

Área: Tecnologia de Alimentos

EFEITO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS SOBRE *SALMONELLA* HEIDELBERG EM CARNE MECANICAMENTE SEPARADA (CMS) CONGELADA

Natália Zini Valduga, Liziane Schittler, Eliziane Tais Zambiasi *

Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular, Curso de Engenharia de Alimentos e Engenharia de Química, Departamento de Alimentos e Engenharia Química, Universidade do Estado de Santa Catarina, Pinhalzinho, SC

**E-mail: elizianezambiasi@gmail.com*

RESUMO – *Salmonella* é considerada uma das bactérias patogênicas mais importantes envolvidas com doença transmitida por alimentos que comumente contaminam carne de frango e seus derivados. Este estudo, teve como objetivo avaliar a ação antimicrobiana de três *blends* de ácidos orgânicos contra *Salmonella* Heidelberg em carne mecanicamente separada (CMS) congelada. Para cada tratamento, utilizou-se 1000g de CMS e adicionou-se 3,0 log de UFC.g⁻¹ de *S. Heidelberg*. Após aplicou-se 0,5% dos *blends* composto por: ácido cítrico, ácido lático, ácido ascórbico, EDTA e água (LA); ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido acético, EDTA, tripolifosfato de sódio, óleo essencial de carvacol e água (EF); ácido lático, citrato de potássio, lactato de sódio, goma xantana e aroma natural de fumaça (REG). Para o controle positivo utilizou-se 1000g de CMS com 3,0 log de UFC.g⁻¹ de *S. Heidelberg*. Homogeneizou-se e armazenou-se a - 20°C por 120 dias. As contagens de *Salmonella* sp. bem como a avaliação do pH, foram realizadas logo após o preparo dos tratamentos (tempo zero), 30, 60, 90 e 120 dias armazenamento a - 20°C. A média das contagens de *Salmonella* sp. durante 120 dias de armazenamento variaram entre 1,00 e 3,29 log UFC.g⁻¹. Não houve diferença significativa (p<0,05) entre as contagens de *Salmonella* sp. em CMS com os diferentes *blends* aplicados (LA, EF e RG) durante 120 dias de armazenamento. Os valores médios de pH obtidos nas CMS submetidos aos tratamentos com e sem os ácidos orgânicos, variaram entre 5,05 e 6,37, durante os 120 dias de congelamento. Verificou-se que os *blends* de ácidos orgânicos apresentam atividade antimicrobiana contra *S. Heiderberg* em CMS após 90 dias de congelamento.

Palavras-chave: micro-organismo patogênico, aves, pH, atividade antimicrobiana

1 INTRODUÇÃO

A cadeia produtiva de carne de frango vem conquistando espaço nos mercados interno e externos. Com isto, houve aumento na comercialização de cortes de frangos, o que despertou a necessidade do aproveitamento de outras partes da ave como o dorso, pescoço e os ossos. Dessa forma, a carne mecanicamente separada de aves (CMS) começou a ser utilizada na elaboração de produtos como mortadelas, salsichas, salames e sopas em pó. No

entanto, um dos principais problemas enfrentados pelos frigoríficos abatedouro de aves é assegurar a qualidade microbiológica desta matéria – prima quanto a presença de *Salmonella* spp. Haja visto que, as carcaças de frango podem ser contaminadas no ambiente de criação das aves e, conseqüentemente disseminadas durante as operações de abate e processamento. Dentre os 2.600 sorovares (LUO et al., 2018), a Heidelberg vem se destacando, citado como o terceiro isolado mais frequente na avicultura no Canadá e o quarto em doenças transmitidas por alimentos nos Estados Unidos (CHITTICK et al., 2006). A utilização de ácidos orgânicos no controle destes micro-organismos em carne de aves e seus derivados vem sendo estudado devido seu potencial antimicrobiano (Mani-López et al. (2012) e Zaki et al. (2015). Uma das vantagens da utilização de ácidos orgânicos, é que são reconhecidos como substâncias seguras (GRAS) e aprovados como conservantes de alimentos pelo comitê europeu, FAO/OMS e FDA (SUREKHA & REDDY, 2000). Como desvantagens, os ácidos orgânicos podem causar alterações de cor, pH e sabor na carne. Devido ao exposto, este estudo teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana de três *blends* de ácidos orgânicos contra *S. Heidelberg* bem como o pH em CMS durante 120 dias de armazenamento a - 20°C.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foi utilizada carne mecanicamente separada (CMS) fornecida por uma agroindústria do oeste de Santa Catarina, Brasil. Inicialmente avaliou-se a presença de *Salmonella* spp. através da pesquisa do micro-organismos utilizando o método descrito na IN° 62, de 26 de agosto de 2003 do MAPA.

