



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO
CAMPUS MORRINHOS

ARIELLEN NASCIMENTO DE OLIVEIRA

**MODELAGEM MATEMÁTICA DO CRESCIMENTO DE *Brochothrix thermosphacta*
EM PRESUNTO COZIDO, FATIADO E EMBALADO A VÁCUO**

Morrinhos

2021

ARIELLEN NASCIMENTO DE OLIVEIRA

**MODELAGEM MATEMÁTICA DO CRESCIMENTO DE *Brochothrix thermosphacta*
EM PRESUNTO COZIDO, FATIADO E EMBALADO A VÁCUO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos, do Instituto Federal Goiano - Campus Morrinhos, como pré-requisito para a obtenção do grau de Tecnólogo em Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Wiaslan Figueiredo Martins.

Coorientadora: Profa. Ma. Dayana Silva Batista Soares.

Morrinhos

2021

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

OAR698 Oliveira, Ariellen Nascimento de
m Modelagem matemática do crescimento de
 Brochothrix thermosphacta em presunto cozido,
 fatiado e embalado a vácuo / Ariellen Nascimento de
 Oliveira; orientador Wiaslan Figueiredo Martins; co-
 orientadora Dayana Silva Batista Soares. --
 Morrinhos, 2021.
 44 p.

TCC (Graduação em Tecnologia em Alimentos) --
Instituto Federal Goiano, Campus Morrinhos, 2021.

1. Produtos cárneos. 2. Refrigeração. 3.
Deterioração. 4. Vida útil. 5. Microbiologia
preditiva. I. Martins, Wiaslan Figueiredo, orient.
II. Soares, Dayana Silva Batista, co-orient. III.
Título.



TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

Identificação da Produção Técnico-Científica

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tese | <input type="checkbox"/> Artigo Científico |
| <input type="checkbox"/> Dissertação | <input type="checkbox"/> Capítulo de Livro |
| <input type="checkbox"/> Monografia – Especialização | <input type="checkbox"/> Livro |
| <input checked="" type="checkbox"/> TCC - Graduação | <input type="checkbox"/> Trabalho Apresentado em Evento |
| <input type="checkbox"/> Produto Técnico e Educacional - Tipo: _____ | |

Nome Completo do Autor: Ariellen Nascimento de Oliveira

Matrícula: 2017104210310062

Título do Trabalho: Modelagem matemática do crescimento de *Brochothrix thermosphacta* em presunto cozido, fatiado e embalado a vácuo.

Restrições de Acesso ao Documento

Documento confidencial: Não Sim, justifique: _____

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: __/__/__

O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não

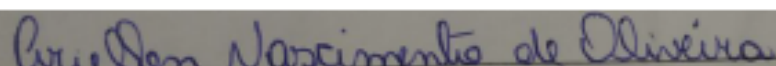
O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O/A referido/a autor/a declara que:

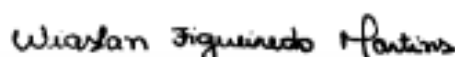
- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Morrinhos, 20 de maio de 2021.



Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:



Assinatura do Orientador

AGRADECIMENTOS

Já passou várias áreas que eu poderia atuar no futuro desde educadora física, técnico em sistemas de rede, gastronomia, ciências contábeis, história, psicologia e por aí vai, porém, nunca tive em mente uma área certa a seguir, talvez por não saber de fato o que eu queria fazer ainda quando me encontrava no último ano do ensino médio. Na verdade, a pressão do crescer nos faz tomar atitudes sem pensar, principalmente, em qual carreira seguir ou área atuar, mas minha mãe sempre dizia “nunca pare de estudar porque uma hora você vai descobrir o que quer fazer ou onde quer atuar”, e assim eu fiz. No começo, confesso que não gostava do curso tecnologia em alimentos e não sabia se era isso que eu queria atuar, mas a cada período fui me encontrando e me apaixonando pelos detalhes da área. A cada aula prática eu me adaptava mais a todos os assuntos e à área em atuação e, assim, fui me descobrindo na área de alimentos. Depois que eu ingressei no quarto período, que de fato começaram as matérias mais específicas do curso, eu me apaixonei ainda mais porque foi onde descobri a diversidade de setores para atuar, sem contar o quanto é incrível a descoberta de todo o processamento do que você consome ou do que é colocado nas prateleiras. Em suma, faço os meus agradecimentos especiais:

A Deus pela força e fé de cada dia para cada momento de dificuldade e momentos em que pensei em desistir.

A minha mãe por ter me mostrado que o estudo é uma fonte única e que jamais será retirado de nós.

A todos os colaboradores do campus, desde os motoristas, as tias da limpeza, lanchonete, refeitório e os meus professores que me mostraram o quão lindo é a área de alimentos e me proporcionaram motivos para não desistir.

Aos meus colegas que fiz durante os 3 anos, foram muitas raivas, alegrias e tristezas, mas que foram maneiras de aprendermos a crescer e nos tornarmos melhores.

RESUMO

O presunto cozido, fatiado e embalado a vácuo (PCF) é um produto cárneo, economicamente importante, com alto consumo no Brasil e no mundo. A vida útil desse produto é limitada, principalmente, devido a questões de deterioração e, por se tratar de um produto refrigerado, as variações de temperatura que ocorrem durante toda a cadeia do frio podem aumentar os riscos de deterioração, diminuindo sua vida útil. Sendo assim, objetivou-se avaliar o crescimento de *Brochothrix thermosphacta* em PCF sob diferentes condições isotérmicas e não isotérmicas de armazenamento. Os dados de crescimento de *B. thermosphacta* em PCF nas temperaturas de 4, 6, 8, 10 e 12 °C de armazenamento foram adquiridos do trabalho de Hwang e Sheen (2011), disponíveis na base de dados *Combase* e o modelo de Baranyi e Roberts foi ajustado às curvas de crescimento. De acordo com os índices estatísticos, pode-se afirmar que o modelo apresentou ótimo desempenho para descrever o crescimento de *B. thermosphacta* em PCF nas cinco temperaturas avaliadas, com valores de $R^2 \geq 0,99$ e Erros Padrão dos ajustes próximos de zero. Ainda, o modelo da raiz quadrada foi selecionado para gerar as simulações das predições do crescimento em condições de oscilação de temperatura, destacando a importância na manutenção da cadeia do frio, pois uma mínima alteração nessas condições pode provocar um aumento expressivo no crescimento de microrganismos deteriorantes de produtos cárneos. Pode-se concluir que a aplicação de modelos preditivos e *softwares* de fácil utilização pode auxiliar às indústrias de cárneos na determinação da vida útil de alimentos, sem a necessidade de realização de vários experimentos para determinar a qualidade e a segurança dos produtos.

Palavras-chaves: Produtos cárneos, refrigeração, deterioração, vida útil, microbiologia preditiva.

ABSTRACT

The cooked, sliced, and vacuum-packed ham (CSH) is a meat product, economically important, with high consumption in Brazil and worldwide. The shelf life of this product is limited, mainly due to deterioration issues because it is a refrigerated product, temperature variations that occur throughout the cold chain can increase the risk of deterioration, reducing its shelf life. Thus, the objective was to evaluate the growth of *Brochothrix thermosphacta* in CSH under different isothermal and non-isothermal storage conditions. The growth data of *B. thermosphacta* in CSH at temperatures of 4, 6, 8, 10, and 12 °C of storage were acquired from the research of Hwang and Sheen (2011), available in the *Combase* database and the Baranyi and Roberts' model was fitted to the growth curves. According to the statistical indices, it can be said that the model presented excellent performance to describe the growth of *B. thermosphacta* in CSH at the five temperatures evaluated, with values of $R^2 \geq 0.99$ and Standard Errors of the fits close to zero. More, the square root model was selected to generate simulations of growth predictions in conditions of temperature fluctuation, highlighting the importance of maintaining the cold chain, since a minimum change in these conditions can cause a significant increase in the growth of spoilage microorganisms of meat products. It can be concluded that the application of predictive models and easy-to-use software can assist the meat industries in determining the shelf life of food, without the need to carry out several experiments to determine the quality and safety of products.

Keywords: Meat products, refrigeration, deterioration, shelf life, predictive microbiology.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVOS	12
2.1 OBJETIVO GERAL	12
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
3. REFERENCIAL TEÓRICO	13
3.1 CONSUMO DE PRODUTOS CÁRNEOS	13
3.1.1 Presunto cozido, fatiado e embalado a vácuo (PCF).....	13
3.2 DETERIORAÇÃO DE PRODUTOS CÁRNEOS	14
3.2.1 Microrganismos deteriorantes de presunto cozido, fatiado e embalado a vácuo.....	14
3.2.2 Temperatura de armazenamento	16
3.3 MICROBIOLOGIA PREDITIVA.....	17
3.3.1 Modelos primários.....	17
3.3.2 Modelos secundários	17
3.3.3 Modelos terciários	18
4. MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1 DADOS DE CRESCIMENTO	23
4.2 MODELAGEM PRIMÁRIA.....	23
4.3 MODELAGEM SECUNDÁRIA	24
4.4 MODELO NÃO ISOTÉRMICO	24
4.4 ANÁLISES NUMÉRICAS	25
4.5 AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DOS MODELOS	26
5. RESULTADOS E DISCUSÃO.....	27
6. CONCLUSÕES.....	38
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

1. INTRODUÇÃO

A produção e consumo de carne suína e seus produtos está cada vez maior dentre todo o mundo, o Brasil se encontra em quarto lugar no ranque de produção de carne suína, seu consumo per capita é de 15,3 kg por habitante. A carne suína pode ser consumida de diversas formas, como in natura, ou seja, sem passar por qualquer processo de industrialização, diretamente de açougues ou por meio do consumo de seus produtos, como os embutidos, os fermentados, os defumados e/ou cozidos e os fatiados, como presuntos entre outros produtos (ABPA, 2020).

Os produtos cárneos em sua grande maioria apresentam-se como uma forma de facilitar a correria do dia a dia dos consumidores, dentre esses podemos citar o presunto cozido e fatiado. Geitenes et al. (2013) apresentaram em seus estudos as características que dão origem ao produto cárneo, sendo ela o preparado por meio do pernil do suíno, onde ele é desossado e acrescido de outros ingredientes para obter as suas características sensoriais e nutricionais. Porém, assim como as carnes, os produtos cárneos também são susceptíveis a deterioração por microrganismos, tornando os produtos impróprios ao consumo.

Alcantara et al. (2012) realizaram um estudo abordando os principais microrganismos considerados deteriorantes de produtos cárneos, como *Pseudomonas* spp., bactérias ácido-lácticas (BAL), *Shewanella putrefaciens* e *B. thermosphacta*. Segundo os autores, deve-se considerar que cada microrganismo possui as suas condições ótimas de desenvolvimento.

