

## CONTAGEM DE BACTÉRIAS MESÓFIAS AERÓBIAS EM LINGUIÇAS FRESCAS ADICIONADAS DE ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO E DE EXTRATO DE BETERRABA.

RAFAELA SILVA DA ROSA<sup>1</sup>; BRUNA TIMM GONÇALVES<sup>2</sup>; LETÍCIA ZARNOTT LAGES<sup>3</sup>; RITA DE CASSIA DOS SANTOS DA CONCEIÇÃO<sup>4</sup>; CARLA ROSANE BARBOZA MENDONÇA<sup>5</sup>; ELIEZER AVILA GANDRA<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Bolsista PVIP/UFPel, Laboratório de Ciências dos Alimentos e Biologia Molecular (LACABIM), Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – rafasilvarosa1@gmail.com

<sup>2</sup>Bolsista PIBIC/CNPq, LACABIM, UFPel – bruhimm@gmail.com

<sup>3</sup>LACABIM, Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos (PPGNA), UFPel – leticiazarnott@hotmail.com

<sup>4</sup>Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas (UFPel) - ritinhaconceicao@hotmail.com

<sup>5</sup>Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA), UFPel – carlaufpel@hotmail.com

<sup>6</sup>LACABIM, PPGNA, CCQFA, UFPel – gandraea@hotmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

A busca por produtos alimentícios “naturais” tem se tornado uma grande preocupação para a indústria de alimentos, principalmente em relação ao uso de conservantes químicos sintéticos, como nitritos, que podem algumas vezes apresentar efeitos danosos à saúde quando consumidos em excesso (VIUDA-MARTOS et al., 2008). Neste contexto é crescente o interesse em agentes antimicrobianos naturais que possam prolongar a vida de prateleira dos produtos alimentícios e combater microrganismos patogênicos (GAIO et al., 2015).

Os óleos essenciais e pigmentos, têm sido indicados como alternativas promissoras para inibir patógenos em alimentos e para conferir cor (CHORIANOPOULOS et al., 2004; RAHMAN; KANG, 2009; EBRAHIMABADI et al., 2010). Dentre os óleos que apresentam comprovada atividade antimicrobiana, se encontra o óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*), a aplicação deste óleo essencial em alimentos tem sido sugerida de forma a atuar como um aditivo natural, individualmente ou associado a outros tratamentos que objetivam impedir o crescimento microbiano (HAN et al., 2015; HYUN et al., 2015; JAYASENA; JO, 2013; KARABAGIAS; BADEKA; KONTOMINAS, 2011; KOSTAKI et al., 2009).

A coloração da beterraba é justificada pela presença das betalaínas, que são pigmentos nitrogenados. A betalaína é bastante hidrossolúvel e inclui as betacianinas, responsáveis pela coloração vermelha-violeta e as betaxantinas, de coloração amarelo-laranja. As betalaínas são consideradas um dos mais importantes corantes naturais e foi um dos primeiros desenvolvidos para uso em indústrias de alimentos (CAI et al., 2003; CONSTANT et al., 2002; GANDÍA-HERRERO et al., 2005; STINTZING; CARLE, 2007).

Diante deste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da adição conjunta de óleo essencial de tomilho e de suco de beterraba em pó em embutido cárneo em substituição parcial ou total do conservante nitrito de sódio.

### 2. METODOLOGIA

#### 2.1 Preparação do embutido cárneo

Os embutidos cárneos foram elaborados no Laboratório de Processamento de Alimentos de Origem Animal do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA) da Universidade Federal de Pelotas. Onde utilizou-se a seguinte

formulação: 77,5% de carne bovina, 12% de gordura suína (banha), 7,5% de água gelada e 3% de sal (NaCl).

Primeiramente foi realizada a higienização de todos os materiais e utensílios, bancadas e das mãos, utilizando água, detergente e álcool 70%. Após, com o auxílio de uma faca, a carne foi cortada em pedaços e posteriormente moída em um processador. Em seguida, foram misturadas a carne, a banha, a água gelada e o sal. Posteriormente foram adicionados à massa obtida, quando previsto, óleo essencial de tomilho, suco de beterraba em pó e o conservante sal de cura (nitrito de sódio). No final do preparo o produto foi embutido em tripa natural suína e mantido sob refrigeração a 4 °C por 15 dias.

### **2.1.1 Avaliação da adição de óleo essencial de tomilho e de extrato de beterraba em embutido cárneo**

#### **2.1.1.1 Avaliação microbiológica**

A partir de cada um dos produtos foram retiradas amostras de 25 g em três tempos (1, 7 e 15 dias) após a elaboração dos produtos.