Os *blends* de ácidos orgânicos denominados de: LA (ácido cítrico, ácido láctico e ácido ascórbico), EF (ácido cítrico, ácido ascórbico e ácido acético) e RG (ácido láctico, citrato de potássio, lactato de sódio, goma xantana e aroma natural de fumaça) foram fornecidos gentilmente pela empresa Laza Biotecnologia Ltda, Brasil.

A cepa de *S. Heiderberg* ATCC 8326 utilizada no estudo, pertence à coleção do Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular do Departamento e Engenharia de Alimentos e Engenharia Química da UDESC.

A cultura, mantida em Tryptic Soy Agar Yeast Extract (TSA-YE/Oxoid) adicionado de 1,5% de ágar-ágar (Oxoid), foi repicada em caldo Infusão de Cérebro e Coração (BHI/Oxoid) e incubada a 30 °C por 24 horas. Em seguida, diluiu-se a cultura em água peptonada a 0,1% (Merck) até a concentração de 0,5 da escala de McFarland, correspondente a 108 Unidades Formadoras de Colônias por mililitro (UFC.mL⁻¹) e diluída até a concentração de 10³.

Para cada tratamento, utilizou-se 1000g de CMS e adicionou-se 3,0 log de UFC.g-1 de *S. Heidelberg*, sendo que em uma amostra não foi adicionado os *blends*, denominado de controle positivo. Após aplicou-se os *blends* LA, EF e RG na concentração de 0,5%. Homogeneizou-se as amostras manualmente e armazenou-se a - 20°C por 120 dias. Foram realizadas contagens de *Salmonella* sp. e determinados os valores de pH, nos tempos zero (logo após o preparo dos tratamentos), 30, 60, 90 e 120 dias de armazenamento a -20°C.

A contagem de *Salmonella* sp. foi realizada através da transferência asséptica de 25 g de cada amostra, para sacos plásticos esterilizados tipo *stomacher* e adicionou-se 225 mL de água peptonada a 0,1% (p/v). Homogeneizaram-se as amostras em *stomacher* por 30 segundos (Diluição 10⁻¹). Inoculou-se 0,1 mL das diluições

apropriadas em ágar Hectoen (Merck) e incubou-se as placas a 37 ± 1 °C, por 24 h. Colônias de cor verde azulada, características típicas de *S. Heiderberg*, foram contadas e os resultados expressos em log UFC.g⁻¹.

Para determinar o valor de pH foi utilizado o método descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (ZENEBOON et al., 2008), através da utilização de pHmetro (ION pHB 500). Todo os experimentos foram realizados em triplicata.

Os resultados das contagens de *Salmonella* sp. e dos valores de pH foram submetidos a análise de variância (ANOVA), seguida do teste de Tukey, com nível de 95% de confiabilidade, utilizando-se o software Statística versão 10.0.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se na tabela 1 que a média das contagens de *Salmonella* sp. em CMS variaram entre 1,00 e 3,29 log UFC.g-1, durante 120 dias de armazenamento à -20°C. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as contagens de *Salmonella* sp. em CMS submetidos aos três *blends* de ácidos orgânicos e a amostra controle até os 60 dias de armazenamento a -20°C. Este resultado pode ser explicado devido a utilização de baixa concentração dos *blends* de ácidos orgânicos, o que não apresentou atividade antimicrobiana contra *S. Heidelberg*. De acordo com o Zaki et al. 2015, o uso de baixas concentrações de ácidos orgânicos apresenta pouca atividade antimicrobiana contra *Salmonella* em carcaças de frango. Outro fato importante é que, a CMS apresenta alto teor de lipídios, o que pode ter protegido as células contra a ação dos ácidos orgânicos.