A carne e os produtos cárneos possuem em sua composição condições favoráveis que auxiliam no desenvolvimento de microrganismos deteriorantes, como atividade de água (*aw*), pH e nutrientes. Além disso, a temperatura é um importante fator extrínseco que influencia diretamente na velocidade de crescimento dos microrganismos e, para estudar os parâmetros de crescimento, destaca-se a ferramenta da microbiologia preditiva (MATHIAS, 2008).

A microbiologia preditiva engloba conceitos de microbiologia de alimentos, matemática, estatística e informática para estudar a dinâmica de crescimento de microrganismos. Ela baseia-se em análise de todas as fases de crescimento do microrganismo, desde a fase *lag*, em que o microrganismo se encontra em adaptação no ambiente, a fase exponencial, que é caracterizada pelo crescimento acelerado dos microrganismos, predominando as células mais jovens e a fase estacionária, que se

característica por possuir o mesmo número de células viáveis e não viáveis (SCHLEI, 2018).

A utilização de modelos matemáticos auxilia na obtenção de dados sobre o comportamento dos microrganismos, tanto na sua inativação ou no seu crescimento. Os modelos a serem utilizados são divididos em modelos primários, secundários e terciários. Os modelos primários representam a dinâmica dos microrganismos em condições constantes, em função do tempo. Já os secundários descrevem a influência dos fatores intrínsecos ou extrínsecos sobre o crescimento dos microrganismos e, por fim, os modelos terciários se detém na utilização de *softwares* capazes de realizarem a consolidação dos dados obtidos nos modelos primários e secundários (ROBAZZA, 2010).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Modelar o crescimento de *Brochothrix thermosphacta* em presunto cozido, fatiado e embalado a vácuo, sob diferentes condições isotérmicas e não isotérmicas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar um levantamento dos dados de crescimento de *B. thermosphacta* disponíveis na base de dados *Combase*;
- Ajustar o modelo primário às curvas de crescimento de *B. thermosphacta* obtidas em diferentes temperaturas de armazenamento, considerando faixa de temperatura de refrigeração e abuso e avaliar o seu desempenho por meio dos índices estatísticos;
- Ajustar modelos secundários para descrever a influência da temperatura na velocidade específica máxima de crescimento de *B. thermosphacta* em presunto cozido, fatiado e embalado a vácuo e selecionar o melhor modelo que descreva essa influência;
- Simular a predição do crescimento de *B. thermosphacta* em presunto cozido, fatiado e embalado a vácuo em diferentes oscilações de temperaturas (condições não isotérmicas).

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 CONSUMO DE PRODUTOS CÁRNEOS

A globalização veio não somente para mostrar maneiras diversas de se aprimorar os trabalhos em sociedade, mas também trouxe a correria do dia a dia e a busca de alimentos prontos para o consumo (do inglês: *ready-to-eat*), que facilitem o seu preparo e reduza o tempo gasto. Dentre esses produtos, tem-se os vegetais pré-cozidos, frutas e vegetais minimamente processados, produtos cárneos cozidos, defumados, moídos e cortados de deferentes formas para o rápido preparo ou consumo (MENEZES, 2016).

Dentre os produtos cárneos prontos para o consumo, os preparados à base de carne suína possuem muitos benefícios e agregam valor nutricional a alimentação humana, como linguiças, copa, salame, presunto cozido fatiado e embalado a vácuo (PCF), entre outros produtos.

3.1.1 Presunto cozido, fatiado e embalado a vácuo (PCF)

Os consumidores buscam cada vez mais alimentos que sejam seguros e atendam suas necessidades, simultaneamente. Em contrapartida, muitas indústrias enfrentam dificuldades acerca das embalagens que melhor se adequam ao produto, tendo em vista que a conservação esbarra, muitas vezes, com a limitação dos aditivos para que se mantenham o mais natural possível. Nesse cenário, os produtos cárneos e alguns vegetais e frutas podem utilizar a embalagem a vácuo como forma de minimizar os efeitos da deterioração do alimento. Dentre os produtos cárneos que são comercializados desta forma, temos o presunto de origem suína (PATEIRO et al., 2019).

O PCF é um produto cárneo, economicamente importante, com alto consumo no Brasil e no mundo. A vida útil desse produto é limitada, principalmente, devido a questões de deterioração e segurança microbiológica (VERCAMMEN et al., 2011). Isso se dá pelo fato de que ele sofre muitas manipulações pós-processamento pois, geralmente, é vendido em fatias e embalado a vácuo e, por se tratar de um produto refrigerado, as variações de temperatura que ocorrem durante toda a cadeia do frio podem aumentar os riscos de deterioração, diminuindo sua vida útil.

3.2 DETERIORAÇÃO DE PRODUTOS CÁRNEOS

Embora possua alto valor nutricional, a carne e seus produtos cárneos são facilmente deterioráveis por microrganismos se não for manuseada, transportada e armazenada adequadamente. A carne por si só é um meio favorável ao desenvolvimento de microrganismos patógenos e deteriorantes, na qual sua *aw*, pH e nutrientes são condições excelentes para tal desenvolvimento. Entretanto, fatores intrínsecos ou extrínsecos podem interferir na deterioração do produto. A grande preocupação é se a temperatura ou atmosfera seja que envolve o alimento está devidamente exercendo a sua função de proteção e segurança tanto na garantia da qualidade quanto na garantia de minimizar os efeitos de microrganismos deteriorantes (PELLISSERY et al., 2020).

3.2.1 Microrganismos deteriorantes de presunto cozido, fatiado e embalado a vácuo

Em produtos cárneos há alguns microrganismos que são indicadores de deterioração, como diferentes espécies de BAL: *Leuconostoc mesenteroides*, *Weissella viridescens* e *Lactobacillus plantarum*, além da espécie *B. thermosphacta*, e outros microrganismos podem ser patogênicos, como *Salmonella* spp., *Clostridium* spp., *Flavobacterium* spp., *Cytophaga* spp., dentre outras (HWANG; SHEEN, 2010; KALSCHNEL et al., 2015; SEVERO, 2018; MENEZES et al., 2018; MARTINS et al., 2020).

Alguns produtos já processados, embalados e armazenados podem conter uma quantidade de microrganismos pré-existentes ou em desenvolvimento que, posteriormente, ocasionarão a deterioração do produto. Como exemplo, tem-se a presença da *B. thermosphacta* em produtos embalados a vácuo e, dependendo do produto, armazenados em temperaturas de refrigeração (RAIMONDI, 2019).

3.2.1.1 A espécie *Brochothrix thermosphacta*

A espécie *B. thermosphacta* foi isolada de linguiça de porco por Sulzbacher e McLean (1951), o qual foi inicialmente denominado de *Microbacterium thermosphactum* (MCLEAN; SULZBACHER, 1953). No entanto, os mesmos autores já mencionaram discrepâncias notáveis na morfologia celular, entre *M. thermosphactum* e as espécies do gênero *Microbacterium*. Estudos posteriores confirmaram as diferenças na morfologia e

outras dissimilaridades observadas, especialmente na enzimologia e perfis de proteínas, na composição da base do DNA e na estrutura do peptidoglicano (STACKEBRANDT; JONES, 2006).

Além disso, isolados de *M. thermosphactum* formaram um cluster distinto suficientemente distante de outras espécies do gênero *Microbacterium* e dos gêneros Gram-positivos mais próximos (STACKEBRANDT; JONES, 2006). Consequentemente, esta espécie foi reclassificada para um novo gênero *Brochothrix* e renomeada como *B. thermosphacta* e colocada pela primeira vez no Família Lactobacillaceae. Posteriormente, as bactérias do gênero *Brochothrix* foram encontradas fenotipicamente mais próximas para aqueles do gênero *Listeria* do que para aqueles de *Lactobacillus* e, portanto, foram transferidos para a família Listeriaceae (SNEATH; JONES, 1986).

A relação filogenética de *B. thermosphacta* com *Listeria monocytogenes* foi posteriormente reforçada pelos resultados de um estudo ao analisar a sequência de rRNA 16S das duas espécies (LUDWIG et al., 1984). Em 1988, o isolamento e a descrição de uma nova espécie pertencente a *Brochothrix*, *B. campestris* (TALON et al., 1988) confirmou o gênero e sua classificação na família Listeriaceae.

O habitat natural de *B. thermosphacta* não é totalmente conhecido. Na verdade, inicialmente isolado de linguiça de porco e considerado como uma bactéria psicrotrófica responsável pela deterioração de produtos cárneos, não atraiu a atenção de microbiologistas de outros campos (ILLIKOUD et al., 2018).

Portanto, é possível que esta espécie viva em uma ampla gama de habitats, mas foi encontrada apenas em alguns ambientes onde foi sistematicamente pesquisada, ou no qual ele pode ser selecionado como as condições de crescimento são ideais, como temperaturas frias e matrizes de carne nutritivas. *B. thermosphacta* foi isolado dos alimentos, mesmo na ausência de deterioração detectável (NYCHAS et al., 2007; LIANG et al., 2012).

Devido à sua natureza ubíqua e psicotolerante, *B. thermosphacta* é frequentemente reportada como uma bactéria deteriorante e dominante de uma ampla variedade de alimentos armazenados em baixas temperaturas. Foi identificada como a espécie bacteriana emblemática entre a microbiota de carnes e frutos do mar deteriorados e armazenados em baixa temperatura (CHAILLOU et al., 2015). Na verdade, tem sido associado à carne de bovino, carne de porco e aves deterioradas (HAN, 2020) e produtos do mar (GOMES et al., 2017). Na maioria dos casos relatados, os números de *B. thermosphacta* nos alimentos deteriorados atingiram níveis acima de $7 \log_{10}$ UFC/g.

B. thermosphacta pertence, comumente, à microbiota aeróbia de carnes resfriadas e é um deteriorante específico de carne armazenada sob atmosfera modificada e embalagem a vácuo (LEAL, 2018).

Brochothrix spp. são aeróbios e anaeróbios facultativos, catalase positivo e oxidase negativo. Essas bactérias podem crescer em temperaturas que variam de 0 a 30 °C com um ótimo crescimento entre 20 e 25 °C (STACKEBRANDT; JONES, 2006). O pH ideal para o crescimento é pH 7,0, mas *B. thermosphacta* é capaz de crescer dentro da faixa de pH de 5 a 9. A sua principal característica é a descoloração do produto (ILLIKOUD; JAFFRÈS; ZAGOREC, 2018). Outro ponto crítico é seu desenvolvimento bom em temperaturas baixas sendo encontrada em uma faixa de 4° C até 12 °C com um pico de crescimento bastante significativo para estudo de deterioração alimentar (MOHSINA, 2020).

