

UNIVERSIDADE REGIONAL INTEGRADA DO ALTO URUGUAI E DAS MISSÕES
URI ERECHIM
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

CARINA DE CASTRO GABRIEL TOMALOK

AVALIAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS PARA CONTROLE MICROBIOLÓGICO
EM GORDURA DE PAPADA SUÍNA

ERECHIM, RS – BRASIL

2021

UNIVERSIDADE REGIONAL INTEGRADA DO ALTO URUGUAI E DAS MISSÕES
URI - ERECHIM
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

AVALIAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS PARA CONTROLE MICROBIOLÓGICO
EM GORDURA DE PAPADA SUÍNA

CARINA DE CASTRO GABRIEL TOMALOK

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da URI - Erechim, como requisito parcial à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração: Engenharia de Alimentos, da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Erechim.

ERECHIM, RS - BRASIL

Abril de 2021

AVALIAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS PARA CONTROLE MICROBIOLÓGICO EM GORDURA DE PAPADA SUÍNA

Carina de Castro Gabriel Tomalok

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da URI - Erechim, como requisito parcial à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração: Engenharia de Alimentos, da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Erechim.

Prof^a. Dr^a. Geciane Toniazzo Backes
Orientadora (URI – Erechim)

Prof. Dr. Rogério Luis Cansian
Orientador (URI – Erechim)

Prof^a. Dr^a. Laura Beatriz Rodrigues
(UPF – Passo Fundo)

Prof^a. Dr^a. Eunice Valduga
(URI – Erechim)

Erechim, Abril de 2021.

T665a Tomalok, Carina de Castro Gabriel

Avaliação de ácidos orgânicos para controle microbiológico em gordura de papada suína / Carina de Castro Gabriel Tomalok . – 2021.
69 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2021.

“Orientação: Profª. Dra Geciane Toniazzo Backes, Prof. Dr. Rogério Luis Cansian.”

1. Ácidos orgânicos 2. Indústria de alimentos 3. Legislação 4. Suínos
I. Título

C.D.U.: 664

Catálogo na fonte: bibliotecária Sandra Milbrath CRB 10/1278

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família que sempre me apoiou e incentivou em todos os momentos, meu esposo e meu filho querido, por serem a razão do meu viver, e todos os familiares, por serem meus pilares e exemplo de caráter, força e dedicação.

Aos professores orientadores, Geciane Toniazzo Backes e Rogério Luis Cansian pelos ensinamentos, confiança e todas as contribuições neste trabalho. Estendo o agradecimento a todos os professores do Programa de Pós-Graduação pelos conhecimentos compartilhados.

As pós-doutorandas Rosicler Colet e Ilizandra Aparecida Fernandes por todo o apoio e amizade durante a realização do mestrado. Aos colegas de mestrado, doutorado e bolsistas de iniciação científica da URI Erechim por serem empáticos e companheiros durante essa jornada.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da URI – Erechim, por toda a infraestrutura ofertada possibilitando a realização deste trabalho. A Aurora Alimentos pela disponibilização de insumos e matéria-prima para a realização dos experimentos.

À banca de avaliação, pela disponibilidade em fazerem parte da mesma, bem como pelas contribuições para o trabalho.

“Era uma pessoa igual a cem mil outras pessoas. Mas, eu fiz dela um amigo, agora ela é única no mundo.”

Antoine de Saint-Exupéry

Resumo:

As indústrias alimentícias são constantemente desafiadas, tanto do ponto de vista do atendimento às legislações as quais são mais relacionadas as questões higiênico-sanitárias, quanto do ponto de vista de satisfação dos consumidores que podem englobar, além da segurança alimentar, também características sensoriais e éticas. Além de que, a crescente incidência de Doenças Transmitidas por Alimentos em todo o mundo se tornou um problema econômico e de saúde pública. Então, várias estratégias são adotadas, como a implantação de programas de qualidade, novas tecnologias, novas embalagens, além de inúmeros métodos de conservação. Em 2018 foi implementada a Instrução Normativa nº 79 que, entre outras alterações, modifica a forma de inspecionar a cabeça, papada e língua em abatedouros de suínos registrados no Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal da Secretaria de Defesa Agropecuária (DIPOA/SDA), sendo que deverá ser feita sem a abertura da cavidade oral, minimizando os cortes e exposição de tecidos, proibindo a exposição da língua e massas musculares da papada e da face na sala de abate, ou seja, deverá ser feita apenas uma avaliação visual externa. Após essa inspeção, deverá ser encaminhado para processamento em ambiente separado para que ocorra a separação dos produtos, os quais devem ser submetidos a tratamentos térmicos validados ou outros tratamentos aprovados pelo DIPOA para mitigação dos riscos associados. Diante disso, o objetivo desse estudo foi avaliar o tratamento de gordura de papada suína com ácidos orgânicos (lático, acético, glicólico, cítrico e ascórbico) visando a redução e/ou inativação de bactérias patogênicas. Ao realizar o estudo da Concentração Inibitória Mínima (CIM), o ácido lático (0,094-0,125%) e acético (0,094-0,125%) foram os mais eficientes, seguido pelo glicólico (0,125-0,188%) e os menos eficientes foram o cítrico (0,375%) e o ascórbico (0,750%). Em relação aos resultados da suscetibilidade dos microrganismos observou-se que aumentando o tempo de exposição, pode-se reduzir a concentração dos ácidos. Considerando 10 min de exposição, todos os microrganismos estudados foram inibidos com maior eficiência em % de remoção pelo ácido lático. *Escherichia coli*, apresentou redução de 1,57 Log₁₀ (UFC/g) com ácido lático a 0,50%, *Salmonella enterica* sorovar Choleraesuis apresentou redução de 1,23 Log₁₀ (UFC/g) com 1,25% de ácido lático, *Staphylococcus aureus*, apresentou redução de 1,68 Log₁₀ (UFC/g) com 1,25% de ácido lático, *Listeria monocytogenes* apresentou redução de 1,23 Log₁₀ (UFC/g) com apenas 0,75% de ácido lático. Em relação a associação dos ácidos, observou-se que a combinação do ácido lático com acético foi a que obteve melhores resultados pois manteve o crescimento dos microrganismos estudados em, no máximo 40%, com 0,5% de cada ácido por 10 min de exposição. O ácido glicólico apresentou resultados promissores de inibição do crescimento in vitro dos microrganismos testados, mantendo o crescimento abaixo de 5%, com a concentração de 0,5% por 10 min de exposição, porém requer mais estudos em produtos alimentícios. Diante disso, concluiu-se que alguns ácidos orgânicos apresentam potencial para uso industrial visando o controle microbiológico dos produtos.

Palavras-chave: Legislação, Concentração Inibitória Mínima, Microrganismos, Ácidos Orgânicos, Indústrias de Alimentos.

Abstract:

The food industries are constantly challenged, both from the point of view of complying with legislation which is more related to hygienic-sanitary issues, and from the point of view of consumer satisfaction which may include, in addition to food safety, also sensory and ethical characteristics. In addition, the growing incidence of Foodborne Diseases worldwide has become an economic and public health problem. So, several strategies are adopted, such as the implementation of quality programs, new technologies, new packaging, in addition to innumerable conservation methods. In 2018, Normative Instruction 79 was implemented, which, among other changes, modifies the way of inspecting the head, double chin and tongue in pig slaughterhouses registered with the Department of Inspection of Products of Animal Origin of the Secretariat of Agricultural Defense (DIPOA / SDA) , and it should be done without opening the oral cavity, minimizing cuts and tissue exposure, prohibiting the exposure of the tongue and muscle masses of the chin and face in the slaughter room, that is, only an external visual evaluation should be made. . After this inspection, it must be sent for processing in a separate environment so that the products can be separated, which must be subjected to validated heat treatments or other treatments approved by DIPOA to mitigate the associated risks. Therefore, the objective of this study was to evaluate the treatment of porcine fat with organic acids (lactic, acetic, glycolic, citric and ascorbic) in order to reduce and / or inactivate pathogenic bacteria. When carrying out the study of Minimum Inhibitory Concentration (MIC), lactic (0.094-0.125%) and acetic acid (0.094-0.125%) were the most efficient, followed by glycolic (0.125-0.188%) and the least efficient were the citrus (0.375%) and ascorbic (0.750%). Regarding the results of the susceptibility of the microorganisms, it was observed that by increasing the exposure time, it is possible to reduce the concentration of acids. Considering 10 min of exposure, all the microorganisms studied were inhibited with greater efficiency in% removal by lactic acid. *Escherichia coli*, showed a reduction of 1.57 Log₁₀ (UFC / g) with 0.50% lactic acid, *Salmonella enterica* sorovar Choleraesuis presented a reduction of 1.23 Log₁₀ (UFC / g) with 1.25% of lactic acid, *Staphylococcus aureus*, showed a reduction of 1.68 Log₁₀ (UFC / g) with 1.25% of lactic acid, *Listeria monocytogenes* presented a reduction of 1.23 Log₁₀ (UFC / g) with only 0.75% of lactic acid. Regarding the association of acids, it was observed that the combination of lactic and acetic acid was the one that obtained the best results because it maintained the growth of the studied microorganisms at a maximum of 40%, with 0.5% of each acid for 10 min. exposure. Glycolic acid showed promising results of inhibiting the in vitro growth of the tested microorganisms, keeping the growth below 5%, with the concentration of 0.5% for 10 min of exposure, however it requires more studies in food products. Therefore, it was concluded that some organic acids have potential for industrial use aiming at the microbiological control of the products.

Keywords: Legislation, Minimum Inhibitory Concentration, Microorganisms, Organic Acids, Food Industries.

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Exemplos de estudos com ácidos orgânicos em produtos cárneos diversos frente a diferentes microrganismos reportados na literatura. | 25 |
| Tabela 2 - Concentração Inibitória Mínima do ácido ascórbico, cítrico, glicólico, acético e láctico frente à <i>E. coli</i> , <i>S. enterica</i> sorovar Choleraesuis, <i>S. aureus</i> e <i>L. monocytogenes</i> | 30 |
| Tabela 3 - Crescimento de <i>E. coli</i> (UFC/g) em cubos de gordura suína previamente contaminados expostos a diferentes tempos de contato e concentrações de ácidos orgânicos. | 32 |
| Tabela 4 - Redução de contagem de <i>E. coli</i> (Log ₁₀ UFC/g) em cubos de gordura suína na concentração efetiva mínima de diferentes ácidos orgânicos em diferentes tempos de exposição. | 36 |
| Tabela 5 - Crescimento de <i>S. enterica</i> sorovar Choleraesuis (UFC/g) em cubos de gordura suína previamente contaminados expostos a diferentes tempos de contato e tipos e concentrações de ácidos orgânicos. | 38 |
| Tabela 6 - Redução de contagem de <i>S. enterica</i> sorovar Choleraesuis (Log ₁₀ UFC/g) em cubos de gordura suína <i>in natura</i> na concentração efetiva mínima de diferentes ácidos orgânicos em diferentes tempos de exposição. | 42 |
| Tabela 7 - Crescimento de <i>S. aureus</i> (UFC/g) em cubos de gordura suína previamente contaminados e expostos a diferentes tempos de contato e concentrações de ácidos orgânicos. | 44 |
| Tabela 8 - Redução de contagem de <i>S. aureus</i> (Log ₁₀ UFC/g) em cubos de gordura suína na concentração efetiva mínima de diferentes ácidos orgânicos em diferentes tempos de exposição. | 47 |
| Tabela 9 - Crescimento de <i>L. monocytogenes</i> (UFC/g) em cubos de gordura suína previamente contaminados e expostos a diferentes tempos de contato e concentrações de ácidos orgânicos. | 49 |
| Tabela 10 - Redução de contagem de <i>L. monocytogenes</i> (Log ₁₀ UFC/g) em cubos de gordura suína na concentração efetiva mínima de diferentes ácidos orgânicos em diferentes tempos de exposição. | 53 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 – Ilustração que exemplifica o mecanismo de ação dos ácidos orgânicos. | 26 |
| Figura 2 - Percentual de crescimento de <i>E. coli</i> em presença de diferentes concentrações de ácidos láctico (a), acético (b), cítrico (b) e ascórbico (d) em relação ao controle. | 35 |
| Figura 3 - Comparativo entre os ácidos láctico, acético, cítrico e ascórbico na inibição do crescimento de <i>E. coli</i> em cubos de gordura suína expostos a diferentes concentrações por 10 min..... | 35 |
| Figura 4 - Percentual de crescimento de <i>S. enterica</i> sorovar Choleraesuis em presença de diferentes concentrações de ácidos orgânicos em relação ao controle..... | 40 |
| Figura 5 - Comparativo entre os ácidos láctico, acético, cítrico e ascórbico na inibição do crescimento de <i>S. enterica</i> sorovar Choleraesuis em cubos de gordura suína expostos a diferentes concentrações por 10 min..... | 41 |
| Figura 6 - Percentual de crescimento de <i>S. aureus</i> em presença de diferentes concentrações de ácidos orgânicos em relação ao controle..... | 46 |
| Figura 7 - Comparativo entre os ácidos láctico, acético, cítrico e ascórbico na inibição do crescimento de <i>S. aureus</i> em cubos de gordura suína expostos a diferentes concentrações por 10 min..... | 47 |
| Figura 8 – Percentual de crescimento de <i>L. monocytogenes</i> em presença de diferentes concentrações de ácidos orgânicos em relação ao controle. | 51 |
| Figura 9 – Comparativo entre os ácidos láctico, acético, cítrico e ascórbico na inibição do crescimento de <i>L. monocytogenes</i> em cubos de gordura suína expostos a diferentes concentrações por 10 min..... | 52 |
| Figura 10 – Percentual de crescimento dos microrganismos em presença de diferentes concentrações de ácido láctico e ácido ascórbico, e sua combinação, em relação ao controle. | 54 |
| Figura 11 – Percentual de crescimento dos microrganismos em presença de diferentes concentrações de ácido láctico e ácido cítrico, e sua combinação, em relação ao controle. | 55 |
| Figura 12 – Percentual de crescimento dos microrganismos em presença de diferentes concentrações de ácido láctico e ácido acético, e sua combinação, em relação ao controle. | 57 |
| Figura 13 – Percentual de crescimento dos microrganismos em presença de diferentes concentrações de ácido acético e ácido ascórbico, e sua combinação, em relação ao controle..... | 58 |
| Figura 14 – Percentual de crescimento dos microrganismos em presença de diferentes concentrações de ácido acético e ácido cítrico, e sua combinação, em relação ao controle. | 59 |
| Figura 15 – Percentual de crescimento dos microrganismos em presença de diferentes concentrações de ácido ascórbico e ácido cítrico, e sua combinação, em relação ao controle..... | 60 |
| Figura 16 - Percentual de crescimento dos microrganismos em presença de diferentes concentrações de ácido glicólico em relação ao controle. | 61 |

LISTA DE ABREVIACÕES, SÍMBOLOS E UNIDADES

| | |
|---------|---|
| ABCS | Associação Brasileira dos Criadores de Suínos |
| AFFA | Auditor Fiscal Federal Agropecuário |
| ANVISA | Agência Nacional de Vigilância Sanitária |
| APPCC | Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle |
| ATCC | American Type Culture Collection (Coleção de Cultura Americana) |
| BNDES | Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social |
| BPF's | Boas Práticas de Fabricação |
| CIM | Concentração Inibitória Mínima |
| DIF | Departamento de Inspeção Final |
| DIPOA | Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal |
| DTA's | Doenças Transmitidas por Alimentos |
| ELISA | Teste Imunoenzimático |
| EMBRAPA | Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária |
| EPA | Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos |
| FDA | Food and Drug Administration (Administração de Alimentos e Medicamentos) |
| GRAS | Generally Recognized as Safe (Geralmente reconhecido como seguro) |
| HPP | Processamento de Alta Pressão |
| IBGE | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística |
| IN | Instrução Normativa |
| ISO | Organização Internacional de Normalização |
| MAPA | Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento |
| MVR | Médico Veterinário Responsável |
| PAC | Programas de Autocontroles |
| RIISPOA | Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal |
| SDA | Secretaria de Defesa Agropecuária |
| SUASA | Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária |
| UFC | Unidade Formadora de Colônia |
| USDA | Departamento de Agricultura dos Estados Unidos |
| WHO | World Health Organization (Organização Mundial da Saúde) |

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO..... | 14 |
| 2 OBJETIVOS..... | 16 |
| 2.1 Objetivo geral | 16 |
| 2.2 Objetivos específicos | 16 |
| 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 17 |
| 3.1 Carne Suína: visão mundial e brasileira..... | 17 |
| 3.2 Abate de Suínos | 17 |
| 3.3 O homem e sua relação com os alimentos..... | 18 |
| 3.4 Doenças Transmitidas por Alimentos – DTA’s e seus principais agentes etiológicos | 19 |
| 3.5 Segurança alimentar e aspectos de legislação | 21 |
| 3.6 Uso de ácidos orgânicos para controle microbiológico..... | 23 |
| 3.6.1 Mecanismo de ação dos ácidos orgânicos | 26 |
| 4. MATERIAL E MÉTODOS | 28 |
| 4.1 Preparo do Inóculo | 28 |
| 4.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)..... | 28 |
| 4.3 Contaminação das Amostras e Tratamento com Ácidos Orgânicos | 29 |
| 4.4 Análise Estatística | 29 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 30 |
| 5.1 Concentração inibitória mínima dos ácidos orgânicos..... | 30 |
| 5.2 Tratamentos com Ácidos Orgânicos | 31 |
| 5.2.1 <i>Escherichia coli</i> | 31 |
| 5.2.2 - <i>Salmonella enterica</i> sorovar Choleraesuis | 37 |
| 5.2.3 - <i>Staphylococcus aureus</i> | 43 |
| 5.2.4 <i>Listeria monocytogenes</i> | 48 |
| 5.3 Tratamento com ácidos orgânicos combinados | 53 |
| 5.3.1 Combinação Ácido Lático (La) e Ácido Ascórbico (As)..... | 53 |
| 5.3.2 Combinação Ácido Lático (La) e Ácido Cítrico (Ci) | 55 |
| 5.3.3 Combinação Ácido Lático (La) e Ácido Acético (Ac)..... | 56 |

| | |
|---|-----------|
| 5.3.4 Combinação Ácido Acético (Ac) e Ácido Ascórbico (As) | 57 |
| 5.3.5 Combinação Ácido Acético (Ac) e Ácido Cítrico (Ci)..... | 58 |
| 5.3.6 Combinação Ácido Ascórbico (As) e Ácido Cítrico (Ci) | 60 |
| 5.4 Tratamento com ácido glicólico | 61 |
| 6 CONCLUSÕES | 63 |
| 7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS | 64 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 65 |

1 INTRODUÇÃO

O Serviço de Inspeção Federal (SIF), vinculado ao Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal – DIPOA, é o responsável por assegurar a qualidade de produtos de origem animal comestíveis e não comestíveis destinados ao mercado interno e externo, bem como de produtos importados (BRASIL, 2016). O Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA existe desde 07 de julho de 1952, consolidando o primeiro código higiênico-sanitário do Brasil (BRASIL, 2017), o qual foi atualizado em 29 de março de 2017 sob o Decreto nº 9013, incluindo novos temas como por exemplo ligados ao meio ambiente, sustentabilidade e bem estar animal, além disso, essa revisão do RIISPOA contempla a implantação de novas tecnologias, padronização de procedimentos técnicos e administrativos, maior harmonização com a legislação internacional, interação com outros órgãos públicos de fiscalização, ordenação didática das normas para facilitar a consulta e orientação e atualização de terminologias ortográfica e técnica. Foi compatibilizado com legislações, como o Código de Defesa do Consumidor e com o decreto que institui o SUASA – Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária (BRASIL, 2017).

Mais recentemente, em 14 de dezembro de 2018, foi publicada a Instrução Normativa nº 79 a qual trata da inspeção *ante e post mortem* com base em risco de suínos criados em regime de confinamento e se aplica apenas aos estabelecimentos de abate de suínos registrados no DIPOA/DAS, Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal da Secretaria de Defesa Agropecuária (IFOPE, 2018). De acordo com essa nova Instrução, deverá ser alterada a forma de inspecionar as carcaças e suas partes (BRASIL, 2018).

Com essa alteração, o conjunto cabeça-papada e língua deve ser submetido apenas a avaliação visual externa, sem palpação ou cortes, buscando alterações visíveis de volume, de forma, cor, e quando aplicável, odor, devendo ser encaminhada para exame complementar (juntamente com a carcaça e demais vísceras). Após essa inspeção, em que não ocorra nenhuma alteração, o conjunto cabeça, língua e papada deve ser enviado para ambiente próprio e separado das demais partes da carcaça e vísceras. Esse local é normalmente denominado como “sala de cabeças”, onde ocorrerá o processamento desse conjunto com separação dos tecidos musculares presentes, após a remoção de tecidos linfáticos e tonsilas. Todos os produtos obtidos, sejam recortes de músculo e/ou pele bem como os tecidos adjacentes incluindo a língua e a papada devem ser submetidos a

tratamentos térmicos validados ou outros tratamentos aprovados pelo DIPOA para mitigação dos riscos associados.

Atualmente a papada de suínos é utilizada na formulação de vários produtos industrializados, como por exemplo em linguiça frescal, ou seja, na forma *in natura*, sem nenhum tipo de tratamento físico ou químico. Porém, com a implementação da nova forma de inspeção sanitária de acordo com a Instrução Normativa nº79, essa gordura só poderá ser utilizada após receber tratamento térmico validado ou algum outro tratamento desde que devidamente aprovado pelo DIPOA para que não apresente risco de contaminação microbiológica ao consumidor (BRASIL, 2018).

Diante disso, optou-se por realizar um estudo que oferecesse uma opção diferente do tratamento térmico, já que esse método alteraria a gordura, inviabilizando para uso *in natura*, desta forma o tratamento com ácidos orgânicos seria uma alternativa frente a esse entrave já que estes possuem alta toxicidade contra microrganismos e baixa contra seres humanos (DREHMER, 2005), sendo considerados geralmente seguros para produtos cárneos (GRAS), conforme designação do FDA (MANI-LOPEZ et al., 2012). Além de que o tratamento com ácidos orgânicos pode trazer uma segurança para a demanda dos consumidores em relação a qualidade microbiana dos alimentos, pois conforme Chai & Sheen (2021), é necessário desenvolver uma abordagem eficaz em que combine aspectos sensoriais e de segurança para que influencie positivamente a aceitação do consumidor final.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a aplicação de diferentes ácidos orgânicos (lático, acético, ascórbico, cítrico e glicólico) em gordura de papada suína visando a redução e/ou inativação de bactérias (*Escherichia coli*, *Salmonella enterica* sorovar Choleraesuis, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*) para ser usado como tratamento alternativo ao térmico.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos ácidos orgânicos (ácido lático, ácido acético, ácido ascórbico, ácido cítrico e ácido glicólico);
- Determinar a concentração de ácidos orgânicos (lático, acético, ascórbico e cítrico) e o tempo necessário para a inativação de bactérias (*Escherichia coli*, *Salmonella enterica* sorovar Choleraesuis, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*) em amostras de gordura de papada suína previamente contaminadas;
- Avaliar a combinação dos melhores ácidos orgânicos na inativação de bactérias em amostras de gordura de papada suína previamente contaminadas.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Nesse item, serão apresentados aspectos gerais relacionados a produção, comercialização e composição da carne suína, bem como aspectos atrelados a segurança alimentar e legislação vigente.

