lado, se a aplicação do ultrassom for realizada por um período mais longo, ocorre a degradação do  $\text{ClO}_2$  causada pelo aumento da temperatura durante a cavitação, reduzindo o efeito antimicrobiano do  $\text{ClO}_2$ , conforme detalhado por Huang et al. (2018).

Acredita-se geralmente que a inativação de microrganismos por ultrassom é devido principalmente ao efeito de cavitação das ondas do ultrassom em solução em que produz alta temperatura e alta pressão que danificam diretamente a parede celular de bactérias, promovendo a decomposição de moléculas de água, gerando reação de radicais livres que por sua vez gera fortes propriedades oxidantes quebrando o DNA das células microbianas (WU et al., 2015; LI et al., 2018). Li et al. (2016) descreveram que o tratamento por ultrassom é como um método do tipo “tudo” ou “nada”, demonstrando que as células rompidas e desintegradas após a sonicação não pode ser rejuvenescida, fato que torna o ultrassom uma tecnologia distinta das demais tecnologias não térmicas.

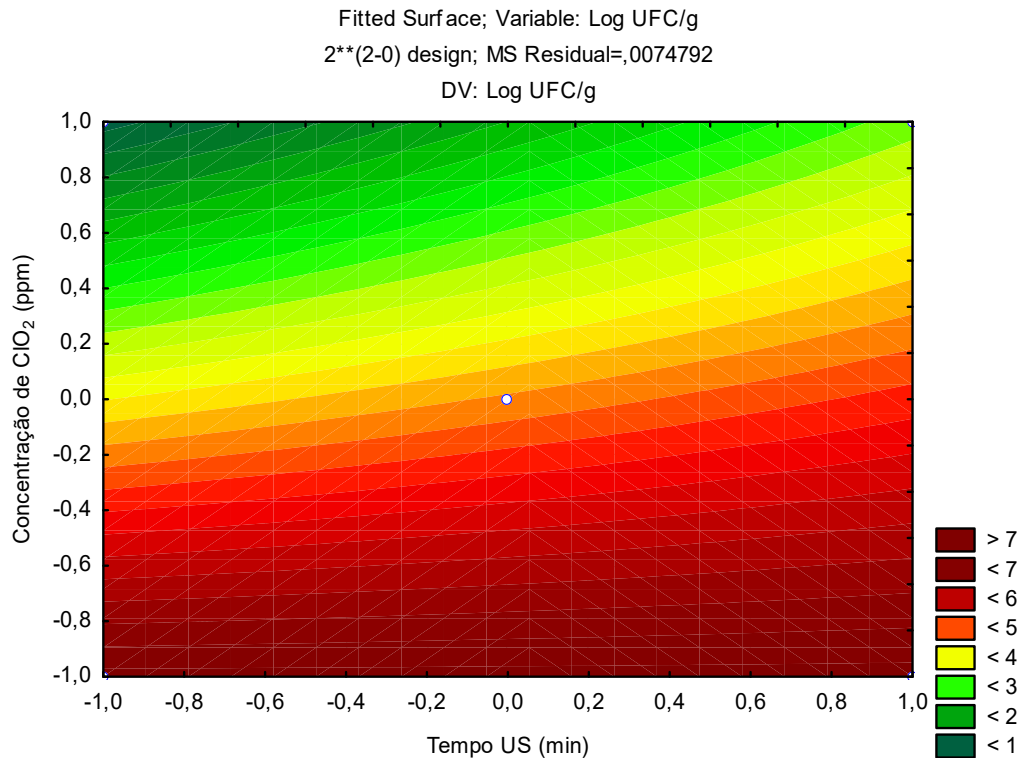
A superfície de resposta e a curva de contorno dos resultados obtidos estão apresentadas na Figura 4 e Figura 5.

**Figura 4.** Superfície de Resposta PFC 2<sup>2</sup> Empregado o Ultrassom Combinado com ClO<sub>2</sub> na redução da contagem microbiana de *Salmonella* Typhimurium.



Fonte: Autoria própria (2020).

**Figura 5.** Curva de Contorno PFC 2<sup>2</sup> Empregado o Ultrassom Combinado com ClO<sub>2</sub> na redução da contagem microbiana de *Salmonella* Typhimurium..



Fonte: Autoria própria (2020).

### 5.3 PFC 2<sup>2</sup> para Redução Microbiana de *Escherichia coli* em Água Pura

Este planejamento foi realizado de forma semelhante ao desenvolvido no PFC 2<sup>2</sup> para a redução de *Salmonella* Typhimurium. Os resultados obtidos para a contagem de *Escherichia coli* estão descritos na Tabela 9.

**Tabela 9** - Matriz dos ensaios do PFC 2<sup>2</sup> com as variáveis independentes reais e codificadas e resposta para redução da contagem microbiana de *Escherichia coli* em água pura.

Ensaio	Variáveis		
	$x_1$	$x_2$	$y_1$
1	- 1 (1)	-1 (1)	6,99 ± 0,06
2	1 (9)	-1 (1)	6,88 ± 0,05
3	-1 (1)	1 (17)	5,38 ± 0,00
4	1 (9)	1 (17)	4,50 ± 0,06
5	0 (5)	0 (9)	6,58 ± 0,09
6	0 (5)	0 (9)	6,66 ± 0,13
7	0 (5)	0 (9)	7,01 ± 0,02
C1	-	-	7,00 ± 0,06
C2	0 (5)	-	6,84 ± 0,06
C3	-	1 (17)	5,50 ± 0,08

$x_1$ : Tempo de sonicação (min);  $x_2$ : Concentração de ClO<sub>2</sub> (ppm);  $y_1$ : *Escherichia coli* (log<sub>10</sub> UFC/g) C1: sem aplicação de ultrassom e adição de ClO<sub>2</sub>; C2: somente aplicação de ultrassom e C3: somente adição de ClO<sub>2</sub>.

Fonte: Autoria própria (2020).