Avaliando todos os fatores que afetem o crescimento microbiano a temperatura é a que mais se destaca como influência direta nesse desenvolvimento, dentre este cenário é necessário estudos mais amplos sob a consequência de alterações como aumento ou oscilação dela nos produtos comercializados, assim ao avaliar a temperatura de armazenamento pode se obter resultados de como é a sua ação no desenvolvimento dos microrganismos (PATEIRO, 2019).

3.2.2 Temperatura de armazenamento

A temperatura, dentre os vários parâmetros estabelecidos pela legislação, é um dos mais importantes e, associada a outros, se torna indispensável à segurança do alimento, esteja ele no processo inicial ou final da cadeia produtiva. Segundo Brasil (2015) a temperatura mínima que se deve armazenar um produto cárneo para que sua segurança seja efetiva, encontra-se próximo de 5 °C. Porém, alguns estudos já trazem relatos de desenvolvimento em temperaturas baixas e próximas a citada anteriormente, ocasionando preocupação em grande parte das indústrias de produtos alimentícios. Dessa forma, a microbiologia preditiva surge como uma ferramenta importante para os estudos da predição do crescimento ou inativação dos microrganismos em alimentos frente a diversos fatores intrínsecos ou extrínsecos (STAVROPOULOU; BEZIRTZOGLU, 2019).

3.3 MICROBIOLOGIA PREDITIVA

Entender o comportamento de deteriorante em alimentos é um aspecto importante para a promoção da segurança de alimentos. A este respeito, o campo científico da microbiologia preditiva oferece ferramentas para o desenvolvimento de estudos, possibilitando estimar as consequências das operações de manipulação, processamento e armazenamento de alimentos sobre o crescimento, sobrevivência e inativação de microrganismos (USDA, 2016).

A microbiologia preditiva é uma ferramenta essencial para modelar o crescimento bacteriano e prever o comportamento microbiano em alimentos, garantindo a segurança e a qualidade dos produtos (McMEEKIN; ROSS, 1996). De acordo com Whiting e Buchanan (1993), a abordagem tradicional na modelagem preditiva segue um processo de duas etapas: modelagem primária e secundária.

A vantagem da microbiologia preditiva é diminuir a necessidade de realização de análises microbiológicas que consomem longo tempo para a execução, e que dependem de disponibilidade considerável de consumíveis e infraestrutura de laboratório (DAVEY, 1994).

3.3.1 Modelos primários

Os modelos primários, como o modelo de Baranyi e Roberts (BARANYI; ROBERTS, 1994), representam a dinâmica das populações microbianas em função do tempo, sob condições ambientais e de cultivo constantes (McKELLAR; LU, 2004). A estimativa dos parâmetros ajustáveis dos modelos primários, como a população inicial de crescimento (y_0), a fase de adaptação ou fase *lag* (λ), a velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{máx}$) e a população máxima de crescimento atingida ($y_{máx}$) pode ser realizada com diferentes abordagens (LONGHI, 2016).

3.3.2 Modelos secundários

Os modelos secundários são utilizados para descrever o efeito de mudanças ambientais, por exemplo, a temperatura nos parâmetros dos modelos primários (ROSS; DALGAARD, 2004; HUANG, 2017). Pode-se dizer, de forma resumida, que o modelo secundário é caracterizado por avaliar todas as circunstâncias capazes de modificar todo

o crescimento ou inativação do microrganismo. Assim, os modelos secundários podem auxiliar na predição do comportamento de um microrganismo deteriorante ou patogênico em um determinado alimento.

3.3.3 Modelos terciários

Existem ainda os modelos terciários, que usam um ou mais modelos secundários e primários para gerar aplicações em *softwares* de fácil utilização, que podem ser usados de forma sistemática por não-especialistas (BUCHANAN, 1991). Um modelo terciário bastante utilizado para a avaliação e validação dos dados obtidos nos demais modelos é o *Combase* (BARANYI; TAMPLIN, 2004), do Instituto de Pesquisa em Alimentos do Reino Unido.

Algumas ferramentas têm sido demonstradas durante conferências internacionais, como por exemplo, *8th International Conference on Predictive Modelling in Food*, que aconteceu em Paris, França, em setembro de 2013 (TENENHAUS-AZIZA; ELLOUZE, 2013). Durante a conferência, uma *Software Fair* foi realizada para fornecer informações e demonstrações de *softwares* aplicados na microbiologia preditiva e avaliação de risco (TENENHAUS-AZIZA; ELLOUZE, 2015). As informações gerais sobre os *softwares* apresentados na *Software Fair* são apresentadas no Quadro 1.

Quadro 1 - Informações gerais sobre a acessibilidade, a data de criação, público-alvo e da abordagem da modelagem utilizada em cada *software*.

<i>Software</i>	Acessibilidade	Data de criação	Público-alvo	Abordagem da modelagem
<i>Baseline</i>	Gratuito, acesso à internet	2012	OSA, Pesquisadores, Professores, Estudantes	Determinística
<i>ComBase</i>	Gratuito, acesso à internet	2004	OSA, Pesquisadores, Professores, Estudantes, Governo	Determinística
<i>Dairy Products Safety Predictor</i>	Comercial, acesso à internet	2012	OSA	Probabilística
<i>FDA-iRISK</i>	Gratuito, acesso à internet	2012	OSA, Pesquisadores, Professores, Estudantes, Governo	Probabilística
<i>FILTREX</i>	Gratuito, disponível para <i>download</i>	2013	Pesquisadores, Professores, Estudantes	Probabilística

Quadro 1 - Informações gerais sobre a acessibilidade, a data de criação, público-alvo e da abordagem da modelagem utilizada em cada *software*.

(continuação)

<i>FISHMAP</i>	Gratuito, disponível para <i>download</i>	2011	OSA, Pesquisadores, Professores, Estudantes, Governo	Determinística
<i>Food Spoilage and Safety Predictor (FSSP)</i>	Gratuito, disponível para <i>download</i>	1999	OSA, Pesquisadores, Professores, Estudantes, Governo	Determinística
<i>GInaFiT</i>	Gratuito, disponível para <i>download</i>	2003	OSA, Pesquisadores, Professores, Estudantes, Governo	Determinística
<i>GroPIN</i>	Gratuito, disponível para <i>download</i>	2013	OSA, Pesquisadores, Professores, Estudantes, Governo	Determinística e probabilística
<i>Listeria Meat Model</i>	Comercial, disponível para <i>download</i>	2012	OSA, Governo	Determinística
<i>MicroHibro</i>	Gratuito, acesso à internet	2011	OSA, Pesquisadores, Professores, Estudantes, Governo	Probabilística
<i>MRV, Microbial Responses Viewer</i>	Gratuito, acesso à internet	2008	OSA, Pesquisadores, Professores, Estudantes, Governo	Determinística
<i>NIZO Premia</i>	Comercial, acesso à internet	1995	OSA	Determinística
<i>PMM-Lab</i>	Gratuito, acesso à internet	2012	Pesquisadores, Professores, Estudantes, Governo	Determinística
<i>Prediction of Microbial Safety in Meat Products</i>	Gratuito, acesso à internet	2006	OSA, Pesquisadores, Professores, Estudantes, Governo	Determinística
<i>Sym'Previus</i>	Comercial, acesso à internet	2003	OSA, Pesquisadores, Professores, Estudantes, Governo	Determinística e Probabilística

OSA: Operadores do Setor de Alimentos.

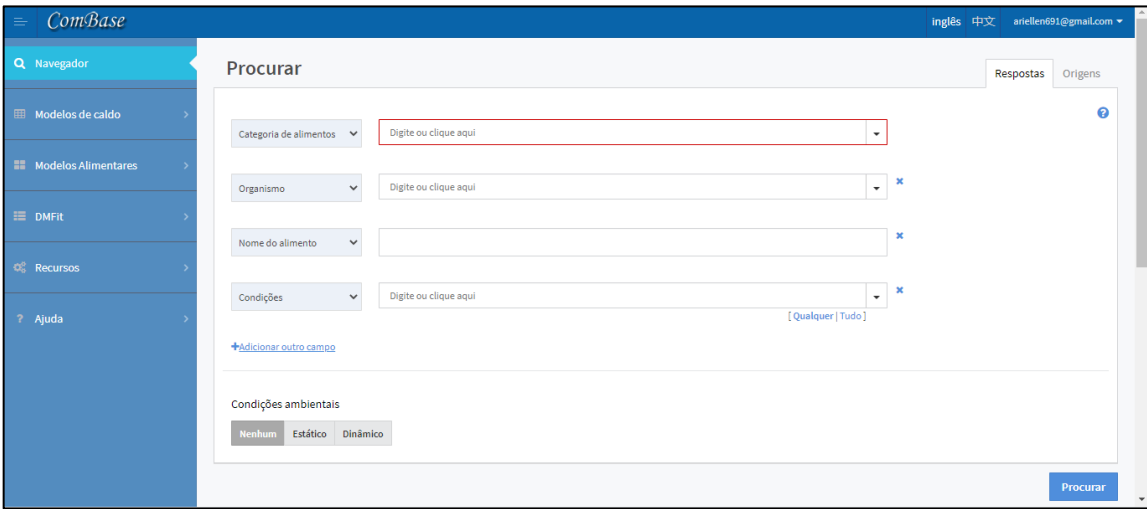
Fonte: elaborado pela autora (2021) adaptado de Tenenhaus-aziza e Ellouze (2015).

3.3.1.1 Combase

O *ComBase* é um banco de dados pertencente a uma colaboração entre a Universidade da Tasmânia (do inglês: *University of Tasmania*) e o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos/Serviço de Pesquisa Agrícola (do inglês: *U.S. Department of Agriculture/Agricultural Research Service - USDA/ARS*).

O *ComBase* compreende um banco de dados sistematicamente formatado de respostas microbianas quantificadas ao ambiente alimentar com mais de 60 mil registros (informação da interface acessada em 20 de março de 2021), que é acessado por meio do *ComBase Browser* (Figura 1) e que permite a pesquisa de dados estáticos ou dinâmicos, com atualizações contínuas.