#### **2.1.1.2 Enumeração de bactérias aeróbias mesófilas**

Foi realizada enumeração de bactérias aeróbias mesófilas pelo método de espalhamento por superfície. Para isto, foram retiradas 25 g de cada uma das formulações dos produtos cárneos e foram homogeneizados com 225 mL de água peptonada estéril. Em seguida, foram realizadas diluições seriadas até 1:10000 ( $10^{-4}$ ) com água peptonada estéril. Após a diluição foram retirados 0,1 mL da solução e transferidas para placas de Petri contendo Plate Count Agar (PCA), espalhadas com auxílio de uma alça de Drigalski e incubadas a 37 °C. A contagem manual das colônias bacterianas foi realizada após 48 h de incubação e os resultados expressos em UFC.g<sup>-1</sup>.

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **3.3 Avaliação da adição de óleo essencial de tomilho e do suco de beterraba em pó em embutido cárneo**

#### **3.3.1 Avaliação microbiológica**

Os resultados encontrados para avaliação da adição de óleo essencial de tomilho em diferentes concentrações e de suco de beterraba em pó em embutido cárneo em 3 tempos distintos (1, 7 e 15 dias) encontram-se descritos nas tabelas abaixo.

**Tabela 1.** Enumeração de Bactérias aeróbias mesófilas em 3 tempos distintos utilizando o óleo essencial de tomilho na concentração de 0,00095%

<sup>1</sup> BAM	<sup>2</sup> Controle (UFC/g)	<sup>3</sup> Tratamento 1 (UFC/g)	<sup>4</sup> Tratamento 2 (UFC/g)	<sup>5</sup> Tratamento 3 (UFC/g)
<b>Tempo 1</b>	$4,36 \times 10^6$	$1,11 \times 10^6$	$6,3 \times 10^5$	$2,73 \times 10^6$
<b>Tempo 2</b>	$1,93 \times 10^7$	$8 \times 10^6$	$7,2 \times 10^6$	$2,41 \times 10^7$
<b>Tempo 3</b>	$2,79 \times 10^7$	$1,45 \times 10^6$	$4,84 \times 10^7$	$4,08 \times 10^7$

<sup>1</sup> - Bactérias Aeróbias Mesófilas

<sup>2</sup> Controle - Formulação padrão do produto cárneo

<sup>3</sup> Tratamento 1 - Formulação padrão do produto cárneo, com 100% da concentração indicada do conservante sal de cura

<sup>4</sup> Tratamento 2 - Formulação padrão do produto cárneo, 50% da concentração de conservante sal de cura, óleo essencial de tomilho na concentração de 0,00095% e 1% de suco de beterraba em pó

<sup>5</sup> Tratamento 3 - Formulação padrão do produto cárneo, óleo essencial de tomilho na concentração de 0,00095% e 1% de suco de beterraba em pó

**Tabela 2.** Enumeração de Bactérias aeróbias mesófilas em 3 tempos distintos utilizando o óleo essencial de tomilho na concentração de 0,0095%

<sup>1</sup> BAM	<sup>2</sup> Controle (UFC/g)	<sup>3</sup> Tratamento 1 (UFC/g)	<sup>4</sup> Tratamento 4 (UFC/g)	<sup>5</sup> Tratamento 5 (UFC/g)
<b>Tempo 1</b>	$4,36 \times 10^6$	$1,11 \times 10^6$	$8,53 \times 10^4$	$3,8 \times 10^5$
<b>Tempo 2</b>	$1,93 \times 10^7$	$8 \times 10^6$	$1,72 \times 10^6$	$5,13 \times 10^6$
<b>Tempo 3</b>	$2,79 \times 10^7$	$1,45 \times 10^6$	$7,93 \times 10^6$	$3,25 \times 10^7$

<sup>1</sup> - Bactérias Aeróbias Mesófilas

<sup>2</sup> Controle - Formulação padrão do produto cárneo

<sup>3</sup> Tratamento 1 - Formulação padrão do produto cárneo, com 100% da concentração indicada do conservante sal de cura

<sup>4</sup> Tratamento 2 - Formulação padrão do produto cárneo, 50% da concentração de conservante sal de cura, óleo essencial de tomilho na concentração de 0,0095% e 1% de suco de beterraba em pó

<sup>5</sup> Tratamento 3 - Formulação padrão do produto cárneo, óleo essencial de tomilho na concentração de 0,0095% e 1% de suco de beterraba em pó

**Tabela 3.** Enumeração de Bactérias aeróbias mesófilas em 3 tempos distintos utilizando o óleo essencial de tomilho na concentração de 0,95%

<sup>1</sup> BAM	<sup>2</sup> Controle (UFC/g)	<sup>3</sup> Tratamento 1 (UFC/g)	<sup>4</sup> Tratamento 6 (UFC/g)	<sup>5</sup> Tratamento 7 (UFC/g)
<b>Tempo 1</b>	$4,36 \times 10^6$	$1,11 \times 10^6$	$3,4 \times 10^4$	$2,12 \times 10^4$
<b>Tempo 2</b>	$1,93 \times 10^7$	$8 \times 10^6$	$4,53 \times 10^6$	$9,43 \times 10^6$
<b>Tempo 3</b>	$2,79 \times 10^7$	$1,45 \times 10^6$	$1,07 \times 10^6$	$2,48 \times 10^6$