Na Tabela 10 pode-se visualizar os efeitos para o PFC 2<sup>2</sup>. A contagem de *Escherichia coli* variou de 7,01 a 4,50 log<sub>10</sub> UFC/g e o efeito do modelo foi positivo ( $p < 0,05$ ) indicando que um aumento nas variáveis reduz a inativação de *Escherichia coli*. As variáveis tempo de sonicação e a interação entre as duas variáveis, embora tenham efeitos negativos, não foram significativos na resposta estudada ( $p > 0,05$ ), por outro lado, a variável concentração de ClO<sub>2</sub> teve um efeito negativo e significativo ( $p < 0,05$ ) na contagem do microrganismo, indicando que seu aumento melhorou a inativação de *Escherichia coli*. Nesse contexto, os ensaios 4 e 3 com maior concentração de ClO<sub>2</sub> demonstraram as melhores condições para inativar o microrganismo estudado. Comparando os ensaios 4 e 3 com o C1, foi alcançada uma redução na contagem de células de 36% e 23% respectivamente. Porém,



comparando C2 e C3 com C1, no primeiro caso foi observada uma redução de 2%, mostrando que o ultrassom isoladamente praticamente não teve efeito na inativação de *Escherichia coli*, já no segundo caso, foi observada uma redução de 21%, reforçando o fato do ClO<sub>2</sub> ter um papel fundamental na inativação de *Escherichia coli*.

Um estudo realizado por Ofori et al. (2017) menciona que o efeito do ClO<sub>2</sub> na membrana celular externa das bactérias gram-negativas, como a *Salmonella* Typhimurium e a *Escherichia coli* é indicada pela penetração de ClO<sub>2</sub> na membrana citoplasmática e subsequentemente causando a degradação e inativação da enzima b-D-galactosidade intracelular, levando eventualmente a inibição da reação de hidrólise. O ClO<sub>2</sub> foi observado por desnaturar os constituintes críticos das proteínas pela modificação oxidativa dos resíduos de tirosina e triptofano e que foi sugerida como a causa da inativação em microorganismos, já as bactérias gram-positivas como a *Listeria monocytogenes* são mais resistentes a ação de compostos a base de cloro, pois possui uma camada mais espessa, composta quase que completamente por peptidoglicano, responsável pela manutenção da célula e sua rigidez.

**Tabela 10** – Estimativa dos efeitos do PFC 2<sup>2</sup> na redução da contagem microbiana de *Escherichia coli* em água pura.

Variável	Efeito	Erro padrão	t (2)	p-valor
Média	5,94	0,11	51,92	0,0003*
Tempo de sonicação (x <sub>1</sub> )	- 0,25	0,11	- 2,16	0,1628
Concentração de ClO <sub>2</sub> (x <sub>2</sub> )	- 0,99	0,11	- 8,72	0,0128*
x <sub>1</sub> por x <sub>2</sub>	- 0,19	0,11	- 1,68	0,2343

\* p < 0,05.

Fonte: Autoria própria (2020).

A Tabela 11 apresenta a ANOVA do modelo (R<sup>2</sup> 0,981; R-ajustado 0,944). A regressão foi significativa, com um F<sub>calculado</sub> de 26,31 e um F<sub>tabelado</sub> de 19,25 (p = 0,0369), indicando que o modelo é válido. O modelo sugere que um maior tempo de exposição ao ultrassom e maior concentração de ClO<sub>2</sub> na faixa estudada reduziram a contagem de células de *Escherichia coli*, melhorando a inativação do microrganismo.

**Tabela 11** – ANOVA do modelo de PFC 2<sup>2</sup> com as duas variáveis independentes.

	Soma	Graus de	Média	F	F	p-valor
	Quadrática	Liberdade	quadrática	calculado	tabelado	
Regressão	5,50497	4	1,37624	26,314395	19,246794	0,0369*
Resíduos	0,10460	2	0,0523			
Total	5,60957	6	0,93493			

\* p &lt; 0,05

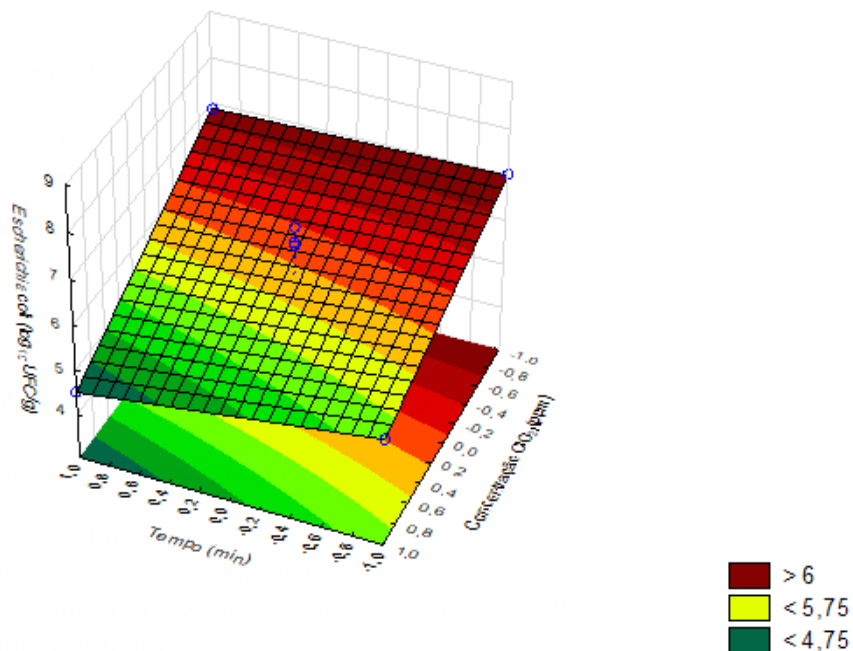
Fonte: Autoria própria (2020).

