

WIASLAN FIGUEIREDO MARTINS
(Organizador)



TECNOLOGIA & **MICROBIOLOGIA** SOB A PERSPECTIVA DA SEGURANÇA DOS ALIMENTOS



editora
científica digital

WIASLAN FIGUEIREDO MARTINS
(Organizador)



TECNOLOGIA & MICROBIOLOGIA

SOB A PERSPECTIVA DA SEGURANÇA DOS ALIMENTOS

1ª EDIÇÃO



editora
científica digital

2021 - GUARUJÁ - SP



EDITORA CIENTÍFICA DIGITAL LTDA
Guarujá - São Paulo - Brasil
www.editoracientifica.org - contato@editoracientifica.org

Diagramação e arte Equipe editorial	2021 by Editora Científica Digital Copyright© 2021 Editora Científica Digital
Imagens da capa Adobe Stock - licensed by Editora Científica Digital - 2021	Copyright do Texto © 2021 Os Autores Copyright da Edição © 2021 Editora Científica Digital
Revisão Os autores	Acesso Livre - Open Access

Parecer e revisão por pares

Os textos que compõem esta obra foram submetidos para avaliação do Conselho Editorial da Editora Científica Digital, bem como revisados por pares, sendo indicados para a publicação.

O conteúdo dos capítulos e seus dados e sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. É permitido o download e compartilhamento desta obra desde que no formato Acesso Livre (Open Access) com os créditos atribuídos aos respectivos autores, mas sem a possibilidade de alteração de nenhuma forma ou utilização para fins comerciais.



Esta obra está licenciado com uma Licença Creative Commons Atribuição-Não Comercial-Sem Derivações 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

T255

Tecnologia e microbiologia sob a perspectiva da segurança dos alimentos [livro eletrônico] / Organizador Wiaslan Figueiredo Martins. – Guarujá, SP: Científica Digital, 2021.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

ISBN 978-65-65-5360-007-2

DOI 10.37885/978-65-65-5360-007-2

1. Alimentos – Indústria – Controle de qualidade. 2. Alimentos – Indústria – Controle de produção. 3. Gestão da qualidade total. I. Martins, Wiaslan Figueiredo.

CDD 664.07

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

E-BOOK
ACESSO LIVRE ON LINE - IMPRESSÃO PROIBIDA

2021

CORPO EDITORIAL

Direção Editorial

Reinaldo Cardoso

João Batista Quintela

Editor Científico

Prof. Dr. Robson José de Oliveira

Assistentes Editoriais

Erick Braga Freire

Bianca Moreira

Sandra Cardoso

Bibliotecário

Maurício Amormino Júnior - CRB6/2422

Jurídico

Dr. Alandelon Cardoso Lima - OAB/SP-307852



editora
científica digital

CONSELHO EDITORIAL

MESTRES, MESTRAS, DOUTORES E DOUTORAS

Robson José de Oliveira

Universidade Federal do Piauí, Brasil

Eloisa Rosotti Navarro

Universidade Federal de São Carlos, Brasil

Rogério de Melo Grillo

Universidade Estadual de Campinas, Brasil

Carlos Alberto Martins Cordeiro

Universidade Federal do Pará, Brasil

Ernane Rosa Martins

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, Brasil

Rossano Sartori Dal Molin

FSG Centro Universitário, Brasil

Domingos Bombo Damião

Universidade Agostinho Neto, Angola

Carlos Alexandre Oelke

Universidade Federal do Pampa, Brasil

Patrício Francisco da Silva

Universidade CEUMA, Brasil

Reinaldo Eduardo da Silva Sales

Instituto Federal do Pará, Brasil

Dalízia Amaral Cruz

Universidade Federal do Pará, Brasil

Susana Jorge Ferreira

Universidade de Évora, Portugal

Fabricio Gomes Gonçalves

Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil

Erival Gonçalves Prata

Universidade Federal do Pará, Brasil

Gevair Campos

Faculdade CNEC Unaí, Brasil

Flávio Aparecido De Almeida

Faculdade Unida de Vitória, Brasil

Mauro Vinicius Dutra Girão

Centro Universitário Inta, Brasil

Clóvis Luciano Giacomet

Universidade Federal do Amapá, Brasil

Giovanna Moraes

Universidade Federal de Uberlândia, Brasil

André Cutrim Carvalho

Universidade Federal do Pará, Brasil

Silvani Verruck

Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil

Auristela Correa Castro

Universidade Federal do Pará, Brasil

Oswaldo Contador Junior

Faculdade de Tecnologia de Jahu, Brasil

Claudia Maria Rinhel-Silva

Universidade Paulista, Brasil

Dennis Soares Leite

Universidade de São Paulo, Brasil

Silvana Lima Vieira

Universidade do Estado da Bahia, Brasil

Cristina Berger Fadel

Universidade Estadual de Ponta Grossa, Brasil

Graciete Barros Silva

Universidade Estadual de Roraima, Brasil

Juliana Campos Pinheiro

Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil

Cristiano Marins

Universidade Federal Fluminense, Brasil

Silvio Almeida Junior

Universidade de Franca, Brasil

Raimundo Nonato Ferreira Do Nascimento

Universidade Federal do Piauí, Brasil

Marcelo da Fonseca Ferreira da Silva

Escola Superior de Ciências da Santa Casa de Misericórdia de Vitória, Brasil

Carlos Roberto de Lima

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil



Daniel Luciano Gevehr

Faculdades Integradas de Taquara, Brasil

Maria Cristina Zago

Centro Universitário UNIFAAT, Brasil

Wesley Viana Evangelista

Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil

Samylla Maira Costa Siqueira

Universidade Federal da Bahia, Brasil

Gloria Maria de Franca

Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil

Antônio Marcos Mota Miranda

Instituto Evandro Chagas, Brasil

Carla da Silva Sousa

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano, Brasil

Dennys Ramon de Melo Fernandes Almeida

Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil

Francisco de Sousa Lima

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano, Brasil

Reginaldo da Silva Sales

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará, Brasil

Mário Celso Neves De Andrade

Universidade de São Paulo, Brasil

Maria do Carmo de Sousa

Universidade Federal de São Carlos, Brasil

Mauro Luiz Costa Campello

Universidade Paulista, Brasil

Sayonara Cotrim Sabioni

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano, Brasil

Ricardo Pereira Sepini

Universidade Federal de São João Del-Rei, Brasil

Flávio Campos de Moraes

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

Sonia Aparecida Cabral

Secretaria da Educação do Estado de São Paulo, Brasil

Jonatas Brito de Alencar Neto

Universidade Federal do Ceará, Brasil

Moisés de Souza Mendonça

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará, Brasil

Pedro Afonso Cortez

Universidade Metodista de São Paulo, Brasil

Iara Margolis Ribeiro

Universidade do Minho, Brasil

Julianno Pizzano Ayoub

Universidade Estadual do Centro-Oeste, Brasil

Vitor Afonso Hoeflich

Universidade Federal do Paraná, Brasil

Bianca Anacleto Araújo de Sousa

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil

Bianca Cerqueira Martins

Universidade Federal do Acre, Brasil

Daniela Remião de Macedo

Faculdade de Belas Artes da Universidade de Lisboa, Portugal

Dioniso de Souza Sampaio

Universidade Federal do Pará, Brasil

Rosemary Laís Galati

Universidade Federal de Mato Grosso, Brasil

Maria Fernanda Soares Queiroz

Universidade Federal de Mato Grosso, Brasil

Leonardo Augusto Couto Finelli

Universidade Estadual de Montes Claros, Brasil

Thais Ranielle Souza de Oliveira

Centro Universitário Euroamericano, Brasil

Alessandra de Souza Martins

Universidade Estadual de Ponta Grossa, Brasil

Claudiomir da Silva Santos

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas, Brasil

Fabício dos Santos Ritá

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas, Brasil

Danielly de Sousa Nóbrega

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Acre, Brasil

Livia Fernandes dos Santos

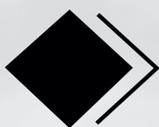
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Acre, Brasil

Liege Coutinho Goulart Dornellas

Universidade Presidente Antônio Carlos, Brasil

Ticiano Azevedo Bastos

Secretaria de Estado da Educação de MG, Brasil



Walmir Fernandes Pereira
Miami University of Science and Technology, Estados Unidos da América

Jónata Ferreira De Moura
Universidade Federal do Maranhão, Brasil

Camila de Moura Vogt
Universidade Federal do Pará, Brasil

José Martins Juliano Eustaquio
Universidade de Uberaba, Brasil

Adriana Leite de Andrade
Universidade Católica de Petrópolis, Brasil

Francisco Carlos Alberto Fonteles Holanda
Universidade Federal do Pará, Brasil

Bruna Almeida da Silva
Universidade do Estado do Pará, Brasil

Clecia Simone Gonçalves Rosa Pacheco
Instituto Federal do Sertão Pernambucano, Brasil

Ronei Aparecido Barbosa
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas, Brasil

Julio Onésio Ferreira Melo
Universidade Federal de São João Del Rei, Brasil

Juliano José Corbi
Universidade de São Paulo, Brasil

Thadeu Borges Souza Santos
Universidade do Estado da Bahia, Brasil

Francisco Sérgio Lopes Vasconcelos Filho
Universidade Federal do Cariri, Brasil

Francine Náthalie Ferraresi Rodriguess Queluz
Universidade São Francisco, Brasil

Maria Luzete Costa Cavalcante
Universidade Federal do Ceará, Brasil

Luciane Martins de Oliveira Matos
Faculdade do Ensino Superior de Linhares, Brasil

Rosenery Pimentel Nascimento
Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil

Irlane Maia de Oliveira
Universidade Federal do Amazonas, Brasil

Lívia Silveira Duarte Aquino
Universidade Federal do Cariri, Brasil

Xaene Maria Fernandes Mendonça
Universidade Federal do Pará, Brasil

Thaís de Oliveira Carvalho Granado Santos
Universidade Federal do Pará, Brasil

Fábio Ferreira de Carvalho Junior
Fundação Getúlio Vargas, Brasil

Anderson Nunes Lopes
Universidade Luterana do Brasil, Brasil

Carlos Alberto da Silva
Universidade Federal do Ceara, Brasil

Keila de Souza Silva
Universidade Estadual de Maringá, Brasil

Francisco das Chagas Alves do Nascimento
Universidade Federal do Pará, Brasil

Réia Sílvia Lemos da Costa e Silva Gomes
Universidade Federal do Pará, Brasil

Arinaldo Pereira Silva
Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Brasil

Laís Conceição Tavares
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará, Brasil

Ana Maria Aguiar Frias
Universidade de Évora, Brasil

Willian Douglas Guilherme
Universidade Federal do Tocantins, Brasil

Evaldo Martins da Silva
Universidade Federal do Pará, Brasil

Biano Alves de Melo Neto
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano, Brasil

Antônio Bernardo Mendes de Seica da Providência Santarém
Universidade do Minho, Portugal

Valdemir Pereira de Sousa
Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil

Sheylla Susan Moreira da Silva de Almeida
Universidade Federal do Amapá, Brasil

Miriam Aparecida Rosa
Instituto Federal do Sul de Minas, Brasil

Rayme Tiago Rodrigues Costa
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará, Brasil



Priscyla Lima de Andrade

Centro Universitário UniFBV, Brasil

Andre Muniz Afonso

Universidade Federal do Paraná, Brasil

Marcel Ricardo Nogueira de Oliveira

Universidade Estadual do Centro Oeste, Brasil

Gabriel Jesus Alves de Melo

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia, Brasil

Deise Keller Cavalcante

Secretaria de Estado de Educação do Rio de Janeiro

Larissa Carvalho de Sousa

Instituto Politécnico de Coimbra, Portugal

Susimeire Vivien Rosotti de Andrade

Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Brasil

Daniel dos Reis Pedrosa

Instituto Federal de Minas Gerais, Brasil

Wiaslan Figueiredo Martins

Instituto Federal Goiano, Brasil

Lênio José Guerreiro de Faria

Universidade Federal do Pará, Brasil

Tamara Rocha dos Santos

Universidade Federal de Goiás, Brasil

Marcos Vinicius Winckler Caldeira

Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil

Gustavo Soares de Souza

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo, Brasil

Adriana Cristina Bordignon

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

Norma Suely Evangelista-Barreto

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Brasil

Larry Oscar Chañi Paucar

Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios, Peru

Pedro Andrés Chira Oliva

Universidade Federal do Pará, Brasil

Daniel Augusto da Silva

Fundação Educacional do Município de Assis, Brasil

Aleteia Hummes Thaines

Faculdades Integradas de Taquara, Brasil

Elisangela Lima Andrade

Universidade Federal do Pará, Brasil

Reinaldo Pacheco Santos

Universidade Federal do Vale do São Francisco, Brasil

Cláudia Catarina Agostinho

Hospital Lusíadas Lisboa, Portugal

Carla Cristina Bauermann Brasil

Universidade Federal de Santa Maria, Brasil

Humberto Costa

Universidade Federal do Paraná, Brasil

Ana Paula Felipe Ferreira da Silva

Universidade Potiguar, Brasil

Ernane José Xavier Costa

Universidade de São Paulo, Brasil

Fabricia Zanelato Bertolde

Universidade Estadual de Santa Cruz, Brasil

Eliomar Viana Amorim

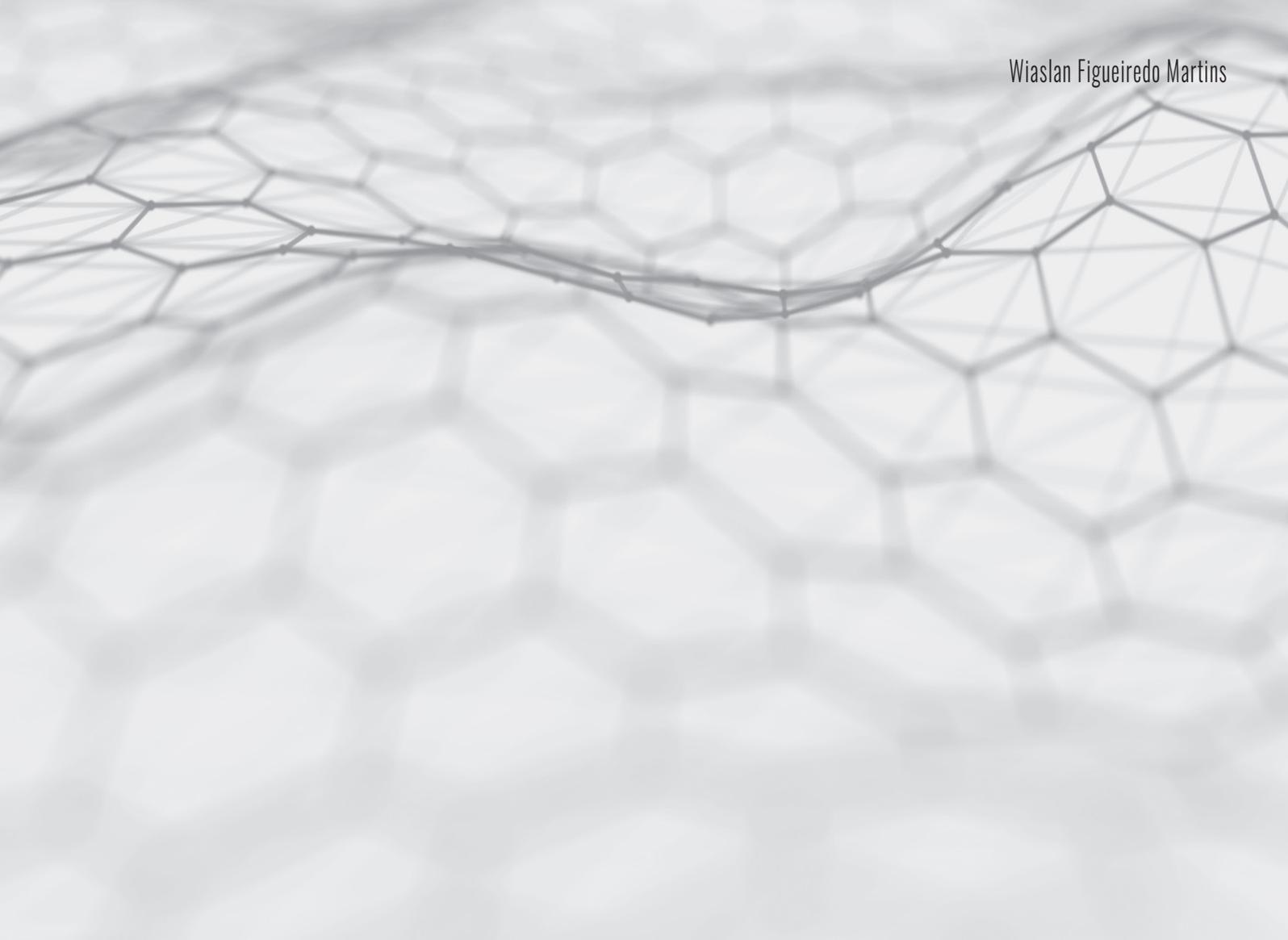
Universidade Estadual de Santa Cruz, Brasil



APRESENTAÇÃO

Esta obra intitulada “Tecnologia e Microbiologia sob a Perspectiva da Segurança dos Alimentos” foi idealizada com a finalidade de reunir um material bibliográfico que possa ser uma fonte de referência para instituições acadêmicas e indústria de alimentos, compilando diversos trabalhos científicos e de revisão de literatura desenvolvidos por estudantes de cursos técnicos, de graduação, de pós-graduação, bem como por pesquisadores e extensionistas. As informações, contidas neste volume, abrangem temas como a microbiologia da segurança dos alimentos, a microbiologia preditiva aplicada aos alimentos, desenvolvimento de produtos por micro-organismos, qualidade microbiológica de alimentos, entre outros. Tem como objetivo fornecer uma abordagem ampla sob os aspectos para a produção de alimentos seguros e como a tecnologia pode contribuir para esse processo. Agradecemos aos autores pelo empenho, disponibilidade e dedicação para o desenvolvimento e conclusão desta obra. Esperamos que esta obra sirva de instrumento didático-pedagógico para estudantes, professores dos diversos níveis de ensino e aos profissionais das áreas de Ciência, de Tecnologia e de Engenharia de Alimentos, bem como qualquer pessoa interessada em diferentes campos do estudo de alimentos, ajudando-os a obter novas perspectivas.

Wiaslan Figueiredo Martins



SUMÁRIO

CAPÍTULO 01

PREDIÇÃO DO TEMPO DE VIDA ÚTIL DE ALIMENTOS A PARTIR DE SIMULAÇÕES DO CRESCIMENTO MICROBIANO EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA AMBIENTE

Débora Alessandra Jones Battocchio; Daniel Angelo Longhi; Rafael Germano Dal Molin Filho; Richeli Aline Stefanello; Alessandro Cazonatto Galvão; Weber da Silva Robazza

doi 10.37885/210906070 12

CAPÍTULO 02

MÉTODOS DE INATIVAÇÃO DE FUNGOS FILAMENTOSOS TERMORRESISTENTES EM FRUTAS E SUCOS DE FRUTAS: UMA REVISÃO INTEGRATIVA

Luciana dos Santos Guimarães; Ana Paula Stort Fernandes; Dayana Silva Batista Soares; Natielle Maria Costa Menezes; Jean Carlos Correia Peres Costa; Maria do Socorro de Caldas Pinto; Rayane Nunes Gomes; Wiaslan Figueiredo Martins

doi 10.37885/210906247 27

CAPÍTULO 03

SCREENING OF PLANT EXTRACTS ON GROWTH PARAMETERS OF TWO *ASPERGILLUS* SECTION FLAVI TOXIGENIC STRAINS

Mariana Paiva Rodrigues; Tatiana Xavier de Almeida; Águida Aparecida de Oliveira; Gabriela Lago Biscoto; Raul Roque de Souza Dias; Lauranne Alves Salvato; Priscila Natália Pinto; Luiz Antonio Moura Keller; Carlos Alberto da Rocha Rosa; Kelly Moura Keller

doi 10.37885/210906015 44

CAPÍTULO 04

APLICAÇÃO DO *PROBIÓTICO BIFIDOBACTERIUM ANIMALIS* SUBSP. *LACTIS* (BB-12) E O PREBIÓTICO INULINA EM UM PRODUTO CÁRNEO TIPO COPA SUÍNA COM ALEGAÇÃO FUNCIONAL

Talita Aparecida Ferreira de Campos; Annecler Rech de Marins; Natallya Marques da Silva; Elder dos Santos Araujo; André Luiz Tomaz de Oliveira; Alinne Karla dos Santos; Iza Catarini dos Santos; Marcos Antônio Matiucci; Raquel Guttierres Gomes; Andresa Carla Feihmann

doi 10.37885/210906082 57

CAPÍTULO 05

ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS NA PRODUÇÃO DA BEBIDA KOMBUCHA: UMA REVISÃO INTEGRATIVA

Camilly Pires Sobrinho; Fernanda dos Santos Nunes de Melo; Wiaslan Figueiredo Martins

doi 10.37885/210906290 75

SUMÁRIO

CAPÍTULO 06

ESTUDO DA PREVALÊNCIA DAS BACTÉRIAS DO GÊNERO *AEROMONAS* SPP. RESISTENTES A ANTIMICROBIANOS ISOLADAS DO SISTEMA DE PESCA: UM REFERENCIAL TEÓRICO

Raquel Soares Casaes Nunes; Yara Marina Reymao de Barros; Marcos Mourão Santa Brígida; Jeany Costa da Silva; Paula Andressa da Silva Nery; Vitória Raposo Ribeiro; Ana Clara Melo Brito; Beatriz Ferreira Gonçalves

doi 10.37885/210906189 86

CAPÍTULO 07

A ANÁLISE DE PERIGOS E PONTOS CRÍTICOS DE CONTROLE (APPCC) COMO FERRAMENTA DE CONTROLE DE QUALIDADE NO ABATE DE AVES: UMA REVISÃO NARRATIVA

Mirian Cristina Feiten

doi 10.37885/211006300 93

CAPÍTULO 08

CONTROLE DE QUALIDADE DAS CAMARAS FRIAS DE ARMAZENAMENTO DE ALIMENTOS: UM RELATO DE EXPERIÊNCIA

Túlio Henrique Batista da Silva; Vânia Silva Carvalho; Alex Soares do Nascimento

doi 10.37885/211006359 115

CAPÍTULO 09

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE LANCHES VENDIDOS EM TORNO DE UM HOSPITAL PÚBLICO EM BELÉM - PA

Márlia Barbosa Pires; Natalia do Socorro Gomes Rodrigues; Yasmin Bentes Pinto; Clíssia Renata Loureiro Croelhas

doi 10.37885/210805676 122

CAPÍTULO 10

INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE IRRADIAÇÃO POR FEIXE DE ELÉTRONS NA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE FILÉS DE CORVINA (*MICROPOGONIAS FURNIERI*) REFRIGERADOS

Carolina Cristina Colão Barcellos; Ana Beatriz Monteiro Fonseca; Mauro Carlos Lopes Souza; Robson Maia Franco; Eliana de Fátima Marques de Mesquita

doi 10.37885/210906005 133

SOBRE O ORGANIZADOR 145

ÍNDICE REMISSIVO 146

Predição do tempo de vida útil de alimentos a partir de simulações do crescimento microbiano em função da temperatura ambiente

| **Débora Alessandra Jones Battocchio**
UFPR

| **Daniel Angelo Longhi**
UFPR

| **Rafael Germano Dal Molin Filho**
UFPR

| **Richeli Aline Stefanello**
UDESC

| **Alessandro Cazonatto Galvão**
UDESC

| **Weber da Silva Robazza**
UDESC

RESUMO

Objetivo: O objetivo deste estudo foi validar um Modelo Preditivo para a Temperatura Ambiente (MPTA) e utilizá-lo com modelos cinéticos de crescimento microbiano para prever o tempo de vida útil de leite pasteurizado contaminado com *Bacillus cereus* ou *Listeria monocytogenes* exposto à temperatura ambiente. **Método:** Dados da temperatura ambiente de cidades do Paraná, Brasil foram obtidos em bases de dados e utilizados para estimar os parâmetros do MPTA. Sessenta e quatro simulações do crescimento microbiano foram realizadas no aplicativo *ComBase Predictor*. **Resultados:** Os ajustes do MPTA aos dados foram considerados satisfatórios, pois o MPTA é composto por apenas cinco parâmetros ajustáveis para descrever a temperatura ambiente na escala de minutos ao longo dos anos. O crescimento de *B. cereus* e *L. monocytogenes* e os tempos de vida útil do leite pasteurizado obtidos nas simulações com as temperaturas previstas pelo MPTA foram próximos aos observados com os dados da temperatura ambiente. **Conclusão:** O MPTA é válido e pode ser utilizado com modelos do crescimento microbiano para prever o tempo de vida útil de alimentos expostos à temperatura ambiente.

Palavras-chave: Microbiologia Preditiva, Modelagem Matemática, Micro-Organismos, Segurança de Alimentos.

■ INTRODUÇÃO

A vida útil de um alimento pode ser definida como o tempo em que o produto permanecerá seguro, com nível de aceitação sensorial e manutenção de características químicas, físicas e microbiológicas, e o atendimento da declaração nutricional apresentada no rótulo (KILCAST; SUBRAMANIAM, 2000). Com relação à sua estabilidade microbiológica, a espécie, a concentração inicial de micro-organismos e a multiplicação destes determinam o tempo de vida útil do alimento, sendo que o alimento pode perder sua validade por fatores relacionados à qualidade e a segurança (AUGUSTIN *et al.*, 2000; SMELT; BRUL, 2007). As espécies microbianas deteriorantes comprometem a qualidade sensorial do alimento, com mudanças em aspectos visíveis ao consumidor, como cor, sabor, textura e odor, sendo que muitas vezes causam a rejeição do alimento (BORCH; KANT-MUERMANS; BLIXT, 1996; ALCANTARA *et al.*, 2012). As espécies patogênicas geralmente não provocam alterações visíveis no alimento, porém comprometem a sua segurança e podem causar sérios riscos à saúde dos consumidores pela transmissão de doenças, como a salmonelose (associada ao consumo de alimentos contaminados por espécies do gênero *Salmonella*) (BESSA; COSTA; CARDOSO, 2004; CARVALHO; CORTEZ, 2005) e a listeriose (associada ao gênero *Listeria*) (GIBBONS *et al.*, 2006; BARROS *et al.*, 2007; FAI *et al.*, 2011).

Listeria monocytogenes é uma bactéria psicrófila, ou seja, é capaz de se desenvolver em temperaturas de armazenamento relativamente baixas (armazenamento refrigerado) e podem até multiplicarem-se, atingindo concentrações altas e consideradas perigosas para o consumo (POSFAY-BARBE; WALD, 2009). Dentre os patógenos de origem alimentar, *L. monocytogenes* é uma das espécies de maior preocupação para a segurança das indústrias de laticínios, pois durante as últimas décadas, vários surtos de listeriose foram associados ao consumo de produtos de origem láctea (FLEMING *et al.*, 1985; DALTON *et al.*, 1997). Nos países desenvolvidos, a causa mais comum de morte entre as doenças de origem alimentar são as infecções causadas por *L. monocytogenes* (SWAMINATHAN; GERNER-SMIDT, 2007). A presença de *L. monocytogenes* em alimentos pasteurizados é tipicamente devido à contaminação após o tratamento térmico (LOBACZ *et al.*, 2013). Estudos indicam que a dose infectante de *L. monocytogenes* para causar listeriose deve ser em torno de 100 Unidades Formadoras de Colônias por mililitro (UFC/mL) (TODD; NOTERMANS, 2011).

Bacillus cereus é uma bactéria Gram-positiva capaz de produzir esporos que podem crescer em uma vasta gama de temperatura, pH e atividade de água (VAN NETTEN; KRAMER, 1992). A presença desta bactéria em leite pasteurizado é uma grande preocupação, pois ela é associada com a coagulação, alteração do sabor e odor, e também foi associada a surtos de intoxicação alimentar (OVERCAST; ATMARAM, 1974; JOHNSON, 1984; CHRISTIANSSON *et al.*, 1989). Trata-se de uma bactéria psicrófila que pode multiplicar-se

e produzir toxinas no leite pasteurizado em temperaturas de refrigeração (CHRISTIANSSON *et al.*, 1989; GRIFFITHS, 1990; WONG *et al.*, 1988). A habilidade de formação de esporos pelo gênero *Bacillus* permite a sobrevivência destes mesmo após o processamento de alimentos, por exemplo, a pasteurização (ROSSLAND *et al.*, 2005). Estudos indicam que a dose infectante de *B. cereus* para causar problemas de saúde deve ser em torno de 10^5 UFC/mL (KRAMER; GILBERT, 1989).

O crescimento microbiano pode ser dividido em três fases (adaptação, exponencial e estacionária). Na fase de adaptação ocorre o ajuste da fisiologia e bioquímica das células para torná-las aptas a explorar o ambiente onde se encontram. Na fase exponencial ocorre o crescimento balanceado, em que a síntese de cada componente celular é ajustada e todo o metabolismo está direcionado para a multiplicação celular. Na fase estacionária a velocidade de crescimento é nula devido ao acúmulo de metabólitos tóxicos no meio de crescimento ou a restrição de algum componente vital para a multiplicação (McMEEKIN *et al.*, 1993; VAN IMPE *et al.*, 2005). As fases de adaptação e exponencial são as mais importantes para os microbiologistas de alimentos, pois o tempo de vida útil da maioria dos alimentos é atingido antes que os micro-organismos atinjam a fase estacionária. Em geral, quanto maior é a fase de adaptação e quanto menor é a velocidade de crescimento na fase exponencial, maior é o tempo de vida útil do alimento (NAKASHIMA; ANDRÉ; FRANCO, 2000).

A microbiologia preditiva (MP) utiliza conceitos de diversas áreas do conhecimento, como a microbiologia, a matemática, a estatística e os sistemas da informação, para prever a resposta do comportamento microbiano em alimentos submetidos a diferentes condições ambientais (McMEEKIN; MELLEFONT; ROSS, 2007). A MP é muito utilizada pelas indústrias como ferramenta auxiliar para avaliar a qualidade e a segurança de alimentos (McDONALD; SUN, 1999), pois os métodos microbiológicos tradicionais necessitam longos tempos para a obtenção dos resultados (McMEEKIN *et al.*, 1993).

Os modelos matemáticos em MP são classificados em modelos primários, que descrevem a variação na concentração de micro-organismos presentes no meio em função do tempo para um certo conjunto de fatores constantes, modelos secundários, que descrevem a dependência de um ou mais parâmetros do modelo primário com um ou mais fatores, e modelos terciários, que combinam os modelos primários e secundários para gerar previsões sobre a influência dos fatores na concentração de micro-organismos (WHITING; BUCHANAN, 1993). Um teste essencial para qualquer modelo preditivo é avaliar sua habilidade em prever as respostas para novas situações, como por exemplo, prever o comportamento de micro-organismos em alimentos que sejam submetidos a diferentes condições reais de exposição (NAKASHIMA; ANDRÉ; FRANCO, 2000). Uma recomendação importante é que os modelos preditivos sejam validados, sendo que a validação deve ser constituída em duas etapas: a

primeira etapa é a construção de um modelo adequado às condições ambientais reais a que será aplicado, e a segunda etapa é a comparação da predição do comportamento microbiano gerada pelo modelo matemático com dados experimentais (WHITING; BUCHANAN, 1997).

A temperatura é um fator ambiental que tem grande influência na cinética do crescimento microbiano em alimentos e, além disso, é o fator que mais varia ao longo da cadeia de produção e distribuição dos alimentos (VAN IMPE *et al.*, 1992). Por esse motivo, o crescimento microbiano em condições de temperatura variável tem sido extensivamente estudado (VAN IMPE *et al.*, 1992; XANTHIAKOS *et al.*, 2006; GOSPAVIC *et al.*, 2008; LONGHI *et al.*, 2013; entre outros). Entretanto, poucos estudos têm sido realizados para avaliar a cinética do crescimento microbiano e prever o tempo de vida útil de alimentos expostos à temperatura ambiente (BAEZA *et al.*, 2009). Além disso, para o nosso conhecimento, não há na literatura um modelo matemático apto a descrever a variação da temperatura ambiente na escala de minutos ao longo dos anos, existem apenas modelos que descrevem a temperatura média diária em função da altitude, latitude, longitude e dias do ano com parâmetros puramente empíricos (ANTONINI *et al.*, 2009).

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo propor e validar um modelo matemático apto a descrever a temperatura ambiente e utilizar este modelo com modelos cinéticos do crescimento microbiano para prever o tempo de vida útil de leite pasteurizado contaminado com *L. monocytogenes* ou *B. cereus* exposto à temperatura ambiente.

■ MÉTODO

Dados experimentais

Os dados da temperatura ambiente de Apucarana e Maringá (Paraná, Brasil) foram obtidos na base de dados do Sistema Meteorológico do Paraná – SIMEPAR (SISTEMA METEOROLÓGICO DO PARANÁ, 2015). Os registros de temperatura foram realizados a cada 15 minutos ao longo de dois anos (2013 e 2014), exceto para curtos períodos em que não foram registradas medições, totalizando 138.094 dados de temperatura.

Os parâmetros do crescimento das bactérias *L. monocytogenes* e *B. cereus* em leite pasteurizado estão disponíveis no aplicativo online *ComBase Predictor* (www.combase.cc) (COMBASE PREDICTOR, 2015). Para este estudo, as propriedades físicas do leite pasteurizado foram assumidas como constantes, sendo o pH igual a 6,7 e a atividade de água igual a 0,98, o estado fisiológico das células assumido foi igual a 1,0 (ou seja, a bactéria está totalmente adaptada ao ambiente) e a concentração inicial (contaminação do leite pasteurizado) assumida foi igual a 1 UFC/mL.

Modelagem matemática

O Modelo Preditivo para a Temperatura Ambiente (MPTA), composto por uma combinação de funções cosseno, conforme apresentado na Equação (1), foi proposto para descrever a variação da temperatura ambiente em função do tempo. Na Equação (1), T é a temperatura (°C) em função do tempo t (horas); $T_{med\ an}$ é a temperatura média anual (°C), A_{an} é a amplitude térmica média anual (°C), A_{dia} é a amplitude térmica média diária (°C), $t_{desl\ an}$ é o deslocamento horizontal médio anual da função cosseno (horas), e $t_{desl\ dia}$ é o deslocamento horizontal médio diário da função cosseno (horas). A função $T(t)$ contém cinco parâmetros ajustáveis ($T_{med\ an}$, A_{an} , A_{dia} , $t_{desl\ an}$, $t_{desl\ dia}$), os quais foram estimados com os dados da temperatura ambiente das cidades de Apucarana e Maringá.

$$T(t) = T_{med\ an} + A_{an} \cos \left[\frac{2\pi}{(24)(365)} (t - t_{desl\ an}) \right] + A_{dia} \cos \left[\frac{2\pi}{24} (t - t_{desl\ dia}) \right] \quad (1)$$

O ajuste da Equação (1) aos dados da temperatura ambiente foi realizado com o software livre *Scilab* 5.5.2 (Scilab Enterprises, Versailles, France), sendo que uma rotina de otimização foi programada para obter os parâmetros que minimizam os resíduos entre a função e os dados experimentais. Os índices estatísticos coeficiente de determinação (R^2), raiz do erro quadrático da média (*RMSE*), fator de tendência e fator de exatidão (ROSS, 1996) foram calculados para avaliar a capacidade do modelo matemático de descrever os dados da temperatura ambiente.

As simulações do crescimento microbiano foram realizadas no aplicativo *ComBase Predictor*, em que o tempo de vida útil do produto em cada simulação foi estimado. O tempo de vida útil do leite pasteurizado em cada simulação foi considerado como o tempo em que cada espécie bacteriana necessita para atingir a dose infectante (10^2 UFC/mL para *L. monocytogenes* e 10^5 UFC/mL para *B. cereus*). As simulações foram planejadas para cinco diferentes fatores (espécie microbiana, cidade, estação do ano, ano e fonte dos dados de temperatura), sendo dois níveis a espécie microbiana (*L. monocytogenes* e *B. cereus*), dois níveis para a cidade (Apucarana e Maringá), quatro níveis para a estação do ano (verão, outono, primavera e verão), dois níveis para o ano (2013 e 2014) e dois níveis para a fonte dos dados de temperatura (temperatura observada e temperatura predita pelo MPTA), totalizando 64 simulações. Os dados da temperatura de um dia de cada estação do ano foram selecionados para as simulações, todos iniciando à zero hora.

As simulações consideram que o leite pasteurizado foi retirado do refrigerador, sendo exposto à temperatura ambiente durante o armazenamento, em que a temperatura da superfície do produto (onde há contaminação) é considerada igual a temperatura ambiente. Para todas as simulações, as propriedades físicas do leite pasteurizado e os parâmetros de

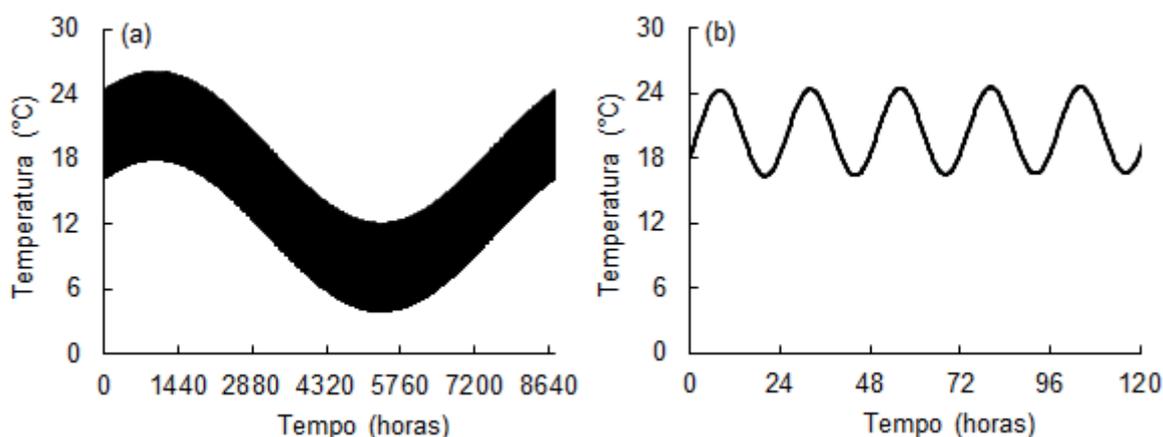
crescimento das bactérias foram consideradas constantes, conforme descrito na seção de dados experimentais. As simulações do crescimento microbiano em leite pasteurizado são apresentadas nas figuras pelo logaritmo da concentração microbiana em função do tempo, e a temperatura é apresentada em °C.

■ RESULTADOS E DISCUSSÃO

Validação do Modelo Preditivo para a Temperatura Ambiente (MPTA)

Na concepção do MPTA, Equação (1), foi assumido que a temperatura ambiente ao longo do dia e do ano oscilam seguindo o formato de funções cosseno. A primeira parcela da equação é o parâmetro $T_{med\ an}$ que descreve a temperatura média anual. A segunda parcela da equação é uma função cosseno que descreve a variação da temperatura ao longo de um ano, sendo que a variável independente da função foi subtraída pelo parâmetro $t_{desl\ an}$ para permitir o deslocamento horizontal anual da função, multiplicada pela constante 2π e dividida pelas constantes 24 e 365 para transformar o período da função para um ano. Esta função cosseno foi multiplicada pelo parâmetro A_{an} para transformar a amplitude da temperatura anual. A terceira parcela da equação é uma função cosseno que descreve a variação da temperatura ao longo de um dia, sendo que a variável independente da função foi subtraída pelo parâmetro $t_{desl\ dia}$ para permitir um deslocamento horizontal diário da função, e multiplicada pela constante 2π e dividida pela constante 24 para transformar o período da função para um dia. Esta função cosseno foi multiplicada pelo parâmetro A_{dia} para transformar a amplitude de temperatura diária. A Figura 1 apresenta uma simulação da temperatura ambiente em função do tempo descrita pelo MPTA ao longo de um ano e ao longo de cinco dias considerando os seguintes parâmetros: $T_{med\ an}$ igual a 15 °C, A_{an} igual a 7 °C, $t_{desl\ an}$ igual a 1000 horas, A_{dia} igual a 4 °C, e $t_{desl\ dia}$ igual a 8 horas.

Figura 1. Simulação da temperatura ambiente em função do tempo descrita pelo MPTA (a) ao longo de um ano (8760 horas) e (b) ao longo dos cinco primeiros dias do ano (120 horas).



Fonte: elaborada pelos autores (2021).

Os dados da temperatura ambiente das cidades de Apucarana e Maringá foram utilizados para estimar os parâmetros do MPTA (Equação (1)). Os parâmetros estimados no ajuste do MPTA aos dados de Apucarana foram $T_{med\ an}$ igual a 20,46 °C, A_{an} igual a 3,23 °C, A_{dia} igual a 3,33 °C, $t_{desl\ an}$ igual a 52,91 horas, e $t_{desl\ dia}$ igual a 18,3 horas. Os índices estatísticos do ajuste do MPTA aos dados foram R^2 igual a 0,48, $RMSE$ igual a 3,40 °C, fator tendência igual a 1,019 e fator exatidão igual a 1,151. A Equação (2) apresenta o MPTA com os parâmetros estimados para a cidade de Apucarana.

$$T(t) = 20,46 + 3,23 \cos \left[\frac{2\pi}{(24)(365)} (t - 52,91) \right] + 3,33 \cos \left[\frac{2\pi}{24} (t - 18,3) \right] \quad (2)$$

Os parâmetros estimados no ajuste do MPTA aos dados de Maringá foram $T_{med\ an}$ igual a 22,57 °C, A_{an} igual a 3,28 °C; A_{dia} igual a 3,51 °C; $t_{desl\ an}$ igual a -15,24 horas e $t_{desl\ dia}$ igual a 18,58 horas. Os índices estatísticos do ajuste foram R^2 igual a 0,46, $RMSE$ igual a 3,67 °C, fator tendência igual a 1,018 e fator exatidão igual a 1,144. A Equação (3) apresenta o MPTA com os parâmetros estimados para a cidade de Maringá.

$$T(t) = 22,57 + 3,28 \cos \left[\frac{2\pi}{(24)(365)} (t - 15,24) \right] + 3,51 \cos \left[\frac{2\pi}{24} (t - 18,58) \right] \quad (3)$$

De forma geral, é possível verificar que o MPTA apresentou um ajuste satisfatório aos dados da temperatura ambiente de Apucarana e Maringá, especialmente se levar em consideração que o MPTA é composto por apenas cinco parâmetros ajustáveis para descrever a temperatura ambiente na escala de minutos ao longo dos anos. Além disso, é possível observar que o MPTA não tem flexibilidade para descrever a temperatura de alguns períodos do ano, especialmente no inverno, em que a temperatura não segue a tendência de variação observada nas outras estações do ano. De forma geral, o MPTA superestimou os valores da temperatura ambiente de Apucarana e Maringá ao longo do ano, pois os fatores de tendência estimados foram maiores que 1,0 (1,019 e 1,018, respectivamente). A superestimação indica que o MPTA falha de forma segura em suas predições (a subestimação indicaria falha de forma perigosa), o que pode ser considerado um aspecto positivo do modelo. Portanto, é possível afirmar que o MPTA é válido para descrever a temperatura ambiente das cidades de Apucarana e Maringá.

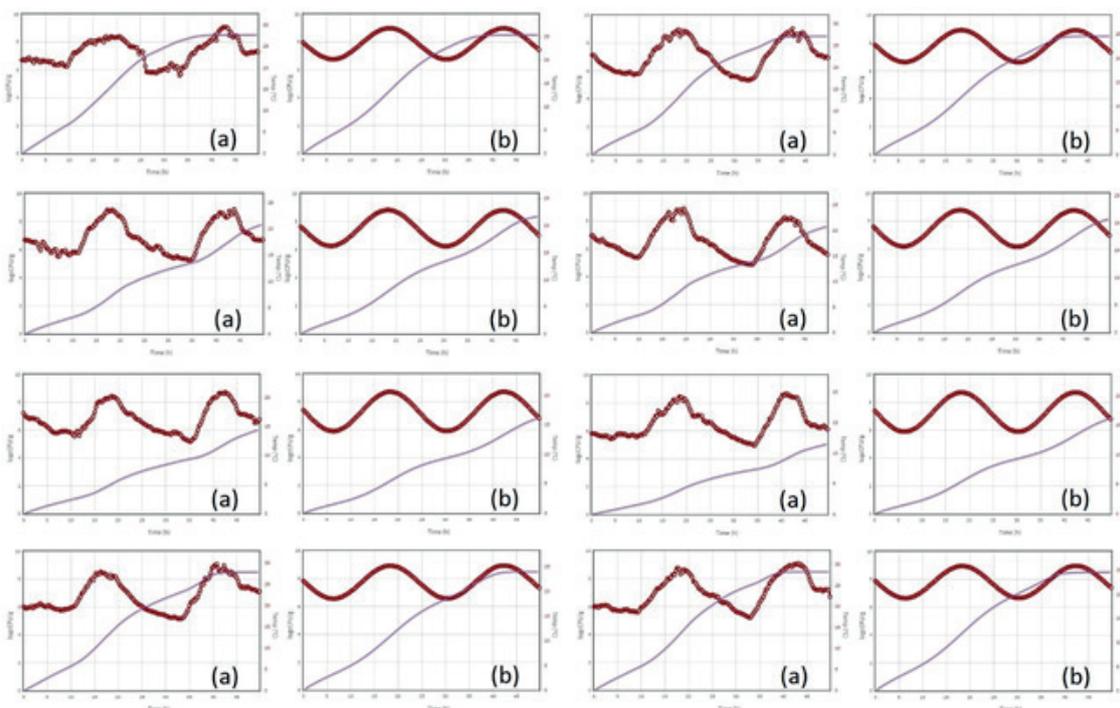
Predição do tempo de vida útil do leite pasteurizado utilizando dados da temperatura ambiente e temperaturas preditas pelo MPTA

As simulações do crescimento de *L. monocytogenes* em leite pasteurizado com os dados da cidade de Apucarana e Maringá são apresentadas nas Figuras 2 e 3, respectivamente,

e as simulações do crescimento de *B. cereus* em leite pasteurizado com os dados da cidade de Apucarana e Maringá são apresentadas nas Figuras 4 e 5, respectivamente. De forma geral, é possível observar nas figuras que o crescimento microbiano em leite pasteurizado com as temperaturas previstas pelo MPTA foi muito próximo ao crescimento microbiano utilizando os dados observados da temperatura ambiente.

