



## Área: Ciência de Alimentos

# AVALIAÇÃO DE COMBINAÇÕES DE ÁCIDOS ORGÂNICOS PARA CONTROLE MICROBIOLÓGICO

Carina de Castro Gabriel Tomalok\*, Geciane Toniazco Backes, Rogério Luis Cansian

Laboratório de Biotecnologia de Alimentos, Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Departamento de Ciências Agrárias, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, RS

\*E-mail: carinatomalok@yahoo.com

**RESUMO** – O ácido ascórbico é bastante utilizado em alimentos por suas funções como agente redutor, antioxidante e agente sequestrante de metais. Além disso, tem sido usado com eficácia em aspersão de carcaças animais com o objetivo de aumentar a vida de prateleira das carnes, devido a seu potencial bactericida, a sua atividade de vitamina C e baixa toxicidade. Diante disso, o objetivo desse estudo foi avaliar o tratamento de gordura de papada suína com combinações de ácidos orgânicos, sendo: ascórbico com láctico, ascórbico com acético e ascórbico com cítrico, visando um melhor alcance em redução de microrganismos patogênicos. De acordo com os resultados obtidos nesse estudo, pode-se concluir que as combinações de ácido ascórbico com láctico, ascórbico com cítrico e ascórbico com acético, não melhorou os resultados, pois os ácidos láctico, cítrico e acético isolados apresentaram resultados melhores do que as combinações com o ascórbico. Dessa forma, a sugestão seria realizar estudos com combinações entre os ácidos que apresentaram eficácia melhor para o controle dos microrganismos estudados.

**Palavras-chave:** ácido ascórbico, ácidos orgânicos, combinações, controle microbiológico.

## 1 INTRODUÇÃO

O ácido ascórbico (L-treo-2-hexeno-1,4-lactona), vem sendo bastante utilizado em alimentos por suas funções como agente redutor, antioxidante e agente sequestrante de metais. Além disso, tem sido usado em aspersão de carcaças animais com o objetivo de aumentar a vida de prateleira das carnes, devido a seu potencial bactericida, sua atividade de vitamina C e baixa toxicidade (LIAO & SEIB, 1988). Kim et al. (2019) estudaram o ácido ascórbico como fonte natural de nitrito para utilização em produtos curados, obtendo bons resultados com efeitos positivos no desenvolvimento da cor, atividade antioxidante e depleção de nitritos.

As principais fontes geradoras de contaminantes para a carne suína incluem os próprios animais (conteúdo gastrointestinal, pele, pelos, região orofaríngea), os operadores da indústria e o local do abate (SCANDOLARA et al., 2012). Muitas pesquisas vêm sendo feitas ao longo dos anos verificando a associação de ácidos orgânicos, como forma de reduzir a carga microbiana presente nas carcaças de animais logo após o abate, mas também aumentar o tempo de vida útil de prateleira da carne.

Algumas pesquisas comprovam que o uso associado de ácidos orgânicos possui uma ação mais eficaz contra microrganismos deteriorantes e patogênicos, do que o uso isolado dos mesmos (MELLO & TERRA, 1994). A ação antimicrobiana dos ácidos orgânicos ocorre pelo mecanismo da ação lipofílica durante a qual os íons de hidrogênio penetram a membrana celular do micro-organismo acidificando o seu interior e inibindo consequentemente o transporte de nutrientes (DE CARLI, 2015).

Diante disso, realizou-se um estudo *in vitro* que oferecesse uma opção para o controle microbiológico, já que os ácidos orgânicos possuem toxicidade contra microrganismos e baixa toxicidade contra seres humanos (DREHMER, 2005), para posteriormente ser utilizado em carcaças e cortes suínos. O estudo foi composto pela avaliação da eficácia da combinação de ácido ascórbico com ácido láctico, com ácido acético e com ácido cítrico em diferentes concentrações em cubos de gordura suína previamente contaminados com microrganismos patogênicos *Salmonella enterica* sorotipo *Choleraesuis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Para o preparo do inóculo foram utilizados os microrganismos *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enterica* sorotipo *Choleraesuis* ATCC 10708, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 obtidos da coleção de culturas do Laboratório de Biotecnologia da URI – Campus de Erechim. O inóculo foi preparado pela transferência da cultura estoque em um tubo de ensaio com 10 mL de meio líquido Luria Bertani LB (triptona 10,0 g L<sup>-1</sup>, extrato de levedura 5,0 g L<sup>-1</sup>, NaCl 5,0 g L<sup>-1</sup>) sob condições assépticas, sendo incubados a 37°C +/- 1°C por um período de 24 horas.