3.1 Carne Suína: visão mundial e brasileira

Apesar da carne suína ser a mais consumida mundialmente, respondendo por 42,9%, a frente de carne de frango, com 34,6% e da bovina com 22,5% (USDA, 2020), no Brasil fica na terceira posição, atrás da carne bovina em primeiro lugar e da carne de frango em segundo lugar (IBGE, 2020). Sendo que o país possui diversas particularidades regionais, além do desconhecimento da composição nutricional dos cortes e dos produtos industrializados faz com que sejam determinantes nas escolhas alimentares dos indivíduos (MARÇAL et al., 2016). Mesmo que com o passar dos anos, houve um aperfeiçoamento do sistema de criação dos suínos, pois com o surgimento dos óleos vegetais e com o crescente desuso da banha, os suínos passaram a ser criados com o objetivo não mais de fornecimento de gordura majoritariamente, mas sim para a produção de carcaças com alto percentual de carne e baixo conteúdo de gordura, e isso só foi possível por intermédio de programas de melhoramento genético, nutrição balanceada e manejo sanitário adequado, sendo que nos últimos trinta anos, o suíno perdeu 31% de sua gordura, além de 14% das calorias e 10% do colesterol, sendo alguns cortes tão ou mais magros que outros tipos de carne, como por exemplo o lombo suíno (MARÇAL et al., 2016; BNDES, 2017).

Com essa evolução, já é esperado que o consumo cresça também ao longo dos próximos anos, diante do acesso da população a maiores informações sobre o produto tanto do ponto de vista nutricional quanto da segurança alimentar. Isso é demonstrado por uma pesquisa da Associação Brasileira dos Criadores de Suínos, onde verificou-se um aumento do consumo de três vezes por mês em 2014 para uma vez por semana em 2019, além de que os preços tornam-se atraentes aos consumidores, devido aos controles exercidos ao longo da cadeia produtiva (ABCS, 2019; USDA, 2020).

3.2 Abate de Suínos

O processamento do abate de suínos, com a implementação de rígidos programas de qualidade, é eficiente em reduzir a contaminação superficial da pele dos animais,

principalmente após etapas de descontaminação como a escalda e o chamosqueamento, porém, algumas áreas da carcaça, como a cabeça e cavidade oral, podem permanecer contaminadas. Além disso, podem ocorrer falhas na evisceração, propiciando grande risco de contaminação cruzada (EMBRAPA, 2015). A carne, independente da espécie animal, em virtude de ser considerada um alimento rico em nutrientes, depois de uma permanência longa em ambientes refrigerados, pode permitir o crescimento de microrganismos (VASCONCELOS et al., 2002).

Visto que diversos produtos são elaborados a partir de uma carcaça suína, os controles do processamento tanto em produtividade quanto em parâmetros microbiológicos são continuamente analisados para que se obtenham os melhores desempenhos para as indústrias. Após a separação da carcaça em partes, cada uma dessas é direcionada para a fabricação de produtos específicos, tais como cortes nobres: pernil, lombo e costela ou servem como matéria prima para outros produtos: linguiças, presuntos e mortadelas. Além disso, os miúdos suínos podem ser destinados ao mercado interno, compondo os tradicionais “kits feijoada”, bem como são largamente exportados: orelhas, focinhos e pés.

A papada é obtida a partir da parte dianteira da carcaça, abaixo do pescoço do suíno, originando um corte triangular composto por pele, gordura e músculo, sendo amplamente utilizada para a fabricação de produtos industrializados, pois apresenta características de uma gordura firme e entremeada com fibras musculares. Com isso, o uso em linguiça frescal confere sabor característico ao produto.

Como produtividade e qualidade são itens indispensáveis para que as indústrias se mantenham no mercado, cada vez mais os controles microbiológicos serão fatores chave para que não ocorram esforços desnecessários em uma produção que pode ser desclassificada devido a uma análise fora de padrão com consequente perda financeira.

3.3 O homem e sua relação com os alimentos

De acordo com Jay (2009), historicamente o ser humano era coletor com sua dieta presumivelmente carnívora, introduzindo os vegetais na alimentação posteriormente. Então houve o cozimento dos alimentos pela primeira vez, que daí em diante evoluiu para o período de produção de alimentos, que se estende até hoje. Presume-se que os problemas de deterioração, toxicidade e transmissão de doenças por alimentos apareceram no início desse período, sendo causados principalmente por armazenamento inadequado. Daí para frente, houveram o aparecimento de diversas técnicas de preparo e conservação dos alimentos, como por exemplo panelas para fervuras, salga e defumação de carnes, conservação em vidros e

latas, porém nem sempre havia o conhecimento do porquê determinada técnica funcionava nem se havia relação da qualidade dos alimentos com a presença de microrganismos. Pasteur foi a primeira pessoa a avaliar e entender a presença e o papel dos microrganismos nos alimentos, demonstrando que o azedamento do leite era causado por microrganismos, usando o calor para destruí-los, o que deu origem ao processo de pasteurização que utilizamos até hoje.

McMEEKIN et al. (1997), consideram que a conservação de alimentos pelo emprego de agentes químicos é utilizada para prevenir ou retardar a deterioração por micro-organismos, para tanto, a garantia de uma vida útil longa e a segurança microbiológica, implica em minimizar níveis de contaminação, limitando ou impedindo a taxa de crescimento microbiano. Em toda cadeia de produção, a temperatura é um fator extremamente importante para assegurar a vida útil dos alimentos.

É importante conhecer a distribuição das bactérias na natureza e os tipos de organismos encontrados durante o crescimento e a colheita dos alimentos, para então saber quais microrganismos estão naturalmente associados a um alimento em particular em seu estado natural e quais não estão. Existem diversos gêneros e espécies de microrganismos, sendo alguns desejáveis em certos alimentos, enquanto outros estão relacionados à deterioração ou causam gastroenterites. Cada um possui as suas necessidades particulares de nutrientes determinando as prováveis fontes de contaminação dos alimentos, como por exemplo solo, água, ar, pó, plantas, utensílios, trato gastrointestinal, manipuladores de alimentos, rações animais (JAY, 2009).

Forsythe (2013) aborda que a produção de alimentos está se tornando mais complexo e global, além de que a conscientização pública sobre possíveis doenças transmitidas por alimentos aumenta. Com isso, é fundamental que as empresas produtoras de alimentos mantenham padrões rígidos de higiene, para manter a segurança primária de seus produtos.

3.4 Doenças Transmitidas por Alimentos – DTA's e seus principais agentes etiológicos

As Doenças transmitidas por alimentos (DTA's) estão entre uma das causas mais importantes de morbidade e mortalidade em todo o mundo, sendo a doença diarreica aguda seja responsável por 1,8 milhões de mortes infantis anualmente, principalmente em países em desenvolvimento. Durante as últimas duas décadas, têm emergido como um crescente problema econômico e de saúde pública. Também pode-se acrescentar outros fatores para o aumento na incidência das DTA's, tais como a maior exposição das populações a alimentos

de consumo pronto, rápido e coletivo, chamados de *fast-foods*, o consumo de alimentos em vias públicas, o surgimento de novas modalidades de produção, o aumento no uso de aditivos alimentares e a mudanças gerais de hábitos alimentares, sem deixar de considerar, a globalização. Isso demonstra que incidência das DTA's é amplamente distribuída afetando, todos os níveis de educação, condições socioeconômicas, saneamento, fatores ambientais, culturais entre outros. Porém, os números estimados das doenças transmitidas por alimentos são afetadas por vários fatores, entre eles, diferentes definições de doença diarreica aguda, a maioria das doenças diarreicas não é relatada às autoridades de saúde pública, e poucas vezes essas doenças podem ser definitivamente ligadas a ingestão de alimentos contaminados. (WHO, 2008; BRASIL,2010). Os agentes etiológicos mais comuns isolados de casos no Brasil são: *Salmonella* spp, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella* spp, *Bacillus cereus* e *Clostridium perfringens* (BRASIL, 2010).

Um exemplo de DTA, considerada uma das principais zoonoses de etiologia bacteriana, é a salmonelose, que pode ser transmitida ao longo de toda a cadeia produtiva, também conhecido como a expressão “da granja à mesa - *farm to table*”) (EMBRAPA, 2015). A *Salmonella* é um gênero da família *Enterobacteriaceae*, caracterizados por bactérias Gram-negativas, geralmente móveis, anaeróbias facultativas, não formadores de esporos, predominantemente com o formato de bastonetes curtos (1 a 2 µm). Ela cresce a temperaturas entre 8 e 45 °C, com a temperatura ótima em 38°C. A faixa de pH fica entre de 4 a 9 e requer atividades de água (a_w) acima de 0,94. As salmonelas são sensíveis ao calor, devido a questão de não produzirem esporos e geralmente morrem em temperaturas a partir de 60 °C, por 15 a 20 min. As salmonelas são resistentes à secagem e podem sobreviver por anos em poeira e sujeira (MANI-LÓPEZ et al., 2012; ZABOT, 2016). A legislação brasileira determina a ausência de *Salmonella* sp. em produtos alimentícios, conforme descrito na RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), porém as indústrias enfrentam problemas de contaminação de carcaças a nível de frigorífico. No Brasil, a *Salmonella* é a maior causadora de DTA's, sendo os alimentos mistos os principais envolvidos em surtos (EMBRAPA, 2015).

O gênero *Escherichia* é um dos mais estudados entre todas as bactérias, sendo a *E. coli* um importante causador de gastroenterites alimentares, considerado o melhor indicador de contaminação fecal, devido ao seu habitat originalmente intestinal (JAY, 2009; MACHADO et al., 2018). Dessa forma, a pesquisa de *E. coli* nos alimentos fornece informações sobre as condições higiênicas dos produtos e a possível indicação da presença de outros enteropatógenos, assim como manipulação inadequada (DREHMER, 2005).

Outro patógeno de interesse é o *S. aureus*, pois também é um frequente causador de surtos de toxinfecção alimentar (FDA, 2020). As bactérias desse gênero são cocos Gram-

positivos, imóveis e geralmente agrupados em forma de cachos de uva, são mesófilas, com uma temperatura de crescimento entre 7 a 47,8°C, enquanto suas enterotoxinas são produzidas em aproximadamente 40 a 45°C. Muitas vezes pode dar origem a infecções assintomáticas devido ao seu alto poder colonizador em diferentes regiões do organismo, para ser capaz de gerar uma intoxicação são necessárias 10⁶ células por grama de alimento (BARBOSA, 2016).

Segundo Jay (2009), a *L. monocytogenes* também está descrita como agente etiológico de doença de origem alimentar, sendo considerada a principal espécie patogênica de *Listeria*, a qual possui a particularidade de possibilidade de crescimento a uma temperatura mínima de 0,5°C - 3,0°C e temperatura máxima a cerca de 45°C. A *L. monocytogenes* se caracteriza por ser patogênica principalmente para indivíduos com algum comprometimento do sistema imunológico, a exemplo de idosos e gestantes, podendo causar infecção do sistema nervoso central, além de ser capaz de sobreviver e se multiplicar em ampla faixa de pH, concentração de sal e temperatura (ZDANSKI, 2011). A *L. monocytogenes* é um microrganismo de desafio pois também está entre um dos mais resistentes a Luz Pulsada Intensa, além de ocasionar surtos crescentes em países da União Europeia, Canadá e Estados Unidos, nos últimos 5 anos (RAJKOVIC et al., 2010).

3.5 Segurança alimentar e aspectos de legislação

Sabe-se que os tecidos internos de animais sadios não possuem bactérias no momento do abate, entretanto diversos tipos de microrganismos são encontrados quando carnes frescas são examinadas a nível de varejo. As principais rotas de contaminação que explicam essa presença são: ferida de sangria, pele do animal, trato gastrointestinal, nódulos linfáticos, manipuladores, utensílios e ambiente de manuseio (JAY, 2009). Essas contaminações devem ser controladas na tentativa de não ocorrerem, como por exemplo, com um rígido controle de Boas Práticas de Fabricação (BPF's), Programas de Autocontroles (PAC), Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), Normas ISO e Análise de Riscos, entretanto nem sempre é isso que acontece na prática de um processo produtivo, onde algumas falhas podem ocorrer (EMBRAPA, 2015).

Dessa forma, diversas tecnologias e tratamentos tem sido desenvolvidos, estudados e aplicados em carcaças ou em produtos finais com o objetivo de controlar a disseminação de microrganismos patogênicos, tais como lavagem com água ou vapor de água em pressões diversas, ácidos orgânicos em concentrações diversas, outros produtos químicos como peróxido de hidrogênio ou clorexidina e até mesmo combinações de dois ou mais métodos (MANI-LOPEZ et al., 2012; JAY, 2009).

Os frigoríficos são regidos por diversas legislações, que ao longo do tempo sofrem ajustes e alterações, visando o acompanhamento dos processos produtivos e implementação de novas tecnologias. A principal legislação seguida é o RIISPOA, o qual perdurou por 65 anos, desde a sua primeira emissão em 1952 até a atualização em 2017, onde há toda a regulamentação principal para indústrias de produtos de origem animal, desde carnes, passando por pescado, até ovos e mel (BRASIL, 2017). Considerando o abate somente de suínos, outra legislação de importância é a Portaria nº 711 emitida em 1º de novembro de 1995, a qual descreve todas as normas técnicas de instalações e equipamentos para abate e industrialização de suínos (BRASIL, 1995), que também sofreu ajustes ao longo do tempo, como por exemplo a Portaria nº 155, de 17 de julho de 2016, alterando alguns pontos em relação a expedição de produtos congelados (BRASIL, 2016) e também a Portaria nº 1.304, de 07 de agosto de 2018, a qual ajusta a destinação de carcaças provenientes do DIF de forma a garantir o atendimento aos requisitos específicos de países para os quais o estabelecimento de abate encontra-se habilitado (BRASIL, 2018). Além disso, são seguidas outras Instruções Normativas, Resoluções e Decretos que regulamentam as BPF's, Bem Estar Animal e Análises Microbiológicas, por exemplo.

Seguindo o processo de atualização constante, a implementação da Instrução Normativa nº 79 (BRASIL, 2018), a qual foi feita baseada em estudo do histórico dos dados de ocorrência de achados de Inspeção Sanitária em Frigoríficos registrados sob Inspeção Federal, altera alguns pontos que são praticados hoje em dia, como por exemplo faz a inclusão de um Médico Veterinário Responsável – MVR, dividindo a responsabilidade da manutenção da qualidade do estabelecimento com o Auditor Fiscal Federal Agropecuário – AFFA.

Outra alteração importante é citada na Seção II, que descreve a Avaliação e classificação da cabeça, papada e língua que deverá ser realizada com corte caudal a papada em sentido dorso-ventral, sem a abertura da cavidade oral e minimizando os cortes e exposição de tecidos linfáticos e glandulares adjacentes, proibindo a exposição da língua e massas musculares da papada e da face na sala de abate, diferindo muito da forma que é realizada atualmente em que obrigatoriamente deve ser realizada a abertura da papada antes da inspeção da cabeça, com a finalidade de permitir o exame dos respectivos nodos linfáticos e os cortes dos músculos mastigadores (masseteres e pterigoideos), com exposição da língua, para que a cabeça e seus tecidos sejam extensivamente analisados visualmente e com a prática de incisões tanto nos músculos mastigatórios quanto nos nodos linfáticos da região cervical conforme descrito e padronizado pela Portaria 711 de 1º de novembro de 1995 (BRASIL, 1995). Diante disso, as empresas devem ajustar o processo produtivo a fim de atender a norma,

bem como também propor alternativas viáveis com o objetivo de produzir alimentos seguros microbiologicamente.

3.6 Uso de ácidos orgânicos para controle microbiológico

Várias estratégias são adotadas pelas indústrias processadoras de alimentos e estas têm contribuído para manter a segurança alimentar, como a implantação de programas de qualidade, novas tecnologias, novas embalagens, além de inúmeros métodos de conservação (McMEEKIN et al., 1997). Machado et al. (2013), relatam que várias propostas têm sido estudadas para tratamento de carcaças suínas no pós-abate, como por exemplo a utilização de ácidos orgânicos; o uso de vapor de água quente, bem como a associação do tratamento térmico com o químico.

O ácido láctico e seus sais são agentes antimicrobianos, atuando tanto no controle de bactérias deteriorantes quanto patogênicas para aplicação em carcaças bovinas, cortes e aparas, cabeças e línguas, além de não afetarem as características sensoriais (ZDANSKI, 2011; MANI-LOPEZ et al., 2012). O ácido acético tem sido amplamente utilizado em muitos aromatizantes e/ou aplicações de preservação de alimentos por vários séculos (CHAI & SHEEN, 2021), porém o que torna seu uso limitado são o odor e sabor pungentes (MANI-LOPEZ et al., 2012). O ácido cítrico é um ácido hidroxitricarboxílico produzido naturalmente por várias plantas, sendo aprovado para uso na fabricação de carnes frescas e processadas de aves em concentrações específicas para essa finalidade (USDA, 2019), bem como em níveis de até 3% não produziu odores inaceitáveis e a aceitabilidade da cor foi mantida, porém necessita a manutenção de pH baixo para uma atividade antimicrobiana ideal (MANI-LOPEZ et al., 2012). O ácido ascórbico é bastante usado em alimentos devido a suas funções como agente redutor e antioxidante, e há estudos de aspersão em carcaças animais com o objetivo de aumentar a vida útil de prateleira, por seu efeito bactericida (DREHMER, 2005). Kim et al. (2019) estudaram o ácido ascórbico como fonte natural de nitrito para utilização em produtos curados, obtendo bons resultados com efeitos positivos no desenvolvimento da cor, atividade antioxidante e depleção de nitritos.

Acuff (2005) cita que os ácidos orgânicos foram primariamente investigados para descontaminação química da superfície de carcaças de bovinos a aproximadamente 30 anos, e desde então diversas técnicas foram referidas em revistas científicas. Porém a introdução de bactérias patogênicas no ambiente de processamento industrial para teste ou validação destes estudos não é recomendada, nem permitida, então a maioria dos testes são realizados em condições de laboratório. Dessa forma, é extremamente difícil definir as condições

experimentais em um ambiente de laboratório para representar com precisão as condições que realmente existem nas carcaças durante as operações típicas de abate. Qualquer tentativa de determinar um método ideal de tratamento da carcaça com base nas reduções relatadas na literatura científica deve ser abordada com cautela e a validação dos procedimentos de descontaminação química sob as condições reais de cada planta industrial deverá ser considerada posteriormente.

De acordo com McMEEKIN et al. (1997), o número de compostos químicos utilizados como conservadores é relativamente pequeno e suas quantidades adicionadas nos alimentos devem ser regulamentadas através de uma legislação específica. Segundo Drehmer (2005), os ácidos orgânicos são muito difundidos na natureza, como por exemplo, em frutos cítricos é encontrado o ácido cítrico, o ácido benzóico em frutos azedos ou verdes, e o ácido ascórbico em frutas frescas. Já o ácido láctico se encontra em tecidos animais. Algumas indústrias utilizam certos ácidos orgânicos para auxiliar na conservação de diversos produtos, contudo a concentração e o tipo são cuidadosamente controlados pelo órgão governamental responsável pela saúde.

De Carli et al. (2015) apontam que a aspersão de ácidos fracos combinados em carcaças suínas, nas câmaras de resfriamento, pode levar a um aumento do armazenamento dos cortes. Mello & Terra (1994) descrevem que a utilização de ácidos orgânicos associados tem se mostrado mais eficaz contra microrganismos deteriorantes e patogênicos do que cada ácido isoladamente.

A Tabela 1 demonstra que os estudos com ácidos orgânicos já ocorrem a diversos anos, estendendo-se até hoje, nos mais diversos tipos de produtos cárneos e espécies animais. Bem como ocorrem com várias técnicas de exposição dos ácidos, podendo ser aplicados isoladamente tais como, citam Vasconcelos et al. (2002), Woolthuis & Smulders (1985) e Machado et al. (2018), em combinações de dois ou mais ácidos, conforme Machado et al. (2013), De Carli et al. (2015), De Carli et al. (2013), Mello & Terra (1994) em comparação com outros ácidos, como por exemplo metassilicato de sódio, descrito por DeGeer et al. (2016) ou até mesmo comparações com outros produtos naturais, como por exemplo extrato de chá verde e extrato de semente de uva, como descrito por Over et al. (2009).

Tabela 1 - Exemplos de estudos com ácidos orgânicos em produtos cárneos diversos frente a diferentes microrganismos reportados na literatura.

| Tratamento | Produto | Microrganismo | Referência |
|---|-----------------------------------|---|----------------------------|
| Ácido Acético | Carne Frango moída | <i>Salmonella</i> spp | Chai & Sheen (2021) |
| Ácido Lático Ácido Acético | Carne Bovina | <i>E. coli</i> | Machado et al. (2018) |
| Ácido Lático | Carne Bovina Carne Suína Frios | <i>E. coli</i> <i>Salmonella</i> spp. <i>L. monocytogenes</i> | DeGeer et al. (2016) |
| Ácido Lático Ácido Ascórbico Ácido Cítrico Ácido Acético | Pernil Suíno | Aeróbios Mesófilos Psicrotróficos <i>Salmonella</i> spp. | De Carli et al. (2015) |
| Ácido Lático Ácido Ascórbico Ácido Cítrico Ácido Acético | Barriga Suína | Aeróbios Mesófilos Psicrotróficos Coliformes Totais e Fecais <i>Salmonella</i> spp | De Carli et al. (2013) |
| Ácido Cítrico Ácido Ascórbico Ácido Lático | Pernil Suíno | <i>S. Typhimurium</i> | Machado et al. (2013) |
| Ácido Acético Ácido Cítrico Ácido Lático | Carne de peito de Frango | <i>E. coli</i> <i>L. monocytogenes</i> <i>S. Typhimurium</i> | Over et al. (2009) |
| Ácido Lático | Carne Bovina | <i>S. Typhimurium</i> <i>L. monocytogenes</i> | Özdemir et al. (2006) |
| Ácido Lático Ácido Acético | Carne Ovina / Caprina | <i>S. aureus</i> <i>L. monocytogenes</i> <i>E. coli</i> <i>S. Typhimurium</i> . | Dubal et al. (2004) |
| Ácido Acético | Carne Ovina | Mesófilos Coliformes Totais e Fecais | Vasconcelos et al. (2002) |
| Ácido Acético | Bifes Bovinos | <i>E. coli</i> <i>S. Typhimurium</i> | Tinney et al. (1997) |
| Ácido Ascórbico Ácido Lático | Carne de Frango | Aeróbios Totais | Mello & Terra (1994) |
| Ácido Lático | Carcaça de Bezerros | <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Salmonella</i> spp. | Woolthuis & Smulders 1985) |

Fonte: Autora (2021).

