



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO  
FACULDADE DE AGRONOMIA, MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL (PGCA)**

**ANTONIO SÉRGIO MARQUES TELES LÔBO**

**ÁGUA OZONIZADA (O<sub>3</sub>) NO CONTROLE  
DE *Salmonella enterica* Typhimurium EM CARNE RESFRIADA  
DE JACARÉ DO PANTANAL (*Cayman crocodilus yacare*)**

CUIABÁ, MT  
2013

L799a

Lôbo, Antônio Sérgio Marques Teles.

Água Ozonizada (O<sub>3</sub>) no Controle de *Salmonella enterica*  
*Typhimurium* em Carne Resfriada de Jacaré do Pantanal (*Cayman*  
*crocodilus yacare*)./ Antonio Sérgio Marques Teles Lôbo.  
Cuiabá: UFMT, 2013.

85 fls.

Dissertação de Mestrado em Ciência Animal (UFMT)

Orientador: Prof. Dr. Edivaldo Sampaio de Almeida Filho

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cássia Aldrin de Mello

1.Jacaré (*Cayman crocodilus yacare*). 2.Ozônio. 3.Salmonella  
spp. 4.Boas Práticas de Fabricação. I.Título.

CDU 636.2



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO  
FACULDADE DE AGRONOMIA, MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL (PGCA)**

**ANTONIO SERGIO MARQUES TELES LÔBO**

**ÁGUA OZONIZADA (O<sub>3</sub>) NO CONTROLE  
DE *Salmonella enterica* Typhimurium EM CARNE RESFRIADA  
DE JACARÉ DO PANTANAL (*Cayman crocodilus yacare*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Mato Grosso, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Edivaldo Sampaio de Almeida Filho

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cássia Aldrin de Mello

CUIABÁ, MT  
2013

## FOLHA DE APROVAÇÃO

**Aluno:** Antônio Sérgio Marques Teles Lôbo

Dissertação de Mestrado defendida em 22 de março de 2013.

Título – Água Ozonizada (O<sub>3</sub>) no Controle de *Salmonella entérica* Typhimurium em Carne Resfriada de Jacaré do Pantanal (*Cayman crocodilus yacaré*)

Aprovado em 22/03/2013

## BANCA EXAMINADORA

-----  
Prof. Dr. Edivaldo Sampaio de Almeida Filho  
Orientador – Universidade Federal do Mato Grosso - UFMT

-----  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cassia Aldrin de Mello  
Co-Orientadora - Universidade Federal do Mato Grosso – UFMT

-----  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Gerusa Silva Sales Correa  
Examinadora Interna – Universidade Federal do Mato Grosso - UFMT

-----  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Daniella Moreira Pinto  
Examinadora Externa – Centro Universitário de Várzea Grande – UNIVAG

Dedico esta dissertação:

à **Gleide,**

Minha mulher e companheira, que com amor,  
carinho e compreensão está sempre ao meu lado,  
principalmente nos momentos mais difíceis.

à **Melissa e Mariana,**

Minhas filhas, que apesar da distancia, compartilham  
da minha vida e estão sempre no meu coração.

a **Davi, Rafael, Lucas, Maia, Guilherme, Cecília e Inácio**  
Meus netos muito queridos, que representam todas as crianças;  
Para quem devemos nos preocupar principalmente  
na produção de alimentos saudáveis.

## AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho foi possível graças à fé, ajuda, empenho, apoio e em acreditar no Divino e nas pessoas. Por tudo isso, agradeço:

A DEUS, Grande Arquiteto do Universo, pela Fé inabalável, Saúde, Coragem, Proteção e muita Força.

Aos Meus Pais Manoel e Therezinha (*in memoriam*) pela educação, e que me ensinaram a ter fé, ser persistente, e jamais desistir.

A Gleide, minha mulher pela paciência e estímulo, companheira dedicada que está sempre pronta e que tem sempre uma palavra de conforto e apoio.

Ao Prof. Dr. Edivaldo Sampaio de Almeida Filho, meu orientador que me aceitou como orientado.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cássia Aldrin de Mello, minha co-orientadora pelas importantes considerações, conselhos e apoio.

Ao Sr. Wilson, presidente da COOCRIJAPAN, que acreditou no trabalho e disponibilizou a amostragem dos filés de Jacaré.

À COOCRIJAPAN pelo empenho de todos os funcionários durante à coleta do material e aos trabalhos na indústria.

Ao Sr. Orlando, proprietário da Philozon O3R, Empresa fabricante dos equipamentos geradores de Ozônio, que quando soube do projeto, viajou de Santa Catarina à Cuiabá e propiciou o equipamento gerador de Ozônio para as pesquisas.

Ao Drs. Altamir Crozetta e Leonardo Cerezuela pela instalação do equipamento gerador de ozônio no laboratório na UFMT .

À Helen Cristiane Ferrareto Lindote, Alessandro Spinola Bérghamo e Renato Schembek pela imensa colaboração com os trabalhos na Indústria.

À Lusilene Aparecida Cassol, companheira de mestrado, que me incentivou e acompanhou durante todo o experimento.

Às estagiárias companheiras de trabalho, Érica Pereira da Silva, Daiane Alves Cardoso, Núbia Robaina Figueredo e Natália Trindade Azevedo Marques, todas imprescindíveis para a realização das análises microbiológicas.

À professora Dr<sup>a</sup>. Gersa Silva Sales Correa pela colaboração no tratamento estatístico dos resultados para a finalização deste trabalho.

À minha filha Melissa pelo incentivo e pelas palavras de apoio e de coerência quando eu estava prestes a explodir.

À minha filha Mariana por disponibilizar um tempo em sua empresa para a tradução de todo o artigo encaminhado para publicação na *Food Researcher International*.

Ao amigo Saulo Diogo de Assis pelo apoio e pela revisão final.

Ao colega Rafael que no dia zero do experimento deixou seus afazeres e com muita boa vontade nos ajudou no laboratório.

Aos Companheiros de Mestrado pelos bons momentos que passamos durante o curso, horas de estudo intenso, pela integração, colaboração e companheirismo. É uma turma inusitada, pois sempre houve demonstração e interesse para que todos experimentos transcorressem a contento, todos se ajudavam. Não podemos deixar de citar nossas festas com momentos de alegria e descontração, e principalmente pela homenagem que recebi no meu aniversário de 60 anos. Fatos estes, que reunidos tornam nossa turma de mestrado uma Turma Especial.

Ao Dr. Francisco de Moraes Chico Costa, Superintendente Federal da Agricultura, SFA/ MAPA, pela autorização e apoio para cursar o mestrado.

Ao amigo Leni Rosa Filho, companheiro de trabalho no Serviço de Inspeção Federal (SIF) que com compreensão e paciência dividiu os horários de trabalho.

Ao Prof. Dr. Wilian Bertoloni por disponibilizar o colorímetro durante o experimento e pelas orientações sobre colorimetria.

À responsável pelo Laboratório Lúcia de Fátima M. Filgueira e sua equipe do LAPOA pela realização das análises de BVT-N.

À estagiária Arielli Aline Quintino Zago pela colaboração na organização e tradução das citações.

Aos meus agentes e auxiliares do SIF 826 pelo apoio e interesse nas pesquisas realizadas.

A todos vocês meus sinceros agradecimentos.

## RESUMO

Este trabalho teve com objetivo avaliar a eficiência do ozônio ( $O_3$ ) sob a forma de água ozonizada para controle de *Salmonella enterica* Typhimurium, e sua interferência no prazo de validade comercial em filés de cauda de Jacaré do Pantanal (*Caiman crocodilus yacare*) criados em cativeiro, e ainda se o programa de boas práticas de fabricação do estabelecimento é satisfatório para assegurar a qualidade da carne produzida. Após o abate e resfriamento das carcaças, foram separadas aleatoriamente 120 amostras de filé de cauda (200g cada). As 120 amostras foram separadas em quatro grupos de 3 amostras cada, sendo: GI - sem inoculação de *Salmonella enterica* Typhimurium, e sem tratamento com ozônio, permanecendo na embalagem original durante todo o experimento. GII - com inoculação de *Salmonella enterica* Typhimurium ( $5.10^9$ ) + imersão em água em temperatura ambiente ozonizada (4,0 ppm, 5 minutos), GIII - com inoculação de *Salmonella enterica* Typhimurium ( $5.10^9$ ) sem tratamento com ozônio e GIV - com inoculação de *Salmonella enterica* Typhimurium ( $5.10^9$ ) + imersão em água refrigerada a 2°C ozonizada (4,0 ppm, 5 minutos). As amostras após tratadas foram inseridas em embalagens de polietileno de alta densidade, seladas e estocadas em temperatura de refrigeração (5,5°C) por 20 dias. A partir do dia zero, a cada 48 horas (dias 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 e 18) três amostras de cada grupo foram submetidas à plaqueamento com meio seletivo para contagem de *Salmonella* Typhimurium e provas físico-químicas, prova de cocção, pH, bases voláteis totais (N-BVT) e colorimetria ( $L^*a^*b^*$ ). Os resultados evidenciaram que a água ozonizada gelada foi eficiente para redução de *Salmonella enterica* Typhimurium, e ainda constatou ausência de *Salmonella* spp. nas amostras do Grupo I, não tratadas pela água ozonizada, portanto, as Boas Práticas de Fabricação implantadas pelo estabelecimento podem ser consideradas satisfatórias. A análise físico-química, baseada em coloração, cheiro, pH e N-BVT, caracterizou como aptos ao consumo os filés de cauda de Jacaré durante os 20 dias do experimento, sem apresentar qualquer sinal de deterioração, confirmando uma resistência diferenciada desta carne, (por ser considerada como de pescado), comparada com a de pescado.

Palavras-chaves: jacaré (*Caiman crocodilus yacare*); ozônio; *Salmonella* spp.; boas práticas de fabricação.



## ABSTRACT

This study aimed to evaluate the efficiency of ozone  $O_3$  in the form of ozonated water to control *Salmonella enteric* Typhimurium and its interference for the period of validity of the commercial filets from the tail of Alligator-of-Pantanal (*Caiman crocodiles yacare*) bred in captivity, and that the program of the Good Manufacturing Practices of the property is suitable for ensuring the safety of meat produced. After the slaughter and chilling of carcasses, 120 samples of tail fillet (200g each) were randomly separated. The 120 samples were divided into four groups of 30 samples each: GI – without inoculation of *Salmonella enteric* Typhimurium, and without treatment with Ozone, remaining in the original packaging throughout the experiment. GII - inoculated with *Salmonella enteric* Typhimurium ( $5.10^9$ ) + immersion in ozonated water at room temperature (4,0 ppm, 5 minutes), GIII - inoculated with *Salmonella enteric* Typhimurium ( $5.10^9$ ) without treatment with ozone and GIV - inoculated with *Salmonella enteric* Typhimurium ( $5.10^9$ ) + immersion in ozonated water (4,0 ppm, 5 minutes) chilled to 2° C. The samples after treated, were inserted in packs of high-density polyethylene, sealed and stored at refrigeration temperature (5.5° C) for 20 days. From day zero, in every 48 hours (day 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 and 18) three samples of each group were subjected to plating in selective medium for counting the *Salmonella enteric* Typhimurium and also subjected to physicochemical tests (evidence of cooking, pH, total volatile bases (N-TVB) and Colorimetry ( $L * a * b *$ )). The results showed that iced ozonated water was effective for the reduction of *Salmonella enterica* Typhimurium, and also that *Salmonella* spp. was not found in samples of Group I where ozonated water was not used, so the Good Manufacturing Practices implemented by the establishment may be considered satisfactory. The physico-chemical tests characterized the Alligator tail's filets, during the 20 days of the experiment, suitable for consumption without showing any sign of decay, confirming a differential resistance of this meat once it is seafood.

Keywords: alligator (*Caiman crocodilus yacare*); ozone; *Salmonella* spp., good manufacturing practices.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Jacaré do Pantanal .....	17
Figura 2	Ciclo reprodutivo do <i>Caiman yacare</i> .....	18
Figura 3	Carne resfriada de Jacaré do Pantanal .....	19
Figura 4	Localização anatômica dos cortes de <i>Caiman yacare</i> .....	21
Figura 5	Instalações modernas de criatório .....	22
Figura 6	Jacaré em jejum pré-abate .....	22
Figura 7	Cortes funcionais .....	24
Figura 8	Pele Crua “Belly” .....	25
Figura 9	Pele Curtida “Hornback”.....	25
Figura 10	Produtos obtidos com a pele de Jacaré do Pantanal pela COOCRIJAPAN.....	26
Figura 11	Produtos de artesanato de Jacaré do Pantanal pela COOCRIJAPAN.....	26
Figura 12	Equipamento produtor de Oxigênio .....	36
Figura 13	Equipamento gerador de ozônio .....	36
Figura 14:	Método Índigo Colrimétrico.....	37
Figura 15	Kit CHEMets®KI OZONIO .....	37
Figura 16	Esquema tridimensional do espectro da Colorimetria .....	40

## LISTA DE ABREVIATURAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANVISA	Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
APPCC	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
BPF	Boas Práticas de Fabricação
BPP	Boas Práticas de Produção
N-BVT	Bases Voláteis Totais - Nitrogenadas
CIELAB	Comission Internationale de Éclairage (Comissão Internacional de Luminosidade)
CNPCRA	Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Répteis e Anfíbios
COA	Certificado Oficial de Análise
COOCRIJAPAN	Cooperativa dos Criadores de Jacaré do Pantanal
CSG	Crocodile Specialist Group
CV	Coefficiente de Variação
DFD	Dark, Firm and Dry (Escura, Firme e Seca)
DIPOA	Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal
DIPES	Divisão de Inspeção de Pescados e Derivados
EPRI	Electric Power Research Institute
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EMPAER	Empresa Matogrossense de Pesquisa, Assistência e Extensão Rural
FAMEVZ	Faculdade de Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia
FAO	Food and Agriculture Organization of United Nations
FDA	Food and Drug Administration (Departamento de Agricultura dos Estados Unidos)
FEMA	Fundação Estadual do Meio Ambiente
GL	Grau de Liberdade
GMP	Good Manufacturing Practices
GRAS	Generally Recognized As Safe (Geralmente Reconhecido como Seguro)
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis.
IBDF	Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal

IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IF	Inspeção Federal
IN	Instrução Normativa
INDEA-MT	Instituto de Defesa Agropecuária do Mato Grosso
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MERCOSUL	Mercado Comum do Sul
NBR	Norma Brasileira (ABNT)
O <sub>2</sub>	Oxigênio
O <sub>3</sub>	Ozônio
OMC	Organização Mundial do Comércio
OMS	Organização Mundial da Saúde
OSHUA-USA	Administração de Saúde e segurança Ocupacional
pH	Potencial Hidrogenionico
PPHO	Procedimento Padrão de Higiene Operacional
PSO	Procedimento Sanitário Operacional
QM	Quadrado Médio
RIISPOA	Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
SEBRAE	Sistema Brasileiro de Apoio as Micro e Pequenas Empresas
SEDRAF	Secretaria de Desenvolvimento Rural e Agricultura Familiar do Estado de Mato Grosso
SFA	Superintendência Federal da Agricultura
SIF	Serviço de Inspeção Federal
SISE	Serviço de Inspeção Sanitária Estadual
THM	Trihalometano
UFMT	Universidade Federal do Mato Grosso
UNEP	United Nations Environment Programme

## SUMÁRIO

	<b>RESUMO .....</b>	<b>6</b>
	<b>CAPITULO 1 .....</b>	<b>14</b>
<b>1</b>	<b>CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....</b>	<b>14</b>
	<b>CAPITULO 2 .....</b>	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>17</b>
2.1	O JACARÉ DO PANTANAL .....	17
2.2	SISTEMAS DE CRIAÇÃO .....	21
<b>2.2.1</b>	<b><i>Ranching</i> (criação com coleta de ovos ou filhotes).....</b>	<b>21</b>
<b>2.2.2</b>	<b><i>Farming</i> (criação em ciclo fechado).....</b>	<b>22</b>
<b>2.2.3</b>	<b><i>Harvesting</i> (manejo extensivo).....</b>	<b>23</b>
2.3	A Produção de Jacarés na Cooperativa dos Criadores de Jacaré Do Pantanal (COOCRIJAPAN).....	<b>23</b>
2.4	Contaminação Bacteriana do Jacaré .....	27
<b>2.4.1</b>	<b>Salmonella.....</b>	<b>27</b>
<b>2.4.1.1</b>	<b>Histórico.....</b>	<b>28</b>
<b>2.4.1.2</b>	<b>Epidemiologia.....</b>	<b>29</b>
<b>2.4.1.3</b>	<b>Característica da doença.....</b>	<b>33</b>
<b>2.4.1.4</b>	<b>Mecanismo de patogenicidade.....</b>	<b>34</b>
<b>2.4.1.5</b>	<b>Medidas de controle.....</b>	<b>34</b>
2.5	O OZÔNIO (O <sub>3</sub> ) .....	34
<b>2.5.1</b>	<b>O uso de O<sub>3</sub> para redução da carga microbiana em alimentos .....</b>	<b>37</b>
2.6	PADRÕES MICROBIOLÓGICOS PARA O PESCADO FRESCO.....	<b>38</b>
2.7	PADRÕES FÍSICO-QUÍMICOS PARA O PESCADO FRESCO.....	<b>39</b>
<b>2.7.1</b>	<b>Prova da Cocção.....</b>	<b>39</b>
<b>2.7.2</b>	<b>Prova do pH.....</b>	<b>39</b>
<b>2.7.3</b>	<b>Colorimetria.....</b>	<b>40</b>
<b>2.7.4</b>	<b>Bases voláteis totais nitrogenadas (N-BVT).....</b>	<b>41</b>
<b>2.8</b>	<b>Boas práticas de fabricação</b>	<b>41</b>

<b>3</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....</b>	<b>43</b>
	<b>CAPITULO 3 .....</b>	<b>54</b>
	<b>ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO.....</b>	<b>54</b>

## CAPÍTULO 1

### 1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A produção de peixes no Brasil cresceu 60% no período de 2007 a 2009, com um total de 1.065.195 tn em 2008, com previsão de alcançar dois milhões de toneladas em 2014. (MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA, 2012). Já Mato Grosso superou o percentual de produção do país, com um crescimento de 70% no mesmo período. (GLOBO RURAL, 2011). A produção de pescado no estado do Mato Grosso em 2012 foi de 45.000tn, com um crescimento de mais de 5.000tn a cada ano, devendo alcançar aproximadamente 83.000tn até 2014/2015. (SEDRAF, 2012).

Dentre os pescados quem tem se destacado, com uma produção e comercialização de 30.702,74 kg de carne em 2012, está o Jacaré do Pantanal (*Cayman crocodilus yacare*). Um réptil que, assim como os pescados em geral, tem carne de excelente valor nutricional. (SIF 2452-2013)

Atualmente, um número cada vez maior de pessoas dá preferência ao pescado como uma alternativa de alimentação saudável se comparada à carne de outros animais, pois se preocupam com os aspectos da saúde, em particular, nos países desenvolvidos onde a mortalidade por doença cardiovascular é elevada e o nível sócio-cultural é alto, com um maior número de pessoas esclarecidas.

Neste contexto o pescado desempenha papel relevante na economia de diversos países, como consequência de sua abundância e excelente composição, alta digestibilidade e baixos níveis calóricos e a exemplo de carnes, leites e ovos, o músculo esquelético do pescado é rico em proteínas e lipídeos, constituindo para a nutrição humana excelente fonte de aminoácidos essenciais (OGAWA e MAIA, 1999).

O pescado é um alimento perecível e suscetível à deterioração autolítica, oxidativa e microbiológica devido à alta atividade de água, elevado teor de gorduras insaturadas e principalmente ao pH próximo à neutralidade (FRANCO e LANDGRAF, 1996); no entanto, pode também ser fonte de patógenos e causar doenças, na maioria das vezes relacionadas à toxinas e viroses, mas também bactérias patogênicas naturais do ambiente aquático ou derivadas de águas poluídas e/ou de contaminação pós-captura. (FERRETI et al., 1994).