Para avaliar a ação dos ácidos orgânicos no controle microbiano da gordura de papada suína *in natura*, primeiramente realizou-se a contaminação de 5 g de amostra pela imersão (10 cubos), a temperatura ambiente, em frascos contendo 100 mL de caldo LB acrescido de um volume de suspensão de células bacterianas, de forma a obter-se uma



contagem de  $10^6$  UFC mL<sup>-1</sup>. As amostras foram imersas nos erlenmeyers com auxílio de uma pinça esterilizada permanecendo por 1 minuto em contato com as bactérias.

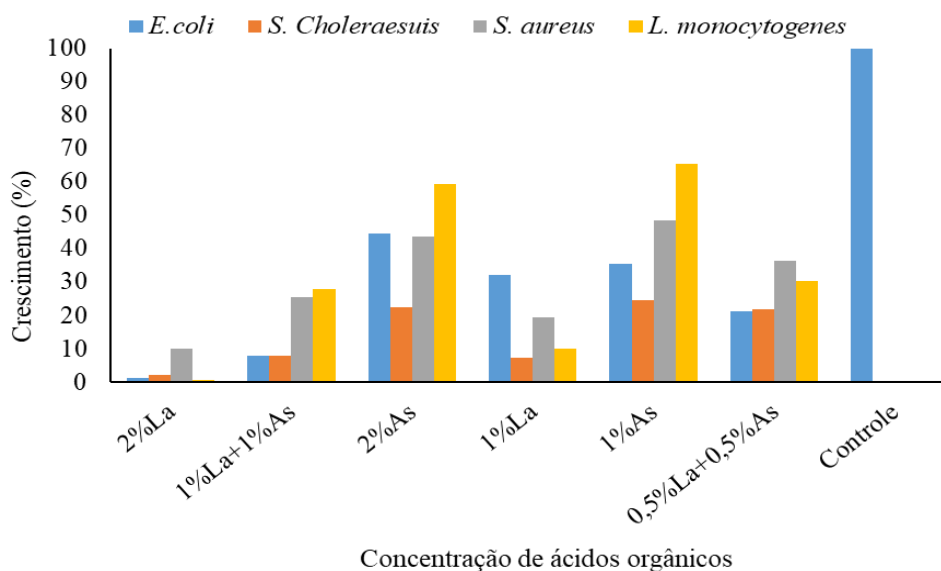
Após este período em contato com cada microrganismo, separadamente, as amostras foram retiradas da suspensão de bactérias com uma pinça esterilizada e transferidas imediatamente para um recipiente contendo diferentes concentrações das combinações de ácidos orgânicos (2% e 1% de cada ácido orgânico isolado, combinação de 1% + 1% de cada ácido e combinação de 0,5% e 0,5% de cada ácido) e expostas em contato por 10 minutos com cada solução. Para cada microrganismo foi realizado um tratamento controle contendo água destilada em substituição a solução de ácidos orgânicos.

Concluído os tratamentos, as amostras foram retiradas do contato com as soluções de ácidos orgânicos e imersas separadamente em um tubo contendo uma solução diluente (0,1% de peptona e 3% de tween 80 em água). O tween 80 foi usado para neutralizar a ação de resíduos dos ácidos orgânicos. Com auxílio de Stomaker (Stomaker® 400 Circulator, Seward Limited UK), as amostras foram homogeneizadas e, posteriormente 1 mL da solução foi semeada em placas de ágar LB, incubadas a 35-37 °C durante 24 horas, para contagem de colônias. Os resultados foram expressos em UFC/g. Todas as análises foram realizadas em triplicata. Os resultados foram tratados estatisticamente por ANOVA seguido de comparação das médias pelo teste de Tukey, com auxílio do software Past, com 95 % de confiança.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do percentual de crescimento de *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* sorotipo *Choleraesuis*, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes* (UFC/g) em cubos de gordura suína previamente contaminados por 1 minuto e logo em seguida expostos por 10 minutos de contato a diferentes concentrações de soluções de ácidos orgânicos (ascórbico com láctico, ascórbico com acético e ascórbico com cítrico) são apresentados nas Figuras 1, 2 e 3.