Tabela 1. Média das contagens de *S. Heidelberg* em CMS tratados com *blends* de 0,5% de ácido orgânicos: LA (ácido cítrico, ácido láctico, ácido ascórbico, EDTA e água), EF (ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido acético, EDTA, tripolifosfato de sódio, óleo essencial de carvacol e água), REG (citrato de potássio, lactato de sódio, goma xantana, ácido láctico, e aroma natural de fumaça) durante 120 dias de armazenamento a -20°C.

Ácidos orgânicos <i>blends</i> (0,5%)	Contagem de <i>S. Heidelberg</i> (Log UFC.g ⁻¹)				
	Tempo (dias)				
	0 (zero)	30	60	90	120
LA	3,16 ± 0,07 ^{Aa}	2,66 ± 0,58 ^{Aa}	1,53 ± 1,33 ^{ABa}	1,00 ± 0,00 ^{Ba}	1,0 ± 0,00 ^{Ba}
EF	3,02 ± 0,20 ^{Aa}	2,12 ± 1,83 ^{ABa}	1,43 ± 1,24 ^{ABa}	1,00 ± 0,00 ^{Ba}	1,0 ± 0,00 ^{Ba}
REG	2,83 ± 0,54 ^{Aa}	2,87 ± 0,51 ^{Aba}	2,48 ± 0,32 ^{ABa}	1,82 ± 1,05 ^{Ba}	1,82 ± 1,05 ^{Ba}
Controle (+)	3,29 ± 0,09 ^{Aa}	2,93 ± 0,52 ^{Aa}	2,26 ± 0,33 ^{Ba}	2,00 ± 0,0 ^{Bb}	2,14 ± 0,15 ^{Bb}

^{AB} Letras maiúsculas diferentes nas linhas indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) entre os tempos. ^{ab} Letras minúsculas diferentes nas colunas indicam diferença estatística pelo teste Tukey ($p < 0,05$) entre os *blends* de ácidos orgânicos. Letras iguais não diferem entre si significativamente.

Resultados diferentes foram relatados por Zaki et al. 2015, onde avaliaram a eficiência do ácido láctico e lactatos contra *Salmonella* spp. em pele de aves, e verificaram redução de 3,4 log do micro-organismo quando aplicado a concentração de 10% de ácido láctico na temperatura de 55 °C. Esta diferença de resultado encontrado entre este e Zaki et al. 2015 pode ser explicada devido o autor ter utilizado uma concentração mais elevada de ácido bem como o aquecimento do mesmo.

Na tabela 1 verifica-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as contagens de *Salmonella* sp. na amostra controle e a CMS adicionado de *blends* de ácidos orgânicos. Com este resultado podemos inferir que os *blends* de ácidos orgânicos avaliados apresentaram atividade antimicrobiana contra *S. Heidelberg* a partir dos 90 dias de armazenamento a -20°C. Este resultado pode ser explicado pela forma da ação dos ácidos orgânicos sobre os micro-organismos.

Segundo, Tan et al. (2014) sugere que pode haver outros modos de ação de ácidos orgânicos na redução de *Salmonella* spp. além dos efeitos do pH bem como pela ação dos ácidos não dissociados que se acumulam em altos níveis no citoplasma da célula e interferem nas suas reações metabólicas essenciais, que resultam num consumo excessivo de ATP para manter a homeostase celular, que levam a mesma a depleção de energia e morte celular.

Tabela 2. Média dos valores de pH em CMS tratados com *blends* de 0,5% de ácido orgânicos: LA (ácido cítrico, ácido láctico, ácido ascórbico, EDTA e água), EF (ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido acético, EDTA, tripolifosfato de sódio, óleo essencial de carvacol e água), REG (citrato de potássio, lactato de sódio, goma xantana, ácido láctico, e aroma natural de fumaça) durante 120 dias de armazenamento a -20°C.