Os pescados podem se tornar um risco ao consumidor caso não sejam observados cuidados nas etapas de processamento em geral, desde a despesca até

manipulação e armazenamento, visto que pode haver presença e multiplicação de micro-organismos patogênicos resultando em enfermidades alimentares (DIAZ, 2001), como por exemplo a *Salmonella* spp.

A *Salmonella* spp. é uma enterobacteriaceae mesófila, presente em ambientes poluídos, e a poluição do ambiente do criatório e da alimentação podem ocasionar e intensificar a contaminação de jacarés, não causando danos aos animais, porém podem ocasionar um grave problema de saúde pública aos humanos consumidores da carne. Micro-organismos da família das enterobacteriaceae são considerados indicadores de qualidade higiênico sanitária de alimentos. A sua presença pode significar um tratamento térmico deficiente, ou uma contaminação pós-tratamento térmico e/ou uma contaminação ambiental da unidade produtora e deficiência de boas práticas no manuseio de alimentos. (ALMEIDA FILHO, 2006).

Com o processo de globalização e avanço da tecnologia, onde a informação ocorre em tempo real, a divulgação de agentes que afetam a saúde do consumidor é imediata, despertando na comunidade científica uma constante preocupação com a preservação da saúde. Nesse sentido vários estudos têm sido feitos constantemente com o objetivo de estender o prazo de validade comercial dos alimentos através do uso de embalagens com atmosfera modificada e/ou agentes sanitizantes, como por exemplo, o ozônio (O<sub>3</sub>).

O O<sub>3</sub> sob a forma de gás ou de água ozonizada na indústria de alimentos é utilizado para descoloração, desodorização, desinfecção e ainda controle microbiano, com a vantagem de não formar subprodutos tóxicos como é observado quando se utiliza produtos químicos oxidantes como o cloro. (WEI et al., 1985).

De acordo com o United Nations Environment Programme (UNEP) o termo “cleaner production” descreve a necessidade de uma produção limpa, onde a tecnologia que se utiliza do O<sub>3</sub> pode auxiliar as boas práticas de produção, manutenção, reuso e reciclagem, substituição de materiais perigosos e produtos químicos, mudanças de tecnologia e inovação e desenvolvimento de produtos acabados mais limpos livres de substâncias químicas. (CHIATONNE, 2008).

Em 2001 o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos reconheceu o O<sub>3</sub> como um produto para uso direto nos alimentos para eliminar micro-organismos patogênicos, introduzindo uma nova prática aos processadores de alimentos. No Brasil a legislação tanto do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento quanto da Agencia Nacional de Vigilância Sanitária não contemplam o uso de O<sub>3</sub> em alimentos.



O  $O_3$  exerce forte efeito germicida devido ao seu alto potencial oxidante (KHADRE, et al., 2001; KIM et al., 1999) e que sua aplicação apresenta vantagens na higienização de alimentos (CAMPOS. et al. , 2005; CAMPOS, 2006; CHAWLA, 2002), na redução da demanda química e bioquímica de Oxigênio ( $O_2$ ), na redução de Trihalometanos (THM's), na remoção de ferro e manganês solúveis e na remoção de gostos e odores indesejáveis. (GUZEL-SEYDIM, 2004).

Vários são os trabalhos que demonstram a eficiência do  $O_3$  no controle microbiológico de *Salmonella* spp. em alimentos, porém, nenhum deles realizado com carne de Jacaré do Pantanal.

Diante do exposto e considerando-se a contaminação da carne de jacaré do pantanal, este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência do Ozônio ( $O_3$ ) sob a forma de água ozonizada para controle de *Salmonella enterica* Typhimurium em filés de cauda de jacaré do pantanal (*Caiman crocodilus yacare*) criados em cativeiro, e ainda se o programa de boas práticas de fabricação do estabelecimento é satisfatório para assegurar a inocuidade da carne produzida.

## CAPITULO 2

### 2 REVISÃO DE LITERATURA

#### 2.1 O JACARÉ DO PANTANAL

Os crocodilianos são répteis que de acordo com o Crocodile Specialisty Group (CSG) apareceram por volta de 320 milhões de anos atrás. O termo crocodilo é utilizado para designar quaisquer indivíduos das famílias pertencentes à ordem Crocodilia. (PIRAN, 2010).

No Brasil encontramos cinco espécies de crocodilos: Jacaré do Papo-Amarelo (*Caiman latirostris*), Jacaré-Açu (*Melanosuchus niger*), Jacaré-Tinga (*Caiman crocodylus*), Jacaré Coroa (*Paleosuchus trigonatus*) e Jacaré do Pantanal (*Caiman crocodilus yacare*). (PIRAN, 2010).

O Jacaré do Pantanal (Figura 1) pertence à Ordem Crocodilia, família Alligatoridae, Gênero *Caiman*, Espécie *Caiman yacare* (CENTRO NACIONAL DE PESQUISA E CONSERVAÇÃO DE RÉPTEIS E ANFÍBIOS, 2009). Habita a bacia Amazônica, no estado de Rondônia e bacia do Rio Paraguai, no Pantanal de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, além do Pantanal da Bolívia e Paraguai.



Figura 1: Jacaré do Pantanal  
Fonte: Lobo (2008)

No *habitat* natural possuem um ciclo de vida longo (Figura 2)

### Ciclo reprodutivo do *Caiman crocodilus yacare* na natureza

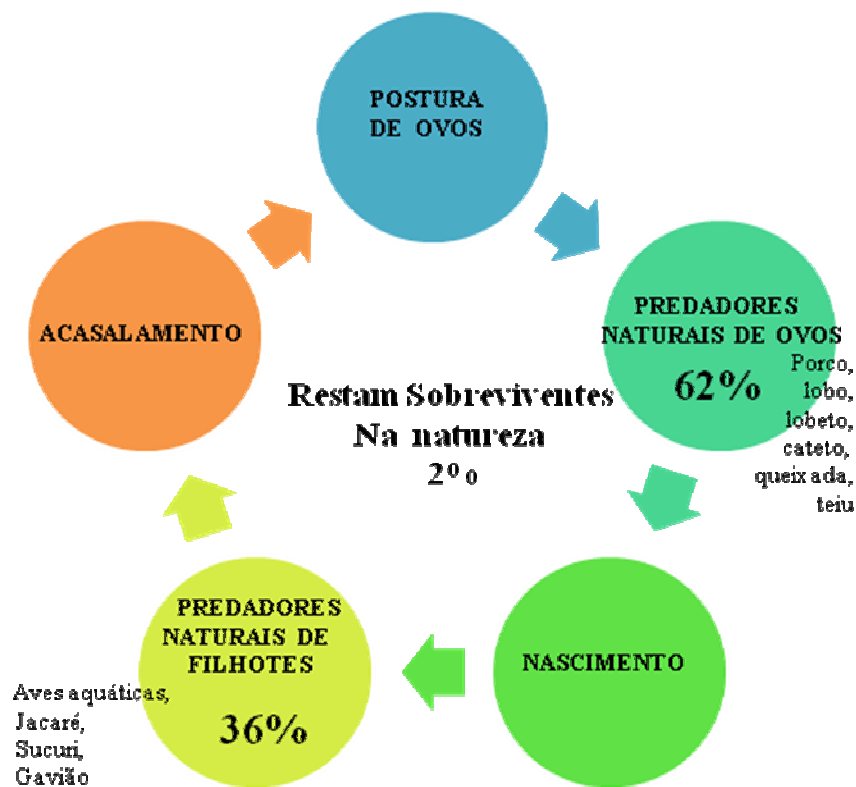


Figura 2: Ciclo reprodutivo do *Caiman yacare*

Fonte: COOCRIJAPAN (2013)

A idade de reprodução dos machos é entre nove e dez anos e a das fêmeas entre 7 e 8 anos. O sexo é determinado pela temperatura de incubação dos ovos, onde em temperatura baixa (28 a 32°C) ocorre a produção de fêmeas, ovos incubados à temperatura entre 32 e 34°C, ocorre o nascimento de machos, e acima de 34°C configura área de risco. (COOCRIJAPAN, 2013)

Em alguns *habitats* a densidade chega a 250 repteis por km<sup>2</sup> e a população de Jacarés do Pantanal chega a 200 milhões de animais. (COUTINHO e LUZ, 2007).

A principal atividade econômica relacionada aos jacarés é o comércio de sua pele, o que estimula a caça predatória.

No século passado, teve início a criação dos jacarés em cativeiro, que se tornou uma atividade rentável e atualmente promove a redução da caça predatória além de gerar renda (PIRAN, 2010).

Segundo Roth e Merz (1997) a utilização de crocodilianos para a obtenção de peles teve origem com o desenvolvimento de técnicas para seu curtimento na França e Itália. Por volta da década de 50 este comércio chegou ao auge, com a produção anual de cerca de 10 milhões de peles de *Caiman* e meio milhão de peles de aligátors. Estes índices acabaram por ameaçar de extinção quase que todas as espécies de crocodilos no final da década seguinte. (HEMLEY E CADWELL, 1986).

Não existe registro da criação de animais silvestres em cativeiro anterior ao ano de 1950, sendo a criação de jacarés em cativeiro relatada como economicamente viável, sustentável e como uma eficiente ferramenta para preservação de todo ecossistema a partir dos anos 60. (CAMPOS, MOURÃO E COUTINHO, (2005).

Na América do Sul a indústria da pele dos jacarés se consolidou com o Jacaré-Açu e o Jacaré do Papo Amarelo. E quando estas espécies começaram a ficar escassas, para atender ao mercado internacional o Jacaré do Pantanal tornou-se alvo para suprir esta demanda (FITZGERALD, 1989).

A partir do ano 2000, 1,5 a 2 milhões de peles de crocodilos (75% do mercado mundial) abasteceram o mercado por ano, sendo que desse total, 75% eram peles de jacaré do pantanal, capturados na natureza. (PIRAN, 2010). O Brasil na década de 60 foi o principal exportador de peles de Jacaré do Pantanal, atingindo 758 mil peles exportadas só no ano de 1967. (VICENTE NETO, 2005)

A carne de Jacaré do Pantanal (Figura 3) é um produto que possui excelentes requisitos para uma expansão da demanda, principalmente porque o jacaré carrega a imagem de possuir uma carne sem contra-indicações (magra, alto teor protéico, com baixos teores de colesterol ruim e baixa caloria) quando comparada com às carnes vermelhas (Tabelas 1 e 2).



Figura 3: Carne resfriada de Jacaré do Pantanal - Fonte: Lôbo (2008)

Tabela 1: Tabela nutricional comparativa entre espécies

ESPÉCIE	CALORIAS kcal	PROTEINA g	GORDURA g
JACARÉ*	50,64	23,88	0,32
PERDIZ	118	21,2	3,1
AVESTRUZ	126	25,5	2,7
BUFALO	131	26,8	1,8
CAPIVARA	135	22,1	4,5
COELHO	162	21,0	8,0
CODORNA	184	18,0	12,5
CORDEIRO	206	17,1	14,8
BOI	225	19,4	15,8
FRANGO	246	18,1	18,7
SUINO	276	16,7	22,7

Fonte: Escola Agrotécnica Federal de Cáceres (2008)

Tabela 2: Informação nutricional da carne de Jacaré do Pantanal (porção de 100g)

CORTES	CARBOHIDRATOS	PROTEINAS	GORDURAS TOTAIS	GORDURAS SATURADAS	GORDURAS TRANS	VALOR CALÓRICO KCAL	KJ
CAUDA	-	23,57	0,54	0,21	NÃO CONTEM	52,03	218,53
DORSO	-	24,37	0,40	0,13	NÃO CONTÉM	52,34	219,83
COXAS	-	24,10	0,34	0,11	NÃO CONTÉM	51,26	215,29
LOMBO	-	24,23	0,29	0,10	NÃO CONTÉM	51,07	214,49
ISCAS	-	24,06	0,41	0,15	NÃO CONTÉM	51,81	217,60

Valores diários de referência com base em uma dieta de 2000 kcal ou 8400 kj

Fonte: Escola Agrotécnica Federal de Cáceres

A carne de jacaré é uma carne saudável, apresenta uma coloração rósea, consistência firme e um maior tempo de vida de prateleira quando comparada com outros pescados. A produção desta carne é bem diversificada e apresenta diversos cortes comerciais, de acordo com a localização anatômica (Figura 4). A gastronomia contempla diversos tipos de pratos e todos os tipos de quitutes, atualmente com uma grande procura por parte do consumidor.

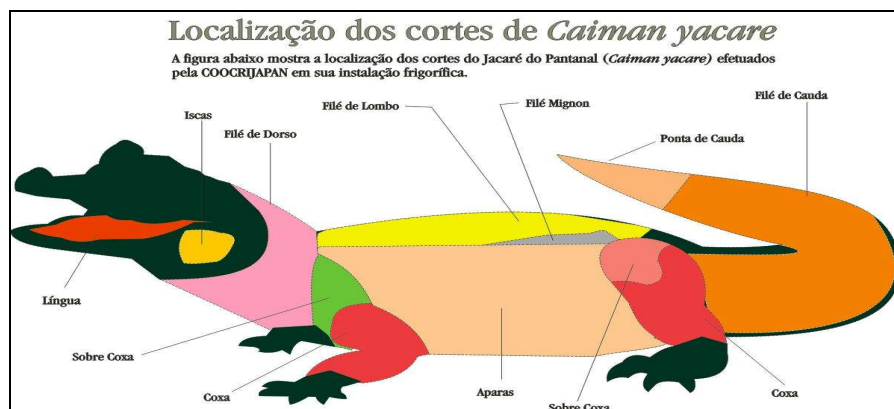


Figura 4: Localização anatômica dos cortes de *Caiman yacare*  
 Fonte: COOCRIJAPAN (2013)

## 2.2 SISTEMAS DE CRIAÇÃO

Para a criação de jacarés, existem vários tipos de manejo, a seguir descritos.

### 2.2.1 *Ranching* (criação com coleta de ovos ou filhotes)

É uma modalidade de criação em sistema aberto, na qual ovos ou filhotes são coletados da natureza para criação em cativeiro até o abate. (CAMPOS, 2002), sendo a principal desvantagem deste sistema relacionada com a logística para captura de ovos ou filhotes da natureza e o transporte até o criatório. (VERDADE, 2004).

Segundo Vicente Neto (2005) a atividade tem início com a localização e monitoramento dos ninhos nas propriedades e o planejamento para calcular a média da população de jacarés e estabelecer a quantidade de ovos que poderá ser recolhida. A coleta de ovos deve ser feita com esmero e precisão para evitar que o embrião venha á óbito. Os ninhos são reconstituídos nos criatórios e os ovos são incubados por 70 dias.

Após a eclosão, os recém-nascidos são colocados em tanques circulares cobertos (Figura 5) com “sombrite”, com capacidade para 2500 filhotes, onde serão alimentados, observados e tratados até atingirem os padrões de abate (Figura 6). A utilização do sombrite evita a ação do sol, reduz a calcificação do couro produzindo uma pele de melhor qualidade e dificulta o ataque de predadores. (VICENTE NETO, 2005).



Figuras 5 a e 5 b: Instalações modernas de criatório  
Fonte: Lôbo (2008)



Figura 6: Jacaré em jejum pré-abate  
Fonte: Lôbo (2008)

Este sistema para o manejo de Jacaré do Pantanal está regulamentado pela Portaria 126 do IBAMA (BRASIL, 1990), a qual estabelece que pode ser utilizado 80% dos ninhos localizados nas propriedades rurais autorizadas e 10% do total de ovos recolhidos devem ser destinados ao repovoamento à natureza, supervisionados pelo mesmo órgão de fiscalização.

### **2.2.2 Farming (criação em ciclo fechado)**

É o sistema de manejo que envolve a captura de machos e fêmeas da natureza para a produção da espécie em cativeiro. (FETT, 2005). Este sistema permite um maior controle de produção como alimentação, sanidade, ambiência, produtos de maior qualidade. Por outro lado tem alto custo de produção com alimentação de matrizes e filhotes, disponibilização de capital alto, não é relevante para a preservação da espécie e dificulta a fiscalização das peles. (VERDADE, 2004).

### 2.2.3 *Harvesting* (manejo extensivo)

Este manejo não se configura como uma criação propriamente dita, e sim como uma “caça controlada”. É estabelecida uma taxa de captura, sem que a mesma entre em declínio, torna-se uma prática sustentável e economicamente viável. (PIRAN, 2010).

O quadro a seguir (Quadro 1) ilustra as principais características que distinguem os sistemas *Ranching*, *Farming* e *Harvesting*.

Quadro 1: Comparação entre os sistemas de criação de Jacarés

CARACTERÍSTICAS	RANCHING	FARMING	HARVESTING
Forma de criação	Semi intensivo	Intensivo	Extensivo
Ambiente de Criação	Habitat Natural /Cativeiro	Cativeiro	Habitat Natural
Filhotes	Gerados na Natureza e Criados em Cativeiro	Gerados e Criados em Cativeiro	Gerados e Criados na Natureza
Matrizes	Não Possui	Coletadas na Natureza	Não Possui
Quantidade de Animais para Criação	Depende das Populações Naturais	Não Dependem das Populações Naturais	Depende das Populações Naturais
Controle das Atividades de Criação	Possível de Realizar	Possível de Realizar	Sem Possibilidade de Realizar
Custos de Produção	Altos	Altos	Baixo

Fonte: Piran (2010)

## 2.3 A PRODUÇÃO DE JACARÉS NA COOPERATIVA DOS CRIADORES DE JACARÉ DO PANTANAL (COOCRIJAPAN)

Fundada por proprietários da Região do Pantanal com a finalidade criar uma entidade que incentivasse a criação, a comercialização e a preservação do Jacaré do Pantanal, a COOCRIJAPAN teve início de suas atividades em 1991 e durante 15 anos se estruturou para construir um frigorífico, fato este que se consumou em 2004 funcionando inicialmente sob Inspeção Sanitária Estadual e atualmente, sob regime de Inspeção Federal sob o número 2452, desde junho de 2008.

A COOCRIJAPAN possui o primeiro frigorífico específico para o abate de jacarés da América Latina, com a implantação do SIF em regime permanente, possibilitando com isso estender a comercialização de peles, de carne e artesanatos para o mercado interestadual e internacional. A instalação do SIF propiciou também uma diversidade em pesquisa com controles distintos como controles de manejo, de



produção, de reprodução, além dos controles de patologias diagnosticadas no abate, controles físico-químicos e microbiológicos.

A COOCRIJAPAN, sob orientação do IBAMA, repõe à natureza por ano, de 4 a 10%, de animais com idade de 2 anos em relação à quantidade de ovos coletados. Nesta idade, os jacarés são resistentes aos predadores.

No frigorífico COOCRIJAPAN são abatidos de 600 a 750 jacarés por semana, que permanecem em jejum por 24 horas antes do abate. Os abates de Jacarés do Pantanal ocorrem em dias alternados com o processo de desossa.

Os animais abatidos têm em média dois anos de idade, com um rendimento de carne em torno de 900 a 1.200 gramas, e a produção final no estabelecimento origina diversificados tipos de cortes comerciais. (Figura 7)

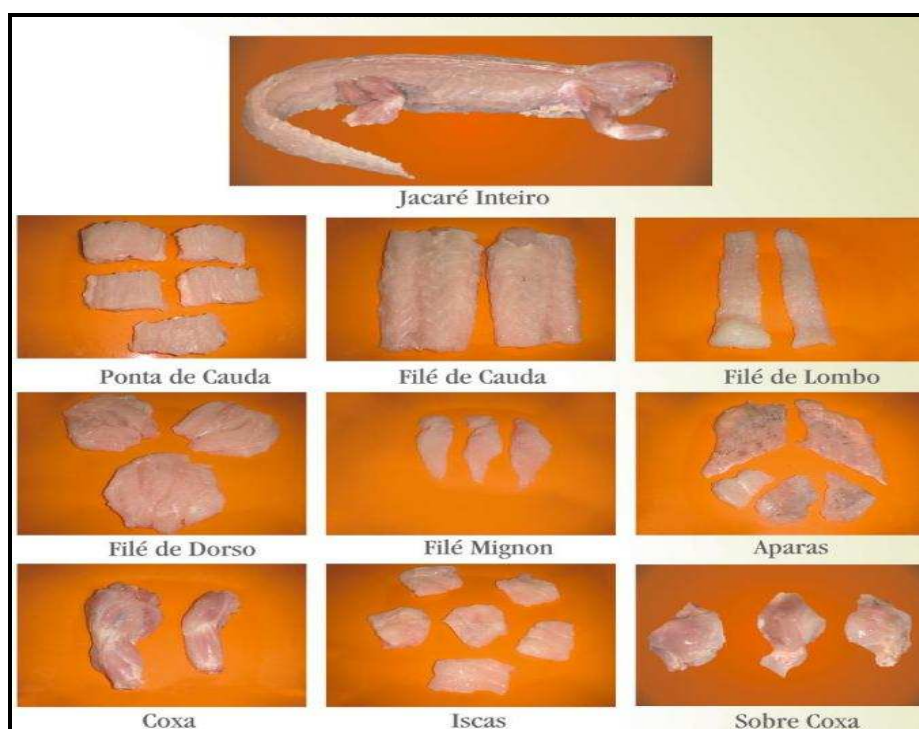


Figura 7: Cortes funcionais  
Fonte: COOCRIJAPAN (2013)

Com relação à produção de peles, a mesma é desenvolvida na COOCRIJAPAN conforme a exigência do comprador.