Figura 1 - Percentual de crescimento dos microrganismos em presença de diferentes concentrações de ácido láctico e ácido ascórbico em relação ao controle.

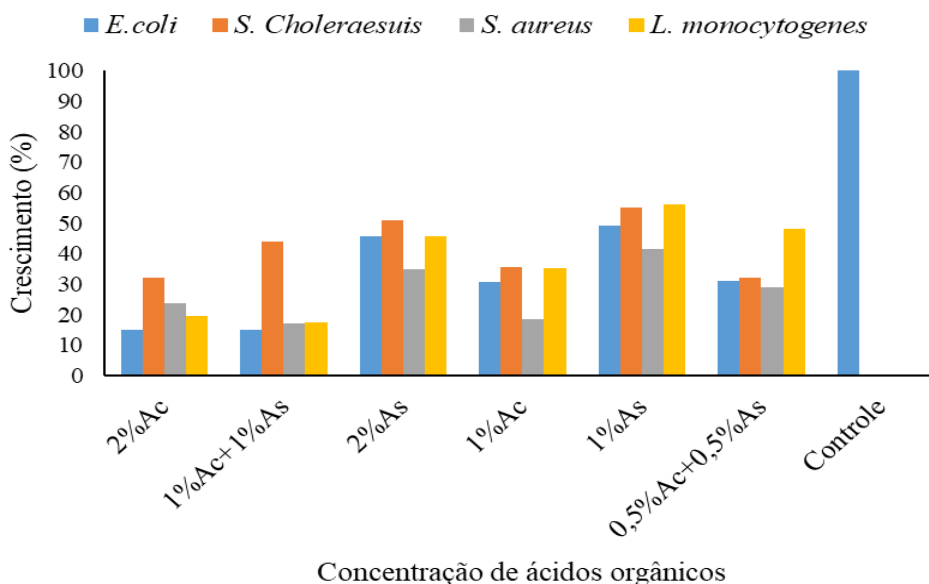


De acordo com a Figura 1 pode-se observar que o ácido láctico (La) com a concentração de 2% foi o mais eficaz para impedir o crescimento dos microrganismos estudados, onde nenhum alcançou crescimento percentual acima de 10%. A combinação de 1% de ácido láctico com 1% de ácido ascórbico (As) obteve resultados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

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



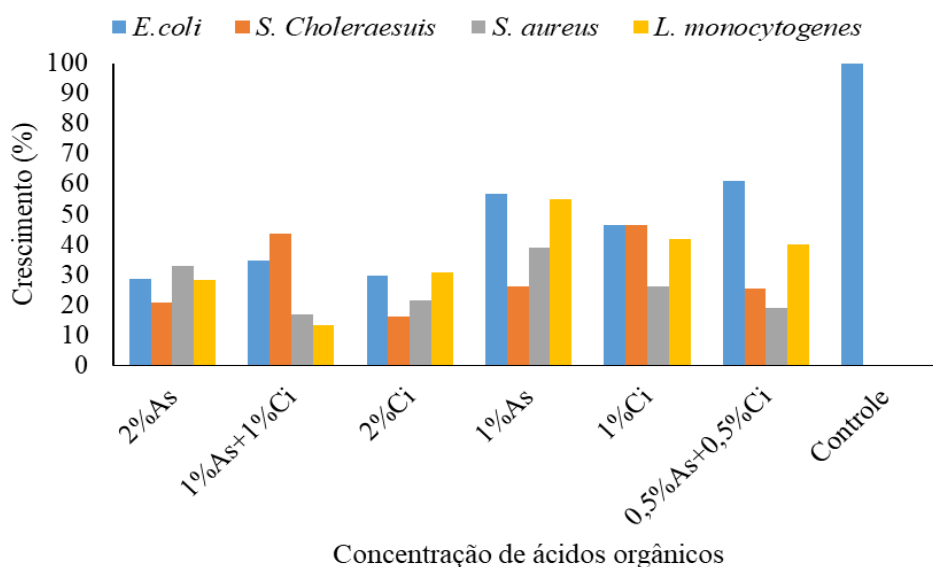
Figura 2 – Percentual de crescimento dos microrganismos em presença de diferentes concentrações de ácido acético e ácido ascórbico em relação ao controle.