Considerando a análise de variância e a regressão significativa, um modelo matemático foi desenvolvido utilizando as variáveis independentes codificadas para a resposta significativa  $\hat{y}$ . A equação do modelo matemático representa a redução da contagem microbiana de *Escherichia coli* com a variável independente significativa  $x_2$  (concentração de ClO<sub>2</sub>). Os parâmetros estatisticamente não significativos foram eliminados do modelo e adicionado aos resíduos.

$$\hat{y} = 5,94 - 0,99x_2$$

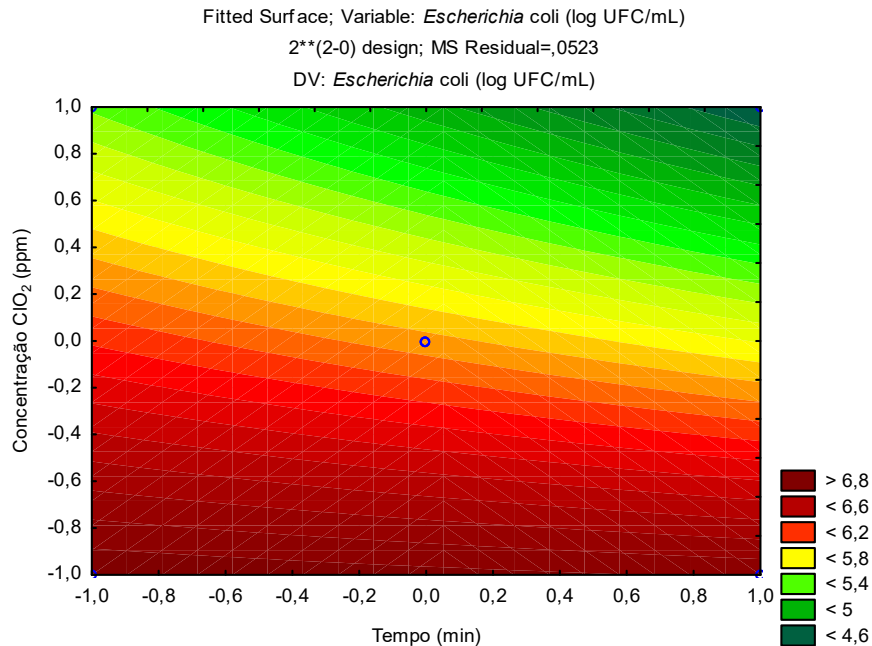
Equação 3

A partir dos resultados, foi possível construir a superfície de resposta e a curva de contorno apresentadas na Figura 6 e Figura 7.

**Figura 6** – Superfície de resposta do PFC 2<sup>2</sup> empregado ultrassom combinado com ClO<sub>2</sub> na redução da contagem microbiana de *Escherichia coli*.

Fonte: Autoria própria (2020).

**Figura 7** – Curva de contorno do PFC 2<sup>2</sup> empregado ultrassom combinado com ClO<sub>2</sub> na redução da contagem microbiana de *Escherichia coli*.



Fonte: Autoria própria (2020).

Para *Escherichia coli*, a combinação de exposição ao ultrassom e a ação de ClO<sub>2</sub> foi menos eficaz se comparada com *Salmonella* Typhimurium. No entanto, para os dois microrganismos estudados, os resultados são semelhantes: o tempo de exposição ao ultrassom teve um efeito negativo para *Salmonella* e nenhum efeito para *Escherichia coli*, indicando uma vantagem do uso de 1 min para o tempo de sonicação, além disso, o uso de ClO<sub>2</sub> na concentração de 17 ppm foi a melhor escolha na faixa estudada para ambos os microrganismos.

O ClO<sub>2</sub> é um forte agente oxidante altamente reativo e é rapidamente reduzido a clorito e clorato na água (BUNCIC; SOFOS, 2012). A exposição ao ultrassom acelera a velocidade da reação, portanto, maiores tempos de exposição ao ultrassom levam a uma maior degradação do composto químico, reduzindo o conteúdo de ClO<sub>2</sub> disponível no meio, reduzindo sua eficiência de inativação de microrganismos (HOLSCHBACH; PEEK, 2018). Além disso, tratamento prolongado com ultrassom pode não ser adequado para aplicação na indústria de alimentos à medida que a qualidade sensorial do produto pode ser afetada e a esterilização pode ser ineficiente (PARK; HA, 2019). Assim, o tratamento com ultrassom durante 1 min seria suficiente para aumentar a permeabilidade das células bacterianas sem causar degradação significativa de ClO<sub>2</sub> a ponto de diminuir sua eficiência. Desta

forma, a validação do modelo com água do tanque de resfriamento, foi realizada com 1 minuto de exposição ao ultrassom.

#### **5.4 Concentração de ClO<sub>2</sub> em Água de Chiller**

Considerando que a água destilada ao ser adicionada de 17 ppm de ClO<sub>2</sub> apresentou um teor de cloro livre de 2,34 ppm, optou-se por validar o modelo utilizando a mesma concentração de cloro livre na água de *chiller*. A água do tanque de resfriamento usada na validação dos modelos obtidos para a inativação de *Salmonella Typhimurium* e *Escherichia coli* continha 0,196 ± 0,008% de proteínas e 0,013 ± 0,001% de lipídios. Devido à presença de matéria orgânica, o ClO<sub>2</sub> sofre uma degradação, justificando um ajuste da concentração de ClO<sub>2</sub> para obter a mesma concentração de cloro livre. Nesse aspecto, o teste realizado com água do tanque de resfriamento teve a adição de ClO<sub>2</sub> melhorada de 17 ppm (água destilada) para 30 ppm, garantindo uma concentração final de cloro livre de 2,38 ppm, similar a obtida pela adição de 17 ppm de água destilada.

#### **5.5 Validação do Modelo do PFC 2<sup>2</sup> para Redução da Contagem Microbiana de *Salmonella Typhimurium* e *Escherichia coli***

A Tabela 12 apresenta os resultados obtidos na validação do modelo PFC 2<sup>2</sup> para a inativação de *Salmonella Typhimurium* e *Escherichia coli* em água de resfriamento a 4, 16 e 25 °C. Comparando os ensaios 1, 2 e 3 para ambos os microrganismos estudados, observou-se que, em temperatura mais baixas, o tempo de exposição ao ultrassom e a adição de ClO<sub>2</sub> apresentaram maior efeito na inativação dos microrganismos. O mesmo foi relatado por Neto et al. (2019) que avaliaram o efeito do ultrassom (26 kHz) em folhas de alface submetido a temperaturas de 5, 10 e 15 °C para a inativação de *Salmonella Typhimurium* onde foi observada maior redução na contagem do patógeno a 5 °C mostrando que eficiência antimicrobiana do tratamento com ultrassom diminui à medida em que a temperatura aumenta.