O estabelecimento possui dois tipos de cortes de pele: “belly” (Figura 8) que mostra o desenho da barriga e o “hornback” (Figura 9) que apresenta em sua estampa principal, as costas. Quanto ao tamanho, as peles estão sendo comercializadas

atualmente na medida de 30 a 40 cm da maior largura abdominal, podendo ocorrer pedidos em comprimentos maiores ou menores.



Figura 8: Pele Crua “Belly”  
Fonte: COOCRIJAPAN (2013)



Figura 9: Pele Curtida “Hornback”  
Fonte: COOCRIJAPAN (2013)

A pele do jacaré sempre foi sem dúvidas a principal causa da caça predatória, sendo considerada como o produto de maior valor econômico da sua criação e produção. Na COOCRIJAPAN são fabricadas com a Grife “Casa do Jacaré®” e comercializados nos mercados interno e externo (Figuras 10a,10b,10c).



Figura 10a



Figura 10b



Figura 10c

Figuras 10a, 10b e 10c: Produtos obtidos com a pele de Jacaré do Pantanal pela COOCRIJAPAN  
Fonte: COOCRIJAPAN (2013)

Os jacarés que morrem acidentalmente, bem como as cabeças são encaminhados à taxidermia e são transformados em peças artesanais decorativas (Figuras 11a,11b,11c)..



Figuras 11a, 11b e 11c: Produtos obtidos com a pele de Jacaré do Pantanal pela COOCRIJAPAN  
Fonte: COOCRIJAPAN (2013)

## 2.4 CONTAMINAÇÃO BACTERIANA DO JACARÉ

A contaminação do Jacaré pode ocorrer de diversas maneiras, desde o *habitat* natural, águas estagnadas, alimentação natural, alimentação em cativeiro, sistema de criação, manejo, falta de higiene operacional, deficiência do programa de boas práticas, até o processamento do produto final à mesa do consumidor. (PIRAN, 2010).

Devido à sua rusticidade, existe nos crocodilianos uma considerável resistência à infecção bacteriana, o que o torna um potencial vetor ou veiculador de doenças causadas por estes micro-organismos. Hofman e Romanelli (1998) citam vários patógenos em carne de Jacaré, porém, sem constatar quadro clínico de doenças nos animais. Dentre os patógenos detectaram a presença de *Salmonella* spp.

A *Salmonella* também tem sido detectada em cortes de carne de Jacaré do Pantanal congeladas em análises Oficiais realizadas pelo LAPOA, em Cuiabá, por solicitação do SIF, tanto em análises de rotina como em análises fiscais, resultando em diversos autos de infração ao estabelecimento produtor. Destas análises, só no ano de 2008, de 80 amostras pesquisadas, 26 (32,5%) foram positivas para *Salmonella* spp.

### 2.4. 1 *Salmonella* spp.

O gênero *Salmonella* pertence à família Enterobacteriaceae e compreende bacilos Gram-negativos não produtores de esporos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, produtores de gás a partir de glicose (exceto *S. typhi*) e capazes de utilizar o citrato como única fonte de carbono. A maioria é móvel, através de flagelos peritríquios, exceção feita à *S. pullorum* e *S. gallinarum*, que são imóveis (JAY, 2005).

O pH ótimo para multiplicação das salmonelas fica próximo de 7,0, sendo os valores maiores que 9,0 e menores que 4,0 bactericidas e, dependendo da natureza do ácido utilizado para a acidificação, o pH mínimo pode subir para 5,5.

Com relação à concentração de sal, as salmonelas não toleram valores maiores que 9%, enquanto o nitrito é inibitório e seu efeito é acentuado pelo pH ácido. A temperatura ideal de crescimento está na faixa entre 35 a 37°C, sendo a mínima 5°C e a máxima 47°C (FRANCO e LANDGRAF, 1996)

### 2.4.1.1 Histórico e taxonomia

O gênero *Salmonella* foi descrito pela primeira vez em 1884 por Graffky como *Bacterium thyposum*, mas foi em 1886 que Salmon e Smith isolaram de suínos com sintomas gastroentéricos um agente causador denominado primeiramente de *Bacillus cholerae suis*, que mais tarde recebeu o nome de *Salmonella choleraesuis* em homenagem à Salmon (JAY, 2005).

Desde seu primeiro isolamento, a classificação taxonômica das salmonelas tem sido muito complexa e objeto de muitas controvérsias. Existem vários esquemas de classificação, sendo os mesmos identificados pelos nomes dos seus autores: Kauffmann-White, Edwards e Ewing e Le Minor (TRABULSI e ALTERTHUM, 2005). Segundo o esquema de Kauffmann-White, o gênero *Salmonella* deve ser dividido nos sub-gêneros I, II, III e IV, ao passo que para Edwards e Ewing esta divisão deve ser feita em três espécies: *S. choleraesuis*, *S. thyphi*, e *S. enteritides*; sendo que esta última espécie abriga todas as demais salmonelas, que são consideradas sorotipos de uma mesma espécie (ex. *Salmonella enteritides* sorotipo Typhinurium). Finalmente, Le Minor, propôs a inclusão de todas as *Salmonellas* em uma só espécie, a *S. enterica*, subdividida em sete sub-espécies: *S. cholerae-suis*, *S. salame*, *S. arizonae*, *S. diarizonae*, *S. houtenae*, *S. bongori* e *S. indica* (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

Atualmente entre esses esquemas taxonômicos descritos acima, vem ganhando aceitação internacional o utilizado pelo Center for Disease Control and Prevention (CDC, Atlanta, USA), que divide o gênero *Salmonella* em duas espécies, a *S. bongori*, representada por uma única subespécie (identificada como V) e a *S. enterica*, está sendo subdividida em seis subespécies, reconhecidas por algarismos romanos, descritas a seguir: (I) *enterica*, (II) *salamae*, (IIIa) *arizonae*, (IIIb) *diarizonae*, (IV) *houtenae* e (VI) *indica* (POPOFF et al., 2001).

As cepas das subespécies I e II são comumente isoladas de animais de sangue quente, inclusive o homem, enquanto as subespécies IIIa, IIIb, IV e VI e *S. bongori* predominam nos isolados de animais de sangue frio e meio ambiente. Nos processos entéricos e extra-intestinais do homem, ocorrem predominantemente os sorovares ou sorotipos da subespécie I, atingindo 98% dos isolados (VIEIRA, 2004).

Os sorotipos pertencentes à *S. enterica* subsp. *enterica* são designados por nomes usualmente relacionados ao local geográfico de onde foram isolados pela

primeira vez ou em homenagem a uma pessoa famosa, escrito em letras romanas não itálicas, com a primeira letra maiúscula. Nota-se que é muito comum grafar as salmonelas de forma simplificada, citando-se apenas gênero e sorotipo (ex. *S. Typhimurium*). Os sorotipos pertencentes a outras subespécies são representados por suas fórmulas antigênicas, seguindo o nome das subespécies (BOPP et al., 1999).

A taxonomia do gênero *Salmonella* é baseada na composição de seus antígenos de superfície, que são os somáticos (O), os flagelares (H) e os capsulares (Vi) (FRANCO e LANDGRAF, 1996). Embora se reconheça a relevância dos diversos esquemas taxonômicos, é de grande importância epidemiológica a divisão do gênero em tipos sorológicos segundo o esquema proposto por Kauffmann e White, o qual tem por base a diferenciação antigênica das salmonelas, baseada na presença dos antígenos somáticos O e flagelares H. Os antígenos O ou somáticos, são termolábeis, de estrutura polissacarídica localizado na membrana externa, sendo identificados por números arábicos; enquanto os antígenos H ou flagelares, são de estrutura protéica associada aos flagelos, com duas fases distintas: fase 1 - específica, designadas por letras minúsculas e fase 2 - inespecífica, por números arábicos. A combinação dos antígenos O e H são determinantes do sorotipo (TRABULSI e ALTERTHUM, 2005).

Existe também o antígeno capsular Vi ou K, antígenos de envelope ou capsulares, que estão presentes somente em alguns sorotipos de *Salmonella* e podem interferir com o O, não ocorrendo a aglutinação. A identificação sorológica é feita por aglutinação rápida. Esta identificação sorológica consiste em submeter as colônias com perfil característico de *Salmonella* a testes de soroaglutinação em lâmina, empregando-se o anti-soro polivalente flagelar e somático. Esta primeira orientação é obtida com a mistura dos soros anti-O e anti-H, antes de se utilizarem os soros monoespecíficos, que permitirão a identificação final (*ibid*).

#### **2.4.1.2 Epidemiologia de *Salmonella***

As salmonelas são amplamente distribuídas na natureza, sendo o principal reservatório destas bactérias o trato intestinal do homem e animais de sangue quente e de sangue frio (répteis e anfíbios), exceto peixes, moluscos e crustáceos, os quais podem contaminar-se após a pesca (VIEIRA, 2004; KONEMAN, 2008); e de acordo com Tessari et al. (2003) os principais reservatórios são suínos e aves.

Os animais domésticos ou domiciliarizados tais como cães, gatos e pássaros podem ser portadores de salmonelas representando risco, principalmente para as crianças (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

Por ser primariamente uma bactéria intestinal e um grande número de animais serem reservatórios, inclusive o homem, a *Salmonella* pode ser encontrada com bastante frequência em efluentes de propriedades rurais, esgotos domésticos e industriais (TESSARI et al., 2003), e em costas marítimas em decorrência do aglomerado de pessoas e navegações que contaminam os mares com fezes (JAY, 2005).

Várias espécies de animais são suscetíveis, sendo animais jovens, idosos e gestantes mais afetados, inclusive sem apresentar sintomas. As aves domésticas (principalmente galinhas e perus) são consideradas como maiores reservatórios animais de salmonelas (CUNHA NETO, 1974; LEITÃO, 1979; AMARAL et al., 1982), e podem ser portadores assintomáticos, excretando continuamente salmonelas pelas fezes e, nestas condições podem causar contaminações cruzadas de grande importância em matadouros de aves (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

A salmonelose também tem sido associada a contato direto ou indireto com répteis (lagartos, serpentes e tartarugas), visto que estes animais eliminam o agente intermitentemente nas fezes, e já foram comprovadas inúmeras infecções nos EUA causadas por sorotipos associados à criação de tartarugas e iguanas de estimação (KONEMAN, 2008) bem como ao consumo de carne de tartarugas (O'GRADY e KRAUSE, 1999). Muitos pesquisadores têm demonstrado que tartarugas de *pet shops* revelam frequentemente a presença de salmonelas, que podem estar presentes no cólon, cloaca e oviduto, contaminando os ovos e água intermitentemente, conferindo risco aos criadores destes animais. (MANN e BJOTVEDT, 1967; MORSE e DUNCAN, 1976; IZADJOO et al., 1987; SANYAL et al., 1987; SHANE et al., 1990; SEEPERSADSINGH e ADESIYUN, 2003). O contato com os anfíbios (sapos e rãs) também constitui risco para a aquisição de salmonelose humana, sendo responsável por 6% das infecções anuais por *Salmonella* nos EUA. (KONEMAN, 2008).

Os sorotipos de *Salmonella* podem estar estritamente adaptados a um hospedeiro particular ou podem ser ubiqüitários, ou seja, encontrados em grande número de espécies animais. Por exemplo, o homem é o único reservatório natural de *S. Typhi* e *S. Paratyphi A, B e C*. Alguns sorotipos são adaptados a uma determinada espécie animal, como *S. Gallinarum* (aves) enquanto outros podem infectar indiretamente o homem e uma grande variedade de animais, sendo estes os maiores responsáveis pelas infecções

de origem alimentar, por exemplo *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* (TRABULSI e ALTERTHUM, 2005).

O homem pode ser infectado por vários sorotipos de *Salmonella*. Nos EUA os sorotipos mais frequentemente isolados dos surtos de salmonelose humana são: *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Heidelberg* e *S. Newport* (EKPEREGIN e NAGAJARA, 1998). No Brasil os sorotipos mais encontrados no homem são *S. Typhimurium*, *S. Agona*, *S. Anatum*, *S. Oranienburg*, *S. Typhi*, *S. Enteritidis*, *S. Albany*, *S. Hadar*, *S. Indiana* e *S. Infantis* (FUZIHARA et al., 2000).

Embora na maior parte dos surtos, a dose infectante tenha sido alta, sabe-se hoje que, em alguns casos, foram necessárias poucas células infectantes de *Salmonella* para causar sintomas clínicos no homem. Estudos revelaram que  $10$  a  $10^2$  UFC (unidades formadoras de colônias) foram responsáveis por surtos associados à carne moída (FONTAINE et al 1980), barras de chocolate (GREENWOOD e HOOPER, 1983) e queijo cheddar (D'AOUST, 1991). Sabe-se ainda que é necessário menos que 10 UFC para causar infecção (KAPPERUD et al., 1990).

Em diversos países, como EUA, Inglaterra, Canadá, Japão, inclusive Brasil, a *Salmonella* tem sido reconhecida como agente causador de doenças há muitos anos, e atualmente é considerada a principal causa de doença entérica de origem bacteriana no homem, tendo sido responsável por grandes surtos, principalmente em consequência da ingestão de produtos de origem alimentar (D'AOUST, 1995).

Ao analisar o ciclo de transmissão da *Salmonella* ao homem, pode-se observar que os alimentos de origem animal têm papel muito importante na transmissão do agente. A contaminação desses alimentos pode ocorrer na própria fonte de produção, isto é, a partir dos animais criados nas granjas ou fazendas que podem ser os portadores do agente ou ainda ocorrer através da chamada contaminação cruzada, que se refere àquela ocorrida nas diversas fases do processamento industrial, na distribuição, comercialização e consumo final (TESSARI et al., 2003).

Inúmeros surtos de infecção por *Salmonella* têm sido verificados no mundo inteiro envolvendo os mais diversos alimentos, incluindo carne bovina, peixes, frutos do mar crus e sorvetes (DUFFY et al., 1999). As salmoneloses associadas a laticínios são quase sempre causadas por leite cru ou mal pasteurizado e queijos, no entanto, a maioria dos autores concorda que as carnes, principalmente de aves, são as principais responsáveis pelas infecções de origem alimentar (SILLIKER, 1980).



De acordo com Silva (1995), mais de 70% das carcaças de frangos são contaminadas por *Salmonella*, no entanto esta contaminação não parece ocorrer somente pelo fato de este microrganismo fazer parte da microbiota normal das aves, mas também pela contaminação dessas carcaças através do ambiente por meio de insetos, roedores, rações e homem.

Inúmeras pesquisas comprovaram a presença de *Salmonella* em carcaças de frango congeladas, na Inglaterra (WATSON e BROWN, 1975), em Portugal (BERNARDO e MACHADO, 1989), nos EUA (IZAT et al., 1991), na Índia (SHARMA, 1992) e no Brasil (SILVA, 1995; ALMEIDA et al., 2000; SANTOS et al., 2000; MATHEUS et al., 2003; TIROLI e COSTA, 2006).

Desde há muitos anos a *Salmonella* já foi detectada em alimentos preparados e empacotados, como bolos, biscoitos, pães, molhos de saladas, maionese e muitos outros pratos (ADINARAYANAM, 1965).

Nos últimos anos, ovos crus e produtos à base de ovos mal pasteurizados (sorvetes, maioneses e outras fabricações caseiras) têm se envolvido com *S. Enteritidis* que coloniza o canal ovipositor das aves e contamina a gema em sua formação (FRANCO e LANDGRAF, 1996), além de que se estima que 0,01% de todos os ovos contenham *S. Enteritidis* na casca.

A água é uma importante fonte de infecção para o homem, visto que o isolamento da *Salmonella* spp. tem sido frequentemente relatado em águas poluídas (CHERRY et al., 1972; POPP, 1974; MONTICELLI et al., 1984; MENON, 1985; JOHNSTON et al., 1986; KINDE et al., 1997), bem como em água potável (CHERRY et al., 1972; MÜLLER, 1979; POKORNY, 1988; SCHINDLER et al., 1991; TAYLOR et al., 2000).

SEEPERSADSINGH e ADESIYUN (2003) encontraram uma prevalência de 0,8% de *Salmonella* spp. em aquários de *pet shops*, incluindo os sorotipos Panamá, Newport e Virchow, mostrando que este ambiente é um fator de risco para tratadores de animais e comerciantes.

A ração animal industrial também é incriminada como veículo de transmissão de salmonelas, de modo que os animais que comem a ração contaminada se tornam infectados e se forem consumidos pelo homem, são assim introduzidos nesta população (MORIS et al., 1970; JONES et al., 1991; NABUTT, 1990).

No Brasil, tem sido observado significativo aumento do número de surtos por *Salmonella* spp. desde a década de 90. No estado de São Paulo, por exemplo, de 1994 a

1997 foram relatados 18 surtos envolvendo 23 diferentes tipos de alimentos, predominantemente de origem animal, sendo a *Salmonella* spp. o agente causal identificado em 13 (72,2%) destes surtos (JAKABI et al., 1999).

Muitos pesquisadores têm detectado, no Brasil e em outros países, a presença de salmonelas em pescados e derivados.

#### 2.4.1.3 Características da doença

A salmonelose constitui um importante problema sócio-econômico em vários países do mundo, principalmente nos chamados desenvolvidos, onde o agente etiológico desta enfermidade tem sido atribuído como o principal responsável pelos surtos das ETA's – enfermidades transmitidas por alimentos (ALVES, 2001).

De acordo com Franco e Landgraf (1996) as doenças causadas por essa bactéria costumam ser divididas em três grupos: as febres tifóides (*S. Typhi*), as febres entéricas (*S. Paratyphi* A, B e C) e as enterocolites ou simplesmente salmoneloses, causadas pelas demais salmonelas. Nas salmoneloses, a infecção no homem ocorrerá com a ingestão de alimentos que contenham o microrganismo (em média de  $10^5$  células por grama de alimento) e ocorrerá em função do seu sistema imunológico, e de doenças pré-existentes que agravam o quadro. Em geral, as salmoneloses caracterizam-se por diarreia, febre, dores abdominais e vômitos, que aparecem em média 12 a 36 horas após o contato com o microrganismo, com duração de quatro a sete dias, não necessitando de antibioticoterapia, na maioria das vezes.

A taxa de mortalidade, em média é de 4,1%, sendo de 5,8% durante o primeiro ano de vida, 2% entre o primeiro e os 50 anos e 15% em pessoas acima de 50 anos. Embora a *Salmonella* seja eliminada rapidamente do trato intestinal, mais de 5% dos pacientes pode se tornar portador assintomático após a cura e continuar eliminando a bactéria por até um ano nas fezes. (TRABULSI e ALTERTHUM, 2005).