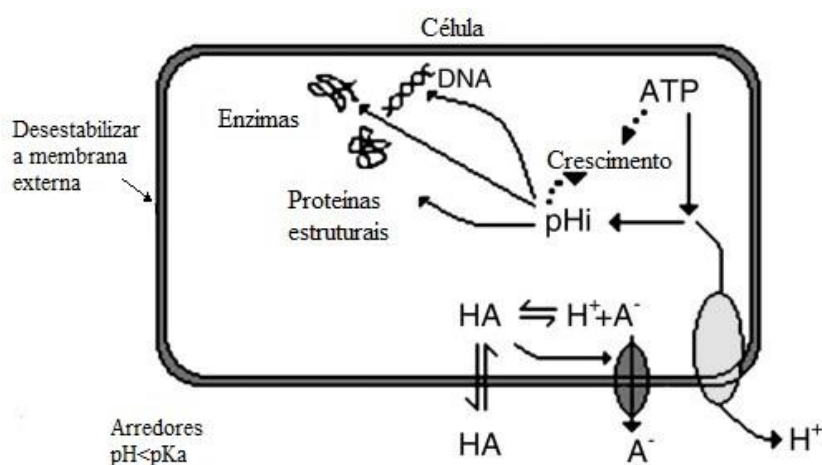
Ainda são encontrados estudos utilizando sinergismo com outras técnicas: luz pulsada, (TINNEY et al. 1997), vapor sob pressão (MACHADO et al. 2013), radiação UV (DE CARLI et al. 2015; DE CARLI et al. 2013) e processamento de alta pressão – HPP (CHAI & SHEEN, 2021). Os microrganismos também dependem do tipo de produto estudado, pois

geralmente a pesquisa é conduzida com os que são mais comumente encontrados em análises de rotina das indústrias processadoras.

3.6.1 Mecanismo de ação dos ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos e seus sais são considerados ácidos fracos, atuam diminuindo a polaridade da molécula e aumentando a difusão do ácido através da membrana para o citoplasma, tornando-o com alto acúmulo de ânion dissociados a níveis tóxicos, inibindo a capacidade do microrganismo em realcalinizar seu citoplasma (MANI-LOPEZ et al., 2012), em outras palavras esse é um mecanismo lipofílico, pelo qual os íons de hidrogênio penetram a membrana celular do microrganismo acidificando o seu interior e inibindo consequentemente o transporte de nutrientes (De CARLI et al., 2015; SILVA et al., 2015).

Figura 1 – Ilustração que exemplifica o mecanismo de ação dos ácidos orgânicos.



Fonte: Mani-Lopez et al. (2012).

Para Adams (1999) a eficácia dos ácidos orgânicos puros ou combinados é o resultado da concentração, pKa e da capacidade de quelação dos ácidos. Segundo o autor, os ácidos orgânicos têm sido considerados como responsáveis pela quebra no metabolismo de aminoácidos, síntese do DNA e metabolismo energético dos microrganismos. Os ácidos diminuem o pH intracelular e podem causar alteração na permeabilidade da membrana com o bloqueio do substrato do sistema de transporte de elétrons. Os ácidos lipofílicos fracos como láctico, acético ou propiônico são capazes de passar através da membrana celular de microrganismos em seu estado não dissociado e dissociam-se no interior da célula, produzem íons H^+ que diminuem o pH da célula. As células reagem eliminando os prótons tentando

manter o pH constante e esse mecanismo faz com que o gasto energético seja maior, reduzindo o crescimento celular microbiano. Por sua vez os ânions RCOO^- do ácido, impedem a síntese de DNA e RNA fazendo com que o microrganismo não se replique (TUGNOLI et al., 2020).

4. MATERIAL E MÉTODOS

Neste item será descrita a metodologia empregada para avaliar o comportamento das bactérias *E.coli*, *S. enterica* sorovar Choleraesuis, *S. aureus* e *L. monocytogenes* utilizadas na contaminação de gordura de papada suína *in natura* e posteriormente tratadas com ácidos orgânicos (lático, acético, glicólico, cítrico e ascórbico) em função do tempo de contato.

4.1 Preparo do Inóculo

As bactérias, *E. coli* ATCC 25922, *S. enterica* sorovar Choleraesuis ATCC 10708, *S. aureus* ATCC 25923 e *L. monocytogenes* ATCC 7644, utilizadas neste estudo, foram obtidas da coleção de culturas do Laboratório de Biotecnologia da URI Erechim. O inóculo foi preparado pela transferência da cultura estoque em um tubo de ensaio com 10 mL de meio líquido Luria Bertani LB (triptona 10,0 g L⁻¹, extrato de levedura 5,0 g L⁻¹, NaCl 5,0 g L⁻¹) sob condições assépticas, sendo incubados a 36°C ±1°C por 24 h em estufa bacteriológica (J.Prolab, JP 101) (CANSIAN et al., 2010).

4.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Para os testes de concentração inibitória mínima foi utilizado o método indireto de crescimento bacteriano através da densidade óptica em meio de cultura líquido. Após o crescimento prévio das bactérias, *E. coli*, *S. enterica* sorovar Choleraesuis, *S. aureus* e *L. monocytogenes*, em meio Luria Bertani (LB) durante 24 h a 36 ± 1 °C em estufa bacteriológica (J.PROLAB, JP 101), foram inoculados 10 µL das culturas bacterianas (separadamente) em microplacas de fundo plano, para cada concentração dos ácidos orgânicos (ácido lático, ácido acético, ácido ascórbico, ácido cítrico e ácido glicólico). Submeteu-se à leitura da absorbância no tempo zero e após 24 h de incubação a 36 ± 1 °C em estufa bacteriológica, através de leitor automático de microplacas ELISA (Bio Tek Instruments, EL 800), acoplado em computador com programa KcJunior, com comprimento de onda de 490 nm. A densidade óptica foi determinada pela diferença entre as leituras (0 e 24 h), sendo que a CIM foi definida como a menor concentração de amostra capaz de inibir o crescimento microbiano (GAIO et al., 2015). Como controles do teste foram utilizados somente os ácidos e as bactérias em poços separados. Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

4.3 Contaminação das Amostras e Tratamento com Ácidos Orgânicos

Para avaliar a ação dos ácidos orgânicos no controle microbiano da gordura de papada suína *in natura*, primeiramente realizou-se a contaminação de 5 g de amostra pela imersão (10 cubos de aproximadamente 2,5cm cada), a temperatura ambiente, em frascos contendo 100 mL de caldo LB acrescido de um volume de suspensão de células bacterianas, de forma a obter-se uma contagem de 10^6 UFC/mL. As amostras foram imersas nos erlenmeyers com auxílio de uma pinça esterilizada permanecendo por 1 min.

Após este período em contato com cada microrganismo, separadamente, as amostras foram retiradas da suspensão de bactérias com uma pinça esterilizada e transferidas imediatamente para um recipiente contendo diferentes concentrações dos ácidos láctico (0,1 a 2,0% v/v), acético (0,1 a 2,0% v/v), ascórbico (0,50 a 2,5% m/v), cítrico (0,25 a 2,25% m/v), e glicólico (0,5 a 2,0% m/v) e expostas em contato por 1, 5 e 10 min, respectivamente, com exceção do glicólico em que foi utilizado somente o tempo de 10 min. Para cada tempo de exposição foi realizado um tratamento controle contendo água destilada em substituição aos ácidos orgânicos.

Concluído o tratamento, as amostras foram retiradas do contato com as soluções de ácidos orgânicos e imersas separadamente em um tubo contendo uma solução diluente (0,1% de peptona e 3% de tween 80 em água), utilizada para neutralizar a ação de resíduos dos ácidos orgânicos. Com auxílio de Stomaker (Stomaker® 400 Circulator, Seward Limited UK), as amostras foram homogeneizadas e, posteriormente 1 mL da solução foi cuidadosamente semeada em placas de ágar LB, incubadas a 35-37 °C durante 24 h em estufa bacteriológica (J.PROLAB, JP 101), para contagem de colônias. Os resultados foram expressos em UFC/g. Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

Após avaliar o tipo de ácido, a concentração e o tempo de exposição, foi estudada a combinação dos ácidos frente aos microrganismos previamente impregnados em amostras de gordura de papada suína *in natura*, com exceção do ácido glicólico em que não foram estudadas combinações com outros ácidos.

4.4 Análise Estatística

Os resultados foram tratados estatisticamente por ANOVA seguido de comparação das médias pelo teste de Tukey ou t de Student, com auxílio do software *Past*, com 95% de confiança. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste item serão apresentados os resultados e discussões referentes ao comportamento dos microrganismos empregados na contaminação de gordura de papada suína *in natura* frente a exposição a diferentes tipos, concentrações e tempos de contato com ácidos orgânicos.

5.1 Concentração inibitória mínima dos ácidos orgânicos

A concentração inibitória mínima (CIM) do ácido ascórbico, cítrico, glicólico, acético e láctico foi realizada por microdiluição em placa de ELISA com as cepas das bactérias *E. coli*, *S. enterica* sorovar Choleraesuis, *S. aureus* e *L. monocytogenes* e os resultados estão expressos na Tabela 2.

Tabela 2 - Concentração Inibitória Mínima do ácido ascórbico, cítrico, glicólico, acético e láctico frente à *E. coli*, *S. enterica* sorovar Choleraesuis, *S. aureus* e *L. monocytogenes*.

| Bactérias | | CIM (%) | | | | |
|---|-------|-----------------|---------------|-----------------|---------------|---------------|
| | | Ácido Ascórbico | Ácido Cítrico | Ácido Glicólico | Ácido Acético | Ácido Láctico |
| Gram Negativas | ATCC | | | | | |
| <i>E. coli</i> | 25922 | 0,750 | 0,375 | 0,125 | 0,125 | 0,125 |
| <i>S. enterica</i> sorovar Choleraesuis | 10708 | 0,750 | 0,375 | 0,125 | 0,094 | 0,094 |
| Gram Positivas | ATCC | | | | | |
| <i>S. aureus</i> | 25923 | 0,750 | 0,375 | 0,125 | 0,125 | 0,094 |
| <i>L. monocytogenes</i> | 7644 | 0,750 | 0,375 | 0,188 | 0,125 | 0,094 |

Fonte: Autora (2021). *ATCC: American Type Culture Collection (USA).

Ao analisar a Tabela 2, percebe-se que o ácido ascórbico necessitou a maior concentração, 0,75%, para inibição do crescimento dos microrganismos testados. O ácido cítrico demandou uma quantidade intermediária de 0,375% para todos as bactérias. Enquanto que o ácido glicólico apresentou valores de 0,188% para *L. monocytogenes* e 0,125% para *S. enterica* sorovar Choleraesuis, *E. coli* e *S. aureus*. Os ácidos acético e láctico foram os que se destacaram, necessitando concentrações menores para inibição do crescimento destes microrganismos, variando entre 0,094 e 0,125%.

Avaliando os resultados nota-se uma linearidade dos ácidos ascórbico e cítrico, apresentando o mesmo valor da CIM tanto para as bactérias Gram-negativas quanto para as Gram-positivas, 0,75 e 0,375%, respectivamente, o que facilitaria o possível uso

industrialmente, porém são os que apresentam os maiores valores necessários para inibição do crescimento microbiano. Já os ácidos glicólico, acético e láctico apresentaram resultados distintos para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, variando de 0,094 a 0,188 %, sendo necessário a utilização do percentual maior a fim de inibir o crescimento do maior número de microrganismos, mas mesmo assim, esses valores são inferiores aos apresentados pelos ácidos ascórbico e cítrico.

Mello & Terra (1994) relataram o emprego destes ácidos em carcaças animais e concluíram que o uso combinado de um ou mais métodos de controle ou o uso de uma solução de ácidos, possui maior efetividade na redução da contagem microbiana do que o uso individual de cada ácido. O ácido ascórbico é considerado um antioxidante, além de possuir característica lipossolúvel (SILVA, 1999). Blanque (2020) descreveu o uso do ácido glicólico como agente germicida limitado, a concentrações de 3%, porém para uso em sistemas leiteiros no *pré e pós dipping*. Machado et al. (2018) observaram contagens menores de aeróbios mesófilos ao se utilizar ácido láctico a 1% após 14 dias de armazenamento em amostras de carne bovina, demonstrando sua eficácia.

Zabot (2016), observou que o ácido láctico apresentou a CIM para *S. Typhimurium*, *S. Heidelberg* e *S. Enteritidis* de 10g/L (1%), 20g/L (2%) e 5g/L (0,5%), respectivamente, demonstrando haver diferença de susceptibilidade entre cepas de mesmo gênero bacteriano.

5.2 Tratamentos com Ácidos Orgânicos

A eficácia de diferentes concentrações e tempo de contato dos ácidos láctico, acético, ascórbico e cítrico foi avaliada após as amostras de gordura de papada suína *in natura* serem previamente impregnadas com as bactérias *E. coli*, *S. enterica* sorovar Choleraesuis, *S. aureus* e *L. monocytogenes*.

5.2.1 *Escherichia coli*

A Tabela 3 apresenta os resultados de crescimento de *E. coli* (UFC/g) em cubos de gordura suína previamente contaminados por 1 min e em seguida expostos a diferentes tempos de contato em diferentes concentrações e tipos de ácidos.

Tabela 3 - Crescimento de *E. coli* (UFC/g) em cubos de gordura suína previamente contaminados expostos a diferentes tempos de contato e concentrações de ácidos orgânicos.

| Crescimento (UFC/g) | | | |
|---------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| Ácido Lático | | | |
| Concentração (%) | 1 min | 5 min | 10 min |
| 2,00 | 380 ^{eA} ± 125 | 370 ^{dA} ± 112 | 180 ^{dA} ± 123 |
| 1,75 | 340 ^{eA} ± 137 | 394 ^{dA} ± 134 | 175 ^{dA} ± 134 |
| 1,50 | 420 ^{deA} ± 146 | 405 ^{dA} ± 142 | 192 ^{dA} ± 145 |
| 1,25 | 475 ^{deA} ± 142 | 468 ^{dA} ± 130 | 146 ^{dB} ± 126 |
| 1,00 | 539 ^{deA} ± 112 | 392 ^{dAB} ± 121 | 183 ^{dB} ± 114 |
| 0,75 | 480 ^{deA} ± 154 | 429 ^{dA} ± 149 | 114 ^{dB} ± 109 |
| 0,50 | 676 ^{dA} ± 146 | 834 ^{cA} ± 118 | 183 ^{dB} ± 141 |
| 0,25 | 671 ^{dA} ± 133 | 700 ^{cA} ± 137 | 872 ^{cA} ± 164 |
| 0,10 | 4.411 ^{cA} ± 240 | 952 ^{cB} ± 148 | 597 ^{cC} ± 133 |
| 0,05 | 6.754 ^{bA} ± 356 | 2.632 ^{bb} ± 135 | 2.616 ^{bb} ± 147 |
| 0,00 | 6.800 ^{aA} ± 356 | 6.800 ^{aA} ± 356 | 6.800 ^{aA} ± 356 |
| Ácido Acético | | | |
| 2,00 | 279 ^{fA} ± 148 | 165 ^{eA} ± 164 | 196 ^{eA} ± 137 |
| 1,75 | 495 ^{efA} ± 142 | 314 ^{eA} ± 136 | 442 ^{deA} ± 129 |
| 1,50 | 743 ^{eA} ± 135 | 462 ^{eA} ± 128 | 565 ^{dA} ± 134 |
| 1,25 | 3.466 ^{dA} ± 234 | 2.376 ^{dB} ± 214 | 418 ^{deC} ± 147 |
| 1,00 | 4.889 ^{cA} ± 261 | 2.657 ^{dB} ± 249 | 1.766 ^{cC} ± 237 |
| 0,75 | 5.693 ^{bA} ± 248 | 2.987 ^{cdB} ± 252 | 2.044 ^{cC} ± 261 |
| 0,50 | 6.715 ^{aA} ± 314 | 3.531 ^{bcB} ± 238 | 3.860 ^{bb} ± 268 |
| 0,25 | 6.931 ^{aA} ± 321 | 3.927 ^{bb} ± 263 | 3.925 ^{bb} ± 306 |
| 0,10 | 6.622 ^{aA} ± 436 | 4.070 ^{bb} ± 347 | 4.245 ^{bb} ± 325 |
| 0,00 | 7.458 ^{aA} ± 341 | 7.458 ^{aA} ± 341 | 7.458 ^{aA} ± 341 |
| Ácido Cítrico | | | |
| 2,25 | 840 ^{eA} ± 138 | 363 ^{dB} ± 146 | 481 ^{eB} ± 132 |
| 2,00 | 728 ^{eA} ± 149 | 517 ^{efA} ± 172 | 701 ^{deA} ± 143 |
| 1,75 | 997 ^{eA} ± 124 | 737 ^{eA} ± 148 | 949 ^{dA} ± 161 |
| 1,50 | 1.588 ^{dA} ± 145 | 869 ^{eB} ± 194 | 1.279 ^{cdAB} ± 236 |
| 1,25 | 1.594 ^{dA} ± 173 | 1.089 ^{dB} ± 181 | 1.293 ^{cdAB} ± 186 |
| 1,00 | 1.614 ^{dA} ± 182 | 1.573 ^{cA} ± 173 | 1.423 ^{cA} ± 137 |
| 0,75 | 2.223 ^{cA} ± 268 | 1.980 ^{cA} ± 184 | 1.794 ^{bcA} ± 249 |
| 0,50 | 3.149 ^{bA} ± 157 | 2.970 ^{bA} ± 181 | 1.939 ^{bb} ± 143 |
| 0,25 | 3.766 ^{bA} ± 224 | 3.696 ^{bA} ± 214 | 2.042 ^{bb} ± 196 |
| 0,00 | 5.445 ^{aA} ± 317 | 5.445 ^{aA} ± 317 | 5.445 ^{aA} ± 317 |
| Ácido Ascórbico | | | |
| 2,50 | 1593 ^{cA} ± 137 | 1563 ^{dA} ± 152 | 1441 ^{eA} ± 141 |
| 2,25 | 1779 ^{cA} ± 181 | 1659 ^{dA} ± 172 | 1386 ^{eA} ± 125 |
| 2,00 | 2048 ^{cA} ± 168 | 1583 ^{dAB} ± 203 | 1221 ^{eB} ± 184 |
| 1,75 | 2793 ^{bA} ± 154 | 2517 ^{cA} ± 162 | 2145 ^{dB} ± 135 |
| 1,50 | 4738 ^{aA} ± 245 | 4577 ^{bA} ± 198 | 2574 ^{cB} ± 236 |
| 1,25 | 4965 ^{aA} ± 213 | 4539 ^{bA} ± 234 | 3729 ^{cB} ± 214 |
| 1,00 | 5110 ^{aA} ± 264 | 4386 ^{bb} ± 213 | 3762 ^{cC} ± 221 |
| 0,75 | 5069 ^{aA} ± 197 | 5149 ^{aA} ± 167 | 4455 ^{bb} ± 192 |
| 0,00 | 5159 ^{aA} ± 206 | 5159 ^{aA} ± 206 | 5159 ^{aA} ± 206 |

Médias ± desvio padrão seguidas de letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p<0,05).

Ao analisar a Tabela 3, os resultados demonstram que para as concentrações entre 0,75 a 2,00 % de ácido lático apresentam eficácia no controle do crescimento de *E. coli* e são significativamente iguais em todos os tempos de contato estudados. E que para a concentração de 1,00% pode-se empregar tempos de contato menores, de 1 e 5 min, e mesmo assim tendo a mesma eficácia, pois são estatisticamente iguais ($p>0,05$). De acordo com esses resultados, sugere-se que para as concentrações maiores entre 1,00 e 2,00 %, mesmo o menor tempo de contato teria a mesma eficiência que o tempo de contato maior, já para as menores concentrações, apenas o maior tempo de exposição, 10 min, é o que apresenta maior controle no crescimento microbiano.

Em relação as reduções em Log_{10} (UFC/g), com a maior concentração de ácido lático, 2,00%, nos tempos de exposição de 1 e 5 min ocorreria uma redução de 1,25, e 1,26, respectivamente, enquanto que com 10 min de exposição a redução passa para 1,57. Já para a concentração de 0,50% a redução em Log_{10} (UFC/g) é de 1,57 quando a exposição ocorre durante 10 min, sendo este resultado igual aos obtidos com concentrações maiores em tempos menores. Diante disso, as empresas de processamento de alimentos podem optar por empregar maiores concentrações do ácido lático ou maiores tempos de contato de acordo com a dinâmica produtiva.

Os resultados para os experimentos com ácido acético (Tabela 3) demonstram que entre as concentrações de 2,00 a 1,50% a eficácia não difere ($p>0,05$) em todos os tempos analisados, sendo que para a concentração de 1,50% o controle do crescimento de *E. coli* foi igual nos tempos de contato tanto de 1 quanto de 10 min. De acordo com esses resultados, sugere-se que para as concentrações maiores pode-se empregar tempos menores de exposição obtendo os mesmos resultados.

Ao considerar as reduções em Log_{10} (UFC/g) de *E. coli* para a concentração de 2,00% de ácido acético obteve-se para os tempos de exposição de 1, 5 e 10 min Log_{10} de 1,42, 1,65 e 1,58 respectivamente, já para a concentração de 1,25%, obteve-se 0,33, 0,49 e 1,25 nos mesmos tempos de exposição, dessa forma, pode-se considerar a última concentração como a efetiva mínima.

O ácido cítrico apresentou maior redução no crescimento de *E. coli* em UFC/g nas concentrações de 1,75%, para os tempos de 1 e 5 min, e de 2,00% para 10 min, sem diferença estatística (Tabela 3). Ainda, analisando os resultados da Tabela 3, ao realizar o tratamento com 1,50% de ácido cítrico, por 1 e 10 min, não é observada diferença estatística significativa ($p>0,05$), porém a maior redução foi encontrada ao empregar 5 min de contato do ácido com as amostras de gordura.

Ao realizar as reduções em Log_{10} (UFC/g) empregando a maior concentração estudada, 2,25% obteve-se reduções de 0,82, 1,18 e 1,06 para os tempos de 1, 5 e 10 min, respectivamente. Já ao empregar a concentração de 1,25% todos os tempos de exposição apresentaram redução abaixo de 1,00, ou seja, 0,54, 0,70 e 0,63 para 1, 5 e 10 min, respectivamente, sendo essa considerada a concentração efetiva mínima para esse ácido.

Os experimentos com ácido ascórbico demonstram que para as concentrações de 2,50 até 2,00% a eficiência é semelhante, sem diferença estatística ($p > 0,05$), para todos os tempos estudados. Porém ao se comparar os tempos de contato, empregando a concentração de 2,00%, 10 min apresenta a maior redução, sendo estatisticamente igual a 5 min. Para a concentração de 1,75% e menores, os tempos de exposição de 1 e 5 min se assemelharam entre si, bem como 10 min continuou sendo o mais eficiente.

De acordo com as reduções em Log_{10} (UFC/g), nem mesmo com as maiores concentrações e maior tempo de exposição obteve-se resultado acima de 1,00. Para a concentração de 2,50% a maior redução foi de 0,55 com 10 min de exposição, para a concentração de 2,25% obteve-se 0,57 com 10 min de exposição, mas a maior redução foi de 0,62 com a concentração de 2,00% por 10 min de exposição, que pode ser considerada a concentração efetiva mínima, nesse caso.