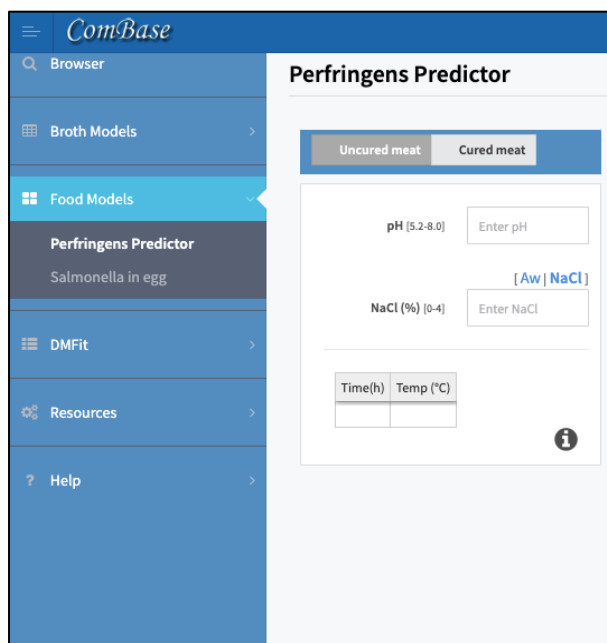
Figura 1 - Interface de busca do *ComBase*



Fonte: <http://www.combase.cc/>

Além disso, o *Combase* possui um conjunto de modelos preditivos validados sobre o crescimento e sobrevivência de microrganismos de origem alimentar sob várias condições ambientais; estes incluem modelos de crescimento, modelos de inativação térmica, modelos de sobrevivência não térmica, um modelo de predição de *Clostridium perfringens* (*Predictor Perfringens*) e um modelo de predição de *Salmonella* em ovo (Figura 2).

Figura 2 – Interface do modelo de predição de *Clostridium perfringens* (*Predictor Perfringens*) no *Combase*.



Fonte: <http://www.combase.cc/>

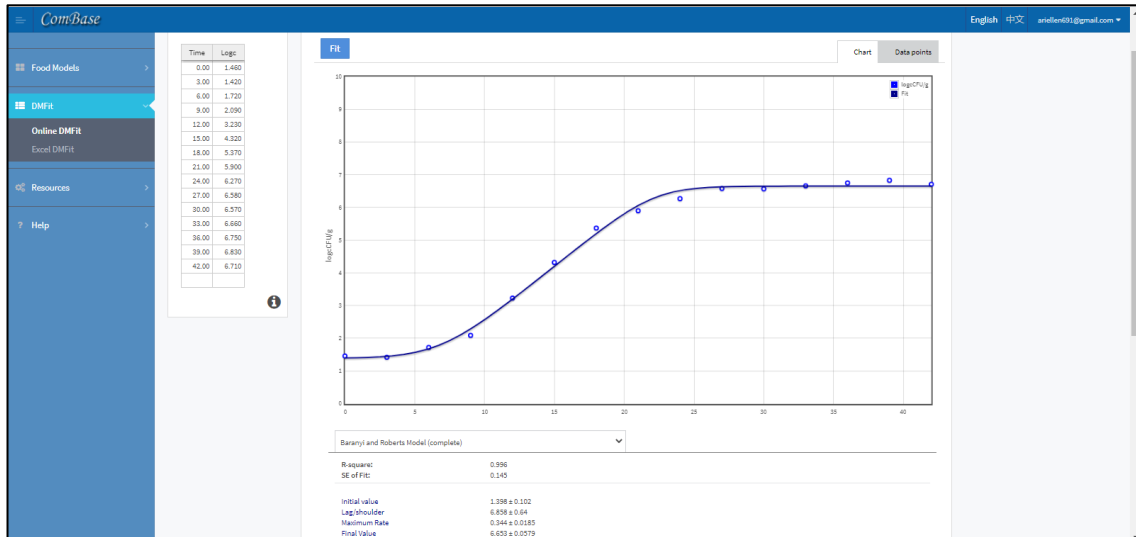
Por meio de um sistema baseado na Web disponível, de interface amigável, possibilita que qualquer pessoa, seja ela atuante ou não da área de microbiologia preditiva, consiga acessar e navegar em sua interface. O *ComBase* permite o usuário identificar os critérios que são relevantes para um cenário específico, incluindo o nível de acidez, a temperatura, a *aw* (ou a concentração de NaCl) e a presença de condições específicas encontradas nos alimentos, tais como aditivos e atmosfera de acondicionamento (USDA, 2016).

Um dos principais recursos do *Combase* é o DMFit, um aplicativo para ajuste de curvas bacterianas, onde uma fase linear é precedida e seguida por uma fase estacionária. Incluídos nesse aplicativo estão dois tipos diferentes de modelos (e suas formas parciais) para o ajuste de curvas bacterianas. O primeiro tipo compreende os modelos de Baranyi e Roberts: completos, sem fase *lag* e sem assíntota. O segundo tipo compreende o modelo trilinear, os modelos bifásicos (sem fase *lag* e sem assíntota) e o modelo linear.

O DMFit também está disponível como um macro do Microsoft Excel[®], que pode ser baixado gratuitamente. Ao ajustar um modelo, o aplicativo mostra uma representação gráfica dos dados microbiológicos de crescimento e exibe as estimativas de parâmetros para a velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{máx}$), tempo de latência, também chamado de fase *lag* (λ), a contagem inicial de células (y_0), a contagem final de células

($Y_{máx}$) e desvios padrão de estimativa sobre esses parâmetros, bem como uma avaliação de ajuste (R^2 ajustado e erro padrão de ajuste) (Figura 3).

Figura 3 – DMFit representação gráfica



Fonte: <http://www.combase.cc/>

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 DADOS DE CRESCIMENTO

Os dados de crescimento em diferentes temperaturas foram obtidos no banco de dados *Combase* (www.combase.cc), utilizando a categoria de alimento “*meat products*”, o microrganismo “*Brochothrix thermosphacta*”, e faixa de temperatura entre 2 e 20 °C. Foram selecionados dados do crescimento (\log_{10} UFC/g) de *B. thermosphacta* (em quadruplicata) em presunto cozido, fatiado e embalado a vácuo em cinco temperaturas de armazenamento: 4 °C, 6 °C, 8 °C, 10 °C e 12 °C. Os dados foram reportados da pesquisa de Hwang e Sheen (2011), intitulada “*Growth characteristics of Listeria monocytogenes as affected by a native microflora in cooked ham under refrigerated and temperature abuse conditions*”, publicada no periódico “*Food Microbiology*”. Os autores, nessa pesquisa, avaliaram o processo de desenvolvimento da *L. monocytogenes* em diversas condições, como por exemplo, o crescimento misto de *L. monocytogenes* e *B. thermosphacta*. No entanto, os dados do crescimento de *B. thermosphacta* em cultura pura não foram apresentados pelos autores, apenas disponibilizados no *Combase*.

4.2 MODELAGEM PRIMÁRIA

Para uma avaliação mais biológica sob a presença de microrganismos e as consequências que eles desencadeiam no alimento armazenado foi utilizado o modelo matemático primário. Ele analisa a dinâmica do microrganismo em função do tempo, o modelo matemático primário sigmoidal com função de ajuste, Baranyi e Roberts (BARANYI; ROBERTS, 1994) (Equações 1, 2 e 3) que foi ajustado às curvas experimentais de *B. thermosphacta* em (PCF) em diferentes temperaturas.

$$y(t) = y_0 + \mu_{m\acute{a}x}F(t) - \ln \left\{ 1 + \frac{e^{\mu_{m\acute{a}x}F(t)} - 1}{e^{y_{m\acute{a}x} - y_0}} \right\} \quad (1)$$

$$F(t) = t + \left(\frac{1}{\mu_{m\acute{a}x}} \right) \ln [e^{(-\mu_{m\acute{a}x}t)} + e^{(-h_0)} - e^{(-\mu_{m\acute{a}x}t - h_0)}] \quad (2)$$

$$h_0 = \mu_{m\acute{a}x}\lambda \quad (3)$$

Nas equações, $y(t)$ é o logaritmo da concentração microbiana N (UFC/g) no tempo t (horas), ou seja, $y(t) = \log [N(t)]$. O parâmetro $\mu_{m\acute{a}x}$ é a velocidade máxima específica de crescimento (h^{-1}); λ é a duração da fase de latência (h); y_0 é o logaritmo da concentração microbiana inicial, $y_0 = \log (N_0)$; $y_{m\acute{a}x}$ é o logaritmo da população máxima, $y_{m\acute{a}x} = \log (N_{m\acute{a}x})$; h_0 é o parâmetro relacionado ao estado fisiológico das células (adimensional); $F(t)$ é a função do modelo Baranyi e Roberts.

4.3 MODELAGEM SECUNDÁRIA

Os modelos secundários linear, potência, exponencial, logarítmico, raiz quadrada e tipo Arrhenius (Equações 4, 5, 6, 7, 8 e 9, respectivamente) foram usados para descrever o efeito da temperatura na velocidade máxima específica de crescimento ($\mu_{m\acute{a}x}$), em que a e b são parâmetros empíricos, T é a temperatura de armazenamento ($^{\circ}C$) e T_{min} é a temperatura teórica mínima de crescimento ($^{\circ}C$).

$$\mu_{max} = aT + b \quad (4)$$

$$\mu_{max} = aT^{(b)} \quad (5)$$

$$\mu_{max} = ae^{(bT)} \quad (6)$$

$$\mu_{m\acute{a}x} = a \ln(T) + b \quad (7)$$

$$\sqrt{\mu_{max}} = a(T - T_{min}) \quad (8)$$

$$\ln \mu_{m\acute{a}x} = a(1/T) + b \quad (9)$$

4.4 MODELO NÃO ISOTÉRMICO

Para a predição do crescimento de *B. thermosphacta* em PCF em condições de oscilações de temperaturas (condições não isotérmicas), foi utilizada a equação diferencial do modelo de Baranyi e Roberts (Equações 10 e 11).

$$\frac{dy(t)}{dt} = \mu_{m\acute{a}x} \left[\frac{1}{1 + e^{-Q(t)}} \right] \{1 - \exp[y(t) - y_{m\acute{a}x}]\} \quad (10)$$

$$\frac{dQ(t)}{dt} = \mu_{m\acute{a}x} \quad (11)$$

Em que, $y(t)$ é o logaritmo da concentração microbiana N (UFC/g) no tempo t (horas), ou seja, $y(t) = \log [N(t)]$. $Q(t)$ é a função de ajuste, considerada como o estado fisiológico das células (BARANYI; ROBERTS, 1994).