#### 2.4.1.4 Mecanismo de patogenicidade

Diversos estudos têm demonstrado que as salmonelas apresentam simultaneamente múltiplos fatores de virulência quando causam doença no homem, e estes fatores podem agir individualmente ou sinergicamente (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

As infecções se iniciam na mucosa do intestino delgado e cólon, aonde após a penetração na lâmina própria se multiplicam e são fagocitadas gerando uma resposta inflamatória do sistema retículoendotelial. Ao contrário do que ocorre na febre tifóide e febres entéricas, nas enterocolites a infecção se restringe à mucosa intestinal e raramente ocorre septicemia. Este processo acaba por provocar aumento da secreção de água e eletrólitos (diarréia) (TRABULSI e ALTERTHUM, 2005).

#### 2.4.1.5 Medidas de controle

Devido a *Salmonella* encontrar-se cada vez mais envolvida em surtos de ETA's, com efetiva participação do pescado, alerta-se para a necessidade de se implementar rigoroso controle na higiene dos manipuladores, durante o manuseio e processamento, evitando contaminação cruzada por meio de utensílios e equipamentos. Outro controle deve ser feito com relação à qualidade da água dos tanques e viveiros de criação, evitando-se o uso de antibióticos em piscicultura a fim de evitar a resistência microbiana (VIEIRA, 2004).

O calor é uma forma eficiente para a destruição das salmonelas nos alimentos, que devem ser aquecidos até atingir uma temperatura suficiente para eliminar a bactéria, ou seja, de 65 a 74°C, bem como serem conservados em temperaturas abaixo de 5°C (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

Pessoas que trabalham com alimentos devem periodicamente fazer exames médicos para assegurar a ausência da figura do portador assintomático (VIEIRA, 2004).

### 2.5 O OZÔNIO (O<sub>3</sub>)

Os estudos com ozônio tiveram início por volta do ano de 1839, quando o pesquisador alemão Werner Von Schönbein produziu ozônio sintético a partir da eletrólise do ácido sulfúrico e obteve a forma alotrópica triatômica do O<sub>2</sub>, ou seja, o

ozônio propriamente dito, que é formado por três moléculas de oxigênio. (CHIATONNE, 2008).

Uma particularidade desta molécula, é que imediatamente após reagir com um substrato, o ozônio se converte novamente em oxigênio, tornando o seu uso um processo seguro e limpo, sem rastros químicos e sem produtos tóxicos.

Como gás é mais estável em temperaturas mais baixas (em câmara fria), varia do incolor ao azulado, com odor pungente e rapidamente detectável em concentrações baixas como 0,01 ppm, onde o limite para exposição de longa duração definido pela Administração de Saúde e Segurança Ocupacional dos EUA é de 0,1 ppm de volume por 8 horas, ou seja, ele é facilmente detectável muito antes de ser tóxico.

O ozônio por sua característica reativa não pode ser armazenado ou transportado, deve ser sempre gerado no local de utilização. O tempo de vida média em água pura a 20°C é de cerca de 20 minutos, diante do que, para se utilizar esta tecnologia, deve-se ter instalado um sistema gerador de Ozônio. Este sistema utiliza como insumo o oxigênio do ar atmosférico. Um sistema industrial de geração de Ozônio captura o ar atmosférico, seca, concentra o conteúdo de Oxigênio e então converte parte deste em Ozônio. Esta conversão se dá entre 5 e 15 %. (KIM et al,1999)

De acordo com Vaz-Velho et al. (2006) nos últimos anos, o uso do ozônio está aos poucos substituindo as técnicas convencionais de saneamento, como o cloro, o peróxido de hidrogênio, o vapor ou a água quente, e está ganhando força na indústria de processamento de alimentos como o mais seguro, mais rentável e livre de químicos, além de fácil manipulação.

O interesse no Ozônio como alternativa tecnológica em substituição ao Cloro e outros agentes químicos microbicidas para operações de limpeza e desinfecção se deve ao alto poder microbicida (baixas concentrações e pequeno tempo de contato), amplo espectro de atuação (bactérias, fungos, algas, vírus), ausência de subprodutos tóxicos, produção local, sem necessidade de armazenamento.

O O<sub>3</sub> é hoje permitido para contato direto em alimentos na França, Japão, Austrália. Em 1982 foi considerado GRAS - Generally Recognized As Safe (Geralmente Reconhecido como Seguro), para a água engarrafada nos Estados Unidos. A referência GRAS foi reafirmada em 1995. Em 1997 especialistas convocados pelo EPRI (Electric Power Research Institute) declarou GRAS a utilização do ozônio no processamento de alimentos nos Estados Unidos.

O ozônio é uma substância de uso polivalente, tem sido utilizado em torres de resfriamento de água para reduzir a formação de incrustações, como agente branqueador de compostos orgânicos, no armazenamento e conservação de pescado, na forma de gelo ozonizado, na desodorização de ambientes, em lavanderias hospitalares, com a finalidade de reduzir custos em energia para esterilização, na odontologia, como tratamento alternativo de cáries, e, até na medicina, em ozonoterapia. (FRANKEN, 2007).

Durante a operação de um sistema de ozonização (Figura 12 e 13) é necessário analisar o ozônio gasoso e dissolvido (líquido) para determinar a dose de ozônio aplicada, a eficiência da transferência de ozônio e o nível de ozônio residual. Existem vários métodos para esta determinação, sendo o método Índigo Colorimétrico (Figura 14) o único para o monitoramento residual citado pelo Standard Methods, realizado por uso de kits comerciais (CHEMETS® KIT OZONIO) (Figura 15).



Figura 12: Equipamento Reservatório de Oxigênio  
Fonte: Lôbo (2012)



Figura 13: Equipamento Gerador de Ozônio  
Fonte: Lôbo (2012)

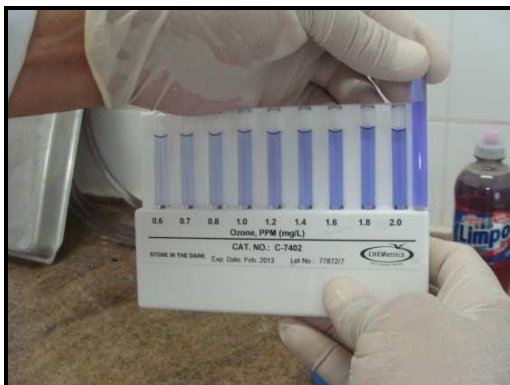


Figura 14: Método Índigo Colorimétrico  
Fonte: Lôbo (2012)



Figura 15: kit CHEMETS® KIT OZONIO  
Fonte: Lôbo (2013)

### 2.5.1 O uso de O<sub>3</sub> para redução da carga microbiana em alimentos

Segundo Reagan et al. (1996) a água ozonizada a 2,3 ppm em carcaças de bovinos ocasiona uma redução de 1,3 log UFC/g de bactérias mesófilas aeróbias encontradas superficialmente. Chiattonne (2006) cita o uso de 0,5 a 1,0 ppm de O<sub>3</sub> na sanificação de carne bovina maturada como significativo, para reduzir bactérias mesófilas em 0,81 e 0,95 ciclos logarítmicos, respectivamente, sendo o tratamento mais eficaz em combinação com o ácido ascórbico (0,2 e 0,5%) (redução de 1,34 log UFC/g).

Chiattonne (2006) ao submeter carne fracionada com um banho de água ozonizada de 2ppm a 7,2°C durante 15 minutos observou uma redução de 0,44, 0,78 e 0,57 ciclos log de UFC/g de Coliformes e *Salmonella enterica* Typhimurium.

Veiga (2003) cita que o tratamento de carcaças de frango com uma solução de água ozonizada entre 3 e 3,5 ppm a 4°C é efetivo para reduzir os micro-organismos aeróbicos mesófilos (89,8%), psicrotróficos (75,0%), Coliformes Totais (78,9%), *Escherichia coli* (75,0%), fungos filamentosos e leveduras (58,6%), *Staphylococcus* coagulase positivo (70,0%), *Salmonella* spp. (100%) e *Pseudomonas* sp. (100%), enquanto a água hiperclorada foi ineficaz para a eliminação de *Salmonella* spp. e *Pseudomonas* spp.. De acordo com Al-Haddad et al. (2005) quando na forma gasosa (>2,0 ppm por 30 min), há redução de até 97% de *Salmonella* spp. e de 95% de *Pseudomonas* spp.

Dos trabalhos encontrados que demonstraram a eficiência do O<sub>3</sub> no controle microbiológico de *Salmonella* spp. em alimentos, nenhum deles foi realizado com carne de jacaré do pantanal.

## 2.6 PADRÕES MICROBIOLÓGICOS PARA O PESCADO FRESCO

As análises microbiológicas realizadas em alimentos objetivam conhecer as condições de higiene em que os mesmos foram obtidos e processados, fornecendo subsídios sobre os riscos que esses alimentos podem oferecer à saúde do consumidor e ainda se o alimento terá ou não a validade comercial pretendida. Além disso, são indispensáveis para verificar se os padrões e especificações microbiológicas estão sendo atendidos adequadamente. (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

O jacaré do pantanal, bem como todos os répteis não possuem legislação específica de padrões microbiológicos no MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), portanto, suas análises microbiológicas são baseadas na legislação de pescados. No Brasil os aspectos higiênicos, sanitários e tecnológicos dos pescados e seus derivados são legislados pelo RIISPOA - Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal no âmbito da fiscalização do MAPA, que define como fresco o pescado dado ao consumo sem ter sofrido qualquer processo de conservação, a não ser a ação do gelo. (BRASIL, 1952).

A ANVISA – Agencia Nacional de Vigilância Sanitária, através da Resolução RDC nº 12 de dois de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001) determina os critérios e padrões microbiológicos brasileiros para alimentos expostos à comercialização, e as bactérias sobre as quais esta legislação estabelece limites quase sempre não alteram a aparência do pescado, estando a razão de suas limitações relacionada à sua patogenicidade ao homem e não à deterioração dos produtos. (VIEIRA, 2004).

Muitos autores utilizam indiscriminadamente os padrões microbiológicos preconizados por Brasil (2001) para pescado em geral (que seja peixe resfriado, congelado ou conservado por outro método e ainda, outra espécie de pescado), no entanto para peixe *in natura* (resfriados ou congelados), as únicas análises preconizadas se referem à enumeração de estafilococos coagulase positiva por grama de amostra e pesquisa de *Salmonella* spp. por 25g de amostra, sendo o limite estabelecido na legislação sua ausência em 25g ou mL.

## 2.7 PADRÕES FÍSICO-QUÍMICOS PARA O PESCADO FRESCO

Com a despesca, as defesas naturais deixam de existir, passando os demais tecidos a serem infectados após a morte do animal, já que o músculo do peixe vivo é estéril, dando início no período de estocagem sob refrigeração às alterações de deterioração, com multiplicação microbiana, elevação do pH e formação de compostos voláteis como amônia e gás sulfídrico (OGAWA e MAIA, 1999). Nesse sentido, os exames físico-químicos detectam metabólitos oriundos da deterioração do pescado e alterações nas características sensoriais, e são utilizados como forma de avaliação do seu estado de conservação, fundamental para sua aceitabilidade. (GERMANO e GERMANO, 2001).

Assim como para as análises microbiológicas, as físico-químicas realizadas com o jacaré do pantanal são baseadas na legislação de pescados, especificamente para peixe fresco eviscerado armazenado em gelo. As análises físico-químicas rotineiramente utilizadas constam de análise sensorial (BRASIL, 1997a), prova de cocção e pH (BRASIL, 1981), colorimetria (SCHUBRING, 1997) e N-BVT (BRASIL, 1981).

### 2.7.1 Prova da Cocção

Esta análise se baseia na observação das modificações de consistência, odor e sabor do pescado em decomposição, ressaltadas quando uma amostra (100g) do mesmo é submetida ao aquecimento em água (100°C) (BRASIL, 1981). Após o aquecimento, observam-se as características do pescado e do caldo oriundo do cozimento, onde a consistência deve ser firme e o saboroma próprio. (BRASIL, 1997a).

### 2.7.2 Prova do pH

O pH é um fator de grande influência na qualidade e segurança dos alimentos, no pescado está relacionado com o acúmulo de ácido lático oriundo das mudanças *post mortem* e sua simples determinação pode fornecer uma indicação de seu grau de deterioração (OGAWA e MAIA, 1999).

O método convencional (BRASIL, 1981) de se medir eletronicamente o pH em pescado é o uso de eletrodos de inserção de vidro, e se baseia na medida da



concentração de íons hidrogênio na amostra, que de acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco (inteiro e eviscerado) (BRASIL, 1997a) para pescado deve ser de 6,8 (parte externa) e 6,5 (parte interna), valores superiores indicam início de decomposição e pescado impróprio para consumo.

### 2.7.3 Colorimetria

A cor é uma característica da luz, medida em termos de intensidade (energia radiante) e comprimento de onda, é um dos principais atributos de qualidade dos alimentos e constitui o primeiro impacto sobre o consumidor, despertando neste a aceitabilidade do alimento. (OGAWA e MAIA, 1999).

A análise sensorial ou subjetiva da cor possui a desvantagem de consumir muito tempo e estarem sujeitas a erros por parte dos observadores, ao contrário da análise objetiva da cor (colorimetria) que é mais rápida, reproduzível e não sujeita a erros subjetivos. (RAMOS e GOMIDE, 2007).

Atualmente a colorimetria mais utilizada em alimentos é a escala CIE  $L^*a^*b^*$ , (Figura 16) relacionada ao mecanismo da percepção de cor pelo olho humano, através de uma escala uniforme, em que:  $L^*$  mede a luminosidade (variável de 0 – preto a 100 – branco puro), expressa no eixo vertical. Nos eixos horizontais têm-se os valores de  $a^*$  e  $b^*$ , que representam níveis de saturação, em que:  $a^*$  positivo ( $a^+$ ) indica o vermelho;  $a^*$  negativo ( $a^-$ ) o verde;  $b^*$  positivo ( $b^+$ ) o amarelo; e  $b^*$  negativo ( $b^-$ ) o azul.

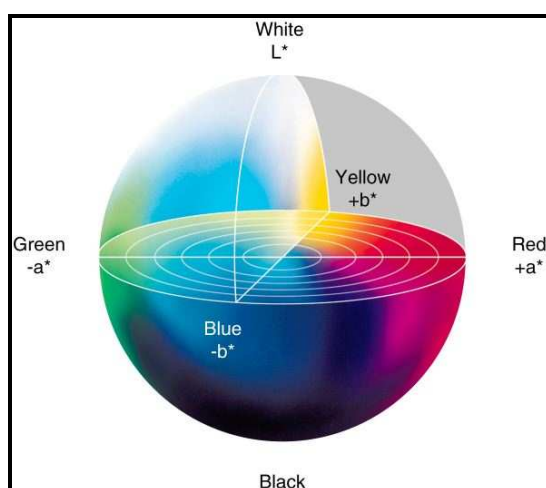


Figura 16: Esquema tridimensional do espectro da Colorimetria  
Fonte: Pesquisa Google Color lab (2013)

#### **2.7.4 Bases voláteis totais nitrogenadas (N-BVT)**

Após a morte do pescado, as reações enzimáticas bacterianas ocasionam sua deterioração, inicialmente sobre os compostos de baixo peso molecular como aminoácidos livres, açúcares, ácidos orgânicos e posteriormente, suas proteases quebram as proteínas em aminoácidos, originando bases nitrogenadas. (OGAWA e MAIA, 1999).

Para quantificação das N-BVT a amônia e as amins voláteis são destiladas por arraste de vapor em meio levemente alcalino, e em seguida procede-se à titulação com solução alcalina ou ácida, dependendo do meio empregado. (BRASIL, 1981).

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco (inteiro e eviscerado) (BRASIL, 1997a) a concentração de N-BVT deve ser inferior a 30 mg em 100g de amostra, valores superiores indicam perda de frescor.

#### **2.8 Boas práticas de fabricação - BPF**

As boas práticas de fabricação ou boas práticas no manuseio de alimentos é atualmente a maior ferramenta que a industria de alimentos possui para evitar a ocorrência e disseminação de patógenos que possam provocar deteriora e ou doenças transmitidas por alimentos.

Segundo Pedreira Filho e Barroco (2006) o objetivo das boas práticas de fabricação é assegurar que os requisitos gerais essenciais de higiene e segurança sejam cumpridos, para que o produto esteja a salvo de contaminantes, ou seja, preparado, manipulado, embalado, armazenado e distribuído em condições sanitárias adequadas.

Através da Portaria 368 de 04/09/1997, do DIPOA, que institui as BPF para as industrias de produtos de origem animal, observamos uma abrangência nos pontos verificados, que se cumpridas à risca, estabelecem um efetivo controle microbiológico(BRASIL,1997b).

Para o Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA) este programa está inserido nas empresas brasileiras como um programa de autocontrole, sendo o principal pré-requisito para a implantação do programa Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC). (Brasil, 2005).

Se não forem observadas as medidas preconizadas pelas boas práticas de

fabricação nas etapas de processamento em geral, desde a despesca até manipulação e armazenamento, os pescados podem se tornar um risco ao consumidor, visto que pode haver presença e multiplicação de micro-organismos patogênicos, resultando em enfermidades alimentares, como por exemplo a *Salmonella* spp. (DIAZ, 2001).

### 3 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ADINARAYANAN, N. Incidence of *Salmonella* in prepared and packaged foods. **J. Infect. Dis.**, v. 115, p. 19-26, 1965.

AL-HADDAD, K. S. H.; AL-QASSEMI, R. A. S.; ROBINSON, R. K. The use of gaseous ozone and gaspackaging to control populations of *Salmonella infantis* and *Pseudomonas aeruginosa* on the skin of chicken portions. **Food Control**, v. 16, n. 5, p. 405-410, 2005.

ALMEIDA, I. C. et al. Isolamento e identificação de *Salmonella* em carcaças de frango congeladas e frescas, através do método rápido. **Hig. Aliment.**, v. 14, n.70, p.59-62, 2000.

ALMEIDA FILHO, E.S. **Comportamento de microbiota contaminante *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia enterocolitica* e *Listeria monocytogenes* inoculadas em carne de atum ( *Thunnus albacares*), estocada sob refrigeração (0° C + ou - 1°C) em diferentes atmosferas modificadas.** Tese de doutorado em Medicina Veterinária na área de concentração em Higiene e Tecnologia de Pescado e Derivados na Universidade Federal Fluminense -UFF- 2006.

ALVES, D. C. C. **Caracterização de *Vibrio* e *Aeromonas* em peixes comercializados em feiras livres no município do Rio de Janeiro.** Dissertação apresentada ao curso de Mestrado em Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 151 p., 2001.

AMARAL, L.A. et al. **Fontes de contaminação de alimentos.** São Paulo, 1982.

AMILACHER, A. *Rigor mortis* in fish. In: BORGSTROM, G. **Fish as food.** New York: Academic, 1965. v.1, p.385-409.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists.** 16. ed. Arlington, 1995.

BENASSI, F. O. et al. *Salmonella* y su incidencia en aguas del arroyo Zaimán. **Rev. Argent. Microbiol.**, v. 15, n. 3. p. 169-175, 1983.

BERNARDO, F. M. A.; MACHADO, J. C. C. Prevalência de *Salmonella* em carcaças de frangos em Portugal. Perspectiva Epidemiológica em humanos. **Rev. Port. Ciênc. Vet.**, v.84, n.489. p.31-45. 1989

BOPP, C. A. et al. *Escherichia*, *Shigella* and *Salmonella*. In: MURRAY, P. R. et al. **Manual of clinical microbiology.** Washington: ASM, p. 459-474. 1999

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC 12 de janeiro de 2001 que aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos.** Brasília, 2001.

BRASIL. IBAMA. Instituto Brasileiro de Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal. **Portaria 126 de 13 de fevereiro de 1.990 que regulamenta o Sistema Ranching de Criação**. Brasília, 1990.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Decreto nº 30.691 de 29 de março de 1952, que aprovou o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal, alterado pelos Decretos 1255 de 1962, 1236 de 1994, 1812, de 1996, 2244 de 1997, 6385 de 2008 e 7216 de 2010**. Brasília, 1952

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Portaria 01 de 7 de outubro de 1981 que aprovou os Métodos Analíticos Oficiais para Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes**. Brasília, 1981.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Portaria 185 de 13 de maio 1997 que aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco (Inteiro e Eviscerado)**. Brasília, 1997a.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Portaria 368 de 10 de setembro de 1997 que aprova o Regulamento Técnico sobre as condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para estabelecimentos Elaboradores/Industrializadores de alimentos**. Brasília, 1997b.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Instrução Normativa 62 de 26 de agosto de 2003 que normatiza as análises microbiológicas em Produtos de Origem Animal**. Brasília, 2003.