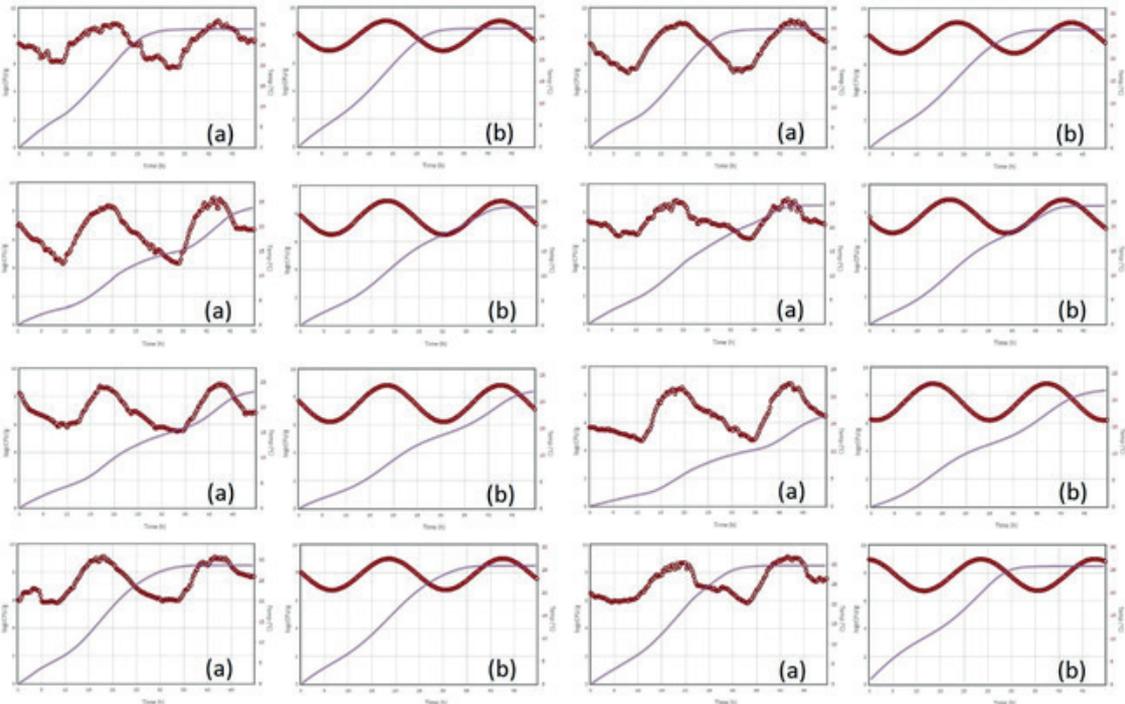
Na Tabela 1 são apresentados, de forma comparativa, os tempos da vida útil estimados (em horas) do leite pasteurizado nas diferentes simulações do crescimento de *L. monocytogenes* e *B. cereus*. Nesta tabela é possível observar que o tempo de vida útil do leite pasteurizado predita com o MPTA foi muito próxima da vida útil predita com os dados observados da temperatura ambiente para a maioria dos casos simulados. Nas estações com temperaturas mais baixas (outono e inverno), os tempos de vida útil do leite pasteurizado preditos com o MPTA foram subestimados em comparação com os tempos estimados com a temperatura observada, sendo que as maiores subestimações foram de 6,25 horas no outono e 11,75 horas no inverno. Nas estações com temperaturas mais altas (primavera e verão), os tempos de vida útil do leite pasteurizado preditos com MPTA e estimados com a temperatura observada foram muito próximos, sendo que o desvio máximo observado foi de 0,75 horas no verão e 2,00 horas na primavera.

Figura 2. Simulações do crescimento de *L. monocytogenes* em leite pasteurizado (linha contínua) em Apucarana considerando a temperatura ambiente (círculos) (a) observada e (b) predita pelo MPTA. As simulações para o verão, outono, inverno e primavera são apresentadas nas figuras de cima para baixo, respectivamente. As simulações para o ano de 2013 são apresentadas na primeira e segunda colunas, e para o ano de 2014 são apresentadas nas terceira e quarta colunas.



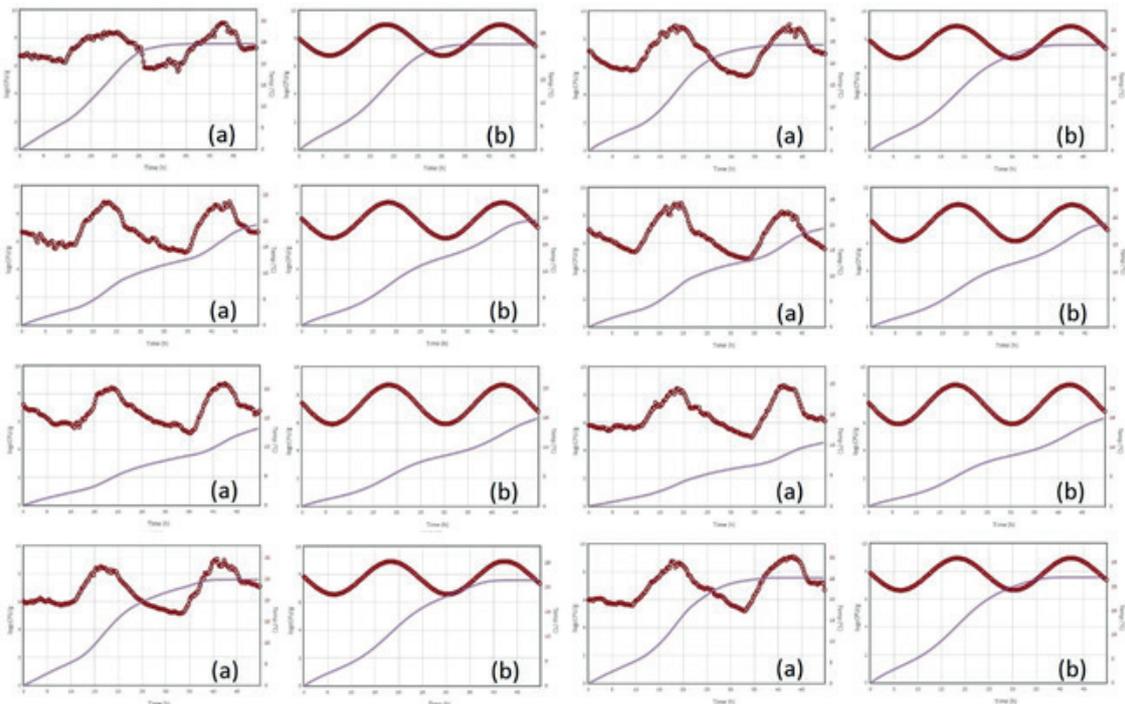
Fonte: elaborada pelos autores (2021).

Figura 3. Simulações do crescimento de *L. monocytogenes* em leite pasteurizado (linha contínua) em Maringá considerando a temperatura ambiente (círculos) (a) observada e (b) predita pelo MPTA. As simulações para o verão, outono, inverno e primavera são apresentadas nas figuras de cima para baixo, respectivamente. As simulações para o ano de 2013 são apresentadas na primeira e segunda colunas, e para o ano de 2014 são apresentadas nas terceira e quarta colunas.



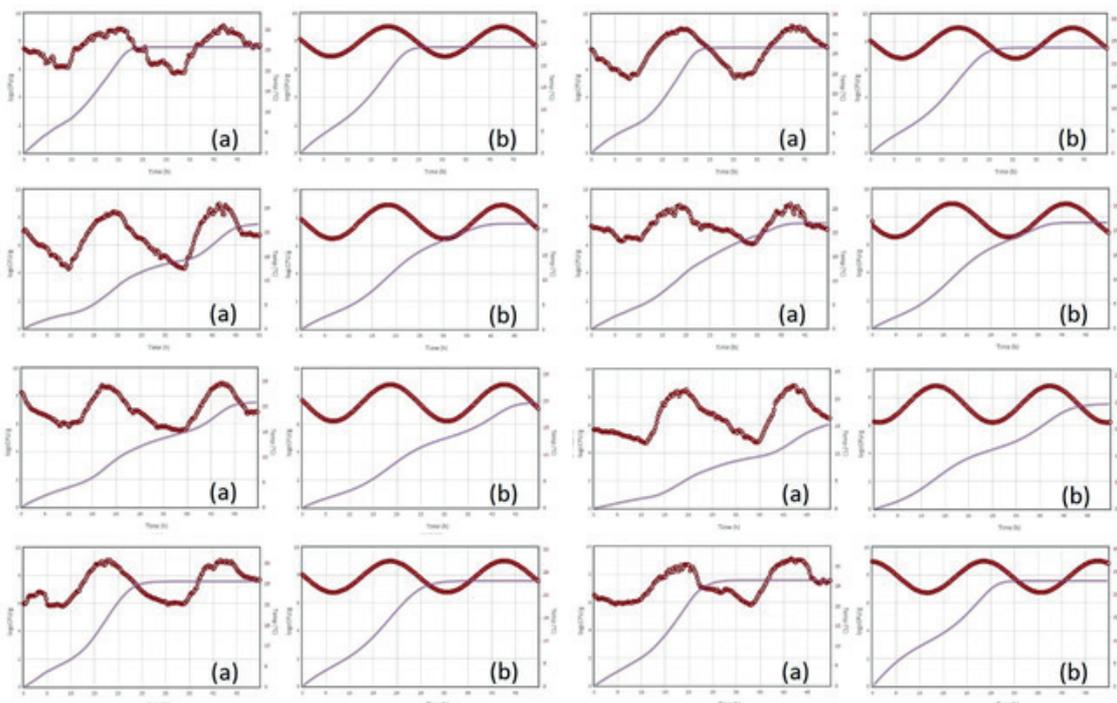
Fonte: elaborada pelos autores (2021).

Figura 4. Simulações do crescimento de *B. cereus* em leite pasteurizado (linha contínua) em Apucarana considerando a temperatura ambiente (círculos) (a) observada e (b) predita pelo MPTA. As simulações para o verão, outono, inverno e primavera são apresentadas nas figuras de cima para baixo, respectivamente. As simulações para o ano de 2013 são apresentadas na primeira e segunda colunas, e para o ano de 2014 são apresentadas nas terceira e quarta colunas.



Fonte: elaborada pelos autores (2021).

Figura 5. Simulações do crescimento de *B. cereus* em leite pasteurizado (linha contínua) em Maringá considerando a temperatura ambiente (círculos) (a) observada e (b) predita pelo MPTA. As simulações para o verão, outono, inverno e primavera são apresentadas nas figuras de cima para baixo, respectivamente. As simulações para o ano de 2013 são apresentadas na primeira e segunda colunas, e para o ano de 2014 são apresentadas nas terceira e quarta colunas.



Fonte: elaborada pelos autores (2021).

Tabela 1. Tempos de vida útil estimados (em horas) para o leite pasteurizado contaminado por *L. monocytogenes* ou *B. cereus* nas quatro diferentes estações dos anos 2013 e 2014 das cidades de Apucarana e Maringá considerando os dados da temperatura ambiente e as temperaturas preditas pelo MPTA.

Micro-organismo	Cidade	Estação	Ano	Tempo de vida útil (horas)	
				(temperatura ambiente)	(temperatura predita - MPTA)
<i>L. monocytogenes</i>	Apucarana	Verão	2013	9,50	9,55
			2014	11,06	10,50
		Outono	2013	15,08	13,75
			2014	14,75	14,50
		Inverno	2013	17,75	16,75
			2014	20,25	16,58
		Primavera	2013	11,25	11,25
			2014	11,50	10,55
	Maringá	Verão	2013	7,75	7,75
			2014	9,25	8,54
		Outono	2013	15,00	11,25
			2014	11,25	11,06
		Inverno	2013	13,25	13,75
			2014	18,50	11,75
		Primavera	2013	9,50	9,05
			2014	9,50	8,75

Micro-organismo	Cidade	Estação	Ano	Tempo de vida útil (horas)	
				(temperatura ambiente)	(temperatura predita - MPTA)
<i>B. cereus</i>	Apucarana	Verão	2013	19,00	19,50
			2014	20,25	21,00
		Outono	2013	37,50	31,25
			2014	36,25	34,17
		Inverno	2013	45,00	41,21
			2014	53,00	41,25
		Primavera	2013	20,50	22,50
			2014	20,25	21,00
	Maringá	Verão	2013	16,50	16,75
			2014	17,50	18,00
		Outono	2013	25,00	22,30
			2014	23,00	21,25
		Inverno	2013	30,25	30,15
			2014	42,71	30,75
		Primavera	2013	17,75	18,75
			2014	18,00	19,25

De forma comparativa, as simulações do leite pasteurizado contaminado com *L. monocytogenes* apresentaram tempos de vida útil menores em comparação aos tempos estimados para *B. cereus* nas mesmas condições (cidade, estação, ano e fonte de dados de temperatura). A dose infectante de *L. monocytogenes* (10^2 UFC/mL) é menor que a dose infectante de *B. cereus* (10^5 UFC/mL), sendo que esse é o principal fator que pode ter resultado nos menores tempos de vida útil do leite pasteurizado contaminado com *L. monocytogenes*.

■ CONCLUSÃO

Um modelo matemático apto a descrever a temperatura ambiente (MPTA) foi proposto e validado com dados observados da temperatura ambiente obtidos em base de dados. O MPTA foi utilizado com modelos cinéticos do crescimento microbiano para prever o tempo de vida útil de leite pasteurizado contaminado com *Bacillus cereus* ou *Listeria monocytogenes* exposto à temperatura ambiente, resultando em previsões muito próximas às obtidas com os dados observados da temperatura ambiente.

■ AGRADECIMENTOS

À Coordenadoria de Iniciação Científica da Universidade Federal do Paraná – UFPR pela concessão de bolsa, e ao SIMEPAR pelo fornecimento dos dados da temperatura ambiente de Apucarana e Maringá.

■ REFERÊNCIAS

1. ALCANTARA, M.; MORAIS, I. C. L.; MATOS, C.; SOUZA, O. C. C. Principais microrganismos envolvidos na deterioração das características sensoriais de derivados cárneos. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, Fortaleza, v. 6, n. 1, p. 1-20, 2012.
2. ANTONINI, J. C. A.; SILVA, E. M.; OLIVEIRA, L. F. C.; SANO, E. E. J. Modelo matemático para estimativa da temperatura média diária do ar no Estado de Goiás. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 44, n. 4, p. 331-338, 2009.
3. AUGUSTIN, J. C.; BROUILLAUD-DELATTRE, A.; ROSSO, L.; CARLIER, V. Significance of Inoculum Size in the Lag Time of *Listeria monocytogenes*. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 66, n. 4, p. 1706–1710, 2000.
4. BAEZA, R.; ROSSLER, C.; MIELNICKI, D.; ZAMORA, M. C.; CHIRIFE, J. Theoretical modelling of *Staphylococcus aureus* growth in a cooked meat product kept at ambient temperature using temperature profiles of selected Mexican cities. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 29, n. 1, p. 81-84, 2009.
5. BARROS, M. A. F.; NERO, L. A.; SILVA, L. C. S.; D'OVÍDIO, L.; MONTEIRO, F. A.; TAMANINI, R.; FAGNANI, R.; HOFER, E.; BELOTI, V. *Listeria monocytogenes*: occurrence in beef and identification of the main contamination points in processing plants. *Meat Science*, Oxford, v. 76, p. 591-596, 2007.
6. BESSA, M. C.; COSTA, M.; CARDOSO, M. Prevalência de *Salmonella* sp. em suínos abatidos em frigoríficos no Rio Grande do Sul. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Rio de Janeiro, v. 24, n. 2, p. 80-84, 2004.
7. BORCH, E.; KANT-MUERMANS, M. L.; BLIXT, Y. Bacterial spoilage of meat and cured meat products. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v. 33, n. 1, 103-120, 1996.
8. CARVALHO, A. C. F. B.; CORTEZ, A. L. L. *Salmonella* spp. em carcaças, carne mecanicamente separada, linguiças e cortes comerciais de frango. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 35, n. 6, p. 1465-1468, 2005.
9. CHRISTIANSSON, A.; NAIDU, A. S.; NILSSON, I.; WADSTRAM, T.; PETTERSSON, H. E. Toxin production by *Bacillus cereus* dairy isolates in milk at low temperature. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 55, p. 2595–2600, 1989.
10. COMBASE PREDICTOR. Growth model under dynamic temperature conditions. Disponível em: http://browser.combase.cc/ComBase_Predictor.aspx?model=1#. Acesso em 18/06/21.
11. DALTON, C. B.; AUSTIN, C. C.; SOBEL, J.; HAYES, P. S.; BIBB, W. F.; GRAVES, L. M.; SWAMINATHAN, B.; PROCTOR, M. E. et al. An outbreak of gastroenteritis and fever due to *Listeria monocytogenes* in milk. *The New England Journal of Medicine*, v. 336, p. 100–105, 1997.
12. FAI, A. E. C.; FIGUEIREDO, E. A. T.; VERDIN, S. E. F.; PINHEIRO, N. M. S.; BRAGA, A. R. C.; STAMFORD, T. L. M. *Salmonella* sp e *Listeria monocytogenes* em presunto suíno comercializado em supermercados de Fortaleza (CE, Brasil): fator de risco para a saúde pública. *Ciência & Saúde Coletiva*, Rio de Janeiro, v. 16, n. 2, p. 657-662, 2011.
13. FLEMING, D. W., COCHI, S.L., MacDONALD, K. L., BRONDUM, J., HAYES, P. S., PLIKAYTIS, B. D., HOLMES, M. B., AUDURIER, A. et al. Pasteurized milk as a vehicle of infection in an outbreak of listeriosis. *The New England Journal of Medicine*, v. 312, p. 404–407, 1985

14. KRAMER, J. M.; GILBERT, R. J. *Bacillus cereus* and other *Bacillus* species. In: DOYLE, M.P. Foodborne Bacterial Pathogens, New York, Marcel Dekker, p. 21-70, 1989.
15. GIBBONS, I. A.; ADESIYUN, A.; SEEPERSADSINGH, N.; RAHAMAN, S. Investigation for possible source(s) of contamination of ready-to-eat meat products with *Listeria* spp. and other pathogens in a meat processing plant in Trinidad. Food Microbiology, London, v. 23, p. 359-366, 2006.
16. GOSPAVIC, R.; KREYENSCHMIDT, J.; BRUCKNER, S.; POPOV, V.; HAQUE, N. Mathematical modelling for predicting the growth of *Pseudomonas* spp. in poultry under variable temperature conditions. International Journal of Food Microbiology, Amsterdam, v. 127, n. 3, p. 290-297, 2008.
17. GRIFFITHS, M. W. Toxin production by psychrotrophic *Bacillus* spp. present in milk. Journal of Food Protection, v. 53, p. 790–792, 1990.
18. JOHNSON, K. M. *Bacillus cereus* foodborne illness: an update. Journal of Food Protection, v. 47, p. 145–153, 1984.
19. KILCAST, D.; SUBRAMANIAM, P. Introduction. In: KILCAST, D.; SUBRAMANIAM, P. The stability and shelf-life of food. Boca Raton: CRC Press, 2000. Chapter 1, p. 2.
20. LOBACZ, A; KOWALIK, J.; TARKZYNSKA, A. Modelling the growth of *Listeria monocytogenes* in mold-ripened cheeses. Journal of Dairy Science, v. 96, p. 3449-3460. 2013.
21. LONGHI, D. A.; DALCANTON, F.; ARAGAO, G. M. F. CARCIOFI, B. A. M.; LAURINDO, J. B. Assessing the prediction ability of different mathematical models for the growth of *Lactobacillus plantarum* under non-isothermal conditions. Journal of Theoretical Biology, London, v. 335, p. 88-96, 2013.
22. McDONALD, K.; SUN, D. W. Predictive food microbiology for the meat industry: A review. International Journal of Food Microbiology, Amsterdam, v. 52, p. 1-27, 1999.
23. McMEEKIN, T. A.; MELLEFONT, L. A.; ROSS, T. Predictive Microbiology: past, present and future. In: BRUL, S.; VAN GERWEN, S.; ZWIETERING, M. Modelling microorganisms in food. Boca Raton: CRC Press, 2007. Chapter 2, p. 7-21.
24. McMEEKIN, T. A.; OLLEY, J. N.; ROSS, T.; RATKOWSKY, D. A. Predictive microbiology: theory and application. Taunton: Research Studies, p. 1-86, 1993.
25. NAKASHIMA, S. M. K., ANDRÉ, C. D. S., FRANCO, B. D. G. M. Revisão: Aspectos Básicos da Microbiologia Preditiva. Brazilian of Journal Food Technology, Campinas, v. 3, p. 41-51, 2000.
26. OVERCAST, W. W.; ATMARAM, K. The role of *Bacillus cereus* in sweet curdling of fluid milk. Journal of Milk and Food Technology, v. 37, p. 233-236, 1974.
27. POSFAY-BARBE, K. M.; WALD, E. R. Listeriosis. Seminars in Fetal & Neonatal Medicine, v. 14, p. 228–233, 2009
28. ROSS, T. Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology. Journal of Applied Bacteriology, Oxford, v. 81, n. 5, p. 501-508, 1996.
29. ROSSLAND, E.; LANGSRUD, T.; SORHAUG, T. Influence of controlled lactic fermentation on growth and sporulation of *Bacillus cereus* in milk. International Journal of Food Microbiology, v. 103, p. 69–77, 2005.

30. SISTEMA METEOROLÓGICO DO PARANÁ. Dados da temperatura ambiente de Apucarana de 2013 e 2014. Disponível em: www.simepar.br. Acesso em: 03/05/21.
31. SMELT, J. P. P. M.; BRUL, S. Modelling lag-time in predictive microbiology with special reference to lag phase of bacterial spores. In: BRUL, S.; VAN GERWEN, S.; ZWIETERING, M. Modelling microorganisms in food. Boca Raton: CRC Press, 2007. Chapter 5, p. 67.
32. SWAMINATHAN, B.; GERNER-SMIDT, P. The epidemiology of human listeriosis. *Microbes and Infection*, v. 9, p. 1236–1243, 2007.
33. TODD, E. C. D.; NOTERMANS, S. Surveillance of listeriosis and its causative pathogen, *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, v. 22, p. 1484-1490, 2011.
34. VAN IMPE, J. F.; NICOLAI, B. M.; MARTENS, T.; DE BAERDEMAEKER, J.; VANDEWALLE, J. Dynamic Mathematical Model To Predict Microbial Growth and Inactivation during Food Processing. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 58, p. 2901-2909, 1992.
35. VAN NETTEN, P.; KRAMER, J.M. Media for the detection and enumeration of *Bacillus cereus* in foods: a review. *International Journal of Food Microbiology*, v. 17, p. 85–99, 1992.
36. VAN IMPE, J. F.; POSCHET, F.; GEERAERD, A. H.; VEREECKEN, K. M. Towards a novel class of predictive microbial growth models. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v. 100, n. 1-3, p. 97-105, 2005.
37. WHITING, R. C.; BUCHANAN, R. L. A classification of models in predictive microbiology. *Food microbiology*, London, v. 10, 175-177, 1993.
38. WHITING, R. C.; BUCHANAN, R. L. Predictive Modeling. In: DOYLE, M. P., BEUCHAT, L. R., MONTVILLE, T. J. *Food microbiology - fundamentals and frontiers*. Washington: ASM, p. 728-739, 1997.
39. WONG, H. C.; CHEN, Y. L.; CHEN, C. L. F. Growth, germination and toxigenic activity of *Bacillus cereus* in milk products. *Journal of Food Protection*, v. 51, p. 707–710, 1988.
40. XANTHIAKOS, K.; SIMOS, D.; ANGELIDIS, A. S.; NYCHAS, G. J. E.; KOUTSOUMANIS, K. Dynamic modeling of *Listeria monocytogenes* growth in pasteurized milk. *Journal of Applied Microbiology*, Hoboken, v. 100, p. 1289-1298, 2006.

Métodos de inativação de fungos filamentosos termorresistentes em frutas e sucos de frutas: uma revisão integrativa

| **Luciana dos Santos Guimarães**
IF Goiano

| **Ana Paula Stort Fernandes**
IF Goiano

| **Dayana Silva Batista Soares**
IF Goiano

| **Natielle Maria Costa Menezes**
UFSC

| **Jean Carlos Correia Peres Costa**
UNIR

| **Maria do Socorro de Caldas Pinto**
UEPB

| **Rayane Nunes Gomes**
UEPB

| **Wiaslan Figueiredo Martins**
IF Goiano

RESUMO

Com base na literatura, os fungos filamentosos termorresistentes (FFT) são os principais deteriorantes de frutas e derivados. Os FFT mais comumente estudados e relacionados com esses casos, pertencem aos gêneros *Paecilomyces*, *Byssochlamys*, *Aspergillus*, *Talaromyces* e *Eupenicillium*. **Objetivo:** apresentar estudos sobre os métodos de inativação de FFT contaminantes de frutas e/ou sucos de frutas, por meio de uma revisão integrativa com estudos nacionais e internacionais. **Metodologia:** para essa revisão, foram realizadas buscas sistematizadas na base de dados *ScienceDirect* para identificar os estudos sobre a inativação de FFT, entre os anos de 2016 a 2021, utilizando as Palavras-chave: *fruits juices* e *heat-resistant moulds inactivation*. **Resultados:** Dos 83 artigos encontrados, 73 foram descartados por não ter relação direta com a inativação de fungos, resultando em 10 artigos selecionados. Os artigos abordaram a inativação de fungos e/ou ascósporos de fungos por diferentes métodos. **Conclusão:** os resultados obtidos nas pesquisas demonstraram a relevância desses métodos para a indústria de alimentos, pois o uso de tecnologias emergentes, como as tecnologias não térmicas, está cada vez mais crescente, auxiliando no aumento da vida útil e na melhoria da segurança de alimentos, atendendo, assim, à demanda do consumidor por alimentos seguros e de rótulos limpos.

Palavras-chave: Suco de Frutas, Fungos Termorresistentes, Ascósporos, Inativação.

■ INTRODUÇÃO

Com o aumento populacional e o consumo cada vez maior de alimentos industrializados, a busca por um produto de melhor qualidade e maior segurança é um dos principais objetivos de uma grande empresa, cujos processos são capazes de preservar o produto contra micro-organismos deteriorantes, como bactérias e fungos filamentosos, principalmente os termorresistentes, garantindo a qualidade nutricional e demanda. A maioria dos fungos filamentosos apresenta uma resistência térmica limitada, sendo seus conídios destruídos facilmente pela aplicação de calor. Esses são capazes de sobreviver à temperatura de pasteurização, devido à produção de esporos denominados de ascósporos (HOCKING; PITT; 1984; TOURNAS; TRAXLER, 1994).

Várias são as frutas e seus produtos derivados acometidos por deteriorações por fungos filamentosos termorresistentes (FFT) como maçã, tomate, abacaxi, uva, morango, maracujá, manga, toranja (do inglês: *grapefruit*), groselhas e outros (KOTZEKIDOU, 1997; SURESH *et al.*, 1996; SPLITTSTOESSER *et al.*, 1993; TOURNAS, TRAXLER, 1994; UGWUANYI; OBETA, 1991).

Os micro-organismos termorresistentes produtores de ascósporos são difíceis de eliminar, pois são ativados pelos processos de pasteurização, normalmente aplicados aos produtos vegetais ácidos (TOURNAS; TRAXLER, 1994). Os FFT mais comumente estudados e relacionados com esses casos, pertencem aos gêneros *Paecilomyces*, *Byssochlamys*, *Aspergillus*, *Talaromyces* e *Eupenicillium* (SANT'ANA *et al.*, 2009). Neste trabalho será utilizado o nome científico dos FFT que surgiu na maioria das pesquisas realizadas, que são os nomes teleomorfos, que têm uma fase sexuada, produzindo ascósporos resistentes ao calor. *N. fischeri* e *Byssochlamys* spp. são, ainda, indicados como produtores de micotoxinas. O primeiro é capaz de produzir fumitremorginas A, B, C e verruculogena, já o segundo, é reportado como produtor de patulina, ácido byssoclâmico e byssotoxina A.

Diante desse contexto, destaca-se a importância e relevância desta pesquisa de revisão integrativa sobre os métodos de inativação de FFT contaminantes de frutas e/ou sucos de frutas, abordando os principais impactos desses micro-organismos na indústria de processamento de sucos. Assim, objetivou-se apresentar estudos sobre os métodos de inativação de fungos filamentosos termorresistentes contaminantes de frutas e/ou sucos de frutas, por meio de uma revisão de literatura integrativa.

■ DESENVOLVIMENTO

REFERENCIAL TEÓRICO

Microbiota contaminante de sucos de frutas

Um dos aspectos mais importantes no campo de tecnologia de alimentos é a identificação das causas de deterioração dos produtos alimentícios, visando sua compreensão e atuação para retardá-las ou evitá-las, quando possível.

Segundo Erkmen e Bozoglu (2016), as alterações alimentares podem ser de origem enzimática, como o escurecimento enzimático, de origem química, como a oxidação lipídica, de origem física (contaminação por pragas) ou biológica, como por exemplo o crescimento de micro-organismos e a produção de suas toxinas.

Os micro-organismos, como as bactérias ácido-tolerantes e os fungos (bolors e leveduras), podem usar as frutas in natura ou sucos de frutas como substrato, causando a sua deterioração, com a produção de micotoxinas e doenças vinculadas por alimentos (TOURNAS *et al.*, 2006; KEYSER *et al.*, 2008; SNYDER; WOROBO, 2018).

Bolors

Os bolors são células cilíndricas e algumas espécies possuem valor considerável, como por exemplo, para a produção de antibióticos, como a penicilina (*Penicillium notatum*), produtos alimentícios, como o queijo roqueforti (*Penicillium roqueforti*), produção de enzimas de interesse para a indústria de alimentos, como a α -amilase, produzida por *Aspergillus niger* e *Aspergillus oryzae*, dentre muitos outros exemplos. Contudo, eles também são responsáveis pela deterioração de diferentes materiais, tais como a matéria têxtil e a madeira, que causam algumas doenças em humanos, animais e plantas (PELCZAR *et al.*, 1996; MEYER, 2008). Os bolors são formados por filamentos denominados hifas, que crescem rapidamente à temperatura ambiente e ramificam-se. Cada hifa é formada pela reunião de muitas células. As paredes rígidas das hifas são formadas de quitina, celulose e glicose (TANIWAK, 2001). O conjunto de hifas ramificadas é denominado micélio (LAZZARI, 1997).

Fungos filamentosos termoresistentes (FFT)

Os alimentos mais susceptíveis à deterioração por FFT são as frutas e os produtos de frutas, como os sucos, os purês, os néctares, as polpas, os concentrados, as frutas enlatadas e os alimentos infantis à base de frutas.

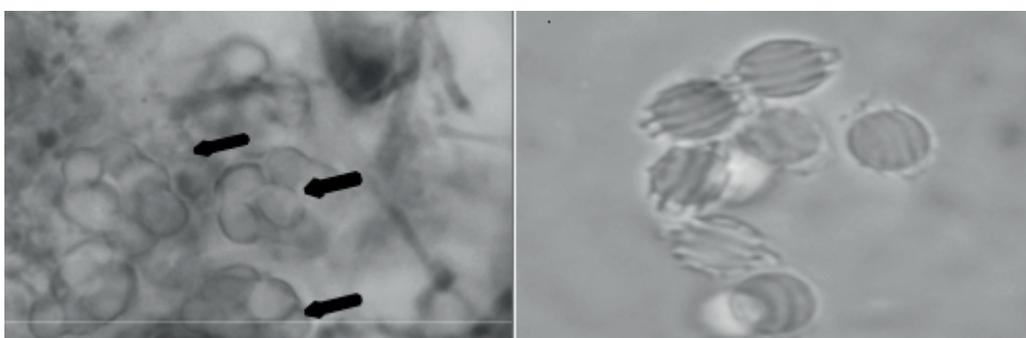
Diversos trabalhos têm sido publicados na literatura nos últimos cinco anos relacionados a aplicação de métodos não térmicos para a inativação de micro-organismos (*Salmonella* spp., *Escherichia coli* spp., *Saccharomyces cerevisiae*, *Alicyclobacillus acidoterrestis*) em alimentos (MONYETHABENG; KRÜGEL, 2016, FERRARIO; GUERRERO, 2017; TREMARIN *et al.*, 2017, ESTILO; GABRIEL, 2018).

O primeiro relato extensivo sobre deterioração por FFT foi feito por Olliver e Rendle (1934), que reconheceram ser *B. fulva* o agente causador da deterioração em frutas processadas na Inglaterra. Dentre os vários tipos de frutas, aquelas que são colhidas diretamente do solo ou que estão próximas dele, como morango, ameixa, maracujá, uva, abacaxi, pêssego e maçã, são as mais afetadas pela deterioração por FFT (HOCKING; PITT, 2001; HOUBRAKEN *et al.*, 2006).

As espécies de fungos termorresistentes identificadas como deteriorantes de produtos à base de frutas são: *Byssochlamys* spp., *Aspergillus* spp., *Eupenicillium* spp., *Neosartorya* spp. e *Talaromyces* spp. (VALIK; PIECKOVA, 2001; SURESH *et al.*, 1996; TOURNAS, 1994). Devido a essa resistência, os FFT podem crescer e contaminar produtos durante a estocagem à temperatura ambiente, o que decorre em grandes perdas econômicas.

Uma característica dos FFT é a formação de ascósporos muito resistentes. O tamanho, a forma e a ornamentação destes ascósporos variam com o tipo, a espécie e a linhagem de micro-organismo, bem como as condições dos meios sob os quais os esporos são formados. A principal característica destes fungos é a formação do asco (Figura 1A), que é uma estrutura em forma de saco ou bolsa, no interior da qual são produzidos oito ascósporos (Figura 1B) de forma e cor variados para cada espécie. Quando amadurecem, os ascos sofrem uma ruptura por onde são liberados os ascósporos. Esses últimos possuem parede, e são geralmente ornamentados e refrateis. Os ascos de alguns desses fungos são recobertos por um grande corpo de frutificação que leva o nome geral de ascocarpo.

Figura 1. (A) Ascos do *Byssochlamys fulva* (setas). (B) Ascósporos equatoriais do *N. fischeri* Aumento de 1200X.



Fonte: adaptado de Magalhães *et al.* (2009).

A pasteurização normalmente aplicada aos produtos de frutas ativa os ascósporos dormentes, que germinam e permitem o crescimento dos FFT (BEUCHAT, 1986; ENGEL;

TEUBER, 2001; SLONGO; ARAGÃO, 2006). As espécies do gênero, da estrutura da fruta, além de serem potencialmente produtoras da toxina patulina (HOCKING; PITT, 2001).

Métodos de inativação de fungos

A deterioração de alimentos por micro-organismos causa grandes perdas para indústrias, determinando na maioria dos casos, o final da vida útil dos alimentos (MARTINS, 2015). Para diminuir estes prejuízos, é necessário conhecer o principal deteriorante do alimento, bem como encontrar processos para inativar ou dificultar seu crescimento. Os tratamentos térmicos e o uso de aditivos químicos estão entre as técnicas mais utilizadas para conservação de alimentos (GUERREROBELTRÁN; BARBOSA-CÁNOVAS, 2004; ALLENDE *et al.*, 2009; ÖLMEZ; KRETZSCHMAR, 2009). O uso de calor pode alterar as características sensoriais e nutritivas dos alimentos como alteração da cor, perda de aromas e perda de compostos benéficos à saúde do consumidor (BAHÇEÇI; ACAR, 2007(UHPH); GUERRERO-BELTRÁN; BARBOSACÁNOVAS, 2004).

Vários métodos são utilizados na indústria alimentícia que são utilizados para a inativação de fungos, a fim de melhorar a qualidade dos produtos, como processamento térmico, a pasteurização, a radiação ultravioleta do tipo C (UV-C), processamento de alta pressão (HPP), processamento térmico de alta pressão (HPTP), homogeneização de ultra alta pressão e ultrassom de alta potência (HPU).

■ METODOLOGIA

Identificação dos artigos

Para identificar os estudos que abordavam o tema e realizados em diferentes países, foram realizadas buscas sistematizadas na base de dados *ScienceDirect* (<https://www.sciencedirect.com>). Os termos de busca utilizados nas bases foram: *fruits juices* e *heat-resistant moulds inactivation*. As buscas foram limitadas por tipo de artigo. A última busca foi realizada em 23 de fevereiro de 2021. Para a seleção dos estudos, utilizou-se como critério de inclusão de estudos de diferentes países, completos, que abordassem o tema “métodos de inativação de fungos termorresistentes em sucos de frutas” e/ou “inativação dos esporos de fungos termorresistentes em sucos de frutas”, no idioma inglês e nos últimos cinco anos. Foram excluídas as revisões de literatura e as revisões sistemáticas.

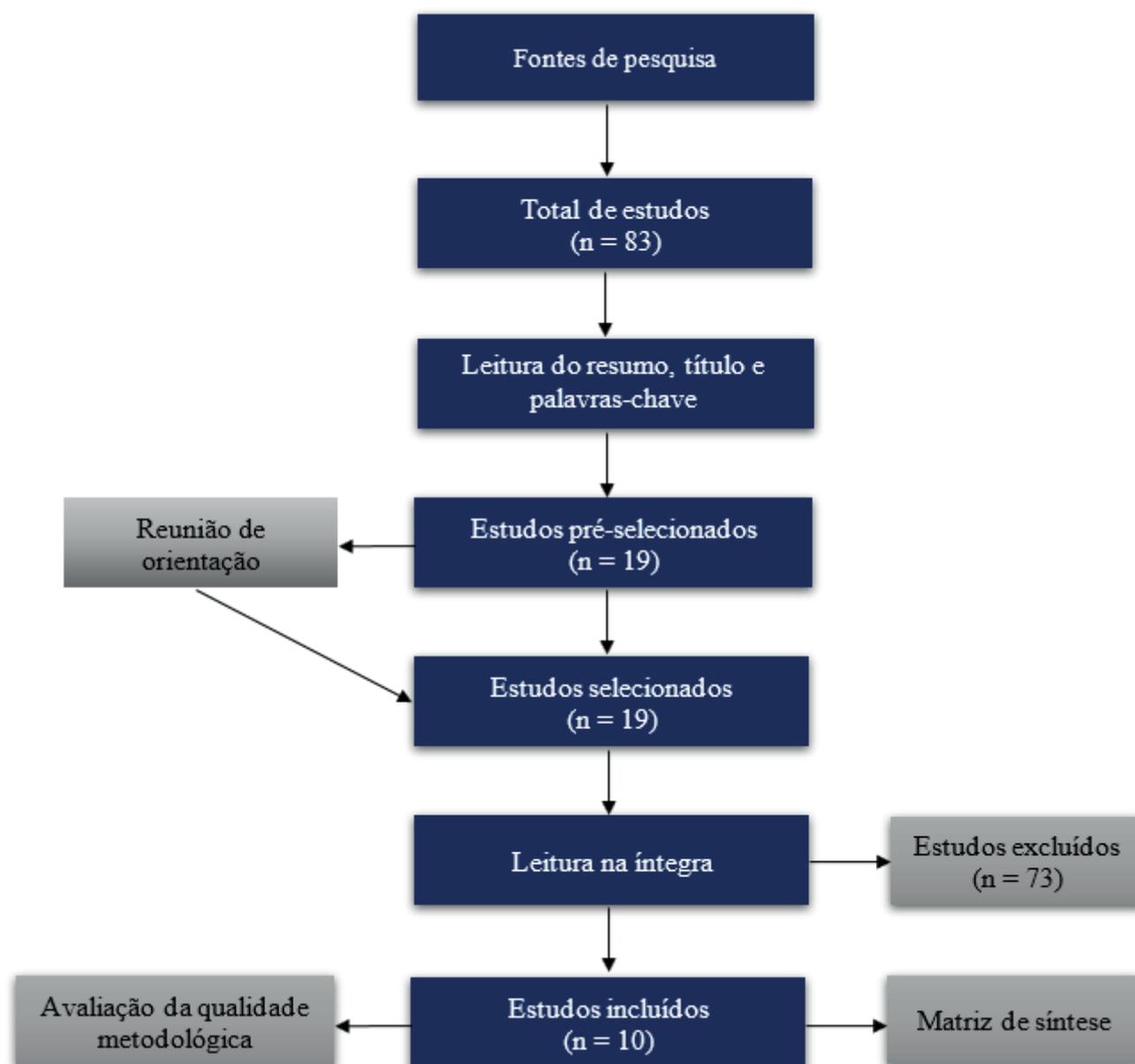
Pré-seleção

Para chegar a pré-seleção, buscou-se os títulos e/ou palavras chaves que poderiam ter relação com a temática da revisão deste trabalho. Foram usadas as seguintes palavras para

localizar os títulos dos artigos: *juices*, *fruits juices*, *heat-resistant moulds* e *inactivation*, as palavras foram buscadas em inglês, idioma de origem dos artigos. Em seguida, foi realizada uma leitura para melhor entendimento do conteúdo dos mesmos.

Na pré-seleção, foram descartados artigos que não tinham qualquer relação direta com inativação de fungos termorresistentes em frutas e/ou sucos de frutas, exemplos: artigos que não falavam de frutas e/ou suco de frutas, sobre a inativação de fungos termorresistentes, tratamentos térmicos e/ou não térmicos e tecnologias emergentes para a inativação de fungos termorresistentes. Com isso, foram descartados 73 artigos. Depois de uma reunião com os orientadores deste trabalho para discutir as abordagens dos artigos, foram selecionados 10 artigos (Figura 2).

Figura 2. Fluxograma da revisão integrativa do trabalho.



Fonte: elaborada pelos autores (2021).

Análise dos artigos pré-selecionados

A avaliação para a seleção dos artigos foi realizada pela autora deste trabalho e, em seguida, apresentada aos orientadores para verificar se havia divergência de opiniões, e estas foram sanadas por meio de um consenso. A seleção inicialmente foi realizada através de títulos, seguida por resumos, e quando selecionados, por leitura completa dos artigos.

■ RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os 10 artigos selecionados foram todos aprovados para a revisão integrativa. Os artigos foram lidos na íntegra e analisados suas principais informações.

Na abordagem proposta, a busca eletrônica retornou 83 artigos a partir das palavras-chave referenciadas. Após seleção manual, por meio de leitura dos títulos, foram descartados aqueles que não contemplavam os critérios de inclusão (Figura 2 acima). O resultado foi um total de 10 artigos incluídos, com diferentes abordagens: inativação de fungos e/ou ascósporos de fungos por diferentes métodos. Os resultados das pesquisas selecionadas para esta revisão integrativa estão descritos nas seções abaixo.

■ MÉTODOS TÉRMICOS DE INATIVAÇÃO DE FUNGOS TERMORRESISTENTES

Tratamento térmico convencional e/ou ôhmico (resistência térmica)

As aplicações de métodos térmicos para a inativação de FFT foram relatadas em quatro das pesquisas selecionadas, desde 2017 a 2021. Dentre essas, dois artigos avaliaram a resistência térmica de FFT em frutas e/ou produtos de frutas. Na pesquisa de Berni *et al.* (2017), estudaram a resistência térmica de quatro cepas de *Aspergillus* termorresistentes, sendo duas cepas da espécie *Aspergillus hiratsukae* (*Neosartorya hiratsukae*), uma cepa de *Aspergillus neoglaber* (*Neosartorya glabra*) e uma cepa de *Aspergillus thermomutatus* (*Neosartorya pseudofischeri*), em solução de glicose e em formulação a base de morango. Enquanto Tranquillini; Scaramuzza e Berni (2017), isolaram, por meio da detecção de esporos, duas espécies de *Talaromyces* spp. (*T. trachyspermus* e *T. bacillisporus*) e testaram a sua resistência térmica em suco de uva com mirtilo.

Diante dos resultados das pesquisas citadas anteriormente, a espécie *N. glabra* apresentou maior resistência térmica ($D = 15,4$ min a $87\text{ }^{\circ}\text{C}$) em formulação a base morango, enquanto a espécie *N. hiratsukae* apresentou menor resistência térmica em formulação a base morango quando comparada a solução de glicose ($D = 3,3$ min vs $7,7$ min a $87\text{ }^{\circ}\text{C}$, respectivamente). Os autores destacaram que a adição de sacarose pode causar aumento na

resistência térmica dos FFT, devido ao aumento do conteúdo de sólidos solúveis, expressos em °Brix. Ao relacionar esses resultados com os obtidos por Tranquillini; Scaramuzza e Berni (2017), buscaram-se comparar a temperatura mais próxima utilizadas por ambos os trabalhos, que foi de 88 °C. Dentre as espécies de FFT relatadas, a espécie *T. bacillisporus* apresentou um valor D de 2,71 min a 88 °C, em suco de uva com mirtilo e uma maior resistência térmica quando utilizada uma solução de glicose ($D = 4,07$ min a 88 °C), corroborando com a teoria de que os valores de graus Brix influenciam no aumento da resistência térmica dos FFT, ou seja, quanto maior o conteúdo de sólidos solúveis, maiores os valores de D . No entanto, os autores não comentaram sobre o efeito do sólidos solúveis, apenas afirmaram que um processo de pasteurização tradicional seria insuficiente para evitar qualquer problema de deterioração com *T. bacillisporus*, mesmo que a contaminação por FFT das matérias-primas processadas pelas indústrias de alimentos seja geralmente baixa (< 100 UFC/kg), uma vez que a indústria de alimentos geralmente tenta atingir cinco ou mais reduções logarítmicas em seus produtos.

Ao prosseguir com a abordagem do conteúdo de sólidos solúveis e a inativação de FFT, os pesquisadores Souza *et al.* (2017) avaliaram a inativação de *B. nivea* e *N. fischeri* em sucos de abacaxi e mamão, influenciada pela temperatura, entre 78 °C e 92 °C e de conteúdo de sólidos solúveis, variando de 10 °Brix a 30 °Brix, utilizando o modelo primário e secundário de Weibull. Os resultados dessa pesquisa mostraram que o modelo de Weibull apresentou um bom ajuste os dados da cinética de inativação de *B. nivea* e *N. fischeri*. Os valores de δ , que é a redução de um ciclo logarítmico, foram muito próximos em ambos os sucos, exceto para aqueles experimentos realizados a 80 °C com suco de abacaxi contendo 13 e 27 °Brix, respectivamente. No entanto, os autores comprovaram que, independentemente do suco, foi possível observar que a concentração de sólidos solúveis afetou os valores δ , com aumento desses valores de acordo com o aumento dos °Brix dos sucos. Assim, os estudos destacaram a contribuição para a indústria de alimentos, trazendo novos modelos preditivos que descrevem a influência e interações de condições de temperaturas e conteúdo de sólidos solúveis de sucos de frutas na cinética de inativação de FFT.

Em estudo mais recente, Müller *et al.* (2021), uma comparação do tratamento térmico convencional foi realizada com o aquecimento ôhmico para inativar *Aspergillus fumigatus* em suco de maçã a 75, 80, 85, 90 e 94 °C. Os resultados da pesquisa mostraram diferenças entre os dois processos térmicos, encontrados nas menores temperaturas analisadas (75, 80 e 85 °C). Quando o aquecimento ôhmico foi aplicado, o tempo de processamento foi até 23% menor. Os autores validaram um modelo com sucesso em duas temperaturas distintas (83 e 92 °C) e, segundo os pesquisadores, esse modelo pode ser aplicado para obter o tempo de processamento adequado para a pasteurização do suco de maçã. Ao comparar os dados

dessa pesquisa com as apresentadas anteriormente (BERNI *et al.*, 2017; TRANQUILLINI; SCARAMUZZA; BERNI, 2017; SOUZA *et al.*, 2017), o aquecimento ôhmico mostrou ser uma boa alternativa para a inativação de FFT em sucos, e pode ser considerado um processo alternativo à pasteurização convencional, pois pode promover maiores velocidades de aquecimento.