As Equações 12 e 13 descrevem as condições iniciais utilizadas para resolver as Equações diferenciais 10 e 11.

$$Q(0) = Q_0 \quad (12)$$

$$y(0) = y_0 \quad (13)$$

Em que, y_0 representa o logaritmo da concentração microbiana inicial N_0 , ou seja, $y(0) = \log [N_0]$; Q_0 é considerado como o valor do estado fisiológico inicial das células, que relaciona-se com o parâmetro h_0 , por meio da Equação 14.

$$Q_0 = -\log[\exp(h_0) - 1] \quad (14)$$

As condições não isotérmicas utilizadas para a simulação do crescimento de *B. thermosphacta* em PCF estão representadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Condições não isotérmicas utilizadas para a predição do crescimento de *B. thermosphacta* em PCF.

Condição não isotérmica	Tempo e temperatura de simulação (°C)
CN ₁	10 °C [10 h], 8 °C [10 h], 6 °C [10 h] e 4 °C [10 h]
CN ₂	4 °C [10 h], 6 °C [10 h], 8 °C [10 h] e 10 °C [10 h]
CN ₃	4 °C [5 h], 6 °C [5 h] e 4 °C [30 h]
CN ₄	4 °C [5 h], 8 °C [5 h] e 4 °C [30 h]
CN ₅	4 °C [5 h], 10 °C [5 h] e 4 °C [30 h]
CN ₆	4 °C [5 h], 12 °C [5 h] e 4 °C [30 h]

Fonte: elaborada pela autora (2021).

4.4 ANÁLISES NUMÉRICAS

Os ajustes do modelo primário aos dados experimentais de crescimento de *B. thermosphacta* em PCF nas temperaturas de armazenamento entre 4 °C e 12 °C foram realizados no DMFit online, na interface do *Combase*. O ajuste foi realizado em apenas uma etapa, obtendo os parâmetros $\mu_{m\acute{a}x}$, λ , y_0 e $y_{m\acute{a}x}$. O parâmetro h_0 foi calculado pela

Equação 3 (seção 4.1). Em seguida, um valor médio aritmético do parâmetro h_0 foi calculado para todas as temperaturas.

Os modelos secundários foram ajustados no programa Microsoft Excel[®]. As equações dos modelos secundários e o valor médio de h_0 foram usados para a predição do crescimento de *B. thermosphacta* em PCF em condições não isotérmicas, que foram realizadas em planilhas do Excel[®] pela resolução da equação diferencial do modelo de Baranyi e Roberts (Equações 10 e 11), pelo método de Runge-Kutta 4ª ordem.

4.5 AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DOS MODELOS

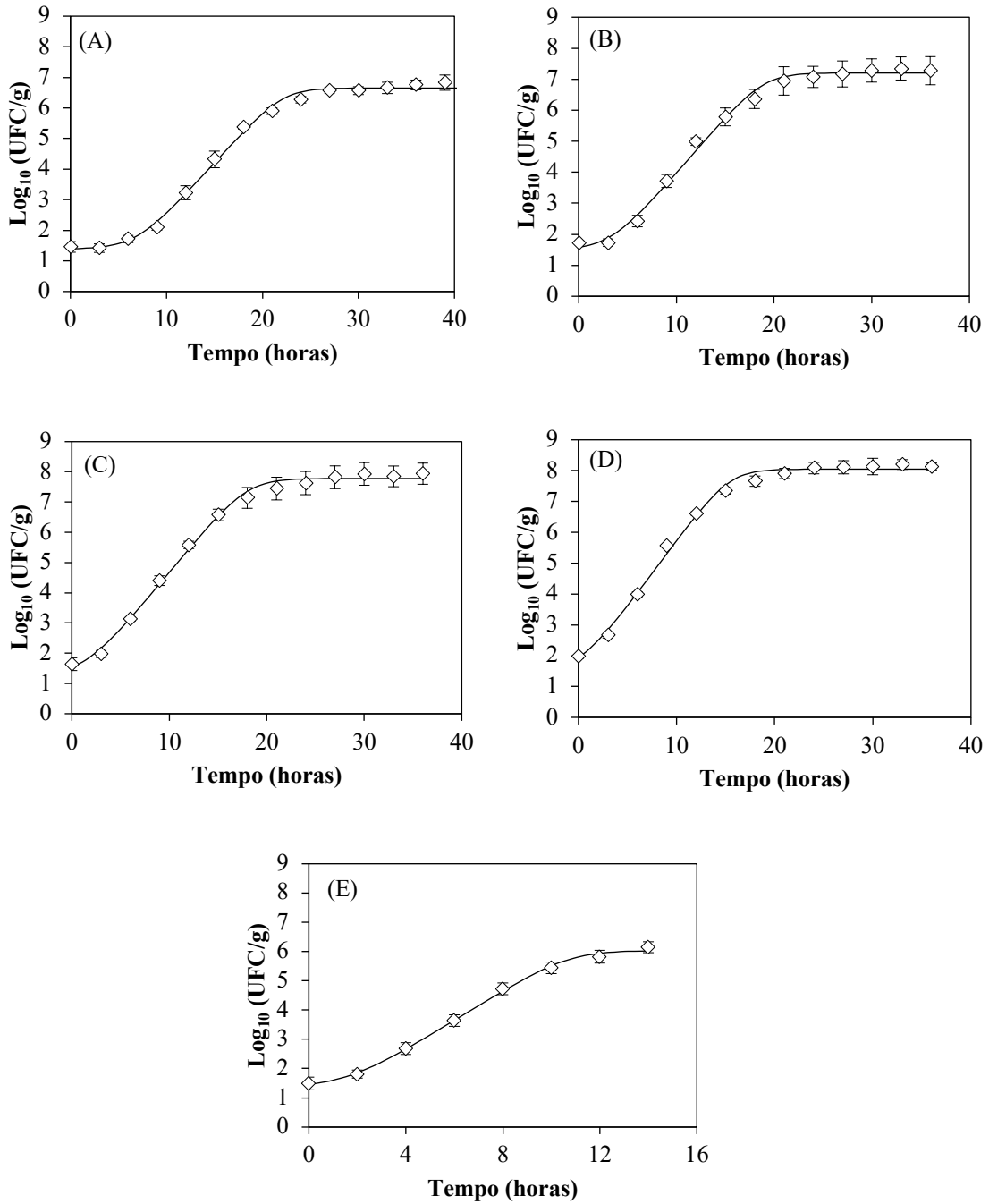
Para avaliar o desempenho do modelo primário, foram usados o Coeficiente de Determinação (R^2) e o Erro Padrão (EP) do ajuste, obtidos no DMFit. Um valor de $R^2 = 1$ e $EP = 0$ indica que existe uma concordância perfeita entre todos os dados experimentais e os valores do ajuste do modelo. Já o desempenho dos modelos secundários foi avaliado pelo R^2 , obtido do ajuste dos modelos aos dados de $\mu_{m\acute{a}x}$ em função da temperatura de armazenamento.

5. RESULTADOS E DISCUSÃO

Os dados de crescimento utilizados neste trabalho foram obtidos do artigo de Hwang e Sheen (2011). Embora os autores tenham analisado o comportamento de *L. monocytogenes* no presunto, as curvas de crescimento da inoculação de uma segunda bactéria, a *B. thermosphacta*, foram disponibilizadas na base de dados do *ComBase*. Os autores realizaram o crescimento misto com o objetivo de simular uma microbiota natural e, assim, observar o comportamento de um microrganismo patogênico frente a um microrganismo deteriorante em uma matriz alimentar, que foi o presunto.

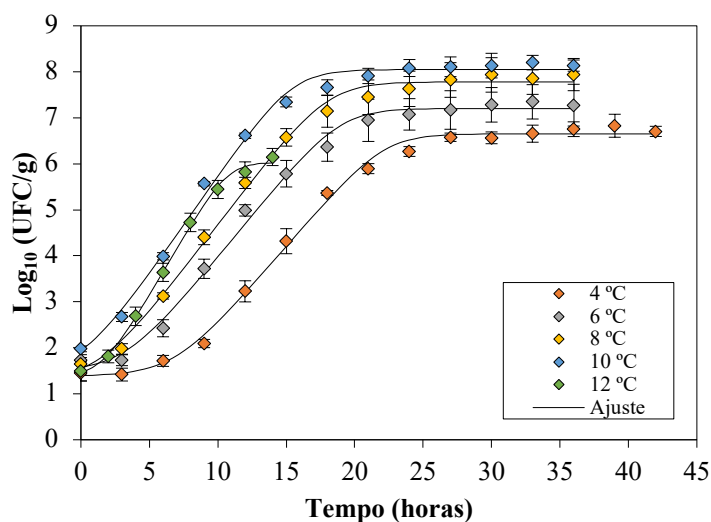
As curvas de crescimento de *B. thermosphacta* em presunto cozido, fatiado e embalado a vácuo e os ajustes do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais nas temperaturas entre 4 °C e 12 °C de armazenamento estão representadas nas Figura 4 e 5.

Figura 4 - Curvas de crescimento de *Brochothrix thermosphacta* em presunto cozido, fatiado e embalado a vácuo e os ajustes do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais nas temperaturas de (A) 4 °C, (B) 6 °C, (C) 8 °C, (D) 10 °C e (E) 12 °C de armazenamento. Em todos os gráficos, os dados experimentais estão representados pelos símbolos sem preenchimento e a linha contínua representa o ajuste do modelo de Baranyi e Roberts.



Fonte: elaborada pela autora (2021).

Figura 5 - Compilação das curvas de crescimento de *Brochothrix thermosphacta* em presunto cozido, fatiado e embalado a vácuo, já apresentadas anteriormente, e os ajustes do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais nas temperaturas de 4 °C, 6 °C, 8 °C, 10 °C e 12 °C de armazenamento.



Fonte: elaborada pela autora (2021).

Ao observar a Figura 4 é possível verificar o ótimo crescimento de *B. thermosphacta*, atingindo valores máximos de crescimento entre 6 e 7 log₁₀ (UFC/g), em aproximadamente 25 h, para todas as temperaturas avaliadas. Esses valores são considerados como o limite crítico de deterioração de produtos cárneos (SLONGO, 2009; DALCANTON, 2010; IRKIN et al., 2011; PIOTROWSKA-CYP et al., 2017; MENEZEZ et al., 2018; MARTINS et al., 2020). De acordo com Diez (2009), ao atingirem esse limite ocorre as primeiras alterações no produto, como na textura, odor ou sabor, tornando-o impróprio a comercialização e ao consumo. Assim, destaca-se a importância de manter toda a cadeia do frio, com a finalidade de aumentar a fase *lag* e de retardar ao máximo a fase exponencial de crescimento, evitando atingir o limite crítico de deterioração.