**Tabela 12** – Validação do modelo PFC 2<sup>2</sup> para a redução da contagem microbiana de *Salmonella Typhimurium* e *Escherichia coli* em água de tanque de resfriamento.

<b>Variáveis</b>					
<b>Ensaio</b>	Tempo de sonicação (min)	ClO <sub>2</sub> (ppm)	Temperatura da água do ultrassom (°C)	<i>Salmonella</i> Typhimurium (log <sub>10</sub> UFC/g)	<i>Escherichia</i> <i>coli</i> (log <sub>10</sub> UFC/g)
1	1	30	4	< 1,0 ± 0,00 <sup>b</sup>	2,58 ± 0,06 <sup>a</sup>
2	1	30	16	2,56 ± 0,06 <sup>c</sup>	3,83 ± 0,05 <sup>b</sup>
3	1	30	25	3,81 ± 0,03 <sup>d</sup>	5,27 ± 0,07 <sup>c</sup>
C1	-	-	-	7,50 ± 0,16 <sup>a</sup>	7,61 ± 0,08 <sup>d</sup>
C2	-	30	-	3,07 ± 0,09 <sup>e</sup>	2,96 ± 0,03 <sup>e</sup>
C3	1	-	25	7,61 ± 0,06 <sup>a</sup>	6,94 ± 0,08 <sup>f</sup>

Médias na mesma coluna seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

C: Controle.

Fonte: Autoria própria (2020).

Considerando os ensaios 3 e C1, que apresentaram diminuição de 49% e 31% para *Salmonella Typhimurium* e *Escherichia coli*, respectivamente. Além disso, comparando C3 e C2 com C1, no primeiro caso não foi observada redução para *Salmonella Typhimurium* e uma leve redução (9%) da contagem da *Escherichia coli*, mostrando que o ultrassom isoladamente não teve efeitos para ambos os microrganismos. No segundo caso, uma redução de 59% e 61% foi observada para *Salmonella Typhimurium* e *Escherichia coli*, respectivamente. Isso reforça o potencial antimicrobiano do ClO<sub>2</sub> na inativação dos microrganismos estudados.

A validação do modelo realizada em 3 temperaturas diferentes indicou que em temperaturas mais baixas (4 e 16 °C) os resultados obtidos com a água do tanque de resfriamento foram satisfatórios, vale ressaltar que ambas as temperaturas estão de acordo com estabelecido pela Portaria nº 74 de 07 de maio de 2019 (BRASIL, 2019).

Considerando as condições do tanque de resfriamento (4 °C), foi alcançada uma redução de 100% de *Salmonella Typhimurium* e uma redução de 66% de *Escherichia coli*, no pré-resfriamento (16 °C), a redução foi de 66% e 48%, respectivamente, melhorando as condições sanitárias das plantas de processamento de carne de aves.

## 6. CONCLUSÃO

O uso combinado de  $\text{ClO}_2$  (30 ppm em água de *chiller*) com a tecnologia do ultrassom (40 kHz; 1 min) foram capazes de inativar a *Salmonella* Typhimurium, já para a *Escherichia coli*, o  $\text{ClO}_2$  isoladamente foi suficiente para redução do patógeno em níveis consideráveis. Para a água destilada e água do tanque de resfriamento, a concentração de  $\text{ClO}_2$  necessária foi de 17 ppm e 30 ppm, respectivamente, justificada pela presença de matéria orgânica na água do tanque de resfriamento. Além disso, em ambos os casos a concentração de cloro livre foi de 2,38 ppm, estando em conformidade com as orientações internacionais para resíduos de  $\text{ClO}_2$ . No entanto, em temperaturas mais baixas (16 °C e 4 °C) do banho de ultrassom, reconhecidas como condições operacionais pra o resfriamento das carcaças de aves, a combinação da tecnologia de ultrassom associada ao  $\text{ClO}_2$  foi mais acentuada, com reduções de até 100%.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABPA. Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório Anual 2019**, p. 176. 2019. Disponível em <<http://abpa-br.com.br/storage/files/relatorio-anual-2019.pdf>> Acesso em 02 de julho de 2020.
- AKBAS, M. Y., ÖLMEZ, H., Effectiveness of organic acid, ozonated water and chlorine dippings on microbial reduction and storage quality of fresh-cut iceberg lettuce. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, n. 14, p. 2609-2616, 2007.
- ALARCON-ROJO, A. D., JANACUA, H., RODRIGUEZ, J. C., PANIWNKY, L., MASON, T. J., Power ultrasound in meat processing. **Meat Science**, v. 107, p.86-93, 2015.
- AL-HILPHY, A. R., AL-TEMIMI, A. B., HADI, H., A. L., M., ANAND, U., DELGADO-PANDO, G. Ultrasound applications in poultry meat processing: A systematic review. **Journal of Food Science**, v. 85, n. 5, p. 1386-1396, 2020
- ALENYOREGE, E. A., MA, H., AHETO, J. H., AYIM, I., CHIKARI, F., OSAE, R., ZHOU, C. Response surface methodology centred optimization of mono-frequency ultrasound reduction of bacteria in fresh-cut Chinese cabbage and its effect on quality. **LWT**, v. 122, p. 108991, 2020
- ARRUDA, M. A. Z., NASCENTES, C. C., KORN, M., SOUSA, C. S. Use of ultrasonic baths for analytical applications: A new approach for optimisation conditions. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 12, p. 57–63, 2001.
- ASLAM, M., TOUFEER, M., BRAVO, C. N., LAI, V., REMPEL, H., MANGES, A., DIARRA, M. S. (2014). Characterization of Extraintestinal Pathogenic Escherichia coli isolated from retail poultry meats from Alberta, Canada. **International Journal of Food Microbiology**, 177, 49–56.
- AVILA, Z. S. O Mundo do Frango - A Vitoriosa Trajetória da Avicultura. Editado por Rubison Olivo, Florianópolis, SC, 2006.
- BARTENFELD, L. N., FLETCHER, D. L., NORTH CUTT, J. K., BOURASSA, D. V., COX, N. A., BUHR, R. J. The effect of high-level chlorine carcass drench on the recovery of *Salmonella* and enumeration of bacteria from broiler carcasses. **Poultry Science**, v. 93, p. 2893–2899. 2014.
- BELLUCO, S., BARCO, L., ROCCATO, A., RICCI, A. *Escherichia coli* and enterobacteriaceae counts on poultry carcasses along the slaughter line : A systematic review and meta-analysis. **Food Control**, v. 60, p. 269–280. 2016.
- BELOTI, V., BARROS, M. A. F., DE FREITAS, J. C., NERO, L. A., DE SOUZA, J. A., SANTANA, E. H. W., FRANCO, B. D. G. M. Frequency of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) non-reducing bacteria in pasteurized milk. **Revista de Microbiologia**, v. 30, p. 137–140. 1999.