Método de Radiação Ultravioleta do tipo C (UV-C) e/ou combinação com o método de Homogeneização de Ultra Alta Pressão (UHPH)

Com relação as tecnologias consideradas emergentes, a aplicação de radiação UV-C e/ou a combinação com o método de UHPH foram abordadas em dois artigos selecionados para esta revisão. No primeiro, Menezes *et al.* (2020) avaliaram a influência do tratamento de luz UV-C em suco de maçã, demonstrando eficácia na inativação de *A. fischeri* e *P. niveus*. A UV-C testada, no trabalho, mostrou que as reduções decimais de ambas as cepas aumentaram significativamente, afirmando que é uma aplicação promissora para a prevenção da deterioração de sucos por *A. fischeri* e *P. niveus*, em que a luz UV-C permitiu a redução de $5,7 \log_{10}$ e $4,2 \log_{10}$ de ascósporos de *A. fischeri* e *P. niveus*, respectivamente, com uma dose máxima de 36 W/m^2 em 10 min de exposição. Os autores concluíram que a espécie *A. fischeri* é mais sensível à luz UV-C do que a espécie *P. niveus* e as todos os resultados do estudo são importantes para projetar processos de inativação de FFT em sucos.

Na segunda pesquisa sobre esse tema (realizada no ano anterior ao trabalho de Menezes *et al.* (2020)), Sacueda-Galvez *et al.* (2019) utilizaram a luz UV-C, a UHPH e a combinação desses dois métodos para a inativação e/ou germinação de ascósporos de *Talaromyces macrosporus* e *Neosartorya spinosa* em suco de maçã clarificado. Os autores concluíram que os tratamentos com UHPH a 100 e 200 MPa foram ineficazes na inativação de ascósporos de ambos os micro-organismos. No entanto, em qualquer uma dessas condições de UHPH, os ascósporos ficaram mais vulneráveis a UV-C e, foi alcançada uma redução máxima de $3,6 \log_{10}$ e $>5 \log_{10}$ de *T. macrosporus* e *N. spinosa*, respectivamente, após um tratamento combinado com uma dose UV-C de $21,5 \text{ J/mL}$. Os autores afirmaram que a aplicação da UHPH causou pequenas mudanças na estrutura da parede celular dos ascósporos, visualizados por microscopia eletrônica de varredura, o que pode ter deixado as células mais expostas à luz UV-C. Além disso, as características de pigmentação dos ascósporos influenciaram na sensibilidade à luz UV-C, já que a espécie *N. spinosa* foi mais sensível por apresentar uma cor branca clara em contraste com *T. macrosporus*, em que os ascósporos são laranja escuro, concluíram os autores.

Processamento de alta pressão (HPP), processamento térmico de alta pressão (HPTP) e/ou ultrassom de alta potência (HPU)

O método de HPP foi utilizado em dois artigos selecionados para esta revisão. O primeiro, dos autores Buerman; Worobo e Padilla-Zakour (2020), objetivou avaliar a utilização do HPP na inativação de fungos deteriorantes comumente encontrados em suco de maçã e determinar o efeito da *aw* e do pH. Nesse trabalho, os autores estudaram diferentes espécies de bolores e leveduras, no entanto, será apresentado apenas os resultados obtidos para o FFT *Paecilomyces variotii*, que é a forma assexuada e de menor resistência térmica de *Byssochlamys spectabilis*. Já a segunda pesquisa refere-se ao trabalho dos mesmos autores já citados, mas do ano de 2021 (BUERMAN; WOROBO; PADILLA-ZAKOUR, 2021). Nesse último trabalho, os autores avaliaram a pressão e o tempo necessário para causar uma redução dos fungos deteriorantes resistentes ao calor e à pressão, comuns em sucos, e determinaram o efeito da *aw* (0,94-1,0) e do pH (3,5-7,0) na cinética de inativação por HPP.

Diante dos resultados das pesquisas, o fungo *P. variotii* foi relativamente sensível ao HPP nas condições testadas: (450 MPa/1,5 min/pH 4,6); (450 MPa/1,5 min/pH 7,0) e (600 MPa/1,5 min/pH 4,6). Segundo os autores, a inativação completa pareceu ocorrer quando *P. variotii* foi processado a 600 MPa por 1,5 min em suco de maçã concentrado de pH 7,0 em todas as *aw* e esse efeito também foi observado na condição de 450 MPa por 1,5 min a uma *aw* de 0,98 e 1,0, com pH 4,6 em suco de maçã concentrado e com *aw* de 1,0 com pH 7,0. No entanto, essa pesquisa demonstrou que, as amostras inoculadas com *P. variotii* e mantidas em temperatura ambiente apresentaram recuperação, ou seja, as células injuriadas permaneceram presentes após o processamento. Por outro lado, *P. variotii* mantido sob refrigeração não mostrou capacidade de crescimento.

Ao discutir a pesquisa desenvolvida por Buerman; Worobo e Padilla-Zakour (2021), os autores estudaram a combinação de vários fatores na inativação de três diferentes espécies de FFT. Assim, apenas os resultados obtidos para a espécie *P. niveus* serão apresentados, por ser o mesmo gênero (*Paecilomyces*) descrito na pesquisa anterior. De acordo com os autores, a espécie *P. niveus* foi a mais resistente à pressão e a única redução dessa espécie ocorreu em *aw* de 0,94, pH de 4,6 e 450 MPa por 1,5 min. Além disso, os autores discutiram o uso de sulfito para uma *aw* de 0,94, verificando um aumento da vida útil durante o armazenamento à temperatura ambiente por várias semanas, porém, com uma *aw* 1,0 não ajudou na extensão da vida útil no armazenamento.

Com relação ao método de processamento térmico de alta pressão (HPTP), os autores Timmermans *et al.* (2020) investigaram se a combinação de alta pressão e calor moderado poderia ser usada como alternativa ao tratamento térmico para inativar ascósporos resistentes ao calor de *T. macrosporus* e *A. fischeri* em um produto de fruta altamente ácido, purê

de morango, armazenado subsequentemente em condições ambientais. Os pesquisadores demonstraram que a combinação de calor moderado (máximo 85-90 °C) e alta pressão (500-700 MPa) para tempos de espera de até 13 min inativou os esporos altamente resistentes muito mais rápido do que um tratamento térmico isolado. No entanto, em condições que combinaram alta pressão ≥ 600 MPa com $T_{\text{máx}} \geq 85$ °C por 13 min, os FFT foram inativados com sucesso. Os autores concluíram que uma combinação de calor moderado e pressão pode melhorar drasticamente a eficácia de inativar ascósporos resistentes ao calor em um produto de fruta com alto teor de ácido em comparação com um tratamento térmico, resultando potencialmente em uma melhor qualidade do produto.

Uma outra abordagem é o uso do ultrassom de alta potência (HPU) (frequência de 20 a 100 kHz) que é uma promissora tecnologia não térmica para preservação de alimentos. Esse tema foi abordado por Jambrak *et al.* (2018), que investigaram o efeito dessa tecnologia na inativação de cinco micro-organismos termorresistentes, em sucos clarificados e néctares de suco concentrado de maçã, mirtilo e *cranberry*. Dentre as espécies estudadas, apenas uma é FFT, que é *Aspergillus ochraceus*, que será discutida nesta revisão. Os autores verificaram que em todas as amostras de sucos de frutas e néctares em termos de tratamento ultrassônico a 60 °C e tempos de 3, 6 e 9 min (independentemente do valor da amplitude), a inativação completa do crescimento de *A. ochraceus* foi alcançada, enquanto a 20 °C e 40 °C não foi observada. O valor de redução de células dos FFT selecionados para tratamentos de ultrassom a 60 °C e a duração dos tempos de 3, 6 e 9 min variou de 3,556 a 5,934 \log_{10} UFC/mL. Assim, o número de células vegetativas de *A. ochraceus* foi significativamente reduzido por HPU, tendo a maior redução acima de 5 \log_{10} UFC/mL, concluem os autores.

■ CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os métodos de inativação de fungos filamentos termorresistentes, apresentados nesta revisão integrativa, são de grande importância para a indústria de alimentos, especialmente para a indústria de produtos de frutas, devido a presença desses micro-organismos em alimentos como sucos, polpas, néctares, entre outros.

As principais espécies reportadas pelas pesquisas selecionadas pertenciam aos gêneros *Penicillium*, *Talaromyces*, *Aspergillus* (anteriormente *Neosartorya* para algumas espécies), *Neosartorya*, *Paecilomyces* (anteriormente *Byssochlamys* para algumas espécies) e *Byssochlamys*.

As buscas pelos métodos de inativação de FFT revelaram diferentes tecnologia e/ou a combinação dessas em produtos de frutas, como o tratamento térmico convencional, o tratamento térmico ôhmico, o processamento de alta pressão, o processamento térmico

de alta pressão, a homogeneização de ultra alta pressão, o ultrassom de alta potência e a radiação ultravioleta do tipo C.

Em algumas pesquisas o uso da microbiologia preditiva foi abordado como uma importante ferramenta para a predição da inativação dos FFT em sucos de frutas, independente do método empregado e das condições intrínsecas dos produtos.

Conclui-se, com esta revisão integrativa, que os resultados obtidos nas pesquisas são de extrema importância para a indústria de alimentos e o uso de tecnologias emergentes, como as tecnologias não térmicas, está cada vez mais crescente, auxiliando no aumento da vida útil e na melhoria da segurança de alimentos, atendendo, assim, à demanda do consumidor por alimentos seguros e de rótulos limpos.

■ REFERÊNCIAS

1. ALLENDE, A.; MCEVOY, J.; TAO, Y.; LUO, Y. Antimicrobial effect of acidified sodium chlorite, sodium chlorite, sodium hypochlorite, and citric acid on *Escherichia coli* O157:H7 and natural microflora of fresh-cut cilantro. **Food Control**, v. 20, p. 230–234, 2009.
2. ANEJA, K. R.; DHIMAN, R.; AGGARWAL, N. K.; ANEJA, A. Emerging preservation techniques for controlling spoilage and pathogenic microorganisms in fruit juices. **International Journal of Microbiology**, p. 1-14, 2014.
3. ANON. Unusual heat resistance mould in apple juice. **Food Ind.**, v. 19, p. 55-56, 1967.
4. APUD HOCKING, A. D.; PITT, J. I. Food spoilage fungi. II. Heat Resistant Fungi. **CSIRO Division of Food Research**, v. 44, n. 4, p. 73-82, 1984.
5. ARAGÃO G. M. F. **Identificação e determinação de resistência térmica de fungos filamentosos termo-resistentes isolados de polpa de morango**. 1989. 139p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos – FEA. Campinas: Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), 1989.
6. BAHÇEÇI, K. S.; ACAR, J. Modeling the combined effects of pH, temperature, and ascorbic acid concentration on the heat resistance of *Alicyclobacillus acidoterrestris*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 120, n. 3, p. 266-273, 2007.
7. BARBOSA-CANOVAS, G. V.; POTHAKAMURY, U. R.; PALOU, E.; SWANSON, B. G. **Non-thermal preservation of foods**. New York: Marcel Dekker, Inc., 1998.
8. BERNI, E.; TRANQUILLINI, R.; SCARAMUZZA, N.; BRUTTIA, A.; BERNINI, V. *Aspergilli* with *Neosartorya*-type ascospores: heat resistance and effect of sugar concentration on growth and spoilage incidence in berry products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 258, p. 81-88, 2017.
9. BEUCHAT, L. R. Extraordinary heat resistance of *Talaromyces flavus* and *Aspergillus fischeri* ascospores in fruit products. **Journal of Food Science**, v. 51, n. 6, p. 1506-1510, 1986.

10. ELIZABETH, C.; BUERMAN, E. C.; WOROBO, R. W.; PADILLA-ZAKOUR, O. I. High-pressure processing of heat and pressure resistant fungi as affected by pH, water activity, sulfites, and dimethyl dicarbonate in a diluted apple juice concentrate. **Food Control**, v. 120, p. 107-551, 2021.
11. ELIZABETH, C.; BUERMAN, E. C.; WOROBO, R. W. High pressure processing of spoilage fungi as affected by water activity in a diluted apple juice concentrate. **Food Control**, v. 107, p. 106-779, 2020.
12. ENGEL, G.; TEUBER, M. Heat resistance of *Byssochlamys nivea* in milk and cream. **International Journal of Food Microbiology**, Oxford, v. 12, n. 2-3, p. 225-234, 1991.
13. ERKMEN, O.; BOZOGLU, T.F. Principals of food spoilage. In: JOHN WILEY; SONS, Ltd (Org.). **Food Microbiol. Princ. into Prat**, p. 458, 2016.
14. ESTILO, E.E.C.; GABRIEL, A. A. A model for the influences of soluble and insoluble solids, and treated volume on the ultraviolet-C resistance of heat-stressed *Salmonella enterica* in simulated fruit juices. **Food Microbiol.** v. 69, p. 72–81, 2018.
15. FERRARIO, M.; GUERRERO, S. Impact of a combined processing technology involving ultrasound and pulsed light on structural and physiological changes of *Saccharomyces cerevisiae* KE 162 in apple juice. **Food Microbiology**, v. 65, p. 83–94, 2017.
16. GIANPIERO, P.; SINIK, M.; CAPITOLI, M. M.; DONSI, G.; FERRARI, G. The influence of post-harvest UV-C and pulsed light treatments on quality and antioxidant properties of tomato fruits during storage. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 30, p. 103-111, 2015.
17. GUERRERO-BELTRAN, J. A.; BARBOSA-CANOVAS, G. V. Review: advantages and limitations on processing foods by UV light. **Food Science and Technology International**, v. 10, n. 3, p. 137–147, 2004.
18. HOCKING, A. D.; PITT, J. Spoilage of Processed Foods: Causes and Diagnosis. Australia: **AIFST**, p. 361-381, 2001.
19. HOUBRAKEN, J.; SAMSON, R. A.; FRISVAD, J. C. *Byssochlamys*: significance of heat resistance and mycotoxin production. **Advances in Food Mycology**, New York, v. 571, n. 3, p. 211-224, 2006.
20. JAMBRAK, A.R.; ŠIMUNEK, M.; MARKOV, K.; SMOLJNIĆ, G.; FRECE, J. Influence of high power ultrasound on selected moulds, yeasts and *Alicyclobacillus acidoterrestris* in apple, cranberry and blueberry juice and nectar. **International Journal of Food Microbiology**, v. 83, p. 3-17, 2018.
21. KEYSER, M.; MULLER, I. A.; CILLIERS, F. P.; NEL, W.; PIETER A.; GOUWS, P. A. Ultraviolet radiation as a non-thermal treatment for the inactivation of microorganisms in fruit juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 9, n. 3, p. 348–354, 2008.
22. KIKOKU, Y. Heat activation characteristics of *Talaromyces* Ascospores. **Journal of Food Science and Technology**, v. 68, p. 2331–2335, 2003.
23. KOTZEKIDOU, P. Heat resistance of *Byssochlamys nivea*, *Byssochlamys fulva* and *Aspergillus fischeri* isolated from canned tomato paste. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 62, n. 2, p. 410-412/437, 1997.

24. LAROUS, L.; HANDEL, N.; ABOOD, J.K.; GHOUL, M. The growth and production of patulin mycotoxin by *Penicillium expansum* on apple fruits and its control by the use of propionic acid and sodium benzoate. **Department of Biology, College of Science, University of Setiff. Setiff, Algeria, 2007.**
25. LAZZARI, F.A. Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações. 2a ed. Curitiba: **Ed. Do Autor**, p.148, 1997.
26. LINK, J. H. F. **Observationes in ordines plantarum naturales**. Dissertatio I^{ra}. Magazin der Gesellschaft Naturforschenden Freunde Berlin (in Latin), v. 3, p. 42, 1809.
27. MAGALHÃES D.B; SILVA J. P. C.; SILVA D. L. D. Influência da Composição do Suco de Laranja na Sobrevivência de Ascosporos de *Aspergillus fischeri* e *Byssochlamys Fulva*, Campinas: **8º SLACA. Anais**. 2009.
28. MARTINS, W. F. Predição do crescimento de *Weissella viridescens* sob condições não isotérmicas. 2015, 82 f. **Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos)** - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.
29. MENEZES, N. M. C.; LONGHI, D. A.; ORTIZ, B. O.; JUNIOR, A. F.; ARAGÃO, G. M. F. DE. Modeling the inactivation of *Aspergillus fischeri* and *Paecilomyces niveus* ascospores in apple juice by different ultraviolet light irradiances. **International Journal of Food Microbiology**, v. 333, n. November 2019, p. 108773, 2020.
30. MEYER, V. Genetic engineering of filamentous fungi – progress, obstacles and future trends. **Biotechnology Advances**, v. 26, p. 177–185, 2008.
31. MONYETHABENG, M. M.; KRÜGEL, M. The effect of UV-C treatment on various spoilage microorganisms inoculated into Rooibos iced tea. **LWT - Food Science and Technology**, v. 73, p. 419–424, 2016
32. MÜLLER, W. A; PASIN, M. V. A.; SARKIS J. R.; DAMASCENO, L.; MARCZAK, F. Effect of pasteurization on *Aspergillus fumigatus* in apple juice: Analysis of the thermal and electric effects. **Journal of Food Microbiology**, v. 338, p. 108-993, 2021.
33. NIELSEN, P. V. Preservative and temperature effect on growth of three varieties of the heat resistant mold, *Aspergillus fischeri*, as measured by an impedimetric method. **Journal of Food Science**, v. 56, n. 6, p. 1735, 1991.
34. OLLIVER; M.; RENDLE, T.; et al. A new problem in fruit preservation. Studies on *Byssochlamys fulva* and its effect on the tissues of processed fruit. **Journal of Society Chem. Ind.**, v. 53, p. 166, 1934.
35. ÖLMEZ, H.; KRETZSCHMAR, U. Potential alternative disinfection methods for organic fresh-cut industry for minimizing water consumption and environmental impact. **LWT: Food Science and Technology**, v. 42, n. 3, p. 686-693, 2009.
36. PELCZAR, M. J.; REID, R.; CHAN, E. C. S. Microbiologia: conceitos e aplicações. São Paulo: **Me Graw-Hill**, v. 1, p. 524, 1996.
37. PELCZAR, M.J.; REID, R; CHAN, E.C.S. Microbiologia conceitos e aplicações. São Paulo: **Mc Graw-Hill**, v. 2, p. 1072, 1981.

38. ROIG-SAGUÉS; A. X.; ASTO, E.; ENGERS, I.; HERNÁNDEZ-HERRERO, M. M. Improving the efficiency of ultra-high pressure homogenization treatments to inactivate spores of *Alicyclobacillus* spp. in orange juice controlling the inlet temperature. **LWT – Food Science and Technology**, v. 63, p. 866–871, 2015.
39. SANT'ANA, A. S.; ROSENTHAL, A.; MASSAGUER, P. R. Heat resistance and the effects of continuous pasteurization on the inactivation of *Byssoschlamys fulva* ascospores in clarified apple juice. **Journal of Applied Microbiology**, v. 107, p. 197–209, 2009.
40. SAUCEDA-GÁLVEZ, J. N.; ROCA-COUSO, R.; MARTINEZ-GARCIA, M.; HERNÁNDEZ-HERRERO, M. M. Inactivation of ascospores of *Talaromyces macrosporus* and *Neosartorya spinosa* by UV-C, UHPH and their combination in clarified apple juice., **International Journal of Food Microbiology** v. 98, p. 120–125, 2019.
41. SLONGO, A. P.; ARAGÃO, G. M. F. Factors affecting the thermal activation of *Neosartorya fischeri* in pineapple and papaya nectars. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 37, n. 3, p. 312-316, 2006.
42. SNYDER, A. B.; WOROBO, R. W. The incidence and impact of microbial spoilage in the production of fruit and vegetable juices as reported by juice manufacturers. **Food Control**, v. 85, p. 144–150, 2018.
43. SNYDER, A. B.; WOROBO, R. W. Fungal spoilage in food processing. **Journal of Food Protection**, v. 81, n. 6, p. 1035-1040, 2018.
44. SOUSA P. H. M.; MAIA G. A.; AZEREDO, H. M. C.; RAMOS, A. M.; FIGUEREDO, R. W. Storage stability of a tropical fruit (cashew apple, acerola, papaya, guava and passion fruit) mixed nectar added caffeine. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 45, n. 10, p. 2162–2166, 2010.
45. SOUZA, P. B. A.; POLTRONIERI, K.F.; ALVARENGA, V. O.; GRANATO, D.; RODRIGUEZ, A. D.; SANT'ANA, A. S.; PENÃ, W. E. Modeling of *Byssoschlamys nivea* and *Neosartorya fischeri* inactivation in papaya and pineapple juices as a function of temperature and soluble solids contents. **Food Science and Technology**, v. 82, p. 82-85, 2017.
46. SPLITTSTOESSER, D. F.; NIELSEN, P. V.; CHUREY, J. J. Detection of viable ascospores of *Aspergillus fischeri*. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 56, p. 599-603, 1993.
47. SURESH, E.R.; ETHIRAJ, S.; JAYARAM, H Heat resistance of *Aspergillus fischeri* isolated from grapes. **Journal of Food Science Technology**, v. 33, n. 1, p. 76-77, 1996.
48. TIMMERMANS, R.; HAYRAPETYANA, H.; VOLLEBREGT, M.; DIJKSTERHUIS. Comparing thermal inactivation to a combined process of moderate heat and high pressure: Effect on ascospores in strawberry puree. **International Journal of Food Microbiology**, v. 325, p. 108-629, 2020.
49. TOURNAS, V. H.; HEERES, J.; BURGESS, L. Moulds and yeasts in fruit salads and fruit juices. **Food Microbiology**, v. 23, n. 7, p. 684–688, 2006.
50. TOURNAS, V. Heat-resistant fungi of importance to the food and beverage industry. **Critical Reviews in Microbiology**, London, v. 20, n. 4, p. 243-263, 1994.

51. TOURNAS, V.; TRAXLER, R. W. Heat resistance of *Aspergillus fischeri* strain isolated from pineapple juice frozen concentrate. **Journal of Food Protection.**, Des Moines, v. 57, n. 9, p. 814-816, 1994.
52. TRABULSI, L. R **Microbiologia. São Paulo**: Ed. Atheneu, 1991.
53. TRANQUILLINI, R. et al. Occurrence and ecological distribution of Heat Resistant Moulds Spores (HRMS) in raw materials used by food industry and thermal characterization of two *Talaromyces* isolates. **International Journal of Food Microbiology**, v. 242, p. 116-123, 2017.
54. TRAXLER, R. W. Heat resistance of an *Aspergillus fischeri* strain isolated from pineapple juice frozen concentrate. **Journal of Food Protection**, v. 57, n. 9, p. 814-816, 1994.
55. TREMARIN, A.; BRANDÃO, T. R. S.; SILVA, C. L. M. Inactivation kinetics of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in apple juice submitted to ultraviolet radiation. **Food Control**, v. 73, p. 18–23, 2017.
56. UGWUANYI, J. O.; OBETA, J. A. N. Incidence of heat resistant fungi in Nsukka, Southern Nigeria. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 13, p. 157-164, 1991.

Screening of plant extracts on growth parameters of two *Aspergillus* section Flavi Toxigenic Strains

| Mariana Paiva Rodrigues
UFMG

| Lauranne Alves Salvato
UFMG

| Tatiana Xavier de Almeida
UFRRJ

| Priscila Natália Pinto
UFMG

| Águida Aparecida de Oliveira
UFRRJ

| Luiz Antonio Moura Keller
UFF

| Gabriela Lago Biscoto
UFMG

| Carlos Alberto da Rocha Rosa
UFRRJ

| Raul Roque de Souza Dias
UFMG

| Kelly Moura Keller
UFMG

ABSTRACT

Food contamination by fungi and mycotoxins is one of the greatest problems around the world. Some natural products, such as essential oils, have been shown to be effective inhibitors of fungal growth and production of their toxins. Objective: The aim of this study was to test the growth inhibition potential of 40 plant extracts against two *Aspergillus* section Flavi strains. Method: The extracts were obtained from ten herbs cultivated in Brazil; the screening was a two-stage process. First a wide-spectrum screen based on the agar diffusion method was carried to identify promising antifungal extracts. After that, an analysis of growth parameters was performed with the selected extracts. Results: Essential oils were more effective to control aflatoxigenic strains growth than aqueous and ethanolic extracts. Oregano and cinnamon essential oils, at 600 $\mu\text{g g}^{-1}$, showed good inhibition against both tested fungal strains. Conclusion: The antifungal activity of the essential oils tested is promising, however further investigation is necessary.

Keywords: Fungi, Essential oil, Ethanolic Extract, Aqueous Extract.

■ INTRODUCTION

Fungal contamination in foods is a global problem that generates great concern to industry and health, being responsible for several nutritional and economic losses. Under inadequate temperature and humidity conditions, a high risk of mycotoxins contamination exists. Depending on the amount ingested, time of exposure, type of toxin involved, among other factors, these toxins can cause intoxication and even death.

Aflatoxins (AFs) are difuranocoumarin derivatives and one of the most important groups of mycotoxins. These secondary metabolites have a potent hepatotoxic activity, but can also cause carcinogenic, mutagenic, teratogenic and immunosuppressive effects (AFSHAR *et al.*, 2020). The main producers of aflatoxins are *Aspergillus* section Flavi species, initially *A. flavus* was reported as the major producer of aflatoxin types B and G, however, nowadays it is known that *A. parasiticus* species are the main producer of the four principal aflatoxin types (B₁, B₂, G₁ and G₂). This fungus has fast growth ability on a great variety of natural substrates and are important feedstuffs contaminants (FRISVAD *et al.*, 2019; RASOOLI; ABYANEH, 2004). Aflatoxin B₁ (AFB₁) is indicated as the most toxic aflatoxin, and is listed as Group I, carcinogenic to humans, by the International Agency for Research on Cancer (IARC) (IARC, 2013).

Several inorganic fungicides are in use today, but its environmental and food safety is not fully established. Therefore, the research for new natural compounds recognized as safe substances (GRAS) with antifungal characteristics and potential to reduce fungal growth in foods are extremely important. Some researchers have already showed the potential of different essential oils and/or plant extracts in controlling and reducing fungal growth and inhibiting mycotoxins production (e.g., SOLIMAN; BADEAA, 2002; VELLUTI *et al.*, 2003; RASOOLI; ABYANEH, 2004; THANABORIPAT *et al.*, 2007; HUA, *et al.*, 2014; KALAGATUR *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2019; RODRIGUES *et al.*, 2019).

In Brazil, countless plant species considered as GRAS are cultivated and recognized for its antimicrobial properties. Considering all these facts, the aim of this work was to evaluate growth parameters to determine the influence of essential oils, ethanolic and aqueous extract of aromatic plants, cultivated in Brazil, on *Aspergillus* section Flavi toxigenic strains.

■ METHODS

Fungal strains

The referenced strains used were *A. flavus* RC 2053 (UNRC) and *A. parasiticus* IMI 242695. These strains were re-checked for identity prior use (PITT; HOCKING, 1997).

Sampling of plant material

Vegetal products, both essential oils and vegetal extracts were obtained from ten herbs usually used in culinary as condiments purchased from a local market: basil (*Ocimum basilicum*), cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*), clove (*Eugenia caryophyllata*), cumin (*Cuminum cyminum*), marjoram (*Origanum majorana*), nutmeg (*Myristica fragrans*), oregano (*Origanum vulgare*), rosemary (*Rosmarinus officinalis*), spearmint (*Mentha piperita*) and sweet fennel (*Pimpinella anisum*), all of them cultivated in Brazil.

Essential oils extraction

The essential oils were obtained from all plants by two methods: 1) hydrodistillation using Clevenger distillation equipment modified by Bassole *et al.* (2003). For this process, about 100 g of plant material of each plant was placed in the Clevenger distillation equipment with 1 L of water for 1 hour, after the distillation the essential oils were collected and stored in bottles protected from light. And 2) by hexanic extraction in the proportion of plant material/solvent 1:2 weight/volume, under dark and the extraction occurred passively for 48 hours (KUIATE *et al.*, 2006). The total income of every oil and extract produced was properly calculated.

Other plant extraction

The aqueous extract was obtained from the hydrodistillation of the herbs (ROZWALKA *et al.*, 2008). The ethanolic extract was obtained according to Thanaboripat *et al.* (2007), following a ratio of plant material/solvent 1:2 weight/volume. The extraction was done passively under dark for 48 hours. After this time the extract was filtered and concentrated in a rotary evaporator. All vegetal extracts were stored in amber bottles under refrigeration at 4 °C until use.

Initial screening by agar diffusion method

A fungal spore suspension (10^6 conidia per mL), adjusted with the Neubauer chamber, was incorporated into 20 mL of malt extract agar culture medium (MEA) at about 45-50 °C and then poured into Petri dishes. After solidification, five wells with 6 mm diameter were made, equidistant from each other, using a punch. Then 50 μ L of essential oils or plant extracts was pipetted into the properly identified wells. Each assay was performed in triplicates. The inhibition ring of fungal growth was evaluated by metric comparison (MARIATH *et al.*, 2006).

Effects of the natural extracts on *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* growth parameters

Those essential oils and vegetal extracts that demonstrated good efficiency in inhibiting fungal growth in the screening test were added to 20 mL of MEA at about 45-50 °C at the concentrations of 0 $\mu\text{g g}^{-1}$ (control), 50 $\mu\text{g g}^{-1}$, 100 $\mu\text{g g}^{-1}$, 150 $\mu\text{g g}^{-1}$, 300 $\mu\text{g g}^{-1}$ and 600 $\mu\text{g g}^{-1}$. The inoculation of toxigenic strains was performed using a suspension of conidia (approximately 10^6 conidia per inoculation) in semi-solid agar with Tween® 80, inoculated in the center of each plate, which was incubated at 25 °C for 10 days. The growth diameter of the colonies was measured daily (SOLIMAN *et al.*, 2002) to determine the growth rate and the lag phase of each treatment. All assays were made in triplicates.

Statistical analysis

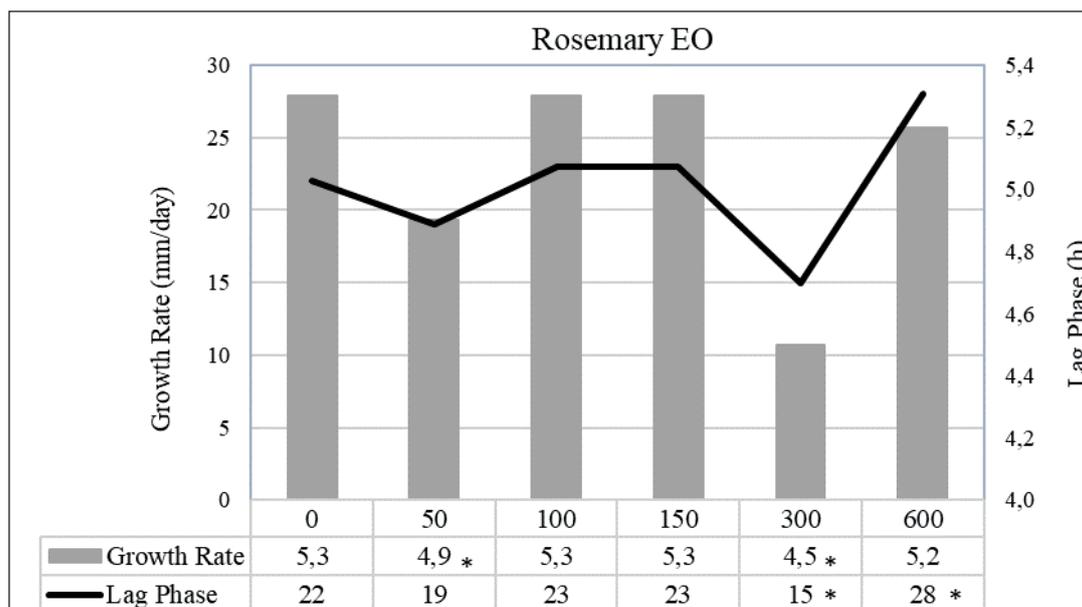
The analysis of variance (ANOVA) for the growth rate and lag phase values was performed. Mean values of treatments were compared with Dunnett test at the $P < 0.05$ level. The tests were performed by PROC GLM in SAS (SAS Institute, Cary, NC).

■ RESULTS AND DISCUSSION

Hydrodistilled essential oils, especially rosemary and oregano, had the most effective and promising inhibitory results. None of the aqueous extracts tested showed any inhibitory effect on the tested strains. Based on the screening test results, essential oils of rosemary and oregano; hexanic extraction essential oils of cinnamon and oregano, and ethanolic extracts of clove and cumin were selected for the next assays of growth parameters.

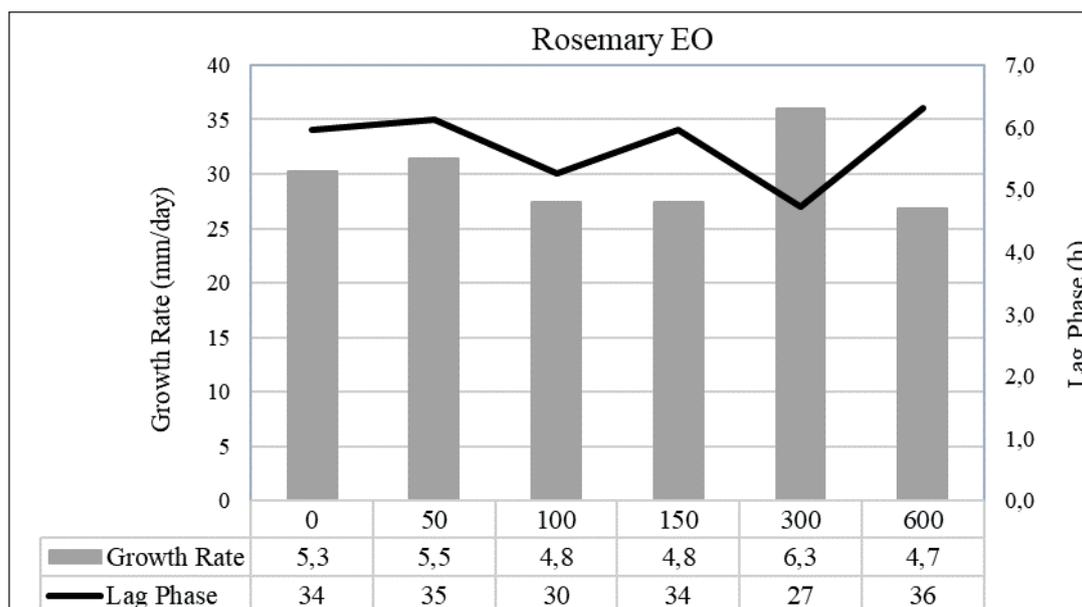
Figures 1 and 2 show the effect of different concentrations of rosemary on the growth rate and lag phase of *A. flavus* and *A. parasiticus*. The best growth rate inhibition was achieved with the concentration of 300 $\mu\text{g g}^{-1}$ in *A. flavus* fungi. This moderate antifungal effect was similar to the one described by Moghtader *et al.* (2011) against *A. parasiticus* and *A. flavus*. On the other hand, other rosemary essential oil studies showed similar results to those found in the control group (5.3 mm/day for both strains). *Aspergillus flavus* growth rate inhibition was only statistically significant at 50 and 300 $\mu\text{g g}^{-1}$. The rosemary essential oil (600 $\mu\text{g g}^{-1}$) was also able to increase the lag phase in *A. flavus* to 28 hours, which is a significant increase when compared to the control group (22 hours). On the contrary, such increase was not observed in *A. parasiticus* strain.

Figure 1. Effect of different concentrations ($\mu\text{g g}^{-1}$) of rosemary essential oil on the growth rate and lag phase of *Aspergillus flavus*.



Mean values based on triplicate data. Significant comparisons according to Dunnett test ($P < 0.05$) are indicated by *.

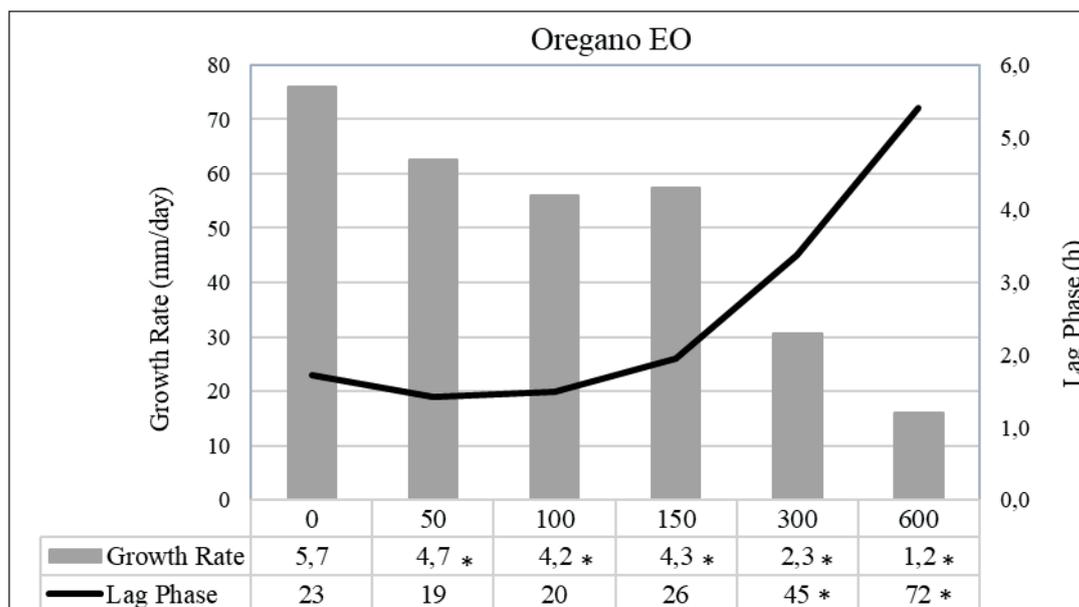
Figure 2. Effect of different concentrations ($\mu\text{g g}^{-1}$) of rosemary essential oil on the growth rate and lag phase of *Aspergillus parasiticus*.



Mean values based on triplicate data. Significant comparisons according to Dunnett test ($P < 0.05$) are indicated by *.

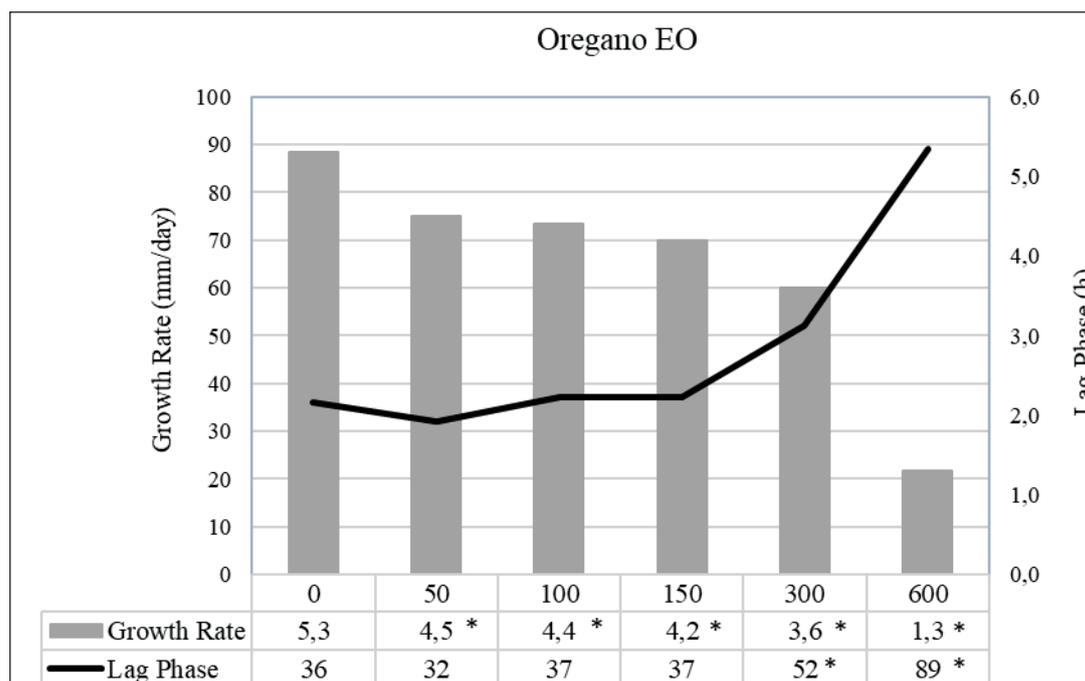
Oregano essential oils showed the best results relative to growth rate (decrease) and lag phase (increase) against *A. flavus* and *A. parasiticus* strains (Figures 3 and 4). The concentration $600 \mu\text{g g}^{-1}$ showed the best growth rate inhibition for both strains, which is similar to the results found by Pereira *et al.* (2006). The growth rate observed for *A. flavus* and for *A. parasiticus* for all treatments was statistically different from the control group. Lag phase analyses showed better results at $600 \mu\text{g g}^{-1}$, increasing from 36 hours to 89 hours for *A. parasiticus* and 23 hours to 72 hours for *A. flavus*.

Figure 3. Effect of different concentrations ($\mu\text{g g}^{-1}$) of oregano essential oil on the growth rate and lag phase of *Aspergillus flavus* strain.



Mean values based on triplicated data. Significant comparisons according to Dunnett test ($P < 0.05$) are indicated by *.

Figure 4. Effect of different concentrations ($\mu\text{g g}^{-1}$) of oregano essential oil on the growth rate and lag phase of *Aspergillus parasiticus* strain.

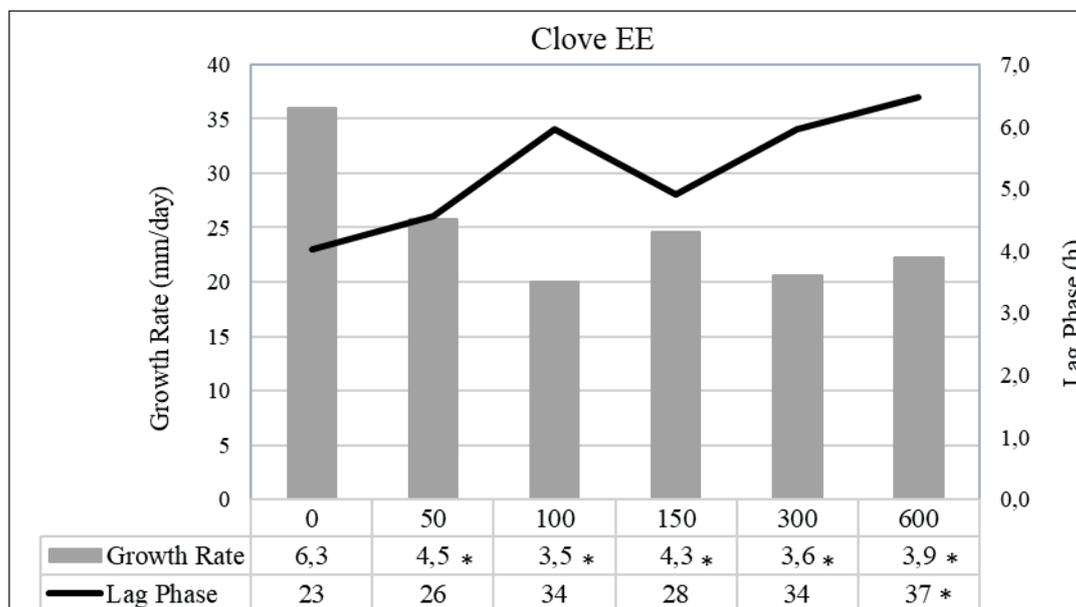


Mean values based on triplicated data. Significant comparisons according to Dunnett test ($P < 0.05$) are indicated by *.

Figures 5 and 6 show, respectively, the effect of different concentrations of clove ethanolic extracts on the growth rate and lag phase of *A. flavus* and *A. parasiticus* strains. On *A. flavus* strain, the clove ethanolic extract was able to significantly inhibit growth at all tested concentrations when compared to the control, also the lag phase increased at the 600 $\mu\text{g g}^{-1}$ concentration to 37 hours. *Aspergillus parasiticus* showed a greater reduction in their growth rate and increase in its lag phase at the concentrations 300 and 600 $\mu\text{g g}^{-1}$ (2,4 and 2,1 mm/

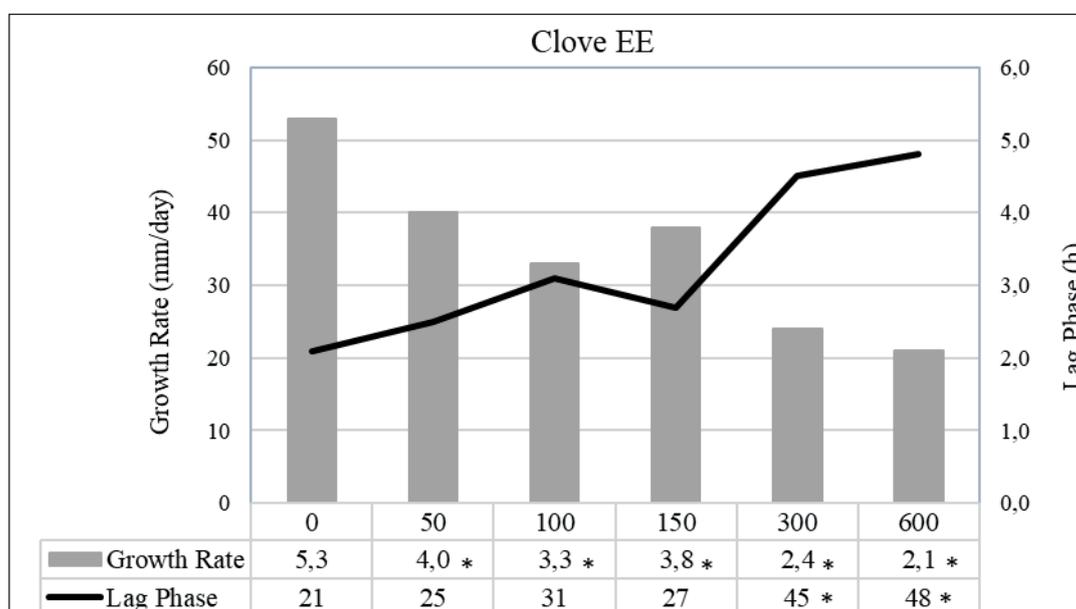
day, 45 and 48 hours, respectively). These results are similar to those found by Ferdous and Islam (1991) and Castellanos *et al.* (2020), which confirmed the antifungal activity of clove extracts against different fungal species.

Figure 5. Effect of different concentrations ($\mu\text{g g}^{-1}$) of clove ethanolic extract on the growth rate and lag phase of *Aspergillus flavus*.



Mean values based on triplicated data. Significant comparisons t according to Dunnett test ($P < 0.05$) are indicated by *.

Figure 6. Effect of different concentrations ($\mu\text{g g}^{-1}$) of clove ethanolic extract on the growth rate and lag phase of *Aspergillus parasiticus* strain.