Na Figura 2 é demonstrado o percentual de crescimento de *E. coli* na presença de diferentes concentrações e tempos de exposição aos ácidos láctico, acético, cítrico e ascórbico em relação ao controle (sem ácidos orgânicos). Na Figura 3 é apresentado o comparativo entre os ácidos láctico, acético, cítrico e ascórbico na inibição do crescimento de *E. coli* em cubos de gordura suína expostos a diferentes concentrações por 10 min.

O ácido láctico (Figura 2a) foi o que demonstrou os melhores resultados para inibição do crescimento da *E. coli* em comparação aos outros ácidos, pois praticamente em todos os tempos de exposição nas concentrações entre 0,25 e 2,00% os resultados foram satisfatórios pois inibiu o crescimento do microrganismo mantendo a níveis abaixo de 10%. O ácido acético (Figura 2b) demonstrou bons resultados de inibição entre as concentrações de 1,5 a 2,00% em todos os tempos de exposição, a partir de então o tempo de 1 min se distanciou consideravelmente dos demais tempos de exposição, o que pode-se sugerir que o tempo de 1 min de exposição é somente eficaz em concentrações superiores. O ácido cítrico (Figura 2c) apresentou uma relação entre a concentração e inibição do crescimento de *E. coli*, ou seja, conforme a concentração do ácido diminui, o crescimento do microrganismo aumentou, não diferindo significativamente entre os tempos de exposição. O ácido ascórbico (Figura 2d) foi o que apresentou maior crescimento de *E. coli*, mesmo com a maior concentração empregada, e entre as concentrações de 1,75 a 2,5% não diferiu estatisticamente entre os tempos de

exposição, o que ocorreu a partir da concentração de 1,5% onde apenas o tempo de 10 min de exposição apresentou uma inibição do crescimento aceitável.

Figura 2 - Percentual de crescimento de *E. coli* em presença de diferentes concentrações de ácidos láctico (a), acético (b), cítrico (c) e ascórbico (d) em relação ao controle.

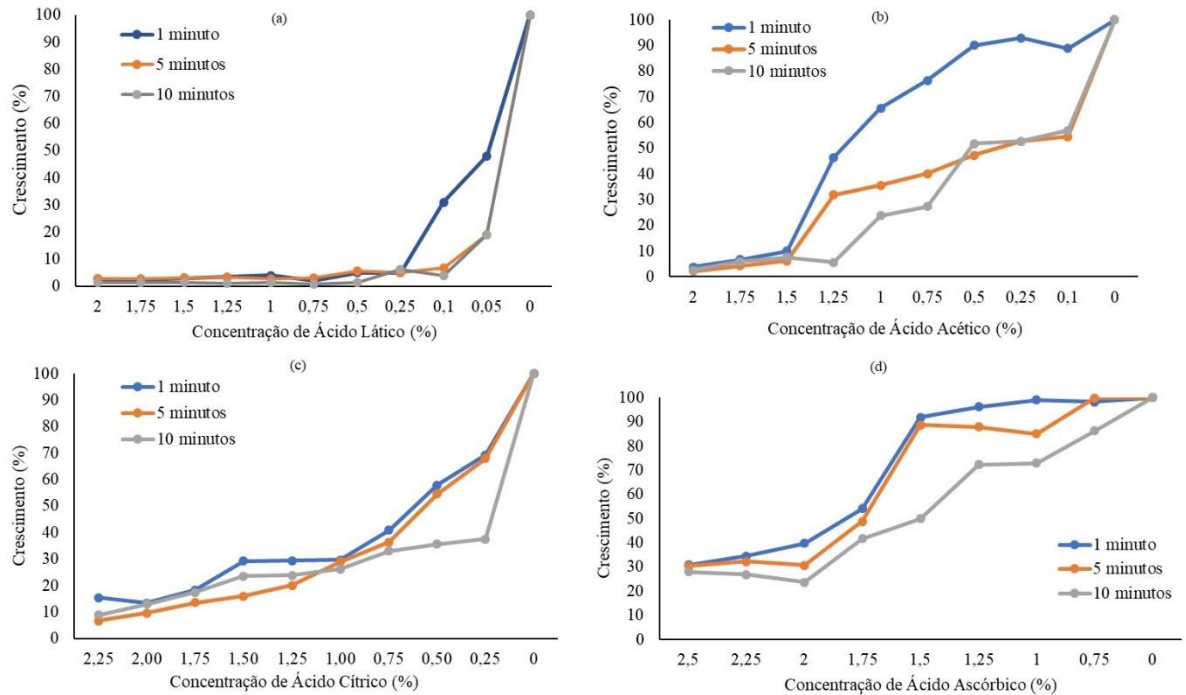
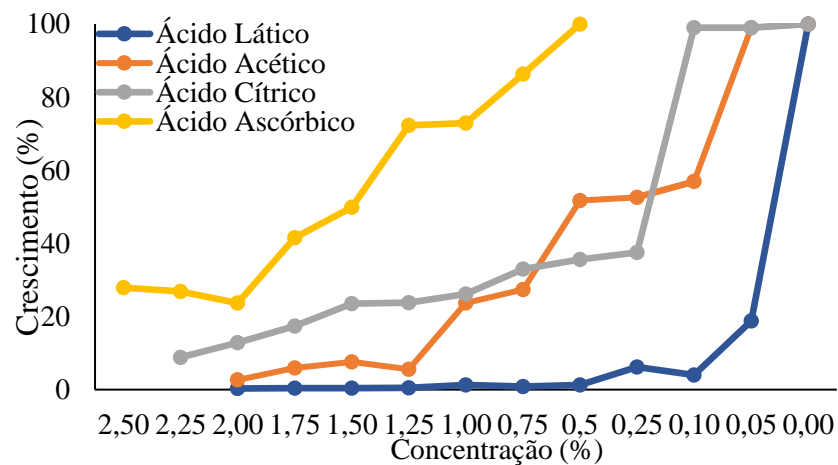


Figura 3 - Comparativo entre os ácidos láctico, acético, cítrico e ascórbico na inibição do crescimento de *E. coli* em cubos de gordura suína expostos a diferentes concentrações por 10 min.



De acordo com a Figura 3, que demonstra o crescimento de *E. coli*, frente a exposição aos diferentes ácido pelo tempo de 10 min, pode-se confirmar que o ácido láctico apresenta os

melhores resultados, mantendo os resultados de crescimento do microrganismo, em maior parte, abaixo de 10%, seguido pelos ácidos acético, que mantém o crescimento abaixo de 25% (até a concentração de 1,00%), cítrico que mantém o crescimento abaixo de 30% (até a concentração de 1,00%) e, por último o ácido ascórbico, pois já permite o crescimento do microrganismo a níveis acima de 20% (desde a concentração de 2,50%).

A Tabela 4 apresenta a redução de contagem de *E. coli* (Log_{10} UFC/g) em cubos de gordura suína na concentração efetiva mínima de diferentes ácidos orgânicos em diferentes tempos de exposição. Através desses resultados, pode-se observar que a bactéria *E. coli* foi inibida com maior eficiência pelo ácido láctico, apresentando redução de 1,57 Log_{10} (UFC/g) com apenas 0,50% de concentração com 10 min de exposição. Já o ácido acético necessitou de mais que o dobro dessa concentração, 1,25%, para obter uma redução em Log_{10} (UFC/g) de 1,25 em 10 min de exposição.

Tabela 4 - Redução de contagem de *E. coli* (Log_{10} UFC/g) em cubos de gordura suína na concentração efetiva mínima de diferentes ácidos orgânicos em diferentes tempos de exposição.

| Ácido | Concentração (%) | Redução (Log_{10} UFC/g) | | |
|-----------|------------------|------------------------------------|-------|--------|
| | | 1 min | 5 min | 10 min |
| Lático | 0,50 | 1,00 | 0,91 | 1,57 |
| Acético | 1,25 | 0,33 | 0,49 | 1,25 |
| Cítrico | 1,25 | 0,54 | 0,70 | 0,63 |
| Ascórbico | 2,00 | 0,40 | 0,51 | 0,62 |

Os ácidos cítrico e ascórbico obtiveram as menores reduções, 0,63 e 0,62 Log_{10} (UFC/g), com concentrações de 1,25 e 2,00% para 10 min de exposição, respectivamente.

Machado et al. (2018), ao utilizar ácido acético e láctico em amostras de carne bovina, ambos em concentração de 1,0%, de forma individual, frente a contaminação artificial com *E. coli*, percebeu que o ácido láctico foi mais eficiente em reduzir a contagem microbiana após 14 dias de armazenamento sob refrigeração do que o ácido acético nas mesmas condições. Over et al. (2009), descreveram que o ácido cítrico possui efeito inibitório sobre *E. coli* a concentração de 150,0 mM, pois a redução após 12 dias de armazenamento foi de aproximadamente 5 Log_{10} UFC/g.

Tinney et al. (1997), concluíram que o tratamento de bifes bovinos com ácido acético a 2,0% reduziu a contagem de *E. coli* em 67%, no mesmo estudo houve a mesma avaliação de um tratamento somente com luz pulsada, em que não foram obtidos resultados satisfatórios, porém ao se associar o tratamento de ácido acético com luz pulsada, houve uma redução de 62% de *E. coli*, deixando claro que esse ácido possui efeito sobre o microrganismo.

De Geer et al. (2016), testaram ácido láctico em carne fresca bovina e suína obtendo um resultado de 4% como sendo a concentração mais baixa capaz de diminuir a carga microbiana, considerando *E. coli*.

5.2.2 - *Salmonella enterica* sorovar Choleraesuis

A Tabela 5 apresenta os resultados de crescimento de *S. enterica* sorovar Choleraesuis (UFC/g) em cubos de gordura suína previamente contaminados por 1 min e logo em seguida expostos a diferentes tempos de contato em diferentes concentrações e tipos de ácidos láctico, acético, cítrico e ascórbico.

Os resultados demonstram que após a contaminação prévia dos cubos de gordura com *S. enterica* sorovar Choleraesuis e expostos a diferentes tempos de contato e diferentes concentrações ao ácido láctico, que para as concentrações entre 2,00 a 1,25% a eficácia foi semelhante, sendo que para a concentração de 1,50% pode-se afirmar que os tempos de contato de 5 e 10 min são estatisticamente iguais ($p>0,05$). De acordo com esses resultados, sugere-se que para concentrações maiores entre 2,00 e 1,25%, os tempos de contato são indiferentes na eficácia, já a partir de 1,00 a 0,25%, o tempo de exposição de 1 min é menos eficiente que os tempos de 5 e 10 min, que se equivalem em eficiência. Em relação as reduções do crescimento do microrganismo em Log_{10} (UFC/g), com a concentração de 2,00% para os tempos de exposição de 1, 5 e 10 min ocorrem as reduções de 1,08, 1,44 e 1,56, respectivamente. Já com a concentração de 1,25%, obteve-se 0,87, 0,91 e 1,23, respectivamente.

Após a contaminação prévia dos cubos de gordura *in natura* com *S. enterica* sorovar Choleraesuis e expostos a diferentes tempos de contato e diferentes concentrações ao ácido acético, verificou-se que para as concentrações entre 2,00 a 1,25% a eficácia foi semelhante, considerando os tempos de exposição de 5 e 10 min ($p>0,05$). De acordo com esses resultados, sugere-se que para as concentrações entre 2,00 e 1,00%, os tempos de contato são indiferentes na eficácia, já a partir de 1,00 a 0,25%, o menor tempo de exposição de 1 min é menos eficiente que os tempos de exposição de 5 e 10 min, os quais se equivalem, sendo estatisticamente iguais ($p>0,05$).

Tabela 5 - Crescimento de *S. enterica* sorovar Choleraesuis (UFC/g) em cubos de gordura suína previamente contaminados expostos a diferentes tempos de contato e tipos e concentrações de ácidos orgânicos.

| Crescimento (UFC/g) | | | |
|---------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Ácido Lático (%) | | | |
| Concentração (%) | 1 min | 5 min | 10 min |
| 2,00 | 594 ^{gA} ± 87 | 257 ^{dB} ± 48 | 197 ^{dB} ± 62 |
| 1,75 | 873 ^{fA} ± 91 | 316 ^{dB} ± 49 | 198 ^{dB} ± 56 |
| 1,50 | 1.139 ^{eA} ± 102 | 237 ^{dB} ± 58 | 308 ^{dB} ± 79 |
| 1,25 | 961 ^{eA} ± 117 | 862 ^{cB} ± 97 | 418 ^{dC} ± 78 |
| 1,00 | 1.847 ^{dA} ± 126 | 872 ^{cB} ± 103 | 803 ^{cB} ± 112 |
| 0,75 | 2.050 ^{cdA} ± 221 | 773 ^{cB} ± 137 | 1.034 ^{bcB} ± 128 |
| 0,50 | 2.480 ^{cA} ± 178 | 1.546 ^{bbB} ± 129 | 1.254 ^{bbB} ± 153 |
| 0,25 | 2.999 ^{ba} ± 217 | 1.487 ^{bbB} ± 185 | 1.298 ^{bbB} ± 154 |
| 0,10 | 6.986 ^{aA} ± 307 | 6.586 ^{aA} ± 342 | 7.029 ^{aA} ± 316 |
| 0,00 | 7.100 ^{aA} ± 314 | 7.100 ^{aA} ± 314 | 7.100 ^{aA} ± 314 |
| Ácido Acético (%) | | | |
| 2,00 | 363 ^{eA} ± 47 | 376 ^{eA} ± 83 | 248 ^{dA} ± 124 |
| 1,75 | 363 ^{eA} ± 52 | 423 ^{eA} ± 65 | 281 ^{dA} ± 116 |
| 1,50 | 817 ^{dA} ± 127 | 611 ^{dA} ± 89 | 363 ^{dB} ± 113 |
| 1,25 | 1.680 ^{cA} ± 135 | 587 ^{deB} ± 123 | 495 ^{dB} ± 145 |
| 1,00 | 1.589 ^{cA} ± 129 | 1.363 ^{cAB} ± 138 | 1.188 ^{cB} ± 147 |
| 0,75 | 3.565 ^{ba} ± 186 | 1.676 ^{cB} ± 148 | 1.502 ^{cB} ± 133 |
| 0,50 | 4.814 ^{aA} ± 242 | 2.115 ^{bbB} ± 197 | 1.573 ^{cC} ± 154 |
| 0,25 | 4.905 ^{aA} ± 228 | 2.466 ^{bbB} ± 217 | 2.288 ^{bbB} ± 236 |
| 0,10 | 4.933 ^{aA} ± 245 | 2.585 ^{bbB} ± 251 | 2.431 ^{bbB} ± 213 |
| 0,00 | 4.950 ^{aA} ± 287 | 4.950 ^{aA} ± 287 | 4.950 ^{aA} ± 287 |
| Ácido Cítrico (%) | | | |
| 2,25 | 1.287 ^{dA} ± 105 | 570 ^{eB} ± 86 | 529 ^{eB} ± 91 |
| 2,00 | 1.210 ^{dA} ± 102 | 832 ^{dB} ± 78 | 618 ^{eC} ± 77 |
| 1,75 | 1.166 ^{dA} ± 109 | 840 ^{dB} ± 112 | 882 ^{dB} ± 103 |
| 1,50 | 1.254 ^{dA} ± 127 | 1.069 ^{dA} ± 113 | 1.037 ^{dA} ± 118 |
| 1,25 | 2.112 ^c ± 173 | 2.123 ^c ± 145 | 1.544 ^c ± 134 |
| 1,00 | 2.755 ^{ba} ± 186 | 2.756 ^{ba} ± 167 | 1.787 ^{cB} ± 159 |
| 0,75 | 2.986 ^{ba} ± 193 | 3.089 ^{ba} ± 178 | 2.441 ^{bbB} ± 185 |
| 0,50 | 4.070 ^{aA} ± 224 | 3.920 ^{aA} ± 252 | 3.779 ^{aA} ± 219 |
| 0,25 | 4.059 ^{aA} ± 239 | 4.024 ^{aA} ± 241 | 4.088 ^{aA} ± 214 |
| 0,00 | 4.103 ^{aA} ± 284 | 4.103 ^{aA} ± 284 | 4.103 ^{aA} ± 284 |
| Ácido Ascórbico (%) | | | |
| 2,50 | 2.332 ^{dA} ± 201 | 2.284 ^{cA} ± 184 | 2.294 ^{dA} ± 173 |
| 2,25 | 2.624 ^{cA} ± 187 | 2.445 ^{cA} ± 175 | 2.310 ^{dA} ± 129 |
| 2,00 | 2.915 ^{cA} ± 192 | 2.605 ^{cA} ± 196 | 2.761 ^{cA} ± 158 |
| 1,75 | 3.110 ^{ba} ± 203 | 3.547 ^{ba} ± 187 | 2.849 ^{cB} ± 217 |
| 1,50 | 4.081 ^{aA} ± 262 | 3.667 ^{ba} ± 231 | 2.987 ^c ± 221 |
| 1,25 | 4.581 ^{aA} ± 281 | 4.208 ^{aA} ± 217 | 3.267 ^{bcB} ± 235 |
| 1,00 | 4.519 ^{aA} ± 248 | 4.328 ^{aA} ± 224 | 3.515 ^{bbB} ± 212 |
| 0,75 | 4.601 ^{aA} ± 237 | 4.429 ^{aA} ± 255 | 4.059 ^{aA} ± 231 |
| 0,00 | 4.609 ^{aA} ± 273 | 4.609 ^{aA} ± 273 | 4.609 ^{aA} ± 273 |

Médias ± desvio padrão seguidas de letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Em relação as reduções do crescimento de *S. enterica* sorovar Choleraesuis em Log₁₀ (UFC/g), com a maior concentração ácido acético, 2,00%, para o menor tempo de exposição, 1 min, obteve-se uma redução de 1,13, e de 5 e 10 min de exposição a redução foi de 1,09 e 1,30, respectivamente. Já ao avaliar a concentração de 1,25%, os resultados não são tão promissores, pois para 1, 5 e 10 min obteve-se 0,47, 0,92 e 1 Log₁₀ (UFC/g) de redução.

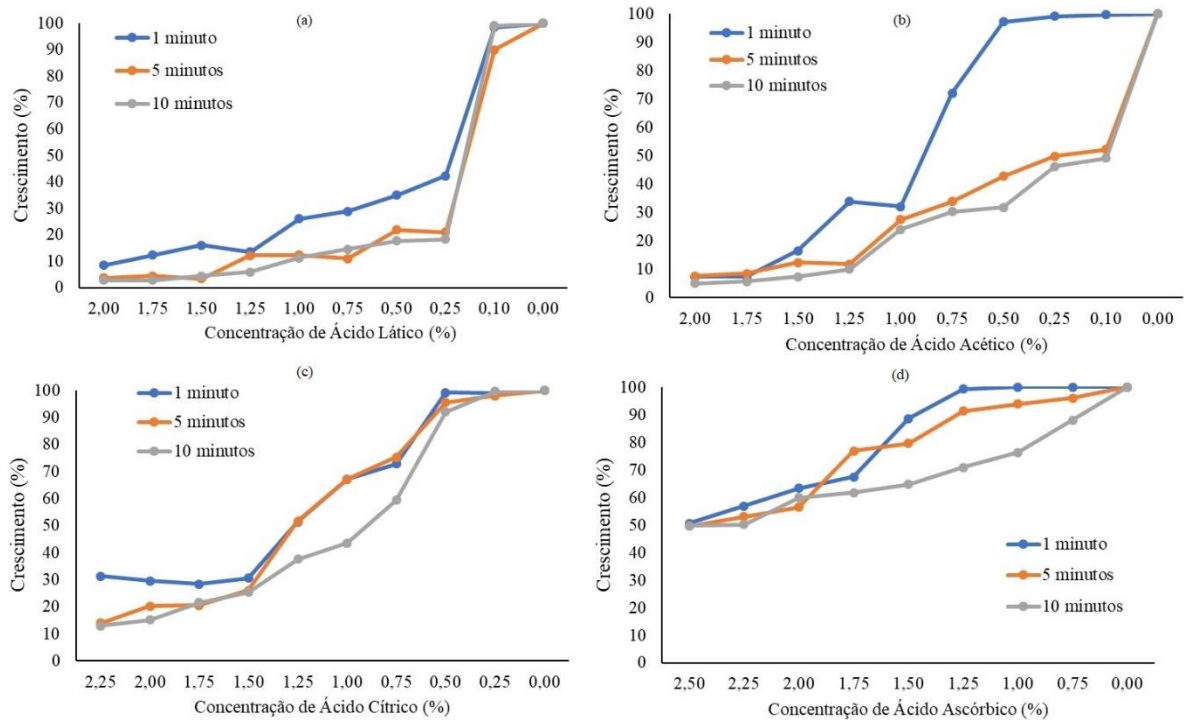
Para o tratamento dos cubos de gordura *in natura* previamente contaminada com *S. enterica* sorovar Choleraesuis (Tabela 5), os resultados demonstram que após a exposição a diferentes tempos de contato e diferentes concentrações do ácido cítrico, as concentrações entre 2,25 a 2,00% resultaram em uma eficácia semelhante ($p>0,05$). Para a concentração de 1,75%, os tempos de contato de 5 e 10 min são equivalentes em eficácia ($p>0,05$), já a partir de 1,50% a 1,00%, apenas o maior tempo de exposição de 10 min foi mais eficiente que os tempos de exposição de 5 min e 1 min, que se equivalem em eficiência. Em relação as reduções em Log₁₀ (UFC/g), mesmo com a maior concentração de 2,25%, nem o maior tempo de exposição de 10 min apresenta uma redução acima de 1,00, tendo obtido 0,50, 0,85 e 0,89 para 1, 5 e 10 min de exposição, respectivamente. Resultados inferiores a esses foram obtidos ao avaliar a concentração de 1,75%, a qual apresentou reduções de 0,54, 0,69 e 0,67 Log₁₀ (UFC/g) para 1, 5 e 10 min de exposição, respectivamente.

Em relação a avaliação de diferentes concentrações de ácido ascórbico na redução do crescimento de *S. enterica* sorovar Choleraesuis em cubos de gordura observou-se que para as concentrações entre 2,50 a 2,00% a eficácia foi similar ($p>0,05$), independentemente do tempo de exposição. Para a concentração de 1,75% pode-se afirmar que o tempo de exposição de 1 min se equivale ao de 5 min. De acordo com esses resultados, sugere-se que mesmo para as concentrações maiores entre 2,50 e 2,00%, os tempos de contato não inibem com eficiência o crescimento do microrganismo estudado, sendo que a partir da concentração de 1,75% apenas o tempo de exposição de 10 min mantém uma eficiência levemente superior ao se comparar com os tempos de exposição de 1 min e 5 min. Ao avaliar as reduções em crescimento logarítmico, observou-se que mesmo com a maior concentração estudada, de 2,50%, nenhum tempo de exposição apresentou potencial para redução acima de 1,00, tendo obtido, 0,29, 0,30 e 0,30 e para a concentração de 1,50% obteve-se as reduções de 0,05, 0,10 e 0,18 Log₁₀ (UFC/g) para os tempos de exposição de 1, 5 e 10 min, respectivamente. Com este resultado fica evidente que o ácido ascórbico não apresenta poder antimicrobiano eficaz sobre a bactéria *S. enterica* sorovar Choleraesuis.

