

SUSCEPTIBILIDADE AO CRESCIMENTO MICROBIANO EM ALIMENTOS SEMIÚMIDOS ESPECÍFICOS PARA CÃES COM ADIÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS

Arielle Roque Schaffer (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Lucas Ben Fuiza Henríquez (Coorientador), Ricardo de Souza Vasconcellos (Orientador). E-mail: arielleroque.2003@gmail.com.

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

Ciências Agrárias/Zootecnia/Avaliação de Alimentos para Animais

Palavras-chave: *Aspergillus*; *Salmonella*, Shelf-life.

RESUMO

O estudo teve como objetivo estudar a relação entre umidade, atividade de água (a_w) e a concentração de ácidos orgânicos (AO), com o desenvolvimento de bactérias e fungos em alimentos específicos semiúmidos para cães. Foram fabricadas amostras para compor os seguintes tratamentos: controle positivo (0,5% de sorbato de potássio), controle negativo (sem inclusão de antimicrobiano), e 3 inclusões de um *blend* de AO P33 (0,33%), P66 (0,66%) e P99 (0,99%). Todos os tratamentos foram produzidos com 3 teores de umidade (18, 20 e 25%). Para avaliar a capacidade antimicrobiana dos AO, amostras foram desafiadas ou com *Aspergillus brasiliensis* ou com *Salmonella Typhimurium*. Foram realizadas análises de contagem microbiana, umidade, (a_w) e pH nos dias 0, 15, 30, 45 e 60 pós desafio. A análise estatística foi realizada no *software* R. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. Foram observadas diferenças entre os tratamentos ao longo do tempo nos 3 teores de umidade analisados. O sorbato apresentou maior eficácia em inibir o crescimento de *Aspergillus* em todas as umidades. Por outro lado, as doses utilizadas de AO não foram suficientes para acidificar o meio e inibir o crescimento microbiano. Nas amostras desafiadas com *Salmonella* foi observada redução nas contagens ao longo do tempo para todos os tratamentos em todas as umidades. Isto possivelmente ocorreu devido a a_w ser inferior ao ideal para o desenvolvimento desse sorovar de *Salmonella*. Portanto, neste estudo, as doses utilizadas de AO não foram suficientes para controlar o crescimento microbiano.

INTRODUÇÃO

Um fator que pode ocasionar em perda de qualidade, *shelf-life* e inviabilidade dos alimentos é a contaminação por microrganismos, como fungos e bactérias (Odeyemi, O. A, et al. 2020). O uso de aditivos antimicrobianos, como o ácido propiônico, pode auxiliar na redução destes riscos evitando ou reduzindo o crescimento microbiano (Craig, 2021). Desse modo, com este trabalho objetivou-se estudar a relação entre umidade, atividade de água e a concentração de ácidos orgânicos (AO) provenientes de fermentação de levedura, com o desenvolvimento de bactérias e fungos em alimentos específicos semiúmidos para cães.

MATERIAIS E MÉTODOS

Alimentos semiúmidos foram fabricados para compor os seguintes tratamentos: controle positivo (CP - inclusão de 0,50% de sorbato de potássio), controle negativo (CN - sem inclusão de antimicrobianos), e 3 inclusões de um *blend* de AO P33 (inclusão de 0,33%), P66 (inclusão de 0,66%) e P99 (inclusão de 0,99%). Além disso, todos os tratamentos foram produzidos com 3 teores de umidade diferentes (18%, 20% e 25%).

O *blend* de AO foi obtido a partir da fermentação de soro de leite (lactose) por leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae*, sendo o ácido propiônico o principal componente (19,97%).

Para avaliar a capacidade antimicrobiana dos AO, amostras foram desafiadas ou com *Aspergillus brasiliensis* ou com *Salmonella Typhimurium*. Após os desafios, foram realizadas as análises de contagem microbiana, umidade, atividade de água (*aw*) e pH nos dias 0, 15, 30, 45 e 60.

Umidade, atividade de água e pH

Para determinar a umidade foi utilizada uma estufa a 105°C, e para atividade de água o método do ponto de orvalho com um equipamento específico (Labswift-aw, Novasina, USA).