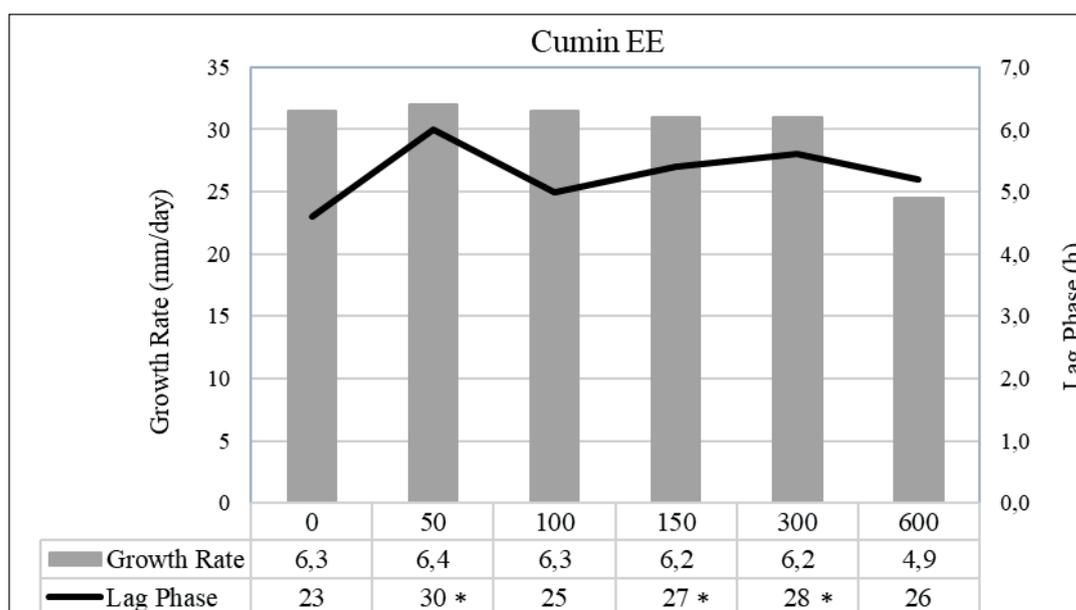


Mean values based on triplicated data. Significant comparisons according to Dunnett test ($P < 0.05$) are indicated by *.

Figures 7 and 8 show, respectively, the effect from different concentrations of cumin ethanolic extracts on the growth rate and lag phase of *A. flavus* and *A. parasiticus* strains. Cumin ethanolic extract showed no statistical difference in the growth inhibition of *A. flavus*. The lag phase of this fungi only showed a small increase in concentrations of 50, 150 and

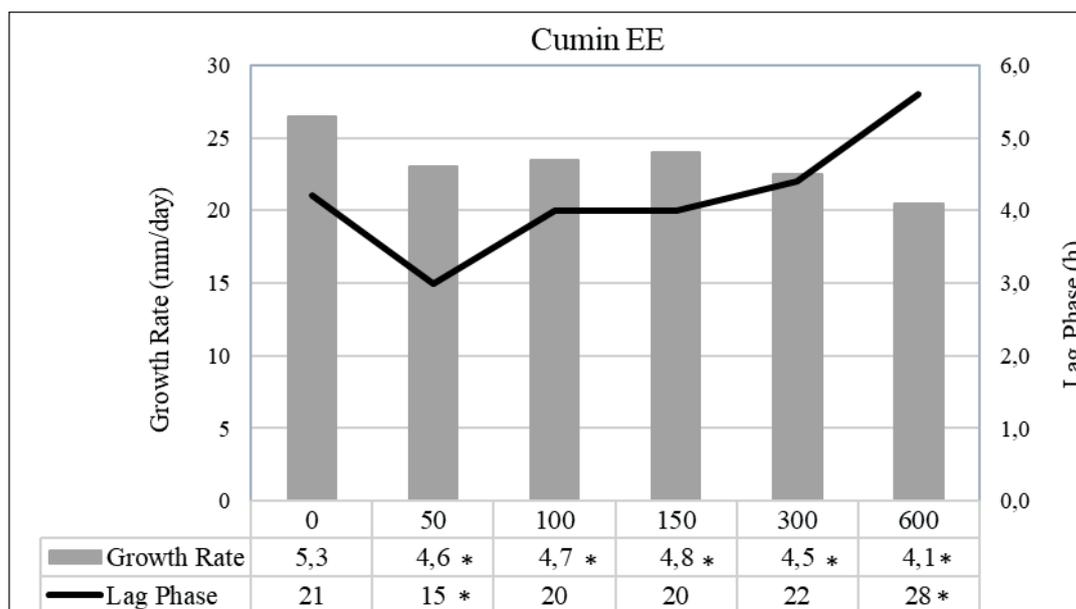
300 $\mu\text{g g}^{-1}$. *Aspergillus parasiticus* strain had the greater growth inhibition at the highest concentration tested (4.1 mm/day). The largest increase of lag phase also occurred with 600 $\mu\text{g g}^{-1}$ (28 hours). Thyagaraja and Hosono (1996) found that cumin extract was able to inhibit food spoilage molds, which was different from our results showing only a small change when compared to the control group.

Figure 7. Effect of different concentrations ($\mu\text{g g}^{-1}$) of cumin ethanolic extract on the growth rate and lag phase of *Aspergillus flavus* strain.



Mean values based on triplicated data. Significant comparisons according to Dunnett test ($P < 0.05$) are indicated by *.

Figure 8. Effect of different concentrations ($\mu\text{g g}^{-1}$) of cumin ethanolic extract on the growth rate and lag phase of *Aspergillus parasiticus* strains.

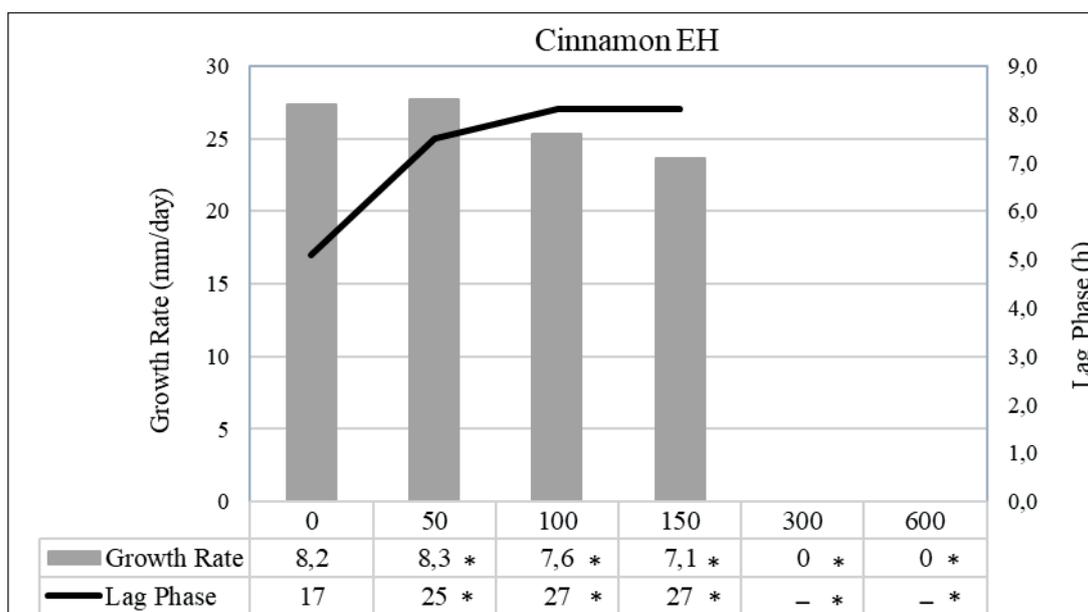


Mean values based on triplicated data. Significant comparisons according to Dunnett test ($P < 0.05$) are indicated by *.

The results of the cinnamon hexanic extract are shown in figures 9 and 10. These results confirm a great growth inhibition of this extract against both strains. *Aspergillus flavus*

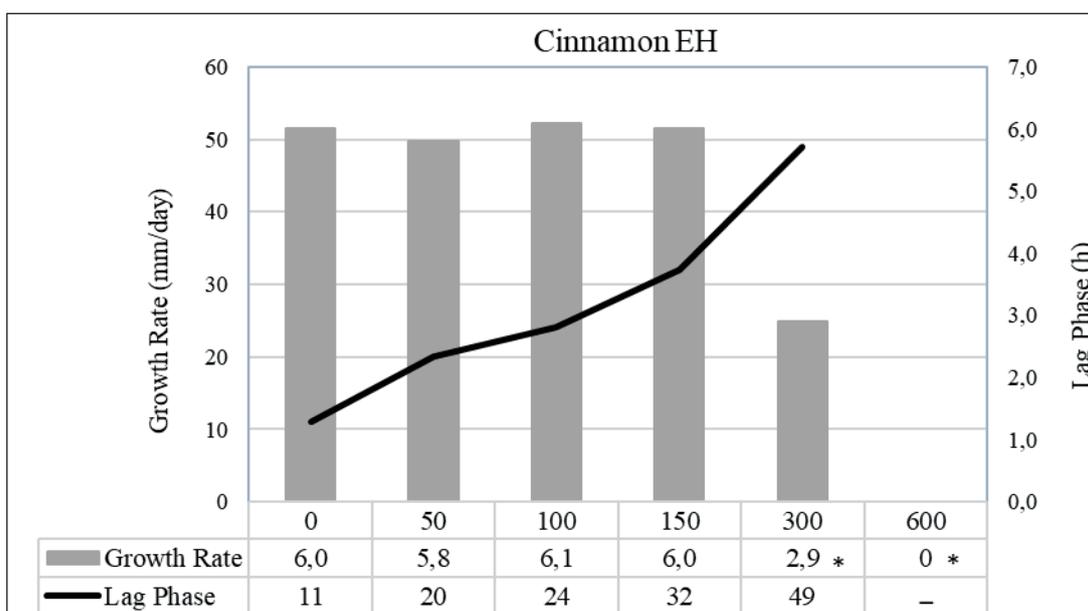
showed no mycelial development in neither 300 nor 600 $\mu\text{g g}^{-1}$, in *A. parasiticus* the mycelial development was absent at 600 $\mu\text{g g}^{-1}$. The lag phase gradually increased as the concentration of the extract increased. Souza *et al.* (2004) found similar results when working with cinnamon essential oil against *A. niger* growth, Sinha *et al.* (1993) found that cinnamon oil is very effective against *A. flavus* growth as well as aflatoxin production, and Hu *et al.* (2019) found that cinnamon oil has a strong antifungal activity against three *Aspergillus* strain, *A. niger*, *A. oryzae* and *A. ochraceus*.

Figure 9. Effect of different concentrations ($\mu\text{g g}^{-1}$) of cinnamon hexanic extract essential oil on the growth rate and lag phase of *Aspergillus flavus*.



Mean values based on triplicated data. Significant comparisons according to Dunnett test ($P < 0.05$) are indicated by *.

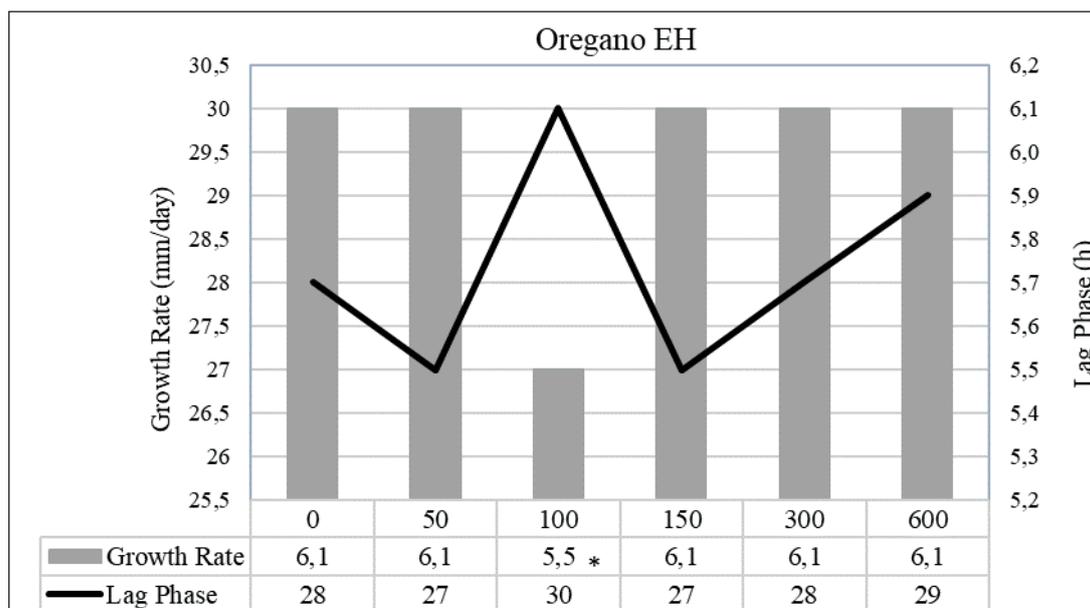
Figure 10. Effect of different concentrations ($\mu\text{g g}^{-1}$) of cinnamon hexanic extract essential oil on the growth rate and lag phase of *Aspergillus parasiticus*.



Mean values based on triplicated data. Significant comparisons according to Dunnett test ($P < 0.05$) are indicated by *.

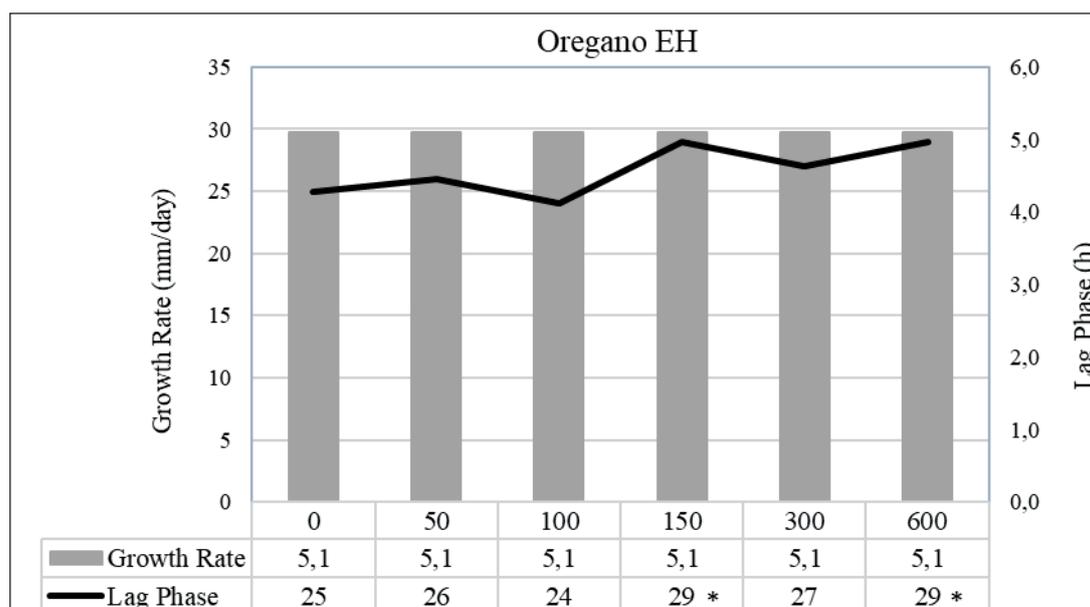
Oregano hexanic extract showed significant difference against the control group at 100 $\mu\text{g g}^{-1}$ for reduction of growth rate for *A. flavus*. However, *A. parasiticus* showed significant difference only at concentrations of 150 and 600 $\mu\text{g g}^{-1}$ for lag phase (Figures 11 and 12). This result indicates that the oil extraction method modifies the composition of the final product, as oregano essential oil extracted by hydrodistillation yielded good results, as previously described.

Figure 11. Effect of different concentrations ($\mu\text{g g}^{-1}$) of oregano hexanic extraction on the growth rate and lag phase of *Aspergillus flavus*.



Mean values based on triplicated data. Significant comparisons according to Dunnett test ($P < 0.05$) are indicated by *.

Figure 12. Effect of different concentrations ($\mu\text{g g}^{-1}$) of oregano hexanic extraction on the growth rate and lag phase of *Aspergillus parasiticus*.



Mean values based on triplicated data. Significant comparisons according to Dunnett test ($P < 0.05$) are indicated by *.

■ CONCLUSION

Some plant extracts here tested significantly inhibited the development of toxigenic fungi, confirming its fungicide efficiency. These findings could also indicate that these extracts have a practical application on mycotoxin production inhibition. Natural products can be safely used as preservative method on some kinds of foods, having relevance to control food contamination by fungi. Further investigations in this field are already in advance.

■ ACKNOWLEDGEMENTS

This work was carried out thanks to grants from Vitalis Ind. e Com. Ltda. for providing the plant material.

■ REFERENCES

1. AFSHAR, P. et al. Aflatoxins biodetoxification strategies based on probiotic bacteria. **Toxicon**, v. 178, n. 1, p. 50-58, 2020.
2. BASSOLE, I. H. N. et al. Chemical composition and antibacterial activities of the essential oils of *Lippia chevalieri* and *Lippia multiflora* from Burkina Faso. **Phytochemistry**, v. 62, n. 2, p. 209–212, 2003.
3. CASTELLANOS, L.M. et al. In Vitro and In Vivo Antifungal Activity of Clove (*Eugenia caryophyllata*) and Pepper (*Piper nigrum* L.) Essential Oils and Functional Extracts Against *Fusarium oxysporum* and *Aspergillus niger* in Tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **International Journal of Microbiology**, v. 2020, n. 1, p. 1-8, 2020.
4. FERDOUS, A. J.; ISLAM, S. K. N. *In vitro* antifungal activity of clove extracts. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 1, p. 87-89, 1991.
5. FRIVAD, J. C. et al. Taxonomy of *Aspergillus* section Flavi and their production of aflatoxins, ochratoxins and other mycotoxins. **Studies in Mycology**, v. 93, n. 1, p. 1-63, 2019.
6. HU, F. et al. Comparison of antifungal activity of essential oils from different plants against three fungi. **Food and Chemical Toxicology**, v. 134, n. 1, p. 110821, 2019.
7. HUA, H. et al. Inhibitory Effect of Essential Oils on *Aspergillus ochraceus* Growth and Ochratoxin A Production. **PLoS ONE**, v. 9, n. 9, p. 108285, 2014.
8. INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. Monograph of Aflatoxins. Disponível em: <https://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100F/mono100F-23.pdf> , acessado em: 03 de set de 2021.
9. KALAGATUR, N. K. et al. Discrete and combined effects of Ylang-Ylang (*Cananga odorata*) essential oil and gamma irradiation on growth and mycotoxins production by *Fusarium graminearum* in maize. **Food Control**, v. 94, n. 1205, p. 276-283, 2018.

10. KUIATE, J. R. et al. Chemical composition and antidermatophytic properties of volatile fractions of hexanic extract from leaves of *Cupressus lusitanica* Mill. from Cameroon. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 103, n. 2, p. 160–165, 2006.
11. MARIATH, I. R. et al. Atividade antifúngica do óleo essencial de *Eugenia aromatica* B. contra fungos dematiáceos. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 87, n. 3, p. 81–84, 2006.
12. MOGHTADER, M.; SALARI, H.; FARAHMMAND, A. Evaluation of the antifungal effects of rosemary oil and comparison with synthetic borneol and fungicide on the growth of *Aspergillus flavus*. **Full Length Research Paper**, v. 3, n. 6, p. 210-214, 2011.
13. PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and Food Spoilage**. 2nd ed. Cambridge: Chapman & Hall. 1997.
14. RASOOLI, I.; ABYANEH, M. R. Inhibitory effects of Thyme oils on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. **Food Control**, v. 15, n. 6, p. 479–483, 2004.
15. RODRIGUES, M. P. et al. In Vitro Activity of Neem (*Azadirachta indica*) Oil on Growth and Ochratoxin A Production by *Aspergillus carbonarius* Isolates. **Toxins**, v. 11, n. 10, p. 579, 2019.
16. ROZWALKA, L. C. et al. Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. **Ciência Rural**, v. 38, n. 2, p. 301–307, 2008.
17. SOLIMAN, K. M.; BADEAA, R. I. Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. **Food and Chemical Toxicology**, v. 40, n. 11, p. 1669–1675, 2002.
18. WANG, L. et al. Effects of Essential Oil Citral on the Growth, Mycotoxin Biosynthesis and Transcriptomic Profile of *Alternaria alternate*. **Toxins**, v. 11, n. 10, p. 553, 2019.
19. THYAGARAJA, N.; HOSONO, A. Effect of spice extract on fungal inhibition. **Lebensmittel-Wissenschaft Technologie**, v. 29, n. 3, p. 286–288, 1996.
20. THANABORIPAT, D. et al. Inhibitory effect of essential oils on the growth of *Aspergillus flavus*. **KMITL Science and Technology Journal**, v. 7, n. 1, p. 1-7, 2007.
21. VELLUTI, A. et al. Inhibitory effect of cinnamon, clove, lemongrass, oregano and palmarose essential oils on growth and fumonisin B₁ production by *Fusarium proliferatum* in maize grain. **International Journal of Food Microbiology**, v. 89, n. 2-3, p. 145-154, 2003.

Aplicação do *probiótico* *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* (BB-12) e o prebiótico inulina em um produto cárneo tipo copa suína com alegação funcional

| Talita Aparecida Ferreira de Campos
UEM

| Alinne Karla dos Santos
UEM

| Annecler Rech de Marins
UEM

| Iza Catarini dos Santos
UEM

| Natallya Marques da Silva
UEM

| Marcos Antônio Matiucci
UEM

| Elder dos Santos Araujo
UEM

| Raquel Gutierrez Gomes
UEM

| André Luiz Tomaz de Oliveira
UEM

| Andresa Carla Feihmann
UEM

RESUMO

A aplicação comercial de micro-organismos probióticos em embutidos fermentados ainda não é comum. **Objetivo:** desenvolver e caracterizar uma copa suína com alegação de propriedade funcional pela adição do probiótico *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* (BB-12) com o prebiótico inulina, por meio de análise de viabilidade celular e comportamento dos probióticos em condições gastrointestinais *in vitro* simuladas. **Material e métodos:** foram realizadas as análises de pH, atividade de água, oxidação lipídica e protéica, coliformes totais (35 °C) e termotolerantes (45 °C), *Salmonella* spp, contagem de fungos e leveduras, viabilidade celular da cepa BB-12 e sua sobrevivência sob condições gastrointestinais simuladas *in vitro*. **Resultados:** a adição do probiótico e da inulina promoveu redução do pH nas copas SIMB e PROB em relação ao tratamento controle, e a atividade de água da copa PROB apresentou reduções gradativas. Foi encontrado maior nível de oxidação lipídica no controle, e na oxidação protéica o controle e a PROB apresentaram maior valor. Na viabilidade celular e na simulação gastrointestinal *in vitro* foram observadas contagens acima de 9 UFC log. g⁻¹ de BB-12 tanto na a copa PROB como na copa SIMB. **Conclusão:** pode-se concluir que tanto a copa PROB e SIMB atenderam o requisito para alimentos funcionais onde a quantidade mínima de células viáveis para os probióticos deve estar na faixa de 10⁸ a 10⁹ UFC/g na recomendação diária do produto pronto para o consumo.

Palavras-chave: Bifidobactérias, Viabilidade, Digestão, Produto Carne.

■ INTRODUÇÃO

Os alimentos com alegação de propriedade funcional é um alimento ou ingrediente que, além das funções nutricionais básicas, quando consumido na dieta usual, produz efeitos metabólicos e/ou fisiológicos benéficos à saúde (BRASIL,2008), os quais podem conter substâncias como as fibras, probióticos (lactobacilos e bifidobactérias), ácidos graxos (linoléico, ômega-3 e 6, e limonóides), compostos fenólicos (resveratrol, isoflavona e zeaxantina) e carotenoides (betacaroteno, licopeno, luteína), tanto na forma natural do alimento como os artificiais, que por sua vez, são fabricados por empresas especializadas e autorizadas (ANGELO, 2006).

Por sua vez os probióticos são micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas (10^8 a 10^9 UFC/g), conferem benefícios à saúde do indivíduo (BRASIL, 2018). Já os frutooligossacarídeos (FOS) não são metabolizados pelo organismo humano, e quando confere funcionalidade para um alimento são considerados prebióticos, além disso, eles estimulam seletivamente a proliferação ou atividade de populações de bactérias desejáveis no cólon beneficiando a saúde do hospedeiro (CUELLO-GARCIA *et al.*, 2017). E a combinação simultânea de micro-organismos probióticos e ingredientes prebióticos formam os alimentos simbióticos que têm as características funcionais dos dois grupos que, em sinergia, vão beneficiar a saúde do hospedeiro (PÉREZ-BURILLO *et al.*, 2019).

Essa junção de probióticos e prebióticos são utilizados em diversos alimentos lácteos, mas também podem ser inclusos em produtos cárneos fermentados, como a copa suína, que é definida como um produto cárneo industrializado, obtido do corte íntegro da parte da nuca ou sobrepaleta suína, com adição de condimentos e de aditivos, onde o produto é maturado, dessecado, defumado ou não (BRASIL, 2000).

A partir desse contexto, o objetivo deste estudo foi desenvolver e caracterizar um produto cárneo tipo copa suína com alegação de propriedade funcional pela adição do probiótico *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12) com o prebiótico inulina, por meio de análise de viabilidade celular e comportamento dos probióticos em condições gastrointestinais *in vitro* simuladas.

■ METODOLOGIA

Este estudo foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado, composto por três tratamentos e três repetições. A cepa probiótica *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12) e o prebiótico inulina Beneo (Raftiline) HPX® utilizados neste estudo foram doados pelas empresas Chr. Hansen e Clariant S.A (São Paulo) respectivamente.

Para a preparação de cada formulação da copa suína, foi utilizada 100 gramas de carne sobrepaleta suína (desossada e sem pele e gorduras externas), com os condimentos sal comercial (3%), sal de cura (eritorbato, nitrito e nitrato de sódio) (0,25%), alho (0,3%), cebola (0,3%), noz moscada (0,1%), canela (0,03%) e pimenta calabresa (0,2%) todos em pó, onde foram adquiridos no comércio local da cidade de Maringá/PR.

As formulações desenvolvidas receberam as seguintes identificações: C apenas com adição dos condimentos. PROB com os condimentos e o probiótico. SIMB com os condimentos, probiótico e a inulina. A quantidade da cepa BB-12 utilizada foi de 10^8 a 10^9 UFC/g e estavam na sua forma livre, ou seja, sem encapsular, já a inulina foi de 2% com base no peso da carne.

Os condimentos foram dissolvidos em salmoura produzida com 50 mL de água e injetados com auxílio de uma injetora manual nas porções da carne, sendo que após, as mesmas foram envolvidas em papel manteiga e em seguida em filme plástico devidamente identificadas, e armazenadas sob refrigeração em câmara de incubação B.O.D. (Tecnal- TE-371) em temperatura a 10 °C durante os 45 dias de análises.

Os experimentos foram análises de pH, atividade de água, oxidação lipídica e proteica, contagem de fungos e levedura, coliformes totais (35 °C) e termotolerantes (45 °C), *Salmonella* spp, viabilidade celular da cepa BB-12 e sua sobrevivência sob condições gastrointestinais simuladas *in vitro*.

Os valores pH foram determinados utilizando um pHmetro digital (HANNA™) com sonda de perfuração devidamente calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e pH 7,0 mediante leituras diretas na copa. A determinação da atividade de água (a_w) foram verificadas utilizando aparelho medidor de atividade de água (4TEV-AQUALAB) por medida direta nas amostras.

A oxidação de lipídios foi realizada utilizando o método de TBARS consiste na análise das substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) de acordo com Raharjo *et al.* (1992). Onde primeiramente, adicionou-se 0,5 mL de BHT 0,15% (di-tercbutil metil fenol) em um tubo contendo 5 gramas de amostra. Em seguida, adicionou-se 4 mL de solução de sulfanilamida 0,5% e 36 mL de TCA 5% (ácido tricloroacético), e manteu se em repouso por 10 minutos, com posterior filtração.

Em um tubo de ensaio, colocou-se 2 mL do filtrado e 2 mL de TBA 0,08 M. Os tubos foram mantidos a 80 °C por 40 minutos. Por fim, a leitura foi feita em espectrofotômetro (Agilent UV-8553) a 532 nm. Os resultados foram expressos em miligramas de malonaldeído por quilograma de amostra.

A oxidação proteica foi medida a concentração de grupos carbonila usando 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH, Sigma – Aldrich, St. Louis, EUA), conforme descrito por Levine *et al.*

(1994). A absorvância foi lida a 370 nm usando um espectrofotômetro Evolution™ 300 UV-Vis (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, EUA).

A concentração do grupo carbonila foi quantificada usando a lei de Beer-Lambert, $A = c \times b \times \epsilon$, onde A é a diferença entre a absorvância da amostra e a absorvância de controle, c é a concentração de proteína carbonilada, b é o comprimento do caminho óptico e ϵ é o coeficiente de extinção molar (22.000 mols / cm). Os resultados foram expressos como nmol de grupos carbonil/mg de proteína.

As análises microbiológicas foram coliformes totais e termotolerantes foi realizada conforme a metodologia descrita por Siqueira (1995), *Salmonella* spp foi utilizado o 3M™ Petrifilm™ Salmonella Express Food Safety oficializados pela AOAC (Association of Official Analytical Chemists) (AOAC, 2005), contagem de bolores e leveduras foi realizada conforme King *et al.*, (1979).

Já a sobrevivência da cepa BB-12 sob simulação gastrointestinal *in vitro* foi simulada conforme descrito por Koehnlein *et al.*, (2016), com modificações. Utilizou-se 10 g de da amostra foram misturados com 30 mL de solução de saliva artificial (2,38 g de Na_2HPO_4 , 0,19 g de KH_2PO_4 , 8 g de NaCl em 1 L de água destilada). O pH foi ajustado para 6,75, à temperatura de 37 °C e foi adicionada α -amilase para obter 200 U de atividade enzimática. Esta mistura foi agitada a 150 rpm durante 10 min.

Após este tempo, o pH foi ajustado para 1,2 por a adição de HCl 5 mols/L e 39 mL de fluido gástrico artificial (0,32 g de pepsina em 100 mL de NaCl 0,03 M, pH 1,2) foi adicionado. A mistura foi incubada a 37 °C por 120 min, em um agitador com uma agitação de 150 rpm.

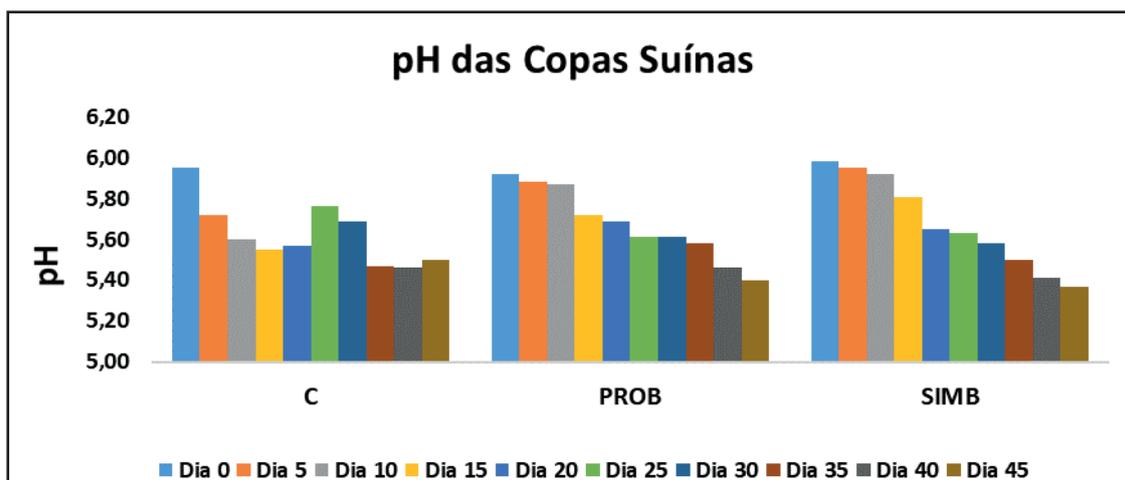
Finalmente, o pH foi ajustado novamente para 6,0 com NaHCO_3 após a adição de 6,5 mL de NaCl (120 mM), 6,5 mL de KCl (5 mM) e 39 mL de fluido intestinal (0,15 g de pancreatina e 0,9 g de extrato biliar em 100 mL de NaHCO_3 0,1 M). A mistura foi incubada a 37 °C durante 60 min, a 150 rpm. Resumidamente, esta análise consiste em quatro fases, e no término de cada fase foram feitas análises de viabilidade dos probióticos.

Todos os resultados foram avaliados pela análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey, comparando as médias entre as amostras, a um nível de significância de 5% utilizando o *software Statistica* 13.0 (CANTERI *et al.*, 2001).

■ RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se que os valores de pH das três formulações variaram durante os 45 dias de avaliação, sendo que o controle foi de 5,95 a 5,50, para a formulação probiótica foi de 5,92 a 5,40 e da simbiótica foi de 5,98 a 5,37 apresentando diferença significativa ($p < 0,05$), como mostra a Figura 1.

Figura 1. Valores médios de pH das copas suínas controle (C), probiótica (PROB) e simbiótica (SIMB) durante os 45 dias de avaliação.



Fonte: elaborada pelos autores (2021).

A partir do quinto dia de fabricação, o pH observado no tratamento controle sofreu uma redução maior de 5,95 para 5,72, porém esses valores sofreram algumas oscilações e um aumento nos dias 25 e 30, enquanto os valores de pH das copas com culturas probióticas mantiveram uma queda acentuada ao longo do processamento.

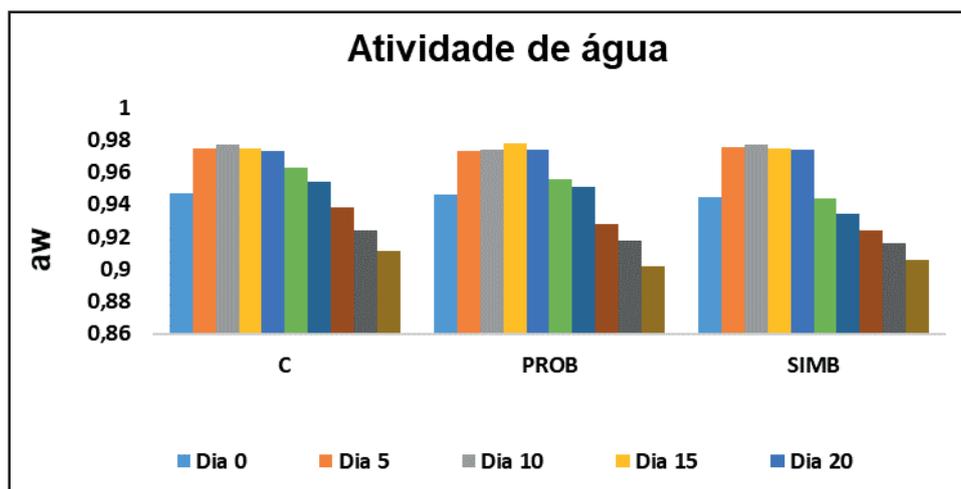
Essa redução do pH nas copas PROB e SIMB era esperada, uma vez que esses tratamentos continham a cepa probiótica BB-12 que produz ácido lático, que consequente proporcionou estabilidade na redução dos valores de pH das copas.

O uso de 2% de inulina no tratamento SIMB fez com que os valores de pH reduzissem de uma forma contínua durante os 45 dias. Como a inulina é um frutooligossacarídeo (FOS) que são açúcares não convencionais, eles são rapidamente metabolizados pelas bactérias probióticas (RAIZEL, 2011), e consequentemente favorece a proliferação dessa bactéria, as quais produzem mais ácido lático e assim promovem uma maior redução de forma contínua e gradativa nos valores de pH.

Não há definição de valores de pH mínimo ou máximo permitido para copas suínas (BRASIL, 2000), mas há um consenso para que esse valor, no produto final, seja superior a 5,0 (BIS-SOUZA *et al.*, 2020a; PRADO *et al.*, 2019). Pois com o pH próximo do ponto isoelétrico das proteínas (5,3) promove igualdade entre o número de cargas elétricas positivas e negativas, tornando as proteínas mais insolúveis e reduzindo sua capacidade de retenção de água, favorecendo a secagem de produto cárneo fermentado, conferindo textura firme e fatiabilidade ao produto final além de garantir sua qualidade microbiológica (WÓJCIAK, 2017).

Os valores iniciais de atividade de água de todos os tratamentos foram de 0,940 os quais aumentaram até o dia 20, já no dia 25 decresceu em todas as formulações, e quando os produtos estavam finalizados, os valores encontrados foram de 0,911 no controle, na PROB de 0,902 e na SIMB de 0,906 de acordo com os resultados apresentados na Figura 2.

Figura 2. Valores médios de atividade de água das copas suínas controle (C), probiótica (PROB) e simbiótica (SIMB) durante os 45 dias de avaliação.



Fonte: elaborada pelos autores (2021).

Esses valores são importantes, pois indicam a quantidade de água disponível para as reações necessárias para o desenvolvimento dos micro-organismos e a produção de toxinas (CRUXEN *et al.*, 2018).

Dessa forma, a redução na atividade de água inibe a multiplicação de micro-organismos deteriorantes e patogênicos como as *Pseudomonas spp.*, que é o principal agente de alteração da carne fresca (VEDOVATTO *et al.*, 2019).

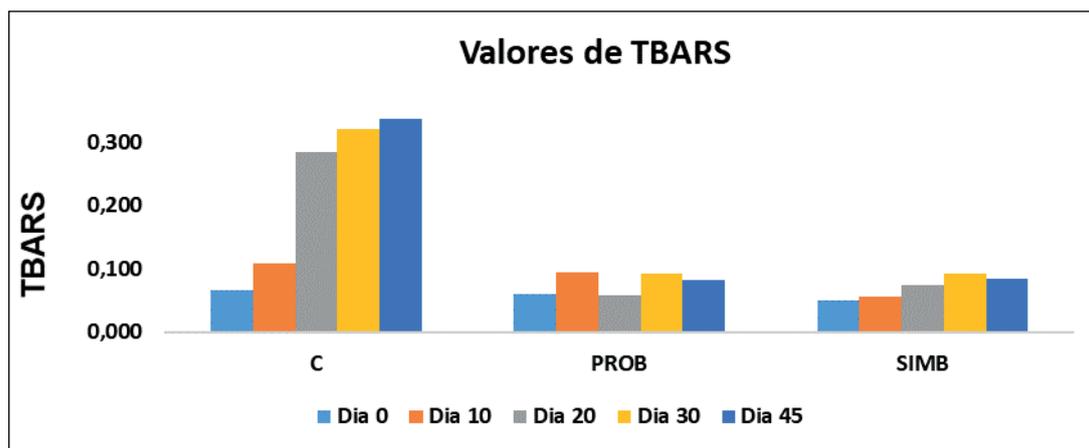
De acordo com o regulamento técnico de identidade e qualidade de copas suínas os valores encontrados no presente estudo estão dentro do determinado pela legislação, que deve ser de 0,90 (BRASIL, 2000).

Este resultado condiz com os dados obtidos em pesquisas anteriores como o estudo realizado pelos autores Libera *et al.* (2015) e Okoń, Stadnik e Dolatowski, (2017) ao analisarem produtos cárneos contendo a cepa *B. animalis ssp. lactis* BB-12, os quais houve uma redução gradativa da atividade de água, indicando que o processo de secagem ocorreu de forma constante.

Além do impacto da acidificação dos produtos cárneos fermentados, os mesmos podem ainda ser afetados pelo processo de oxidação. Assim a oxidação lipídica é um fator importante tanto na qualidade como na aceitabilidade de produtos cárneos (KIM *et al.*, 2014).

No início do processamento (dia 0), as copas PROB e SIMB que receberam a adição da cultura BB-12 apresentaram valores de TBARS menores do que o controle apesar de não haver diferenças significativas ($p > 0,05$) quando se analisa estatisticamente. Por outro lado, ao analisar os valores individualmente em cada tratamento, os valores de TBARS diferiram significativamente ($p < 0,05$). Como estão apresentados na Figura 3.

Figura 3. Valores médios de TBARS (mg de malonaldeído/kg das copas suínas controle (C), probiótica (PROB) e simbiótica (SIMB) durante os 45 dias de avaliação.



Fonte: elaborada pelos autores (2021).

Em todos os tratamentos, houve um aumento ($p < 0,05$) nos valores de TBARS a partir do dia 10, no entanto, no controle esses valores permaneceram extremamente elevados até o fim do processamento, mostrando que a oxidação ainda estava ocorrendo nessas amostras, atingindo concentrações de 0,336 mg de malonaldeído/ kg de amostra aos 45 dias.

Essa variação nos teores de TBARS encontrada na amostra controle pode ser atribuída ao maior teor de gordura intramuscular presente na copa, haja vista como já mencionado na metodologia foram retirados apenas a gordura externa das carnes, ou pelo fato de que no controle não houve adição da cultura BB-12.

Resultado semelhante foi observado por Oliveira Gomes *et al.* (2021), e Xu, Yu e Zeng (2021) onde relataram que a oxidação lipídica aumentou de forma constante durante a maturação ($p < 0,05$), pois nessa fase ocorrem modificações nos lipídios devido a processos químicos podendo ocorrer tanto por autooxidação como por oxidação (BIANCHI, 2013).

Já as amostras PROB e SIMB apresentaram os menores valores finais (0,082 mg MDA/kg e 0,085 mg MDA/kg, respectivamente) comparado ao controle, provavelmente devido às propriedades antioxidantes associadas com as espécies da cepa BB-12 e o baixo teor de gordura do grupo FOS a qual a inulina pertence, promoveram assim um efeito protetor em relação à formação de compostos indesejáveis no produto (ARAÚJO, 2021).

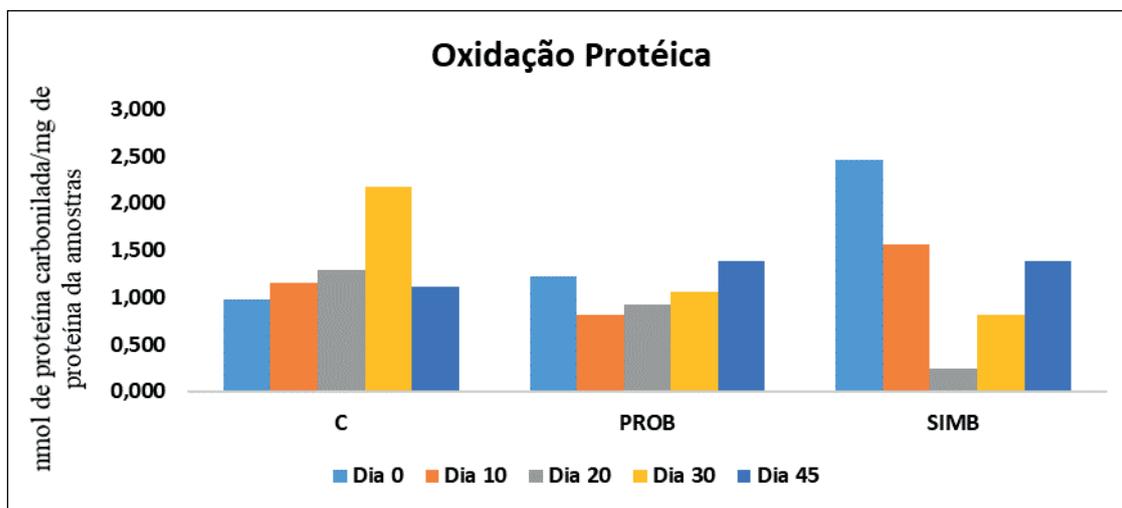
Apesar desse aumento da oxidação lipídica nos tratamentos ao longo dos 45 dias, os valores de TBARS de todas as formulações estavam abaixo de 2,0 mg MDA/kg, o que é aceito como o nível de deterioração dos produtos (BIS-SOUZA *et al.*, 2020a).

A quantidade de carbonilas formadas durante o processo de oxidação protéica foram quantificadas com base nas substâncias reativas ao 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH), que ao longo do armazenamento revelou um padrão diferente nos produtos.

Nesse sentido, a adição da inulina na copa SIMB apresentou efeito positivo ($p < 0,05$) na oxidação protéica, diminuindo os valores ao longo do processamento, ao contrário do

que aconteceu com o controle e a copa PROB que apesar de apresentar níveis iniciais de oxidação protéica baixa, no final (45 dias) esses níveis aumentaram, como mostra a Figura 4.

Figura 4. Valores médios de oxidação protéica (nmol de proteína carbonilada/mg de proteína copa) presentes das copas suínas controle (C), probiótica (PROB) e simbiótica (SIMB) durante os 45 dias de avaliação.



Fonte: elaborada pelos autores (2021).

Ao analisar a copa controle o índice mais elevado de concentração de carbonil foi aos 30 dias (2,176), já na PROB foi aos 45 dias (1,390), sendo que este fato estaria relacionado com a combinação dos grupamentos carbonílicos à outras substâncias presentes na copa, fazendo assim com que o grupo carbonil estivesse livre para se ligar ao DNPH justificando assim esse aumento (SONG *et al.*, 2018).

Comportamento semelhante foi encontrado por Cava, Higuero e Ladero (2021) e Martillanes *et al.* (2021) onde relataram aumentos importantes nos níveis de oxidação de proteínas, segundo os autores a oxidação de lipídios e proteínas segue a mesma tendência uma vez que a oxidação pode ser afetada tanto por ácidos graxos insaturados, pigmentos, metais de transição e outros compostos.

Na amostra SIMB a concentração de carbonil inicial foi de 2,454 nmol de proteína carbonilada/mg de proteína copa, diminuindo com o passar dos dias atingindo concentração de carbonil final de 1,379 nmol de proteína carbonilada/mg de proteína copa, semelhante ao estudo realizado por Amaro-Blanco *et al.* (2018) os quais encontraram altos valores de oxidação de proteínas no dia 0 diminuindo ao longo do processamento (150 dias) em copas feitas com partes do lombo suíno ibérico.

Alguns autores sugerem um limite aceitável de oxidação proteica para produtos cárneos fermentados em torno de 4 nmol de proteína carbonilada/mg de proteína do produto, depois disso já é possível detectar o odor de rancidez (BELLAVAR e ZANOTTO, 2004). Sendo assim apesar das amostras controle e PROB apresentarem esse aumento as amostras estão dentro do limite aceitável.

A contagem de coliformes totais nas duas etapas (0 e 45 dias) foram $< 1,0 \log \text{ UFC/g}$ em todas as amostras, já para coliformes termotolerantes não foram observadas crescimento em nenhuma das amostras.

Os coliformes totais indicam condições higiênicas do processo, sendo que elevada contagem significa contaminação na matéria-prima ou durante seu processamento por práticas de fabricação inadequadas, limpeza e sanitização deficientes tanto nos utensílios e equipamentos.

Já os coliformes termotolerantes são micro-organismos indicadores de contaminação fecal, ou seja, de condições higiênico-sanitárias, visto que a *Escherichia coli*, pertencente a este grupo tem o habitat exclusivo no trato intestinal do homem e de outros animais (SIQUEIRA, 1995).

Para a contagem de fungos e leveduras os resultados mostraram contagens iniciais de $< 2,0 \log \text{ UFC/g}$ (controle) e para PROB e SIMB $< 1,0 \log \text{ UFC/g}$, a ausência de *Salmonella* spp. em todas as amostras.