Na Figura 4 é apresentado o percentual de crescimento da bactéria *S. enterica* sorovar Choleraesuis na presença de diferentes concentrações e tempos de exposição aos ácidos láctico,

acético, cítrico e ascórbico em relação ao controle (sem ácidos orgânicos) e na Figura 5 é apresentado o comparativo da inibição do crescimento da bactéria em cubos de gordura suína *in natura* previamente contaminados expostos a diferentes concentrações de ácidos por 10 min.

Figura 4 - Percentual de crescimento de *S. enterica* sorovar Choleraesuis em presença de diferentes concentrações de ácidos orgânicos em relação ao controle.

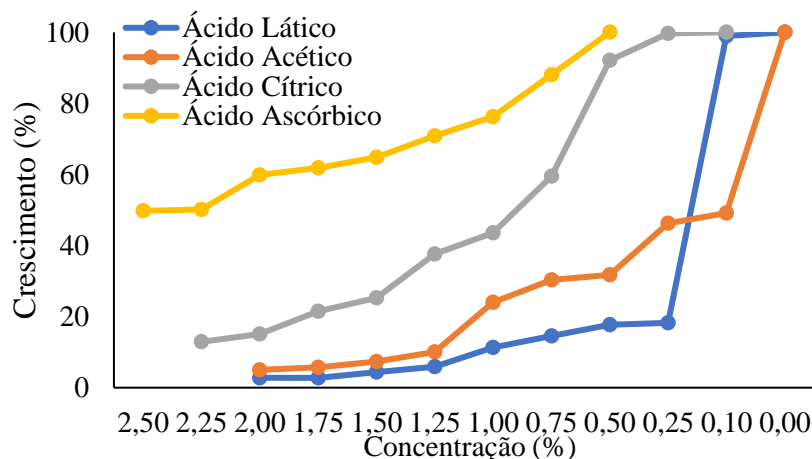


Conforme observado na Figura 4a, o ácido láctico apresentou resultados satisfatórios para a inibição do crescimento da *S. enterica* sorovar Choleraesuis em comparação aos outros ácidos, pois não permitiu o crescimento do microrganismo acima de 50% entre as concentrações de 2,00 e 0,25%, considerando todos os tempos de exposição. Porém se for considerar apenas os tempos de exposição de 5 e 10 min, esse resultado melhora ainda mais, já que não permitiu o crescimento acima de 20%. Observando o ácido acético (Figura 4b), pode-se verificar que esse ácido apresentou resultados de inibição bons entre as concentrações de 2,00% a 1,50% em todos os tempos de exposição, mantendo o crescimento abaixo de 20%, sendo que na concentração 1,25% e menores, o tempo de 1 min de exposição se distanciou dos demais pontos, com exceção da concentração de 1,00%, em que se obteve similaridade entre os tempos de exposição. Analisando o ácido cítrico (Figura 4c) pode-se perceber que entre as concentrações de 2,25 e 1,50% ocorre uma estabilidade nos níveis de crescimento, sendo mantida em níveis próximos a 30%. Já o ácido ascórbico (Figura 4d) foi o que

apresentou os piores resultados para o microrganismo em questão, visto que permitiu crescimento acima de 50% desde a concentração de 2,50%.

A Figura 5 demonstra o crescimento de *S. enterica* sorotipo *Choleraesuis* frente a exposição aos diferentes ácidos pelo tempo de 10 min, onde pode-se visualizar mais uma vez que o ácido láctico apresenta os melhores resultados, controlando o crescimento do microrganismo abaixo de 20% até a concentração de 0,25%, Comportamento similar é observado para o ácido acético, porém a concentração demandada é de 1,25%. O que não é observado no ácido cítrico que, por sua vez, apenas mantém o crescimento do microrganismo abaixo de 20% somente até a concentração de 2,00%. Já o ácido ascórbico não possui atividade antimicrobiana eficaz contra o microrganismo, pois em nenhuma concentração estudada mantém o crescimento em níveis baixos.

Figura 5 - Comparativo entre os ácidos láctico, acético, cítrico e ascórbico na inibição do crescimento de *S. enterica* sorovar *Choleraesuis* em cubos de gordura suína expostos a diferentes concentrações por 10 min.



A Tabela 6 apresenta os resultados de redução da contagem de *S. enterica* sorovar *Choleraesuis* em cubos de gordura suína *in natura*, previamente contaminada, e tratada com ácidos orgânicos na concentração efetiva mínima em diferentes tempos de exposição. Pode-se observar que a bactéria *S. enterica* sorovar *Choleraesuis* foi inibida com maior eficiência pelo ácido láctico, apresentando redução de 1,23 Log₁₀ (UFC/g) com 1,25% de concentração e 10 min de exposição, bem como o ácido acético, com a mesma concentração de obtendo redução de 1,00 Log₁₀ em 10 min de exposição. Para o ácido cítrico obteve-se 0,67 Log₁₀ (UFC/g) de redução com uma concentração de 1,75% durante 10 min de exposição. E para o ácido ascórbico obteve-se a menor redução de 0,30 Log₁₀ (UFC/g) com a maior concentração de 2,50% em 10 min de exposição.

Tabela 6 - Redução de contagem de *S. enterica* sorovar Choleraesuis (Log_{10} UFC/g) em cubos de gordura suína *in natura* na concentração efetiva mínima de diferentes ácidos orgânicos em diferentes tempos de exposição.

| Ácido | Concentração (%) | Redução (Log_{10} UFC/g) | | |
|-----------|------------------|------------------------------------|-------|--------|
| | | 1 min | 5 min | 10 min |
| Lático | 1,25 | 0,87 | 0,91 | 1,23 |
| Acético | 1,25 | 0,47 | 0,92 | 1,00 |
| Cítrico | 1,75 | 0,54 | 0,69 | 0,67 |
| Ascórbico | 2,50 | 0,29 | 0,30 | 0,30 |

Machado et al. (2013), avaliaram o tratamento de pernis suínos com imersão em solução ácida a 1.000 ppm (principal constituinte: ácido cítrico) por 5 s, concluíram que somente a ação isolada desse tratamento não foi satisfatória no controle de *Salmonella* Typhimurium, sugerindo que novos estudos poderiam delinear informações mais conclusivas, embora no mesmo estudo puderam observar que o uso simultâneo de vapor por 15 s logo após o uso da solução ácida foi mais eficaz, reduzindo em 100% a contaminação (expressos em NMP – número mais provável) de *Salmonella* spp.

Zabot (2016), ao tratar coxas de frango com solução de ácido lático a 20 g/L (2%) obteve a melhor efetividade em comparação com hipoclorito de sódio a 5mg/L, dicloro a 60mg/L e hipoclorito de sódio a 0,5mg/L, reduzindo o crescimento de *Salmonella* spp. em 4,82 Log_{10} UFC/g. De Geer et al. (2016), encontraram como resultado para controle de *Salmonella* spp uma concentração de 4% de ácido lático por 30 min de contato ao inocular a bactéria em bifés de carne bovina fresca, já que as concentrações de 1, 2 e 3% não reduziram o crescimento significativamente. Özdemir et al. (2006), observaram redução de 1,2 Log_{10} UFC/g de *S. Typhimurium* em tecido bovino imerso por 15 s em água quente (82 °C) juntamente com ácido lático a 2%.

Chai et al. (2021), verificaram a sobrevivência de *Salmonella* spp. em carne de frango moída tratada com ácido acético entre 0 e 0,2% a 4°C por 24, 48 e 72 h, constataram que não houve qualquer efeito significativo na inativação do microrganismo.

Over et al. (2009), avaliaram ácido cítrico a 150,0 mM em carne de peito de frango desossada sem pele inoculados com 10 UFC/g de *S. Typhimurium* e observaram que as contagens foram reduzidas a níveis quase indetectáveis no dia 6º de armazenamento (100 UFC/g) e para níveis indetectáveis após o 9º dia de armazenamento a 4 °C.

5.2.3 - *Staphylococcus aureus*

Os resultados da contagem de *S. aureus* (UFC/g) em cubos de gordura de papada suína *in natura* previamente contaminados por 1 min em seguida expostos a diferentes tempos de contato e concentrações de ácidos orgânicos são apresentados na Tabela 7.

Os tratamentos com ácido láctico dos cubos de gordura previamente contaminados com *S. aureus* demonstram que após a exposição a diferentes tempos de contato e diferentes concentrações de ácido, observou-se para as concentrações entre 2,00 até 1,00% a eficácia similar, em todos os tempos de exposição estudados (Tabela 7). De acordo com esses resultados, sugere-se que para as concentrações maiores entre 2,00% e 1,00%, os tempos de contato são indiferentes na eficácia, já a partir de 0,75% a 0,25%, o tempo de exposição de 1 min é bem menos eficiente que os tempos de exposição de 5 min e 10 min, que se equivalem em eficiência. Em relação as reduções em Log_{10} (UFC/g), com a maior concentração de 2,00%, todos os tempos de exposição apresentam reduções acima de 1,00 sendo de 1,96 com 10 min de exposição, de 1,95 com 5 min de exposição e de 1,92 com 1 min. Bem como a concentração de 1,25% também apresenta reduções em Log_{10} (UFC/g) acima de 1,00, de 1,68 com 10 min de exposição e de 1,29 e 1,24 com 5 min e com 1 min de exposição respectivamente.

Ao avaliar a ação do ácido acético (Tabela 7) sobre o crescimento de *S. aureus* previamente inoculado em cubos de gordura e expostos a concentrações de 2,00 a 0,10% por 1, 5 e 10 min, verificou-se que para entre 2,00 a 1,50% a eficácia no controle do crescimento é igual estatisticamente para os tempos de 1 e 10 min ($p>0,05$). Também é possível observar que para as concentrações entre 2,00 e 1,25%, os tempos de contato de 1 e 5 min não diferem estaticamente entre si ($p>0,05$), porém diferem do tempo de 10 min ($p<0,05$). Já para a concentração de 1,00% não existe diferença estatística entre os tempos estudados. Ao realizar a análise da redução do crescimento de *S. aureus*, quando foi empregado 2,00 e 1,25% de ácido, as reduções foram de 0,38, 0,44 e 0,57 e 0,24, 0,24 e 0,36 Log_{10} (UFC/g), para 1, 5 e 10 min de exposição, respectivamente.

Tabela 7 - Crescimento de *S. aureus* (UFC/g) em cubos de gordura suína previamente contaminados e expostos a diferentes tempos de contato e concentrações de ácidos orgânicos.

| Crescimento (UFC/g) | | | |
|---------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| Ácido Lático (%) | | | |
| Concentração (%) | 1 min | 5 min | 10 min |
| 2,00 | 50 ^{dA} ± 94 | 47 ^{IA} ± 81 | 46 ^{eB} ± 98 |
| 1,75 | 99 ^{dA} ± 108 | 70 ^{IA} ± 97 | 62 ^{eB} ± 94 |
| 1,50 | 110 ^{dA} ± 92 | 77 ^{IA} ± 89 | 55 ^{eB} ± 92 |
| 1,25 | 242 ^{cdA} ± 128 | 215 ^{eA} ± 134 | 88 ^{eB} ± 93 |
| 1,00 | 545 ^{cA} ± 206 | 495 ^{eA} ± 174 | 352 ^{dA} ± 136 |
| 0,75 | 2.525 ^{bA} ± 241 | 1.419 ^{dB} ± 235 | 759 ^{cdC} ± 223 |
| 0,50 | 3.416 ^{bA} ± 275 | 2.211 ^{cB} ± 267 | 1.205 ^{cC} ± 252 |
| 0,25 | 3.828 ^{abA} ± 298 | 3.168 ^{bA} ± 272 | 2.387 ^{bb} ± 285 |
| 0,10 | 3.927 ^{abA} ± 287 | 3.721 ^{abA} ± 285 | 2.672 ^{bb} ± 289 |
| 0,00 | 4.213 ^{aa} ± 316 | 4.213 ^{aa} ± 316 | 4.213 ^{aa} ± 316 |
| Ácido Acético (%) | | | |
| 2,00 | 1.705 ^{dA} ± 139 | 1.470 ^{eA} ± 129 | 1.096 ^{eB} ± 165 |
| 1,75 | 1.738 ^{dA} ± 154 | 1.890 ^{dA} ± 134 | 1.127 ^{eB} ± 123 |
| 1,50 | 1.881 ^{dA} ± 142 | 1.995 ^{cdA} ± 157 | 1.380 ^{eB} ± 143 |
| 1,25 | 2.365 ^{ca} ± 183 | 2.338 ^{cA} ± 175 | 1.766 ^{dB} ± 166 |
| 1,00 | 3.168 ^{bA} ± 221 | 3.164 ^{bA} ± 195 | 2.862 ^{cA} ± 174 |
| 0,75 | 3.960 ^{aA} ± 235 | 3.213 ^{bb} ± 185 | 3.167 ^{bcB} ± 214 |
| 0,50 | 4.026 ^{aA} ± 241 | 3.780 ^{aA} ± 261 | 3.593 ^{abA} ± 263 |
| 0,25 | 4.059 ^{aa} ± 267 | 3.885 ^{aA} ± 292 | 3.735 ^{aa} ± 269 |
| 0,10 | 4.081 ^{aa} ± 279 | 4.032 ^{aA} ± 253 | 3.979 ^{aa} ± 275 |
| 0,00 | 4.060 ^{aa} ± 294 | 4.060 ^{aa} ± 294 | 4.060 ^{aa} ± 294 |
| Ácido Cítrico (%) | | | |
| 2,25 | 1.667 ^{dA} ± 134 | 862 ^{eB} ± 109 | 840 ^{eB} ± 117 |
| 2,00 | 1.668 ^{dA} ± 129 | 1.161 ^{dB} ± 127 | 868 ^{eC} ± 104 |
| 1,75 | 2.332 ^{ca} ± 126 | 1.337 ^{dB} ± 143 | 994 ^{eC} ± 131 |
| 1,50 | 2.706 ^{bA} ± 162 | 1.830 ^{cB} ± 165 | 1.533 ^{dB} ± 139 |
| 1,25 | 2.805 ^{bA} ± 178 | 1.953 ^{cB} ± 172 | 1.911 ^{cB} ± 175 |
| 1,00 | 3.350 ^{aA} ± 271 | 2.111 ^{bcB} ± 254 | 2.086 ^{bcB} ± 237 |
| 0,75 | 3.399 ^{aA} ± 249 | 2.123 ^{bcB} ± 229 | 2.100 ^{bcB} ± 228 |
| 0,50 | 3.449 ^{aA} ± 267 | 2.310 ^{bB} ± 243 | 2.268 ^{bcB} ± 214 |
| 0,25 | 3.432 ^{aA} ± 274 | 2.639 ^{bb} ± 285 | 2.562 ^{bb} ± 241 |
| 0,00 | 3.465 ^{aA} ± 296 | 3.465 ^{aA} ± 296 | 3.465 ^{aA} ± 296 |
| Ácido Ascórbico (%) | | | |
| 2,50 | 1.258 ^{dA} ± 107 | 974 ^{eB} ± 102 | 954 ^{fB} ± 112 |
| 2,25 | 1.387 ^{ca} ± 119 | 1.172 ^{deAB} ± 117 | 1.041 ^{efB} ± 126 |
| 2,00 | 1.388 ^{ca} ± 124 | 1.386 ^{dA} ± 152 | 1.128 ^{efA} ± 123 |
| 1,75 | 1.475 ^{ca} ± 142 | 1.419 ^{dA} ± 171 | 1.388 ^{deA} ± 141 |
| 1,50 | 1.692 ^{ca} ± 163 | 1.617 ^{cdA} ± 159 | 1.605 ^{dA} ± 159 |
| 1,25 | 2.167 ^{bA} ± 158 | 2.046 ^{cA} ± 186 | 2.025 ^{ca} ± 183 |
| 1,00 | 2.169 ^{bA} ± 185 | 2.162 ^{cA} ± 207 | 2.140 ^{ca} ± 194 |
| 0,75 | 2.814 ^{bA} ± 197 | 2.888 ^{bA} ± 211 | 2.907 ^{bA} ± 282 |
| 0,50 | 3.471 ^{aA} ± 237 | 3.465 ^{aA} ± 269 | 3.362 ^{abA} ± 281 |
| 0,00 | 3.514 ^{aa} ± 274 | 3.514 ^{aa} ± 274 | 3.514 ^{aa} ± 274 |

Médias ± desvio padrão seguidas de letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p<0,05).

Os resultados referentes ao controle do crescimento de *S. aureus* previamente inoculado em gordura suína pela exposição a diferentes tempos de contato concentrações ao ácido cítrico (Tabela 7), indicaram que para 2,25 a 1,75% a eficácia é igual ($p>0,05$) considerando os tempos de 5 e 10 min de exposição, sendo melhores que o tempo de 1 min de exposição. Observa-se também que para as concentrações a partir de 1,50% o tempo de exposição de 1 min é menos eficiente que os tempos de exposição de 5 e 10 min, diferindo estatisticamente destes a nível de confiança de 95%. Para o ácido cítrico, a análise da redução em Log_{10} (UFC/g) demonstrou que este ácido não apresenta poder antimicrobiano sobre o *S. aureus*. Ao analisar as concentrações de 2,25 e 1,75% obteve-se reduções de 0,32, 0,61 e 0,62 e 0,17, 0,41 e 0,54 Log_{10} para 1, 5 e 10 min.

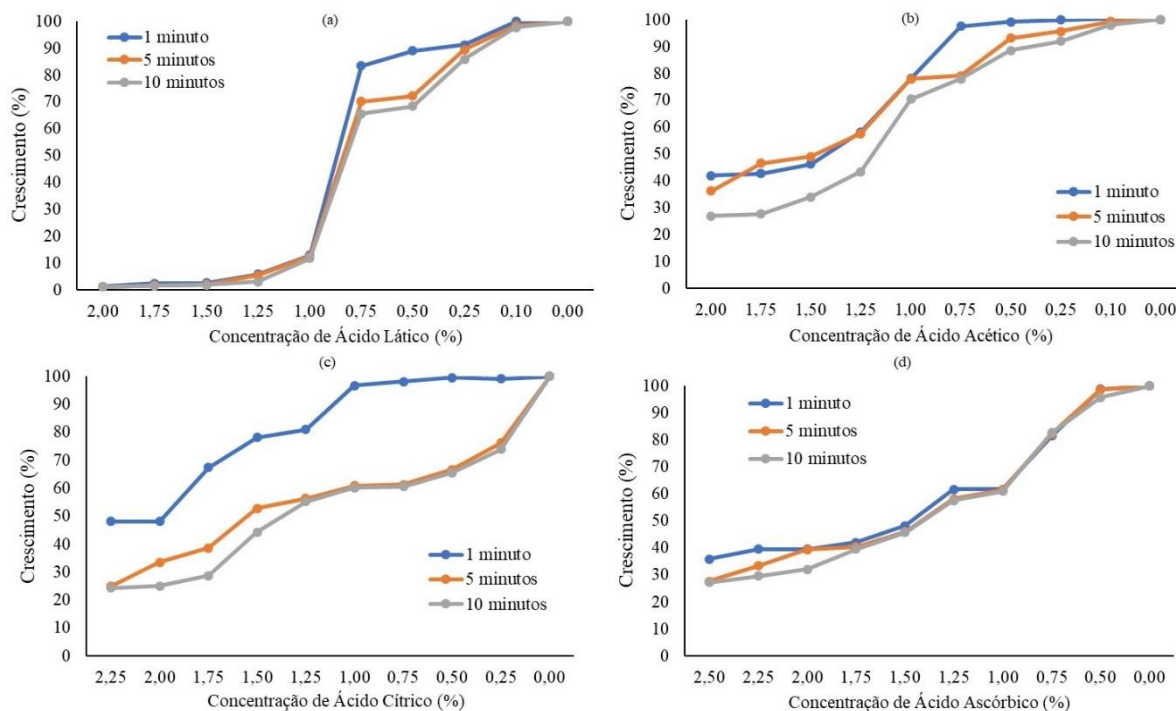
Os resultados relativos ao tratamento dos cubos de gordura com ácido ascórbico (Tabela 7) após a contaminação prévia com *S. aureus* e exposição a diferentes tempos de contato e diferentes concentrações de ácido demonstraram que para as concentrações entre 2,50 a 1,50% a eficácia no controle do crescimento bacteriano é igual em todos os tempos de exposição ($p>0,05$). A partir de 1,25%, conforme reduz a concentração do ácido, o crescimento bacteriano aumenta igualmente para os tempos estudados. Assim como observado para os ácidos acético e cítrico, o ácido ascórbico também apresentou baixa propriedade antimicrobiana frente ao *S. aureus*. Analisou-se as concentrações de 2,25 e 2,00%, obtendo-se reduções de 0,45, 0,56 e 0,57 e 0,41, 0,41 e 0,50 Log_{10} para 1, 5 e 10 min.

A Figura 6 apresenta o percentual de crescimento da bactéria *S. aureus* na presença de diferentes concentrações dos ácidos láctico, acético, cítrico e ascórbico em relação ao controle (sem ácidos orgânicos) e a Figura 7 apresenta o comparativo da inibição do crescimento da bactéria em cubos de gordura suína *in natura* previamente contaminados expostos a diferentes concentrações de ácidos por 10 min.

Analisando a Figura 6a, pode-se visualizar que o ácido láctico apresentou ótimos resultados para a inibição do crescimento de *S. aureus* em comparação aos outros ácidos, pois manteve o crescimento do microrganismo abaixo de 20% entre as concentrações de 2,00% e 1,00%, considerando todos os tempos de exposição, sendo então o melhor ácido empregado para esse microrganismo. Já o ácido acético (Figura 6b), não apresentou resultados de inibição tão bons, onde verificou-se que esse ácido permitiu o crescimento do microrganismo a níveis de 40% desde a concentração de 2,00%. Analisando o ácido cítrico (Figura 6c) pode-se perceber que entre as concentrações de 2,25% e 1,75%, apenas nos tempos de 5 e 10 min, mantém o crescimento abaixo de 40%, o que pode-se descartar o tempo de 1 min para uso desse ácido. Analisando o ácido ascórbico (Figura 6d), percebe-se que ocorre uma similaridade entre os tempos de contato, ou seja, não ocorre diferença significativa entre eles

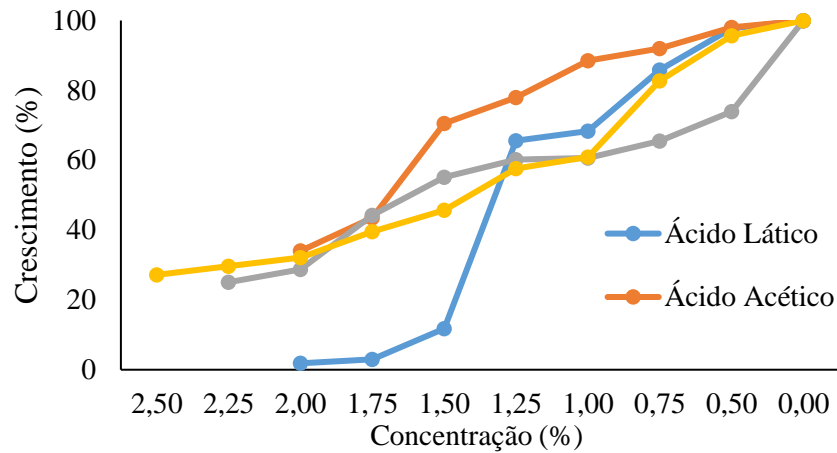
nas concentrações estudadas, e que mantém o crescimento abaixo de 50% somente nas concentrações maiores entre 2,50% e 1,50%.

