

Área: Engenharia de Alimentos

INATIVAÇÃO DE *Staphylococcus aureus* EM MATRIZ LÍQUIDA COM DIÓXIDO DE CARBONO A DIFERENTES PRESSÕES

Juliana Barbosa*, **Mônica Cuppini**, **Ilizandra Aparecida Fernandes**, **Geciane Toniazzo**,
Rogério Luis Cansian

*Departamento de Ciências Agrárias – URI/Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões,
Campus de Erechim, 1621 – CEP: 99700-000 – Erechim – RS*

**E-mail: jubarbosa00@hotmail.com*

RESUMO – A tecnologia supercrítica usando dióxido de carbono apresenta-se como tratamento alternativo para processos não térmicos de alimentos. Considerando a segurança microbiana para o consumo de alimentos prontos, o estudo teve como objetivo explorar a inativação de *Staphylococcus aureus* em matriz líquida por tratamento com dióxido de carbono supercrítico. O uso da tecnologia supercrítica mostrou-se eficaz para inativar *S. aureus* quando a pressão utilizada é superior a 130 Bar. A pressão é um fator importante a ser considerado além da estirpe bacteriana da amostra a ser tratada sendo estas variáveis importantes para o processo.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*, matriz líquida, dióxido de carbono supercrítico.

1 INTRODUÇÃO

Torna-se cada vez maior a busca por novas tecnologias a serem utilizadas no processo de conservação dos alimentos já que o consumidor vem tornando-se cada vez mais exigente, buscando alimentos com melhor qualidade nutricional e sensorial, maior vida de prateleira e inócuos do ponto de vista microbiológico (TIRONI; TOMÁS; AÑÓN, 2010). Durante as últimas duas décadas os consumidores mudaram seus hábitos, dando preferência para produtos prontos para o consumo devido à estilos de vida modernos que exigem refeições rápidas e fáceis de ser preparadas. No entanto, durante os procedimentos de pós-processamento e embalagem podem permitir facilmente a recontaminação. A contaminação de presunto cozido, por exemplo, ocorre geralmente devido à patogenicidade de microorganismos (*Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*) e deterioração (ou seja, bolores e leveduras e bactérias lácticas). Bactérias patogênicas podem causar doenças de origem alimentar nos consumidores se a sua concentração aumentar até doses infectantes dentro do tempo de consumo (GALVANIN et al., 2014).

A tecnologia de alta pressão de dióxido de carbono (HPCD) aplicada a alimentos ganhou um interesse científico particular, por oferecer diversas vantagens. O dióxido de carbono (CO₂) usado neste processo não é

apenas um solvente potente para uma ampla gama de compostos de interesse no processamento de alimentos, mas é relativamente inerte, barato, não tóxico, não inflamável, reciclável e prontamente disponível em alta pureza não deixando nenhum resíduo quando removido após o processo (WILLIAMS; CLIFFORD, 2000) Além disso, é considerado um solvente GRAS (Geralmente Reconhecido como Seguro para Alimentos), que significa que ele pode ser utilizado em produtos alimentares (FERRENTINO et al., 2014).

A intoxicação causada por alimentos contendo enterotoxinas de *Staphylococcus aureus* é um dos tipos mais comuns de doenças de origem alimentar em todo o mundo. Como é uma doença de curso rápido e não muito grave, os indivíduos afetados geralmente não necessitam de atendimento médico e a maioria dos casos não é notificada. Os principais sintomas desta intoxicação são vômitos e diarreia, podendo ocorrer também náuseas, cólicas abdominais e sudorese. Estes sintomas, que têm curta duração, variam com o grau de susceptibilidade do indivíduo, com a concentração da enterotoxina no alimento e a quantidade ingerida. No caso de *Staphylococcus aureus*, são necessárias cerca de 10^6 células por grama de alimento para que a toxina seja acumulada em níveis capazes de provocar uma intoxicação. O período de incubação da doença pode variar de 30 minutos até 8 horas, porém, na maioria dos casos, os sintomas aparecem entre 2 a 4 horas após a ingestão do alimento contaminado. Em geral, alimentos que requerem muita manipulação durante a preparação e que, após, são mantidos em temperaturas elevadas, apresentam maior risco de causar esta intoxicação (FORSYTHE, 2013). Neste contexto o objetivo deste trabalho foi realizar a inativação de *Staphylococcus aureus* em matriz líquida.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foi utilizada a bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) da biblioteca de cepas do laboratório de Biotecnologia da URI Erechim.

Inicialmente as bactérias foram incubadas individualmente na matriz líquida (caldo Luria Bertani - Merck) por 24 horas a 35-37°C. Em seguida pesou-se 18g de inóculo, contendo em torno de 10^5 UFC/mL, em seringa estéril e transferiu-se este para o reator de alta pressão. As amostras foram submetidas a uma pressão inicial de 80 Bar para estabilização do sistema, com posterior teste de diferentes pressões máximas (90, 100, 110, 120, 125, 130 e 140 Bar), com taxa de pressurização de 30 bar.min⁻¹, mantendo o sistema pressurizado por 120 minutos, e despressurização de 55 bar.min⁻¹, razão entre massa do inóculo e massa do CO₂ (1:0,6) e 33°C.