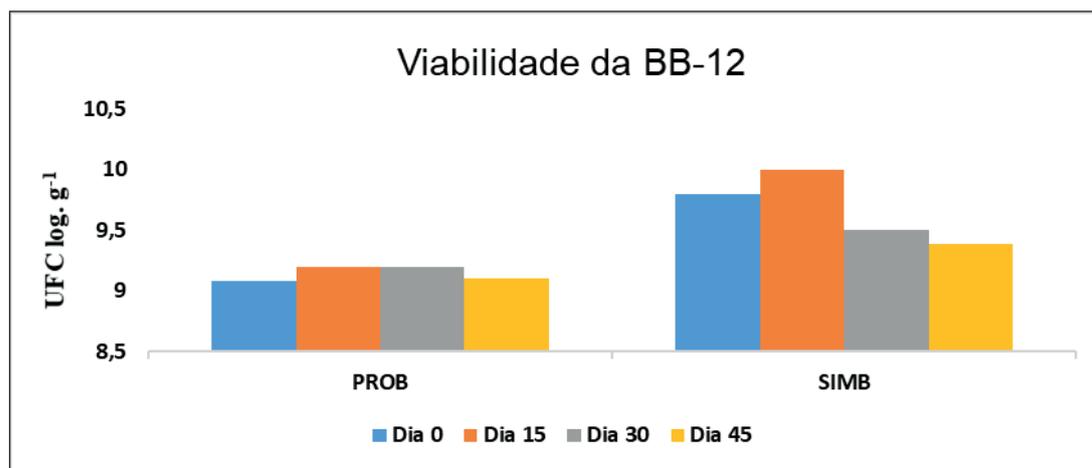
A legislação brasileira não apresenta limites para a contagem desses micro-organismos em produtos cárneos. Entretanto, a presença de algumas espécies de fungos em produtos curados, é extremamente favorável, uma vez que eles contribuem com a proteólise, ajudando na formação de sabor e aroma dos produtos (BERIAIN *et al.*, 2018).

Em copa suína a legislação brasileira estabelece limites para coliformes a $45 \text{ }^\circ\text{C}$ tolerância de 10^3 (UFC/g), e ausência de *Salmonella* spp. Assim, é possível verificar que as análises microbiológicas de todas as amostras estavam dentro dos limites estabelecidos pela legislação (BRASIL, 2019). Esses resultados podem ser atribuídos a boa qualidade da matéria-prima e as boas práticas de fabricação utilizadas no processo.

Quando se analisa a viabilidade celular da cepa *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12), embora tenha ocorrido diferenças significativas ($p < 0,05$) na viabilidade celular da BB-12 durante todo o período das análises (45 dias), as diferenças observadas não influenciaram nos resultados. Os quais foram positivos, pois mantiveram sua viabilidade, atendendo aos parâmetros da legislação brasileira, a qual sugere 10^8 a 10^9 UFC/g na recomendação diária para um produto pronto para o consumo para obtenção dos efeitos fisiológicos relacionados ao consumo de probióticos (BRASIL, 2021).

A Figura 5 apresenta os valores das contagens de células viáveis para a cepa BB-12, nas copas suínas PROB e SIMB, onde os resultados estão na ordem da base 10^9 UFC/g.

Figura 5. Resultados da viabilidade (média das contagens em UFC log. g⁻¹) da *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12), em copa suína probiótica (PROB) e simbiótica (SIMB).



Fonte: elaborada pelos autores (2021).

O resultado das contagens iniciais de células viáveis de PROB foi de 9,08 UFC log. g⁻¹ e no final foi constatado uma leve queda populacional das colônias do probiótico de 9,10 UFC log. g⁻¹.

Apesar da copa PROB obter contagens de células viáveis menores que na copa SIMB, os resultados foram promissores pois desde o dia inicial até os 45 dias as contagens se mantiveram na base 9 UFC log. g⁻¹ estando de acordo com o recomendado pela legislação brasileira (BRASIL, 2021).

Observando os resultados da copa SIMB, nota-se que no dia 15 a contagem das células viáveis foram >10 UFC/g, sendo mais elevado do que em outros dias analisados, este comportamento é um tanto esperado pois as bifidobactérias, apresentam um alto metabolismo fermentativo de açúcares nos primeiros dias e logo constituem quase a totalidade da microbiota do produto (LEROY, VERLUYTEN e DE VUYST, 2006).

É importante destacar que a inulina utilizada na formulação da copa foi a inulina Beneo (Raftiline) HPX® da Clariant S.A, que pode ser metabolizada facilmente pelo micro-organismo *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12), por se tratar de uma inulina com baixo grau de polimerização (segundo fabricante), uma vez que cepas de *Bifidobacterium* são mais aptas a metabolizar inulina com baixo grau de polimerização (DUYSBURGH *et al.*, 2019).

Assim a copa SIMB com adição da inulina obteve valores mais elevados quando comparados com a copa probiótica, percebe-se que a inulina auxiliou na manutenção da viabilidade da cepa probiótica, pois a inulina tem característica bifidogênico, ou seja, estimula o crescimento das bifidobactérias (HENCK *et al.*, 2019).

Estes resultados encontrados nas copas PROB e SIMB condizem com os dados obtidos em pesquisas anteriores como o estudo realizado por Liu, Bhandari e Zhang (2020) que ao avaliarem a viabilidade da cepa BB-12 encontraram resultados de > 9,77 UFC log.

g^{-1} que foi significativamente maior do que o nível mínimo recomendado para alimentos funcionais probióticos.

E em concordância com os encontrados pelos autores Sionek, Kołożyn-Krajewska e Pasternok (2014) relataram que a quantidade da cepa BB-12 em salames fermentadas a seco estava no nível de $9,22 \text{ UFC log. g}^{-1}$ após 230 dias de armazenamento refrigerado.

Porém, os resultados de viabilidade do presente estudo foram melhores que os encontrados pelos autores KĘSKA *et al.* (2020) ao analisarem as alterações físico-químicas e proteolíticas durante o armazenamento refrigerado de copas suínas com cepas probióticas incluindo a BB-12, onde a viabilidade desta cepa foi de $7,12 \text{ UFC log. g}^{-1}$ aos 28 dias de armazenamento.

E em pesquisa realizada por Neffe-Skocińska *et al.* (2017) ao estudarem o perfil de aminoácidos e características sensoriais de copas suínas produzidas com uma mistura de culturas iniciadoras probióticas, encontraram uma contagem de $7,66 \text{ UFC/g}$ para a combinação da cepa probiótica *Lactobacilli rhamnosus* LOCK900 com a BB-12.

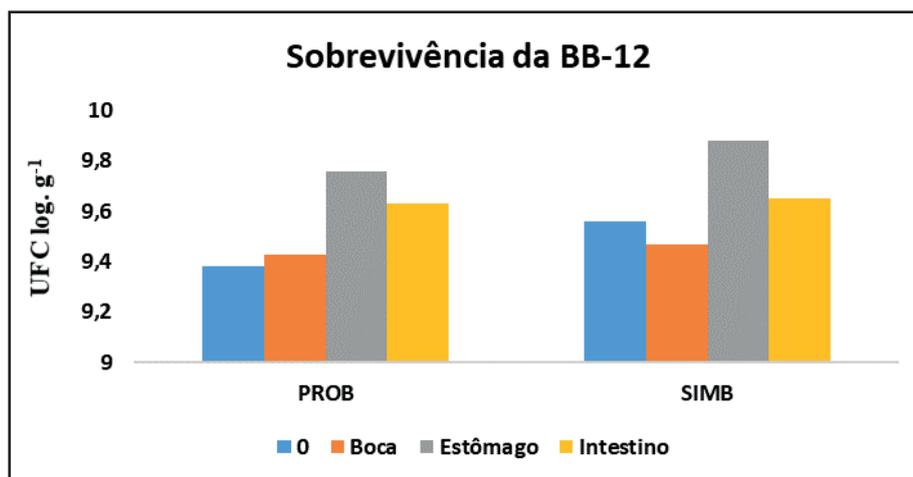
Analisando a viabilidade da copa PROB e SIMB, pode-se dizer que foi possível a produção de um produto cárneo fermentado tanto probiótico como simbiótico, pois se mantiveram os níveis de bactérias probióticas exigidos pela legislação ($8 \text{ a } 9 \text{ UFC log. g}^{-1}$), durante os 45 dias de armazenamento a $10 \text{ }^\circ\text{C}$.

Embora a viabilidade celular das culturas de probióticos seja de extrema importância no produto, a sobrevivência do probiótico sob passagem simulada *in vitro* é imprescindível, uma vez que a bactéria deve ser capaz de crescer e colonizar o trato digestivo para conferir benefícios à saúde para o indivíduo (SAAD *et al.*, 2013).

Assim, as copas suínas probiótica e a simbiótica foram submetidas às simulações gastrointestinais *in vitro*, a fim de investigar a sobrevivência da cepa BB-12 em diferentes etapas, desde a boca até o intestino.

Em ambas as formulações estudadas, foram observadas populações na base $9 \text{ UFC log. g}^{-1}$ da BB-12 em todas as fases do teste. A digestão simulada *in vitro* da cepa BB-12 foram avaliadas aos 45 dias, onde os resultados estão apresentados na Figura 6.

Figura 6. Resultados da digestão simuladas *in vitro* (média das contagens em UFC log. g⁻¹) da *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12), em copa suína probiótica (PROB) e simbiótica (SIMB).



Fonte: elaborada pelos autores (2021).

A simulação se iniciou no instante da entrada das copas na boca (fase 0) obtendo as primeiras contagens, as quais foram menores na amostra da copa PROB em relação as da amostra da copa SIMB.

Quando os alimentos são mastigados e passam pela faringe (fase boca), as contagens na PROB foram maiores (9,43) de que na SIMB (9,47), não havendo diferença significativa ($p > 0,05$).

Em seguida foram simuladas a chegada ao estômago com agitação de 150 rpm para simular os movimentos peristálticos (que fazem parte da digestão do alimento) onde o estômago produz o suco gástrico, que se mistura ao alimento, formando um bolo alimentar ácido onde a sobrevivência das bactérias no suco gástrico depende da habilidade de tolerar pH baixo (VASILEV, 2017), nesta etapa foi obtida a maior contagem na amostra da copa SIMB.

Por fim foi simulada a chegada ao intestino onde as concentrações de células viáveis foram de 9,63 e 9,65 UFC log. g⁻¹ para as amostras da copa PROB e SIMB, respectivamente, não havendo diferença significativa ($p > 0,05$) nas populações da BB-12, verificando que a cepa da BB-12 possuiu capacidade de crescer em solução salina e com baixos valores de pH.

As bifidobactérias são muito utilizadas em alimentos devido à alta capacidade de sobrevivência durante a passagem pelo trato gastrointestinal e adesão as células de absorção que revestem a mucosa intestinal do intestino delgado (TRABELSI, 2019).

Porém em pesquisas realizadas anteriormente como no estudo de Holko *et al.* (2013) em salames de carneiro, as contagens de *Bifidobacterium animalis* CCDM 241a (Laktoflora®) estavam abaixo do limite de detecção (6 UFC log. g⁻¹).

Já em estudo realizado em matrizes lácteas como o estudo realizado por Martins *et al.* (2018), onde analisaram a viabilidade da BB-12 sob condições gastrointestinais simuladas

em queijo de cabra e apesar de constatarem resultados promissores com uma população média de 8 UFC log. g⁻¹, porém foram inferiores ao do presente estudo.

Assim os resultados aqui citados demonstraram o efeito protetor da matriz cárnea, sugerindo que em alimentos com matriz estruturada, como os embutidos, as cepas probióticas, são de certa forma protegidas pela matriz composta de carne e gordura, afetando favoravelmente a sobrevivência do probiótico ao longo do processo digestivo (MACEDO, 2008).

Além disso a combinação do probiótico com os FOS podem promover vários efeitos fisiológicos ao indivíduo (BERSANETI, 2019), pois quando os prebióticos chegam ao trato intestinal, eles começam a fermentar, onde produzem ácidos graxos voláteis e as bactérias benéficas no caso, os probióticos, prosperam com esses ácidos graxos voláteis, que, por sua vez, permitem que elas cresçam mais robustas e aumentem seu número (RUBIO, 2014).

■ CONCLUSÃO

A adição do probiótico *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12) livre e do prebiótico inulina nas copas suínas mostraram-se promissores, apresentando boa capacidade fermentativa, sem promover alterações nas características físico-químicas dos produtos. As três formulações das copas suínas atenderam aos padrões microbiológicos de qualidade exigidos pela legislação vigente. Ao adicionar inulina, a mesma exerceu efeitos sinérgicos juntamente com a BB-12, favorecendo a viabilidade e sobrevivência dos probióticos. Por fim, pode-se concluir que tanto a copa PROB e SIMB atenderam o requisito para alimentos funcionais onde a quantidade mínima de células viáveis para os probióticos deve estar na faixa de 10⁸ a 10⁹ UFC/g na recomendação diária do produto pronto para o consumo.

■ REFERÊNCIAS

1. AMARO-BLANCO, G., DELGADO-ADÁMEZ, J., MARTÍN, MJ, & RAMÍREZ, R. Active packaging using an olive leaf extract and high pressure processing for the preservation of sliced dry-cured shoulders from Iberian pigs. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 45, p. 1-9, 2018.
2. ANGELO, P. M; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos: uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, SP, v. 66, n. 1, p. 1-9, jul., 2006.
3. AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (18^{ed}). Gaithersburg, US: AOAC. 2005.
4. ARAUJO, C. D. L. D., COSTA, G. F. D., OLIVEIRA, F. L. N. D., & AZERÊDO, G. A. Elaboration of chicken sausages with fat reduction and inulin addition. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 24, 2021.

5. BELLAVER, C. E ZANOTTO, D. L. Parâmetros de qualidade em gorduras e subprodutos protéicos de origem animal. In: Conferencia Apinco de Ciencia e Tecnologia Avícolas, Santos, SP. **FACTA**, v.1, p.79-102, 2004.
6. BERIAIN, M. J., GÓMEZ, I., IBÁÑEZ, F. C., SARRIÉS, M. V., & ORDÓÑEZ, A. I. Improvement of the functional and healthy properties of meat products. In: **Food quality: Balancing health and disease**. Academic Press, 2018. p. 1-74. 2018.
7. BERSANETI, G. T., GARCIA, S., MALI, S., & CELLIGOI, M. A. P. C. Evaluation of the prebiotic activities of edible starch films with the addition of nystose from *Bacillus subtilis natto*. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie (LWT)**, v. 116, p. 108502, 2019.
8. BIANCHI, T. L. C. F. P. de. Comparação de processos proteolíticos e lipolíticos em músculos de presuntos curados de uma população suína selecionada de acordo com critérios tecnológicos. 2013. 71 p. **Dissertação (Mestrado em Inovação e Qualidade na Produção Alimentar)** - Instituto Politécnico de Castelo Branco, Castelo Branco, 2013.
9. BIS-SOUZA, CV, OZAKI, MM, VIDAL, VAS, POLLONIO, MAR, PENNA, ALB, & BARRETTO, ACS. Can dietary fiber improve the technological characteristics and sensory acceptance of low-fat Italian type salami? **Journal of Food Science and Technology**, v. 57, n. 3, pág. 1003-1012, 2020a.
10. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 22, de 31 de julho de 2000. Regulamentos Técnicos de Identidade de Qualidade de Copa. Diário Oficial da União, Brasília, 03 de agosto de 2000. p. 15-28.
11. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC Nº 331, de 23 de dezembro de 2019. Dispõe sobre os padrões microbiológicos de alimentos e sua aplicação. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Publicado em: 26/12/2019 | Edição: 249 | Seção: 1 | Página: 96. 2019.
12. BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Alimentos com alegações de propriedades funcionais ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. IX-Lista de alegações de propriedade funcional aprovada. 2008.
13. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC Nº 241, de 26 de julho de 2018. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa no. 22 de 31 de julho de 2000. Dispõe sobre os requisitos para comprovação da segurança e dos benefícios à saúde dos probióticos para uso em alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, 27 de julho de 2018. p. 97.
14. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de Instrução Processual de Petição de Avaliação de Probióticos para Uso em Alimentos Guia nº 21/2021 – versão 2, de 05/05/2021. 2021.
15. CANTERI, M. G., ALTHAUS, R. A., VIRGENS FILHO, J. S., GIGLIOTI, E. A., GODOY, C. V. SASM - Agri: Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott-Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, V.1, N.2, p.18-24. 2001.
16. CAVA, R.; HIGUERO, N.; LADERO, L. High pressure processing and storage temperature in *Listeria monocytogenes*, microbial counts and oxidative changes of two traditional dry-cured meat products. **Meat Science**, v. 171, p. 108273, 2021.

17. CUELLO-GARCIA, C., FIOCCHI, A., PAWANKAR, R., YEPES - NUÑEZ, JJ, MORGANO, GP, ZHANG, Y.& BROZEK, JL. Prebiotics for the prevention of allergies: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Clinical & Experimental Allergy**, v. 47, n. 11, pág. 1468-1477, 2017.
18. CRUXEN, D.S. C. E., BRAUN, C. L. K., FAGUNDES, M. B., GULARTE, M. A., WAGNER, R., DA SILVA, W. P., & FIORENTINI, Â. M. Development of fermented sausage produced with mutton and native starter cultures. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie (LWT)**, v. 95, p. 23-31, 2018.
19. DE OLIVEIRA GOMES, B., DE MESQUITA OLIVEIRA, C., DE MARINS, A. R., GOMES, R. G., & FEIHRMANN, A. C. Application of microencapsulated probiotic *Bifidobacterium animalis* ssp. *Lactis* BB-12 in Italian salami. **Journal of Food Processing and Preservation**, p. e15841, 2021.
20. DUYSBURGH, C., VAN DEN ABBEELE, P., KRISHNAN, K., BAYNE, TF, & MARZORATI, M. A symbiotic concept containing spore-forming *Bacillus* strains and a prebiotic fiber blend consistently increased metabolic activity through in vitro intestinal microbiome modulation. **International journal of pharmaceutics: X**, v. 1, p. 100021, 2019.
21. HENCK, J. M. M., BIS-SOUZA, C. V., POLLONIO, M. A. R., LORENZO, J. M., & BARRETTO, A. C. S. Alpha-cyclodextrin as a new functional ingredient in low-fat chicken frankfurter. **British poultry science**, v. 60, n. 6, p. 716-723, 2019.
22. HOLKO, I., HRABĚ, J., ŠALAKOVÁ, A., & RADA, V. The replacement of a traditional starter culture in fermented lamb sausages by *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis*. **Meat Science**, 94 (3), 275-279. 2013.
23. KĘSKA, P., STADNIK, J., WÓJCIAK, K. M., & NEFFE-SKOCIŃSKA, K. Physico-chemical and proteolytic changes during cold storage of dry-cured pork loins with probiotic strains of LAB. **International Journal of Food Science & Technology**, 55(3), 1069-1079. 2020.
24. KIM, I. S., JIN, S. K., YANG, M. R., AHN, D. U., PARK, J. H., & KANG, S. N. Effect of packaging method and storage time on physicochemical characteristics of dry-cured pork neck products at 10 C. **Asian-Australasian journal of animal sciences**, 27(11), 1623. 2014.
25. LEROY, F., VERLUYTEN, J., & DE VUYST, L. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. **International journal of food microbiology**, v. 106, n. 3, p. 270-285, 2006.
26. LEVINE, R.L., MOSONI L., BERLETT B.S., STADTMAN, E.R. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology- Vol 186*, p 464-478, 1990.
27. LIBERA, J., KARWOWSKA, M., STASIAK, D. M., & DOLATOWSKI, Z. J. Microbiological and physicochemical properties of dry-cured neck inoculated with probiotic of *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 50, n. 7, p. 1560-1566, 2015.
28. LIU, Z., BHANDARI, B., & ZHANG, M. Incorporation of probiotics (*Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis*) into 3D printed mashed potatoes: Effects of variables on the viability. **Food Research International**, v. 128, p. 108795, 2020.
29. MACEDO, R. E. F. D., PFLANZER JR, S. B., TERRA, N. N., & FREITAS, R. J. S. D. Development of sausage fermented by *Lactobacillus* probiotics: quality characteristics. **Food Science and Technology**, v. 28, p. 509-519, 2008.

30. MARTINS, I. B. A., DELIZA, R., DOS SANTOS, K. M. O., WALTER, E. H. M., MARTINS, J. M., & ROSENTHAL, A. Viability of probiotics in goat cheese during storage and under simulated gastrointestinal conditions. **Food and bioprocess technology**, v.11(4), pág.853-863. 2018.
31. MARTILLANES, S., ROCHA-PIMIENTA, J., RAMÍREZ, R., GARCÍA-PARRA, J., & DELGADO-ADÁMEZ, J. Effect of an active packaging with rice bran extract and high pressure processing on the preservation of sliced cured ham from Iberian pork. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie (LWT)**, v. 151, p. 112128, 2021.
32. NEFFE-SKOCIŃSKA, K., OKOŃ, A., KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA, D., & DOLATOWSKI, Z. Amino acid profile and sensory characteristics of dry fermented pork loins produced with a mixture of probiotic starter cultures. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 9, p. 2953-2960, 2017.
33. OKOŃ, A., STADNIK, J. & DOLATOWSKI, ZJ. Effect of *Lactobacillus acidophilus* Bauer and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB12 nas alterações proteolíticas em lombos curados a seco. **Food Sci Biotechnol** v.26, 633–641. 2017.
34. PÉREZ-BURILLO, S., MEHTA, T., PASTORIZA, S., KRAMER, DL, PALIY, O., & RUFÍÁN-HENARES, J. Á. Potential probiotic salami with dietary fiber modulates antioxidant capacity, short-chain fatty acid production and community structure of the gut microbiota. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie (LWT)**, v. 105, p. 355-362, 2019.
35. PRADO, N., SAMPAYO, M., GONZÁLEZ, P., LOMBÓ, F., & DÍAZ, J. Physicochemical, sensory and microbiological characterization of Asturian Chorizo, a traditional fermented sausage manufactured in Northern Spain. **Meat science**, v. 156, p. 118-124, 2019.
36. RAHARJO, S, SOFOS JN, SCHMIDT GR. Improved speed, specificity, and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid-C18 method for measuring lipid peroxidation in beef. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 11, p. 2182-2185, 1992.
37. RAIZEL, R., SANTINI, E., KOPPER, A. M., & DOS REIS FILHO, A. D. Efeitos do consumo de probióticos, prebióticos e simbióticos para o organismo humano. **Revista Ciência & Saúde**, v. 4, n. 2, p. 66-74, 2011.
38. RUBIO, R., MARTÍN, B., AYMERICH, T., & GARRIGA, M. The probiotic potential *Lactobacillus rhamnosus* CTC1679 survives passage through the gastrointestinal tract and its use as a starter culture results in nutritionally enhanced and safe fermented sausages. **International Journal of Food Microbiology**, v. 186, p. 55-60, 2014.
39. SAAD, N., DELATTRE, C., URDACI, M., SCHMITTER, JM, & BRESSOLLIER, P. An overview of the latest advances in the field of probiotics and prebiotics. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie (LWT) - Food Science and Technology**, v.50 (1), pág.1-16. 2013.
40. SIQUEIRA, R.S. Manual de microbiologia de Alimentos. EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos (Rio de Janeiro). Brasília: EMBRAPA. SPI, Rio de Janeiro EMBRAPA_CTTA, 1995.
41. SIONEK, B, KOŁOŻYŃ-KRAJEWSKA, D. E PASTERNOK, I. Survival of bacteria with probiotic properties in dry fermented sausages during refrigerated storage. **Żywność. Nauka. Technologia. Jakość**. V.1, pág. 103 - 113. 2014.

42. SOLANKI, Himanshu K.; PAWAR, D. Dawar; DUSHYANT, A. Shah; PRAJAPATI, Vipul D.; JANI, Girish K.; MULLA, Akil M.; THAKAR, Prachi M. Development of microencapsulation delivery system for long-term preservation of probiotics as biotherapeutics agent. **BioMed Research International**, v. 2, p. 1-21. 2013.
43. SONG, M. Y., VAN-BA, H., PARK, W. S., YOO, J. Y., KANG, H. B., KIM, J. H., ... & HAM, J. S. Quality characteristics of functional fermented sausages added with encapsulated probiotic bifidobacterium longum KACC 91563. **Korean J. Food Sci.** V. 38, n. 5, p. 981, 2018.
44. TRABELSI, I., SLIMA, SB, KTARI, N., TRIKI, M., ABDEHEDI, R., ABAZA, W., ... & SALAH, RB. Incorporation of probiotic strain into minced raw beef: Study of textural modification, lipid and protein oxidation and color parameters during refrigerated storage. **Meat Science**, v. 154, p. 29-36, 2019
45. VASILEV, D., ĐORĐEVIĆ, V., KARABASIL, N., DIMITRIJEVIĆ, M., PETROVIĆ, Z., VELEBIT, B., & TEODOROVIĆ, V. Inulin as a prebiotic and fat substitute in meat products. **Teoriâi Praktika Pererabotki Mâsa**, v. 2, n. 2, pág. 13 de abril de 2017.
46. VEDOVATTO, E., STEFFENS, C., CANSIAN, R. L., BACKES, G. T., & VERLINDO, R. Evaluation of different starters cultures in the obtaiton of italian-type sausage. **Ciência Animal Brasileira**, v. 20. 2019.
47. WÓJCIAK, KM, LIBERA, J., STASIAK, DM, & KOŁOŻYN - KRAJEWSKA, D. Aspecto tecnológico do uso de *Lactobacillus acidophilus* Bauer, *Bifidobacterium animalis* BB-12 e *Lactobacillus rhamnosus* LOCK900 em pescoço de porco fermentado a seco e linguiça. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 3, pág.12965, 2017.
48. Xu, QD, Yu, ZL e Zeng, WC. Structural and functional modifications of myofibrillar proteins by natural phenolic compounds and their application in pork meatballs. **Food Research International**, v.148, pág.110593. 2021.

Aspectos microbiológicos na produção da bebida kombucha: uma revisão integrativa

| **Camilly Pires Sobrinho**

IF Goiano

| **Fernanda dos Santos Nunes de Melo**

UFCG

| **Wiaslan Figueiredo Martins**

IF Goiano

RESUMO

Com base na literatura, a Kombucha é um sistema simbiótico, composto de bactérias, principalmente dos gêneros *Acetobacter* e *Gluconobacter* e de leveduras. O processo de fermentação começa com a adição de uma parte de algum chá fermentado anteriormente e a inoculação de um *starter* na forma de uma película celulósica conhecida como *Symbiotic Colony of Bacteria and Yeast* (Scoby). Diante do exposto, objetivou-se apresentar estudos sobre as principais bactérias e leveduras que formam o Scoby utilizado para a produção de Kombucha, por meio de uma revisão integrativa com estudos nacionais e internacionais. Para esta revisão, foram realizadas buscas sistematizadas na base de dados *ScienceDirect*, *Scopus* e *SciELO* para identificar os estudos sobre a cultura Scoby, entres os anos de 2016 a 2022, utilizando as Palavras-chave: *Kombucha*, *Fermentation*, *Scoby* e *Microbiological*. Dos 17 artigos encontrados, 11 foram descartados por não ter relação direta com a caracterização microbiológica da Kombucha, resultando em 6 artigos selecionados. Os artigos abordaram a caracterização microbiológica, identificação molecular e filogenética de Kombucha, além de utilizar diferentes matérias-primas para a elaboração das mesmas e avaliar a influência na composição microbiana. Os resultados obtidos nas pesquisas demonstraram a importância da padronização do crescimento do scoby, pois as mudanças que ocorrem durante o processo de fermentação podem ser úteis para a garantia da segurança de alimentos.

Palavras-chave: Kombucha, Microbiologia, Scoby, Fermentação.

■ INTRODUÇÃO

O aumento na procura por um estilo de vida mais saudável vem mostrando que os atuais consumidores estão cada vez mais em busca de alimentos que apresentem benefícios e funcionalidades que possam acrescentar à sua dieta. Com isto, é possível destacar o mercado de alimentos funcionais, que têm como diferencial trazer benefícios à saúde física e mental do consumidor (SANTOS *et al.*, 2018).

A Kombucha é obtida por fermentação de chá preto ou chá verde (ambos processados com plantas da espécie *Camellia sinensis*) ao qual é adicionado açúcar como substrato para a fermentação. É uma bebida refrescante, ligeiramente doce, ácida e carbonatada, conhecida por suas propriedades funcionais, composta por alguns probióticos, como bactérias acéticas, por polifenóis presentes no chá, açúcares, ácidos orgânicos, etanol, vitaminas hidrossolúveis e uma variedade de micronutrientes produzidos durante a fermentação (CHEN; LIU, 2000; MALBAŠA *et al.*, 2008; MUKADAM *et al.*, 2016; YILDIZ; GULDAS, GURBUZ, 2021; TORAN-PEREG *et al.*, 2021).

A fermentação da kombucha se dá a partir de uma associação simbiótica de várias leveduras (gêneros *Schizosaccharomyces*, *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Candida*, *Pichia*, *Kloeckera*, *Brettanomyces* e *Torulopsis*) e bactérias acéticas (*Gluconacetobacter xylinus* - anteriormente denominada *Acetobacter xylinum* -, *Acetobacter xylinoides*, *Bacterium gluconicum*, *Acetobacter aceti* e *Acetobacter pasteurianus*), sendo que a composição microbiológica depende da origem da cultura (MUKADAM *et al.*, 2016).

Durante a fermentação de alimentos por Micro-organismos mistos, o fermento produz álcool e as bactérias produzem ácidos láctico e orgânico, mudando o ambiente de aeróbio para anaeróbico; portanto, eles se complementam e evitam o crescimento de micro-organismos indesejáveis. Portanto, os compostos inibitórios, condições anaeróbicas e baixo pH causado por culturas mistas dificultam a produção de fungos e bactérias indesejáveis (LEE *et al.*, 2021). O processo de fermentação começa com a adição de uma parte de algum chá fermentado anteriormente e a inoculação de um *starter* na forma de película celulósica conhecida Scoby (do inglês: *Symbiotic Colony of Bacteria and Yeast*) (TORAN-PEREG *et al.*, 2021). Assim, objetivou-se descrever as bactérias e as leveduras que formam a película celulósica Scoby para a produção de Kombucha, por meio de uma revisão de literatura.

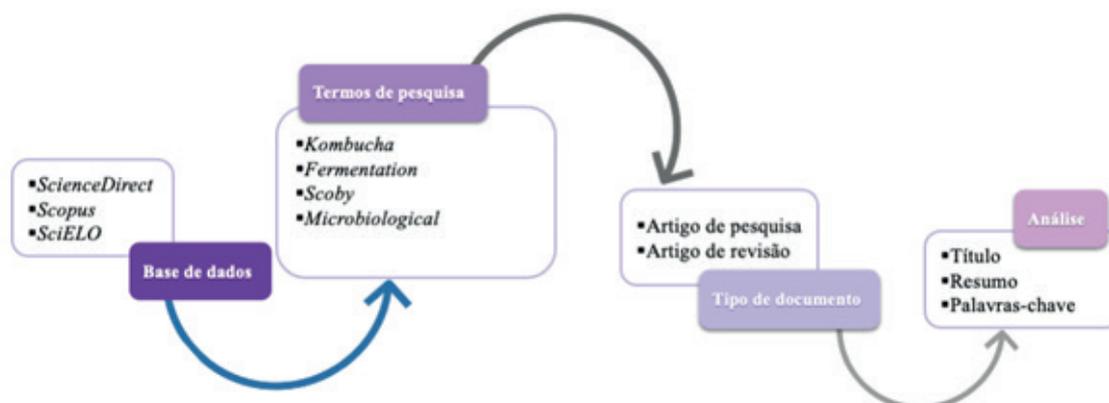
■ DESENVOLVIMENTO

METODOLOGIA

Identificação dos artigos

Para identificar os estudos que abordavam o tema e realizados em diferentes países, foram realizadas buscas sistematizadas na base de dados *ScienceDirect* (<https://www.sciencedirect.com>), *Scopus* (<https://www.scopus.com>) e *SciELO* (<https://www.scielo.br>). Os termos de busca utilizados nas bases foram: *Kombucha*, *Fermentation*, *Scoby* e *Microbiological*. As buscas foram limitadas por tipo de artigo. A última busca foi realizada em 22 de setembro de 2021. Para a seleção dos estudos, utilizou-se como critério de inclusão de estudos de diferentes países, completos, que abordassem o tema “caracterização microbológica de Kombucha” e/ou “identificação molecular e filogenética de Kombucha”, no idioma inglês e entre os anos 2016 e 2022, conforme a Figura 1 abaixo. Foram excluídas as revisões de literatura e as revisões sistemáticas.

Figura 1. Exemplificação do método utilizado para a seleção dos artigos de pesquisa.



Fonte: elaborada pelos autores (2021).

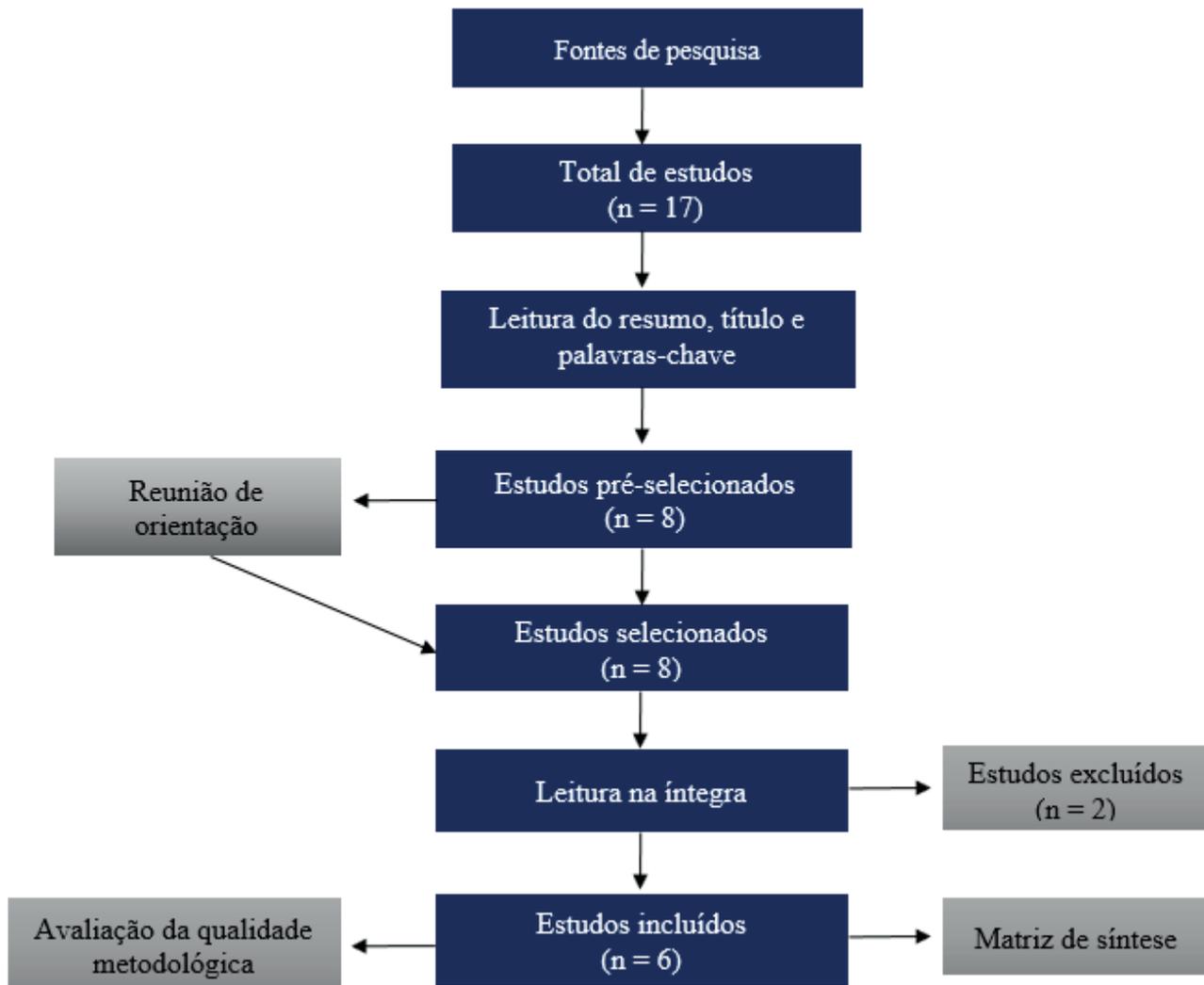
Pré-seleção

Para chegar a pré-seleção, buscou-se os títulos e/ou palavras chaves que poderiam ter relação com a temática da revisão deste trabalho. Foram usadas as seguintes palavras para localizar os títulos dos artigos: *Kombucha*, *Microbiological*, *Scoby*, *Microbial Composition* e *Identification of Microorganisms*, as palavras foram buscadas em inglês, idioma de origem dos artigos. Em seguida, foi realizada uma leitura para melhor entendimento do conteúdo dos mesmos.

Na pré-seleção, foram descartados artigos que não tinham qualquer relação direta com o assunto. Com isso, foram descartados 11 artigos. Depois de uma reunião com os

pesquisadores deste trabalho para discutir as abordagens dos artigos, foram selecionados 6 artigos (Figura 2).

Figura 2. Fluxograma da revisão integrativa do trabalho.



Fonte: elaborada pelos autores (2021).

Análise dos artigos pré-selecionados

A avaliação para a seleção dos artigos foi realizada pelos autores deste trabalho e, em seguida, apresentada a todos os pesquisadores para verificar se havia divergência de opiniões, e estas foram sanadas por meio de um consenso. A seleção inicialmente foi realizada através de títulos, seguida por resumos, e quando selecionados, por leitura completa dos artigos.

■ RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os 6 artigos selecionados foram todos aprovados para a revisão integrativa. Os artigos foram lidos na íntegra e analisados suas principais informações, conforme o Quadro 1.

Na abordagem proposta, a busca eletrônica retornou 6 artigos a partir das palavras-chave referenciadas. Após seleção manual, por meio de leitura dos títulos, foram descartados aqueles que não contemplavam os critérios de inclusão (Figura 2 acima). O resultado foi um total de 6 artigos incluídos, com diferentes abordagens. Os resultados das pesquisas selecionadas para esta revisão integrativa estão descritos nas seções abaixo.

Quadro 1. Títulos das pesquisas, base de dados e referências selecionados para a revisão integrativa.

Título das pesquisas	Base de dados	Referência
<i>Microbiological and sensory characterization of kombucha SCOBY for culinary applications</i>	Scopus	Torán-Pereg et al. (2021)
<i>Isolation, molecular and phylogenetic identification of microorganisms from Kombucha solution and evaluation of their viability using flow cytometry</i>	SciELO	Jafari et al. (2020)
<i>Kombucha fermentation using commercial kombucha pellicle and culture broth as starter</i>	SciELO	Lee et al. (2021)
<i>Effect of freeze-dried kombucha culture on microbial composition and assessment of metabolic dynamics during fermentation</i>	ScienceDirect	Fabricio et al. (2022)
<i>Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities</i>	ScienceDirect	Cardoso et al. (2020)
<i>Metabolome-microbiome signatures in the fermented beverage, Kombucha</i>	ScienceDirect	Villarreal-Soto et al. (2020)

Fonte: elaborada pelos autores (2021).

No estudo de Torán-Pereg *et al.* (2021), três filos bacterianos foram identificados na amostra inicial de kombucha, incluindo Proteobacteria, Actinobacteria e Firmicutes. Como esperado, as bactérias do filo Proteobacteria foram as mais abundantes, associadas com o Scoby e com o chá, responsáveis por mais de 95% da população total, de acordo com a análise de Eletroforese em Gel de Gradiente Desnaturante (do inglês: *Denaturing Gradient Gel Electrophoresis* - DGGE). Dentro desse filo, os micro-organismos identificados pertenciam à família Acetobacteraceae que incluem gêneros como *Acetobacter* e *Komagataeibacter*. Além disso, um isolado foi identificado como uma cepa do gênero *Komagataeibacter*. Os resultados obtidos estão em concordância com a bibliografia, onde foi relatado que *Komagataeibacter xylinus* (anteriormente denominada *Gluconacetobacter xylinus*) era a espécie dominante na comunidade bacteriana e o principal contribuinte de celulose bacteriana na kombucha. Além disso, várias outras espécies de *Komagataeibacter* e *Gluconacetobacter* foram isoladas de diferentes amostras de kombucha (MARSH *et al.*, 2014).

As outras duas cepas de bactérias isoladas foram identificadas como *Bacillus licheniformis* e *Microbacterium* sp., pertencentes aos filos Firmicutes e Actinobacteria, respectivamente. Essas são bactérias atípicas, mas têm sido descritas anteriormente no consórcio

microbiano kombucha (CHAKRAVORTY *et al.*, 2016). Por outro lado, o isolamento da levedura realizado, deu origem a identificação de micro-organismos do gênero *Brettanomyces*. Esse gênero é comumente encontrado em kombucha e produz ácido acético e ésteres de ácido acético sob condições anaeróbicas (MAYSER *et al.*, 1995). Dois isolados diferentes de *Zygosaccharomyces* spp. foram encontrados e a *Rhodotorula mucilaginosa*. No Quadro 2 abaixo estão apresentados os micro-organismos encontrados nos trabalhos selecionados para este capítulo.

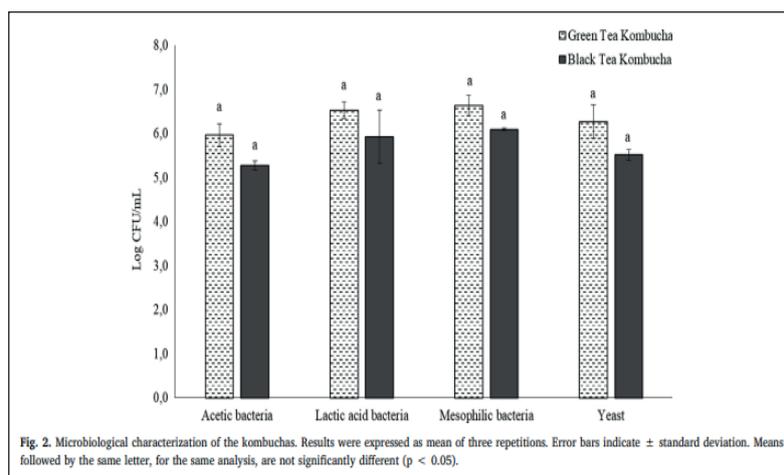
Quadro 2. Micro-organismos isolados de scoby e/ou kombucha e suas respectivas referências.

Micro-organismo (Grupo, gênero ou espécie)	Tipo	Referência
<i>Acetobacter malorum</i>	Bactéria	Villarreal-Soto et al. (2020)
<i>Acetobacter pasteurianus</i>	Bactéria	Villarreal-Soto et al. (2020)
<i>Acetobacter pomorum</i>	Bactéria	Villarreal-Soto et al. (2020)
<i>Acetobacter</i> spp.	Bactéria	Fabricio et al. (2022)
Bactérias acéticas	-	Cardoso et al. (2021)
Bactérias ácido-láctico	-	Cardoso et al. (2021)
Bactérias mesofílicas	-	Cardoso et al. (2021)
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Bactéria	Lee et al. (2021)
<i>Bifidobacterium longum</i>	Bactéria	Lee et al. (2021)
<i>Brettanomyces bruxellensis</i>	Levedura	Villarreal-Soto et al. (2020)
<i>Brettanomyces</i> spp.	Levedura	Fabricio et al. (2022)
<i>Candida arabinofementans</i>	Levedura	Villarreal-Soto et al. (2020)
<i>Gluconacetobacter oxydans</i>	Bactéria	Lee et al. (2021)
<i>Gluconacetobacter</i> spp.	Bactéria	Fabricio et al. (2022); Villarreal-Soto et al. (2020)
<i>Gluconobacter</i> spp.	Bactéria	Fabricio et al. (2022); Villarreal-Soto et al. (2020)
<i>Hanseniaspora</i> spp.	Levedura	Fabricio et al. (2022)
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	Levedura	Jafari et al. (2021)
<i>Komagataeibacter hansenii</i>	Bactéria	Lee et al. (2021)
<i>Komagataeibacter rhaeticus</i>	Bactéria	Villarreal-Soto et al. (2020)
<i>Komagataeibacter</i> spp.	Bactéria	Fabricio et al. (2022); Jafari et al. (2021)
<i>Komagataeibacter xylinus</i>	Bactéria	Villarreal-Soto et al. (2020)
<i>Lactobacillus casei</i>	Bactéria	Lee et al. (2021)
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	Bactéria	Lee et al. (2021)
<i>Lactobacillus</i> spp.	Bactéria	Lee et al. (2021); Jafari et al. (2021)
Leveduras	-	Cardoso et al. (2021)
<i>Ligilactobacillus</i> spp.	Bactéria	Fabricio et al. (2022)
<i>Liquorilactobacillus</i> spp.	Bactéria	Fabricio et al. (2022)
<i>Oenococcus oeni</i>	Bactéria	Lee et al. (2021)
<i>Ralstonia pickettii</i>	Bactéria	Lee et al. (2021)
<i>Saccharomyces</i> spp.	Levedura	Fabricio et al. (2022)
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	Levedura	Villarreal-Soto et al. (2020)
<i>Sporolactobacillus breve</i>	Bactéria	Lee et al. (2021)
<i>Sporolactobacillus shorea</i>	Bactéria	Lee et al. (2021)
<i>Starmella bacillaris</i>	Levedura	Jafari et al. (2021)
<i>Weissella</i> spp.	Bactéria	Jafari et al. (2021)
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	Levedura	Villarreal-Soto et al. (2020)
<i>Zymomonas</i> spp.	Bactéria	Fabricio et al. (2022)

Fonte: elaborada pelos autores (2021).

Cardoso *et al.* (2021) realizaram a caracterização microbiológica de kombuchas produzidas a partir da fermentação de chá verde ou chá preto a 25 °C por 10 dias. As contagens de bactérias acéticas, lácticas e mesófilas variaram de, aproximadamente, 10⁵ a 10⁶ UFC/mL, com a mesma variação ocorrendo para contagens de leveduras. Não houve diferença ($p < 0,05$) entre as contagens microbianas do kombucha de chá verde e preto (Figura 3). Uma contagem mais alta de bactérias acéticas e leveduras na kombucha, ambas na faixa de 10⁷ UFC/mL, foi obtido por Neffe-Skocinska *et al.* (2017) sob a mesma temperatura e tempo de fermentação do estudo de Cardoso *et al.* (2021) (25 °C/10 dias). Provavelmente, quanto maior a quantidade de açúcar (100 g/L), tipo de chá e quantidade de Scoby (50 g/L) utilizados, mais altas as contagens microbianas obtidas após a fermentação do kombucha. No entanto, Zhao *et al.* (2018) relataram contagens de bactérias mesófilas ($6,93 \times 10^6$ UFC/mL) e leveduras ($7,52 \times 10^5$ UFC/mL) semelhantes às obtidas no estudo de Cardoso *et al.* (2021), após fermentação a 28 °C/10 dias.

Figura 3. Caracterização microbiológica de kombuchas. Resultados expressos como médias de três repetições. Barras de erros indicam \pm desvio-padrão. Médias seguidas da mesma letra, para a mesma análise, não são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).



Fonte: Cardoso *et al.* (2021).