BI, X., WANG, X., CHEN, Y., CHEN, L., XING, Y., CHE, Z. Ultrasonics - Sonochemistry Effects of combination treatments of lysozyme and high power ultrasound on the *Salmonella* Typhimurium inactivation and quality of liquid whole egg. **Ultrasonics - Sonochemistry**, v. 60. 2020.

BILEK, S. E., TURANTAŞ, F., Decontamination efficiency of high power ultrasound in the fruit and vegetable industry, a review. **International journal of food microbiology**, v. 166, n. 1, p. 155-162, 2013.

BILGILI, S. F., WALDROUP, A. L., ZELENKA, D., MARION, J. E. Visible ingesta on prechill carcasses does not affect the microbiological quality of broiler carcasses after immersion chilling. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 11, p. 233–238. 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 210 de 10 de novembro de 1998. Regulamento técnico de inspeção tecnológica e higiênico sanitária de carne de aves. **Diário Oficial Da União**. 1998.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 62 de 10 de maio de 2018. Regulamento Técnico de Manejo Pré-abate e Abate Humanitário. **Diário Oficial Da União**. 2018.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 74 de 07 de maio de 2019. Regulamento técnico de inspeção tecnológica e higiênico sanitária de carne de aves. **Diário Oficial Da União**. 2019.

BUNCIC, S., SOFOS, J. Interventions to control Salmonella contamination during poultry, cattle and pig slaughter. **Food Research International**, v.45, p. 641–655. 2012.

CARRASCO, E.; MORALES-RUEDA, A.; GARCÍA-GIMENO, R. M. Cross-contamination and recontamination by *Salmonella* in foods: A review. **Food Research International**, v. 45, p. 545–556. 2012.

CHEN, F., ZHANG, M., YANG, CHAO-HUI., Aplicação da tecnologia de ultrassom no processamento de alimentos frescos prontos para consumo: uma revisão. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 63, p. 104953, 2020.

CHINIVASAGAM, H. N.; ESTELLA, W.; RODRIGUES, H.; MAYER, D. G.; WEYAND, C.; TRAN, T.; DIALLO, I. On-farm *Campylobacter* and *Escherichia coli* in commercial broiler chickens: Re-used bedding does not influence *Campylobacter* emergence and levels across sequential farming cycles. **Poultry Science**, v. 95, p. 1105-1115, 2016.

CISCO, I. C., TEDESCO, D., PERDONCINI, G., SANTOS, S. P., RODRIGUES, L. B., SANTOS, L. R. *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli* em carcaças de frango resfriadas e congeladas. **Ciência Animal Brasileira**, v. 18, p. 1–6. 2017.

DE CARVALHO, R. V., DE SÃO JOSÉ, J. F. B., OLIVEIRA, S. B. S., CARNEIRO, J. C. S., BERNARDES, P. C., DO ROSÁRIO, D. K. A., DA SILVA, M. Y., Ultrasound improves chemical reduction of natural contaminant microbiota and *Salmonella enterica* subsp. *enterica* on strawberries. **International Journal of Food**



**Microbiology**, v. 241, p. 23–29. 2016.

DE ENSAIO, M.; Paulo, S. Óleos e Graxas. **Norma Técnica Interna SABESP NTS 005** 1997.

DO ROSÁRIO, D. K. A., DA SILVA MUTZ, Y., PEIXOTO, J. M. C., OLIVEIRA, S. B. S., DE CARVALHO, R. V., CARNEIRO, J. C. S., e BERNARDES, P. C. Ultrasound improves chemical reduction of natural contaminant microbiota and *Salmonella enterica* subsp. *enterica* on strawberries. **International Journal of Food Microbiology**, v. 241, p. 23-29, 2017.

DUAN, D., WANG, H., XUE S., LI, M., XU, X., Application of disinfectant sprays after chilling to reduce the initial microbial load and extend the shelf-life of chilled chicken carcasses. **Food Control**, v. 75, p. 70–77. 2017.

EL-SAWAH, A. A., DAHSHAN, A. H. M., EL-NAHASS, E. S., EL-MAWGOUD, A. I. A. Pathogenicity of *Escherichia coli* O157 in commercial broiler chickens. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 7, p. 620–625. 2018

ELLIS-IVERSEN, J., GANTZHORN, M. R., BORCK HOG, B., FODDAI, A., NAUTA, M. The ability to detect campylobacter presence and concentration using different chicken carcass samples. **Food Control**, v. 115, p. 107294. 2020.

ELVIRA, L., DURÁN, C. M., URRÉJOLA, J., MONTERO DE ESPINOSA, F. R. Detection of microbial contamination in fruit juices using non-invasive ultrasound. **Food Control**, v. 40, p. 145–150. 2014.

EMBRAPA., Qualidade da carne de aves. 2018. Disponível em <<https://www.embrapa.br/qualidade-da-carne/carne-de-aves>> Acesso em: 10 junho de 2019.