Figura 6 - Percentual de crescimento de *S. aureus* em presença de diferentes concentrações de ácidos orgânicos em relação ao controle.



De acordo com a Figura 7 que demonstra o crescimento de *S. aureus* frente a exposição aos diferentes ácidos pelo tempo de 10 min, pode-se perceber a nítida diferença na eficácia do ácido láctico em relação aos demais ácidos estudados, pois mantém o crescimento do microrganismo abaixo de 10% com as maiores concentrações empregadas. Os demais ácidos, acético, cítrico e ascórbico não podem ser considerados como bons antimicrobianos para esse microrganismo pois não inibem o crescimento efetivamente desde as maiores concentrações empregadas nesse estudo.

Figura 7 - Comparativo entre os ácidos lático, acético, cítrico e ascórbico na inibição do crescimento de *S. aureus* em cubos de gordura suína expostos a diferentes concentrações por 10 min.



A fim de identificar qual ácido orgânico apresenta maior ação de controle do crescimento de *S. aureus* em gordura suína fez-se a redução da contagem na concentração efetiva mínima para os diferentes tempos de exposição (Tabela 8). Analisando os resultados, pode-se observar que o microrganismo *S. aureus* foi inibido com maior eficiência pelo ácido lático, apresentando redução de 1,68 Log₁₀ (UFC/g) com 1,25% de concentração em 10 min de exposição. Já o ácido acético, com essa mesma concentração obteve redução de apenas 0,36 Log₁₀ (UFC/g) em 10 min de exposição. O ácido cítrico e o ascórbico obtiveram 0,54 e 0,50 Log₁₀ (UFC/g) de redução 1,75 e 2,00% por 10 min de exposição, respectivamente.

Tabela 8 - Redução de contagem de *S. aureus* (Log₁₀ UFC/g) em cubos de gordura suína na concentração efetiva mínima de diferentes ácidos orgânicos em diferentes tempos de exposição.

| Ácido | Concentração (%) | Redução (Log ₁₀ UFC/g) | | |
|-----------|------------------|-----------------------------------|-------|--------|
| | | 1 min | 5 min | 10 min |
| Lático | 1,25 | 1,24 | 1,29 | 1,68 |
| Acético | 1,25 | 0,24 | 0,24 | 0,36 |
| Cítrico | 1,75 | 0,17 | 0,41 | 0,54 |
| Ascórbico | 2,00 | 0,41 | 0,41 | 0,50 |

Dubal et al. (2004), inocularam vários patógenos em carne ovina/caprina, dentre eles, *S. aureus*, e como resultado obtiveram inibição completa com o uso de ácido lático a 2%, bem como observaram que o início da deterioração das amostras não tratadas foi entre o 4º e 5º de armazenamento sob refrigeração, o que só ocorreu no 8º dia das amostras tratadas com ácido lático a 2%. Os mesmos autores observaram a mesma inibição após tratamento com uma

combinação de ácido acético a 1,5% e propiônico a 1,5%, mas o início da deterioração passou para o 11º dia de armazenamento.

Zabot (2016) também testou o grupo de bactérias mesófilas (no qual *S. aureus* é incluso) com carne de frango (coxas) concluindo que uma solução de ácido láctico a 20 g/L (2%) foi a que apresentou melhor efetividade em comparação com Hipoclorito de Sódio a 5mg/L, Dicloro a 60mg/L e Hipoclorito de Sódio a 0,5mg/L, reduzindo o crescimento desses microrganismos em 4,69 Log₁₀ UFC/g.

De Carli et al. (2013) ao realizarem contagem de microrganismos aeróbios mesófilos frente a vários tratamentos em barriga suína, obtiveram os melhores resultados com o tratamento T1 que utilizou 1% de ácido láctico (v/v) somado a 0,10% de ácido ascórbico (m/v) somado a 1% de ácido cítrico (m/v) e com o tratamento T2 que utilizou 1% de ácido láctico (v/v) somado a 0,80% de ácido ascórbico (m/v) somado a 1% de ácido cítrico (m/v), isso considerando os três tratamentos em que se utilizaram ácidos orgânicos, pois nesse estudo também foi testado solução salina acidificada, água a 80°C e luz UV.

5.2.4 *Listeria monocytogenes*

Os resultados de crescimento de *L. monocytogenes* (UFC/g) em cubos de gordura de papada suína *in natura*, previamente contaminados por 1 min e em seguida expostos a diferentes tempos de contato em diferentes concentrações dos ácidos láctico, acético, cítrico e ascórbico estão demonstrados na Tabela 9.

Os resultados obtidos com o ácido láctico demonstraram que para as concentrações entre 2,00 a 1,25% a eficácia não difere estatisticamente ($p>0,05$), para todos os tempos de exposição estudados. Para as concentrações menores a 1,00% o tempo de exposição de 10 min foi mais eficiente, exceto para 0,50%, sendo estatisticamente diferente aos tempos de 1 e 5 min. Dessa forma, sugere-se que para as concentrações maiores entre 2,00 e 1,50, mesmo o menor tempo teria a mesma eficiência que o maior tempo de contato, já conforme as concentrações diminuem, a partir de 1,25%, os tempos de exposição diferem entre si, sendo necessário maiores tempos de contato para reduzir o crescimento microbiano.

Ao avaliar as reduções do crescimento de *L. monocytogenes*, nas concentrações de 2,00 e 0,75% verificou-se que para a maior concentração, para os tempos de 1, 5 e 10 min foram obtidos 1,14, 1,37 e 1,59 Log₁₀ (UFC/g), respectivamente, consideradas satisfatórias. Enquanto que para a concentração de 0,75% obteve-se 0,55, 0,76, 1,23 Log₁₀ (UFC/g) de redução, para os mesmos tempos, respectivamente, sendo estas inferiores.

Tabela 9 - Crescimento de *L. monocytogenes* (UFC/g) em cubos de gordura suína previamente contaminados e expostos a diferentes tempos de contato e concentrações de ácidos orgânicos.

| Crescimento (UFC/g) | | | |
|---------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| Ácido Lático (%) | | | |
| Concentração (%) | 1 min | 5 min | 10 min |
| 2,00 | 325 ^{fA} ± 103 | 190 ^{gA} ± 109 | 116 ^{cA} ± 121 |
| 1,75 | 337 ^{fA} ± 105 | 199 ^{gA} ± 112 | 143 ^{cA} ± 118 |
| 1,50 | 361 ^{fA} ± 116 | 256 ^{gA} ± 117 | 176 ^{cA} ± 119 |
| 1,25 | 409 ^{efA} ± 105 | 285 ^{gAB} ± 124 | 187 ^{cB} ± 102 |
| 1,00 | 649 ^{eA} ± 113 | 417 ^{fA} ± 141 | 220 ^{eB} ± 139 |
| 0,75 | 1.251 ^{dA} ± 154 | 778 ^{eB} ± 137 | 264 ^{cC} ± 128 |
| 0,50 | 2.237 ^{cA} ± 189 | 1.309 ^{dB} ± 198 | 1.320 ^{bB} ± 176 |
| 0,25 | 3.223 ^{bA} ± 214 | 1.954 ^{cB} ± 221 | 1.331 ^{bC} ± 208 |
| 0,10 | 4.438 ^{aA} ± 253 | 3.430 ^{bB} ± 247 | 1.716 ^{bC} ± 268 |
| 0,00 | 4.450 ^{aA} ± 310 | 4.450 ^{aA} ± 310 | 4.450 ^{aA} ± 310 |
| Ácido Acético (%) | | | |
| 2,00 | 1.067 ^{fA} ± 118 | 686 ^{fB} ± 109 | 338 ^{gC} ± 112 |
| 1,75 | 1.452 ^{eA} ± 123 | 772 ^{fB} ± 112 | 542 ^{fgB} ± 118 |
| 1,50 | 1.639 ^{eA} ± 124 | 872 ^{fB} ± 117 | 778 ^{fB} ± 114 |
| 1,25 | 2.772 ^{dA} ± 111 | 1.415 ^{eB} ± 123 | 1.388 ^{eB} ± 131 |
| 1,00 | 2.789 ^{dA} ± 126 | 2.767 ^{dA} ± 119 | 1.675 ^{deB} ± 117 |
| 0,75 | 2.926 ^{cdA} ± 131 | 2.774 ^{dA} ± 124 | 1.929 ^{cdB} ± 132 |
| 0,50 | 3.300 ^{cA} ± 167 | 3.274 ^{cA} ± 172 | 2.110 ^{cB} ± 129 |
| 0,25 | 4.059 ^{bA} ± 193 | 3.875 ^{bA} ± 185 | 2.538 ^{bbB} ± 182 |
| 0,10 | 5.016 ^{aA} ± 225 | 5.040 ^{aA} ± 241 | 2.640 ^{bbB} ± 241 |
| 0,00 | 5.533 ^{aA} ± 287 | 5.533 ^{aA} ± 287 | 5.533 ^{aA} ± 287 |
| Ácido Cítrico (%) | | | |
| 2,25 | 1.023 ^{gA} ± 117 | 958 ^{gA} ± 114 | 533 ^{gB} ± 122 |
| 2,00 | 1.815 ^{fA} ± 131 | 1.546 ^{fA} ± 123 | 842 ^{fB} ± 117 |
| 1,75 | 2.035 ^{fA} ± 123 | 1.412 ^{fB} ± 128 | 1.185 ^{eB} ± 121 |
| 1,50 | 3.102 ^{eA} ± 127 | 2.420 ^{eB} ± 119 | 1.426 ^{cC} ± 114 |
| 1,25 | 3.377 ^{deA} ± 148 | 2.992 ^{dA} ± 132 | 1.867 ^{dB} ± 136 |
| 1,00 | 3.531 ^{cdA} ± 177 | 3.193 ^{cdA} ± 153 | 2.371 ^{cB} ± 145 |
| 0,75 | 3.861 ^{cA} ± 194 | 3.261 ^{cdB} ± 182 | 3.041 ^{bbB} ± 176 |
| 0,50 | 3.938 ^{bcA} ± 221 | 3.479 ^{bcAB} ± 212 | 3.241 ^{bbB} ± 208 |
| 0,25 | 4.373 ^{bA} ± 213 | 3.714 ^{bbB} ± 197 | 3.356 ^{bbB} ± 189 |
| 0,00 | 5.412 ^{aA} ± 237 | 5.412 ^{aA} ± 237 | 5.411 ^{aA} ± 237 |
| Ácido Ascórbico (%) | | | |
| 2,50 | 1.307 ^{hA} ± 126 | 1.245 ^{hA} ± 119 | 1.012 ^{gB} ± 123 |
| 2,25 | 1.454 ^{hA} ± 117 | 1.323 ^{hAB} ± 126 | 1.188 ^{fgB} ± 101 |
| 2,00 | 2.403 ^{gA} ± 124 | 1.848 ^{gB} ± 111 | 1.430 ^{fc} ± 119 |
| 1,75 | 3.141 ^{fA} ± 147 | 2.179 ^{fB} ± 122 | 1.771 ^{cC} ± 128 |
| 1,50 | 3.562 ^{eA} ± 143 | 2.853 ^{eB} ± 129 | 1.936 ^{deC} ± 121 |
| 1,25 | 3.878 ^{deA} ± 168 | 3.424 ^{dB} ± 146 | 2.178 ^{dC} ± 139 |
| 1,00 | 4.047 ^{dA} ± 175 | 4.085 ^{cA} ± 167 | 3.135 ^{cB} ± 143 |
| 0,75 | 5.143 ^{cA} ± 188 | 4.260 ^{cB} ± 198 | 3.498 ^{bcC} ± 186 |
| 0,50 | 5.649 ^{bA} ± 204 | 4.928 ^{bbB} ± 221 | 3.927 ^{bc} ± 217 |
| 0,00 | 6.303 ^{aA} ± 314 | 6.303 ^{aA} ± 314 | 6.303 ^{aA} ± 314 |

Médias ± desvio padrão seguidas de letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p<0,05).

Em relação aos resultados obtidos com o ácido acético (Tabela 9), estes demonstram que para as concentrações de 2,00 a 1,50% o controle do crescimento da *L. monocytogenes* é igual ($p>0,05$) para os tempos estudados. Já para as concentrações de 1,50 até 1,00% o tempo de contato de 10 min foi o que mais reduziu o crescimento microbiano, diferindo estatisticamente dos demais tempos. Considerando as reduções do crescimento celular, para a concentração de 2,00% apenas com o maior tempo de exposição, de 10 min foi acima de 1, resultando em 1,21 Log₁₀ (UFC/g), para 1 e 5 min de exposição resultou em 0,71 e 0,90 Log₁₀ (UFC/g). Para a concentração de 1,50%, em nenhum tempo de exposição obteve-se resultado acima de 1,00, sendo de 0,85 Log₁₀ (UFC/g) com 10 min de exposição, 0,80 Log₁₀ (UFC/g) com 5 min de exposição e 0,53 Log₁₀ (UFC/g) com 1 min de exposição.

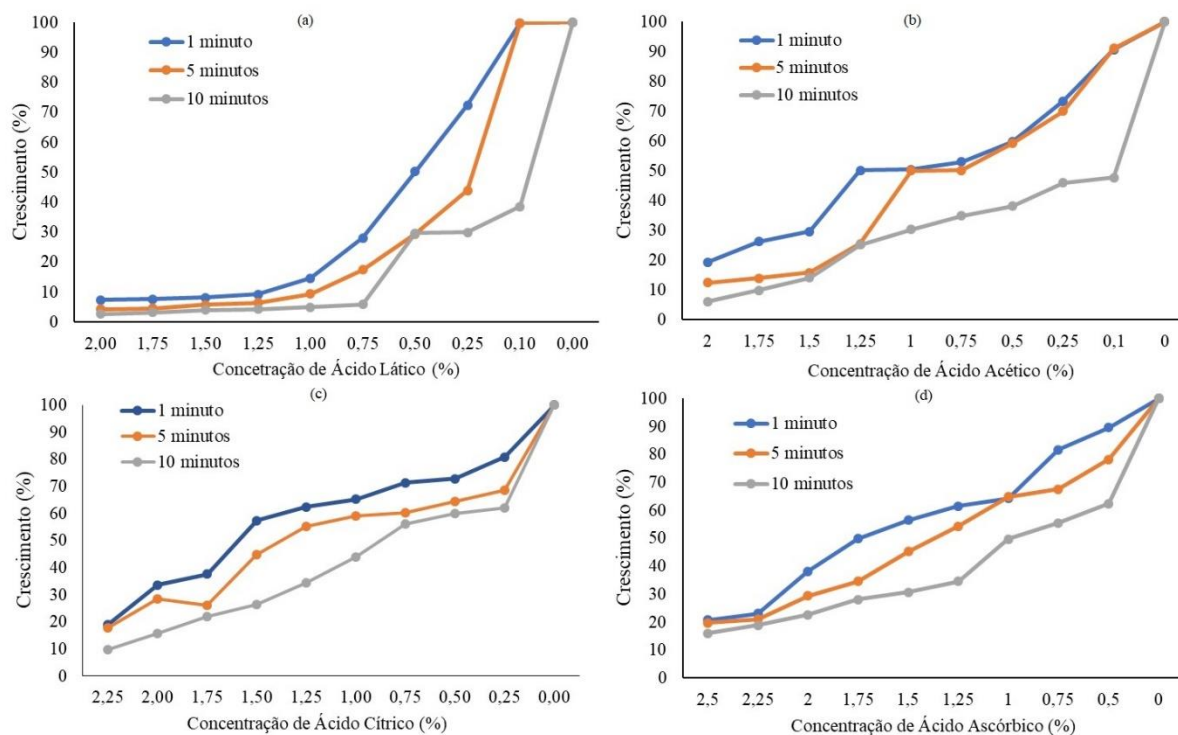
Ao avaliar o ácido cítrico (Tabela 9) frente a *L. monocytogenes* inoculada previamente em gordura de papada suína, os resultados demonstram que para as concentrações entre 2,25 e 1,75%, a eficiência no controle do crescimento da bactéria para os tempos de exposição de 1 e 5 min foi igual ($p>0,05$), porém para todas as concentrações estudadas o tempo de exposição de 10 min foi o que obteve a maior redução do crescimento bacteriano, diferindo estatisticamente dos demais. Analisando as reduções de crescimento microbiano, apenas a maior concentração de 2,25% com o maior tempo de exposição, 10 min, resultou em 1,00 Log₁₀ (UFC/g), com 5 min de exposição obteve-se 0,75 e com 1 min, 0,72 Log₁₀ (UFC/g). Já com a concentração de 2,00% todos os tempos de exposição apresentaram redução abaixo de 1,00, sendo 0,81 Log₁₀ (UFC/g) para 10 min de exposição, 0,54 Log₁₀ (UFC/g) para 5 min de exposição e 0,47 Log₁₀ (UFC/g) para 1 min de exposição.

Os resultados para os experimentos de controle do crescimento de *L. monocytogenes* com ácido ascórbico (Tabela 9) demonstram que para as maiores concentrações de 2,50 e 2,25%, para todos os tempos de exposição estudados não diferiram entre si significativamente ($p>0,05$), apresentando a mesma eficiência no controle do crescimento. Para as concentrações menores que 2,00 entre 1,25%, o tempo de exposição de 10 min foi o mais eficiente do que os de 5 e 1 min de exposição, diferindo estatisticamente. De acordo com as reduções no crescimento, nem mesmo com as maiores concentrações e maior tempo de exposição possibilitou resultados acima de 1,00, sendo que a maior redução foi de 0,79 Log₁₀ (UFC/g) com 2,50% por 10 min de exposição. Com 5 e 1 min de exposição obteve-se 0,70 e 0,68 Log₁₀ (UFC/g). Para a concentração de 2,00% a redução ficou em 0,64 Log₁₀ (UFC/g) com 10 min de exposição, 0,53 Log₁₀ (UFC/g) com 5 min de exposição e apenas 0,42 Log₁₀ (UFC/g) com 1 min de exposição.

A Figura 8 apresenta o percentual de crescimento da bactéria *L. monocytogenes* na presença de diferentes concentrações e tempos de contato dos ácidos láctico, acético, cítrico e

ascórbico em relação ao controle (sem ácidos orgânicos) e a Figura 9 apresenta o comparativo da inibição do crescimento da bactéria em cubos de gordura suína *in natura* previamente contaminados expostos a diferentes concentrações de ácidos por 10 min.

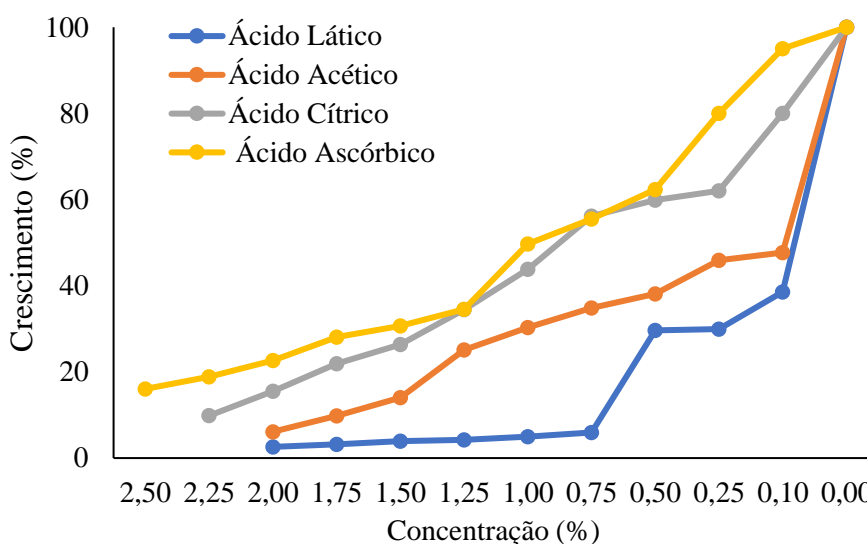
Figura 8 – Percentual de crescimento de *L. monocytogenes* em presença de diferentes concentrações de ácidos orgânicos em relação ao controle.



De acordo com a Figura 8a, observa-se que o ácido lático novamente foi o mais eficiente entre todos os testados também para *L. monocytogenes*, pois apresentou os melhores resultados para a inibição do crescimento desse microrganismo mantendo o crescimento abaixo de 20% entre as concentrações de 2,00 e 1,00%, considerando todos os tempos de exposição, bem como se for desconsiderado o tempo de contato de 1 min, essa faixa de concentração aumenta para até 0,50%. Observando o ácido acético (Figura 8b), percebe-se que os resultados de inibição não são tão bons quanto o lático, onde verificou-se que o crescimento do microrganismo se manteve abaixo de 20% apenas nas maiores concentrações (entre 2,00 e 1,25%) somente com os tempos de contato de 5 e 10 min. Já o ácido cítrico (Figura 8c) apresenta crescimento superior a 20% desde a concentração de 2,00%, considerando todos os tempos de exposição. Bem como o ácido ascórbico (Figura 8d), que também permite o crescimento de *L. monocytogenes* a níveis de 20% desde a concentração mais alta estudada 2,50%.

Analisando a Figura 9 que demonstra o crescimento de *L. monocytogenes* frente a exposição aos diferentes ácidos pelo tempo de 10 min, o ácido láctico se confirma ser o mais eficiente em controlar o crescimento do microrganismo, mantendo a níveis abaixo de 10% entre as concentrações de 2,00% até 0,75%. O ácido acético também apresenta resultados satisfatórios, porém somente entre as concentrações de 2,00% a 1,50% mantém o crescimento abaixo de 10%. Já os ácidos cítrico e ascórbico só mantêm o crescimento do microrganismo abaixo de 20% em concentrações acima de 2,00%, o que torna esses menos eficazes no controle microbiológico.

Figura 9 – Comparativo entre os ácidos láctico, acético, cítrico e ascórbico na inibição do crescimento de *L. monocytogenes* em cubos de gordura suína expostos a diferentes concentrações por 10 min.



A Tabela 10 apresenta a redução de contagem de *L. monocytogenes*, na qual pode-se observar que o microrganismo foi inibido com maior eficiência pelo ácido láctico, apresentando redução de Log_{10} (UFC/g) de 1,23 com apenas 0,75% de concentração com 10 min de exposição. Já o ácido acético necessitou do dobro dessa concentração, de 1,50% para obter uma redução em Log_{10} (UFC/g) de 0,85. No entanto, os ácidos cítrico e ascórbico obtiveram as reduções de 0,81 e 0,64 em Log_{10} (UFC/g) com a concentração de 2,00% por 10 min de exposição aos respectivos ácidos.

