

ÍNDICES DE PROTEÓLISE EM QUEIJO FRESCAL INOCULADO COM PSEUDOMONAS FLUORESCENS SUBMETIDO À INATIVAÇÃO FOTODINÂMICA DE MICRORGANISMOS

Angela Tiago Leite (PIBIC/FA), Barbara Gomes dos Anjos, Isabel da Silva Knupp, Marcelo Henrique Gomes de Sa Silverio, Bruna Barnei Saraiva, Magali Soares dos Santos Pozza (Orientador), e-mail: msspozza@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Agrárias/Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências Agrárias/Ciência de Alimentos

Palavras-chave: vida de prateleira, preservação de alimentos, proteólise

Resumo:

A contaminação de alimentos gera doenças, perdas econômicas e diminuição da vida de prateleira dos produtos, sendo importante empregar técnicas industriais que minimizem esse problema. O objetivo deste estudo foi determinar o índice de extensão de proteólise (IEP) e índice de profundidade de proteólise (IPP) causado por bactérias *Pseudomonas fluorescens* em queijo fresco com revestimento de gelatina e Curcumina submetido à Inativação Fotodinâmica de Microrganismos (IFDMO). Foram avaliados quatro tratamentos nos queijos: sem revestimento; com revestimento de gelatina sem curcumina; com revestimento de gelatina e curcumina; e com revestimento, curcumina e submetido à IFDMO. Em todos os tratamentos foi inoculado bactérias *Pseudomonas fluorescens* e as amostras expostas à LEDs azuis para IFDMO. Os queijos foram armazenados refrigerados e abertas as embalagens aos 0, 3, 6, 9, e 12 dias para avaliação dos índices de proteólise. O uso de curcumina e curcumina com IFDMO reduz o índice de profundidade de proteólise a partir do sexto dia de vida de prateleira.

Introdução

A contaminação de alimentos é problemática para a saúde pública em todo o mundo, pois geram altas taxas de doenças com mortalidade e perdas econômicas significativas (WHO, 2016). Dentre os microrganismos contaminantes de alimentos, destacam-se as *Pseudomonas spp.*, mais especificamente as *Pseudomonas fluorescens*. Bactérias desse gênero podem causar danos como a proteólise, que consiste no desarranjo das micelas de caseína e liberação de peptídeos e aminoácidos. Esses peptídeos e aminoácidos, por sua vez, além de produzirem gosto amargo, são catabolizados e resultam em compostos voláteis (SILVA et al., 2019). Tendo em vista a conservação microbiológica de alimentos, pesquisadores citam a utilização de revestimentos comestíveis (BERTI et al., 2019), que

são películas formadas por substâncias naturais e/ou sintéticas com isolamento devido polimerização e não representam risco à saúde do consumidor. Esses revestimentos podem ter ação antimicrobiana, inibir a migração de umidade, oxigênio e reter os compostos aromáticos do produto, características que tornam o método viável à conservação de queijos (SARAIVA et al., 2021). Dentre as substâncias antimicrobianas que podem ser associadas ao revestimento, destaca-se a Curcumina, um composto polifenólico ativo extraído do açafrão, a qual também pode ser empregada como fotossensibilizador na Inativação Fotodinâmica de Microrganismos (IFDMO), neste método, um fotossensibilizador é distribuído na célula-alvo e irradiado por luz visível, resultando na absorção de luz pelo fotossensibilizador e desencadeando reações fotoquímicas produtoras de Espécies Reativas de Oxigênio (EROS) (SANTOS, 2018).

O objetivo deste estudo foi determinar os índices de extensão (IEP) e profundidade (IPP) de proteólise causado por bactérias *Pseudomonas fluorescens* em queijo frescal com revestimento de gelatina e Curcumina submetido à Inativação Fotodinâmica de Microrganismos.

Materiais e métodos

O experimento foi realizado na Universidade Estadual de Maringá (UEM). Os queijos utilizados eram do mesmo lote/data de fabricação, oriundos de um laticínio localizado em Maringá – PR e foram distribuídos nos tratamentos controle, sem revestimento ou foto-inativação (CON), revestido e sem curcumina (RSC), revestido e com curcumina (CUR) e revestido e com curcumina submetido à Inativação Fotodinâmica de Microrganismos – IFDMO (RCI) e analisados nos tempos 0, 3, 6, 9, 12 dias.

Os queijos foram pulverizados com inóculo de *P. fluorescens* preparado em teste *in vitro* e padronizado em $1,0 \times 10^9$ UFC/mL na proporção de 1 mL de inóculo para 100 g de queijo. Após 1h a 4°C, para fixação de bactérias, os revestimentos comestíveis foram aplicados por imersão.

O preparo da curcumina (500 µg / mL) consistiu na solubilização a 85° C, com solução etanólica 40% (v/v) e em seguida foi incorporada gelatina 15% (p/v). Para homogeneização, a mistura permaneceu em agitação por 30 min e após atingir 50°C foi usada para revestir os queijos.

Antes de serem submetidas a iluminação, as amostras revestidas permaneciam no escuro por 10 min (4°C). Os queijos foram posicionados em suportes translúcidos no centro da câmara para receber fótons de maneira homogênea em toda a superfície por 30 min. A fonte de luz usada foi um dispositivo contendo um diodo emissor de luz azul (LED) ($\lambda_{max} = 450$ nm, potência óptica de 2,7 mW cm⁻²), levando a uma dose de energia total de 4,86 J cm⁻² (SARAIVA et al., 2021).

Para simular a vida de prateleira, os queijos foram armazenados em uma BOD (4° C), em embalagens estéreis de polietileno de média densidade.