Villarreal-Soto *et al.* (2020) investigaram a cinética de fermentação, produção de metabólitos, microbiota e propriedades potenciais de promoção da saúde de três tipos de kombucha diferentes ((F) - obtido da população local de Toulouse, França; (G) - obtido a partir de kombucha comercial e o terceiro (H) obtido no site www.jemangevivant.com). O sequenciamento metagenômico de espingarda revelou vários gêneros bacterianos dominantes, como *Komagataeibacter*, *Gluconacetobacter* e *Gluconobacter*. *Brettanomyces* e *Schizosaccharomyces* foram as leveduras mais dominantes identificadas. A distribuição de espécies refletiu diferentes padrões de consumo de açúcar, com *S. pombe* estando presente em amostras com a maior conversão de açúcar. A análise metabólica exibiu uma ligação entre a microbiota e a produção de compostos bioativos na fermentação da kombucha.

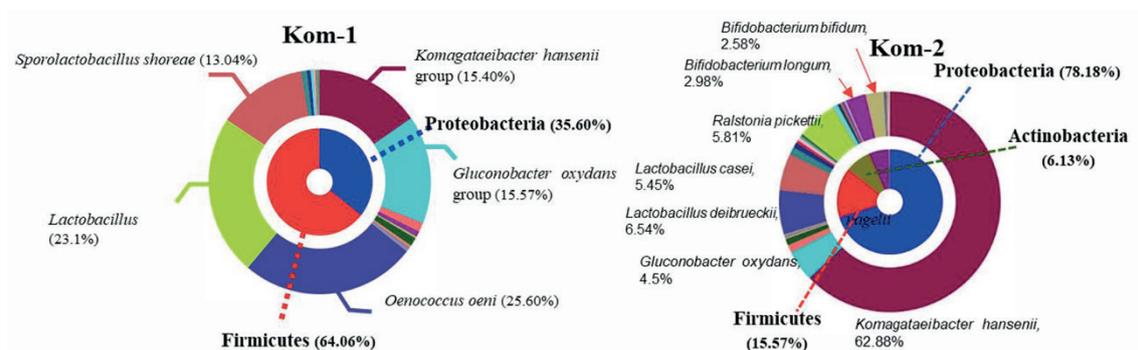
Jafari *et al.* (2021) isolaram e identificaram os micro-organismos de kombucha e usando métodos de cultivo e métodos moleculares secos a vácuo, oito espécies isoladas foram registradas: *Lactobacillus* e *Komagataeibacter* e *Weissella* spp. foram os gêneros bacterianos, enquanto *Starmella bacillaris* e *Hanseniaspora uvarum* foram as duas espécies de leveduras identificadas na bebida.

Fabricio *et al.* (2022) exploraram em seu estudo a correlação existente em um kombucha tradicionalmente produzida, avaliando sua comunidade microbiana e os principais metabólitos produzidos. Também investigaram os efeitos das culturas iniciais processadas de três maneiras diferentes (controle, cultura inicial sem suspensão líquida (CSC) e uma cultura inicial liofilizada (FDSC)). Identificaram sete gêneros de bactérias,

incluindo *Komagataeibacter*, *Gluconacetobacter*, *Gluconobacter*, *Acetobacter*, *Liquorilactobacillus*, *Ligilactobacillus*, e *Zymomonas*, e três gêneros de leveduras, *Dekkera*, *Brettanomyces*, *Hanseniaspora* e *Saccharomyces*. FDSC diminuiu as populações de *Zymomonas* e *Acetobacter*, permitindo a predominância de *Gluconobacter*, enquanto nas kombuchas controle e CSC os dois primeiros foram os gêneros predominantes. Além disso, o processo de fermentação foi capaz de eliminar Enterobacteriaceae, demonstrando a grande importância desse processo milenar na segurança de alimentos.

Lee *et al.* (2021) realizaram a análise da comunidade microbiana, usando o Scoby comercial de kombucha e caldo de cultura como iniciador. As comunidades microbianas foram comparadas usando dois tipos de kombucha comercial (Kom-1 e Kom-2). Os principais filos encontrados foram Proteobacteria (35,60% ou 78,1%) e Firmicutes (64,06% ou 15,57%). Entre os micro-organismos pertencente ao filo Proteobacteria, *Komagataeibacter hansenii* e *Gluconobacter oxydans* foram as principais espécies (Figura 1). As principais espécies encontradas na kombucha Kom-1 foram: *Oenococcus oeni* (25,60%), *Lactobacillus* (23,1%) e *Sporolactobacillus breve* (13,04%). Na kombucha Kom-2, as principais espécies encontradas foram: *Lactobacillus delbrueckii* (6,54%), *Lactobacillus casei* (5,45%) e *Ralstonia pickettii* (5,81%) (Figura 4).

Figura 4. Comunidade microbiana em kombucha comercial, Kom-1 e Kom-2. Kom-1: amostra de kombucha comercial -1; Kom2: amostra de kombucha comercial - 2.



Fonte: Lee et al. (2021).

Como observado no estudo de Villarreal-Soto *et al.* (2020), embora *Gluconacetobacter* e *Brettanomyces* normalmente dominem a microbiota da kombucha, vários estudos destacaram a variabilidade (TEOH; HEARD; COX, 2004; MARSH *et al.*, 2014; REVA *et al.*, 2015; COTON *et al.*, 2017) dessa bebida.

■ CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se, com esta revisão integrativa, que os resultados obtidos nas pesquisas são de extrema importância para garantir a confiabilidade da fermentação da kombucha que é produzida, atualmente, em pequena escala por meio de fermentação descontrolada, tornando-se relevante investigar a sua microbiota.

Em todos os trabalhos selecionados, foram identificados diferentes gêneros e espécies de micro-organismos na composição das kombuchas, destacando as diferentes percepções no que diz respeito à otimização da microbiota, à produção industrial e aos atributos promotores da saúde. Por fim, todos os estudos demonstraram a importância da padronização do crescimento do scoby, pois as mudanças que ocorrem durante o processo de fermentação podem ser úteis para a garantia da segurança de alimentos.

■ REFERÊNCIAS

1. CARDOSO, R. R.; OLIVEIRA NETO, R. O.; D'ALMEIDA, C. T. S.; NASCIMENTO, T. P.; PRESSETE, C. G.; AZEVEDO, L.; MARTINO, H. S. D.; CAMERON, L. C.; FERREIRA, M. S. L.; BARROS, F. A. R. Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial and antiproliferative activities. **Food Research International**, v. 128, n. 108782, 2020.
2. CHAKRAVORTY, S.; BHATTACHARYA, S.; CHATZINOTAS, A.; CHAKRABORTY, W.; BHATTACHARYA, D.; GACHHUI, R. 2016. Kombucha tea fermentation: microbial and biochemical dynamics. **International Journal of Food Microbiology**, v. 220, p. 63–72, 2016.
3. CHEN, C.; LIU, B. Y. Changes in major components of tea fungus metabolites during prolonged fermentation. **Journal of Applied Microbiology**, v. 89, p. 834–839, 2000.
4. COTON, M.; PAWTOWSKI, A.; TAMINIAU, B.; BURGAUD, G.; DENIEL, F.; COULLOUMME-LABARTHE, L.; COTON, E. Unraveling microbial ecology of industrial-scale kombucha fermentations by metabarcoding and culture-based methods. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 93, n. 5, p. 1–16, 2017.
5. FABRICIO, M. F.; MANN, M. B.; KOTHE, C. I.; FRAZZON J.; TISCHER, B.; FLORES, S. H.; AYUB, M. A. Z. Effect of freeze-dried kombucha culture on microbial composition and assessment of metabolic dynamics during fermentation. **Food Microbiology**, v. 101, n. 103889, 2022.

6. JAFARI, R.; NAGHAVI, N. S.; KHOSRAVI-DARANI, K.; DOUDI, M.; SHAHANIPOUR, K. Kombucha microbial starter with enhanced production of antioxidant compounds and invertase. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 29, n. 101789, 2020.
7. KRUK, M.; TRZASKOWSKA, M.; SCIBISZ, I.; POKORSKI, P. Application of the “SCOBY” and kombucha tea for the production of fermented milk drinks. **Microorganisms**, v. 9, n. 123, 2021.
8. LEE, K. R.; JO, K.; RA, K. S.; SUHH, J.; HONG, K. B. Kombucha fermentation using commercial kombucha pellicle and culture broth as starter. **Food Science and Technology**, 2021.
9. MALBAŠA, R.; LONČAR, E.; DJURIĆ, M. Comparison of the products of Kombucha fermentation on sucrose and molasses. **Food Chemistry**, v. 106, p. 39–45, 2008.
10. MARSH, A. J.; O’SULLIVAN, O.; HILL, C.; ROSS, R. P.; COTTER, P. D. Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (tea fungus) samples. **Food Microbiology**, v. 38, p. 171–178, 2014.
11. MAYSER, P.; FROMME, S.; LEITZMANN, G.; GRÜNDER, K. The yeast spectrum of the ‘tea fungus Kombucha’: Das Hefespektrum des ‘Teepilzes Kombucha’. **Mycoses**, v. 38, n. 7, p. 289–295, 1995.
12. MUKADAM, T. A. et al. Isolation and Characterization of Bacteria and Yeast from Kombucha Tea. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 5, p. 32-41, 2016.
13. NEFFE-SKOCINSKA, K.; SIONEK, B.; SCIBISZ, I.; KOLOZYN-KRAJEWSKA, D. Acid contents and the effect of fermentation condition of Kombucha tea beverages on physicochemical, microbiological and sensory properties. **CyTA – Journal of Food**, v. 15, n. 4, 2017.
14. REVA, O. N.; ZAETS, I. E.; OVCHARENKO, L. P.; KUKHARENKO, O. E.; SHPYLOVA, S. P.; PODOLICH, O. V.; KORYROVSKA, N. O. Metabarcoding of the kombucha microbial community grown in different microenvironments. **AMB Express**, v. 5, n. 1, p. 124, 2015.
15. SANTOS, Y. M. A. et al. Chemical characterization of kombucha based on hibiscus and black tea. **Revista brasileira de agrotecnologia**, v. 8, n. 3, p. 2317-3114, 2018.
16. TEOH, A. L.; HEARD, G.; COX, J. Yeast ecology of kombucha fermentation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 95, n. 2, p. 119–126, 2004.
17. TORAN-PEREG, P.; NOVAL, B.; VALENZUELA, S.; MARTINEZ, J.; PRADO, D.; PERISÉ, R.; ARBOLEYA, J. C. Microbiological and sensory characterization of kombucha SCOBY for culinary applications. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v. 23, 2021.
18. VILLARREAL-SOTOA, K. S. A.; BOUAJILA, J.; PACEA, M.; LEE, J.; COTTER, P. D.; SOU-CHARD, J.; TAILLANDIERA, P.; BEAUFRTA, S. Metabolome-microbiome signatures in the fermented beverage, Kombucha. **International Journal of Food Microbiology**, v. 333, n. 108778, 2020.
19. YILDIZ, E.; GULDAS, M.; GURBUZ, O. Determination of in-vitro phenolics, antioxidant capacity and bio-accessibility of Kombucha tea produced from black carrot varieties grown in Turkey. **Food Science and Technology**, v. 41, n. 1, p. 180-187, 2021.
20. ZHAO, Z. J.; SUI, Y. C.; WU, H. W.; ZHOU, C. B.; HU, X. C.; ZHANG, J. Flavour chemical dynamics during fermentation of kombucha tea. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 30, n. 9, p. 732–741, 2018.

Estudo da prevalência das bactérias do gênero *Aeromonas* spp. Resistentes a antimicrobianos isoladas do sistema de pesca: um referencial teórico

Raquel Soares Casaes Nunes
UFRA

Paula Andressa da Silva Nery
UNAMA

Yara Marina Reymao de Barros
UFRA

Vitória Raposo Ribeiro
UNAMA

Marcos Mourão Santa Brígida
UFRA

Ana Clara Melo Brito
UNAMA

Jeany Costa da Silva
UFRA

Beatriz Ferreira Gonçalves
UFRA

RESUMO

As espécies de *Aeromonas* spp. contaminam a cadeia produtiva do pescado e o uso indiscriminado de antimicrobianos tem aumentado resistência bacteriana destas. Além disso, o uso indiscriminado de antimicrobianos para o controle de doenças aumenta a pressão da seleção sobre os micro-organismos, levando naturalmente ao aumento da resistência bacteriana. Objetivo: A fim de avaliar a resistência antimicrobiana de espécies de *Aeromonas* spp. em sistema de Pesca foi realizado este estudo com esta temática. Metodologia: Para este estudo foram utilizados levantamentos bibliográficos nas bases de dados: *Scielo* e *Scopus* com as Palavras-chave: “*Aeromonas*”, “Aquicultura”, “Sistema de Pesca” e “Resistência Antimicrobiana” entre o período de 2007 até 2020. Resultados: Isolados de *Aeromonas* spp. foram encontrados em diversos estudos apresentando múltipla resistência a antimicrobianos (MRA). Destaca-se as espécies *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. veronii sobria* e *A. schubertii* em sistema de pesca e estabelecimentos comerciais. Conclusão: Contudo, as espécies de *Aeromonas* spp. ambientais apresentam resistência antimicrobiana, algumas delas são MRA e a resistência ocorre principalmente aos antimicrobianos tetraciclinas e beta lactâmicos.

Palavras-chave: *Aeromonas* spp., Aquicultura, Sistema de Pesca, Antimicrobianos.

■ INTRODUÇÃO

Dentre os agentes bacterianos amplamente distribuídos nos produtos de sistema de pesca, destacam-se espécies do gênero *Aeromonas* spp., responsáveis por perdas econômicas na cadeia produtiva do pescado (PEIXOTO *et al.*, 2012).

Adicionalmente, algumas *Aeromonas* spp. podem afetar a saúde dos peixes, e estes podem se tornar fonte de contaminação de espécies patogênicas para humanos. Nos últimos anos houve crescente interesse em identificar as causas de gastroenterites humanas proporcionando uma expansão da lista de bactérias classificadas como potenciais causadoras de toxi-infecções alimentares, destaca-se as do gênero *Aeromonas*: *A. hydrophila*, *A. caviae* e *A. veroni*, as quais têm sido comprovadamente relacionadas a casos de gastroenterites humana (TEUNIS; FIGUEIRAS, 2016).

A legislação não faz referência em água e alimentos para identificação e/ou quantificação de bactérias do gênero *Aeromonas*, nem nas águas e nem em alimentos, sendo que este patógeno já foi descrito como emergente pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (TAVARES *et al.*, 2014).

Como uma das características da resistência de bactérias aos antimicrobianos, apresenta-se o uso indiscriminado de agentes antimicrobianos. Para tal uso, devem-se considerar os aspectos do antimicrobiano, tais como dosagens, uso racional, espécies cultivadas. Os agentes empregados no setor da produção, os agentes antimicrobianos mais utilizados pertencem ao grupo das tetraciclinas, das sulfonamidas e das quinolonas de primeira e segunda geração (GUARDABASSI *et al.*, 2010).

O trabalho justifica-se pela escassez de informações sobre cepas de *Aeromonas* spp. patogênicas em pescado, que apresentam resistências a antimicrobianos utilizados para tratamento destas infecções hospitalares, porém esta resistência é comumente encontrada no material genético de cepas de *Aeromonas* spp. hospitalares.

Para tais justificativa, o objetivo do trabalho foi apresentar espécies de bactérias do gênero *Aeromonas* spp. resistentes a antimicrobianos isoladas de sistemas de pesca.

■ MATERIAL E MÉTODOS

Para o estudo foi realizada uma revisão bibliográfica com a busca de artigos, dissertações e teses nas bases de dados: *Scielo* e *Scopus*, utilizando-se as seguintes palavras chaves: “*Aeromonas*”, “Aquicultura”, “Sistema de Pesca”, “Resistência Antimicrobiana” entre o período de 2007 até 2020. Foram selecionados 15 trabalhos científicos com o tema da pesquisa.

■ RESULTADOS E DISCUSSÃO

Uma das doenças mais frequente em sistema de pesca é causada por espécies de *Aeromonas* spp., em que a mais conhecida é a *A. hydrophila*, um patógeno que provoca a doença conhecida como septicemia hemorrágica bacteriana, que é uma doença causada por bactérias gram negativas pertencentes ao grupo das *Aeromonas* móveis.

Entretanto, nos estudos analisados encontrou-se espécies de *Aeromonas* spp.: *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. veronii sobria* e *A. schubertii*, *Aeromonas media*, *Aeromonas salmonicida*, e *Aeromonas veronii* com potencial de resistência a antimicrobianos entre as distintas amostras do pescado, conforme Quadro 1. Dentre essas espécies, *A. hydrophila* é uma espécie com múltipla resistência à antibióticos (MRA).

A resistência de bactérias isoladas de peixes, em particular das *Aeromonas* spp. aos beta-lactâmicos, é bastante comum. Costa *et al.* (2008), avaliaram a sensibilidade aos antimicrobianos de bactérias *Aeromonas* spp. isoladas de jundiás, observando resistência de 95% (n=13) dos isolados de *Aeromonas* spp. à penicilina. Várias são as estratégias de proteção da *Aeromonas* spp. aos beta-lactâmicos, entre estes a destruição deste grupo de fármacos pela produção de beta-lactamase.

Segundo Cordeiro *et al.* (2020), as 60 cepas de *A. hydrophila* apresentaram maior resistência aos antimicrobianos testados, sendo a ampicilina (97%), a Cefuroxima (90,9%), a Amicacina (77,3%) e Cefoxitina (74,24%). Por outro lado, 81,8% destas cepas foram sensíveis ao Cefepime

Quadro 1. Resistência aos antimicrobianos de espécies do gênero *Aeromonas* spp., em espécies isoladas em Sistema de Pesca.

Espécie	Local de isolamento	Antibióticos de resistência	Estudo científico
<i>Aeromonas</i> spp.	Piscicultura	oxitetraciclina	Čížek et al. (2010)
		ampicilina, cefalotina, cefoxitina e amoxicilina e clavulonato	Silva (2010)
	Aquicultura	oxitetraciclina	Jacobs e Chenia (2007)
	Viveiro de trutas	Amoxicilina, cefalotina e oxitetraciclina	Akinbowale et al. (2007)
<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Aeromonas caviae</i> , <i>Aeromonas media</i> , <i>Aeromonas salmonicida</i> , <i>Aeromonas popoffii</i> e <i>Aeromonas veronii</i>	Água doce	quinolona	Alcaide et al. (2009)
<i>Aeromonas hydrophilla</i>	viveiros	Ampicilina, penicilina, clindamicina	Costa at al. (2011) e Zdanowicz et al. (2020)
	Sashimi/restaurantes	Ampicilina, cefuroxime, ampicilina clavulanato, ciprofloxacina	Cordeiro et. al. (2020)
	Pisciculturas (água de torneita)	Ampicilina e ciprofloxacina	Scoaris et al. (2008)

Fonte: Elaborado pelos autores (2021).

Peixoto *et al.* (2012) comentam em seu estudo bibliográfico em pisciculturas brasileiras, isolados de *Aeromonas hydrophilla* ambientais resistentes a ampicilina e *Aeromonas* spp. resistentes a oxitetraciclina (SCOARIS *et al.*, 2008; ČÍŽEK *et al.*, 2010).

O primeiro relato científico da ocorrência de plasmídios em *Aeromonas* spp. no Brasil associados com resistência a antibióticos foi feito por Palu *et al.* (2006). Gozi (2016) relata a detecção de genes *teta* e *tete* para resistência a tetraciclina em *Aeromonas* spp. corroborando com as informações de Amarante *et al.* (2018).

No estudo de Akinbowale *et al.* (2007), identificou-se 90 isolados de *Aeromonas* spp. Os níveis de resistência observados foram amoxicilina (85,7% e 97,9%); cefalotina (83,3% e 85,4%); ceftiofur (4,8% a 8,3%); oxitetraciclina (30,9% e 10,4%); florfenicol (4,8% e 2,1%) e sulfametoxazole (14,3% e 18,8%). Na Espanha, o mecanismo de resistência à quinolona foi detectado em 33 isolados, entre eles, espécies de *Aeromonas hydrophilla*, *Aeromonas caviae*, *Aeromonas media*, *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas popoffii* e *Aeromonas veronii*, oriundos de água doce (ALCAIDE *et al.*, 2009).

No estudo de Figueira *et al.* (2021), 90 isolados (90%) de *Aeromonas* spp. de água doce foram resistentes a eritromicina e 10–30% à tetraciclina e oxitetraciclina, respectivamente. A resistência a oxitetraciclina pode ser devido ao fato do gene *advR* frequentemente em cepas ambientais e estão presente em plasmídeos que são transferíveis horizontalmente entre as *Aeromonas* spp. em pisciculturas.

No estudo de Silva (2010), os 89 isolados de *Aeromonas* spp. apresentaram elevados percentuais de resistência e multirresistência frente aos vários antimicrobianos testados, principalmente à ampicilina, cefalotina, cefoxitina e amoxicilina e clavulonato.

Segundo Zdanowicz *et al.* (2020), os 106 isolados de *Aeromonas hydrophila* (95%) foram os micro-organismos mais resistentes à ampicilina, clindamicina e penicilina em trabalho realizados em viveiros de carpa na Polônia, onde observaram que a maioria das cepas bacterianas isoladas foram caracterizadas pela resistência a 4 a 6 dos 12 antibióticos testados.

■ CONCLUSÃO

Conclui-se que a maioria das espécies de *Aeromonas* spp. encontradas contaminando o pescado apresenta múltipla resistência à antibióticos. Os principais antibióticos de resistência: penicilina, ampicilina e tetraciclina estão presentes em espécies do gênero *Aeromonas* em Sistema de Pesca dos diversos países do Brasil à Europa. Em geral, são sensíveis a maior parte das cefalosporinas, ao cloranfenicol e sulfametoxazol-trimetoprim. Assim, esta revisão possibilitou uma reflexão sobre transferência dos genes de resistência aos antibióticos interespecies entre isolados ambientais do gênero *Aeromonas*.

■ REFERÊNCIAS

1. AKINBOWALE, O. L.; PENG, H.; GRANT, P.; BARTON, M. D. **Antibiotic resistance in motile aeromonads and pseudomonads from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in Australia.** International Journal of Antimicrobial Agents, Amsterdam, n. 30, p. 177-182, 2007.
2. ALCAIDE, E.; BLASCO, M. D; ESTEVE, C. **Mechanisms of quinolone resistance in *Aeromonas* species isolated from humans, water and eels.** Research in Microbiology, Paris, p. 1-6, 2009.
3. AMARANTE, Jarbas Freitas *et al.* **Resistência aos Antimicrobianos de Bactérias obtidas de Carpas (*Cyprinus Carpio*) Cultivadas em Sistema Semi-Intensivo.** Ciência. Animal. Brasileira., Goiânia, v.19, 1-7, e-34647, 2018.
4. BALASSIANO IT, BASTOS MCF, MADUREIRA DJ, SILVA IG, Freitas-Almeida AC, Oliveira SS (2007). **The involvement of tetA and tetE tetracycline resistance genes in plasmid and chromosomal resistance of *Aeromonas* in Brazilian strains.** Mem Inst Oswaldo Cruz 102:861-866.
5. COSTA MM, PEIXOTO MR, BOIJINK LC, CASTAGNA L, MEURER F, VARGAS CA. **Sensibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas de Jundiá (*Rhandia quelen*).** Pesquisa Veterinária Brasileira;28(10):477-480, 2008.
6. FIGUEIRA V, VAZ-MOREIRA I, SILVA M, MANAIA CM. **Diversity and antibiotic resistance of *Aeromonas* spp. in drinking and waste water treatment plants.** Water Research. vol(17):5599-611, 2011.
7. GOZI, KATIA SUEMI. **Perfil de resistência à antimicrobianos de *Aeromonas* sp. e *Streptococcus* sp. isolados de tilápia-do-Nilo e detecção dos genes envolvidos na resistência à tetraciclina.** Dissertação de mestrado. (Mestrado em Aquicultura) – Unesp,– Jaboticabal, 2016.
8. HONORATO, C. A.; FRAGA, T. L.; NASCIMENTO, C. A.; SILVA, N. F. da. **Isolamento de *Aeromonas hydrophila* em *Bettas splendens* – alterações histopatológicas nas brânquias.** Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia. UNIPAR, Umuarama, v. 17, n. 1, p. 49-53, 2014.
9. PEIXOTO. L.J.S *et al.* **AEROMONAS SPP.: FATORES DE VIRULÊNCIA E PERFIS DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS E METAIS PESADOS.** Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.79, n.3, p.453-461, 2012.
10. SILVA, REJEANA MÁRCIA LIMA. **Bactérias do gênero *Aeromonas* e indicadores de qualidade da água em pisciculturas da Região da Baixada Ocidental Maranhense,** Tese de doutorado – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal, 2010.
11. TEUNIS, P.; FIGUERAS, M.J.. **Reassessment of the Enteropathogenicity of Mesophilic *Aeromonas* Species.** Frontiers In Microbiology. p. 1-12. set. 2016.
12. SMITH P, KRONVAL G,. **How many strains are required to set an epidemiological cut-off value for MIC values determined for bacteria isolated from aquatic animals?** Aquacult Int 23:465-470, 2014.

13. TAVARES, A. B.; CERESER, N. D.; TIMM, C. D. **Ocorrência de Aeromonas spp. em alimentos de origem animal e sua importância em saúde pública.** Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.XX, n.X, p. 1-8, 2014.
14. ZDANOWICZ M, MUDRYK ZJ, PERLIŃSKI **Abundance and antibiotic resistance of Aeromonas isolated from the water of three carp ponds.** Vet Res Commun 44:9–1, 2020.

A Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) como ferramenta de controle de qualidade no abate de aves: uma revisão narrativa

| Mirian Cristina Feiten
UEM

RESUMO

Atualmente, a Garantia da Qualidade (GQ) tornou-se imprescindível em todos os locais de produção de alimentos, devido ao fato de o Brasil ser um grande produtor de alimentos para consumo interno e exportação. Ao mesmo tempo, há uma grande demanda por alimentos mais saudáveis e seguros para atender a um público que está cada vez mais rigoroso em suas escolhas. A Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) é uma componente chave para algumas normas de conformidade certificadas, e é reconhecida como um elemento principal para o comércio internacional de produtos alimentícios, tendo em vista que visa a minimização da introdução, sobrevivência e/ou multiplicação de agentes biológicos bem como da introdução e permanência de agentes físicos ou químicos no alimento pronto para consumo. Assim, esta revisão compreende a implementação dos Planos APPCC, os Pontos de Controle (PCs) e os Pontos Críticos de Controle (PCCs) de um abatedouro de aves. O fluxograma de produção é detalhadamente descrito, com ênfase nos PCs e PCCs monitorados no abatedouro.

Palavras-chave: APPCC, Abatedouro, Garantia da Qualidade, PCs, PCCs.

■ INTRODUÇÃO

Com os adventos da modernidade, os consumidores possuem um numeroso leque de possibilidades na escolha de produtos alimentícios. A maior acessibilidade aos diferentes produtos e/ou marcas para uma maior parcela da população, torna o processo produtivo e os próprios consumidores, sejam eles de qualquer escala (mercado nacional e/ou internacional, a nível empresarial ou não), cada dia mais exigentes.

Com isso, as empresas do ramo avícola preocupam-se cada vez mais em proporcionar a este exigente consumidor um produto de máxima qualidade, pois é esta, na maioria das vezes que faz o diferencial e possibilita que um produto se ressalte sobre outro (OLIVO; OLIVO, 2006). Para tanto, dentro de um sistema de produção de aves e demais produtos derivados de aves, o setor de Gerenciamento da Qualidade tem papel fundamental para que se obtenha de fato um produto de qualidade. Isto porque este setor retém todo o controle das informações relacionadas à qualidade de todo o processo produtivo, envolvendo os profissionais, o produto, a empresa, os padrões exigidos pelo cliente e pela legislação, desde o recebimento das embalagens até a empresa responsável pela uniformização e os profissionais terceirizados.

A Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC ou HACCP - *Hazard Analysis of Critical Control Points*) é a plataforma principal para a legislação internacional e as boas práticas de fabricação (BPF) para todos os setores da indústria alimentícia (SENAC, 2004). A APPCC objetiva identificar todos os fatores associados à matéria-prima, ingredientes, insumos e processo com o intuito de garantir a inocuidade do produto final até sua chegada ao consumidor. É uma ferramenta de gestão de risco reconhecida internacionalmente para o uso na gestão proativa de temas ligados à segurança de alimentos (SENAI, 2002).

Segundo a NBR 14900 (ABNT, 2002), APPCC é o sistema utilizado para garantir a segurança do alimento, composto por um conjunto de sete princípios: (1) Identificar os perigos de contaminação e avaliar sua severidade; (2) Determinar os Pontos Críticos de Controle (PCCs); (3) Instituir medidas e estabelecer critérios para assegurar o controle do processo/processamento; (4) Monitorar os PCCs; (5) Estabelecer um sistema de arquivos e registro de dados; (6) Agir corretivamente sempre que os resultados do monitoramento indicar que os critérios não estão sendo seguidos; e (7) Verificar se o sistema está funcionando como planejado.

Um sistema de APPCC ajuda a focar em perigos que afetam a segurança de alimentos através da identificação destes (perigos químicos, físicos e biológicos) e a estabelecer limites críticos de controle para os pontos críticos durante o processo de produção. Compreende uma série de programas e procedimentos implementados, que guiam a um completo domínio

do processo produtivo para alcançar o objetivo maior, que é a obtenção de um alimento de excelente qualidade, seguro e que atenda as especificações dos clientes.

Estes programas são a base para a formulação dos planos APPCCs da empresa e para abatedouros de aves alguns destes documentos são (TERRA; BRUM, 1988; BERTOLINO, 2010): Procedimento de Armazenamento, Expedição e Transporte; Procedimento para controle de Alimentos Alergênicos; Procedimento para Calibração, Ajuste e Verificação; Procedimento para Controle Integrado de Pragas; Procedimento para Prevenção da Contaminação Cruzada; Procedimento para Controle de Processo; Procedimento para Gerenciamento de Resíduos; Procedimento para Higienização das Áreas Externas; Procedimento de Higiene Pessoal; Procedimento Padrão de Higiene Operacional; Procedimento Padrão de Higiene Pré-operacional; Procedimento de Iluminação; Procedimento de Insensibilização e Sangria de Abate de Frangos; Procedimento para Higienização dos Uniformes, Vestiários e Sanitários; Procedimento de Métodos de Inspeção e Ensaio; Procedimento de Trabalho da Manutenção; Procedimento de Prevenção e Controle da Adição de Água aos Produtos; Procedimento de Proteção do Produto e Prevenção Contra Corpos Estranhos; Programa de Qualidade da Água (BRASIL, 2011); Procedimento de Rastreabilidade Interna; Procedimento de Verificação da Ventilação.

As pessoas envolvidas no processo produtivo devem ter conhecimento e receber treinamento nas áreas de tecnologia/equipamentos usados na linha de processo; aspectos práticos das operações com alimentos; fluxograma e tecnologia de processo; microbiologia de alimentos; aspectos epidemiológicos das doenças de origem alimentar, fatores que as propiciam, formas de ocorrência e severidade (SILVA JÚNIOR, 1995), assim como de princípios e técnicas do Sistema APPCC (BRASIL, 1998).

O treinamento é essencial para a equipe, proporcionando motivação e estímulo, como também condições para a aplicação do Sistema APPCC na indústria. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1998) cita que, na implantação do Plano, a empresa deve garantir condições para que todas as pessoas sejam capacitadas, facilitando sua participação em treinamentos necessários para garantir o desempenho adequado em cada função. A empresa deve incluir no Plano APPCC, um “Programa de Capacitação Técnica” que preveja a capacitação contínua, de forma a propiciar a atualização e a reciclagem dos envolvidos.

Neste contexto, este trabalho busca descrever como o processo produtivo da cadeia de produtos derivados de frangos de corte ocorre de maneira geral, correlacionando bons índices de produtividade com a exigência de uma excelente qualidade, através da capacitação dos funcionários em relação ao plano APPCC e as BPF; e descrever as funções desempenhadas pelos profissionais desta área, e como isso afeta diretamente a qualidade do produto final.

■ DESENVOLVIMENTO

A QUALIDADE

Qualidade é definida como a capacidade de um produto ou serviço de satisfazer necessidades expressas ou implícitas a um custo competitivo (JURAN; GRYNA, 1993). Hoje em dia, mais do que ser um atrativo, fator de diferenciação, superioridade ou fator de cumprimento legislativo, a qualidade de um produto é exigência, sendo assim requisito básico e essencial para que um produto seja digno de aceitação pelo consumidor.

A qualidade é um conceito multidimensional. A empresa deve apurar quais são as necessidades dos clientes e, em função destas, definir os requisitos de qualidade do produto. Os requisitos são definidos em termos de variáveis como, por exemplo, comprimento, largura, altura, peso, cor, resistência, durabilidade, tempo de entrega, simpatia de quem atende ao cliente, rapidez do atendimento, eficácia do serviço, etc. Quando se trata de produtos alimentícios o conceito de qualidade é ainda mais complexo: além das características relacionadas à aparência, aroma e sabor, a qualidade está diretamente relacionada à integridade físico-química e microbiológica do alimento (BERTOLINO, 2010).

O Controle de Qualidade (CQ), por sua vez, é o conjunto de atividades relacionadas para verificar o atendimento de requisitos de qualidade (atributos) previamente estabelecidos/especificados e se os objetivos da empresa estão sendo atingidos (CAMPOS, 1992; JURAN; GRYNA, 1993). São atividades que visam contemplar todo o processo produtivo em si incluindo todas as suas etapas. Com o controle de qualidade busca-se monitorar e verificar o processo produtivo de modo que a qualquer desvio de padrões possam ser tomadas ações corretivas.

Segundo a NBR ISO 9001 (ABNT, 2015), a Garantia da Qualidade (GQ) refere-se a um programa de acompanhamento sistemático e avaliação dos diferentes aspectos de um produto, projeto ou serviço e garante que os padrões de qualidade estão sendo cumpridos. A GQ avalia os resultados obtidos a fim de verificar se há algo que possa ser feito para a melhoria do processo ou do produto, e é responsável pela tomada das ações para redução de defeitos. Geralmente, isso é realizado através de treinamentos de capacitação dos funcionários envolvidos diretamente na manipulação/fabricação do produto e dos funcionários responsáveis pelo monitoramento e/ou verificação do produto ou do processo.

Uma análise de perigos visa identificar e avaliar os perigos potenciais, de natureza física química ou biológica, que representem riscos à saúde do consumidor. Assim, APPCC é uma sistemática de procedimentos que tem por objetivo identificar, avaliar e controlar os perigos para saúde do consumidor e caracterizar os pontos de controle considerados críticos para assegurar a inocuidade dos alimentos.

A identificação dos “perigos potenciais” em pontos específicos do processo possibilita o controle sobre estes pontos passíveis de falha (PCCs). Desta forma, se algum ponto demonstrar algum desvio, ou que está fora de controle, significa que a segurança do produto pode estar comprometida.

A equipe APPCC deve ser composta de um grupo multidisciplinar de profissionais que unem esforços pelo desenvolvimento, implementação e manutenção do Sistema de Segurança Alimentar, tendo como base os requisitos de APPCC, e constituindo, desta forma, a Equipe de Segurança Alimentar do APPCC.

Requisitos nos quais a tomada de decisão ou julgamento são baseados são definidos como critérios. Os valores ou atributos máximos e/ou mínimos estabelecidos para cada critério são limites críticos e, quando não atendidos, significam impossibilidade de garantia da segurança do alimento. Os limites de segurança são valores ou atributos próximos aos limites críticos e que são adotados como medida de segurança para reduzir a possibilidade de os mesmos não serem atendidos.

Medidas Preventivas ou de Controle são qualquer ação ou atividade que pode ser realizada para prevenir, eliminar ou reduzir um perigo à saúde do consumidor (ABNT, 2015). As medidas de controle se referem às fontes e aos fatores que interferem nos perigos, tais como possibilidade de introdução, sobrevivência e/ou multiplicação de agentes biológicos e introdução e permanência de agentes físicos ou químicos no alimento.

O monitoramento ocorre pela sequência planejada de observações ou mensurações devidamente registradas em planilhas que permitem avaliar se um perigo está sob controle. Uma ação corretiva é tomada quando se constata que um critério encontra-se fora dos limites estabelecidos (ABNT, 2002). Os perigos podem ser contaminantes de natureza biológica, química ou física que podem causar dano à saúde ou à integridade do consumidor. O conceito de perigo poderá ser mais abrangente para aplicação industrial ou governamental, considerando aspectos de qualidade, fraude econômica e deteriorações, dentre outros. Quando o perigo é considerado significativo, sua ocorrência possível e/ou com potencial pode resultar em risco inaceitável à saúde do consumidor (SILVA JÚNIOR, 1995; BRASIL, 2004; 2015; MACHADO, 2015). Um risco é uma estimativa da probabilidade (possibilidade) de ocorrência de um perigo. Pode ser classificado em alto, médio e baixo.

O documento elaborado para um produto/processo específico, de acordo com a sequência lógica, onde constam todas as etapas e justificativas para a sua estruturação é o Plano APPCC. Serão considerados como Pontos de Controle (PC) os pontos ou etapas que afetam a segurança e que são controlados prioritariamente por programas e procedimentos de pré-requisitos (BPF, PPHO, etc.). Qualquer ponto, etapa ou procedimento no qual se

aplicam medidas de controle (preventivas) para manter um perigo significativo sob controle, com objetivo de eliminar, prevenir ou reduzir os riscos à saúde do consumidor é um PCC.

O Programa de Pré-Requisitos compreende procedimentos, incluindo BPF, PPHO e Procedimentos Operacionais Padrão (POPs), que constituem a base higiênico - sanitária, necessários para a adequada implantação do Sistema APPCC.

A verificação é realizada por meio de métodos, procedimentos ou testes para validar, auditar, inspecionar, calibrar, com a finalidade de assegurar que o plano APPCC está em concordância com o sistema APPCC e é cumprido operacionalmente e/ou necessita de modificação e revalidação. Os registros são documentos específicos utilizados para protocolar dados, resultados e leituras específicas.

As BPFs referem-se a um conjunto de princípios e regras para o correto manuseio de alimentos, que abrange desde as matérias-primas até o produto final, tendo como principal objetivo garantir a integridade do alimento e a saúde do consumidor (BRASIL, 2004; 2015). As normas que estabelecem as BPFs envolvem requisitos fundamentais que vão desde as instalações da indústria, passando por rigorosas regras de higiene pessoal e limpeza do local de trabalho (tais como lavagem correta e frequente das mãos, utilização adequada dos uniformes, disposição correta de todo o material utilizado nos banheiros e o uso de sanitizantes) até a descrição, por escrito, dos procedimentos envolvidos no processamento do produto, desde a recepção da matéria-prima até a expedição de produtos, contemplando os mais diversos aspectos (qualidade da matéria-prima e dos ingredientes, qualidade da água, etc.) (MACHADO, 2015).

Dentre as normas e/ou regras que os manipuladores de alimentos devem seguir estão a higienização de mãos e botas; proibição no uso de adornos, maquiagens, perfumes, unhas compridas e/ou pintadas, barba e bigode; alimentar-se somente no refeitório, etc. Por serem essenciais, as BPFs são tão exigidas dentro de uma fábrica e os funcionários que nela atuam devem segui-las fielmente (ARRUDA, 2002; ANVISA, 2004). O descumprimento dessas normas pode levar a uma série de punições culminando até mesmo com o desligamento do funcionário envolvido. A rigidez neste aspecto deve-se ao prejuízo que o descumprimento de qualquer uma destas regras pode trazer à empresa, pois qualquer meio ou fonte de contaminação para o produto, seja ela física, química ou biológica é fonte de contaminação para o consumidor, podendo resultar em inúmeras reclamações por parte dos clientes bem como não-conformidades por parte do Serviço de Inspeção Federal (SIF) local ou ainda, com maior fator de gravidade, sérios riscos à saúde pública.

■ FLUXOGRAMA DE PROCESSO

Frango/Miúdos/Miudezas/Congelado/Resfriado in natura

O fluxograma operacional geral de um abatedouro de aves é ilustrado na Figura 1. A seguir, todas as etapas são descritas e os PCs e PCCs detalhados.

Pré-Abate

Todas as operações de manejo dos animais que possam trazer qualquer desconforto ou prejuízo ao conforto animal devem estar em perfeito acordo com as normas de bem-estar animal. Entende-se como Bem-Estar Animal o “estado de completa saúde física e mental, em que o animal está em harmonia com o ambiente que o rodeia, não sentindo dor, medo ou ansiedade” (BROOM; JOHNSON, 2000; BROOM; FRASER, 2007). São numerosos elementos que contribuem para a qualidade de vida do mesmo, incluindo suas cinco liberdades: livres de fome, sede, desconfortos, sofrimentos, lesões ou doenças, e livres para expressar seu comportamento normal (OIE, 2021). Os lotes destinados ao abate passam por inspeção técnica, que fica a cargo de um técnico ou médico veterinário e deve ser realizada ao menos uma vez ao lote. Todas as informações como drogas utilizadas, mortalidade, registro de peso, vacinações entre outras ficam registradas no boletim sanitário do lote que é entregue juntamente com a carga/lote no momento da recepção no frigorífico. Ao se realizar programação de abate de um determinado lote, deve-se realizar jejum de no mínimo 5 e no máximo 12 horas antes do abate - PC (B) - o que permite eficiente depleção do conteúdo gastrintestinal e conseqüentemente menor risco de posterior contaminação da carcaça. A água deve estar disponível até o momento da apanha. A apanha deve ser realizada de maneira que maus tratos e brutalidades não sejam tolerados, ou seja, deve ser realizada de maneira cuidadosa, evitando mortalidade, fraturas, arranhões e hematomas. As aves devem ser apanhadas pelo dorso, uma a uma e colocadas em gaiolas, respeitando-se a lotação que depende do tamanho/peso das mesmas. Estas gaiolas devem estar íntegras e corretamente higienizadas (processo que ocorre no frigorífico, antes de serem enviadas às granjas). Logo, as aves são transportadas em gaiolas devidamente acondicionadas nos caminhões transportadores respeitando-se o tempo total máximo de 12 horas da retirada da alimentação, apanha e transporte até o abate.

Recepção de Frangos

O caminhão carregado com as aves chega ao abatedouro e logo na portaria é pesado e recebe um número para fins de ordem de descarregamento. É, então, encaminhado ao galpão de espera. Neste galpão o caminhão deverá permanecer por no máximo 2 horas, devendo este estar equipado com sistema de nebulização e ventiladores para controle de temperatura e umidade. Juntamente com a carga, deve ser encaminhado o guia de transporte animal (GTA) e o boletim sanitário para posterior conferência do Fomento e SIF, sendo

que este último deverá receber um Boletim Sanitário com 24 horas de antecedência, onde estão registradas todas as informações dos lotes que serão abatidos. Nesta etapa realiza-se a conferência do PC (B), que corresponde ao monitoramento da retirada da alimentação por parte do produtor/tempo de jejum, e do PCC1 (Q), que monitora a utilização de drogas, período de carência e não utilização de medicamentos não prescritos, considerando-se tolerância zero para a ausência destas informações. O lote só é abatido após conferência e registro das informações.

Descarga e Pendura

As caixas com as aves são descarregadas dos caminhões e colocadas em esteira condutora provida de plataforma móvel, cuja finalidade é aproximar as gaiolas da plataforma de operação, facilitando a descarga e reduzindo o impacto. O descarregamento deve ser realizado respeitando-se as normas de bem-estar animal; as gaiolas não devem sofrer baques nem estarem abertas para que os frangos não sofram grandes impactos ou lesões e nem escapem. Após serem descarregadas, as gaiolas seguem pela esteira e as aves são retiradas e penduradas na linha pelos pés, seguindo para os demais processos. Deve-se ter cuidado para que elas sejam corretamente penduradas com os dois pés, sem se debaterem nem sofrerem fraturas ou hematomas. As aves seguem por todo o trajeto amparadas por um protetor de peito chamado “para-peito” que serve para minimizar o desconforto e para que as aves não debatam demasiadamente as asas, evitando assim contusões. As aves que estiverem aparentemente mortas devem ter o pescoço puxado para garantir que não sofram por estarem apenas inconscientes e devem ser destinadas para subproduto (produção de farinha para ração animal). O último funcionário da linha de pendura tem um controle sobre o acionamento da esteira para que se evite que gaiolas passem para a etapa de higienização com animais em seu interior. As gaiolas, então, já sem as aves passam para a etapa de higienização que é realizada automaticamente pela máquina lavadora de gaiolas que faz a higienização e sanitização das mesmas. Após, são automaticamente carregadas nos caminhões que da mesma forma, já devem ter passado pelo processo de higienização.

Insensibilização

Esse processo tem como objetivo maior garantir o bem-estar animal, dessa forma, caracteriza-se por um procedimento de atordoamento das aves para que estas não sofram no momento da sangria e também para que esta seja facilitada. A insensibilização ocorre por eletronarose sob imersão em água, sendo que o volume de água é diretamente proporcional ao tamanho da ave e conseqüentemente influencia na eficiência do processo. A ave não deve morrer nesta etapa. Para tanto, os padrões de choque devem ser constantemente monitorados considerando-se: tensão entre 45-50 V, freqüência entre 1200-1400 Hz e amperagem mínima de 105 mA. As aves são conduzidas ao longo do insensibilizador recebendo o choque pela cabeça, que é conduzido até a correia transportadora e assim percorrendo

todo o corpo do animal. Deve-se estar atento para que o volume de água não transborde e que a cabeça da ave fique totalmente submersa, bem como observar a sujidade da água que não deve ser excessiva.

Sangria

Processo subsequente ao atordoamento, ocorre manualmente com o auxílio de facas que devem ser esterilizadas a uma temperatura de no mínimo 85 °C. Esse processo deve ser realizado a se promover uma secção total dos vasos sanguíneos da ave (veias e artérias), ocorrendo assim maior escoamento do sangue da carcaça. A carcaça segue por um tanque de gotejamento que deve durar de 3 a 5 minutos. Esse sangue é destinado ao setor de subproduto para produção de farinha.

Escaldagem

Caracteriza-se por imersão da carcaça em água a uma temperatura de 56 a 60 °C, com renovação constante de água de maneira que a cada turno de 8 horas o tanque tenha todo o seu volume renovado. A escaldagem tem como finalidade facilitar o processo seguinte, a depenagem, porém deve-se ter cuidado para que a carcaça não sofra excesso de escaldagem - controle da temperatura da água da escaldagem pelo PC (B) - resultando no descarte da mesma pelas características indesejáveis que esse processo poderá causar.

Depenagem

Este processo é totalmente automatizado. Primeiramente são extraídas as penas da sambiqueira e logo, a carcaça passa por um conjunto de depenadeiras que retiram as penas do restante da carcaça. As depenadeiras são máquinas que realizam o processo através de dedos de borracha, e devem sofrer manutenção constante, pois do contrário, poderão provocar danos como hematomas e rupturas de pele.

Sugador de Fezes

Processo efetuado por um equipamento automático que realiza a retirada das fezes do intestino da ave por sucção visando minimizar o risco de possíveis contaminações no decorrer do processo.

Corte da Cabeça

A secção da cabeça é efetuada por um equipamento dotado de rosca sem fim, sendo estas destinadas ao setor de subprodutos.

Lavagem

As carcaças são lavadas em chuveiros de aspersão com água sob pressão com jatos orientados na direção de se obter uma lavagem completa.