BRESSAN, M. C. **Fatores dos fatores pré e pós-abate sobre a qualidade da carne de peito de frango**. 201 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1998.

CAMPOSA, C.A., RODRIGUES, O., LOSADA, V., AUBOURG, S.P., VELASQUEZ, J.B.. Effects of storage in ozonised slurry ice on the sensory and microbial quality of sardine (*Sardina pilchardus*). **Inter. J. Food Microbiology**, v.103, p.121-130, 2006.

CAMPOS, Z., MOURÃO, G., COUTINHO, M. Avaliação de 3 modelos de manejo para o jacaré do pantanal . **Comunicado Técnico 46**. 4p EMBRAPA Pantanal. Corumbá, 2005

CAMPOS, Z.M.S., Comportamento de Termorregulação, Movimento, Área de Uso e as Implicações Para o Manejo de Jacaré do Pantanal (*Caiman crocodilus yacare*) – Tese de Doutorado de Biologia – UFMG. Belo Horizonte, 2002.

CHERRY, W. B. et al. *Salmonella* as an index of pollution of surface waters. **Appl. Microbiol.**, v. 24, n. 3, p. 334-340, 1972.

CHIATTONE, P.V.; TORRES, L.M. Application of ozone in industry of food. **Alim. Nutr.**, v.19, n.3, p. 341-349, jul./set. 2008.

CHIATTONE, P. **Ozônio e ácido ascórbico na coloração e microbiota da carne bovina maturada**. 51f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial). Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2006.

CONNELL, J. J. **Control of fish quality**. 4. ed. Farnham: Surrey, 1995.

CONTRERAS, C. J. C. **Efeitos do atordoamento elétrico, estimulação elétrica e da desossa à quente na qualidade da carne do peito de frango *pectoralis major***. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1995.

COUTINHO, M.E., LUZ, V., National Policies For the Conservation and Management of Caiman yacare in Brazil: species status & monitoring, research and current regulations. 2007.

CUNHA NETO, S. J. Sorotipos de *Salmonella* isolados de carcaças de frangos de corte em três abatedouros em Belo Horizonte, MG. **Arg. Esc. Vet. UFMG**, v.28, n.2, p.125-129. 1974.

D'AOUST, J. Y. Methods for the detection of foodborne *Salmonella* spp.: a review. **South. Asi. J. Trop. Med. Public Health**, Bangkok, v.26, Suppl. 2, p.195-208, 1995.

D'AOUST, J. Y. Pathogenicity of foodborne *Salmonella*. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 12, n.1, p.17-40, 1991.

DIAZ, M. E., LAW, S. E., FRANK, J. F. Control of pathogenic microorganism and turbidity in poultry-processing chiller water using UV-enhanced ozonation. **Ozone Science & Engineering**, v.23, p.53-64, 2001.

DUFF, G. et al. The incidence and antibiotic resistance profiles of *Salmonella* spp. on Irish retail meat products. **Food Microbiol.**, v. 16, p. 623-631, 1999.

EKPERIGIM, H. E.; NAGAJARA, K. V. Microbial foodborne pathogens. *Salmonella*. **Vet. Clin. North Am. Food Animal Pract.**, v.14, n.1, p.17-29, 1998

FARIAS, M. C. A. **Avaliação das Condições Higiênico-Sanitárias do Pescado Beneficiado em Indústrias Paraenses e Aspectos Relativos à Exposição para Consumo em Belém – Pará**. Belém: Ed. da Universidade Federal do Pará, 2006.

FELL, G. et al. An outbreak of *Salmonella* blockley infectious following smoked eel consumption in Germany. **Epidemiol. Infect.**, v. 125, n. 1, p. 9-12, 2000.

FERNANDES, A. T. **Caracterização do processo de *rigor mortis* e efeito da radiação gama na paleta (*triceps brachii*) e no músculo duro (*extensor/ flexor*) de javali (*sus scrofa*) durante sua validade comercial**. Tese (Doutorado). Universidade Federal Fluminense. 2007.

FERRETI, R. et al. Aterosclerose e ácidos graxos “mega-3”. **Acta Med.**, Porto Alegre, v.15, p. 557-574, 1994.

FETT, M.S., Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas, SENAI, Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial , 2005.

FITZGERALD, S., **International Wild Life Trade**, Whose business is it ?  
Universidade de Michigan. World Wildlife Fund. 1989.

FONTAINE, R. E. et al. Epidemic salmonellosis from cheddar cheese: surveillance and prevention. **Am. J. Epidemiol.**, v.111, p.247-253, 1980.

FORREST, J. C.; ABERLE, E. D.; HEDRICK, H. B.; JEDGE, M. D.; MERKEL, R. A.  
**Fundamentos de Ciencia de la Carne**. Zaragoza: Acribia, 1979. 364 p.

FRANÇA, J.M.; BATISTA, L.S. Procedimentos de produção para atender mercados globalizados. **Anais...Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícola**, p.123-135.2007.

FRANCESCO, M.; PARISI, G.; MEDALE, F.; LUPI, P.; KAUSHIK, S. J.; POLI, B. M. Effect of long-term feeding with a plant protein mixture based diet on growth and body/fillet quality traits of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 236, p. 413-429, 2004.

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

FRANKEN, M. S. **The application of ozone technology for public health and industry.2007**. Disponível em: <http://www.fss.k-state.edu>. Acesso em Nov. de 2012.

FUZHARA, T. O. et al. Prevalence and dissemination of *Salmonella* serotypes along the slaughtering process in Brazilian small poultry slaughtering. **J. Food Prot.**, v. 63, n. 12, p. 1749-1753, 2000.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. São Paulo: Varela, 2001. 629 p.

GUIMARÃES, A.G.; LEITE . C.C.; TEXEIRA , L .D.S.; SANTANNA , M .E. B.; ASSIS,P.N. Detection of Salmonella spp.em handlers and patients involved in an outbreak of food poisoning. Infection food. **Brazilian Journal of Animal Health and Production**, v.2, n. 12, p. 1-4, 2001.

GREENWOOD, M. H.; HOOPER, W. L. Chocolate bars contaminated with *Salmonella napoli*: an infective study. **Brit. J. Med.**, v.122, p.286-1394, 1983.

GUZEL-SEYDIM, Z. B.; GREENE, A. K.; SEYDIM, A.C. Use of ozone in food industry. **Lebensm-Wiss.u.Technol**, v. 37, p. 453-460, 2004.

HEMLEY,G.,CADWELL, J. The crocodile skin trade since 1979. **Crocodiles: proceedings of the 7<sup>th</sup> Working Meeting of the Crocodile Specialist Group of the Species Survival Commission of the International Union for Conservation of Nature and Natural Resources**, 1986. Caracas. 1986,pags.398-412.

HOFFMAN, L.C. The yield and nutritional value of meat from African Ungulates, camelidae, rodents, ratites and reptiles. **Meat Science**, v. 80, p. 94 -100, 2008.

HOFFMAN, L.C et al. Carcass and meat characteristics of the Nile crocodile (*Crocodylus niloticus*). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.80, p.390-396, 2000.

HOFFMAN, F.L.; ROMANELLI P.F. Análise Microbiológica da Carne de Jacaré do Pantanal (*Caiman crocodilus yacare*). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. vol. 18, n. 3, 1998.

HONDA, T.; YOH, M.; KONGM UANG, U.; MIWATANI, T. Enzyme Linked Immunosorbent assays for detection of Thermostable Direct Hemolysin of *Vibrio parahaemolyticus*. **Journal of clinical Microbiology**, v. 45, n. 3, p. 38. 2000.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3.ed. São Paulo, 1985. v.1, 533p.

IBAMA. Centro de Conservação e Manejo de Répteis e Anfíbios. **Projeto Jacaré do Pantanal**. Brasília, 2002.

IZADJOO, M. J et al. Acquisition of *Salmonella* flora by turtle hatchings on commercial turtle farms. **Can. Microbiol.**, v. 33, n. 8, p. 718-724, 1987.

IZAT, A.L. et al. Research note: incidence, number and serotypes of *Salmonella* on frozen broiler chickens at retail. **Poult. Sci.**, v.70, p.1438-1440. 1991.

JAKABI, M. ; BUZZO, A. A. ; RISTORI, C. A.; TAVECHIO, A. T.; SAKUMA, H.; PAULA, A. M. R.; GELLI, D. S. Laboratory observations on outbreaks of foodborne *Salmonella* occurring in greater São Paulo from 1994 to 1997. **Journal of the Institute Adolfo Luz**, v.58, n.1, p. 4751, 1999.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711 p.

JOHNSTON, W. S. et al. *Salmonella* in sewage effluent and the relationship to animal and human disease in the north of Scotland. **Vet. Rec.**, v. 119, n. 9, p. 201-203, 1986.

JONES, F. T. et al. A survey of *Salmonella* contamination in modern broiler production. **J. Food Protect.**, v.54, p. 502-507, 1991.

KAPPERUD, G. et al. Outbreak of *Salmonella* Typhimurium infection traced to contaminated chocolate and caused by a strain lacking the 60 megadalton virulence plasmid. **J. Clin. Microbiol.**, v.28, n.12, p.2579-2601, 1990.



KHADRE, M. A.; YOUSEF, A. E; KIM, J.-G. Microbiological aspects of ozone applications in food: a review. **J. Food Sci.**, v.66, n.9, p. 1241-1252, 2001.

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

KINDE, H. et al. Prevalence of *Salmonella* in municipal sewage treatment plant effluents in southern California. **Avian Dis.**, v. 41, n. 2, p. 392-398, 1997.

KONEMAN. **Diagnóstico microbiológico. Texto e Atlas colorido.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2008. 1565 p.

LAWRIE, R.A. **Ciência da Carne.** Porto Alegre: Artmed, 2005. 384 p.

LEITÃO, M. F. F. **Salmonelas em águas fluviais e em alimentos não processados e industrializados de origem animal e vegetal no estado de São Paulo.** Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. 1979. 148p.

MANN, P. H.; BJOVEDT, G. *Salmonella* organisms isolated from water used for storage of pet turtles. **Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.**, v. 31, n. 2, p. 43-45, 1967.

MATHEUS, D. P. et al. Ocorrência de *Salmonella* spp. em carne de frango comercializada no município de Bauru, SP, Brasil. **Rev. Inst. Adolfo Lutz.**, v.62, n.2, p.111-115. 2003.

MENON, A. S. *Salmonella* and pollution indicator bacteria in municipal and food processing effluents and the Cornwallis River. **Can. J. Microbiol.**, v. 31, n. 7, p.598-603. 1985.

MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. **Plano Safra da Pesca e Aquicultura 2012/2013/2014.** Disponível em [www.asbraer.org.br/arquivos/bibl/89-plano-safr-apesca-aquicultura.pdf](http://www.asbraer.org.br/arquivos/bibl/89-plano-safr-apesca-aquicultura.pdf). Acessado em outubro de 2012.

MONTICELLI, L.S. et al. Isolation and quantification of *Salmonella* in waters of the Rio de La Plata destined for recreation. **Rev. Argent. Microbiol.**, v. 16, n. 1, p. 1-20, 1984.

MOONEY, M. T.; FRENCH, P.; MOLONEY, A. P.; O RIORDAN, E.; TROY, D. J. Quality differences between hrbage and concentrate-fed beef animals. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 44., 1998, Barcelona. **Anais...** Barcelona: ICOMST, 1998.

MORIS, G. K. et al. *Salmonella* in fish meal plants: relative amounts of contamination at various stages of processing and a method of control. **Appl. Microbiol.**, v. 19, n. 3, p. 401-408, 1970.

MORSE, E. V.; DUNCAN, M. A. A survey of aquarium fishes, their foods, and environmental water for *Salmonella*. **Lab. Anim. Sci.**, v. 26, n. 3, p. 494-496, 1976.

MÜLLER, H. E. The occurrence of *Salmonella* in drinking water. **Zentralblatt Fur Bakteriologie**, v. 169, n. 5, p. 551-559, 1979.

NABBUT, N. H. *Salmonella* serotypes encountered in animal feed activities in Lebanon. **Am. J. Vet. Res.**, v. 39, n. 5, p. 839-845, 1978. 1990.

NAITO, S. & TAKAHARA, H. Ozone contribution in food industry in Japan. **Ozone: Science & Engineering**, v.28, p.425-429, 2006.

NORKUS, E. A.; SOUZA, H. B. A.; SOUZA, P. A.; OBA, A.; KODAWARA, L. M.; LEONEL, F. R.; PELICANO, E. R. L. Avaliação da qualidade física e química da carne de frangos abatidos em diferentes idades. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE CARNES, 1., 2001, São Pedro, SP. **Anais...** São Pedro: USP, 2001. p. 203-204.

OEHLESCHLÄGER, J.; SÖRENSEN, N. K. Criteria of sea fish and quality aspect. **Evaluation of fish freshness**, v.3, n. 12, p.52-61, 2003.

OGAWA, M.; MAIA, E. L. **Manual de Pesca – Ciência e Tecnologia do Pescado**. São Paulo: Varela, 1999, 430 p.

O'GRADY, K. A.; KRAUSE, V. An outbreak of salmonellosis linked to a marine turtle. **Southeast Asian J. Trop.**, v. 30, n. 2, p. 324-327, 1999.

ORDOÑEZ J. A. **Tecnologia de alimentos – Alimentos de origem animal**. v.2. Porto Alegre: Artmed, 2005. 279p.

PASTORIZA, L., BERNARDEZ, M., SAMPEDRO, G., HERRERA, J. R.. Use of sterile and ozonized water as a strategy to stabilize the quality of stored refrigerated fresh fish. **Food Control**, v. 19, p. 772-780, 2007.

PEDREIRA FILHO & BARROCO. **Gestão da Qualidade na Indústria Farmacêutica**. In Otávio J. Oliveira (org.). **Gestão da Qualidade: tópicos avançados**. São Paulo: Pioneira Thomson Learning, 2006. p 211-233.

PICALLO, A. B.; SANCHO, A. M.; MARGARÍA, C. A.; LASTA, J. A. Colour and tenderness relationships in different steer breeds. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 44., 1998, Barcelona. **Anais...** Barcelona: ICOMST, 1998.

PIRAN, C. **Propostas para a Gestão da Qualidade e da Segurança do Alimento da Unidade Processadora de Carne de Jacaré da COOCRIJAPAN**. Dissertação (Mestrado) Universidade de S. Carlos, SP, 2010.

POKORNY, J. Survival and virulence of *Salmonella* in water. **J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.**, v. 32, n. 3, p. 361-366, 1988.

POPOFF, M. et al. Supplement 2000 to the Kauffmann-Wite scheme. **Res. Microbiol.**, 152, p. 907-909, 2001.

POPP, L. *Salmonella* and natural purification of polluted waters. **Zentralbl. Bakteriol.**, v. 158, n. 5, p. 432-435, 1974.

PRADO, O. V. **Qualidade de carne de cordeiros Santa Inês e Bergamácia abatidos em diferentes pesos**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

RAMOS, E.M.; GOMIDE, L.A.M. Textura e maciez da carne. In: RAMOS, E.M.; GOMIDE, L.A.M. (Eds.) **Avaliação da Qualidade de Carnes, Fundamentos e Metodologias**. Viçosa: UFV, 2007.

REAGAN, J. O. et al. Trimming and washing of beef carcasses as a method of improving the microbiological quality of meat. **J. Food Prot.**, v. 59, n. 7, p. 751-756, 1996.

RODRIGUES, E. C.; BRESSAN M. C.; NETO, J. V.; VIEIRA, J. O.; FARIAS, P. B.; FERRÃO, S. P. B.; ANDRADE, P. L. Qualidade e composição química de cortes comerciais de carne de jacaré-do-pantanal (*caiman yacare*). **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 448-455, 2006.

ROMANELLI, P. F. **Propriedades Tecnológicas da Carne do Jacaré do Pantanal (*Caiman crocodilus yacare*)**. Campinas, 1995. 110 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas. 1999.

ROTH, H, MERZ, G, **Wildlife Resources: A Global Account of Economic Use**. Springer Berlin, 1997.

SANTOS, D. M. S. et al. *Salmonella* em carcaças de frango congeladas. **Pesq. Vet. Bras.**, v.20, n.1, p. 24-29, 2000.

SANYAL, D. et al. Enteric pathogens in tropical aquária. **Epidemiol. Infect.**, v. 99, n. 3, p. 635-640, 1987.

SCHINDLER, P. R. et al. Occurrence of *Salmonella* in lakes and rivers and drinking waters of southern Bavaria. **Offenti. Gesundheitsw.**, v. 53, n. 7, p. 333-337, 1991.

SEDRAF. **Estado quer dobrar produção de pescado até 2014**. Disponível em [www.tvconquista.com.br/noticias/index.php?busca=noticia&id=7560+estado-quer-dobrar-produção-de-pescado-até-2014.html](http://www.tvconquista.com.br/noticias/index.php?busca=noticia&id=7560+estado-quer-dobrar-produção-de-pescado-até-2014.html). Acessado em outubro de 2012.

SEEPERSADSINGH, N.; ADESIYUN, A. A. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. in pet, mammals, reptiles, fish aquarium water and birds in Trinidad. **J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health**, v. 50, n. 10, p. 488-493, 2003.

SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO A MICRO E PEQUENAS EMPRESAS. Diagnóstico da cadeia produtiva do Jacaré do Pantanal (*Caiman yacare*) no estado de Mato Grosso. In: Projeto Arranjo Produtivo Local Jacaré do Pantanal. Cáceres. **Workshop...**Cáceres: 2005.

SHANE, S. M. et al. *Salmonella* colonization in commercial pet turtles. **Epidemiol. Infect.**, v. 105, n. 2, p. 307-316. 1990.

SHARMA, V. D. *Salmonella* contamination of foods of animal origin. In: **Salmonella and Salmonellosis Symposium**, Ploufragan, França. 1992. p. 137-138.

SHELDON, B. W., BROWN, A. F., HALE, S. A. Ozone as a disinfectant in poultry chill water. In R. Perry, & A. E. McIntyre (Eds.). **Proceedings of the International Conference on the role of ozone in water and wastewater treatment**. London: Selper Ltd, 1985. p. 247-285.

SILLIKER, J. H. Status of *Salmonella* – ten years later. **J. Food Prot.**, n.43, v.4, p.307-313. 1980.

SILVA, M.C.; NORMANDE, L.C.A.; FERREIRA, V.M.; RAMALHO, S.L. Avaliação da qualidade microbiológica do pescado comercializado em Maceió, AL. **Revista Higiene Alimentar**, v.6, n. 96, p. 60 - 64, 2002.

SILVA, E. N. *Salmonella* Enteritidis em aves e saúde pública. **Hig. Aliment.**, v.9, p.7-13, 1995.

SILVEIRA, E. T. F. **Técnicas de abate e seus efeitos na qualidade da carne suína**. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997.

SOPHER, D.C., BATTLES, G.T., KNUEVE, E.A., Ozone applications in catfish processing. **Ozone Science Engineering**, v. 29, 2007.

SOUZA, X.R. **Efeitos de grupo genético, sexo e peso ao abate na qualidade de carne de cordeiros em crescimento**. Lavras: UFLA, 2001.

STIVARIUS, M.R. et al. Microbial, instrumental color and sensory color and odor characteristics of ground beef produced from beef trimmings treated with ozone or chlorine dioxide. **Meat Sci.**, v. 60, n. 3, p. 299-305, 2002.

TABOGA, S.T. et al. Acompanhamento das alterações port-mortem (glicólise) no músculo do jacaré do pantanal (*Caiman crocodilus yacare*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, n.1, p.23-27, 2003.

TESSARI, E. N. C. et al. Prevalência de *Salmonella* Enteritidis em carcaças de frango industrialmente processadas. **Hig. Alim.**, v. 17, n. 107, p.52-55, 2003.