<sup>1</sup> - Bactérias Aeróbias Mesófilas

<sup>2</sup> Controle - Formulação padrão do produto cárneo

<sup>3</sup> Tratamento 1 - Formulação padrão do produto cárneo, com 100% da concentração indicada do conservante sal de cura

<sup>4</sup> Tratamento 2 - Formulação padrão do produto cárneo, 50% da concentração de conservante sal de cura, óleo essencial de tomilho na concentração de 0,95% e 1% de suco de beterraba em pó

<sup>5</sup> Tratamento 3 - Formulação padrão do produto cárneo, óleo essencial de tomilho na concentração de 0,95% e 1% de suco de beterraba em pó

Em relação a contagem de bactérias aeróbias mesófilas, observou-se que o óleo essencial na concentração de 0,00095% foi efetivo somente com adição da metade do conservante (nitrato e nitrito de sódio) até aos 7 dias de armazenamento. Já na concentração de 0,0095% do óleo essencial, observou-se que com adição da metade do conservante foi efetivo como um controle microbiológico e o produto cárneo sem adição de conservante foi efetivo até aos 7 dias de armazenamento. E na concentração de 0,95% do óleo essencial, observou-se que promoveu um controle microbiológico contra as bactérias aeróbias mesófilas. Porém, sabe-se que os nitritos, além da atuação como antimicrobianos, também atuam gerando características sensoriais típicas de produtos cárneos como cor e sabor, sendo a sua substituição total pelo óleo possível, desde que se encontrem também alternativas para suprir as características sensoriais esperadas nestes produtos, neste caso, o suco de beterraba em pó também proporcionou uma cor típica de produtos cárneos curados sendo alternativa para atuar como um corante natural.

#### 4. CONCLUSÕES

Verificou-se a viabilidade de utilização do óleo essencial de tomilho com metade da concentração recomendada de conservante pela legislação. Este resultado tem grande importância em razão dos nitritos poderem formar nitrosaminas em determinadas situações, que podem apresentar potencial cancerígeno, assim a substituição parcial deste por óleo essencial de tomilho se

torna uma alternativa viável e desejável e o suco de beterraba proporcionou uma cor similar a esperada para produtos cárneos curados.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CAI, Y.; SUN, M.; CORKE, H. Antioxidant Activity of Betalains from Plants of the Amaranthaceae. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 8, p. 2288-2294, 2003.
- CHORIANOPOULOS, N. et al. Essential oils of satureja, origanum, and thymus species: chemical composition and antibacterial activities against foodborne pathogens. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 52, p. 8261-8267, 2004.
- CONSTANT, P.B.L.; STRINGHETA, P. C.; SANDI, D. Corantes Alimentícios. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v. 20, n. 2, p. 203-220, jul.-dez. 2002.
- EBRAHIMABADI, A. H. et al. Composition and antioxidantand antimicrobial activity of the essential oil and extracts of *Stachys inflata* Benth from Iran. **Food Chemistry**, v. 119, p. 452-458, 2010.
- GAIO, I. et al. Antibacterial activity of basil essential oil (*Ocimum basilicum* L.) in Italian-type sausage. **Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit**, v. 10, n. 4, p. 323-329, 2015.
- GANDÍA-HERRERO, F.; GARCÍA-CARMONA, F.; ESCRIBANO, J. A novel method using high-performance liquid chromatography with fluorescence for the determination of betaxanthins. **Journal of chromatography A**, v. 1078, p. 83-89. 2005.
- HAN, J. H. et al. Microbial inhibition in mozzarella cheese using rosemary and thyme oils in combination with sodium diacetate. **Food Science and Biotechnology**, v. 24, n. 1, p. 75–84, 28 fev. 2015.
- HYUN, J.-E. et al. Preservative effectiveness of essential oils in vapor phase combined with modified atmosphere packaging against spoilage bacteria on fresh cabbage. **Food Control**, v. 51, p. 307–313, maio 2015.
- JAYASENA, D. D.; JO, C. Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 34, n. 2, p. 96–108, dez. 2013.
- KARABAGIAS, I.; BADEKA, A.; KONTOMINAS, M. G. Shelf life extension of lamb meat using thyme or oregano essential oils and modified atmosphere packaging. **Meat science**, v. 88, n. 1, p. 109–16, maio 2011.
- KOSTAKI, M. et al. Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. **Food microbiology**, v. 26, n. 5, p. 475–482, ago. 2009.
- RAHMAN, A.; KANG, S. inhibition of foodborne pathogens and spoiling bacteria by essential oil and extracts of *Erigeron ramosus* (walt.) b.s.p. **Journal of Food Safety**, v. 29, p. 176–189, 2009.
- STINTZING, F.C.; CARLE, R. Betalains – emerging prospects for food scientists. **Trends in Food Science and Technology**, n. 12, p. 514-525. 2007.
- VIUDA-MARTOS, M. et al. Chemical composition and antioxidant and anti-*Listeria* activities of essential oils obtained from some Egyptian plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 9063-9070, 2008.