Na Figura 4E, que representa o crescimento de *B. thermosphacta* a 12 °C, considerando como uma temperatura de abuso, o crescimento atingiu valor máximo na ordem de 6 log₁₀ (UFC/g) em menos de 16 horas. É possível verificar que a curva de crescimento não apresentou uma fase estacionária, pois ainda tinha uma tendência de continuidade da fase exponencial até a fase estacionária. Esse fato pode ter ocorrido devido interrupção do experimento, já que o foco dos autores dos dados foi estudar o comportamento de *L. monocytogenes* em cultura pura e em cultura mista com *B. thermosphacta*, e não a cultura pura dessa espécie deteriorante.

Para tornar a visualização da influência da temperatura no crescimento microbiano, todas as curvas foram plotadas em um único gráfico, representado na

Figura 5, em que, foi possível observar o crescimento ótimo de *B. thermosphacta* em todas as temperaturas avaliadas. Esse fato pode ter ocorrido devido a sua capacidade de crescimento em condições de refrigeração. Além disso, a bactéria foi inoculada em condições ótimas de cultivo, diretamente na matriz alimentar (presunto), que representa uma condição ótima para o seu desenvolvimento.

Tabela 2 - Parâmetros de crescimento (\pm DP) estimados pelo ajuste do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais de *B. thermosphacta* PCF artificialmente inoculada a 4, 6, 8, 10 e 12 °C e os índices estatísticos de desempenho do modelo.

Temperatura (°C)	Parâmetros de crescimento			Índices estatísticos	
	λ (h)	$\mu_{m\acute{a}x}$ (h ⁻¹)	$y_{m\acute{a}x}$ (log ₁₀)	R ²	Erro padrão
4	6,86 \pm 0,64	0,34 \pm 0,02	6,65 \pm 0,06	0,996	0,145
6	3,43 \pm 0,87	0,36 \pm 0,02	7,20 \pm 0,08	0,993	0,188
8	1,94 \pm 0,75	0,39 \pm 0,02	7,78 \pm 0,07	0,995	0,170
10	1,15 \pm 0,62	0,43 \pm 0,03	8,05 \pm 0,07	0,995	0,171
12	1,71 \pm 0,20	0,51 \pm 0,01	6,04 \pm 0,07	0,998	0,078

Fonte: elaborada pela autora (2021).

A microbiota inicial para os produtos cárneos é caracterizada por diversos autores como 10 a 10³ UFC/g (1 a 3 log₁₀), mas independente da temperatura de crescimento, as contagens iniciais obtidas no estudo foram, em média, de 1,6 log₁₀, indicando que as curvas de crescimento foram construídas partindo aproximadamente do mesmo ponto.

Como presumido, a temperatura é um fator importante no crescimento dos microrganismos, com um aumento da velocidade específica máxima de crescimento e, conseqüentemente, diminuição da fase *lag*. Foi possível observar que os valores de do parâmetro λ diminuíram com o aumento da temperatura, com valores variando entre 1,15 h e 6,86 h, com exceção da temperatura de 12 °C, que atingiu valor de 1,71 h, valor maior do que o encontrado para 10 °C (1,15 h). Essa diferença pode ter ocorrido devido ao formato não sigmoidal da curva de 12 °C (Figura 4E). O contrário ocorreu com a velocidade de crescimento, em que foi possível observar um aumento em temperaturas mais elevadas, variando de 0,34 (h⁻¹) a 0,51 (h⁻¹) nas temperaturas de 4 °C a 12 °C, respectivamente.

Com relação ao parâmetro $y_{m\acute{a}x}$, *B. thermosphacta* atingiu maior valor na temperatura de 10 °C (8,05 log₁₀) e valores próximos ao limite crítico de deterioração

(7 log₁₀) nas temperaturas de 6 °C e 8 °C. Porém, nas temperaturas de 4 °C e 12 °C, os valores de $y_{m\acute{a}x}$ não ultrapassaram 6 log₁₀.

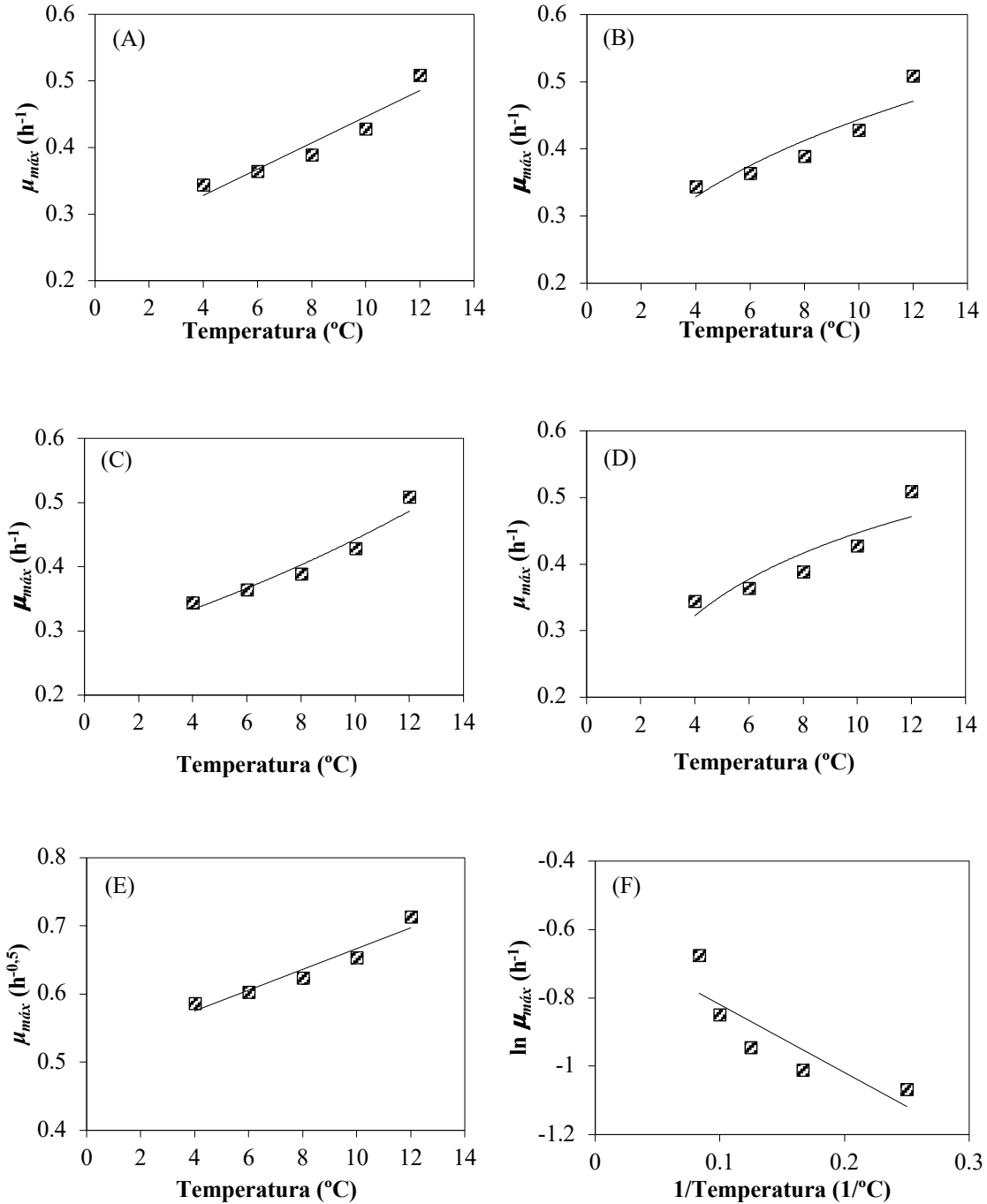
Ao avaliar os índices estatísticos do desempenho do modelo de Baranyi e Roberts, pode-se afirmar que o modelo apresentou ótimo desempenho para descrever o crescimento de *B. thermosphacta* em PCF nas cinco temperaturas avaliadas, com valores de $R^2 \geq 0,99$ e Erros Padrão dos ajustes próximos de zero. No entanto, um melhor desempenho pode ser observado para a curva de 12 °C, com valor de R^2 de 0,998 e Erro Padrão de 0,078.

De acordo com os resultados publicados por Hwang e Sheen (2011), em temperaturas baixas, de 4 a 8 °C, o crescimento de *B. thermosphacta* foi maior do que *L. monocytogenes*, quando cultivadas em cultura mista no PCF. Enquanto, nas temperaturas abusivas, de 10 e 12 °C, o crescimento dominante passou a ser da bactéria *L. monocytogenes*, frente ao crescimento de *B. thermosphacta*. Assim, pode-se observar a importância de manter a cadeia do frio, pois a temperatura influencia diretamente nos parâmetros de qualidade e segurança dos produtos. Assim, diferentes modelos secundários foram utilizados para avaliar a influência da temperatura na velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{m\acute{a}x}$) de *B. thermosphacta* (Figura 6).

Os resultados dos ajustes obtidos neste trabalho corroboram com o estudo realizado por Anjos (2013), ao estudar o crescimento de *B. thermosphacta* em diferentes temperaturas e valores de pH, obtendo um bom ajuste dos modelos primários Baranyi e Roberts e Gompertz modificado (ZWIETERING et al., 1990), com valores de R^2 variando entre 0,989 e 0,99 para todas as condições, valores esses próximos aos relatados neste estudo.

Os modelos secundários que melhor se ajustaram aos dados do parâmetro $\mu_{m\acute{a}x}$ obtidos pelo ajuste do modelo de Baranyi e Roberts para os dados de PCF embalado a vácuo são apresentados na Figura 6 e as equações dos modelos com seus parâmetros ajustados são apresentadas na Tabela 3.

Figura 6 - Modelos secundários que representam o efeito da temperatura no parâmetro velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{m\acute{a}x}$) de *Brochothrix thermosphacta* em presunto cozido, fatiado e embalado a vácuo. (A) modelo linear, (B) modelo da potência, (C) modelo exponencial, (D) modelo logarítmico, (E) modelo da raiz quadrada e (F) modelo do tipo Arrhenius.



Fonte: elaborada pela autora (2021).

Tabela 3 - Equações dos modelos secundários que representam a influência da temperatura do no parâmetro velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{m\acute{a}x}$) de *Brochothrix thermosphacta*.