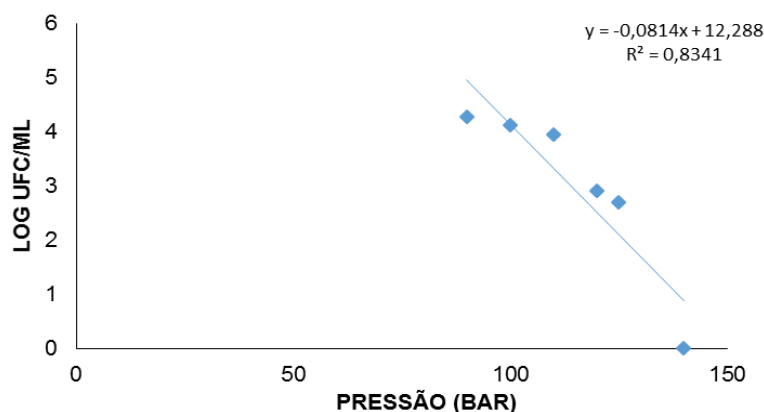
Após os tratamentos, as amostras foram submetidas à análise microbiológica, com diluições sucessivas e plaqueamento em agar Baird Parker (Merck) para contagem dos micro-organismos sobreviventes. Todos os experimentos foram conduzidos em triplicata e os resultados encontram-se expressos em Log UFC.g⁻¹.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Visando avaliar o efeito da pressão sobre a inativação de *S. aureus* através da utilização de CO₂ supercrítico realizou-se a cinética de pressão variando a mesma entre 90 a 140 Bar. Pode-se observar na Figura

1 que ocorre uma redução linear no número de micro-organismos sobreviventes conforme ocorre o aumento da pressão, havendo redução total de *S. aureus* a partir de 130 Bar.

Figura 1: Inativação de *S. aureus* em função da pressão.



A inativação de *S. aureus* em matriz líquida, tratados à diferentes pressões, combinada com taxa de depressurização de 55 bar.min⁻¹ a uma temperatura fixa de 33°C e tempo total de tratamento de 2 horas, apresentaram reduções significativas quando houve aumento da pressão de trabalho com redução significativa na sobrevivência do micro-organismo: redução de cerca de 5 log foram obtidos a partir de 130 Bar.

Dados que corroboram com estudos de Damar e Balaban (2006), que em suspensões de culturas puras, de diferentes micro-organismos, demonstraram alcançar inativação variando de 2-12 log com pressões abaixo de 50 MPa (500 bar) e temperaturas entre 5 a 60°C. A necessidade de pressão superior a 130 bar é explicada pelo fato de que durante o tratamento a alta pressão a membrana citoplasmática do micro-organismo é o alvo principal e, portanto, quanto maior a pressão de alimentação maior o efeito na redução (DOONA; FEEHERRY, 2007). O substrato dos alimentos é um dos fatores mais importantes para a eficácia do processo conforme postulou Patterson (2005), onde relatou que o tratamento de *E. coli* O157:H7 sob as mesmas condições de 7000 bar, durante 30 min a 20°C resultou numa redução de 6 log em solução salina tamponada com fosfato, enquanto houve uma redução de 4 log em carne de aves de capoeira, e uma redução de 2 log no leite UHT. Sivertsvik et al. (2004), também postulou a influência da presença de gordura na massa muscular do pescado como agente que dificulta a difusão do CO₂ e, portanto, a sua eficácia.

4 CONCLUSÃO

A inativação completa da carga inicial de *S. aureus* em matriz líquida foi obtida com pressão a partir de 130 bar com 2 horas de processo, correspondendo a uma redução de cinco ciclos logarítmicos.

A inativação de *S. aureus* avaliando o efeito da pressão (90 a 140 bar) mostrou que o número de *S. aureus* sobreviventes diminuiu com o aumento da pressão, sendo que a 130 bar houve inativação total de *S. aureus*.

Os resultados obtidos neste trabalho são úteis para apoiar o desenvolvimento de uma tecnologia atrativa para empresas interessadas em processos rápidos e eficientes, capazes de satisfazer requisitos de produtividade industrial, neste caso pode-se considerar a eliminação de *S. aureus* como um micro-organismo de controle facilitado.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES, CNPq, FAPERGS e URI pela concessão de bolsas e/ou apoio financeiro.

6 REFERÊNCIAS

DAMAR, S.; BALABAN, M. O. Review of Dense Phase CO₂ Technology: Microbial and Enzyme Inactivation, and Effects on Food Quality. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 1, p. R1–R11, 2006.

DOONA, C.; FEEHERRY, F. **High Pressure Processing of Foods**. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd, 2007.

FERRENTINO, G. et al. Validation of a mathematical model for predicting high pressure carbon dioxide inactivation kinetics of *Escherichia coli* spiked on fresh cut carrot. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 85, p. 17–23, 2014.

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

GALVANIN, F. et al. Bacterial inactivation on solid food matrices through supercritical CO₂: A correlative study. **Journal of Food Engineering**, v. 120, n. 1, p. 146–157, 2014.

PATTERSON, M. F. Microbiology of pressure-treated foods. **Journal of Applied Microbiology**, v. 98, n. 6, p. 1400–1409, 2005.

SIVERTSVIK, M. et al. Solubility and absorption rate of carbon dioxide into non-respiring foods: Part 1: Development and validation of experimental apparatus using a manometric method. **Journal of Food Engineering**, v. 61, n. 3, p. 449–458, 2004.

TIRONI, V. A.; TOMÁS, M. C.; AÑÓN, M. C. Quality loss during the frozen storage of sea salmon (*Pseudoperca semifasciata*). Effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 2, p. 263–272, 2010.

WILLIAMS, J. R.; CLIFFORD, A. A. **Supercritical Fluid Methods and Protocols**. New Jersey: Humana Press, v. 13, 2000.