Tabela 10 - Redução de contagem de *L. monocytogenes* (Log₁₀ UFC/g) em cubos de gordura suína na concentração efetiva mínima de diferentes ácidos orgânicos em diferentes tempos de exposição.

| Ácido | Concentração (%) | Redução (Log ₁₀ UFC/g) | | |
|-----------|------------------|-----------------------------------|-------|--------|
| | | 1 min | 5 min | 10 min |
| Lático | 0,75 | 0,55 | 0,76 | 1,23 |
| Acético | 1,50 | 0,53 | 0,80 | 0,85 |
| Cítrico | 2,00 | 0,47 | 0,54 | 0,81 |
| Ascórbico | 2,00 | 0,42 | 0,53 | 0,64 |

Ozdermir et al. (2006), ao realizarem estudo com ácido lático e *L. monocytogenes* em carne bovina obtiveram reduções em Log₁₀ (UFC/g) de 2,16 com o uso de 1% e de 2,54 com o uso de 2%, porém os melhores resultados foram com a associação de ácido lático e água quente (82°C). Dubal et al. (2004) relataram que a pulverização de quartos dianteiros de ovelhas/cabras com 2% de ácido lático resultou em uma redução nas contagens viáveis totais de microrganismos de 0,52 unidades logarítmicas, bem como observaram que ao utilizar 1,5% de acético somado a 1,5% de ácido propiônico, a redução aumentou para 1,16. Em relação especificamente a *L. monocytogenes*, observaram inibição completa nos dois tratamentos efetuados. De Geer (2016) realizou estudo com tratamentos com ácido lático em carne bovina durante 30 min e perceberam que todos os tratamentos reduziram as contagens de *L. monocytogenes* em comparação com o tratamento controle, porém o tratamento com ácido lático a 4% foi o mais eficaz.

Over et al. (2009) perceberam que o efeito de cinco ácidos orgânicos (entre eles o ácido lático a 75mM) foi menor em *L. monocytogenes*, quando comparado ao efeito sobre *E. coli* e *S. Typhimurium*.

5.3 Tratamento com ácidos orgânicos combinados

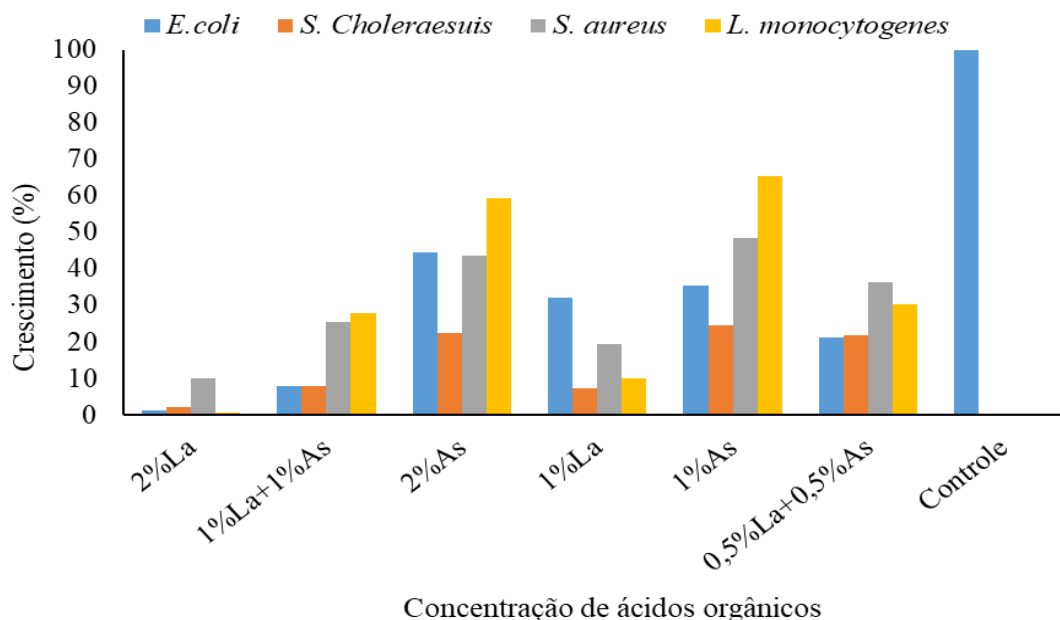
Após a avaliação da eficácia dos ácidos lático, acético, ascórbico, cítrico no controle do crescimento de *E. coli*, *S. enterica* sorovar Choleraesuis, *S. aureus* e *L. monocytogenes* previamente inoculadas em gordura de papada suína foram definidas combinações dos ácidos com diferentes concentrações pelo tempo de contato de 10 min.

5.3.1 Combinação Ácido Lático (La) e Ácido Ascórbico (As)

Os resultados do percentual de crescimento de *Escherichia coli*, *S. enterica* sorovar Choleraesuis, *S. aureus* e *L. monocytogenes* (UFC/g) em cubos de gordura suína previamente

contaminados por 1 min e logo em seguida expostos por 10 min de contato a diferentes concentrações de ácido lático e ácido ascórbico são apresentados na Figura 10.

Figura 10 – Percentual de crescimento dos microrganismos em presença de diferentes concentrações de ácido lático e ácido ascórbico, e sua combinação, em relação ao controle.



De acordo com os resultados obtidos pode-se observar que o ácido lático com a concentração de 2% foi o mais eficaz para impedir o crescimento dos microrganismos estudados, onde nenhum alcançou crescimento percentual acima de 10%. A combinação de 1% de ácido lático com 1% de ácido ascórbico obteve resultados semelhantes ao tratamento de 1% de ácido lático isolado, o que pode-se sugerir que a combinação do ácido ascórbico com o ácido lático não melhorou os resultados. Visto que os resultados para o crescimento dos microrganismos com o ácido ascórbico isolado em 2 e 1% ficaram acima até mesmo da combinação de 0,5% de ácido lático somado a 0,5% de ácido ascórbico.

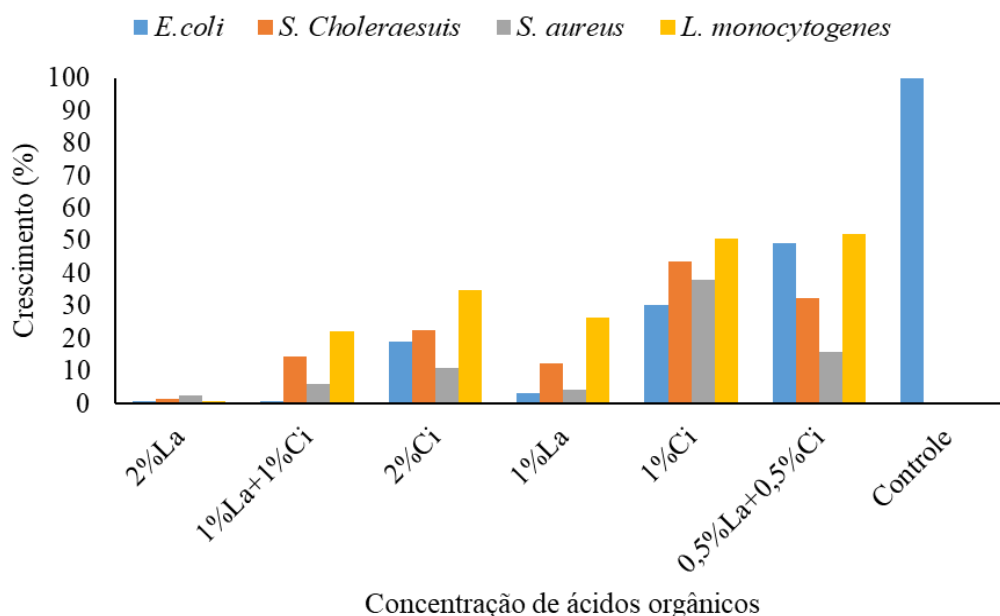
De Carli et al. (2013), observaram que tratamentos realizados em barrigas suínas com combinações de ácidos orgânicos foram eficientes na redução da contagem de microrganismos mesófilos, pois a combinação de 1% de ácido lático; 0,1% de ácido ascórbico; 1% de ácido cítrico e a combinação de 1% de ácido lático; 0,8% de ácido ascórbico; 1% de ácido cítrico foram mais eficientes do que a combinação de 1% de ácido lático; 0,6% de ácido ascórbico; 0,6% de ácido cítrico e 0,6% de ácido acético. Bem como os resultados dos 2 primeiros tratamentos onde a diferença foi o aumento do ácido ascórbico de 0,1% para 0,8% e que não diferiram estatisticamente, o que pode-se assemelhar aos resultados encontrados

neste trabalho onde a combinação de ácido ascórbico ao ácido láctico não melhorou os resultados de inibição do crescimento dos microrganismos estudados.

5.3.2 Combinação Ácido Láctico (La) e Ácido Cítrico (Ci)

Os resultados do percentual de crescimento de *E. coli*, *S. enterica* sorovar Choleraesuis, *S. aureus* e *L. monocytogenes* (UFC/g) em cubos de gordura suína previamente contaminados por 1 min e logo em seguida expostos por 10 min de contato a diferentes concentrações de ácido láctico e ácido cítrico são apresentados na Figura 11.

Figura 11 – Percentual de crescimento dos microrganismos em presença de diferentes concentrações de ácido láctico e ácido cítrico, e sua combinação, em relação ao controle.



De acordo com os resultados obtidos pode-se observar que o ácido láctico com a concentração de 2% foi o mais eficaz para impedir o crescimento dos microrganismos estudados, onde todos não alcançaram crescimento percentual acima de 5%. A combinação de 1% de ácido láctico com 1% de ácido cítrico obteve resultados semelhantes ao tratamento de 1% de ácido láctico isolado e ao tratamento de 2% de ácido cítrico isolado, o que pode-se sugerir que a combinação do ácido cítrico com o ácido láctico não melhorou os resultados. Já os resultados para o crescimento dos microrganismos com o ácido cítrico a 1% isolado se assemelhou ao resultado da combinação de 0,5% de ácido láctico e 0,5% de ácido cítrico.

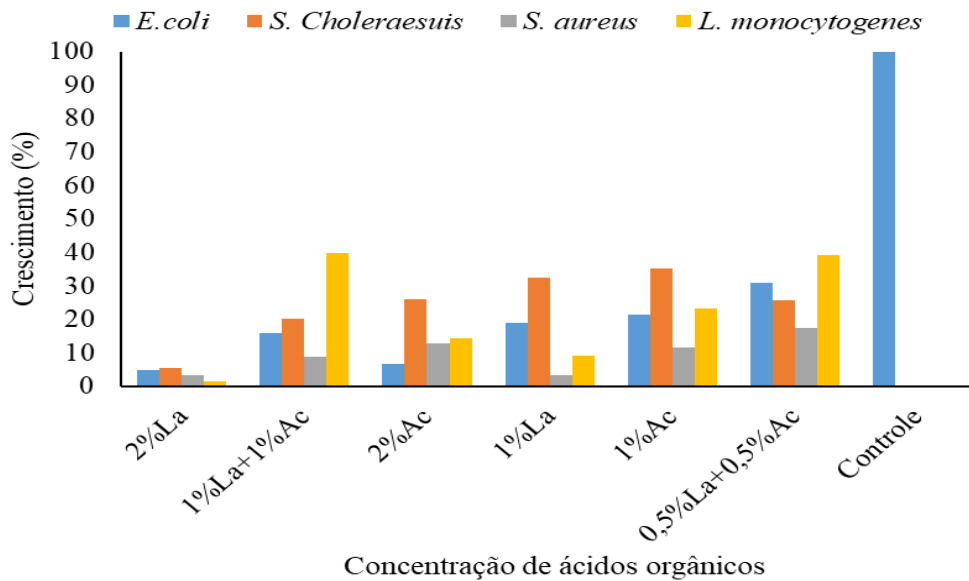
Machado et al. (2013), ao realizarem avaliação microbiológica de pernis artificialmente contaminados com 10^3 UFC/mL de *S. Typhimurium* (fagotipo DT177) por 15 min e receberem quatro diferentes tratamentos por imersão com tempos entre 5 a 15 s, sendo coletadas as amostras após 15 min, puderam observar que o tratamento por imersão em solução ácida contendo 1000ppm (o principal constituinte foi o ácido cítrico) foi o que resultou em menor eficácia na frequência de redução de contaminação.

5.3.3 Combinação Ácido Lático (La) e Ácido Acético (Ac)

Os resultados do percentual de crescimento de *E.coli*, *S. enterica* sorovar Choleraesuis, *S. aureus* e *L. monocytogenes* (UFC/g) em cubos de gordura suína previamente contaminados por 1 min e logo em seguida expostos por 10 min de contato a diferentes concentrações de ácido lático e ácido acético são apresentados na Figura 12.

De acordo com os resultados obtidos pode-se observar que o ácido lático com a concentração de 2% foi o mais eficaz para impedir o crescimento dos microrganismos estudados, onde todos não alcançaram crescimento percentual acima de 5%. Os demais resultados de ácido lático isolado em 2% e 1%, de ácido acético isolado em 2% e 1%, bem como as combinações ácido lático 1% e ácido acético 1% e ácido lático em 0,5% e ácido acético em 0,5% se assemelharam, o que pode-se sugerir que a combinação desses ácidos melhorou os resultados.

Figura 12 – Percentual de crescimento dos microrganismos em presença de diferentes concentrações de ácido lático e ácido acético, e sua combinação, em relação ao controle.

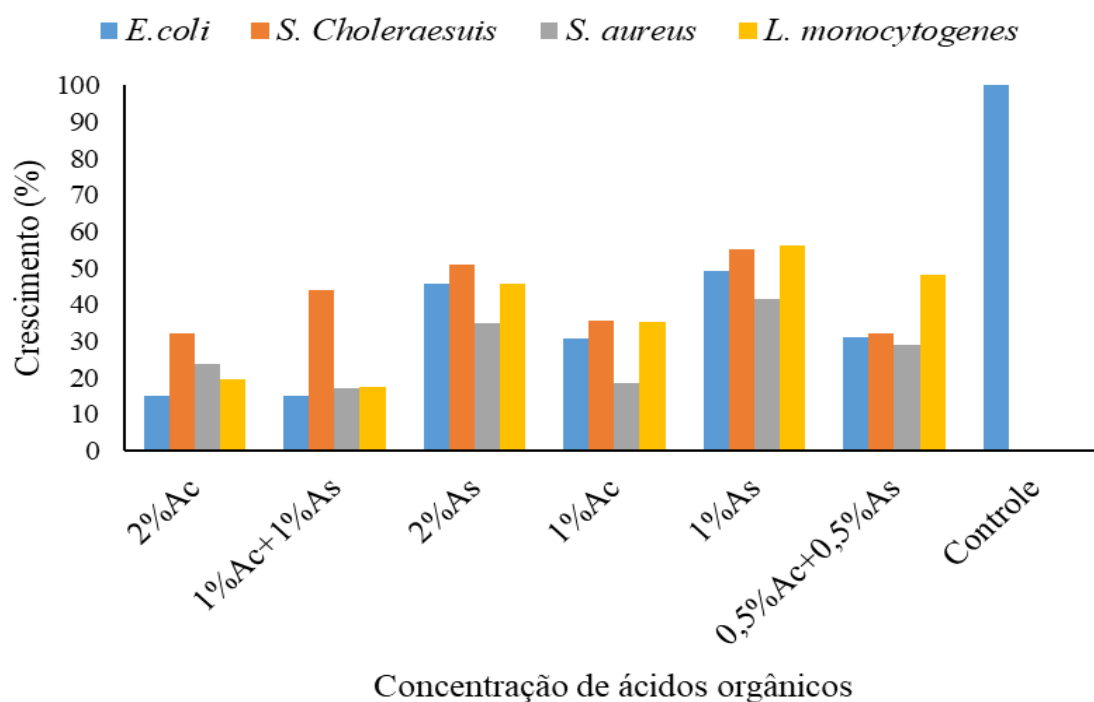


Diferentemente disso, De Carli et al. (2013), observaram que tratamentos feitos em barrigas suínas com combinações de ácidos orgânicos foram mais eficientes na redução da contagem de microrganismos mesófilos, pois a combinação de 1% de ácido lático; 0,1% de ácido ascórbico; e 1% de ácido cítrico e a combinação de 1% de ácido lático; 0,8% de ácido ascórbico; e 1% de ácido cítrico foram mais eficientes do que a combinação de 1% de ácido lático; 0,6% de ácido ascórbico; 0,6% de ácido cítrico; e 0,6% de ácido acético, ou seja a adição de ácido acético não obteve bons resultados.

5.3.4 Combinação Ácido Acético (Ac) e Ácido Ascórbico (As)

Os resultados do percentual de crescimento de *E. coli*, *S. enterica* sorovar Choleraesuis, *S. aureus* e *L. monocytogenes* (UFC/g) em cubos de gordura suína previamente contaminados por 1 min e logo em seguida expostos por 10 min de contato a diferentes concentrações de ácido acético e ácido ascórbico são apresentados na Figura 13.

Figura 13 – Percentual de crescimento dos microrganismos em presença de diferentes concentrações de ácido acético e ácido ascórbico, e sua combinação, em relação ao controle.



De acordo com os resultados obtidos pode-se observar que o ácido acético com a concentração de 2% foi o mais eficaz para impedir o crescimento dos microrganismos estudados, onde apenas *S. enterica* sorovar Choleraesuis alcançou crescimento percentual acima de 30%. Os resultados da combinação de ácido acético em 1% e ácido ascórbico em 1% bem como dos resultados do ácido acético isolado em 1% foram semelhantes. Já os resultados do crescimento dos microrganismos para o tratamento de ácido ascórbico em 2% e 1% ficaram acima da combinação do ácido acético em 0,5% e ácido ascórbico em 0,5%, dessa forma, podemos sugerir que a combinação do ácido ascórbico não melhora os resultados de inibição de crescimento obtidos com o ácido acético isoladamente.

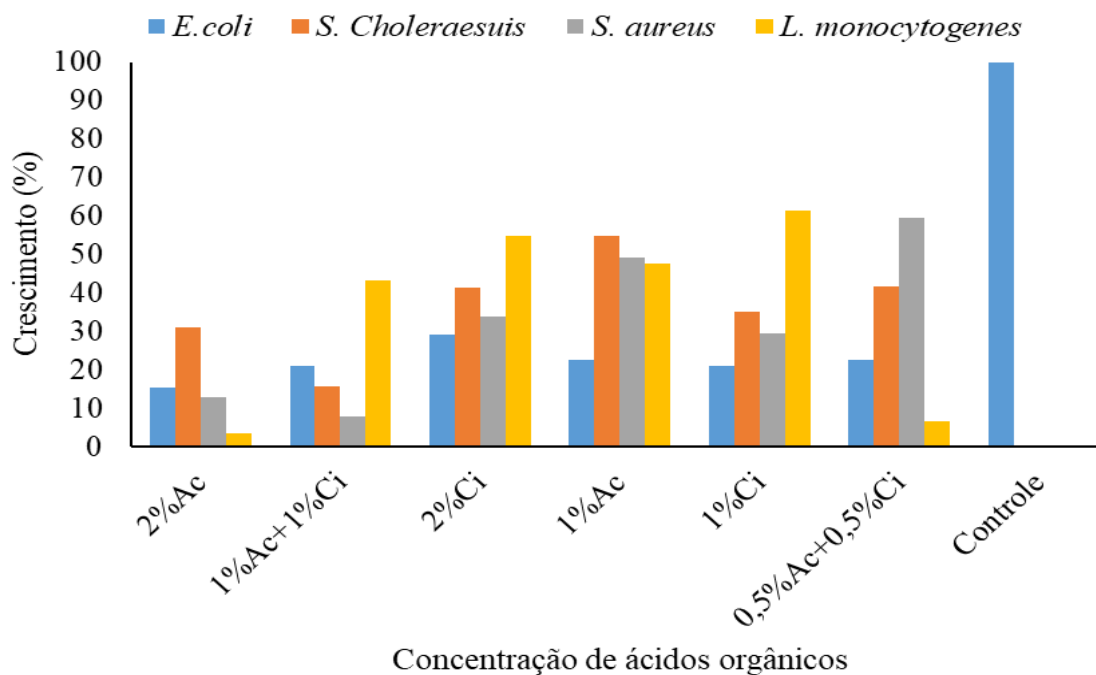
De Carli et al. (2015) ao analisar amostras de pernil suíno expostos a diferentes tratamentos e combinações puderam perceber que a adição de ácido acético a 0,6% em um tratamento obteve melhor resultado, vale ressaltar que em ambos os tratamentos houve a associação de radiação UV-C 5,4 KJ. Por outro lado, a combinação usada havia mais outros 3 ácidos associados, 1% de ácido láctico, 0,8% de ácido ascórbico e 1% de ácido cítrico.

5.3.5 Combinação Ácido Acético (Ac) e Ácido Cítrico (Ci)

Os resultados do percentual de crescimento de *E. coli*, *S. enterica* sorovar Choleraesuis, *S. aureus* e *L. monocytogenes* (UFC/g) em cubos de gordura suína previamente contaminados

por 1 min e logo em seguida expostos por 10 min de contato a diferentes concentrações de ácido acético e ácido cítrico são apresentados na Figura 14.

Figura 14 – Percentual de crescimento dos microrganismos em presença de diferentes concentrações de ácido acético e ácido cítrico, e sua combinação, em relação ao controle.



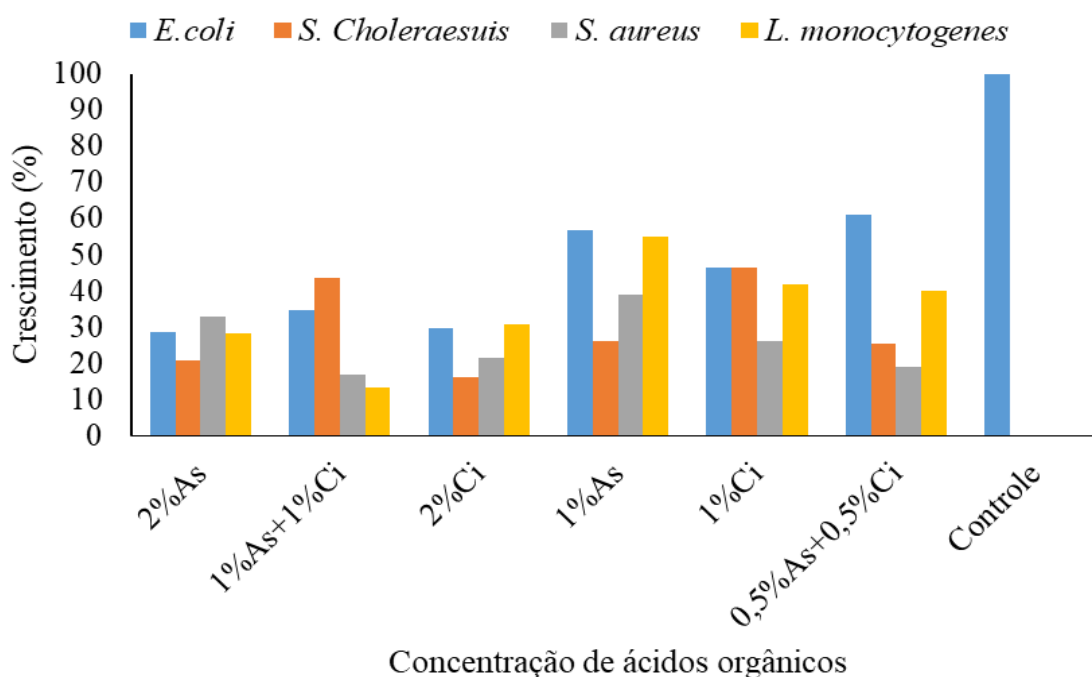
De acordo com os resultados obtidos pode-se observar que o ácido acético com a concentração de 2% foi o mais eficaz para impedir o crescimento dos microrganismos estudados, onde apenas *S. enterica* sorovar Choleraesuis alcançou crescimento percentual acima de 30%. Os resultados da combinação de ácido acético em 1% e ácido cítrico em 1% foram melhores do que os resultados do ácido cítrico isolado em 2%, do ácido acético isolado em 1%, e do ácido cítrico isolado em 1%, sendo esse três últimos semelhantes, o que pode-se sugerir que a combinação desses dois ácidos melhora os resultados de inibição do crescimento dos microrganismos.