Ácidos orgânicos <i>blends</i> (0,5%)	Valores de pH				
	Tempo (dias)				
	0 (zero)	30	60	90	120
LA	5,95±0,26 ^{Aa}	5,88 ± 0,35 ^{Aa}	6,07 ± 0,22 ^{Aa}	5,99 ± 0,49 ^{Aa}	5,84 ± 0,26 ^{Aa}
EF	6,04±0,36 ^{Aab}	6,16 ± 0,15 ^{Aab}	6,12±0,11 ^{Aa}	6,06 ± 0,08 ^{Aa}	5,94 ± 0,25 ^{Aa}
REG	6,13±0,12 ^{Aab}	6,18 ± 0,13 ^{Aa}	6,19 ± 0,16 ^{Aa}	5,05 ± 0,14 ^{Aa}	6,05 ± 0,06 ^{Aa}
Controle (+)	6,25±0,09 ^{Ab}	6,37 ± 0,05 ^{Aa}	6,31 ± 0,08 ^{Aa}	6,11 ± 0,08 ^{Bb}	6,10 ± 0,06 ^{Bb}

^{AB}Letras maiúsculas diferentes nas linhas indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) entre os tempos. ^{ab}Letras minúsculas diferentes nas colunas indicam diferença estatística pelo teste Tukey ($p < 0,05$) entre os *blends* de ácidos orgânicos. Letras iguais não diferem entre si significativamente.

Os valores de pH obtidos nos CMS submetidos aos tratamentos com e sem os ácidos orgânicos variaram entre 5,05 e 6,37, durante os 120 dias de armazenamento a -20°C (Tabela 2). O maior valor de pH foi obtido na amostra controle, onde não foi adicionado ácido orgânicos.

Em relação aos valores de pH, não houve diferença significativa ($p > 0,05$), entre a CMS adicionados de *blends* de ácidos orgânicos durante os 120 dias de armazenamento a -20°C. Como por exemplo, a CMS adicionado

do *blend* de LA apresentou valores de pH de 5,95, 5,88, 6,07, 5,99 e 5,84 durante os tempos zero, 30, 60, 90 e 120 dias de armazenamento a -20°C (Tabela 2).

Houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os valores de pH obtidos em CMS adicionados de *blend* LA e a amostra controle no tempo zero (logo após a adição). Este resultado pode ser explicado devido o *blend* LA apresentar três ácidos diferentes (ácido cítrico, ácido láctico, ácido ascórbico) e o valores de pKa (acidez), são diferentes para cada um deles. (TAN et al., 2014).

4 CONCLUSÃO

Os *blends* de ácidos orgânicos aplicados na concentração de 0,5% apresentam atividade antimicrobiana contra *S. Heidelberg* em CMS a partir de 90 dias de armazenamento a -20°C.

5 AGRADECIMENTOS

Este trabalho teve o apoio financeiro da Universidade do Estado de Santa Catarina –UDESC/Pinhalzinho bem como da Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação de Santa Catarina - FAPESC.

6 REFERÊNCIAS

BRASIL. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 set.2003. Seção 1, p. 14.

CHITTICK, P.; SULKA, A.; TAUXE, RV.; FRY, AM. Summary of National Reports of foodborne outbreaks of *Salmonella* Heidelberg infections in the United States: clues for disease prevention. **Journal of Food Protection**. v. 69, n. 5, p. 1150-1153. 2006.

LUO, Yunchun; YI, Wen; ZHU, ni; QIN, Pengfei. Characteristic diversity and antimicrobial resistance of *Salmonella* from gastroenteritis. **Journal of Infection and Chemotherapy**, China, v.24, n. 251-255. 2018.

MANI-LÓPEZ, E.; GARCÍA, H. S.; LÓPEZ-MALO, A. Organic acids as antimicrobials to control *Salmonella* in meat and poultry products. **Food Research International**, v.45, p. 713–721, 2012.

TAN, Sin Mei; LEE, Sui Mae; DYKES, Gary A. Buffering effect of chicken skin and meat protects *Salmonella* enterica strains against hydrochloric acid but not organic acid treatment. **Food Control**. v.42, p.329-334. 2014.

ZAKI, Hamdy M.B.A.; MOHAMED, Hussein M.H.; EL-SHERIF, Amal M.A. Improving the antimicrobial efficacy of organic acids against *Salmonella enterica* attached to chicken skin using SDS with acceptable sensory quality. **LWT - Food Science and Technology**. v. 64, p.558-564. 2015.

ZENEBON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P.. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.