ERSUS, S., TURANTA, F. Decontamination efficiency of high power ultrasound in the fruit and vegetable industry: A review, **International Journal of Food Microbiology**, v. 166, p. 155–162. 2013.

FERNANDA, M., BURBARELLI, D. C., POLYCARPO, V., LELIS, K. D., GRANGHELLI, C. A., CAR, A. C., ALBUQUERQUE, R. Cleaning and disinfection programs against *Campylobacter jejuni* for broiler chickens: productive performance, **Microbiological Assessment**, p. 3188–3198. 2018

FEYE, K. M., THOMPSON, D. R., ROTHROCK, M. J., KOGUT, M. H., RICKE, S. C. Poultry processing and the application of microbiome mapping. **Poultry Science**, v. 99, p. 678–688. 2020.

FILHO, V. J. R. G., DE CASTRO TEIXEIRA, R. S., DE SOUZA LOPES, E., DE ALBUQUERQUE, Á. H., LIMA, S. V. G., HORN, R. V. CARDOSO, W. M. Pesquisa de *Salmonella* spp. em galinhas criadas em fundo de quintal (*Gallus gallus domesticus*) e ovos comercializados nas feiras livres na cidade de Fortaleza, Ceará. **Ciências Agrárias**, v. 35, p. 1855–1864. 2014.

FLORES, D. R. M., BRASIL, C. C. B., CAMPAGNOL, P. C. B., JACOB-LOPES, E., ZEPKA, L. Q., WAGNER, R., CICHOSKI, A. J. Application of ultrasound in chicken breast during chilling by immersion promotes a fast and uniform cooling. **Food Research International**, v. 109, p. 59–64. 2018.

FREITAS, J., SÃO, B. DE, JOSÉ, N., ANDRADE, D., MOTA, A., CRISTINA, M., CHAVES, P., Decontamination by ultrasound application in fresh fruits and vegetables. **Food Control**, v. 45, p. 36–50. 2014.

FREITAS, L. L. Inativação de *Shigella flexneri* pela associação de nisina e ultrassom. 2017. Disponível em <  
<https://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/21428/texto%20completo.pdf?sequence=1&isAllowed=y>> Acesso em: 30 de março de 2020.

FRIES, G., Avaliação da perda de água em carcaças de frango por dripping teste em um frigorífico do vale do taquari. *Phys. Rev.* 47, p. 777-780. 2017.

HELBLING, D. E., VANBRIESEN, J. M., Free chlorine demand and cell survival of microbial suspensions. **Water Research**, v. 41, p. 4424–4434. 2007

HIGGINS, J. P., HIGGINS, S. E., GUENTHER, K. L., HUFF, W., DONOGHUE, A. M., DONOGHUE, D. J., HARGIS, B. M., Use of a specific bacteriophage treatment to reduce *Salmonella* in poultry products. **Poultry Science**, v. 84, p. 1141–1145. 2005

HOLSCHBACH, C. L., PEEK, S. F. *Salmonella* in Dairy Cattle. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, v. 34, p. 133–154. 2018.

HUANG, K., WRENN, S., TIKEKAR, R., NITIN, N., Efficacy of decontamination and a reduced risk of cross-contamination during ultrasound-assisted washing of fresh produce. **Journal of Food Engineering**, v. 224, p. 95–104. 2018.

IANNETTI, L., NERI, D., SANTARELLI, G. A., COTTURONE, G., PODALIRI VULPIANI, M., SALINI, R., MESSORI, S., Animal welfare and microbiological safety of poultry meat: Impact of different at-farm animal welfare levels on at-slaughterhouse *Campylobacter* and *Salmonella* contamination. **Food Control**, v. 109. 2020.

ICMSF - International Commission on Microbiological Specifications for Foods. **Guia Simplificado para a Compreensão e Uso de Objetivos de Inocuidade de Alimentos e Objetivos de Desempenho**, p. 1–15. 2006.

IORIO, M. C., BEVILACQUA, A., CORBO, M. R., CAMPANIELLO, D., SINIGAGLIA, M., ALTIERI, C., A case study on the use of ultrasound for the inhibition of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in almond milk. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 52, p. 477–483. 2019.

JAMES, C., VINCENT, C., LIMA, T. I. D. A., JAMES, S. J., The primary chilling of poultry carcasses: a review. **International Journal of Refrigeration**, v. 29, n. 6, p. 847-862, 2006.

JEONG, J. Y., JANARDHANAN, K. K., BOOREN, A. M., KARCHER, D. M., KANG, I., Moisture content, processing yield, and surface color of broiler carcasses chilled by water, air, or evaporative air. **Poultry Science**, v. 90, n. 3, p. 687-693, 2011

KHANDPUR, P., GOGATE, P. R., Evaluation of ultrasound based sterilization approaches in terms of shelf life and quality parameters of fruit and vegetable juices. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 29, p. 337-353, 2016.

KIM, S. A., PARK, S. H., LEE, S. I., OWENS, C. M., RICKE, S. C. Assessment of chicken carcass microbiome responses during processing in the presence of commercial antimicrobials using a next generation sequencing approach. **Scientific Reports**. 2017.

KOCHARUNCHITT, C., MELLEFONT, L., BOWMAN, J. P., ROSS, T. Application of chlorine dioxide and peroxyacetic acid during spray chilling as a potential antimicrobial intervention for beef carcasses. **Food Microbiology**, v. 87, p. 103355, 2020.

KURE, C. F., AXELSSON, L., CARLEHÖG, M., MÅGE, I., JENSEN, M. R., HOLCK, A. The effects of a pilot-scale steam decontamination system on the hygiene and sensory quality of chicken carcasses. **Food Control**, v. 109, p. 106948. 2020.

LIAO, X., LI, J., SUO, Y., CHEN, S., YE, X., LIU, D., DING, T. Multiple action sites of ultrasound on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Food Science and Human Wellness**, v. 7, n. 1, p. 102-109, 2018.