TIROLI, I. C. C.; COSTA, C. A. Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos recém abatidos em feiras e mercados da cidade de Manaus-AM. **Acta Amaz.**, v.36, n.2, p.205-208. 2006.

TORRES, E.A.F.S.; ROGE-FERREIRA; RIMOLI, C. D.; OLIVO, R. ..Estudos das propriedades desinfetantes do ozônio em alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, v.10,n.42,p.18-23, 1996.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. São Paulo: Atheneu, 2005. 718

UNITED STATE DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Code of federal regulations: title 9, poultry products; temperatures and chilling and freezing procedures**. Washington, DC: Office of the Federal Register National Archives and Records Administration, 1997. Part 381.66.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Office of water. Alternative disinfectants and oxidants guidance manual**. 1999. Disponível em: [http://www.epa.gov/safewater/mdbp/alternative\\_disinfectants\\_guidance .pdf](http://www.epa.gov/safewater/mdbp/alternative_disinfectants_guidance.pdf)-. Acesso em jan. 2012.

VAZ-VELHO, M.; SILVA, M.; PESSOA, J.; GIBBS, P. . Inactivation by ozone of *Listeria innocua* on salmon-trout during cold-smoke processing. **Food Control**, v. 17, n. 8, p. 609-616, 2006.

VEIGA, S. M. O. M. **Utilização de água potável, hiperclorada e ozonizada e do ultra-som, combinados ou não, em um protótipo de chiller, para a sanificação de carcaças de frango. Sanificação de carcaças de frango: processos alternativos**. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

VERDADE, L.M., A Exploração da Fauna Silvestre no Brasil: Jacarés, Sistemas e Recursos Humanos. **Biotra Neutrópica** v4, 2004.

VICENTE NETO, J. et al. Avaliação Físico Química da Carne de Jacaré-do-Pantanal (*Caiman yacare* Daudin 1802) de Idades Diferentes. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 31, n. 5, p. 1430-1434, 2007

VICENTE NETO, J. **Caracterização físico química, colesterol e ácidos graxos da carne de jacaré-do-pantanal (*Caiman yacare*) oriundo de zoológico e habitat**

**natural**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

VIEIRA, J.P. **Caracterização do processo de *rigor mortis* do músculo ileo-ichiocaudalis da cauda de Jacaré do Pantanal (*Caiman crocodilus yacaré*) e maciez da carne**. Universidade Federal Fluminense, RJ. CD 664.95 – 2010.

VIEIRA, R. H. S. S. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado. Teoria e prática**. São Paulo: Varela, 2004. 380 p.

WATSON, W. A. e BROWN, J. M. *Salmonella* infection and meat hygienic: poultry meat. **Vet. Rec.**, v.96, p.351-353. 1975.

WEI, C.I.; COOK, D.L.; KIRK, J.R. Use of chorine compounds in the food industry. **Food Technol.**, v. 39, p. 107-115, 1985.

## CAPITULO 3

### ARTIGO EM PORTUGUES

#### Água ozonizada (O<sub>3</sub>) no controle de *Salmonella enterica* Typhimurium em carne resfriada de jacaré do pantanal (*Cayman crocodilus yacare*)

Antônio Sérgio Marques Teles Lôbo, Cássia Aldrim de Mello, Luzilene Aparecida Cassol, Gerusa Silva Salles Correa, Helen Cristina Ferrareto Lindote, Alessandro Spinola Bergamo, Edivaldo Sampaio de Almeida Filho

#### **Resumo**

Este trabalho teve com objetivo avaliar a eficiência do ozônio (O<sub>3</sub>) sob a forma de água ozonizada no controle de *Salmonella enterica* Typhimurium, e sua interferência no prazo de validade comercial em filés de cauda de Jacaré do Pantanal (*Caiman crocodilus yacare*) criados em cativeiro, e ainda se o programa de boas práticas de fabricação do estabelecimento é satisfatório para assegurar a qualidade da carne produzida. Após o abate e resfriamento das carcaças, 120 amostras de filé de cauda (200g cada) de jacaré do pantanal. As 120 amostras foram separadas aleatoriamente em quatro grupos de 30 amostras, sendo: GI - sem inoculação de *Salmonella enterica* Typhimurium, e sem tratamento com ozônio, permanecendo na embalagem original durante todo o experimento; GII - com inoculação de *Salmonella enterica* Typhimurium ( $5.10^9$ ) + imersão em água em temperatura ambiente ozonizada (4,0 ppm, 5 minutos), GIII - com inoculação de *Salmonella enterica* Typhimurium ( $5.10^9$ ) sem tratamento com ozônio e GIV - com inoculação de *Salmonella enterica* Typhimurium ( $5.10^9$ ) + imersão em água refrigerada a 2°C ozonizada (4,0 ppm, 5 minutos). As amostras após tratadas foram acondicionadas em embalagens de polietileno de alta densidade, seladas e estocadas em temperatura de refrigeração (5,5° C) por 20 dias. A partir do dia zero, a cada 48 horas (dias 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 e 18) três amostras de cada grupo foram submetidas à plaqueamento com meio seletivo para contagem de *Salmonella enterica* Typhimurium e provas físico-químicas, prova de cocção, pH, bases voláteis totais (N-BVT) e colorimetria (CIE L\*a\*b\*). Os resultados evidenciaram que a água ozonizada gelada foi eficiente para redução de *Salmonella enterica* Typhimurium, e ainda constatou ausência de *Salmonella* spp. nas amostras do Grupo I, não tratadas pela água ozonizada, portanto, as Boas Práticas de Fabricação implantadas pelo estabelecimento podem ser consideradas satisfatórias. A análise físico-química caracterizou como aptos ao consumo os filés de cauda de Jacaré durante os 20 dias do experimento, sem apresentar qualquer sinal de deterioração, confirmando uma resistência diferenciada desta carne, por ser considerada como de pescado.comparada com a de pescado.

Palavras-chaves: *Caiman crocodilus yacare*; ozônio; *Salmonella* spp.; boas práticas de fabricação.

## 1.Introdução

No Pantanal Matogrossense, devido à previsibilidade ambiental (secas e inundações) e à carência de infraestrutura (energia, estradas, recursos humanos e capitais), os sistemas produtivos extensivos e/ou semi-intensivos são os mais recomendados para a exploração comercial, tornando produtos diversificados do agronegócio que envolvam a fauna autóctone, como a criação do Jacaré-do-Pantanal (*Cayman crocodilus yacare*) e mercados potenciais para o Brasil e exterior. (RODRIGUES et al., 2006).

Vários estudos têm sido realizados constantemente com o objetivo de reduzir a carga microbiana e estender o prazo de validade comercial dos alimentos por meio de Boas Práticas de Fabricação (BPF) na produção e manuseio dos produtos, do uso de embalagens com atmosfera modificada e/ou com a utilização de agentes sanitizantes, como por exemplo, o Ozônio (O<sub>3</sub>).

Várias pesquisas têm demonstrado a eficiência do O<sub>3</sub> na indústria alimentícia, como na sanificação de carnes e armazenamento de alimentos (Torres et al., 1996), na destruição de micro-organismos deteriorantes e patógenos, entre eles *Salmonella* spp., como observado em carcaças de frango (Veiga, 2003; Al-Haddad et al., 2005) e em pescado (Camposa et al., 2006; Naito e Takahara., 2006; Pastoriza et al., 2007). No entanto, não foram encontradas na literatura referências do uso do O<sub>3</sub> em carne de Jacaré do Pantanal (*Cayman crocodilus yacare*).

Considerando-se que a carne de Jacaré-do-Pantanal (*Caiman crocodilus yacare*) é de excelente composição nutricional (Vicente Neto, 2005) e tem se destacado no mercado internacional, e ainda a escassez de pesquisas que façam referência aos melhores processos para sua conservação, objetivou-se neste trabalho avaliar a eficiência do Ozônio (O<sub>3</sub>) sob a forma de água Ozonizada para controle de *Salmonella enterica* Tiphymurium em filés de Jacaré-do-Pantanal (*Caiman crocodilus yacare*) criados em cativeiro, e ainda se o programa de Boas Práticas de Fabricação do estabelecimento é satisfatório para assegurar a inocuidade da carne produzida.



## **2. Material e Métodos**

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Faculdade de Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEVZ) da Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), em parceria com a Cooperativa dos Criadores de Jacaré do Pantanal (COOCRIJAPAN), localizada em Cáceres, MT, com a PHILOZON O3R (equipamentos produtores de ozônio) e com o Laboratório de Análise de Produtos de Origem Animal (LAPOA).

### **2.1. Amostras**

Para o experimento, 149 (cento e quarenta e nove) Jacarés do pantanal criados em cativeiro (com 2 anos de idade, peso médio de 5 kg e alimentação controlada) foram abatidos no frigorífico da COOCRIJAPAN.

Os animais foram abatidos após serem submetidos a jejum de 24 horas e subsequente banho de aspersão e imersão em água clorada a 5 ppm, conforme preconiza o programa de boas práticas da COOCRIJAPAN, insensibilização através de comoção cerebral por pistola pneumática de dardo cativo, desmedulinização, sangria, esfola e evisceração.

Contemplando o programa de Boas Práticas Fabricação, antes de ser feito o risco da pele na operação que antecede a esfola, é colocado na cloaca dos animais abatidos uma bucha de algodão com Solução de iodo a 0,06%, e em seguida uma pulverização dos animais com Ácido Cítrico 0,1 % de uso alimentar, com o objetivo de reduzir a contaminação por patógenos.

Após a esfola, foi realizada a oclusão do reto e do conjunto traqueia/esôfago, e a seguir a evisceração. Em seguida as carcaças foram lavadas com água resfriada e encaminhadas à câmara fria, onde foram resfriadas a 2°C por um período de 24 horas. Após o resfriamento, as carcaças foram desossadas e obtidas 120 amostras de filé de cauda (200g cada), as quais foram embaladas, pesadas, rotuladas e acondicionadas em recipiente isotérmico para transporte ao laboratório por aproximadamente 3 horas

### **2.3. Tratamento das Amostras**

As 120 amostras de filé de cauda de jacaré do pantanal, foram divididas em 4 grupos (com 30 amostras cada), e submetidas aos seguintes tratamentos ou Grupos:

Grupo I (controle) - sem inoculação de *Salmonella enterica* Typhimurium. e sem tratamento com O<sub>3</sub>, mantidas sem violação nas embalagens de origem; Grupo II - com inoculação de *Salmonella enterica* Typhimurium (5x10<sup>9</sup> UFC) e tratamento por imersão em água em temperatura ambiente, ozonizada a 4 ppm por 5 minutos; Grupo III - com inoculação de *Salmonella enterica* Typhimurium (5x10<sup>9</sup> UFC) e sem tratamento por imersão em água ozonizada; Grupo IV - com inoculação de *Salmonella entérica* Typhimurium (5x10<sup>9</sup> UFC) e após 30 minutos, tratamento por imersão em água refrigerada a 2°C ozonizada a 4.0 ppm por 5 minutos. A seguir, as amostras foram embaladas, identificadas, acondicionadas em bandejas de polietileno e armazenadas em refrigerador a temperatura de 5,5°C, durante os 20 dias do trabalho. As amostras foram analisadas a cada dois dias, ou seja, nos dias 0,2,4,6,8,10,12,14,16 e 18, totalizando 10 dias de análises para cada tratamento.

Foi utilizada a inoculação de 5. 10<sup>9</sup> UFC/ml, por ser a ultima diluição que apresentou um crescimento de colônias para contagem.

Para a formulação da água ozonizada utilizada nos tratamentos II e IV, o equipamento produtor de O<sub>3</sub> foi ajustado conforme orientações do fabricante, e a quantidade de O<sub>3</sub> foi confirmada com várias medições através do uso do kit para avaliação da quantidade de O<sub>3</sub> em partes por milhão (ppm). (CHEMets<sup>R</sup> KIT OZONE , Marca CHEMetrics<sup>\*</sup>).

## **2.4. Análises microbiológicas e físicas e químicas**

### **2.4.1 Análises microbiológicas**

As análises microbiológicas foram realizadas de acordo com a metodologia recomendada pela Instrução Normativa nº 62 (BRASIL, 2003) e Silva et al. (2001). Foram utilizados 25g de cada amostra, homogeneizados com 225 mL de água peptonada a 0,1% (p/v) e, a partir disso, foram preparadas as diluições até 10<sup>-4</sup> para posterior inoculação no meio Agar Diferencial Salmonella (ADS), que é seletivo para *Salmonella enterica* Tiphymurium.

## 2.4.2 Análises Físico-químicas

O Jacaré-do-Pantanal, bem como todos os répteis não possuem legislação específica de padrões oficiais no MAPA, portanto, suas análises foram baseadas na legislação de pescados.

As análises físicas constaram de, prova de cocção, pH (Brasil, 1981) e colorimetria (Schubring, 1997) e a análise química, pesquisa de bases voláteis totais nitrogenadas N-BVT (AOAC, 1980).

### 2.4.2.1 Avaliação da Cor dos filés

A Cor dos filés foi avaliada em 3 pontos de cada filé de cauda de jacaré, com um colorímetro de bancada, marca Konica Minolta CR-400® que avalia os parâmetros  $L^*a^*b^*$ , onde  $L^*$  é a luminosidade, representa quão clara e escura é a amostra, com valores variando de 0 (totalmente preta) a 100 (totalmente branco). O  $a^*$ , é a intensidade da cor vermelha, possui valores que variam de -80 (verde) a +100 (vermelho) e  $b^*$  avalia a intensidade do azul ao amarelo, com valores de -50 (totalmente azul) a + 70 (totalmente amarelo). O sistema de leitura do colorímetro, é feito diretamente display, onde à cada leitura, aparece os valores de  $L^*$ , de  $a^*$  e de  $b^*$ .

Atualmente o sistema CIE  $L^*a^*b^*$  tem sido utilizado para análise objetiva da cor em carnes devido ao fato de que as equações utilizadas nos cálculos de seus coeficientes resultarem em ênfase à parte vermelha do espectro. Este sistema possui escala uniforme em que  $L^*$  mede a luminosidade (de mais luminoso branco a ausência de luminosidade que é o preto),  $a^*$  mede a variação do vermelho ao verde e  $b^*$  mede a variação do amarelo ao azul (SCHUBRING, 1997).

### 2.4.2.2 Mensuração do pH

Para a análise do pH utilizou-se pHmetro digital portátil (Tekna® T1000) aferido, o qual fora inserido em uma porção de 175g da amostra da carne (envolvendo o bulbo do pHmetro), sendo considerado 6,4 como o pH máximo aceitável. (BRASIL, 1997).

### 2.4.2.3 Prova de Cocção

Para esta análise foram observadas as características próprias da carne (100g) após cozida em água a 70° C por 30 segundos, sendo considerada apta a amostra sem sabor desagradável e/ou desprendimento de cheiro estranho ou desagradável.

Valores e critérios adotados com relação ao odor

<b>0</b>	<b>C -</b>	CONFORME -	ODOR SUI GENERIS
<b>1</b>	<b>NC+</b>	NÃO CONFORME -	ODOR LIGEIRA ALTERAÇÃO SEM CAUSAR REPUGNANCIA
<b>2</b>	<b>NC++</b>	NÃO CONFORME -	ODOR MAIS ACENTUADO
<b>3</b>	<b>NC +++</b>	NÃO CONFORME -	ODOR ÁCIDO NAUSEABUNDO REPUGNANTE
<b>4</b>	<b>NC ++++</b>	NÃO CONFORME -	ODOR FÉTIDO INSUPOORTÁVEL

### 2.4.2.4 Bases voláteis totais nitrogenadas (N-BVT)

Para quantificação das N-BVT as amostras foram digeridas com catalisador óxido de magnésio (MgO) e ácido clorídrico (0,1 N). A quantidade de N-BVT foi calculada após a obtenção do volume de titulação com hidróxido de sódio (0,1 N). Na análise de bases voláteis totais a concentração de nitrogênio deve ser inferior a 30 mg em 100 gramas de carne. (BRASIL, 1997). O resultado foi expresso em mg/100g.

## 2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O modelo estatístico utilizado neste experimento foi o delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 120 repetições. A parcela experimental foi constituída por uma embalagem de 200g de filé de cauda de jacaré do pantanal. O arranjo fatorial utilizado foi 4 x10, sendo constituído pelos fatores de tratamento (G1, G2, G3 e G4) e tempo de armazenamento de (20 dias). As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa SAEG.

Para as análises de colorimetria, pH utilizou-se o teste de SNK (student-newman-keuls), prova de cocção o teste de Qui-quadrado e as análises de N-BVT, contagem de log de *Salmonella entérica* Typhimurium, análise não paramétrica com o teste de Kruskal Wallis todos a 5 % de probabilidade.

DIC – Delineamento Inteiramente Casualizado em Parcelas Subdivididas.

$$Y_{ijk} = m + O_i + E_{aij} + P_k + PO_{ki} + e_{bijk}$$

Onde:

$Y_{ijk}$  - valor da unidade experimental que recebeu o tratamento (i), na repetição (j) e no período (k).

m - efeito fixo da média geral da quantidade de colônias de *Salmonella* spp.

$O_i$  - efeito da quantidade de ozônio na quantidade de colônias.

$E_{aij}$  – efeito do erro aleatório associado a cada observação.

$P_k$  – efeito do tempo na contagem de colônias de *Salmonella* spp.

$PO_{ki}$  – efeito da quantidade de ozônio e do tempo na quantidade de colônias de *Salmonella* spp.

$e_{bijk}$  – erro associado a cada observação realizada no tempo.

### 3. Resultados e Discussão

Desde o primeiro dia das análises, não foi observado *Salmonella enterica* Typhimurium nas amostras do Grupo I (sem inoculação de *S. Typhimurium* e sem tratamento com  $O_3$ ), ao contrário dos achados de Hoffman & Romanelli (1998) que detectaram *Salmonella* em todas as amostras de carne de jacaré pesquisadas, o que pode ser devido à falta de padronização em peso e idade dos lotes e ausência de BPF nos grupos pesquisados pelos autores. Pôde-se demonstrar também que o programa de Boas Práticas de Fabricação implantado pela indústria foi eficaz para o controle deste patógeno, estando seus produtos em condições sanitárias satisfatórias conforme padrão determinado pela ANVISA (Brasil, 2001).

#### 3.1. Colorimetria

De acordo com Ramos e Gomide (2007) a cor do alimento é um dos principais atributos sensoriais decisivos para a compra e aceitabilidade do mesmo pelo consumidor.

Em pescado a cor pode se alterar em decorrência de alterações microbianas e autolíticas, pela formação de compostos diversos (OGAWA E MAIA, 1999).

Na Tabela 1 estão discriminados os valores  $L^*$  dos filés pesquisados, nos diferentes tratamentos e pode-se observar que não houve efeito significativo para interação entre tratamentos e tempos ( $p < 0,5$ ).

Tabela 1. Valor de  $L^*$  da carne de jacaré, de acordo com os diferentes tratamentos e tempos de leitura

Tratamentos	Tempos de leitura										Médias trat
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	63,97	67,35	70,20	65,63	66,52	65,94	67,81	65,60	64,92	63,88	66,18B
2	68,98	70,20	67,90	69,45	67,36	70,24	66,99	70,61	71,73	69,23	69,27A
3	65,45	65,88	65,72	68,20	67,73	67,87	68,30	66,97	68,02	69,82	67,40B
Médias tempos	66,14a	67,81a	67,94a	67,76a	67,20a	68,02a	67,70a	67,73a	68,22a	67,64a	

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem estatisticamente, pelo teste SNK, ao nível de 5% de probabilidade. CV = 3,40

Para o parâmetro  $L^*$  os valores encontrados durante o experimento apresentaram diferença significativa entre os tratamentos independente do tempo. O tratamento (G2) com inoculação de *Salmonella enterica* Typhimurium ( $5.10^9$ ) e com água em temperatura ambiente ozonizada 4ppm por 5 minutos, apresentou diferença estatística em relação aos tratamentos (G1) sem inoculação e sem água ozonizada e (G3) com inoculação de *Salmonella entérica* Typhimurium ( $5.10^9$ ) e sem água ozonizada.