Modelos	Equação	R²
Linear	$\mu_{m\acute{a}x} = 0,0197 \times T + 0,2492$	0,914
Potência	$\mu_{m\acute{a}x} = 0,2084 \times T^{(0,3282)}$	0,855
Exponencial	$\mu_{m\acute{a}x} = 0,276 \times e^{0,0473 \times T}$	0,943
Logarítmico	$\mu_{m\acute{a}x} = 0,1355 \times \ln(T) + 0,1345$	0,814
Raiz quadrada	$\sqrt{\mu_{m\acute{a}x}} = 0,0152 (T + 33,83)$	0,929
Tipo Arrhenius	$\ln \mu_{m\acute{a}x} = -1,9878 \times (1/T) - 0,6209$	0,739

Fonte: elaborada pela autora (2021).

Ao analisar a Figura 6, é possível verificar de forma qualitativa que todos os modelos apresentaram bons ajustes aos dados experimentais, sendo que os modelos secundários apresentados na Tabela 3 podem ser usados para prever a velocidade específica máxima de crescimento de *B. thermosphacta* nas condições estudadas e em condições que não extrapolem a temperatura no intervalo entre 4 °C e 12 °C.

Os modelos exponencial, raiz quadrada e linear apresentaram valores de R² acima de 0,9, com maior destaque para o modelo exponencial, com valor de R² igual a 0,943. Os valores de R² próximos a 1,0 são considerados como um ajuste satisfatório (ROSS, 1996). No entanto, muitos autores reportaram o uso do modelo da raiz quadrada para descrever o efeito de fatores extrínsecos, como a temperatura, nos parâmetros de crescimento de bactérias deteriorantes de produtos cárneos (ANJOS, 2013; SILVA et al., 2017; SILVA et al., 2018; SEVERO, 2018; MARTINS et al., 2020). Dessa forma, foi realizada uma comparação entre os modelos exponencial e raiz quadrada para predição do crescimento e, a partir das predições geradas, não foram obtidas diferenças, sendo o modelo da raiz quadrada escolhido para gerar as predições do crescimento de *B. thermosphacta* em PCF em condições não isotérmicas.

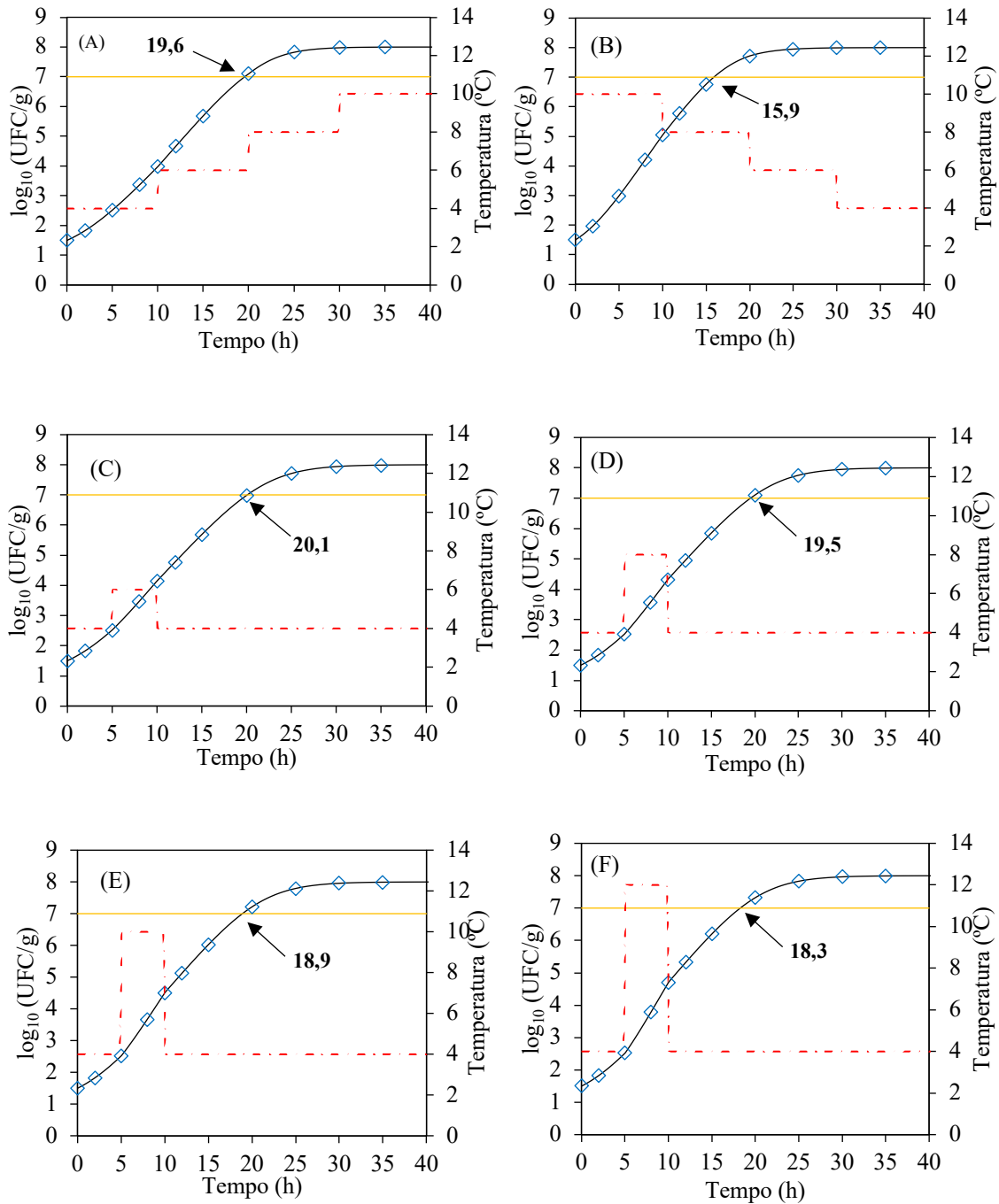
Ao avaliar um produto cárneo que difere do estudado (MEZARROBA et al., 2016) verificou que, em filé de peito, o modelo primário que melhor se adequou foi o de Baranyi, se mostrando com uma maior eficácia nos seus dados, juntamente com o secundário exponencial que foi destaque no estudo sobre *B. thermosphacta*, contudo cada estudo distingue o melhor modelo a se seguir na predição, mas foi ressaltado que a predição utilizada para as bactérias ácido lácticas é confiável para ser utilizadas em

demais produtos e pode ser considerado seguro em estudos de outras bactérias que possam causar deterioração ao produto, reduzindo assim a sua vida útil.

A equação do modelo secundário Raiz quadrada e o valor médio de h_0 foram usados para a predição do crescimento de *B. thermosphacta* em PCF em condições não isotérmicas (simulações), a partir da resolução da equação diferencial do modelo de Baranyi e Roberts, por meio do método de Runge-Kutta 4ª ordem. As condições de oscilação de temperatura foram simuladas baseando-se em ocorrências de diversos abusos de temperatura no armazenamento de alimentos, como o acondicionamento dos alimentos em refrigeradores domésticos, no dia a dia dos consumidores, o desligamento de freezers dos supermercados durante um período, com o intuito de economia de energia, bem como falhas operacionais durante o transporte refrigerados dos alimentos, ocasionando um aumento na sua temperatura externa e interna. As simulações da variação de temperatura, a predição do crescimento, o limiar de vida útil do alimento e a simulação dos dados experimentais estão representadas na Figura 7.

O limite crítico utilizado para estimar a vida útil do PCF nas condições não isotérmicas foi de 10^7 UFC/g ($7 \log_{10}$), de acordo com vários autores que indicaram que, ao atingir esse valor, o alimento já se encontra em processo de deterioração, com alterações na cor, no odor e na textura, tornando-o inadequado ao consumo (SLONGO 2009; DALCANTON, 2010; IRKIN et al., 2011; MENEZEZ et al., 2018; MARTINS et al., 2020).

Figura 7 – Predição do crescimento de *Brochothrix thermosphacta* em presunto cozido, fatiado e embalado a vácuo em diferentes condições de armazenamento isotérmico, (A) 4-6-8-10 °C, (B) 10-8-6-4 °C, (C) 4-6-4 °C, (D) 4-8-4 °C, (E) 4-10-4 °C e (F) 4-12-4 °C. Em todos os gráficos, a linha contínua preta representa a predição do modelo de Baranyi e Roberts, a linha em tracejada em vermelho representa a simulação do perfil de temperatura, os símbolos em azul representam uma simulação dos dados de crescimento de *Brochothrix thermosphacta* e a linha em amarelo representa o limite crítico de deterioração estabelecido em 7 log₁₀ (UFC/g). As setas indicam o tempo para atingir o limite crítico.



Fonte: elaborada pela autora (2021).

De acordo com os resultados apresentados na Figura 7, é possível observar que o aumento gradual da temperatura (Figura 4A), de tanto a tanto, possui menor influência na vida útil do PCF (19,6 h) quando comparado com a condição de temperatura de tanto a tanto (Figura 7B), quando a temperatura é decrescente, exemplificando uma possível falha no início da cadeia do frio do produto, o qual atinge o limite crítico em 15,9 horas, demonstrando que a refrigeração não é capaz de recuperar a segurança do alimento que apresenta elevados níveis de alteração. Assim, destaca-se a importância na manutenção da cadeia do frio, principalmente pelos consumidores que, na maioria dos casos, não possuem informações, conhecimentos científicos ou hábitos de leitura dos rótulos sobre a forma de armazenamento dos alimentos. Além disso, muitos consumidores selecionam os produtos cárneos refrigerados e prontos para o consumo no início das compras, permanecendo em sem refrigeração até chegar no refrigerador doméstico, provocando um aumento expressivo no crescimento de microrganismos deteriorantes.

Ao analisar a Figura 7C-F, na qual apresenta abuso de diferentes temperaturas nas primeiras cinco horas da cadeia do frio, é possível observar que uma amplitude de 2 °C em cada condição não isotérmica representou uma diminuição expressiva na vida útil de PCF embalado a vácuo. Assim, as simulações comprovam a importância da manutenção constante da cadeia do frio da carne e produtos cárneos, pois uma mínima alteração nessas condições pode provocar um aumento expressivo no crescimento de microrganismos deteriorantes, comprometendo, assim, a segurança e a qualidade desses produtos.

De acordo com Galarz (2008), a manutenção da cadeia do frio para alimentos comercializados, principalmente, os produtos cárneos é de grande importância, uma vez que o abuso de temperatura pode ocasionar a predominância de um patógeno, que irá diminuir a segurança daquele produto uma vez que seu crescimento for efetivo.

A aplicação de modelos preditivos e *softwares* de fácil utilização pode auxiliar às indústrias de cárneos na determinação da vida útil de alimentos, sem a necessidade de realização de vários experimentos para determinar a qualidade e a segurança desses produtos. Além disso, os modelos podem ser utilizados para a tomada de decisão nas diversas áreas de ciência e tecnologia de alimentos, como verificar a eficiência de aditivos na conservação de alimentos, o desenvolvimento de novas formulações de alimentos, novas embalagens para o aumento da vida útil de alimentos, entre outras aplicações.