LI, J., CHEN, S., SUO, Y., DING, T., LIAO, X., YE, X., LIU, D., Multiple action sites of ultrasound on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Food Science and Human Wellness**, v. 7, p. 102–109. 2018

LI, J., AHN, J., LIU, D., CHEN, S., YE, X., DING, T. Evaluation of ultrasound-induced damage to *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* by flow cytometry and transmission electron microscopy. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 82, n. 6, p. 1828-1837, 2016

LI, Y.; PEI, X.; ZHANG, X.; WU, L.; LIU, Y.; ZHOU, H.; YANG, D. A surveillance of microbiological contamination on raw poultry meat at retail markets in China. **Food Control**, v. 104, p. 99–104. 2019.

LIN, C. H., HUANG, J. F., SUN, Y. F., ADAMS, P. J., LIN, J. H., ROBERTSON, I. D. Detection of chicken carcasses contaminated with *Salmonella* enterica serovar in the abattoir environment of Taiwan. **International Journal of Food Microbiology**, v. 325, p. 108640. 2020.

LORENZETTI, E., PUTON, B. M. S., FERNANDES, I. A., DO PRADO, N. V., FRIGOTTO, R., ROMAN, S. S., VALDUGA, E. Water absorption and dripping of chicken breast and carcasses during pre-cooling in an industrial system. **Poultry Science**, v.97, p. 4462–4469. 2018.

LORENZETTI, E., PUTON, B. M. S., STEFFENS, J., JUNGES, A., PAROUL, N., BACKES, G. T., CANSIAN, R. L., Water absorption process capability analysis by

chicken carcasses during precooling. **Food Science and Technology**, v.39, p. 850–854. 2019.

LORETZ, M., STEPHAN, R., ZWEIFEL, C., Antimicrobial activity of decontamination treatments for poultry carcasses: A literature survey. **Food Control**, v. 21, p. 791–804. 2010.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento **Programa de prevenção e controle de absorção de água em carcaças de frango**. Brasília, 2014. Disponível em: <<http://slideplayer.com.br/slide/340734/>>. Acesso em: 09 nov. 2017.

MASTROGIACOMO. V., Pré-resfriamento. O Mundo do Frango. Criciúma. Cap. 19, p. 232-237. 2006.

MCCARTHY, Z., SMITH, B., FAZIL, A., WU, J., RYAN, S. D., MUNTHNER, D., Individual based modeling and analysis of pathogen levels in poultry chilling process. **Mathematical Biosciences**, v. 294, p. 172–180. 2017.

MEIRELES, A., GIAOURIS, E., SIMÕES, M., Métodos alternativos de desinfecção do cloro para uso na indústria de corte fresco. **Food Research International**, v. 82, p. 71-85. 2016.

MENDONÇA, E. P., Características de virulência, resistência e diversidade genética de sorovares de *Salmonella* com impacto na saúde pública, isolados de frangos de corte no Brasil. 2016

MILICEVIC, D., TRBOVIC, D., PETROVIC, Z., JAKOVAC-STRAJN, B., NASTASIJEVIC, I., KORICANAC, V., Physicochemical and Functional Properties of Chicken Meat. **Procedia Food Science**, v. 5, p. 191–194. 2015.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Manual Técnico de Diagnóstico Laboratorial da *Salmonella* spp. Brasília, 2011.

MUKHOPADHYAY, S., RAMASWAMY, R., Application of emerging technologies to control *Salmonella* in foods: A review. **Food Research International**, v. 45, p. 666–677. 2012.

MUNTHNER, D., SUN, X., XIAO, Y., TANG, S., SHIMOZAKO, H., WU, J., FAZIL, A., Modeling cross-contamination during poultry processing: Dynamics in the chiller tank. **Food Control**, 59, 271–281. 2015.

NAGEL, G. M., BAUERMEISTER, L. J., BRATCHER, C. L., SINGH, M., MCKEE, S. R., *Salmonella* and *Campylobacter* reduction and quality characteristics of poultry carcasses treated with various antimicrobials in a post-chill immersion tank. **International Journal of Food Microbiology**, v. 165, p. 281–286. 2013.

NASCENTES, C. C., KORN, M., SOUSA, C. S., ARRUDA, M. A. Use of ultrasonic baths for analytical applications: a new approach for optimisation conditions. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 12, n. 1, p.57-63, 2001.

NETO, L., MILLAN-SANGO, D., BRINCAT, J. P., CUNHA, L. M., VALDRAMIDIS, V. P. Impact of ultrasound decontamination on the microbial and sensory quality of fresh produce. **Food Control**, v. 104, p. 262-268, 2019.

NORTHCUTT, J. K., SMITH, D., HUEZO, R. I., INGRAM, K. D., Microbiology of broiler carcasses and chemistry of chiller water as affected by water reuse. **Poultry Science**, v. 87, n. 7, p. 1458-1463, 2008.

OFORI, I., MADDILA, S., LIN, J., JONNALAGADDA, S. B. Chlorine dioxide oxidation of *Escherichia coli* in water—A study of the disinfection kinetics and mechanism. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, v. 52, n. 7, p. 598-606, 2017.

OJHA, K. S., TIWARI, B. K.; DONNELL, C. P. O., Effect of Ultrasound Technology on Food and Nutritional Quality. In: **Advances in Food and Nutrition Research**. Academic Press. p. 207-240. 2018

OLSEN, J. E., BROWN, D. J., MADSEN, M., BISGAARD, M., Cross-contamination with *Salmonella* on a broiler slaughterhouse line demonstrated by use of epidemiological markers. **Journal of Applied Microbiology**, v. 94, n. 5, p. 826-835, 2003

ORLANDELLI, R. C., FELBER, A. C., Enzimas de interesse industrial: produção por fungos e aplicações. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 7, n. 3, 2012.

PANIWNYK, L., Applications of ultrasound in processing of liquid foods: A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 38, p. 794-806, 2017.

PARK, JI-SOOK, HA, JAE-WON., Ultrasound treatment combined with fumaric acid for inactivating food-borne pathogens in apple juice and its mechanisms. **Food Microbiology**, v. 84, p. 103277, 2019.

PARRA, A., TORO, M., JACOB, R., NAVARRETE, P., TRONCOSO, M., FIGUEROA, G., REYES-JARA, A., Antimicrobial effect of copper surfaces on bacteria isolated from poultry meat. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, p. 113–118. 2018.