De Carli et al.(2015) ao analisar amostras de pernil suíno expostos a diferentes tratamentos e combinações puderam perceber que a adição de ácido acético a 0,6% em um tratamento obteve melhor resultado, vale ressaltar que em ambos os tratamentos houve a associação de radiação UV-C 5,4 KJ.

5.3.6 Combinação Ácido Ascórbico (As) e Ácido Cítrico (Ci)

Os resultados do percentual de crescimento de *E.coli*, *S. enterica* sorovar Choleraesuis, *S. aureus* e *L. monocytogenes* (UFC/g) em cubos de gordura suína previamente contaminados por 1 min e logo em seguida expostos por 10 min de contato a diferentes concentrações de ácido ascórbico e ácido cítrico são apresentados na Figura 15.

Figura 15 – Percentual de crescimento dos microrganismos em presença de diferentes concentrações de ácido ascórbico e ácido cítrico, e sua combinação, em relação ao controle.



De acordo com os resultados obtidos pode-se observar que o ácido cítrico com a concentração de 2% foi ligeiramente mais eficaz para impedir o crescimento dos microrganismos estudados, seguido pelo ácido ascórbico com a concentração de 2%. Os resultados da combinação de ácido cítrico em 1% e ácido ascórbico em 1% foram melhores do que os resultados obtidos do ácido ascórbico isolado em 1%, e do ácido cítrico isolado em 1%, sendo esses dois últimos semelhantes, o que pode-se sugerir que a combinação desses dois ácidos não melhora os resultados de inibição do crescimento dos microrganismos.

Diferentemente disso, De Carli et al. (2013) obtiveram resultados melhores para o controle de crescimento de microrganismos mesófilos ao aumentar o ácido ascórbico de 0,1% para 0,8% em um tratamento combinado a 1% de ácido cítrico, bem como ao diminuir o ácido ascórbico para 0,6% e o ácido cítrico também para 0,6%, incluindo ácido acético a 0,6%

resultou em maiores crescimentos de microrganismos, porém havia também a associação de 1% de ácido lático a todos esses tratamentos citados.

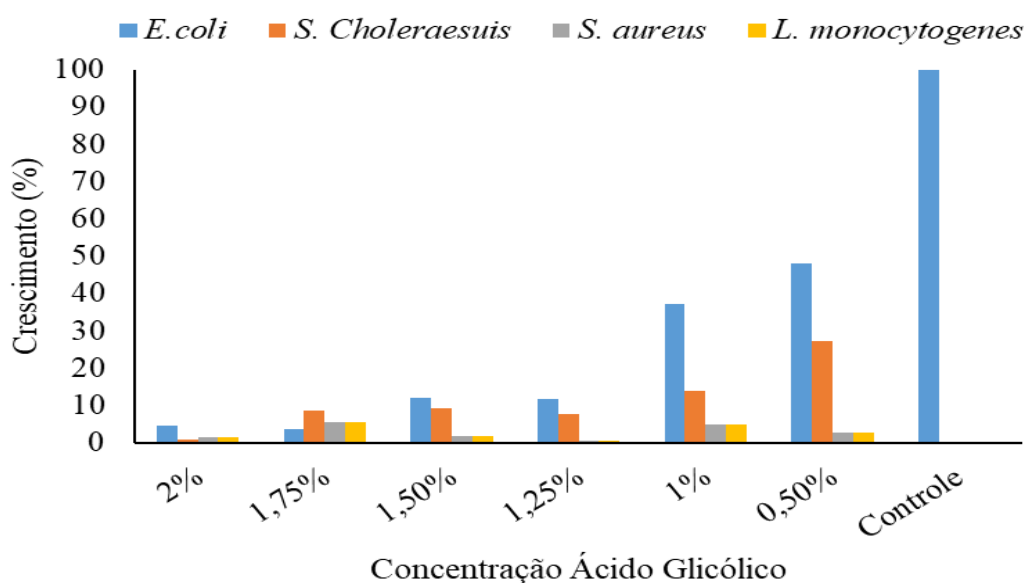
5.4 Tratamento com ácido glicólico

O ácido glicólico vem sendo usado ultimamente para desinfecção de plantas industriais, principalmente em laticínios e frigoríficos, como “alternativa verde” no controle microbiológico, devido a ser um princípio ativo testado e aprovado pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA), pois se mostrou eficaz no controle de vários patógenos, inclusive o SARS-CoV-2, causador da COVID-19 (Pereira & Luna, 2019). Sendo que a EPA divulgou uma lista com os ingredientes ativos elegíveis para uso como desinfetantes e entre eles estão o ácido cítrico, glicólico e lático, entre outros (EPA, 2020).

O ácido glicólico é amplamente utilizado em cosméticos para se obter um *peeling* suave levando ao afinamento do estrato córneo útil na renovação da epiderme e na redução das linhas faciais (HENRIQUES et al., 2007), porém seu uso em produtos alimentícios ainda não foi extensamente estudado.

Dessa forma, a Figura 16 apresenta os resultados do crescimento dos microrganismos *E.coli*, *S. enterica* sorovar Choleraesuis, *S. aureus* e *L. monocytogenes* por 1 min de contato e logo em seguida expostos por 10 min às concentrações entre 2,0% a 0,50% de ácido glicólico.

Figura 16 - Percentual de crescimento dos microrganismos em presença de diferentes concentrações de ácido glicólico em relação ao controle.



De acordo com os resultados obtidos pode-se observar que o ácido glicólico possui boa eficácia no controle microbiano, sendo que inibiu o crescimento de todos os microrganismos abaixo de 5 % com a concentração de 2%, que se demonstrou uma boa inibição até a concentração de 1,25%, com no máximo 12% de crescimento. Já a concentração de 1 e 0,5% permitiram um crescimento de no máximo 37 e 48%, respectivamente. Pode-se perceber também *E. coli* apresentou maior resistência a esse ácido, sendo que os demais microrganismos apresentaram um crescimento de no máximo 27% com a concentração mais baixa de 0,5%.

Não foram encontrados estudos com o uso de ácido glicólico diretamente em alimentos, apenas trabalhos que reportam como uso excelente em limpezas industriais, devido a sua baixa toxicidade, bem como pelo fato de não ser inflamável, incluindo o uso para remoção de ferrugem e desengorduramento (SANTOS, 2016). Blanque (2020) analisou produtos utilizados em *pré e pós dipping* (produtos usados para desinfetar os tetos de vacas leiteiras imediatamente antes e logo após a ordenha), entre eles o ácido glicólico a 3% por possivelmente melhorar o condicionamento da pele do teto e proporcionar um “efeito barreira” contra os microrganismos causadores de mastite bovina, formando uma película protetora.

6 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos nesse trabalho, pode-se sugerir que os ácidos orgânicos (lático, acético, glicólico, cítrico e ascórbico) apresentam bom potencial para uso industrial visando o controle microbiológico em papada suína, pois apresentaram resultados para a concentração inibitória mínima abaixo de 1%, considerando os microrganismos *E. coli*, *S. enterica* sorovar Choleraesuis, *S. aureus* e *L. monocytogenes*.

As concentrações e tempos de contato podem ser adaptados de acordo com a realidade de cada planta industrial, ou seja, a concentração pode ser diminuída se o tempo de contato for aumentado, porém se o determinante for o tempo de contato minimizado, a concentração deve ser aumentada.

O ácido lático apresentou os melhores resultados de inibição do crescimento dos microrganismos estudados, pois reduziu 1,57 Log₁₀ (UFC/g) a 0,50% para *E. coli*; 1,23 Log₁₀ (UFC/g) a 1,25% para *S. enterica* sorovar Choleraesuis; 1,68 Log₁₀ (UFC/g) a 1,25% para *S. aureus* e 1,23 Log₁₀ (UFC/g) a 0,75% para *L. monocytogenes*, considerando 10 min de exposição.

A melhor combinação dos ácidos orgânicos foi obtida com lático e acético pois manteve o crescimento dos microrganismos *E. coli*, *S. enterica* sorovar Choleraesuis, *S. aureus* e *L. monocytogenes* em, no máximo 40%, com 0,5 % de cada ácido por 10 min de exposição.

O ácido glicólico utilizado isoladamente manteve o crescimento dos microrganismos *E. coli*, *S. enterica* sorovar Choleraesuis, *S. aureus* e *L. monocytogenes* abaixo de 5 % com a concentração de 2% por 10 minutos de exposição.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Como sugestões para trabalhos futuros:

- Avaliar os ácidos láctico, cítrico, ascórbico e acético empregando a técnica de aspersão;
- Testar a ação do ácido glicólico em produtos cárneos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, C. A. **Nutricines. Food components in Health and Nutrition.** Nottingham. Nottingham Univ. Press. 1999.

ABCS, Associação Brasileira dos Criadores de Suínos, **A atual visão do consumidor,** Brasília/ DF, 2019. Disponível em: < http://abcnews.com.br/wp-content/uploads/2019/09/Estudo-de-mercado_Web_lock.pdf >. Acesso em 16 set.2020.

ACUFF, G.R, **Chemical Decontamination Strategies for Meat: Improve the safety of fresh meat** Boca Raton, JN. Sofos Ed., p 350- 363, 2005.

BARBOSA, J. **Inativação de *Staphylococcus aureus* em salmão cru empregando dióxido de carbono supercrítico.** Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Universidade do Alto Uruguai, Erechim/RS, 2016.

BLANQUE, I, **Análise de Viabilidade Econômica e de Estratégia Empresarial para a Introdução de Três Produtos Desinfetantes Israelenses de Uso Agropecuário no Mercado Brasileiro** Trabalho Conclusão do Curso de Graduação em Engenharia de Produção – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis / SC, 2020.

BNDES, Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social, **Suinocultura: Estrutura da cadeia produtiva, panorama do setor no Brasil e no mundo e o apoio do BNDES** n°45, p. 85-136, 2017. Disponível em: <https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/bitstream/1408/11794/1/BS%2045%20Suinocultura%20-%20estrutura%20da%20cadeia%20produtiva%2c%20panorama%20do%20setor%20no%20Brasil%5b...%5d_P.pdf>. Acesso em 16 set.2020.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução RDC n°12 de 02 de janeiro de 2001. **Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos,** Diário Oficial da União de 10/01/2001.

BRASIL, Decreto n° 9.013 de 29 de março de 2017, **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal,** Diário Oficial da União de 30/03/2017, Edição:62, Seção 1, p.3-27.

BRASIL, Instrução Normativa n° 79 de 14 de novembro de 2018, **Procedimentos de inspeção ante e post mortem de suínos com base em risco,** Diário Oficial da União de 17/12/2018, Edição:241, Seção 1, p. 4-7.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, **Serviço de Inspeção Federal,** 29 nov. 2016. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-animal/sif>>. Acesso em: 15 jul. 2019.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, **Novo regulamento da inspeção de produtos de origem animal prevê penas mais severas,** 29 mar. 2017. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/novo-regulamento-da-inspecao-de-produtos-de-origem-animal-reforca-seguranca-alimentar>>. Acesso em: 15 jul. 2019.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, **Modernização do RIISPOA**, 29 mar. 2017. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/modernizacao-do-riispoa>>. Acesso em 06 set. 2020.

BRASIL, Ministério da Saúde, **Manual Integrado de Vigilância, Prevenção e Controle de Doenças Transmitidas por Alimentos**, Brasília/DF, 2010. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_integrado_vigilancia_doencas_alimentos.pdf>. Acesso em: 17 set.2020.

BRASIL, Portaria nº 711 de 01 de novembro de 1995, **Normas técnicas de instalações e equipamentos para abate e industrialização de suínos**. Diário Oficial da União de 03/11/1995, Seção 1, p. 17625.

BRASIL, Portaria nº 155 de 17 de agosto de 2016, **Temperatura de congelamento de carcaças** – anexo a Portaria nº711 de 1º de novembro de 1995. Diário Oficial da União de 18/08/2016, Seção 1, p. 14.

BRASIL, Portaria nº1.304 de 7 de Agosto de 2018, **Carcaças e vísceras oriundas do DIF** – anexo a Portaria nº711 de 1º de novembro de 1995. Diário Oficial da União de 22/08/2018, Seção 1, p. 10.

CANSIAN, R. L.; MOSSI, A. J.; OLIVEIRA, D.; TONIAZZO, G.; TREICHEL, H.; PAROUL, N.; ASTOLFI, V.; SERAFINI, L. A. Atividade antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial de ho-sho (*Cinnamomum camphora* Ness e Eberm Var. *Linaloolifera* fujita) **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.30, n. 2, p 378-384, abr/jun. 2010.

CHAI, H-E & SHEEN, S. Effect of high pressure processing, allyl isothiocyanate, and acetic acid stresses on *Salmonella* survivals, storage, and appearance color in raw ground chicken meat. **Food Control**, v.123, p.107784, 2021.

DE CARLI, E. M.; PALEZI, S. C.; ZOZ, M.; FRIES, L. L. **Ácidos Orgânicos e Irradiação UV-C: Métodos Combinados de Conservação da Carne Suína**, Congresso Sul Brasileiro de Engenharia de Alimentos, 2015.

DE CARLI, E. M.; TERRA, N. N.; FRIES, L. L. M; MENEZES, C. R.; PALEZI, S. C. Decontamination pig carcasses of organic acids with comercial and saline acidified ultraviolet light. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 3, p. 1195-1204, maio/jun. 2013.

DeGEER, S. L.; WANG, L.; HILL, G. N.; SINGH, M.; BILGILI, S. F.; BRATCHER, C. L. Optimizing application parameters for lactic acid and sodium metasilicate against pathogens on fresh beef, pork and deli meats. **Meat Science**, v.118, p. 28–33, 2016.

DREHMER, A. M. F. **Quebra de Peso de Carcaças e Estudo da Vida de Prateleira da Carne Suína**. 131 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria/RS, 2005.

DUBAL, Z. B.; PATURKAR, A. M.; WASKAR, V. S.; ZENDE, R. J.; LATHA, C.; RAWOOL, D. B.; KADAM, M. M. Effect of food grade organic acids on inoculated *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* and *S. Typhimurium* in sheep/goat meat stored at refrigeration temperature. **Meat Science**, v.66, p. 817–821, 2004.

- EMBRAPA, **Salmonella na suinocultura brasileira**: do problema ao controle. Jalusa Deon Kich, Jean Carlos Porto Vilas Boas Souza (editores técnicos), Brasília, DF: Embrapa, 2015.
- EPA, United States Environmental Protection Agency. **EPA Takes Action to Assure Availability of Disinfectant Products for Use Against the Novel Coronavirus 2020**. Disponível em: <<https://www.epa.gov/newsreleases/epa-takes-action-assure-availability-disinfectant-products-use-against-novel>>. Acesso em: 9 dez. 2020.
- FDA - Food and Drug Administration. Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance. **Guidance for the Industry**: Fourth Edition. Florida Sea Grant. 498p. 2020. Disponível em: < <https://www.fda.gov/media/80637/download>>. Acesso em: 23 fev.2021.
- FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. Artmed Editora, 2013.
- GAIO, I. et al. Antibacterial activity of basil essential oil (*Ocimum basilicum* L.) in Italian-type sausage. **Journal of Consumer Protection and Food Safety**, v. 10, p. 323–329, 2015.
- HENRIQUES, B. G.; SOUSA, V. P.; VOLPATO, N. M.; GARCIA, S. Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para a determinação do teor de ácido glicólico na matéria-prima e em formulações dermocosméticas. **Revista Brasileira Ciências Farmacêuticas**. v.43, n. 1, p. 39-45, 2007.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de orçamentos Familiares**: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil BGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento. - Rio de Janeiro: IBGE, 2020. Disponível em: <<https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv101742.pdf>>. Acesso em: 16 set.2020.
- IFOPE, Educacional, **Instrução Normativa Nº 79, 2018**, 18 dez. 2018. Disponível em: <<https://blog.ifope.com.br/instrucao-normativa-n-79-2018/>>. Acesso em: 15 jul. 2019.
- JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 711p. 2009.
- KIM, T-K; HWANG, K-E; LEE, M-A; PAIK, H-D; KIM, Y-B; CHOI, Y-S, Quality characteristics of pork loin cured with green nitrite source and some organic acids. **Meat Science**, v.152, p.141-145, 2019.
- MACHADO, A. R.; GOUVEIA, F. C.; PICININ, L. C. A., KICH, J. D.; CARDOSO, M. R. I.; FERRAZ, S. M. Avaliação microbiológica e físico-química de pernis suínos tratados com ácidos orgânicos e/ou vapor no controle da contaminação superficial por *Salmonella* Typhimurium. **Ciência Animal Brasileira**, v. 14, n. 3, p. 345-351, 2013.
- MACHADO, H. Z.; POZZA, M. S.; OLIVO, P. M.; SANTOS, A. C.; JACOMINI, J.; MADRONA, G. S.; Use of Organic acids for Meat Conservation: Physico and Microbiological Changes. **Archives of Veterinary Science**, v. 23, n. 3, p.01-10, 2018.
- MANI-LÓPEZ, E, GARCÍA, H. S., LÓPEZ-MALO, A. Organic acids as antimicrobials to control Salmonella in meat and poultry products, **Food Research International**, v.45, p.713-721, 2012.
- MARÇAL, D. A.; ABREU, R. C.; CHEUNG, T. L.; KIEFER, C. Consumo da Carne Suína no Brasil: Aspectos Simbólicos como Determinantes dos Comportamentos **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 9, n. 4, p. 989-1005, 2016.

McMEEKIN, T. A.; BROWN, J.; KRIST, K.; MILES, D.; NEUMEYER, K.; NICHOLS, D. S.; OLLEY, J.; PRESSER, K.; RATKOWSKY, D. A.; ROSS, T.; SALTER, M.; SOONTRANON, S. Quantitative Microbiology: A Basis for Food Safety. **Emerging Infectious Diseases**, v. 3, n. 4, p. 541–549, 1997.

MELLO, R.; TERRA, N. N. Ácido ascórbico e ácido láctico na conservação de carcaças de frango refrigeradas. **Higiene Alimentar**, v. 8, n. 34, p. 39-43. 1994.

ÖZDEMİR, H.; YILDIRIM, Y.; KÜPLÜLÜ, Ö.; KOLUMAN, A.; GÖNCÜOĞLU, M.; GÖKHAN, I. Effects of lactic acid and hot water treatments on *Salmonella Typhimurium* and *Listeria monocytogenes* on beef. **Food Control**, v.17, p.299-303, 2006.

OVER K. F.; HETTIARACHCHY, N.; JOHNSON, M. G.; DAVIS, B.; Effect of Organic Acids and Plant Extracts on *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella Typhimurium* in Broth Culture Model and Chicken Meat Systems. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 9, 2009.

PEREIRA, C.; & LUNA, F. L. **Ácido Glicólico: Alternativa verde no controle microbiológico em indústrias alimentícias** 2019. Disponível em: <https://conteudo.grupokersia.com.br/webinar_acido_glicolico>. Acesso em: 09 dez.2020.

RAJKOVIC, A.; TOMASEVIC, I.; SMIGIC, N.; UYTENDAELE, M.; RADOVANOVIC, R.; DEVLIEGHERE, F. Pulsed UV light as an intervention strategy against *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 on the surface of a meat slicing knife. **Journal of Food Engineering**, v. 100, p. 446–451, 2010.

SANTOS, E. M.; **Ácido Glicólico e seu uso como limpador industrial** 2016. Disponível em: < <https://www.linkedin.com/pulse/%C3%A1cido-glic%C3%B3lico-e-seu-uso-como-limpador-industrial-dos-santos/?originalSubdomain=pt> >. Acesso em: 09 dez. 2020.

SILVA, J. A. Sanitização da carne bovina com ácidos orgânicos. **Higiene Alimentar**, v. 13, n. 62, p. 37-43, 1999.

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

TINNEY, K. S.; MILLER M. F.; RAMSEY, C. B.; THOMPSON, L. D.; CARR, M. A. Reduction of Microorganisms on Beef Surfaces with Electricity and Acetic Acid. **Journal of Food Protection**, v. 60, n. 6, p. 625-628, 1997.

TUGNOLI, B.; GIOVAGNONI, G.; PIVA, A.; GRILLI, E. From Acidifiers to Intestinal Health Enhancers: How Organic Acids Can Better Growth Efficiency of Pigs. **Animals**, v. 10, p. 134, 2020.

USDA - United States Department of Agriculture. **Livestock and Poultry: World Markets and Trades**. Foreign Agricultural Service. 2020. Disponível em: < https://downloads.usda.library.cornell.edu/usda-esmis/files/73666448x/sb397r25n/0z709c25b/livestock_poultry.pdf >. Acesso em: 16 set. 2020.

USDA - United States Department of Agriculture. **Food Safety and Inspection Service**. Safe and suitable ingredients used in the production of meat and poultry products. 2019. Disponível em: <https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/ce40e7ae-3d55-419e-9c68-a1b6fefcd4de/7120.1_Table_2.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 20 fev.2021.

VASCONCELOS, E. C.; ZAPATA, J. F. F.; FIGUEIREDO, E. A.; CASTELO BRANCO, M. A. A.; BORGES, A. S. A microbiota da carcaça e da carne ovina tratada com ácido acético, embalada a vácuo e maturada por 48 dias. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 3, p. 272-277, 2002.

ZABOT, S. **Atividade Antimicrobiana de Ácidos Orgânicos e Compostos Clorados sobre Micro-organismos Patogênicos em Carne de Frango** Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina/PR, 2016.

ZDANSKI, S. F. R. **Ácidos orgânicos e seus sais e nisina no controle de bactérias lácticas, aeróbicas mesófilas e *Listeria monocytogenes* em salsichas** Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria/RS, 2011.

WHO, World Health Organization, Foodborne disease outbreaks: Guidelines for investigation and control, 146 p. 2008. Disponível em: <file:///C:/Users/User/Downloads/9789241547222_eng.pdf>. Acesso em: 17 set.2020.

WOOLTHUIS, C. H. J. & SMULDERS F. J. M. Microbial Decontamination of Calf Carcasses by Lactic Acid Sprays. **Journal of Food Protection**, v. 48, n. 10, p. 832-837, 1985.