Badia (2018) validou modelos preditivos para determinar a vida útil de linguiça toscana embalada a vácuo adicionada de óleo essencial de alecrim e orégano em

diferentes temperaturas de armazenamento, por meio do crescimento de *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp. e BAL. Nesse trabalho, não foi possível validar o modelo não isotérmico para o crescimento de *B. thermosphacta* em PCF, uma vez que é necessária a realização dos experimentos nessas condições para avaliar o desempenho do modelo a partir dos índices estatísticos.

6. CONCLUSÕES

O modelo primário de Baranyi e Roberts apresentou bom desempenho para descrever o crescimento da *B. thermosphacta* em presunto cozido, fatiado e embalado a vácuo, com a obtenção dos parâmetros de crescimento. Além disso, os modelos secundários descreveram bem a influência da temperatura na velocidade específica máxima de crescimento de *B. thermosphacta*, com destaque para os modelos Exponencial e Raiz quadrada. A partir dos modelos primário e secundário da Raiz quadrada foi possível estabelecer um modelo não isotérmico e estudar a vida útil de presunto cozido, fatiado e embalado a vácuo, considerando oscilações de temperaturas que simulam as condições em que os produtos são armazenados inadequadamente, evidenciando a importância da manutenção da cadeia do frio. Assim, pode-se concluir que a aplicação de modelos preditivos e *softwares* de fácil utilização pode auxiliar às indústrias de carnes na determinação da vida útil de alimentos, sem a necessidade de realização de vários experimentos para determinar a qualidade e a segurança dos produtos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABPA – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. Relatório Anual 2020. 2020. Disponível em: <https://abpa-br.org/relatorios>. Acesso em 19 de março de 2021.

ALCANTARA, M. et al. Principais Microrganismos envolvidos na deterioração das características sensoriais de derivados cárneos. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, Ceará, v. 7, n. 1, p. 1-20, 2012.

ANJOS, L. D. **Modelos de crescimento de psicrotróficos em diferentes temperaturas e pH**. Dissertação de mestrado integrado em medicina veterinária, 2013.

BADIA, V. **Modelagem do efeito da aplicação de óleos essenciais de alecrim (*rosmarinus officinalis*) e orégano (*origanum vulgare*) sobre a vida útil de linguiça toscana embalada a vácuo**. 2018. 70p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Curso de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade do Estado de Santa Catarina, Pinhalzinho, 2018.

BARANYI, J. TAMPLIN, M. L. ComBase: A Common Database on Microbial Responses to Food Environments. **Journal of Food Protection**, v. 67, n. 9, p. 1967-1971, 2004.

BARANYI, J.; ROBERTS, T. A. A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. **International Journal of Food Microbiology**, v. 23, p. 277-294, 1994.

BRASIL. **Embrapa suínos e aves**. 2019. Disponível em: <https://www.embrapa.br/suinos-e-aves/cias/mapas>. Acesso em 19 de março de 2021.

BUCHANAN, R. L. Predictive Microbiology: mathematical modeling of microbial growth in foods. **American Chemical Society Symposium Series**, v. 484, p. 250-260, 1991.

DAVEY, K. R. Modeling the combined effect of temperature and pH on the rate coefficient for bacterial growth. **International Journal of Food Microbiology**, v. 23, n. 3-4, p. 295-303, 1994.

GALARZ, L. A. **Estimativa da vida útil em peito de frango em diferentes temperaturas de armazenamento**. 2008. 123p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2008.

GEITENES, S. et al. Modelagem do Crescimento de Bactérias Lácticas e Análise Microbiológica em Apresuntado e Presunto Cozido Fatiados e Embalados a Vácuo. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v. 15, n. 1, p. 113-133, 2013.

HAN, C. **Aplicación en carne de cerdo de un bioconservante en polvo obtenido a partir de pediococcus acidilactici**. Máster (Ciência e Ingeniería de los Alimentos), Universitat Politècnica de València, 2020.

HWANG, C.; SHEEN, S. Growth characteristics of *Listeria monocytogenes* as affected by a native microflora in cooked ham under refrigerated and temperature abuse conditions. **Food Microbiology**, v. 1, n. 28, p. 350-355, 2010.

ILLIKOUD, N.; JAFFRÈS, E.; ZAGOREC, M. **Enciclopèdia de Microbiologia: *Brochothrix thermosphacta***, ed. 4, p. 588-603, 2018.

LEAL, D. A. **Efeito da temperatura de armazenamento nas características físico-químicas e microbiológicas de salsichas embaladas a vácuo**. 2018. 56p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2018.

LONGHI, D. A. **Delineamento experimental ótimo para a estimativa dos parâmetros do crescimento de *Weissella viridescens* em condições não-isotérmicas**. 2016. 133p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016.

MARTINS, W. F. et al. A mathematical modeling approach to the quantification of lactic acid bacteria in vacuum-packaged samples of cooked meat: Combining the TaqMan-based quantitative PCR method with the plate-count method. **International Journal of Food Microbiology**, v. 318, 108466, 2020.

MATHIAS, S. P. **Avaliação Físico-Química, Microbiológica e Sensorial do Presunto de Peru Submetido à Tecnologia de Alta Pressão Hidrostática**. 2008, 53p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Programa de pós-graduação em ciência e tecnologia de alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

MC MEEKIN, T. A. et al. Quantitative microbiology: A basis for food safety. **Emerging Infectious Diseases**, v. 3, p. 541–549, 1997.

MC MEEKIN, T. A.; ROSS, T. Shelf life prediction: status and future possibilities. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 33, p. 65-83, 1996.

McKELLAR, R. C.; LU, X. Modeling Microbial response in Food. **CRC series in contemporary food science**. CRC PRESS Boca Raton, London, New York, Washington, D.C., 2004.

MENEZES, N. M. C. **Efeito da adição de óleo essencial de orégano sobre a vida útil de presunto fatiado embalado a vácuo: modelagem em condições isotérmicas e não isotérmicas**. 2016, 78p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016.

MENEZES, N. M. C. et al. Modeling the effect of oregano essential oil on shelf-life extension of vacuum-packed cooked sliced ham. **Meat Science**, v. 139, p. 113-119, 2018.

MEZAROBA, M. E. P. et al. Estimativa da vida útil e dos parâmetros de crescimento de bactérias ácido-lácticas em filés de peito de frango resfriados embalados a vácuo e com

atmosfera modificada. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 34, n 1, p. 1-14, 2016.

MOHSINA, K. et al. Effect of glucose, pH and lactic acid on *Carnobacterium maltaromaticum*, *Brochothrix thermosphacta* and *Serratia liquefaciens* within a commercial heat shrunk vacuum-package film. **Food Microbiology**, n. 91, 10351, 2020.

PATEIRO, M. et al. Antioxidant active packaging systems to extend the shelf life of sliced cooked ham. **Current Research in Food Science**, v. 1, p. 24-30, 2019.

PAULOS, F. L. P. J. **Estudo da interrupção da refrigeração no prazo de validade de carne embalada em atmosfera protetora**. 2015. 69p. Dissertação (Mestrado em medicina veterinária) - Programa de Pós-Graduação em medicina veterinária, Lisboa, 2015.

PELLISSERY, A. J. et al. Spoilage bacteria and meat quality. **Ed. Academic Press**, p. 308-334, 2020.

PIOTROWSKA-CYPLIK, A. et al. Characterization of specific spoilage organisms (SSOs) in vacuum-packed ham by culture-plating techniques and MiSeq nextgeneration sequencing technologies. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, p. 659–668, 2017.

RAIMONDI, S. et al. Microbiota of sliced cooked ham packaged in modified atmosphere throughout the shelf life Microbiota of sliced cooked ham in MAP. **International Journal of Food Microbiology**, v. 289, p. 200-208, 2019.

ROBAZZA, W. S.; TELEKEN, J. T.; GOMES, G. A. Modelagem Matemática do Crescimento de Microrganismos em Alimentos. **TEMA**, v. 1, p. 101-110, 2010.

ROSS, T. Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology. **Journal Applied Bacteriology**, v. 81, p. 501–508, 1996.

ROSS, T.; DALGAARD, P. Secondary models. R.C. McKellar, X. Lu (Eds.), *Modeling Microbial Responses in Food*, CRC Press, **Boca Raton**, p. 63–150, 2004.

SCHLEI, K. P. et al. Microbiologia preditiva: aspectos gerais e tendências. **Perspectivas da Ciência e Tecnologia**, v. 10, p. 52-68, 2018.

SEVERO, D. S. **Modelagem do crescimento de *Leuconostoc mesenteroides* em cultura pura e mista usando PCR quantitativo (qPCR)**. 2018. 80p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2018.

SILVA, A. P. R. et al. Modelling the growth of lactic acid bacteria at different temperatures. **Biological and Applied Sciences**, v. 61, 2018.

SILVA, N. B. et al. Modeling the growth of *Lactobacillus viridescens* under non-isothermal conditions in vacuum-packed sliced ham. **International Journal of Food Microbiology**, v. 240, p 97-101, 2017.

SLONGO, A. P. **Uso de alta pressão hidrostática em presunto fatiado: avaliação físico-química e sensorial e modelagem do crescimento microbiano**. 2008, 144p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

STAVROPOULOU, E.; BEZIRTZOGLU, E. Predictive Modeling of Microbial Behavior in Food. **Foods**, v. 8, n. 12, p. 1-16, 2019.

TENENHAUS-AZIZA, F.; ELLOUZE, M. Predictive microbiology in food: today's tools to meet stakeholders' expectations. **Proceedings of the 8th International Conference on Predictive Modelling in Food**, 2013.

TENENHAUS-AZIZA, F.; ELLOUZE, M. Software for predictive microbiology and risk assessment: A description and comparison of tools presented at the ICPMF8 Software Fair. **Food Microbiology**, v. 45, p. 290-299, 2015.

USDA. Overview of predictive microbiology. **Predictive Microbiology Information Portal**, 2016.

VERCAMMEN, A. et al. Shelf-life extension of cooked ham model product by high hydrostatic pressure and natural preservatives. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 12, p. 407-415, 2011.

WHITING, R.; BUCHANAN, R. A classification of models in predictive microbiology - reply. **Food Microbiology**, v. 10, n. 2, p. 175-177, 1993.

ZWIETERING, M. H. et al. Modeling of bacterial growth curve. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, n. 6, p. 1875-1881, 1990.