Corte dos Pés

Procedimento efetuado por um disco de corte que realiza a secção na altura da canela. Os pés então seguem em linha para posterior processamento na sala de pés.

Rependura

Após as carcaças sofrerem secção dos pés elas caem em uma calha que conduz a uma esteira onde são rependuradas por funcionários da linha.

Figura 1. Fluxograma geral de um abatedouro/frigorífico de aves.



Extração da Cloaca

A carcaça passa por uma máquina dotada de autolavagem (extratora de cloaca) que efetua um corte ao redor da cloaca com objetivo de extraí-la e com isso minimizar o risco de contaminação fecal.

Corte Abdominal e Exposição das Vísceras

Esse procedimento é realizado por uma máquina dotada de autolavagem que realiza abertura da cavidade abdominal através de um corte na parte inferior do frango. Outro equipamento realiza automaticamente a exposição das vísceras, sendo que braços fixam o peito do frango ajustado para penetração de um aparato mecânico que funciona como uma mão retirando as vísceras e expondo-as fora da carcaça. O equipamento possui sistema de lavagem automática para limpeza das mãos mecânicas. Um repasse manual é realizado para que qualquer carcaça que não tenha sido eviscerada pela máquina o seja manualmente. Desse modo, a evisceração subdivide-se em automática e manual.

Pré-Resfriamento de Carcaças e Cortes Liberados pelas Linhas de Inspeção Federal

Os cortes provenientes de carcaças com algum tipo de tecnopatias são acondicionados em caixas com gelo e serão posteriormente aproveitados para produtos cozidos (caixas amarelas) ou liberados (caixas brancas), a seguir esses cortes são conduzidos aos *chillers* específicos para tal e podem ter os seguintes destinos: cortes liberados são destinados a sala de cortes; cortes condicionais são destinados para a produção de Carne Mecanicamente Separada (CMS) ou embutido cozido. Neste ponto deve-se estar atendo para o monitoramento das temperaturas destes cortes que não deve passar de 7 °C para cortes liberados e de no máximo 10 °C para cortes condicionais.

Processamento de Miúdos (Remoção de Coração e Fígado)

Processo que é realizado manualmente da seguinte maneira: o fígado é retirado e encaminhado por calha específica para o *chiller* de fígado na sala de miúdos; o coração, da mesma forma, é retirado manualmente e encaminhado por calha específica para a máquina que faz sua limpeza (retirada do pericárdio e da gordura) e logo segue para *chiller* específico na sala de miúdos.

Processamento de Miúdos (Moela)

A moela, ainda em conjunto com as demais vísceras (não comestíveis), segue para a máquina de moela onde é separada das demais, aberta e limpa (é retirada a cutícula, a gordura e demais sujidades). Em seguida segue para *chiller* específico na sala de miúdos. As demais vísceras são lançadas diretamente na calha de evisceração e seguem para o setor de subprodutos.

Processamento de Miudezas (Pés)

Após os pés terem sido seccionados da carcaça seguem em linha até a sala de pés onde passam por um tanque de escalda, são depilados (retirada da cutícula), classificados e enviados para o *chiller* de pés.

Resfriamento de Miúdos e Miudezas (Coração, Fígado, Moela, Pés e Pescoço)

Os miúdos (coração, moela e fígado) e miudezas (pescoço e pés) são transportados para *chillers* específicos, onde são submersos em água a uma temperatura máxima de 4 °C. A taxa de renovação de água dos *chillers* é de 1,5 litros por quilograma de produto e o tempo de residência dos produtos no *chiller* deve ficar em torno de 15 minutos. A temperatura da água de renovação deve ser de no máximo 2 °C. A temperatura dos miúdos (coração, moela e fígado), pescoço e pés na saída do *chiller* deve ser de no máximo 7 °C. As temperaturas da água dos *chillers*, da água de renovação e dos miúdos e miudezas na saída do *chiller* e a taxa de renovação de água são controlados pelo PC (B).

Extração de Papo, Traquéia e Esôfago

As carcaças passam por uma máquina que realiza a retirada automática do papo, traquéia e esôfago que são enviados à fábrica de subprodutos.

Revisão e Remoção da Contaminação Gastrointestinal e/ou Biliar Visível

Após a extração dos miúdos é realizada uma inspeção em 100% das carcaças para remoção da contaminação gastrointestinal e/ou biliar visível interna e externamente, que constitui o PC (B). As carcaças contaminadas são retiradas da linha e postas em gancheiras específicas para remoção da contaminação. A parte contaminada é acondicionada em caixa vermelha para envio ao subproduto e a carcaça é acondicionada em contentores com gelo para posteriormente serem inseridas novamente na linha.

Revisão da Carcaça

Após a etapa de revisão e remoção da contaminação, as carcaças são 100% inspeccionadas por monitores, garantindo assim a ausência de contaminação gastrointestinal e/ou biliar interna e externamente. Este é o ponto onde realiza-se o PCC1 (B), que é caracterizado por um limite crítico de ausência total de contaminação para 100% das carcaças. Essa avaliação compreende ainda uma comparação com padrões de desempenho pré-estabelecidos buscando-se assim avaliar se o processo em questão está ou não sob controle e com isso tomar as ações corretivas necessárias. Entre estas ações estão: diminuição da velocidade da linha, colocação de um funcionário extra, manutenção dos equipamentos envolvidos ou retreinamento de funcionários. Cada tomada de ação dependerá de onde foi verificada a falha.

Retirada do Pescoço

É realizada por um equipamento automático. Após ser extraído o pescoço pode sofrer diferentes destinos: ser enviado ao setor de subproduto, enviado através de um

sistema a vácuo para um *chiller* específico para embalar ou ainda pode ser destinado para a fabricação de CMS.

Lavagem Final

É a lavagem final interna e externa da carcaça com água através de um processo automatizado com bicos aspersores e chuveiros com pressão moderada e vazão de no mínimo 1,5 litros de água/ave. Monitorada pelo PC (B).

Pré-Resfriamento

Após sofrerem lavagem final, as carcaças seguem em linha pela nórea até o sistema de resfriamento, caem primeiramente no pré-*chiller* onde ficam submersas em água a uma temperatura máxima de 16 °C com taxa de renovação de 1,5 litros/ave. O tempo de residência das carcaças no pré-*chiller* é de no máximo 30 minutos. Em seguida, a carcaça é transferida para o *chiller* onde a temperatura da água deve ser de no máximo 4 °C e a taxa de renovação deve ser de 1 litro/ave. O tempo de residência das carcaças no *chiller* é de no máximo 45 minutos. Ao final dessa etapa as carcaças devem atingir temperatura de no máximo 4 °C superficialmente e 7 °C no interior da intimidade muscular e ter no máximo 8% de absorção de água. A temperatura da água de renovação deve ser de no máximo 2 °C. Esse processo de resfriamento é dotado de um sistema de borbulhamento que facilita o resfriamento da carcaça e dificulta a absorção de água. No final do *chiller* as carcaças caem em uma esteira com sistema de autolavagem onde são rependuradas na nórea para seguirem na linha do processo.

Gotejamento e Classificação da Qualidade

Após serem rependuradas as carcaças seguem em um trajeto para gotejamento com o objetivo de eliminar o máximo de água possível do sistema de resfriamento para que com isso o limite de 8% de absorção não seja ultrapassado. A partir deste processo as carcaças serão destinadas para frango inteiro tipo *griller*, frango inteiro tipo *broiler*, produtos 9 partes (cliente específico) ou para corte e/ou desossa, conforme o padrão do produto ou programação de produção.

Inserção do Pacote de Miúdos

Os miúdos que, anteriormente foram automaticamente embalados em pacotes pela máquina Maynar, vão agora ser manualmente inseridos nas carcaças inteiras na produção de frango tipo *broiler*.

Pesagem

O abatedouro possui um sistema de pesagem dinâmica que efetua a pesagem em linha, de acordo com programação prévia.

Embalagem Primária

As carcaças são acondicionadas em uma embalagem de polietileno impressa e rotulada de acordo com o produto/código, país importador e/ou mercado nacional. Depois de embalado o produto é selado com uma fita seladora. Os miúdos podem ser embalados de duas maneiras: na forma de pacotes para serem posteriormente inseridos no frango tipo *broiller*, ou ainda, podem ser embalados como produtos acabados, e neste caso, serão acondicionados no mesmo sistema de embalagem primária citado anteriormente e selados a quente ou com fita seladora.

Embalagem Intermediária

Em seção específica para este fim após a embalagem primária, os produtos são colocados em fundo de papelão e então seguem na esteira para a segunda pesagem.

Classificação de Peso da Caixa

Este processo é realizado por um sistema de pesagem contínua (SPC) que efetua a rejeição automática de caixas fora do limite de peso (± 250 gramas) ou com algum tipo de defeito de qualidade. Nesta etapa ainda é realizado o processo de impressão do código de rastreabilidade na lateral da caixa – PFXXXA20 - onde PF = unidade produtora, XXX = data de produção conforme calendário Juliano, A ou B = turno de produção; 20 = dois últimos números do ano. Também são impressos no mesmo lado da caixa o mês de produção e a data de validade. Os produtos passam ainda por uma inspeção final onde são verificados (em 100%) o correto padrão de qualidade da embalagem primária, secundária e etiqueta.

Resfriamento/Congelamento

Para produtos congelados, a empresa tem disponibilidade de utilização de três túneis de congelamento contínuo: Holima, Recrusul e Cartofreezer. Esses produtos são submetidos a uma temperatura de cerca de $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ por um período aproximado de 8 a 10 horas. Para produtos resfriados (com destino mercado interno ou que serão utilizados como matéria-prima), a empresa disponibiliza de câmaras de resfriamento com temperatura de no máximo $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Após, esses produtos são enviados a central de distribuição, onde também serão armazenados em câmaras de resfriamento com temperatura máxima de $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. A temperatura da carcaça e dos miúdos na entrada dos túneis ou câmara de resfriamento deve ser de no máximo $7\text{ }^{\circ}\text{C}$, e estes produtos devem atingir temperatura menor ou igual a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ em, no máximo, 4 horas a partir da etapa de sangria. Esse monitoramento é realizado pelo PCC2 (B).

Embalagem Secundária

Na saída do túnel de congelamento, as caixas (produto mais embalagem intermediária) passam pelos detectores de metais - PCC2 (F), onde são colocadas as tampas de papelão e plastificadas. Essas tampas são rotuladas de acordo com o padrão do produto e/ou código. No caso de haver rejeição do produto por algum detector de metal, o produto deve ser revisado de modo a encontrar o metal. Se este estiver dentro da embalagem

secundária o metal deve ser retirado e recoloca-se o produto no fluxo normal antes do detector; se for encontrado metal na embalagem primária, este deve ser retirado e descartado se o produto manipulado. Os produtos são então, acondicionadas em pallets que são encaminhados à estocagem.

Estocagem

Na estocagem, os pallets são devidamente identificados por fichas emitidas pelo sistema Sydel, são então endereçadas e armazenadas a uma temperatura de -18 °C para produtos congelados. Produtos resfriados são identificados e permanecem na câmara de resfriamento. O monitoramento das temperaturas de estocagem é feito através do PC (B).

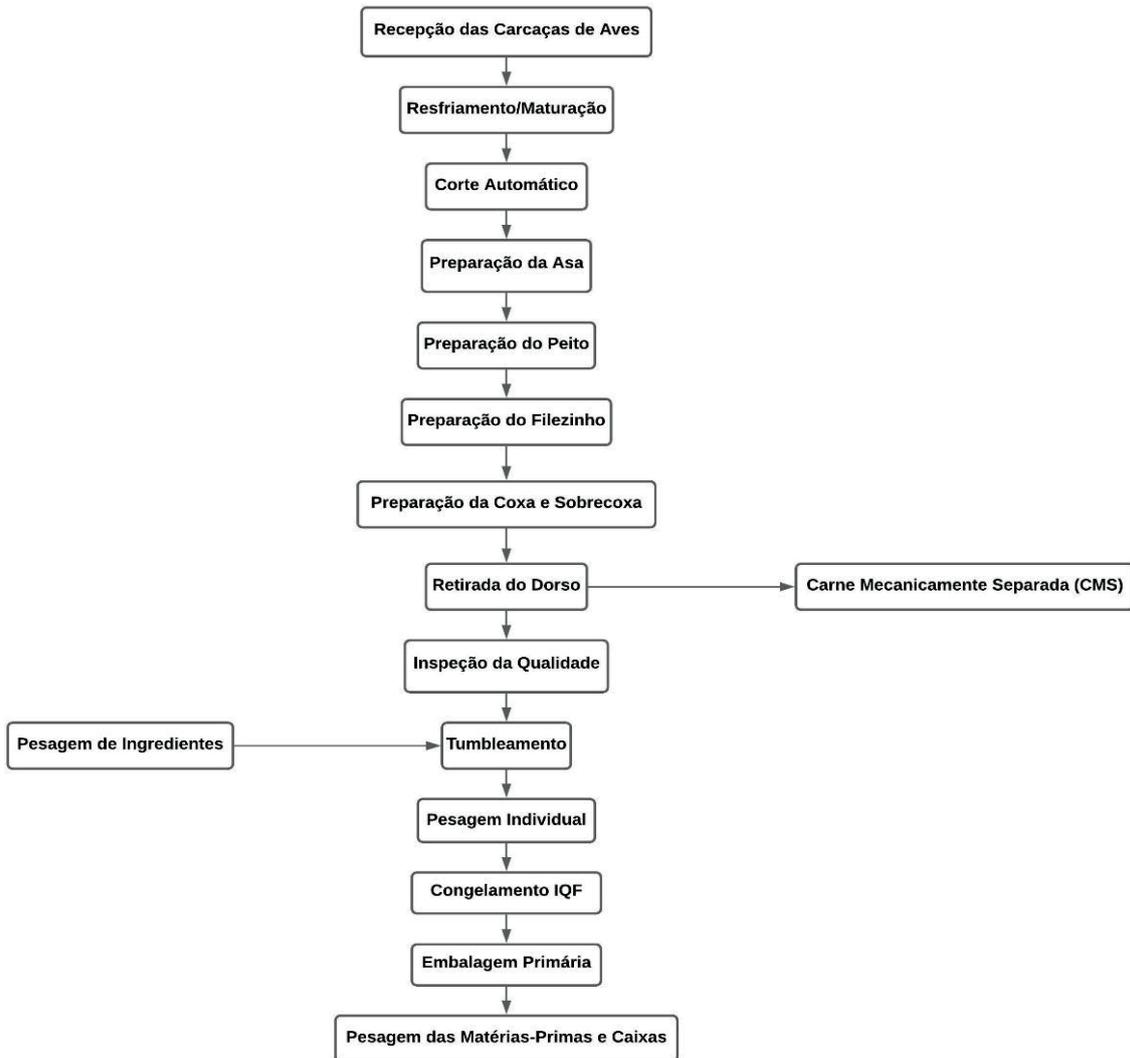
Expedição e Transporte

Nesta etapa o produto é colocado em veículo transportador ainda nos pallets ou individualmente, esses veículos são dotados de sistema de resfriamento que deve permanecer eficiente até o momento de chegada ao porto de destino ou mercado nacional. Os veículos transportadores são constantemente monitorados/verificados quanto às suas condições de higiene e sua cadeia de frio.

Cortes Resfriados/Congelados de Frango in natura/Maturados/Preparados

Para a produção dos cortes e demais produtos compreendidos neste item, as operações de abate e pré-abate sofrem o mesmo processamento/fluxograma já descritos. As operações específicas seguem o fluxograma abaixo (Figura 2), e suas etapas são descritas na sequência.

Figura 2. Fluxograma geral de produção de cortes.



Recepção das Carcaças de Frango

As carcaças destinadas a produção de cortes ou à desossa são enviadas à sala de cortes por nóreas específicas: primeiramente as carcaças são segregadas pelo sistema de pesagem dinâmica, e caem da linha em uma calha condutora para que sejam rependuradas nas linhas automáticas Stork e serem processadas imediatamente, ou ainda, podem ser colocadas em contentores caixas na câmara de resfriamento para posterior processamento (maturação). O tempo e a temperatura de maturação são monitorados pelo PC (B).

Resfriamento/Maturação

Para a fabricação de produtos maturados, as carcaças permanecem na câmara de resfriamento a 4 °C por um período de, no máximo, 72 horas. Pelo PC (B), as caixas são identificadas individualmente contendo a hora de entrada na câmara. O PCC2M (B) exige que o produto retorne a 4 °C em 4 horas a partir da saída da câmara de resfriamento/maturação.

Corte Automático

Processo realizado pelas linhas automáticas (Stork), que seguem as etapas: corte da asa, do peito, retirada do filezinho, corte da coxa e sobrecoxa.

Preparação da Asa

O corte da asa se dá automaticamente, nas articulações, conforme programação prévia. Pode-se fabricar asa inteira, meio da asa, ponta da asa, etc., conforme a especificação do cliente.

Preparação do Peito

O corte do peito se dá automaticamente. O peito, depois de sofrer segregação do restante da carcaça, cai em uma calha que o direciona para as filetadoras, onde é realizada a retirada da pele e desossa. Após, o peito cai em esteira transportadora que o direciona aos funcionários que realizam o corte conforme o código/especificação do cliente e ainda sofre avaliação de qualidade pelos inspetores do PC (F).

Preparação do Filezinho

É removido juntamente com o peito e segue para gramaturação e inspeção da qualidade.

Preparação da Coxa e Sobrecoxa

Após o corte automático do peito, a carcaça segue nas linhas automáticas e é realizado o corte automático somente das coxas ou sobrecoxas, ou ainda coxa e sobrecoxa, ou coxa e sobrecoxa com dorso (conforme programação prévia). Cada um desses cortes poderá cair em calha para corte específico ou desossa conforme especificação do cliente.

Retirada do Dorso

O dorso restante é enviado para a fabricação de CMS ou para subprodutos.

Inspeção da Qualidade

É a inspeção visual e tátil onde são desclassificados os cortes com hematomas, cartilagens, ossos e dimensões fora dos padrões pré-estabelecidos para cada código em particular. Estes cortes, que foram desclassificados no quesito qualidade, são colocados em bacias azuis para posterior reprocesso ou são colocados em caixas vermelhas para serem encaminhados ao setor de subprodutos.

Pesagem de Ingredientes

Nesta etapa o produto e os ingredientes são pesados de acordo com uma formulação específica.

Tumbleamento

Os ingredientes e o produto, anteriormente pesados, são colocados em um tumbler, a vácuo. Rotações por minuto (rpm) e o tempo de tumbleamento são ajustados conforme a especificação do cliente. A temperatura da salmoura não deve ultrapassar 3 °C e a temperatura do produto após o tumbleamento deve ser de no máximo 4 °C, ambas controladas pelo PC (B). Após cada preparo, amostras são coletadas para fim de verificação do teor de sal e o produto somente será liberado após estes resultados comprovarem a conformidade com a especificação.

Pesagem Individual

Os cortes que possuem padrões de peso são individualmente pesados com o auxílio de balanças mensalmente calibradas e diariamente verificadas (com pesos padrões calibrados). Esta etapa para produto tumbleados acontece antes do tumbleamento.

Congelamento IQF

Este método de congelamento proporciona que cada peça seja congelada individualmente (*Individual Quick Freezing*) através de um túnel de congelamento (Girofreezer) com esteira, onde cada peça é disposta individualmente. O tempo do processo varia de acordo com a matéria-prima e esta etapa nem sempre ocorre, dependerá da especificação de determinado produto/código.

Embalagem Primária

Os cortes são então pesados em uma embalagem primária, que pode ser saco de polietileno de baixa densidade (selados a vácuo por resistência elétrica ou não e devidamente identificados/rotulados de acordo com a especificação do cliente ou código do produto) ou embalados com filme entrefolhado. Para alguns produtos específicos, os pacotes são enviados para sala de embalagem intermediária, onde são retirados das bandejas e colocados em fundo de papelão. Os produtos que são congelados em blocos seguem para essa etapa em bacias. Na saída da sala de cortes estes produtos devem atingir uma temperatura de no máximo 7 °C para produtos menos manipulados e 10 °C para produtos mais manipulados (desossados).

Pesagem das Matérias-Primas e Caixas

As matérias-primas seguem na esteira para o sistema de pesagem contínua (SPC) que realiza rejeição automática das caixas que estiverem fora da especificação de peso. Nesta mesma etapa as matérias-primas passam pelo detector de metais para produtos resfriados, caracterizado como PCC1 (F). Para os demais produtos o processo ocorre da mesma maneira como citado anteriormente. As etapas de Resfriamento/Congelamento, Embalagem Secundária, Estocagem e Expedição e Transporte são idênticas às etapas para produção de frango inteiro e miúdos descritas anteriormente.

Carne Mecanicamente Separada (CMS)

A CMS é a carne obtida dos ossos de frango a partir da separação por processo mecânico e também a partir de alguns recortes. O produto é composto pelas seguintes matérias-primas: dorso, pescoço, cortes do aproveitamento condicional e cortes liberados. O pescoço é proveniente da evisceração e é enviado a sala de CMS após ter passado pelo sistema de resfriamento. Os cortes liberados e condicionais são destinados a CMS após saírem do sistema de pré-resfriamento e o dorso restante dos cortes de coxa e sobrecoxa sem

dorso e do corte do peito pelas linhas automáticas Stork segue para a sala de produção de CMS. Essas matérias-primas são encaminhadas a um equipamento específico que faz a moagem, formando uma massa que segue para um equipamento chamado DB (trocaador de calor) que tem como função diminuir a temperatura da massa à 7 °C. É aí que ocorre o monitoramento do PCC1 (B).

A CMS, quando resfriada, é colocada em caixas plásticas com saco sanfonado e enviada para as demais unidades produtoras de derivados. A CMS, para ser congelada, passa pelos congeladores em placa, é então embalada em saco de polietileno e colocada em caixa de papelão onde serão registradas todas as informações referentes à rastreabilidade do produto, como ocorre nos demais produtos. Após acondicionamento, a CMS resfriada é encaminhada para a câmara de resfriamento e, quando congelada, é plastificada e colocada em pallets identificados e então é armazenada na câmara de estocagem a temperaturas inferiores a -18 °C.

Esse produto deve obedecer a um padrão de qualidade que neste caso exige teor de proteína de no mínimo 12%, gordura de no máximo 30% e teor de cálcio de no máximo 1,5% (BRASIL, 2000). Deve ser mantido congelado a -18 °C para exportação ou -12 °C para mercado interno (por até 12 meses) e resfriado a no máximo 4 °C (por até 72 horas).

■ CONCLUSÕES

Num contexto de crise econômica mundial, os anos de 2008-2010 foram marcados por uma estagnação histórica da produção mundial de aves, verificada principalmente com a estabilidade das exportações a partir do Brasil e com o retrocesso das exportações a partir dos Estados Unidos. Entretanto, nos últimos anos, segundo a Food and Agriculture Organization (FAO, 2021), o mercado mundial das aves voltou a apresentar crescimento, tendo registrado um aumento na produção de aves médio de 1,5% ao ano. Neste cenário, o Brasil destaca-se como 3º maior produtor mundial e o maior exportador de derivados de aves, responsável por cerca de 30% das exportações mundiais (FAO, 2021; USDA, 2021). Assim, a elaboração e a implementação dos planos APPCC têm se tornado, nos últimos anos, uma ferramenta de grande necessidade nas indústrias alimentícias brasileiras, com o objetivo principal de obter produtos de qualidade e com segurança alimentar, em especial nas indústrias de derivados cárneos que visam o mercado externo.

O acompanhamento do fluxograma de produção e aplicação dos Planos APPCC, com monitoramento dos PCs e PCCs no chão de fábrica, evidenciam a importância da implantação das ferramentas da qualidade nos abatedouros, bem como a necessidade de treinamento para todos os funcionários envolvidos nas diversas etapas do processamento para garantia de um produto de alta qualidade e segurança.

■ REFERÊNCIAS

1. ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 14900: Sistema de gestão da análise de perigos e pontos críticos de controle - Segurança de alimentos**. ABNT Digital, 28 de outubro de 2002.
2. ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR ISO 9001: Sistemas de gestão da qualidade – Requisitos**. ABNT Digital, 30 de outubro de 2015.
3. ARRUDA, G. A. **Manual de boas práticas: unidades de alimentação e nutrição**. 2. ed. São Paulo: Ponto Crítico, 2002.
4. BERTOLINO, M.T. **Gerenciamento da qualidade na indústria alimentícia**. Porto Alegre: Artmed, 2010.
5. BRASIL. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre **Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação**. Diário Oficial da União, Poder Executivo, de 16 de setembro de 2004.
6. BRASIL. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 43, de 1 de setembro de 2015. Dispõe sobre **Prestação de serviços de alimentação em eventos de massa**. Diário Oficial da União, Poder Executivo, de 2 de setembro de 2015.
7. BRASIL. MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Portaria nº 46 de 10 de fevereiro de 1998. Institui o **Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle – APPCC**. Diário Oficial da União, Brasília, 16 de março de 1998.
8. BRASIL. MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução normativa n. 4, de 31 de março de 2000. Aprova os **Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Linguiça e de Salsicha**. Diário Oficial da União, Brasília, 5 de abril de 2000.
9. BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria nº 2914, de 12 de dezembro de 2011. **Procedimentos de controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade**. Diário Oficial da União, Brasília, 14 de dezembro de 2011.
10. BROOM, D. M. e JOHNSON, K. G. **Stress and Animal Welfare**. Dordrecht (The Netherlands): Kluwer Academic Publisher, 2000.
11. BROOM, D. M. e FRASER A. **Domestic animal behavior and welfare**. 4th ed. UK: CABI International. 2007.
12. CAMPOS, V.F. **TCQ: Controle da qualidade total (no estilo japonês)**. Belo Horizonte: UFMG, Fundação Christiano Ottoni, 1992.
13. FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Meat market review: Overview of global meat market developments in 2020**. Rome: March 2021.
14. JURAN, J. M.; GRZYNA, Frank M. **Controle da qualidade**. São Paulo: Makron, 1993. MACHADO, R. L. P. **Boas Práticas de Fabricação (BPF)**. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2015.

15. OIE. WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH. **Terrestrial Animal Health Code 2021. Section 7: Animal Welfare.** Disponível em: <https://www.oie.int/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-code-online-access/?id=169&L=1&htmfile=sommaire.htm> Acesso em: 28 de Set. de 2021.
16. OLIVO, R.; OLIVO, N. **O mundo das carnes: ciência, tecnologia & mercado.** 3. ed. São Paulo: Global Food, 2006.
17. SENAC: **As boas práticas na distribuição de alimentos II: cartilha 3.** Rio de Janeiro: SENAC/DN, 2004.
18. SENAI: **Guia para implantação de Boas Práticas de Fabricação (BPF) e do sistema APPCC.** Brasília, DF: SENAI, 2002.
19. SILVA JÚNIOR, E. A. **Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos.** 2. ed. São Paulo: Varela, 1995.
20. TERRA, N.N.; BRUM, M.A.R. **Carne e seus derivados: técnicas de controle de qualidade.** São Paulo: Nobel, 1988.
21. USDA. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Livestock and Poultry: World Markets and Trade.** USA: Foreign Agricultural Service, July 2021.

Controle de qualidade das camaras frias de armazenamento de alimentos: um relato de experiência

| **Túlio Henrique Batista da Silva**
UNICAMP

| **Vânia Silva Carvalho**
IF Goiano

| **Alex Soares do Nascimento**
UNICAMP

RESUMO

A qualidade higiênico-sanitária como fator de segurança de alimentos está sendo amplamente estudado e discutido, uma vez que as doenças transmitidas por alimentos são um dos principais fatores que contribuem para os índices de morbidade nos países da América Latina. Diversos estabelecimentos vêm se adaptando para serem capazes de minimizar os surtos alimentares que são causados por micro-organismos, e que geralmente são problemas causados por falhas nas boas práticas de produção. Assim este relato de caso realizado em uma central de produção e distribuição de alimentos, onde foi acompanhado diariamente a temperatura das câmaras de refrigeração e congelamento, garantindo que elas estivessem sempre nas especificações, uma vez que a temperatura é um fator importante para o controle microbiológico dos alimentos armazenados.

Palavras-chave: Alimentos, Micro-Organismos, Qualidade.

■ INTRODUÇÃO

Estabelecer um Sistema de Gestão de segurança de alimentos, no preparo, manuseio, armazenamento e distribuição de alimentos é uma das maneiras de garantir que alimentos cheguem até o consumidor prevenindo e evitando possíveis doenças, dado que ferramentas de controle de qualidade possam diminuir os riscos à saúde associados ao consumo de alimentos contaminados, seja de modo químico, físico ou biológico (CASTRO, 2013).

Dados da *World Health Organization* (WHO) estima que cerca de 600 milhões de pessoas sejam acometidas por doenças transmitidas por alimentos (DTA), e que tenha em torno de 420 mil mortes por ano, e ainda se acredita que este número vem aumentando no decorrer dos anos (WHO, 2019; SOUZA; SOUZA; COSTA, 2021).

Os alimentos podem ser contaminados de diversas maneiras, desde a colheita no campo ou em outra etapa da cadeia produtiva, como por exemplo, o uso de matéria-prima inadequada, refrigeração e armazenamento incorretos, processo térmico insuficiente, manipulação e preparo do alimento muito antes do consumo ou outros fatores que ocorrem quando não são adotadas condições higiênico-sanitárias (ROUGEMONT, 2007). Muitas vezes esse problema é refletido na higiene pessoal e nas condições de higienização do estabelecimento (FERRARI; FONSECA, 2019). Alguns autores sugerem que muitos casos de DTA poderiam ser impedidos, caso as medidas preventivas fossem utilizadas em toda a cadeia produtiva, entre elas, a implementação de ações voltadas para o controle de qualidade dos alimentos produzidos e a capacitação aos manipuladores de alimentos (NUNES; ARANHA; VULCANO, 2014; SORAGNI; BARNABE; MELLO, 2019).

Dentre as principais medidas, o uso do manual de Boas Práticas de Fabricação (BPF), os Procedimentos Operacionais Padronizados (POP) e o Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) são ferramentas importantes a serem adotadas nas indústrias para garantir assim a segurança e a qualidade dos alimentos (LIMA; MALINVERNO; CONDE, 2018; SANTOS *et al.*, 2020). Vale salientar que o processo de preparo de alimentos deve seguir o cumprimento de todas as medidas sanitárias estabelecidas através da RDC nº 216 de 2004 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) que determina por meio do manual de BPF e descreve as operações realizadas pelos estabelecimentos, incluindo mínimos requisitos higiênico-sanitários dos edifícios, manutenção e higienização das instalações, dos equipamentos e dos utensílios, o controle da água de abastecimento, o controle integrado de vetores e pragas urbanas, a capacitação profissional, o controle da higiene e saúde dos manipuladores, o manejo de resíduos (BRASIL, 2004).

Os principais benefícios da aplicação das BPF podem constituir um estímulo à sua adoção, considerando alguns fatores como: a obtenção de alimentos mais seguros, a redução dos custos decorrentes do recolhimento do produto no mercado, de destruição ou

reprocessamento do produto final, redução do número de análises no produto final, maior satisfação do consumidor com a qualidade do produto, maior motivação e produtividade dos funcionários, a melhoria do ambiente de trabalho, acarretando em estabelecimentos mais limpos e seguros, atendendo às legislações vigentes, nacionais e internacionais (FERRAZ, 2014).

Para garantir que um alimento seja seguro é necessário que ele atenda as legislações e que seja adotado metodologias de qualidade para a garantia de qualidade de todo o processo de fabricação, prevenindo assim as causas de contaminação física, química ou microbiológica, que podem trazer prejuízos a saúde do consumidor (LIMA; MALINVERNO; CONDE, 2018; QUINTINO; RODOLPHO, 2018).

Dessa maneira, estabelecimentos que produzem ou comercializam produtos alimentícios vêm se preocupando cada vez mais em aperfeiçoar técnicas que garantam a qualidade e a segurança dos alimentos (DEVIDES, 2014).

■ RELATO DE CASO

A Central de Produção e Distribuição de Alimentos (C.P.D.A), está situada dentro de uma empresa do setor de hotelaria e turismo localizado no estado de Goiás. Sendo responsável pelo processamento e distribuição de todas as refeições que são servidas nos hotéis e nos parques. Dentro da C.P.D.A, as áreas são divididas em: sala de nutrição, padaria, confeitaria, cozinha quente, *gardmanger*, higienização das hortaliças, produção de massas folhadas, produção de frios e sanduíches, produção de pizzas, produção de sorvetes, copa de salgados, sala de cortes cárneos 1, 2 e 3, estoque primário, estoque secundário, área de expedição de pães, expedição dos alimentos e transporte. Cada área opera de acordo com a sua necessidade de produção e, assim são produzidos os alimentos, para atenderem às demandas dos hotéis e parques, sempre servindo o hóspede com alimentos de boa qualidade.

Um dos principais pontos críticos de controle são as câmaras frias de armazenamento dos produtos, uma vez que a temperatura é um fator importante relacionado ao crescimento de micro-organismos, e a refrigeração ou congelamento tem como um dos benefícios reduzir o crescimento de micro-organismos. Nesse sentido, sempre ao início e final do dia, era avaliada a temperatura das câmaras frias e outros recipientes que armazenavam os alimentos na C.P.D.A. No total são 12 câmaras frias, 2 refrigeradores e 1 geladeira.

Cada câmara fria é específica para cada tipo de alimento, e o grupo ainda possui as câmaras de refrigeração com temperatura de 0 °C a 4 °C e as câmaras de congelamento com temperatura de -18 °C a -23 °C. As aferições foram realizadas por um termômetro à laser, e era sempre aferido em vários pontos das câmaras frias, para uma melhor precisão, e resultado eficaz. Na Tabela 1, apresentada abaixo, segue a relação da câmara, faixa de temperatura e tipos de alimento armazenado.

Tabela 1. Relação de câmara fria, alimentos armazenados e especificação das temperaturas.

Nº da câmara	Tipo de alimentos estocados	Faixa de temperatura
9	Cortes de Carnes de vaca refrigeradas.	0 °C a 4 °C
10	Pescados, Aves e temperos.	0 °C a 4 °C
12 A	Embutidos, Leites, Massas, frutas e verduras.	0 °C a 4 °C
12 B	Pratos frios prontos, Saladas e Frios.	0 °C a 4 °C
13	Pães de queijo congelados.	-18 °C a -23 °C
14	Recheios, Frutas, Cremes diversos.	0 °C a 4 °C
15	Tortas e bolos congelados, Doces e polpas.	-18 °C a -23 °C
16	Tortas, bolos, pudins, e produtos confeitados.	0 °C a 4 °C
17	Pizzas congeladas, sorvetes, salgados, molhos e saladas congeladas.	-18 °C a -23 °C
Câmara A	Carnes Congeladas.	-18 °C a -23 °C
Câmara B	Molhos e Massas.	0 °C a 4 °C
Câmara D	Produtos que passavam pelo processo Cook chill	0 °C a 4 °C
Câmara E	Produtos do refeitório, Leite, Bolos e frutas.	0 °C a 4 °C
Sanduiches 1	Armazenamento de frios	2 °C a 5 °C
Sanduiches 2	Armazenamento de frios	2 °C a 5 °C
Gel. Sorvetes	Sorvetes e coberturas	-10 °C a -17 °C

Fonte: elabora pelos autores (2021).

■ DISCUSSÃO

As medidas foram anotadas em planilhas e, quando a temperatura estava fora do padrão estipulado, era necessário verificar o problema e, em alguns casos, acionar a manutenção urgente ou mover os alimentos para outra câmara disponível, para não haver perdas ou contaminação nos alimentos. E quando se trata da segurança de alimentos, a refrigeração e o congelamento são bastante importantes e estão intimamente ligados.

Alimentos perecíveis, incluindo frutas, vegetais, laticínios, carnes e peixes, precisam ser mantidos resfriados ou congelados ao longo de toda a cadeia de abastecimento. Não manter os alimentos perecíveis na faixa de temperatura desejada, devido à refrigeração insuficiente, pode estimular o crescimento de patógenos e micro-organismos deteriorantes, tornando o produto não comestível (MERCIER *et al.*, 2016). Para isso, se fazia o controle rigoroso das câmaras frias, garantindo que estivessem em condições adequadas para a estocagem dos alimentos.

O princípio da conservação pelo frio consiste em reduzir e manter a temperatura dos alimentos de forma que seja interrompido ou reduzido de forma significativa a taxa de ocorrência de alterações prejudiciais nos alimentos. Essas alterações podem ser microbiológicas, fisiológicas, bioquímicas e/ou físicas (JAMES; JAMES, 2014). Assim, é importante que os estabelecimentos de produção e distribuição de alimentos tenham uma cadeia de frios em bom funcionamento para garantir o mínimo possível de perdas, e que se mantenha a

qualidade microbiológica dos produtos e, nesse sentido, a C.P.D.A possui uma cadeia bem estruturada, sendo capaz de atender a essas necessidades.

■ CONCLUSÃO

A cadeia de frios representa uma importante barreira microbiológica para assegurar a qualidade dos alimentos, impedindo a deterioração dos mesmos quando estão expostos em temperatura ambiente por muito tempo. Nesse sentido, a central de produção e distribuição de alimentos apresenta uma boa estrutura, e nenhum problema relacionado as câmaras foi observado durante o período de experiência do estudo.

■ AGRADECIMENTO

Os autores agradecem a empresa e o setor da C.P.D.A pela oportunidade de realização deste trabalho.

■ REFERÊNCIAS

1. BRASIL. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Resolução de Diretoria Colegiada nº 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 2004.
2. CASTRO, R. S. D. **Boas Práticas de Fabricação (BPF), Análise de Tomate e Água em Restaurantes da Cidade de Botucatu-SP**. 2013. 78 f. Tese (Doutorado em Agronomia), Faculdade de Ciência Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista - UNESP. Botucatu - São Paulo.
3. DEVIDES G. G. G.; MAFFEI D. F.; CATANOZI M. P. L. M. Perfil socioeconômico e profissional de manipuladores de alimentos e o impacto positivo de um curso de capacitação em Boas Práticas de Fabricação. **Revista Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 17, n. 2, p. 166-176, 2014.
4. FERRARI, A.; FONSECA, R. Conhecimento de consumidores a respeito de doenças transmitidas por alimentos. **Unesc em Revista**, v. 3, n. 1, p. 1-12, 2019.
5. FERRAZ R. R. N.; CANASSA M.; BARNABÉ A. S.; FORNARI J. V. Avaliação do conhecimento de manipuladores de alimentos sobre as boas práticas de fabricação em um supermercado do interior do estado de São Paulo como indicador para melhoria na gestão de pessoas. **Revista dos metrados profissionais RMP**, Pernambuco, Volume 3, número 1, jan./jun. 2014.
6. JAMES, S. J. AND JAMES, C. Chilling and Freezing of Foods. **Food Processing: Principles and Applications**, Second Edition. Edited by Stephanie Clark, Stephanie Jung, and Buddhi Lamsal. Published 2014.

7. LIMA, C.; MALINVERNO, E.; CONDE, S. R. Conhecimento sobre boas práticas de fabricação em duas unidades de alimentação e nutrição hospitalar. **Revista UNINGÁ**, Maringá, v. 55, n. 1, p. 1-11, 2018.
8. MERCIER, S.; VILLENEUVE, S.; MONDOR, M. AND UYSAL, I. Time–Temperature Management Along the Food Cold Chain: A Review of Recent Developments. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 16, 2017.
9. NUNES C. N. M.; ARANHA F. Q.; VULCANO D. S. B. Implantação dos Procedimentos Operacionais Padronizados (POPs) de higienização e desinfecção dos equipamentos e utensílios em uma Unidade de Alimentação e Nutrição Hospitalar. **Revista Simbio-Logias**, Botucatu, v. 7, n. 10, p. 34-48, 2014.
10. QUINTINO, S. da S.; RODOLPHO, D. Um estudo sobre a importância do APPCC – Análise de perigos e pontos críticos de controle – na indústria de alimentos. **Revista Interface Tecnológica**, v. 15, n. 2, p. 196-207, 2018.
11. ROUGEMONT, A. J. Alimentos seguros - necessidade ou barreira comercial? **Perspectivas Online**, Campos dos Goytacazes, v. 1 n.º. 2 p. 62-70, 2007.
12. SANTOS, W. B. M. dos; COSTA, W. dos S. da; SOUZA, R. G. de; FEITOSA, T. J. de O.; PINTO, A. U.; OLIVEIRA, B. C. de; ARAÚJO, M. S.; CARVALHO, J. D. G. Analysis of good manufacturing practices in the production of rennet cheese in artisanal dairy located in the Center-South Region of Ceará. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. e22973504, 2020.
13. SORAGNI, L.; BARNABE, A. S.; MELLO, T. R. C. Doenças transmitidas por alimentos e participação da manipulação inadequada para sua ocorrência: uma revisão. **Estação Científica (UNIFAP)** Macapá, v. 9, n. 2, p. 19-31, 2019.
14. SOUZA, J. F.; SOUZA, A. C. F.; COSTA, F. N. Retrospective study of outbreaks of foodborne diseases in the Northeast and State of Maranhão, from 2007 to 2019. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 1, p. e36010111728, 2021.
15. WHO - World Health Organization. **World health statistics 2019: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals**. Geneva, 2019.

Análise microbiológica de lanches vendidos em torno de um hospital público em Belém - PA

| **Márlia Barbosa Pires**

ESAMAZ

| **Natalia do Socorro Gomes Rodrigues**

ESAMAZ

| **Yasmin Bentes Pinto**

ESAMAZ

| **Clíssia Renata Loureiro Croelhas**

ESAMAZ

RESUMO

A comercialização de alimentos por vendedores ambulantes, no entorno de hospitais, vem apresentando um aumento significativo, por ser considerada uma alternativa rápida, prática e de baixo custo. Embora seja uma opção conveniente, os riscos de Doenças Veiculadas por Alimentos (DVA's) são evidentes. Objetivo: analisar se os lanches vendidos se encontravam apropriados para o consumo através de análises microbiológicas e aplicação de *checklist* de forma que fosse possível identificar a qualidade e obter as informações necessárias sobre as condições higiênicas e sanitárias de manipulação. Métodos: foram coletadas amostras em dois pontos comerciais distintos localizados em torno de um hospital público em Belém do Pará. A amostragem foi constituída de salgados fritos e assados em cada estabelecimento, posteriormente as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos esterilizados, etiquetados e armazenados sob congelamento. Foram realizadas análises microbiológicas através do método descrito pela APHA a fim de detectar a presença de micro-organismos anaeróbios em (UFC/g), *Staphylococcus* coagulase positiva, coliformes totais e coliformes termotolerantes a 45 °C (NMP/g). Resultados: os resultados das análises dos lanches indicaram que todos os pontos comerciais analisados apresentaram qualidade insatisfatória, tanto do aspecto microbiológico quanto das condições higiênicas e sanitárias dos manipuladores. Conclusão: a pesquisa demonstrou a importância da análise da qualidade dos alimentos comercializados para a manutenção das boas condições higiênico sanitárias e de boas práticas de fabricação para que esses não sofram nenhum tipo de contaminação que possam vir a causar danos à saúde do comensal.

Palavras-chave: Análise Microbiológica, Lanches, Manipulação.

■ INTRODUÇÃO

A análise microbiológica de alimentos é utilizada para diversos fins e tem como objetivo identificar a presença de micro-organismos patogênicos ou substâncias químicas que possam causar danos à saúde do comensal. As Doenças Transmitidas Por Alimentos (DTA's) são uma das causas de mortalidade e morbidade no Brasil e no mundo e, são vários os fatores que podem levar a contaminação de um alimento (BRASIL, 2019).

O avanço da globalização impactou diretamente na cultura alimentar da população gerando inúmeras mudanças na alimentação urbana. Alguns fatores como ausência de tempo para realizar compras e preparar o alimento em casa e locais disponíveis para alimentação fizeram com que o indivíduo buscasse uma forma mais rápida e prática de se alimentar, sejam elas por meio dos *fast food* ou dos alimentos comercializados nas vias públicas (GARCIA, 2003).

A comercialização de alimentos em torno de hospitais públicos por vendedores ambulantes é uma prática comum em muitas cidades e vem aumentando cada vez mais devido a globalização e a mudança de hábitos de vida por ser considerada uma alternativa de baixo custo, flexível, além de ser prática levando em consideração que muitos são trabalhadores que não dispõem de tempo para preparar a sua refeição ou alimenta-se em suas residências (SOUZA *et al.*, 2015).

No processo de manipulação e comercialização de alimentos sabe-se que é de extrema importância que medidas de segurança sejam adotadas em todos os processos da produção para que possa ser garantida a qualidade do produto que será colocado para consumo. Dessa forma, se faz necessário algumas medidas, como a lavagem das mãos e de hortifrúti, desinfecção de superfícies e utensílios utilizados, armazenamento de carnes respeitando a temperatura ideal, entre outros (BRASIL, 2019). Nesse contexto, objetivou-se analisar a qualidade de lanches comercializados em torno de um hospital público de Belém - Pará, bem como fazer uma análise situacional do ambiente de manipulação desses alimentos.

■ MATERIAL E MÉTODOS

Local de realização do estudo

As amostras foram coletadas em Belém do Pará, no período de fevereiro de 2021 a março de 2021. A pesquisa foi realizada na Escola Superior da Amazônia (ESAMAZ).

Metodologia de coleta de amostra

Foram utilizadas amostras coletadas em dois pontos comerciais distintos, localizados em torno de um hospital público em Belém, a amostragem foi constituída de salgados comercializados nos mesmos, sendo um salgado frito e um salgado assado em cada estabelecimento previamente determinado, posteriormente foram as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos esterilizados, etiquetados. Posteriormente, foram transportadas em recipiente isotérmico, acompanhados de lista de verificação preenchida com nome do estabelecimento, data, hora e método da colheita. As amostras foram mantidas sob refrigeração entre 0 e 4 °C até a realização das análises microbiológicas.

Análises microbiológicas

As amostras foram submetidas a análise de *Staphylococcus* coagulase positiva, bactérias anaeróbicas em unidades formadoras de colônias (UFC/g) e coliformes totais e coliformes termotolerantes a 45 °C em Número Mais Provável por grama da amostra (NMP/g), de acordo com os métodos descritos pela APHA (2001). As amostras foram comparadas aos padrões estabelecidos pela RDC nº 331 e IN 60, ambas de 23/12/2019 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2019).

■ RESULTADOS E DISCUSSÃO

Checklist

Após análise do *checklist*, observou-se que não houve diferença entre os aspectos avaliados em ambos os pontos comerciais. Dos 22 itens avaliados no *checklist* realizados nos pontos de comercialização, os percentuais de não-conformidades (NC) gerais foram iguais a 72,73% para ambos (Tabela 1), desses itens, 6 eram definidos como críticos para o controle higiênico sanitário, desses 66,67% foram determinados como não conformes.

Tabela 1. Percentual de não-conformidades (NC) encontradas baseado no *checklist* aplicado nos pontos comerciais de lanche comercializados ao entorno de um Hospital de Belém - PA.

ASPECTOS GERAIS AVALIADOS	QUANTIDADE TOTAL DE ITENS	QUANTIDADE TOTAL DE NC	% DE NC ENCONTRADAS
Recursos humanos	10	8	80
Condições ambientais	2	1	50
Instalações, edificações e saneamento	6	4	66,67
Higienização	4	3	75
Total	22	16	72,73

Fonte: elaborada pelos autores (2021).