Para determinar o pH, foi diluído 1 g de amostra em 9 ml de água destilada, e o valor foi determinado com um pHmetro de bancada (Instituto Adolfo Lutz, 1985).

Contagem de Salmonella

Para esta análise, foram utilizados 25 g de amostra. A suspensão da *Salmonella* foi realizada em água peptonada (proporção de 1:9), seguido do uso de caldo Rappaport Vassiliadis (proporção de 1:99). A contagem das colônias foi realizada com contador tipo Quebec.

Contagem de Aspergillus

Para solubilização dos esporos de *Aspergillus*, foram adicionados 10 g de amostra em um frasco com 90 ml de água peptonada (proporção de 1:9). A contagem das colônias foi realizada em contador tipo Quebec.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada no *software* RStudio versão 3.4.3 (Boston, USA). Para as contagens de *Aspergillus* foram realizadas transformações logarítmicas e para *Salmonella* raiz quadrada. A partir dos dados de pH, umidade, atividade de água e contagem de colônias no tempo zero, foi elaborado um modelo matemático para permitir a comparação entre os tratamentos por teor de umidade ao longo do tempo. Valores de *p* inferiores a 0,05 foram considerados significativos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram observadas diferenças ($p < 0,05$) entre os tratamentos ao longo do tempo nos 3 teores de umidade analisados, tanto para amostra desafiadas com *Aspergillus*, quanto para as desafiadas com *Salmonella*.

Devido o veículo de aspersão dos microrganismos nas amostras ser líquido (água peptonada tamponada) foi observado aumento na umidade e atividade de água antes e depois dos desafios (Tabela 1).

Tabela 1: Umidade, aw e pH das amostras antes e depois do desafio com *Aspergillus* e *Salmonella*.

	Antes da aspersão			Aspergillus			Salmonella		
	Umidade	Aw	pH	Umidade	Aw	pH	Umidade	Aw	pH
18%	18,36	0,68	6,16	19,48	0,68	6,14	19,39	0,69	6,17
20%	20,65	0,70	6,16	21,57	0,70	6,11	21,50	0,71	6,18
25%	25,11	0,75	6,15	26,11	0,75	6,14	26,07	0,74	6,16

Nas amostras de 18% e 20% de umidade desafiadas com *Aspergillus* foi observada redução deste microrganismo para todos os tratamentos. Uma possível explicação para este resultado é devido a aw (< 0,70) destes produtos não ser suficiente para o desenvolvimento deste fungo (Tabela 1). Também foi observado que o sorbato apresentou maior eficácia em inibir o crescimento de *Aspergillus* em todas as umidades (Figura 1), principalmente na de 25%. Em outro estudo com alimentos semiúmidos para *pets*, também foi observado que a inclusão de sorbato de potássio (0,2%) na formulação inibiu o crescimento microbiano em produtos com até 25% de umidade (Deliephan et al., 2023).

Nas amostras desafiadas com *Salmonella* foi observada redução nas contagens ao longo do tempo para todos os tratamentos em todas as umidades (Figura 2). No tempo 45, a presença desta bactéria não foi observada em algumas amostras, e no tempo 60 não foi observada na maioria das amostras. Uma possível explicação para estes resultados é devido a aw de todos os tratamentos ser inferior a aw ideal para o desenvolvimento desta bactéria (>0,94) (Tabela 1).

Nesse estudo optou-se por avaliar apenas a ação antimicrobiana dos AO, sendo excluídos da formulação ingredientes com capacidade de eliminar microrganismos (fumaça líquida) e acidificantes (ácido fosfórico). Dentre os AO, o propiônico é o que apresenta maior capacidade antimicrobiana, sendo o seu pH ideal de ação entre 4 e 5. A ação antimicrobiana deste ácido ocorre quando ele está na forma dissociada, o que permite que este composto atravesse a membrana celular e gere alterações no metabolismo e funções vitais da célula levando a morte do microrganismo (Coban, 2020). Entretanto, no presente estudo, as doses utilizadas do *blend* de AO não foram suficientes para acidificar o meio a ponto de permitir a ação dos ácido propiônico, uma vez que o pH médio das amostras foi de 6,13 para amostras desafiadas com *Aspergillus* e 6,17 para *Salmonella* (Tabela 1). Portanto, futuras pesquisas em *pet food* devem focar ou no uso de maiores doses de AO, principalmente do ácido propiônico, ou na combinação deste aditivo com outros acidificantes.