Tabela 2. Valor de  $a^*$  da carne de jacaré, de acordo com os diferentes tratamentos e tempos de leitura

Tratamentos	Tempos de leitura										Médias trat
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	7,84	9,68	4,42	5,92	5,06	7,65	4,80	3,43	4,60	7,30	6,07A
2	6,01	5,07	7,69	3,64	4,25	6,58	4,30	5,64	5,51	7,99	5,66A
3	6,07	6,87	8,60	4,24	4,03	6,26	3,84	5,07	6,10	6,90	5,80A
Médias tempos	6,64ab	7,21ab	6,90ab	4,60ab	4,45b	6,83ab	4,31b	4,71ab	5,41ab	7,40a	

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem estatisticamente, pelo teste SNK, ao nível de 5% de probabilidade. CV = 27,08

Os resultados da Tabela 2 mostram efeito significativo apenas para o tempo ( $p < 0,5$ ), onde mostrou-se de forma semelhante os dias 1, 2, 3, 4, 6, 8 e 9 e diferentes, com menores valores os dias 5 e 7 e maiores valores de  $a^*$  no 10º dia. Não há diferença entre os tratamentos para o valor de  $a^*$ .

Tabela 3. Valor de  $b^*$  da carne de jacaré, de acordo com os diferentes tratamentos e tempos de leitura

Trat	Tempos de leitura									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	7,94Ca	11,20Aba	9,35BCa	9,15BCa	7,43Ca	9,28BCa	8,54Ca	7,54Ca	10,46ABCa	8,50BCa
2	7,37BCa	8,73ABCb	9,69ABa	7,83BCa	7,05BCa	6,71BCb	6,18Cb	6,51Ca	7,49BCa	7,49BCa
3	7,56Ba	9,80ABb	10,07ABa	8,79ABa	7,90Ba	7,46Bb	7,13Bb	7,61Ba	7,44Ba	7,44Ba

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem estatisticamente, pelo teste SNK, ao nível de 5% de probabilidade. CV= 8,32

Na tabela 3 estão demonstrados o valores de  $b^*$  para os tratamentos em relação ao tempo de leitura. Verifica-se que houve interação significativa ( $p < 0,5$ ).

Para o tratamento 1, (G1) sem inoculação e sem água ozonizada, ao longo do tempo, não houve diferença estatística tem-se que o valor de  $b^*$  se apresentou de forma igual independente do tempo. No tratamento 2 (G2) com inoculação de *Salmonella enterica* Typhimurium ( $5.10^9$ ) e com água em temperatura ambiente ozonizada 4ppm por 5 minutos, os maiores valores de  $b^*$  foram encontrados nos tempos 1,3,4,5,8,9 e 10 e os menores valores nos dias 2,6 e 7. Para o tratamento 3 (G3) com inoculação de *Salmonella entérica* Typhimurium ( $5.10^9$ ) e sem água ozonizada, os valores de  $b^*$  apresentam o maior valor em nos dias 1,3,4,5,8,9 e 10 e os menores valores nos dias 2, 6 e 7. Houve diferença significativa entre os tratamentos em cada tempo de leitura.

O valor de  $L^*$  do Tratamento 2 (G2) com inoculação de *Salmonella enterica* Typhimurium ( $5.10^9$ ) e com água em temperatura ambiente ozonizada 4ppm por 5 minutos foi maior do que os outros tratamentos, o que condiz com uma qualidade de carne melhor, provavelmente pela ação oxidante do tratamento com Água Ozonizada.

Os valores de  $a^*$  não diferem significativamente e como está relacionado à degradação da cor vermelha, demonstra que não houve perda da qualidade da carne. Todavia, os valores de  $a^*$  apresentaram uma ligeira diferença durante o tempo de avaliação, principalmente nos 3 primeiros e nos 2 últimos dias do experimento. Já em relação aos diferentes tratamentos nota-se uma semelhança entre os três. Como não existem padrões para colorimetria em carne de Jacaré-do-Pantanal, em comparação com os outros parâmetros da pesquisa pode-se considerar a carne apta para o consumo.

De acordo com resultados obtidos com os valores de  $L^*$ , é possível classificar a carne de Jacaré-do-Pantanal como carne de luminosidade elevada (próxima às médias encontradas em carnes brancas), assim como os achados de Romanelli (1995) e Rodrigues (2006) que avaliaram a cor da carne de jacaré em termo de concentração dos

pigmentos totais existentes nos músculos e a consideraram uma carne branca, equivalente à carne de peixe.

Nossos valores de  $a^*$  encontrados diferem do valor médio de  $a^*$  - 0,53 encontrado em filé de cauda de jacaré por Rodrigues (2006). Comportamento semelhante foi observado por Francesco et al. (2004) que trabalhando com trutas (*Oncorhynchus mykiss*) e comparando porções da carcaça (dorso, ventre e cauda), observaram diferenças entre porções musculares para os componentes de cor. Estas diferenças podem ser atribuídas às diferentes disposições musculares, tamanhos e tipos de fibras e retenção de pigmentos carotenoides (FORREST et al., 1979).

Se comparar-mos o teor de vermelho nas diferentes espécies, temos: em bovinos são relatadas médias de 12,28 a 14,64 (Money et al., 1998; Picallo et al., 1998); em ovinos médias de 10 a 18,01 (Prado, 2000; Souza, 2001); em suínos 5,50 a 5,94 (Silveira, 1997); em frangos 1,90 a 3,83 (Contreras, 1995; Bressan, 1998; Norkus et al., 2001). Assim, podemos classificar a carne de Jacaré-do-Pantanal como uma carne com baixo teor de vermelho.

Já para  $b^*$  se compará-lo com diferentes médias de outros animais é possível definir a carne de Jacaré-do-Pantanal como carne com baixo teor de amarelo. Por exemplo, Francesco et al. (2004) encontrou valores  $b^*$  em truta variáveis para dorso (12,91 a 15,02), ventre (10,53 a 12,34) e cauda (12,35 a 13,59). Norkus et al. (2001) detectou em peito e coxa de frango 5,39 e 6,94, respectivamente. Os teores de amarelo encontrados na literatura para outras espécies como bovino são de 7,29 a 9,08 (Money Et Al., 1998; Picallo et al., 1998), ovinos de 3,34 a 8,15 (Prado, 2000; Souza, 2001); suínos de 5,80 a 6,53 (Silveira, 1997); frangos de 4,1 a 5,6 (Contreras, 1995).

O filé de cauda do Jacaré do Pantanal apresenta no teste de colorimetria CIE  $L^*a^*b^*$  alta luminosidade, baixos teores de vermelho, baixos teores de amarelo, sendo, por tanto, uma carne rósea. Ao contrario do que foi citado por Romanelli. (1995) e Rodrigues (2006).

### 3.2. pH

Na Tabela 4 estão apresentados os valores de pH dos filés de acordo com os diferentes tratamentos e tempos de leitura, com efeito significativo para interação entre tratamentos e tempos.



Tabela 4 – Valores de pH encontrados considerando os diferentes tratamentos e tempos

Trat	Tempos de leitura									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	5,95Aa	5,69Aa	5,59Ba	5,72Aa	5,66ABa	5,91Aa	5,46Ba	5,73Aa	6,15Aa	5,52Aa
2	5,66Ab	5,69Ab	5,64Bb	5,88Aab	6,04Aab	6,02Aab	6,27Aa	6,27Aa	6,27Aa	5,66Ab
3	6,09Aa	5,72Aa	6,00Aa	5,76Aa	6,00Aa	5,87Aa	6,22Aa	5,82Aa	5,90Aa	5,79Aa
4	5,62Aa	5,42Ab	5,26Cbcd	5,35Babc	5,40Bab	5,24Bbcd	5,19Bbcd	5,02Bd	5,08Bcd	5,38Aab

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem estatisticamente, pelo teste SNK, ao nível de 5% de probabilidade. CV= 3,92

Para o tratamento 1(G1) sem inoculação de *Salmonella* ssp e sem água ozonizada e 3(G3) com inoculação de *Salmonella enterica* Typhimurium ( $5.10^9$ ) e sem água ozonizada não houve diferença estatística em relação ao tempo enquanto os tratamentos 2(G2) com inoculação de *Salmonella enterica* Typhimurium ( $5.10^9$ ) e com água em temperatura ambiente ozonizada 4ppm por 5 minutos e 4(G4) com inoculação de *Salmonella enterica* Typhimurium ( $5.10^9$ ) e com água resfriada a 2°C, ozonizada 4ppm por 5 minutos observou-se diferença em relação ao tempo, de acordo com o tempo de armazenamento maiores valores e pH foram observados para o tratamento 2(G2) (G2) com inoculação de *Salmonella enterica* Typhimurium ( $5.10^9$ ) e com água em temperatura ambiente ozonizada 4ppm por 5 minutos, enquanto o inverso ocorreu com o tratamento 4 (G4) (G4) com inoculação de *Salmonella enterica* Typhimurium ( $5.10^9$ ) e com água resfriada a 2°C, ozonizada 4ppm por 5 minutos. maior valor. Para o tempo 10 os tratamentos 2 (G2) com inoculação de *Salmonella enterica* Typhimurium ( $5.10^9$ ) e com água em temperatura ambiente ozonizada 4ppm por 5 minutos e 3 (G3) com inoculação de *Salmonella enterica* Typhimurium ( $5.10^9$ ) e sem água ozonizada se assemelharam e apresentaram maior valor.

Durante os 20 dias de experimento, o tratamento 4 apresentou os menores valores de pH. Provavelmente a carne deste tratamento, por apresentar um pH mais baixo, deve ter um prazo de validade comercial maior. Este fato pode ser devido à ação da água ozonizada gelada, já que o decréscimo da temperatura em meio aquoso aumenta a solubilidade do O<sub>3</sub> e sua estabilidade aumenta com a diminuição do pH (Kim et al., 1999).

Os resultados para pH se assemelham ao de Romanelli (1995) que detectou um pH entre 5,5 e 5,7 após 35-40 horas de abate, e com Taboga et al. (2003) que encontraram pH inicial variando de 6,6 a 6,7 em 15 a 20 horas e 5,5 a 5,7 em 36 a 48 horas, em cauda de Jacaré-do-Pantanal, após a sangria, e ainda com Vicente Neto

(2005) que obteve pH inicial de 6,67 em 24 horas e de 5,70 e 5,54, em 36 horas após a sangria da mesma espécie.

A variação do pH durante o *rigor mortis* em peixes é de curta duração quando comparado com o dos mamíferos, e de uma maneira geral, oscila de 1 a 2 horas *post-mortem*, com o pH inicial variando de 7,0 - 7,3 e final de 6,2 - 6,5 (AMILACHER, 1965).

Esses resultados os diferenciam do Jacaré-do-Pantanal provavelmente em virtude da constituição muscular diferente, mais firme, e também à uma possível maior reserva de glicogênio. Trabalhos realizados com crocodilo do Nilo abatidos à tiro (Hoffman et al. 2000) encontraram pH final em 48 horas de 6,28, caracterizando um procedimento não humanitário e carne dura, firme e seca ou dark, firm and dry (DFD).

O estresse pré-abate promove uma deficiência nas reservas de glicogênio, logo o pH da carne permanece acima de 6,2 após 24 horas após o abate, resultando em uma carne DFD, com reduzida validade comercial e rejeição pelo consumidor (LAWRIE, 2005), condição esta que não foi observada no presente estudo.

### 3.3. Prova de Cocção

Na prova de cocção (Tabela 5) não houve diferença estatística pelo teste do qui-quadrado ( $P < 0,05$ ). Farias (2006) ressalta que na prova de cocção o pescado fresco deve apresentar resultado normal, isto é com características de odor do caldo da carne próprias de cada espécie, semelhante aos encontrados no presente estudo. Cita ainda que odor amoniacal, sulfídrico ou de ranço são facilmente identificados, e caracterizam uma alteração da carne, tornando-a rejeitada para o consumo.

As alterações que mais caracterizam a deterioração do pescado são aquelas relacionadas com o odor e o sabor, que determinam o estado de impróprio para o consumo, pois afetam a comestibilidade (ORDÓNEZ, 2005).

Tabela 5 – Prova de cocção tratamentos e tempos de leitura

Tratamentos	Tempos de leitura									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0(3)	0(3)	0(3)	0(3)	0(3)	0(3)	0(3)	0(3)	0(3)	0(3)
2	0(3)	0(3)	0(3)	<b>0(3)</b>	0(3)	0(3)	1(3)	1(3)	1(3)	0(3)
3	0(3)	0(3)	0(3)	0(3)	0(3)	0(3)	0(3)	0(3)	0(3)	0(3)
4	0(3)	0(3)	0(3)	0(3)	0(3)	0(3)	0(3)	0(3)	0(3)	0(3)

Médias não diferem estatisticamente, pelo teste qui-quadrado, ao nível de 5% de probabilidade.

Não houve diferenças estatísticas pelo teste do qui quadrado. Durante todos os dias do trabalho, não observamos alterações que comprometessem a qualidade da carne de jacaré para o consumo. Constatamos que a carne de jacaré do pantanal resfriada, apresenta uma maior resistência à deteriora quando comparada com pescados resfriados. De acordo Cassol et al, (2013), em trabalho realizado com pintado amazônico, os mesmos, apresentaram a partir do 8º e do 10º dia, sinais de inicio de deteriora e no 16º dia da pesquisa, alterações características de putrefação.

### 3.4. Bases Voláteis Totais (N-BVT)

A quantificação das N-BVT é preconizada nos procedimentos de fiscalização da qualidade do pescado por diversos órgãos oficiais no Brasil, como o MAPA (BRASIL, 1952;BRASIL, 1981) e o Instituto Adolfo Lutz (SÃO PAULO, 1985), além de institutos internacionais como AOAC (1980) e Analytical Methods Committee (1979).

Tabela 6 – Valores de N-BVT em função dos tratamentos e tempos

Tratamentos	Tempos de leitura										Médias trat
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	8,92	6,60	10,44	11,07	4,42	4,36	2,14	0,00	12,70	14,22	7,48A
2	4,47	2,24	0,00	13,15	9,03	9,12	16,21	10,20	27,86	14,30	10,66A
3	6,65	6,64	12,62	13,00	10,40	8,19	20,91	8,09	18,64	14,16	11,93A
4	4,48	4,44	12,67	19,02	4,19	9,37	0,00	0,00	15,02	10,20	7,94A
Médias tempos	6,13a	4,98a	8,93a	14,06a	7,01a	7,76a	9,81a	4,57a	18,55a	13,22a	

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem estatisticamente, pelo teste Kruskal Wallis, ao nível de 5% de probabilidade.

Na Tabela 6 estão os valores observados de N-BVT em função de tratamentos e tempos, onde verificamos não houve diferença estatística significativa pelo teste de Kruskal Wallis, através das médias entre os tratamentos e o tempo do experimento ( $P < 0,05$ ).

O N-BVT é usado extensamente como índice de qualidade do pescado no mercado internacional, sendo um bom indicativo do estado de conservação (OEHLENSCHLAGER, 1991). Segundo Connell (1995), limites entre 30 e 35 mg N-BVT/100g de músculo são aceitáveis quando os peixes estão armazenados em gelo ou água gelada. Os resultados encontrados no presente estudo foram valores baixos e diferem dos valores encontrados por Vicente Neto (2008).

Em relação ao teor de N-BVT a legislação federal brasileira considera deteriorado e, portanto, impróprio para o consumo, o pescado com valores superior ou igual a 30mg N/100g (BRASIL, 1997). No experimento realizado com pescado por Farias (2006) foram encontrados valores N-BVT de 2 a 61%, todas as 133 amostras estiveram de acordo com o padrão estabelecido pela legislação Federal, assim como no presente estudo, ou seja, os filés de cauda de Jacaré-do-Pantanal mantidos a 5,5°C em todos os tratamentos apresentaram boa qualidade para consumo, sem indícios de deterioração, durante os 20 dias do experimento.

### 3.5. Contagem de *Salmonella enterica* Typhimurium

Na tabela 7, estão apresentados os valores de log de *Salmonella enterica* Typhimurium os quais não apresentaram diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os diferentes tratamentos. No grupo I (G1) sem inoculação de *Salmonella ssp* e sem água ozonizada, não houve crescimento de colônias de *Salmonella enterica* Typhimurium durante os 20 dias do experimento em 100% das amostras, atendendo, portanto, ao padrão de ausência desse micro-organismo em 25g do produto, conforme determina a ANVISA (Brasil, 2001).

Log – análise não paramétrica

Tabela 7 – contagem de *Salmonella enterica* Typhimurium (log) em relação aos tratamentos e tempo

Tratamentos	Tempos de leitura										Médias trat
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
2	2,20	3,31	3,20	1,45	2,30	1,00	4,21	1,32	1,00	2,97	2,30A
3	1,26	3,56	3,91	2,16	0,00	0,00	0,00	0,00	1,54	1,20	1,36A
4	1,00	2,00	2,92	0,77	1,20	1,10	0,00	1,00	0,00	0,00	1,00A
Médias tempos	1,48a	2,96a	3,34a	1,46a	1,16a	0,70a	1,40a	0,77a	0,85a	1,39a	

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem estatisticamente, pelo teste Kruskal Wallis, ao nível de 5% de probabilidade.

OBS: O Grupo I (G1) sem inoculação de *Salmonella ssp* e sem água ozonizada não está incluído devido não haver crescimento microbiano durante o experimento.

Nos 3 demais grupos com inoculação de *Salmonella enterica* Typhimurium ( $5 \times 10^9$ ) as médias finais foram 2,3 log para o G2 (com água em temperatura ambiente ozonizada 4ppm por 5 minutos), 1,36 log para o G3 (sem água ozonizada) e 1,00 log para o G4 (com água resfriada a 2°C, ozonizada 4ppm por 5 minutos).

Em todos os tratamentos, houve uma redução significativa de 7 ciclos de log em relação ao inóculo inicial. Este resultado se assemelha aos de Stivarius et al. (2002) em que o tratamento com 1% de Água Ozonizada por 7 minutos foi efetivo na redução de patógenos como *Escherichia coli* e *Salmonella enterica* Thyphimurium. Sheldon e Brown (1986) recomendam a utilização de 3,0 a 4,5 mg/l de Água Ozonizada por 45 minutos em chiller de frangos para reduzir 81% de *Salmonella spp.* e redução de 7 ciclos de log. Comparando os resultados dos tratamentos 2 e 4, onde os mesmos foram inoculados e receberam água ozonizada, podemos considerar que a água ozonizada gelada foi mais eficaz para controle microbiológico da *Salmonella enterica* Thyphimurium do que o tratamento com água ozonizada em temperatura ambiente. Podemos considerar que o crescimento microbiano foi restrito também, devido à baixa temperatura (5,5°C) em que os filés de cauda de Jacaré-do-Pantanal foram mantidos durante os 20 dias da pesquisa, e que o pH baixo da carne também restringiu o desenvolvimento do patógeno, de acordo com as observações de Farias (2006).

Considerando que a patogenicidade do micro-organismo é muito alta, com risco de morte, quando o patógeno apresenta valores de  $10^9$  (Honda et al., 2000), e que o mesmo é reduzido na diluição de  $10^2$  (Jacabi et al., 1999), pode-se dizer que os valores de log finais apresentam reduzido risco ao consumidor e que a Água Ozonizada foi eficiente na redução do patógeno.

No Japão, onde os pratos à base de frutos do mar crus são extremamente populares, cerca de 70% das doenças transmitidas por alimentos são ocasionados por esta bactéria, como relatado em 3. 145 casos e 57 surtos, envolvendo pescado e frutos do mar; e 806 casos e 37 surtos, envolvendo alimentos à base desses produtos, no período de 1987 a 1996 (Guimarães et al., 2001).

#### **4. Considerações Finais**

Com base nas análises físico-químicas e microbiológica, pode-se afirmar que a utilização da água refrigerada ozonizada foi capaz de reduzir a contaminação por patógenos como a *Salmonella enterica* Typhimurium.

O programa boas práticas de fabricação implementado pela CROOCRIJAPAN pode ser considerado satisfatório por não oferecer risco de

veiculação de *Salmonella spp. ou/ Salmonella enterica* Typhimurium através dos filés de cauda de Jacaré-do-Pantanal produzidos.