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

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

Figura 3 – Percentual de crescimento dos microrganismos em presença de diferentes concentrações de ácido ascórbico e ácido cítrico em relação ao controle.





De acordo com a Figura 3 pode-se observar que o ácido cítrico (Ci) com a concentração de 2% foi ligeiramente mais eficaz para impedir o crescimento dos microrganismos estudados, seguido pelo ácido ascórbico (As) com a concentração de 2%. Os resultados da combinação de ácido cítrico em 1% e ácido ascórbico em 1% foram melhores do que os resultados obtidos do ácido ascórbico isolado em 1%, e do ácido cítrico isolado em 1%, sendo esses dois últimos semelhantes, o que pode-se sugerir que a combinação desses dois ácidos não melhora os resultados de inibição do crescimento dos microrganismos.

Diferentemente disso, De Carli et al. (2013) obtiveram resultados melhores para o controle de crescimento de microrganismos mesófilos ao aumentar o ácido ascórbico de 0,1% para 0,8% em um tratamento combinado a 1% de ácido cítrico, bem como ao diminuir o ácido ascórbico para 0,6% e o ácido cítrico também para 0,6%, incluindo ácido acético a 0,6% resultou em maiores crescimentos de microrganismos, porém havia também a associação de 1% de ácido láctico a todos esses tratamentos citados.

## 4 CONCLUSÃO

Considerando os microrganismos *E.coli*, *S. Choleraesuis*, *S. aureus* e *L. monocytogenes* e as combinações de ácidos orgânicos, pode-se concluir que, de acordo com os resultados obtidos nesse estudo, as combinações de ácido ascórbico com láctico, ascórbico com acético e ascórbico com cítrico, não melhorou os resultados, pois os ácidos láctico, acético e cítrico isolados apresentaram resultados melhores do que as combinações com o ascórbico.

## 5 AGRADECIMENTOS

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

## 6 REFERÊNCIAS

- DE CARLI, E. M.; PALEZI, S. C.; ZOZ, M.; FRIES, L. L. **Ácidos Orgânicos e Irradiação Uv-C: Métodos Combinados de Conservação da Carne Suína**, Congresso Sul Brasileiro de Engenharia de Alimentos, 2015.
- DE CARLI, E. M.; TERRA, N. N.; FRIES, L. L. M.; MENEZES, C. R.; PALEZI, S. C. **Decontamination pig carcasses of organic acids with commercial and saline acidified ultraviolet light**, Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 34, n. 3, p. 1195-1204, maio/jun. 2013.
- DREHMER, A. M. F. **Quebra de Peso de Carcaças e Estudo da Vida de Prateleira da Carne Suína**. 131 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria/RS, 2005.
- KIM, T-K; HWANG, K-E; LEE, M-A; PAIK, H-D; KIM, Y-B; CHOI, Y-S, **Quality characteristics of pork loin cured with green nitrite source and some organic acids** Meat Science, v.152, p.141-145, 2019.
- LIAO M. L. & SEIB, P. A. Chemistry of L-ascorbic acid related to foods. **Food Chem.**, v. 30, p.289-312. 1988
- MELLO, R. & TERRA, N. N. Ácido ascórbico e ácido láctico na conservação de carcaças de frango refrigeradas. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 8, n. 34, p. 39-43. 1994.
- SCANDOLARA, A.; GIONDO, R.; MARAN, M.H.S.; CARLI, E.M.; PALEZI, S.C. **Descontaminação de carcaças suínas com ácidos orgânicos comerciais, solução salina acidificada e luz ultravioleta** Unoesc & Ciência – ACET, Joaçaba, v. 3, n. 2, p. 157-166, jul./dez. 2012.