PATIL, S., BOURKE, P., KELLY, B., FRÍAS, J. M., CULLEN, P. J., The effects of acid adaptation on *Escherichia coli* inactivation using power ultrasound. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 10, p. 486–490. 2009.

PAVIC, A.; COX, J. M.; CHENU, J. W. Effect of extending processing plant operating time on the microbiological quality and safety of broiler carcasses. **Food Control**, v. 56, p. 103–109. 2015.

PÉREZ-GRIJALVA, B., HERRERA-SOTERO, M., MORA-ESCOBEDO, R., ZEBADÚA-GARCÍA, J. C., SILVA-HERNÁNDEZ, E., OLIART-ROS, R., GUZMÁN-GERÓNIMO, R., Effect of microwaves and ultrasound on bioactive compounds and microbiological quality of blackberry juice. **LWT**, v. 87, p. 47-53, 2018.

PIÑÓN, M. I., RENTERIA, A. L., Microbiological properties of poultry breast meat treated with high-intensity ultrasound. **Ultrasonics**. 2018

POSSEBON, F. S., DA COSTA, L. F. Z. P., YAMATOIGI, R. S., RODRIGUES, M. V., SUDANO, M. J., DE ALMEIDA N. P. J. P., A refrigeração no diagnóstico de *Salmonella* spp. utilizando o método microbiológico tradicional e reação em cadeia da polimerase em carcaças de frango. **Ciência Rural**, p. 131-135, 2012.

PRA, M. A. D., CORRÊA, É. K., ROLL, V. F., EDUARDO, G. X., LOPES, D. C. N., LOURENÇO, F. F., ROLL, A. P., Uso de cal virgem para o controle de *Salmonella* spp. e *Clostridium* spp. em camas de aviário. **Ciência Rural**, v. 39, n. 4, p. 1189-1194, 2009.

RASSCHAERT, G., HOUF, K., DE ZUTTER, L., Impact of the slaughter line contamination on the presence of *Salmonella* on broiler carcasses. **Journal of Applied Microbiology**, v. 103, n. 2, p. 333-341, 2007.

RODRIGUES, A. C. A., PINTO, P. S. D. A., VANETTI, M. C. D., BEVILACQUA, P. D., PINTO, M. S., NERO, L., A. Análise e monitoramento de pontos críticos no abate de frangos utilizando indicadores microbiológicos. **Ciência Rural**, v. 38, n. 7, p. 1948-1953, 2008.

RUSSELL, S.M., Controle de *Salmonella* na produção e processamento de aves. **CRC Pressione**. 2012.

SCHMIDT, N. S., DA SILVA, C. L., Pesquisa e desenvolvimento na cadeia produtiva de frangos de corte no Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v.56, p. 467–482. 2018.

SEO, M. K., JEONG, H. L., HAN, S. H., KANG, I., HA, S. D., Impact of ethanol and ultrasound treatment on mesophilic aerobic bacteria, coliforms, and *Salmonella* Typhimurium on chicken skin. **Poultry Science**, v.98, p. 6954–6963. 2019.

SIENKIEWICZ, J. J., WESOŁOWSKI, A., STANKIEWICZ, W., KOTOWSKI, R., The influence of ultrasonic treatment on the growth of the strains of *Salmonella* enterica subs. Typhimurium. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 8, p. 2214-2223, 2017.

SILVA, F., DOMINGUES, F. C.; NERÍN, C., Trends in microbial control techniques for poultry products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 58, p. 591–609. 2018.

SKOVGAARD, N., *Salmonella* and *Campylobacter* in chicken meat, Meeting report. **Microbiological Risk Assessment**, v. 19, 2010.

USDA. **Poultry and Products Annual** USDA Foreign Agricultural Service, **Global Agricultural Information Network**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <[https://www.wpsa-aeca.es/aeca\\_imgs\\_docs/12416\\_usda\\_infor\\_avicultura.pdf](https://www.wpsa-aeca.es/aeca_imgs_docs/12416_usda_infor_avicultura.pdf)>. Acesso em: 21 abril. 2019.

- VINUEZA-BURGOS, C., BAQUERO, M., MEDINA, J., ZUTTER, L. DE., Occurrence, genotypes and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* collected from the broiler production chain within an integrated poultry company. **International Journal of Food Microbiology**, v. 299, p. 1–7. 2019.
- WANG, H., QIN, X., MI, S., LI, X., WANG, X., YAN, W., ZHANG, C., Contamination of yellow-feathered broiler carcasses: Microbial diversity and succession during processing. **Food Microbiology**, v. 83, p. 18–26. 2019.
- ZENG, X., HASHIM, M. M., HU, B., ABID, M., LEI, S., ZHANG, X., JABBAR, S., Effect of ultrasound on different quality parameters of apple juice. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, p. 1182–1187. 2013.
- ZHOU, S., HU, C., ZHAO, G., JIN, T., SHEEN, S., HAN, L., YAM, K. L., Novel generation systems of gaseous chlorine dioxide for *Salmonella* inactivation on fresh tomato. **Food Control**, v. 92, p. 479-487, 2018.
- ZWE, Y. H., TANG, V. C. Y., AUNG, K. T., GUTIÉRREZ, R. A., NG, L. C., YUK, H. G. Prevalence, sequence types, antibiotic resistance and, gyrA mutations of *Salmonella* isolated from retail fresh chicken meat in Singapore. **Food Control**, v. 90, p. 233–240. 2018.
- WHO. World Health Organization. **Food Safety**. Out. 2017. Disponível em: <<http://who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>>. Acesso em: 21 abril de 2019.
- WHO. World Health Organization. **Salmonella (non-typhoidal)**. Feb, 2018. Disponível em: <[http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))>. Acesso em: 21 abril. 2019.
- WU, T., YU, X., HU, A., ZHANG, L., JIN, Y., ABID, M. Ultrasonic disruption of yeast cells: underlying mechanism and effects of processing parameters. Innovative. **Food Science & Emerging Technologies**, v. 28, p. 59-65, 2015.