Convém alertar que caso o O<sub>3</sub> tenha seu uso regulamentado pelas autoridades sanitárias brasileiras, seu uso obviamente não substitui as boas práticas de fabricação na cadeia alimentar, as quais não devem ser negligenciadas. O menor descuido com as BPF pode reverter o quadro, tornando o produto contaminado o que compromete a segurança alimentar.

O filé de cauda do jacaré do pantanal apresentou no teste de colorimetria CIE L\*a\*b\*, alta luminosidade, baixos teores de vermelho, baixos teores de amarelo, sendo, por tanto, uma carne de coloração rósea.

O trabalho demonstrou que a carne de jacaré do pantanal resfriada apresentou uma maior resistência à deteriora, quando comparada com os estudos que existem com a carne de pescados resfriados.

Novas pesquisas com utilização de água ozonizada devem ser realizadas para que sejam feitas novas descobertas.

### **Agradecimentos**

A DEUS, Grande Arquiteto do Universo, pelo Don da Vida

À SUPERINTENDENCIA FEDERAL DA AGRICULTURA – MAPA  
Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento pelo apoio.

À UFMT – Universidade Federal do Mato Grosso pelo PPGCA – Programa de Pós Graduação em Ciência Animal.

À COOCRIJAPAN – Cooperativa dos Criadores de Jacaré do Pantanal pelas amostras.

À PHILOZON O3R – Pelo equipamento Gerador de Ozônio.

Ao LAPOA – MT – Pelas Análises de N-BVT

À todos que direta ou indiretamente participaram deste trabalho.

## 6. Referências

AL-HADDAD, K. S. H.; AL-QASSEMI, R. A. S.; ROBINSON, R. K. The use of gaseous ozone and gas packaging to control populations of *Salmonella infantis* and *Pseudomonas aeruginosa* on the skin of chicken portions. **Food Control**, v. 16, n. 5, p. 405-410, 2005.

ALMEIDA FILHO, E.S.; Comportamento de microbiota contaminante *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia enterocolítica* e *Listeria monocytogenes* inoculadas em carne de atum (*Thunnus albacares*), estocada sob refrigeração (0° C + ou – 1°C) em diferentes atmosferas modificadas. Tese de doutorado em Medicina Veterinária na área de concentração em Higiene e Tecnologia de Pescado e Derivados na Universidade Federal Fluminense -UFF- 2006.

AMILACHER, A. *rigor mortis* in fish. In: BORGSTROM, G. (Ed.). **Fish as food**. New York: Academic, 1965. V.1, p.385-409

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 16. ed. Arlington, 1995.

BRASIL, IBAMA - MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, DOS RECURSOS HÍDRICOS E DA AMAZÔNIA LEGAL INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS Portaria nº 126, de 13 de fevereiro de 1.990

BRASIL. Leis e Decretos, etc. Resolução RDC n.12 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial da União*, Brasília – DF, n.7-E, seção 1, p.45-53, 10 de janeiro de 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Diretrizes para aplicação das Circulares nº 175/2005/CGPE/DIPOA e 176/2005/CGPE/DIPOA PPHO, APPCC.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria nº368 de 10 de setembro de 1997. Aprova Regulamento Técnico sobre as condições Higiênico – Sanitária e de Boas Práticas de Fabricação para estabelecimentos Elaboradores / Industrializadores de alimentos. Brasília (DF), 1997 a.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria 185 de 13 de Maio 1997 Aprovar o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco ( Inteiro e Eviscerado),

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 326 de 01 de agosto de 1997. Aprova Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixes Frescos (inteiro e eviscerado). Brasília (DF), 1997 b. Vigilância Sanitária

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária Portaria nº 1.428/MS, de 26 de novembro de 1993. "Diretrizes para o Estabelecimento de Boas Práticas de Produção e de Prestação de Serviços na Área de Alimentos" - COD- 100 a 002.0001, e o "Regulamento Técnico para o Estabelecimento de Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ's) para Serviços e Produtos na Área de Alimentos"- COD- 100 a 003.0001 e COD- 100 a 004.0001.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Métodos Analíticos para oficiais controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: I - Métodos microbiológicos. Brasília, Cap 8 - 12, p. 136. 1992.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Métodos Analíticos para oficiais controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: II - Métodos físicos e químicos. Brasília, Cap 11, p. 5-6, 1981.

BRESSAN, M. C. Fatores dos fatores pré e pós-abate sobre a qualidade da carne de peito de frango. 1998. 201 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1998.

CAMPOSA, C.A., RODRIGUES, O., LOSADA, V., AUBOURG, S.P., VELASQUEZ, J.B.. Effects of storage in ozonised slurry ice on the sensory and microbial quality of sardine (*Sardina pilchardus*). **Inter. J. Food Microbiology**, 103:121– 130, 2006.

CASSOL, L.A., et al, Avaliação de diferentes sistemas de insensibilização pré-abate na qualidade da carne do pintado amazônico (fêmea de *pseudoplatystoma fasciatum* x macho de *leiaris marmoratus*). Dissertação de mestrado. UFMT, 2013.

CHIATTONE, P.V.; TORRES, L.M. Application of ozone in industry of food. **Alim. Nutr.**, v.19, n.3, p. 341-349, jul./set. 2008.

CHIATTONE, P. Ozônio e ácido ascórbico na coloração e microbiota da carne bovina maturada. 2006. 51f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2006.

CONNELL, J. J. Control of fish quality. Fishing News. 4. ed. Farnham: Surrey, 1995.

CONTRERAS, C. J. C. Efeitos do atordoamento elétrico, estimulação elétrica e da desossa à quente na qualidade da carne do peito de frango *pectoralis major* . 1995. f.



Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1995.

DIAZ, M. E., LAW, S. E., & FRANK, J. F. (2001). Control of pathogenic microorganism and turbidity in poultry-processing chiller water using UV-enhanced ozonation. *Ozone Science & Engineering*, 23, 53–64.

FARIAS, M. C. A. Avaliação das Condições Higiênico – sanitárias do Pescado Beneficiado em Indústrias Paraenses e Aspectos Relativos à Exposição para Consumo em Belém – Pará.

Univesidade Federal do Pará -Belém – PA, 2006

FERNANDES, A. T. - Caracterização do Processo de *rigor mortis* e Efeito da Radiação Gama na Paleta (*triceps brachii*) e no Músculo Duro (*extensor/ flexor*) de javali (*sus scrofa*) Durante sua Validade Comercial – Universidade Federal Fluminense – 2007.

FORREST, J. C.; ABERLE, E. D.; HEDRICK, H. B.; JEDGE, M. D.; MERKEL, R. A. Fundamentos de ciencia de la carne. Zaragoza: Acribia, 1979. 364 p.

FRANÇA, J.M.; BATISTA, L.S. Procedimentos de produção para atender mercados globalizados. *Anais...Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícola*, p.123-135.2007.

FRANCESCO, M.; PARISI, G.; MEDALE, F.; LUPI, P.; KAUSHIK, S. J.; POLI, B. M. Effect of long-term feeding with a plant protein mixture based diet on growth and body/fillet quality traits of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, Amsterdam, v. 236, p. 413-429, 2004.

FRANKEN, M. S. The application of ozone technology for public health and industry. Disponível em: <http://www.fss.k-state.edu>. Acesso em: 11 nov. 2007.

GUIMARÃES, A.G.; LEITE . C.C.; TEXEIRA , L .D.S.; SANTANNA , M .E. B.; ASSIS,P.N, Detection of Salmonella spp.em handlers and patients involved in an outbreak of food poisoning. *Infection food*. Brazilian Journal of Animal Health and Production, Salvador. v.2, n. 12, p. 1-4, jan. 2001.

GUZEL-SEYDIM, Z. B.; GREENE, A. K.; SEYDIM, A.C. Use of ozone in food industry. *Lebensm-Wiss.u.-Technol*, v. 37, p. 453-460, 2004.

HOFFMAN, L.C. The yield and nutritional value of meat from African Ungulates, camelidae, rodents, ratites and reptiles. *Meat Science*, Barking, v. 80, p. 94 -100, 2008.

HOFFMAN, L.C et al. Carcass and meat characteristics of the Nile crocodile (*Crocodylus niloticus*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.80, p.390-396, 2000.

HOFFMAN, F.L. e ROMANELLI P.F. – Análise Microbiológica da Carne de Jacaré do Pantanal (*Caiman crocodilus yacare*) 1998.

HONDA, T.; YOH, M.; KONGM UANG, U.; MIWATANI, T. Enzyme Linked Immunosorbent assays for detection of Thermostable Direct Hemolysin of *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of clinical Microbiology*, Washington. v. 45, n. 3, p. 38. 2000.

IAL, Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020p. (versão eletrônica).

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3.ed. São Paulo, 1985. V.1, 533p.

IBAMA. Centro de Conservação e Manejo de Répteis e Anfíbios. Projeto jacaré-do-pantanal. Brasília, DF:Ministério do Meio Ambiente; IBAMA-RAN, 2002.

INSTRUÇÃO NORMATIVA 62 –MAPA -26 de agosto de 2003 ,que normatiza as análises microbiológicas em Produtos de Origem Animal

JAKABI, M. ; BUZZO, A. A. ; RISTORI, C. A.; TAVECHIO, A. T.; SAKUMA, H.; PAULA, A. M. R.; GELLI, D. S. Laboratory observations on outbreaks of foodborne Salmonella occurring in greater São Paulo from 1994 to 1997, *Journal of the Institute Adolfo Luz*, São Paulo. v.58, n. 1. p. 4751. fev. 1999.

KHADRE, M. A.; YOUSEF, A. E; KIM, J.-G. Microbiological aspects of ozone applications in food: a review. **J. Food Sci.**, v.66, n.9, p. 1241-1252, 2001.

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

LAWRIE, R.A. **Ciência da Carne**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 384 p

MOONEY, M. T.; FRENCH, P.; MOLONEY, A. P.; O RIORDAN, E.; TROY, D. J. Quality differences between hrbage and concentrate-fed beef animals. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 44., 1998, Barcelona. **Anais...** Barcelona: ICOMST, 1998.

NAITO, S. & TAKAHARA, H. (2006) Ozone contribution in food industry in Japan, *Ozone: Science & Engineering*, 28, 425–9.

NORKUS, E. A.; SOUZA, H. B. A.; SOUZA, P. A.; OBA, A.; KODAWARA, L. M.; LEONEL, F. R.; PELICANO, E. R. L. Avaliação da qualidade física e química da carne de frangos abatidos em diferentes idades. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE CARNES, 1., 2001, São Pedro, SP. **Anais...** São Pedro: USP, 2001. p. 203-204.

OEHLESCHLÄGER, J.; SÖRENSEN, N.K. Criteria of sea fish and quality aspect Evaluation of fish freshness, v.3, n. 12, p.52-61, 2003.

OGAWA, M.; MAIA, E. L. Manual de Pesca – Ciência e Tecnologia do Pescado. São Paulo: Varela, 1999, 430 p.

ORDOÑEZ J. A.(coord.) Tecnologia de alimentos –Alimentos de origem animal. v.2. Porto Alegre: Artmed, 2005. 279p.

PASTORIZA, L.,BERNARDEZ,M.,SAMPEDRO,G.HERRERA,J.R.. Use of sterile and ozonized water as a strategy to stabilize the quality of stored refrigerate fresh fish. Food Control, v. 19, p. 772-780, 2007.

PEDREIRA FILHO & BARROCO – Gestão da Qualidade na Indústria Farmaceutica. In Otávio J. Oliveira (org.). Gestão da Qualidade: tópicos avançados. São Paulo: editora Pioneira Thonson Learning, 2006. p 211-233.

PICALLO, A. B.; SANCHO, A. M.; MARGARÍA, C. A.; LASTA, J. A. Colour and tenderness relationships in different steer breeds. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 44., 1998, Barcelona. **Anais...** Barcelona: ICOMST, 1998.

PIRAN, C. – Propostas para a Gestão da Qualidade e da Segurança do Alimento da Unidade Processadora de Carne de Jacaré da COOCRIJAPAN. Dissertação (mestrado) Universidade de S. Carlos, SP, 2010

PRADO, O. V. Qualidade de carne de cordeiros Santa Inês e Bergamácia abatidos em diferentes pesos. 2000. 109 p.Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

RAMOS, E.M.; GOMIDE, L.A.M. Textura e maciez da carne. In: RAMOS, E.M.; GOMIDE, L.A.M. (Eds.) *Avaliação da Qualidade de Carnes, Fundamentos e Metodologias*. Viçosa: UFV, 2007. v.1, cap. 8, p.438-444.

RIISPOA – Regulamento da Inspeção Sanitária e Industrial de Produtos de Origem Animal – Lei 1.283 de 18/12/1950, Decreto 30.691 de 29/03/1952, Lei 5.760 de 03/12/1971, Decreto 73.116 de 08/11/1973, Lei 6.275 de 01/12/1975, Decreto 78.713 de 11/11/1976.

RODRIGUES, E. C.; BRESSAN M. C.; NETO, J. V.; VIEIRA, J. O.; FARIAS, P. B.; FERRÃO, S. P. B.; ANDRADE, P. L.,Qualidade e composição química de cortes comerciais de carne de jacaré-do-pantanal (*caiman yacare*). Ciênc. agrotec., Lavras, v. 31, n. 2, p. 448-455, mar./abr., 2006.

ROMANELLI, P. F. Propriedades Tcnológicas da Carne do Jacaré do Pantanal (*Caiman crocodilus yacare*). Campinas, 1995. 110 p. **Tese** (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de

Campinas.SAS Institute. **SAS User's Guide. 6. 04 Edition.** Institute Inc., Cary, NC. 1999.

SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO A MICRO E PEQUENAS EMPRESAS. Diagnóstico da cadeia produtiva do jacaré-do-pantanal (*Caiman yacare*) no estado de Mato Grosso. In: PROJETO ARRANJO PRODUTIVO LOCAL JACARÉ-DO-PANTANAL, 1., 2005, Cáceres. **Workshop...**Cáceres: [s.n.], 2005.

SHELDON, B. W., BROWN, A. F., & HALE, S. A. (1985). Ozone as a disinfectant in poultry chill water. In R. Perry, & A. E.McIntyre (Eds.), Proceedings of the International Conference on the role of ozone in water and wastewater treatment (pp. 247–256). London: Selper Ltd

SILVA, M.C.; NORMANDE, L.C.A.; FERREIRA, V.M.; RAMALHO, S.L. Avaliação da qualidade microbiológica do pescado comercializado em Maceió, AL. Revista Higiene Alimentar, São Paulo, v.6, n. 96, p. 60 - 64, nov. 2002.

SILVEIRA, E. T. F. Técnicas de abate e seus efeitos na qualidade da carne suína. 1997. 226 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997.

SOPHER, D.C., BATTLES, G.T., KNUEVE, E.A., Ozone applications in catfish processing. Ozone Science Engineering. Vol 29 2007.

SOUZA, X.R. Efeitos de grupo genético, sexo e peso ao abate na qualidade de carne de cordeiros em crescimento. 2001. Lavras . MG

STIVARIUS, M.R. et al. Microbial, instrumental color and sensory color and odor characteristics of ground beef produced from beef trimmings treated with ozone or chlorine dioxide. **Meat Sci.**, v. 60, n. 3, p. 299-305, 2002.

TABOGA, S.T. et al. Acompanhamento das alterações post-mortem (glicólise) no músculo do jacaré do pantanal (*Caiman crocodilus yacare*). Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.23, n.1, p.23-27, 2003.

TORRES, E.A.F.S.; ROGE-FERREIRA; RIMOLI, C. D.; OLIVO, R. ..Estudos das propriedades desinfetantes do ozônio em alimentos. Higiene Alimentar. São Paulo, v.10, n.42, p.18-23, mar./abr., 1996.

UNITED STATE DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Code of federal regulations: title 9, poultry products; temperatures and chilling and freezing procedures. Washington, DC: Office of the Federal Register National Archives and Records Administration, 1997. Part 381.66.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. EPA 815-R-99-014 – Office of water. Alternative disinfectants and oxidants guidance manual. 1999. Disponível em: [http://www.epa.gov/safewater/mdbp/alternative\\_disinfectants\\_guidance.pdf](http://www.epa.gov/safewater/mdbp/alternative_disinfectants_guidance.pdf). Acesso em: 12 jan. 2008.-

VAZ-VELHO, M.; [SILVA](#), M.; PESSOA ,J.; GIBBS, P. . Inactivation by ozone of *Listeria innocua* on salmon-trout during cold-smoke processing. *Food Control*, v. 17, n. 8, p. 609-616, 2006.

VEIGA, S. M. O. M. Utilização de água potável, hiperclorada e ozonizada e do ultrassom, combinados ou não, em um protótipo de chiller, para a sanificação de carcaças de frango. Sanificação de carcaças de frango: processos alternativos. 2003. cap. 3, p.99-166, p.291. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

VICENTE NETO, J. et al. Avaliação Físico Química da Carne de Jacaré-do-pantanal (*caiman yacare* daudin 1802) de Idades Diferentes *Ciênc. agrotec.*, Lavras, v. 31, n. 5, p. 1430-1434, set./out., 2007

VICENTE NETO, J. Caracterização físico química, colesterol e ácidos graxos da carne de jacaré-do-pantanal (*Caiman yacare* Daudin 1802) oriundo de zoológico e habitat natural. 2005. 122 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

VIEIRA, J.P.; Caracterização do Processo de *rigor mortis* do Músculo Ileo-ichiocaudalis da Cauda de Jacaré do Pantanal (*Caiman crocodilus yacaré*) e Maciez da Carne – Universidade Federal Fluminense – RJ, CDC 664.95 - 2010

.WEI, C.I.; COOK, D.L.; KIRK, J.R. Use of chlorine compounds in the food industry. *Food Technol.*, v. 39, p. 107-115, 1985.

## CAPÍTULO 4

### 4 APÊNDICES

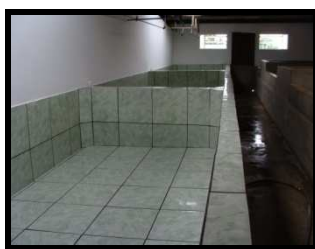
#### 4.1 APENDICE A: ILUSTRAÇÕES DO ABATE DE JACARÉ DO PANTANAL



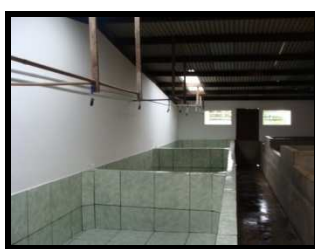
Filhotes logo após o nascimento



Visualização do Frigorífico



Modernos tanques para aguardar o abate



Jejum pré-abate



Jacaré antes do abate



Banho com água clorada antes do abate





Tanque com água clorada



Insensibilização com pistola de dardo cativo



Jacaré após insensibilização



Desmedulinização



Sangria



Bucha de Algodão com sol. Iodada na cloaca



Pulverização Ácido Cítrico



Cuidadosa esfolia



para preservação da pele



Produção de Pele Hornback



Esfolia



Esfolia



Oclusão Traqueia Esofago



Oclusão (finalização)



Higienização mãos



Oclusão do reto



Lavagem das Carçaça



Carçaças na câmara fria



Desossa



Desossa



Embalagem e



Rotulagem



Túnel de Congelamento



Amostras do Experimento



Purificação da salmonella



Análises Laboratoriais



Plaqueamento

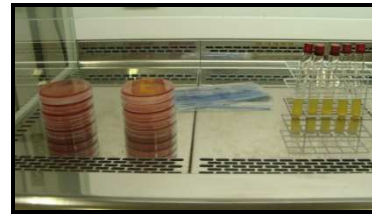




Análise de pH



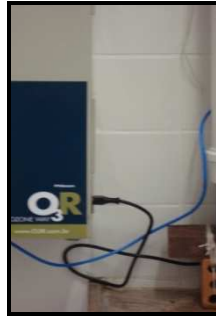
Colorimetria



Placas do Experimento



Inoculação de Salmonella



O3R



Tratamento com Água Ozonizada 4 ppm

Participantes



Vidraria