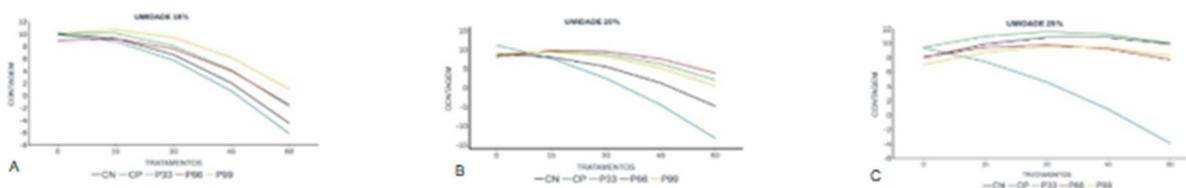


Figura 1 – Avaliação da capacidade antimicrobiana dos ácidos orgânicos em alimentos semiúmidos desafiados com *Aspergillus Brasiliensis* (A, B & C) em diferentes umidades ao longo do tempo.

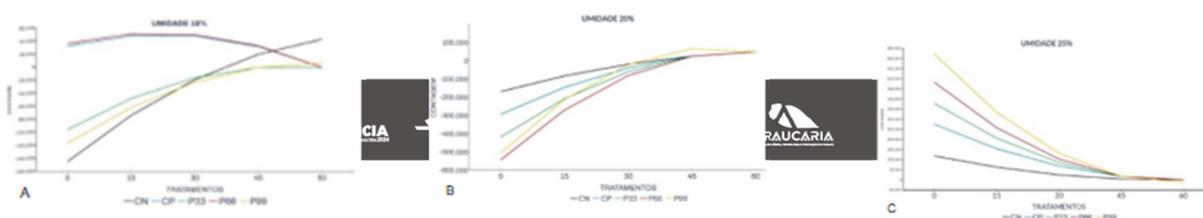


Figura 2 – Avaliação da capacidade antimicrobiana dos ácidos orgânicos em alimentos semiúmidos desafiados com *Salmonella Typhimurium* (A, B & C) em diferentes umidades ao longo do tempo.

CONCLUSÕES

As doses utilizadas de AO não foram suficientes para acidificar o meio, nem para reduzir o crescimento microbiano em nenhuma das umidades testadas. Por outro lado, a dose de sorbato de potássio utilizada foi suficiente para inibir o crescimento do *Aspergillus*.

AGRADECIMENTOS

À Biorigin Zilor pelo financiamento das análises. À Kelco Pet Care pelo fornecimento dos ingredientes e fabricação dos alimentos específicos semiúmidos. Ao CNPq pela bolsa concedida à autora Arielle Roque Schaffer (processo 498/2023).

REFERÊNCIAS

COBAN, H. B. Organic acids as antimicrobial food agents: applications and microbial productions. **Bioproc. Biosyst. Eng.**, v. 43, n. 4, p. 569–591, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00449-019-02256-w>. Acesso em: 20 de ago. de 2024.

CRAIG, J. M. 2021. Additives in pet food: are they safe? **J. Small Ani. Pract.**, v. 62, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jsap.13375>. Acesso em: 13 ago. de 2024.

DELIEPHAN, A.; DHAKAL, J.; SUBRAMANYAM, B.; ALDRICH, C. G. Effects of liquid smoke preparations on shelf life and growth of wild type mold and *Aspergillus flavus* in a model semi moist pet food. **Front. Micro.**, v. 14, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1154765/full>. Acesso em: 13 ago. 2024.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. *In*: Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 1st ed. São Paulo: IMESP, 1985.

ODEYEMI, O. A; ALEGBELEYE O. O.; STRATEVA, M.; STRATEV, D. Understanding spoilage microbial community and spoilage mechanisms in foods of animal origin. **Comp. Rev. Food Sci. Food Saf.** v. 19, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12526>. Acesso em: 12 ago. de 2024.