Foram realizadas análises de acordo com a metodologia descrita por GRIPPON et al. (1975) para obter o percentual de nitrogênio solúvel a pH 4,6 e TCA 12% m/m e o nitrogênio total foi obtido pelo método Kjeldahl

(AOAC 1995). Em seguida, foi calculado o índice de extensão (IEP) e profundidade (IPP) da proteólise:

$$IEP = \frac{\% \text{ nitrogênio solúvel a pH 4,6}}{\% \text{ nitrogênio total}} \times 100$$

$$IPP = \frac{\% \text{ nitrogênio solúvel em TCA 12\%}}{\% \text{ nitrogênio total}} \times 100$$

O desenho experimental foi inteiramente casualizado. Os dados apresentaram distribuição normal (teste de Shapiro-Wilk) e foram avaliados por ANOVA. As médias entre os tratamentos e o resultado das interações foram comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os parâmetros significativos para o efeito do tempo (dia de vida de prateleira) foram analisados por regressão.

Resultados e Discussão

O índice de extensão de proteólise aumentou ($P < .0001$) durante a vida de prateleira (Figura 1). No entanto, a diferença entre tratamentos foi observada no índice de profundidade de proteólise, onde tratamento controle e revestimento obtiveram valores crescentes e permaneceram semelhantes para todos os tempos, enquanto os queijos com curcumina e curcumina combinada com IFDMO expressaram valores menores a partir do sexto dia ($P < 0,05$) (Tabela 1).

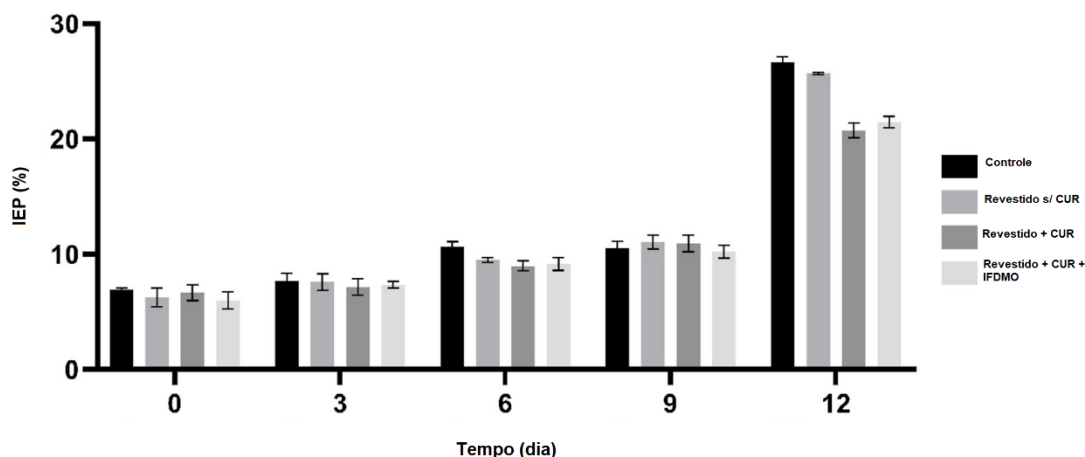


Figura 1 – Índice de extensão da proteólise durante a vida de prateleira.

O IPP indica a proteólise de pequenos peptídeos e aminoácidos por *Pseudomonas* (Paludetti et al., 2020), de modo que a redução do IPP a partir do sexto dia nos tratamentos com curcumina e combinada com Inativação Fotodinâmica, evidencia sua eficácia.

Tabela 1 Índice de profundidade da proteólise durante a vida de prateleira

TEMPOS	0	3	6	9	12
TRAT					
Controle	2.5925 ^h	2.9075 ^f	3.7275 ^{bc}	3.8750 ^b	4,2650 ^a
Revestido s/ CUR	2.5675 ^h	2.8300 ^{gf}	3.7225 ^{bc}	3.8475 ^b	4,2475 ^a
Revestido + CUR	2.4925 ^h	2.6900 ^{gh}	3.4350 ^{de}	3.5200 ^{cde}	3.8850 ^b
Revestido + CUR + IFDMO	2.5250 ^h	2.6600 ^{gh}	3.4575 ^{de}	3.3975 ^e	3.6200 ^{cd}

Conclusões

A utilização de curcumina em revestimento de queijos frescal e curcumina combinada com Inativação Fotodinâmica de Microrganismos – IFDMO reduz o Índice de Profundidade de Proteólise – IPP a partir do sexto dia de vida de prateleira quando comparado a queijos sem revestimento ou revestido sem curcumina.

Agradecimentos

À Universidade Estadual de Maringá (UEM) e à Fundação Araucária (FA). À Equipe de Estudos de Qualidade do Leite e Microbiologia (EEQUAM – UEM).

Referências

AOAC – Association of Analytical Chemists. Official methods of analysis of AOAC international. 16th ed. Washington: AOAC. 1995, 109p.

BERTI, Sofia et al. Edible coatings on Gouda cheese as a barrier against external contamination during ripening. **Food Bioscience**, v. 31, p. 100447, 2019.

GRIPON, J. C. et al. Etude du rôle des micro-organismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages. II.-Influence de la présure commerciale. **Le lait**, v. 55, n. 548, p. 502-516, 1975.

SARAIVA, Bruna Barnei et al. Photodynamic inactivation of *Pseudomonas fluorescens* in Minas Frescal cheese using curcumin as a photosensitizer. **LWT**, v. 151, p. 112-143, 2021.

SILVA, Thamara Evangelista et al. Estudo do comportamento de queijo Mussarela durante armazenamento refrigerado. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 74, n. 2, p. 135-148, 2019.