Foi possível observar que enquanto os manipuladores manuseavam os alimentos, mesmo usando a proteção, evitaram falar sobre os alimentos. Porém, quando não estão manipulando, ficam conversando sem máscaras, o que oferece risco de contaminação para o alimento, aspectos avaliados conforme (ver Tabela 2). Outro ponto importante é que apesar de não ter um uniforme padronizado em cor clara, eles sempre estão com uma vestimenta limpa e conservada que é trocada diariamente.

Nos dois pontos comerciais analisados, os manipuladores eram homens e trabalhavam sozinhos. Foi possível identificar que as boas práticas de higiene não eram cumpridas de forma correta, pois, no ponto comercial 1 e 2 os manipuladores tinham os cabelos e a barba comprida e, não estavam protegidos de forma correta e o manipulador do ponto comercial 1 utilizava utilizando adorno, aspectos avaliados como não conforme (ver Tabela 2).

Tabela 2. Distribuição de conformidades na análise geral de recursos humanos no *checklist* aplicado nos pontos comerciais de lanche comercializados ao entorno de um Hospital de Belém - PA.

ASPECTOS AVALIADOS CONFORMES	ASPECTOS AVALIADOS NÃO CONFORMES
Os manipuladores evitam comportamentos, atitudes e gestos (fumar, tossir sobre os alimentos, cuspir etc.) incorretos durante a manipulação; * Os uniformes encontram-se limpos, conservados e são trocados diariamente;	Os manipuladores apresentam higiene corporal adequada, cabelos protegidos, unhas curtas, limpas e sem esmalte, proibição do uso de adornos (brincos, anéis, pulseiras); * Os manipuladores do sexo masculino apresentam-se barbeados e com bigodes (quando for o caso) aparados; Os procedimentos de higienização das mãos encontram-se escritos e disponíveis em lugar visível aos funcionários; Os manipuladores executam a higienização correta das mãos nos momentos e de forma adequada; * Cuidados ao manipular dinheiro durante o preparo e venda dos produtos; Os manipuladores utilizam uniformes adequados para as atividades executadas, completos e de cores claras; Os manipuladores usam aventais adequados e específicos para a atividade em execução; Os manipuladores possuem os EPI's adequados para a atividade que executam

*Aspectos críticos analisados.

Fonte: elaborada pelos autores (2021).

Não foi possível identificar nenhum Procedimentos Operacionais Padronizados (POP) para higienização das mãos, uma vez que, também, não é possível fazê-la, pois não havia pia, água e detergentes disponíveis. Os manipuladores não apresentaram nenhum tipo de cuidado ao manipular o dinheiro e, logo após, não houve higiene das mãos, não utilizavam uniformes adequados, completos e de cores claras. A vestimenta era comum do uso diário. Além disso, os manipuladores possuem, apenas, um dos equipamentos de proteção individual (EPI's) necessário para a atividade, a máscara e ainda assim, não utilizavam de forma correta. Já a distribuição de conformidades na análise dos aspectos gerais de condições ambientais encontra-se na Tabela 3.

Tabela 3. Distribuição de conformidades na análise dos aspectos gerais de condições ambientais no *checklist* aplicado nos pontos comerciais de lanche comercializados no entorno de um Hospital de Belém - PA.

ASPECTOS AVALIADOS CONFORMES	ASPECTOS AVALIADOS NÃO CONFORMES
Acesso ao ponto comercial é direto e independente*	Os arredores do ponto comercial estão livres de sucatas, fossas, lixo, terra, poeira, animais (inclusive insetos e roedores), inundações e outros contaminantes*

*Aspectos críticos analisados.

Fonte: elaborada pelos autores (2021).

Aspectos avaliados como conforme as vias de acesso são diretas e independentes, pois, se trata de uma via pública, entretanto, há um fluxo intenso de veículos e pessoas, logo há sempre poeira, areia, insetos e pombos. Um agravante para uma possível contaminação de alimentos. Já a distribuição de conformidades na análise dos aspectos gerais de instalações, edificações e saneamento encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4. Distribuição de conformidades na análise dos aspectos gerais de instalações, edificações e saneamento no *checklist* aplicado nos pontos comerciais de lanche comercializados ao entorno de um Hospital de Belém - PA.

ASPECTOS AVALIADOS CONFORMES	ASPECTOS AVALIADOS NÃO CONFORMES
Higiene e conservação da estrutura do ponto comercial (carro adaptado, carrinho e similares).	Os recipientes para lixo são mantidos devidamente higienizados, após a remoção do lixo, são transportados e removidos de forma e com frequência adequada*
Condições de higiene e conservação dos equipamentos	O lixo externo é mantido em área que não oferece risco de acesso a pragas e animais e isolado das áreas de produção e estoque e recolhido com frequência adequada Recipiente de lixo com tampa. Há água disponível para lavagem de utensílios

*Aspectos críticos analisados.

Fonte: elaborada pelos autores (2021).

As condições de higiene e conservação dos equipamentos aparentemente em perfeito estado de conservação. Entretanto, não foi possível identificar nenhum recipiente apropriado para o descarte de lixo. Não havia água disponível para higienização de utensílios e das mãos. Os riscos dessa prática podem provocar sérios problemas de saúde pública, pois os micro-organismos podem ser encontrados facilmente no ambiente de circulação do ser humano que vai desde uma simples infecção, até infecções mais graves, como pneumonia, meningite, entre outras patologias. (SANTOS *et al.*, 2007). A distribuição de conformidades na análise dos aspectos gerais de higienização encontra-se na Tabela 5.

Tabela 5. Distribuição de conformidades na análise dos aspectos gerais de higienização no *checklist* aplicado nos pontos comerciais de lanche comercializados ao entorno de um Hospital de Belém - PA.

ASPECTOS AVALIADOS CONFORMES	ASPECTOS AVALIADOS NÃO CONFORMES
O manipulador faz uso correto de máscara.	O manipulador faz uso de touca O manipulador faz uso de luvas Há álcool em gel disponível no ponto comercial.

*Aspectos críticos analisados.

Fonte: elaborada pelos autores (2021).

Observou-se durante a manipulação o uso correto da máscara, porém após a entrega do lanche o manipulador a retirava, podendo causar danos a sua saúde e a do próximo. Sabe-se que o vírus da Covid-19 é altamente transmissível por gotículas de saliva e secreção, permanecendo ativo em superfícies, com duração variada e alto risco de transmissão, acometendo de forma mais grave idosos e indivíduos com comorbidades; diabetes, hipertensão e imunodeprimidos (BRASIL, 2020).

O manipulador não fez uso de luvas para pegar o salgado, não utilizou álcool em gel antes e nem depois, teve contato diretamente com consumidor e com o dinheiro. Em meio à pandemia da Covid-19, sabe-se da importância da higienização das mãos com água e sabão e, quando esse não for possível, utilizar o álcool em gel como meio de higiene, mesmo assim, não foi adotado por nenhum dos estabelecimentos avaliados. Essas medidas podem ser adotadas tanto para a prevenção da Covid-19, quanto para evitar a contaminação por outros micro-organismos patogênicos, como observaremos na tabela a seguir dos resultados das análises microbiológicas.

Análises microbiológicas

Após a realização do *checklist*, as amostras de lanche coletadas foram encaminhadas para o laboratório de Microbiologia da Escola Superior da Amazônia (ESMAZ). Foram realizadas análises microbiológicas a fim de detectar se nas mesmas havia a presença dos seguintes micro-organismos: bactérias anaeróbicas (UFC/g), *Staphylococcus* coagulase positiva (ausência ou presença), coliformes totais e coliformes termotolerantes a 45 °C (NMP/g). A Tabela 6 apresenta os resultados referentes às análises microbiológicas.

Tabela 6. Resultados das análises microbiológicas

Grupo microbiano	Salgado assado Ponto 1	Salgado assado Ponto 2	Salgado frito Ponto 1	Salgado frito Ponto 2	PADRÃO*
Coliformes totais (NMP/g)	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	10 ³ /g (máx.)
Coliformes termotolerantes (NMP/g)	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	10 ² /g (máx.)
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva em 25 gramas da amostra	Presente	Presente	Ausente	Presente	Ausente
Bactérias anaeróbicas (UFC/g)	> 25 ± 0,01 ^b	492 ± 0,01 ^a	> 25 ± 0,01 ^b	> 25 ± 0,01 ^b	Limite para contagem padrão em placa 1 x10 ⁶ UFC/g

*RDC nº 331 e IN 60 ANVISA (BRASIL, 2019). Letras diferentes entre as colunas indicam diferença estatística a nível de 5%.

Fonte: elaborada pelos autores (2021).

Segundo a RDC nº 331 e IN 60 (BRASIL, 2019) são necessárias boas condições higiênicas sanitárias e de boas práticas de fabricação para que os alimentos não sofram nenhum tipo de contaminação que possa vir a causar danos a sua saúde. Os resultados das análises

dos lanches indicaram que todos os pontos comerciais analisados apresentaram qualidade microbiológica insatisfatória, tornando-os impróprios para o consumo. Como apresentado na Tabela 7, não foi encontrado coliformes totais e termotolerantes nas amostras.

Os coliformes são subdivididos em dois grupos: totais (Coliformes a 35 °C), os quais são oriundos do ambiente e utilizados como indicadores da qualidade higiênica, e termotolerantes (Coliformes a 45 °C) que são provenientes de uma contaminação fecal e usados como indicadores de qualidade sanitária dos alimentos (BERBICZ, 2010).

Portanto, é possível observar que segundo os resultados obtidos nesta análise a falta de higiene na manipulação de alimentos não é um problema identificado. Entretanto, a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva em 75% (Figura 1) nos alimentos analisados, indica falta de higiene na manipulação.

Estes resultados são importantes, pois o *Staphylococcus* spp. é uma bactéria Gram-positiva, podendo ser encontrada com frequência em ambientes de circulação humana, sendo o homem o seu principal reservatório já que a bactéria pode estar presente em diversas partes do corpo. As narinas possuem o maior índice de colonização e a prevalência é de cerca de 40% na população adulta (SANTOS *et al.*, 2007).

Essa bactéria pode provocar doenças, que vão desde uma infecção simples como por exemplo; espinhas, furúnculos e celulites até graves infecções; pneumonia, meningite, síndrome do choque tóxico, septicemia, entre outras (SANTOS *et al.*, 2007). Pode-se afirmar que esta bactéria é potencialmente patogênica e está, frequentemente, associada a Doenças Veiculadas por Alimento (DVA's).

Ao identificarmos a presença de *Staphylococcus* spp. nos alimentos analisados no presente trabalho, pode-se afirmar que algumas regras de higiene não foram seguidas à risca pelos manipuladores, como por exemplo: higiene pessoal, principalmente das mãos, adequadas; utilização adequada dos equipamentos para manipulação de alimentos e limpeza das superfícies e utensílios.

Com relação a presença de micro-organismos anaeróbios foi identificada somente no ponto comercial 2, no salgado assado (representando 25% das detecções), entretanto, não existiram contagens de colônias significativas, ou seja $\leq 1 \times 10^6$ UFC/g.

■ CONCLUSÃO

Entre os quatro micro-organismos analisados, somente dois, coliformes totais e termotolerantes a 45°C, não foram detectados nas amostras indicando, assim, qualidade microbiológica insatisfatória, Considerando-os como impróprios para o consumo. Dessa forma, na perspectiva de uma análise situacional do problema e visando medidas corretivas para a redução do risco de contaminação, faz-se necessário o uso correto de EPI's, sem uso de

adornos e esmalte, unhas e barba curtas, além da higienização correta das mãos, utensílios e cuidado ao manipular dinheiro.

Outrossim, a avaliação da manipulação, do preparo e da distribuição de acordo com as recomendações da RDC nº 216, demonstrou que, no geral, não houve diferenças significativas entre os pontos comerciais a respeito dos aspectos avaliados, isso foi constatado, pois, os percentuais de não conformidades gerais foram iguais a 72,73% para ambos. Ademais, a partir das especificações das qualidades da lista de verificação, *checklist*, foi possível observar, por exemplo, nos tópicos condições ambientais, instalações, edificações e saneamento e higienização uma negligência por parte do manipulador de alimentos, que por sua vez, não executava as boas práticas de manipulação de forma correta, ocasionando assim a contaminação do alimento.

Portanto, a pesquisa demonstrou a importância da análise da qualidade dos alimentos comercializados para a manutenção das boas condições higiênico sanitárias e de boas práticas de fabricação para que esses não sofram nenhum tipo de contaminação que possam vir a causar danos à saúde do comensal. Visto que a manipulação de alimentos em locais públicos apresenta um grande risco, pois as suas estruturas desafiam a segurança microbiológica, intensificando as recomendações de higienização das mãos e o uso de EPI's.

■ REFERÊNCIAS

1. BRASIL Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da diretoria colegiada – RESOLUÇÃO - RDC Nº 331, DE 23 DE DEZEMBRO DE 2019. Aprova **Novo regulamento sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Brasília, DF: ANVISA, 2019. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-331-de-23-de-dezembro-de-2019-235332272>. Acesso em: 26 de agosto. 2021.
2. BRASIL Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da diretoria colegiada – INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 60, DE 23 DE DEZEMBRO DE 2019. **Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos**. Brasília, DF: ANVISA, 2019. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-60-de-23-de-dezembro-de-2019-235332356>. Acesso em: 26 de agosto. 2021.
3. AMSON, G. V., **Levantamento de dados epidemiológicos relativos à ocorrências/ surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) no estado do Paraná**, Brasil, no período de 1978 a 2000. Ciência Agrotec. [online], Paraná, vol.30, n.6, p.1139-1145, 2006.
4. BRASIL Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da diretoria colegiada – RDC nº 216, de 15 de Setembro de 2004. **Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação**. Disponível: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2004/res0216_15_09_2004.html. Acesso em: 10 de Out. 2020.
5. BALBANI, A.; BUTUGAN, O.. **Contaminação biológica de Alimentos. Revisão e Ensaio**, São Paulo, V. 23, n. 4, p. 320-328, 2001. Disponível em: < <http://docplayer.com.br/22376936-Contaminacao-biologica-de-alimentos.html>>. Acesso em: 12 de Nov. 2020.

6. BERBICZ, F. **Melhoria das condições de higiene em pontos de venda de cachorro-quente.** Rev. Inst. Adolfo Lutz (Impr.), São Paulo, v. 69, n. 1, 2010 . Disponível em: <http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S007398552010000100014&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 21 abril. 2021.
7. BRASIL. Lei nº 11.346, de 15 de setembro de 2006. **Cria o Sistema Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional – SISAN com vistas em assegurar o direito humano à alimentação adequada e dá outras providências.** Diário Oficial da União. Brasília, DF: Presidência da República, 2006. Disponível em:< http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2006/lei/l11346.htm> . Acesso em: 22 de Ago. 2020.
8. CARDOSO, R. de C. V.; SANTOS, S. M. C. dos; SILVA, E. O. **Comida de rua e intervenção: estratégias e propostas para o mundo em desenvolvimento.** Ciência & Saúde coletiva, Rio de Janeiro, vol. 14, n. 4, p. 1215-1224, agosto, 2009.
9. FRANCO, B. **Análise microbiológica de alimentos: importância do plano de amostragem.** 3M Food Safety, 2014. Disponível em: <<https://foodsafetybrazil.org/analise-microbiologica-de-alimentos-importancia-dopiano-de-amostragem/>>. Acesso em: 10 Ago. 2020.
10. FRANCO, C. R.; UENO, M.. **Comércio Ambulante de Alimentos: Condições Higiénico Sanitárias nos Pontos de Venda em Taubaté- SP.** Journal of Health Sciences, Londrina, Vol. 13, n. 4, p. 9-13, Julho, 2010.
11. GARCIA, R. **Reflexos da globalização na cultura alimentar: considerações sobre as mudanças na alimentação urbana.** Revista de Nutrição, Campinas, vol. 16, n. 4, p. 483- 492, Outubro, 2003.
12. LANZA, J. **Surtos alimentares no Brasil: dados atualizados em Junho de 2018.** Blog Food Safety Brasil [online], SÃO Paulo, 26 de Fevereiro de 2019. Disponível em: < <https://foodsafetybrazil.org/surtos-alimentares-no-brasil-dados-atualizadosjunho-de-2018-2/>>. Acesso em: 20 de Ago. 2020.
13. MALLON, C.; BORTOLOZO, E. A. F. Q.. **Alimentos Comercializados por Ambulantes: Uma Questão de Segurança Alimentar.** Ciências Biológicas e da Saúde [online], Ponta Grossa, v. 10, n. 4, p. 65-76, 2004. Disponível em:<<http://www.revistas2.uepg.br/index.php/biologica/article/view/402>>. Acesso em: 20 ago. 2020.
14. MANUAL MSD. **Infecções por Escherichia Coli.** Disponível em: <<https://www.msmanuals.com/pt-pt/profissional/doen%C3%A7as-infecciosas/bacilosgram-negativos/pseudomonas-e-infec%C3%A7%C3%B5es-relacionadas>>. Acesso em: 21 Out. 2020.
15. MARDEGAN, G. E. **Segurança Alimentar, sua origem e as medidas de prevenção do Brasil e Argentina.** Agosto de 2014. Disponível em: Acesso: 16 de Jun, 2021.<http://cbg2014.agb.org.br/resources/anais/1/1404153327_ARQUIVO_Glauceia_mardegan.pdf>
16. MARINHO, G. A. **Perfil Epidemiológico das Doenças Transmitidas por Alimentos e Seus Fatores Causais na Região da Zona da Mata Sul de Pernambuco.** Ciências Biológicas e da Saúde [on-line], Pernambuco, Vol.17, n. 4, p. 238-243, 2015.
17. BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Doenças transmitidas por alimentos: causas, sintomas, tratamento e prevenção.** Brasília, 2019. Disponível em: <<https://antigo.saude.gov.br/saude-de-a-z/doencas-transmitidas-por-alimentos>>. Acesso: 19 de Dez. 2020.

18. NASCIMENTO, G. A. do; BARBOSA, J. dos S.. BPF – **Boas Práticas de Fabricação: uma revisão. Higiene Alimentar**, São Paulo, V. 21, n.148, p. 24-30, Jan- Fev, 2007.
19. NEOPROSPECTA, **Por que fazer Análises Microbiológicas em Alimentos**, 14 de junho 2017. Disponível em: <<https://blog.neopropecta.com/por-que-fazer-analises-microbiologicas-em-amostras-de-alimentos>> Acesso: 16 de Jun, 2021.
20. RONCANCIO, J. B.; QUICAZÁN, C. A. N.; CÁRDENAS, A. P.. **Iniciativas, ações e políticas sobre as vendas de alimentos na via pública**. Cad. Saúde Colet., Rio de Janeiro, v. 23, n. 1, p. 17-24, 2015.
21. SANTOS, A. L. **Stapylococcus aureus: visitando uma cepa de importância hospitalar. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial [on-line]**, V.43, n 6. 2007. Disponível em: < https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S167624442007000600005>. Acesso em: 10 de ago. 2020.
22. SÃO PAULO. Lei nº 15.947 de 27 de dezembro de 2013. **Dispõe sobre as regras para comercialização de alimentos em vias e áreas públicas - comida de rua - e dá outras providências**. Diário Oficial da Cidade de SP, p. 1, n. 244.
23. SHINOHARA, N. K. S. **Boas Práticas em Serviços de Alimentação: não conformidades**. Diálogos Acadêmicos[On-line], Ceará, V. 10, n. 1, p. 79-91, JAN-JUN, 2016.
24. SHINOHARA, N. K. S. **Salmonella spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos**. Ciênc. saúde coletiva [on-line], vol.13, n.5, pp.1675-1683, 2008.
25. SILVA, S. M. R. da. **Estudo da Legislação Brasileira na Área de Alimentos Uma Abordagem Ambiental**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Meio Ambiente – Instituto de Ciências Exatas e Naturais, Universidade Federal do Pará, Belém, p. 100, 2018.
26. SOUZA, G. C. de. **Comida de rua: avaliação das condições higiênico-sanitárias de manipuladores de alimentos**. Ciência & Saúde coletiva [online], Rio de Janeiro, vol. 20, n. 8, p. 2329 – 2338, Agosto, 2015.

Influência da aplicação de irradiação por feixe de elétrons na qualidade microbiológica de filés de corvina (*Micropogonias furnieri*) refrigerados

| Carolina Cristina Colão Barcellos

| Ana Beatriz Monteiro Fonseca
UFF

| Mauro Carlos Lopes Souza
UEZO

| Robson Maia Franco
UFF

| Eliana de Fátima Marques de Mesquita
UFF

RESUMO

A adequada manipulação do pescado desde sua captura até seu processamento tecnológico, além da manutenção das condições higiênico-sanitárias, o que inclui a qualidade da água utilizada na cadeia, influencia na carga microbiana inicial apresentada. A fim de retardar o processo de deterioração, diminuir as perdas e os riscos iminentes à saúde coletiva, como a propagação de agentes etiológicos de doenças alimentares, são empregados diferentes métodos de conservação. Os feixes de elétrons são utilizados em vários países e levam à destruição dos microrganismos por alterações em suas estruturas, as quais ocorrem pela remoção de elétrons de seus átomos. Objetivou-se, no presente trabalho, contribuir para a avaliação da eficiência da irradiação por feixe de elétrons na qualidade microbiológica de filés de corvina (*M. furnieri*) refrigerados, desembarcados no município de Niterói – RJ, Brasil. Foram realizadas contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas, de bactérias heterotróficas aeróbias psicrotróficas e enumeração de *Enterococcus* spp. e, posteriormente, comparadas as amostras do grupo controle com as dos grupos irradiados a doses de 0,7 e 1,0kGy. Os peixes inteiros foram adquiridos no cais de Itaipu, filetados no mercado, embalados a vácuo e mantidos a $\pm 4^{\circ}\text{C}$. Embora não tenha sido encontrada diferença estatisticamente significativa entre os três grupos ($P > 0,05$) em nenhuma das análises, concluiu-se que o processamento utilizado foi eficaz na redução do crescimento das três bactérias pesquisadas no dia zero de ambos os grupos irradiados.

Palavras-chave: Irradiação de alimentos, *Micropogonias furnieri*, pescado, Qualidade microbiológica.

■ INTRODUÇÃO

A corvina (*Micropogonias furnieri*) (perciformes: Sciaenidae) teve sua espécie descrita originalmente por Desmarest em 1823. É um pescado importante e normalmente comercializado fresco ou salgado (Fao, 2013). Constitui uma das principais espécies capturadas no município de Niterói/RJ (Fiperj, 2011).

No pescado, a decomposição se inicia rapidamente, poucos instantes após sua morte, devido à presença de microrganismos oriundos do ambiente onde vivem, seja ele marinho ou fluvial, os quais, em sua maioria, não são patogênicos para o homem. Porém, em caso de águas poluídas por esgotos e manipulação inadequada, há maior possibilidade de ocorrência de agentes etiológicos de doenças alimentares (Riedel, 2005).

Todas as bactérias patogênicas veiculadas por alimentos são mesófilas. A contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (CBHAM) em placas é normalmente utilizada para se avaliarem as condições sanitárias do produto alimentício. Ainda que não sejam encontrados microrganismos patogênicos ou alterações sensoriais, altas contagens bacterianas em alimentos não fermentados podem causar danos à saúde coletiva (Franco e Landgraf, 2008).

Já os organismos psicrotróficos são aqueles capazes de se desenvolver em temperaturas entre 0°C e 7°C (Jay, 2005). A decomposição gerada pela presença de bactérias heterotróficas aeróbias psicrotróficas nos alimentos se justifica em especial pela capacidade que possuem de produzir proteases, lipases e fosfolipases (ICMSF, 1986).

Os *Enterococcus* spp., quando em grande quantidade em um alimento, desde que não pertençam à sua composição, demonstram problemas nas condições sanitárias ou de acondicionamento (Franco e Landgraf, 2008). A relevância do estudo desses microrganismos em produtos alimentícios se deve à possível resistência a agentes antimicrobianos, elevando as chances do aparecimento de casos de agentes etiológicos veiculados por alimentos e de infecções hospitalares (Giraffa *et al.*, 2000).

A fim de controlar o desenvolvimento desses e de outros microrganismos, o emprego dos métodos de conservação deve ser feito o mais prontamente possível, retardando a instalação da deterioração e mantendo o produto fresco por um período maior. Uma das formas de conservação utilizadas para aumentar a validade comercial de alimentos é a aplicação de radiações ionizantes, devido a sua ação na eliminação de microrganismos e na inibição de alterações bioquímicas. Uma das formas de radiação utilizada em alimentos são os feixes de elétrons, que possuem como benefício a capacidade de direcionamento dos feixes, garantindo uma aplicação homogênea (Fellows, 2006).

Objetivou-se neste estudo, por meio da contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas, de bactérias heterotróficas aeróbias psicrotróficas e do número mais provável de *Enterococcus* spp., contribuir para a avaliação da interferência da aplicação de irradiação

por feixe de elétrons na qualidade microbiológica de filés de corvina refrigerados e desembarcados no município de Niterói, Rio de Janeiro, Brasil.

■ MATERIAL E MÉTODOS

As corvinas foram adquiridas diretamente no cais de Itaipu, Niterói, Rio de Janeiro, onde ocorre o desembarque da pesca artesanal, e transportadas em caixa isotérmica contendo gelo, garantindo que fosse preservada a temperatura de refrigeração até o mercado de peixe, localizado no centro do município, onde foram filetadas. Os filés foram pesados, acondicionados em envelopes de polietileno (cada um com 100g) e transportados para a UFF, para serem embalados a vácuo, e as embalagens devidamente vedadas.

Em seguida, todas as 30 amostras, oriundas de 15 animais, foram novamente acondicionadas e transportadas para a empresa Acelétron, situada no Irajá, Rio de Janeiro, local onde 20 foram irradiadas, por meio da utilização de feixe de elétrons. Dez amostras receberam a dose de 0,7kGy e outras dez, de 1,0kGy, ficando o restante, pertencente ao grupo controle, no interior da caixa isotérmica.

Após serem irradiadas, as amostras foram devolvidas para o recipiente, para então retornarem à UFF, onde ficaram armazenadas em geladeira a $\pm 4^{\circ}\text{C}$, até o final do experimento, e onde foram realizadas as análises bacteriológicas: contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (CBHAM), contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas (CBHAP) e número mais provável (NMP) de *Enterococcus* spp. Tais análises foram realizadas sem repetições. As metodologias empregadas foram baseadas nas respectivas técnicas inseridas no “Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods”, para CBHAM e CBHAP, segundo Downes e Ito (2001), e no “Microbiology Manual Merck”, descrito por Merck (1996), para número mais provável de *Enterococcus* spp. Para análise dos resultados foram utilizadas estatística não paramétrica e estatística descritiva. Para análise não paramétrica foi empregado o teste de Kruskal-Wallis, com significância de 5%. A estatística descritiva foi utilizada para descrever o desenvolvimento dos grupos bacterianos avaliados ao longo do tempo.

■ RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme a legislação brasileira vigente, exposta em Brasil (2001), não são estabelecidos limites máximos para CBHAM e CBHAP, utilizando-se, assim, como referência a ICMSF (1986), que exhibe o limite de 10^7UFC/g .

Após avaliação das contagens de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e das contagens de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas encontradas nas amostras de

cada um dos três grupos estudados, observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos, $P = 0,259$ e $P = 0,808$, respectivamente.

Mesmo as CBHAM e as CBHAP encontrando-se altas desde as primeiras análises, somente no quarto dia, pela primeira vez, foi transcendido o limite estipulado pela legislação, apresentando o grupo controle na CBHAM o valor de $1,5 \times 10^7$ UFC/g, e a partir do 10° dia, o valor de $6,9 \times 10^8$ UFC/g na CBHAP.

Já o grupo irradiado a 0,7 só se encontrou fora dos padrões a partir do 14° dia em relação à CBHAM, com $8,4 \times 10^7$ UFC/g e, pela primeira vez, no sétimo dia, em relação à CBHAP, com $1,5 \times 10^7$ UFC/g.

Quanto às amostras irradiadas a 1,0kGy, somente no 10° dia, pela primeira vez, foi transcendido o limite estipulado pela legislação, sendo a CBHAM de $1,8 \times 10^7$ UFC/g, e a CBHAP, a partir desse mesmo dia, de $1,9 \times 10^7$ UFC/g.

Por conseguinte, verificou-se que a irradiação por feixe de elétrons, de certa forma, foi eficiente na redução da CBHAM e também da CBHAP, tanto em relação à redução encontrada no dia zero, quando comparadas as contagens do grupo controle com as dos irradiados a ambas as doses, sendo a diminuição das bactérias mesófilas mais aparente do que a das psicrotólicas, quanto em relação ao dia em que as amostras irradiadas começaram a transcender o padrão preconizado.

Ao serem comparadas as linhas de crescimento dos grupos estudados, levando em consideração a CBHAM, o grupo controle merece destaque devido a um pico apresentado do dia sete ao dia 10, destoando dos demais, sendo a maior contagem $2,7 \times 10^8$ UFC/g, seguido por um abrupto declínio até o 14° dia. O crescimento segue progressivo até o 24° dia e termina apresentando uma evidente redução, estabelecida entre o 24° e o 30° dia. Quanto às linhas dos dois grupos irradiados, quando comparadas entre si, observou-se um crescimento mais semelhante, no entanto, contagens mais altas foram identificadas no grupo irradiado a 0,7kGy. De forma geral, os valores mínimo e máximo encontrados para as amostras irradiadas a 0,7 foram de $7,0 \times 10^3$ UFC/g no segundo dia e de $1,2 \times 10^8$ UFC/g nos dias 24 e 30, o que pode caracterizar o início da fase estacionária do crescimento bacteriano. Nas irradiadas a 1,0kGy, os valores extremos foram $1,5 \times 10^4$ UFC/g, também no segundo dia, e $9,1 \times 10^7$ UFC/g no 17°, apresentando do 24° ao 30° diminuição na contagem (Fig. 1).

No que se refere à CBHAM, conforme ilustrado na Fig. 2, observou-se que as amostras possuíam contagens que variaram de $7,0 \times 10^3$ e de $2,7 \times 10^8$ UFC/g, ficando a média em $4,6 \times 10^7$ UFC/g, desvio-padrão de $6,3 \times 10^7$ UFC/g e mediana de $1,65 \times 10^7$ UFC/g.

Figura 1. Gráfico em linha comparando a CBHAM em UFC/g dos três grupos analisados.

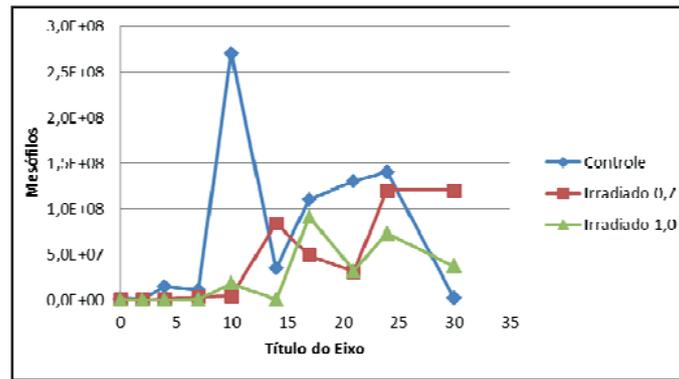
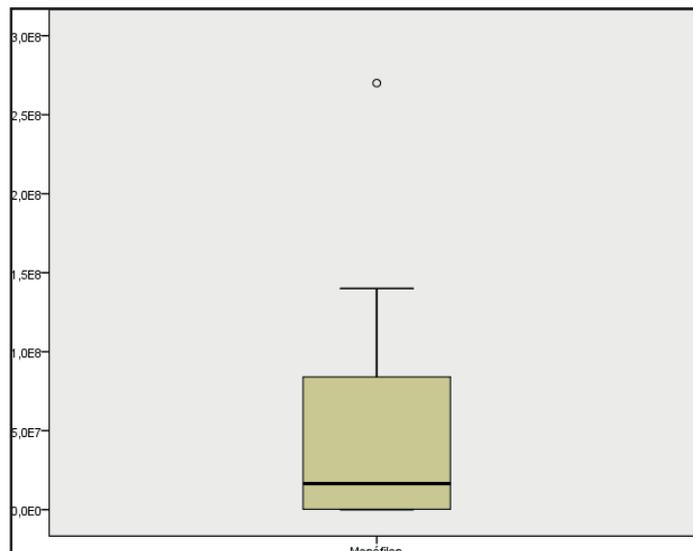


Figura 2. Distribuição da CBHAM em UFC/g quanto à análise das amostras dos três grupos amostrais estudados.



A seguir, na Fig. 3, estão representadas as linhas de crescimento referentes às CBHAP dos três grupos amostrais e, assim como na CBHAM, o grupo controle apresentou um destacado aumento entre os dias sete e 10, também seguido por uma queda acentuada até o 14º dia. Só voltou a exibir aumento a partir do 17º dia, apresentando seu pico no último dia de análise, com máxima de crescimento de $8,9 \times 10^8$ UFC/g. O grupo irradiado a 0,7kGy seguia com as contagens mais homogêneas até o 10º dia, com o maior valor sendo de $1,5 \times 10^7$ UFC/g no sétimo dia, expressando um relevante aumento entre os dias 10 e 14, seguido por uma redução até o 21º, quando, então, apresentou o mesmo comportamento do grupo controle, tendo sua reta o ápice no 30º dia, com a maior contagem sendo $8,4 \times 10^8$ UFC/g. Já o grupo irradiado a 1,0kGy manteve a homogeneidade do crescimento até o 14º dia. O restante das análises desse grupo permaneceu sem aumentos ou reduções bruscas, com máxima de $1,2 \times 10^8$ UFC/g no 17º dia .

Conforme demonstrado na Fig. 4, na CBHAP as amostras apresentaram valores entre $2,6 \times 10^2$ e $8,9 \times 10^8$ UFC/g, com média de $1,35 \times 10^8$ UFC/g, desvio-padrão de $2,5 \times 10^8$ UFC/g e mediana de $1,6 \times 10^7$ UFC/g.

Figura 3. Gráfico em linha comparando a CBHAP em UFC/g dos três grupos analisados.

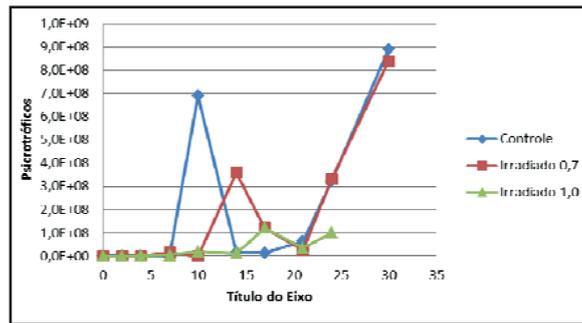
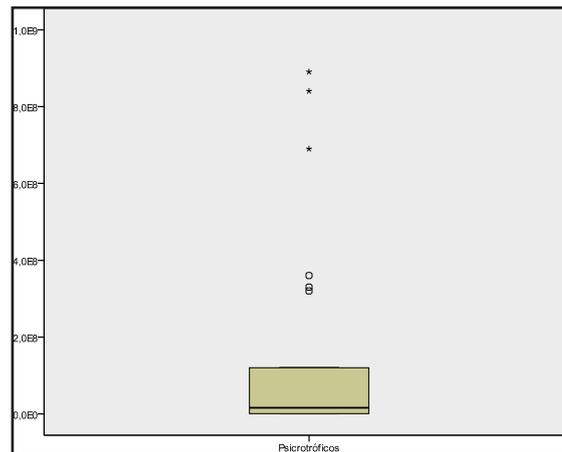


Figura 4. Distribuição da CBHAP em UFC/g quanto à análise das amostras dos três grupos amostrais estudados.



As altas contagens bacterianas iniciais podem estar relacionadas ao fato de os peixes terem sido adquiridos no cais de Itaipu, onde a pesca é realizada, exclusivamente, de forma artesanal. Nesta, são utilizados caícos (pequenas embarcações) sem unidade frigorífica ou sequer recipientes contendo gelo, levando em média de seis a 12 horas, desde a saída até o retorno da embarcação. Dessa forma, os animais permanecem ao sol não só até a chegada à praia, mas também durante a venda, sem contato com gelo em nenhuma dessas etapas do fluxograma. Além disso, no momento da filetagem, pode ocorrer o rompimento de órgãos e vísceras, contaminando a musculatura, que, inicialmente, antes mesmo do abate, encontrava-se estéril. Afinal, como descrito por Prata e Fukuda (2001), as etapas de descamação e evisceração do pescado são importantes estágios da cadeia produtiva, pois deixam a carne ainda mais vulnerável à contaminação bacteriana.

Resultado semelhante foi encontrado por Abreu (2005), em avaliação bacteriológica de peixe-sapo (*Lophius gastrophysus*) refrigerado e irradiado, o qual encontrou contagem de microrganismos psicrotróficos correspondente a $7,5 \times 10^6$ UFC/g no grupo controle, demonstrando que este se apresentava no limite estabelecido pela ICMSF (1986), e redução no dia zero de 6,7log nas amostras irradiadas a 3, 5 e 7kGy. Com base nisso, ao final do experimento, constatou-se o aumento da validade comercial das amostras em todas as doses estudadas, chegando a 18 dias quando submetidas às doses maiores.

Tais contagens também foram estudadas por Soares *et al.* (2012) para avaliação da eficiência do processo de irradiação, utilizando-se uma fonte de Cs¹³⁷, em amostras de músculos e gônadas de vieira (*Nodipecten nodosus*) crus e congelados, submetidos a doses de 2 e 5kGy. Ao final do estudo, concluíram que a irradiação foi eficaz somente para o controle de bactérias mesófilas na dose de 5kGy, visto que apenas nesse caso houve diferença estatisticamente significativa quando comparado com o grupo controle. Esse resultado diverge do presente trabalho, no qual não foi encontrada evidência de diferença estatisticamente significativa entre os grupos na CBHAM e na CBHAP, no entanto foi verificada eficiência da irradiação por feixe de elétrons na diminuição de tais contagens, devido à redução observada no dia zero das análises.

Assim como observado no presente estudo, durante avaliação de pescado fresco comercializado em supermercados na Bahia, Barreto *et al.* (2012) encontraram elevadas contagens de mesófilos. Altas contagens de ambas as categorias de microrganismos também foram constatadas no estudo bacteriológico realizado por Haida e Muller (1984), em sardinhas (*Sardinella aurita*) comercializadas em feiras livres, peixarias e supermercados no Paraná.

Santos (2008), após realizar a análise bacteriológica da carne de siri (*Callinectes sapidus*) pré-cozida, congelada, inspecionada e irradiada com Co⁶⁰ nas doses de 3 e 5kGy, relatou que houve interferência no crescimento bacteriano em relação à CBHAP, de forma que quanto maior a dose aplicada, maior foi a redução das UFCs, apresentando, quando medidas em log₁₀, uma redução média de 47,9% na formação de UFCs no grupo de 3kGy e de 59,4% no grupo de 5kGy. Contudo, no caso das mesófilas, não foi encontrada diferença estatística significativa, quando comparados o grupo controle com os irradiados em ambas as doses.

Como na legislação nacional vigente, exibida em Brasil (2001), não consta limite para NMP de *Enterococcus* spp., levou-se em consideração o exposto no Anexo II da RDC nº12/2001: “produto ou lote (se amostra indicativa ou representativa, respectivamente) impróprio para o consumo humano por apresentar microrganismo patogênico ou toxina que representa perigo severo à saúde do consumidor”.

Comparando os resultados das enumerações das amostras dos três grupos, não houve evidência de diferença estatisticamente significativa (P = 0,201).

Pelos resultados exibidos no presente trabalho, após a enumeração de *Enterococcus* spp., observou-se que, apesar da redução identificada no dia zero, quando comparados o grupo controle aos irradiados a ambas as doses, todas as três amostras iniciais eram positivas em relação à presença desse microrganismo. Além disso, mesmo sendo constatada uma oscilação de um dia para o outro durante a avaliação, considerou-se que a irradiação foi eficaz na diminuição da carga bacteriana, uma vez que, no 21º dia, a amostra do grupo

controle encontrava-se com NMP igual a zero e, no 30° dia, as amostras irradiadas estavam com esse mesmo valor.

Nos traçados individuais referentes às enumerações de *Enterococcus* spp. dos grupos avaliados, o grupo controle foi o que mais destoou do restante, estando o maior NMP no dia zero da análise, com valor de $2,4 \times 10^4$, seguido por um abrupto declínio até o segundo dia de análise, com NMP de $4,6 \times 10^2$. Desde então, até o 10° dia, ocorreu progressivo aumento, quando finalmente atingiu estabilidade em um patamar e permaneceu até o 17° sem alterações, alcançando o declínio no 21° dia e mantendo um NMP baixo até o 30°, com mínimo de <3 ou igual a zero e máximo de $2,3 \times 10$. Quanto aos grupos irradiados, ambos apresentaram números mais baixos, sendo os mais altos valores verificados no dia zero, com NMP de $2,4 \times 10^3$ no irradiado com a menor dose, e de $1,1 \times 10^3$ no irradiado a 1,0kGy, e o menor NMP foi de <3 ou igual a zero, no último dia de análise para os dois grupos (Fig. 5).

Na Fig. 6, visualiza-se que no NMP de *Enterococcus* spp., a variação foi de zero a $2,4 \times 10^4$ UFC/g, com média de $1,52 \times 10^3$ UFC/g, desvio-padrão de $4,45 \times 10^3$ UFC/g e mediana de $9,3 \times 10$ UFC/g.

Figura 5. Gráfico em linha comparando a enumeração de *Enterococcus* spp. em UFC/g dos três grupos analisados.

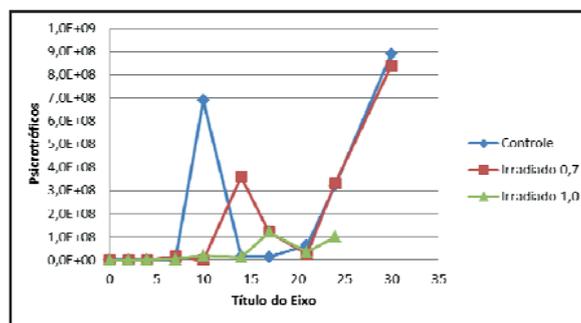
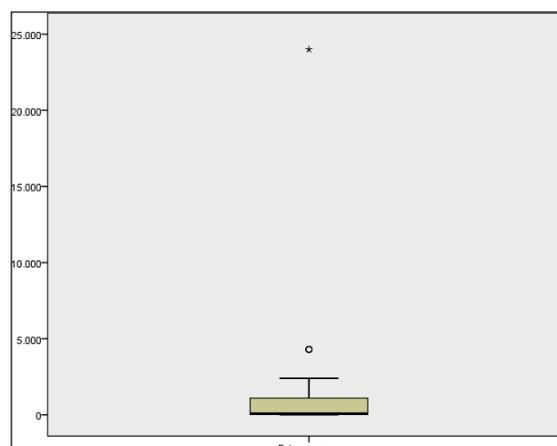


Figura 6. Distribuição da enumeração de *Enterococcus* spp. em UFC/g quanto à análise das amostras dos três grupos amostrais estudados.



Assim como foi ressaltado nas contagens das bactérias mesófilas e das psicrotróficas, também deve ser levada em conta a modalidade de pesca para captura do pescado avaliado. Além disso, é preciso considerar as condições higiênico- sanitárias dos barcos, de

descamação, evisceração e filetagem, no que diz respeito às instalações físicas e à qualidade da água utilizada para limpar a bancada, as facas e as mãos do manipulador, associadas à ausência de refrigeração nas primeiras etapas da cadeia produtiva, que podem ter contribuído para os elevados NMP de *Enterococcus* spp. encontrados nas análises iniciais.

Similarmente, Santos (2008), após enumeração de *Enterococcus* spp. em carne de siri (*Callinectes sapidus*) pré-cozida, congelada, inspecionada e irradiada com Co^{60} , identificou uma redução de 1,3 ciclo log e 1,2 ciclo log, respectivamente, nas amostras irradiadas a 3,0kGy e 5,0kGy, quando comparadas com as do grupo controle. No entanto, essa diminuição não foi suficiente para estabelecer uma diferença estatisticamente significativa. Em investigação bacteriológica em mexilhões (*Perna perna*) pré-cozidos, congelados e irradiados com Co^{60} , Valente (2004) descreveu que as doses de 3 e 5kGy foram suficientes para redução do número de *Enterococcus* spp. quando essas amostras foram comparadas com a amostra controle, enquanto no grupo irradiado a 7kGy ocorreu ausência desse microrganismo.

Mesmo que esses microrganismos não sejam considerados os melhores indicadores de contaminação fecal, uma enumeração alta deles em uma matriz alimentícia que não os contenha originalmente em sua formulação aponta a adoção de insuficientes medidas sanitárias, de conservação e manutenção do alimento, o que permite a proliferação desses e de outros microrganismos patógenos ou deteriorantes (Franco e Landgraf, 2008). Assim, considera-se que as amostras analisadas, as quais continham essa bactéria, constituíam risco à saúde do consumidor.

■ CONCLUSÕES

Com base na análise dos resultados encontrados, conclui-se que a irradiação por feixe de elétrons, quando aplicada em filés de corvina refrigerados, nas doses de 0,7 e 1,0kGy, age de forma eficaz na redução da CBHAM, da CBHAP e do NMP de *Enterococcus* spp., presentes inicialmente na matriz estudada. No entanto, no presente trabalho, não foi detectada diferença estatisticamente significativa ($P>0,05$) entre os três grupos em nenhuma das contagens e enumeração estudadas.

■ REFERÊNCIAS

1. ABREU, M.G. *Caracterização sensorial e análise bacteriológica do peixe-sapo (*Lophius gastrophysus*) refrigerado e irradiado*. 2005. 90f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ.
2. BARRETO, N.S.E.; MOURA, F.C.M.; TEIXEIRA, J.A. *et al.* Avaliação das condições higiênic-sanitárias do pescado comercializado no município de Cruz das Almas, Bahia. *Rev. Caatinga*, v.25, p.86-95, 2012.
3. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento sobre padrões microbiológicos para alimentos e seus anexos I e II. *Diário Oficial [da] União*, Brasília, DF, 10 jan. 2001. Seção 1.
4. DOWNES, P.F.; ITO, K. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 40.ed. Washington: APHA, 2001. 676 p.
5. FELLOWS, P.J. *Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática*. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 602 p.
6. FIPERJ. FUNDAÇÃO INSTITUTO DE PESCA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO. *Relatório 2011*. Disponível em: <http://www.fiperj.rj.gov.br/fiperj_imagens/arquivos/revistarelatorios2011.pdf>. Acessado em: 8 Jul. 2013.
7. FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: Ed. Atheneu, 2008. 182 p.
8. GIRAFFA, G.; OLIVARI, A.M.; NEVIANI, E. Isolation of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* from Italian cheeses. *Food Microbiol.*, v.17, p.671-677, 2000.
9. HAIDA, K.S.; MULLER, E.E. Estudo bacteriológico da sardinha (*Sardinella aurita*) comercializada em Londrina, Paraná. *Semina: Ciênc. Agr.*, v.5, p.53-56, 1984.
10. JAY, J.M. *Microbiologia de alimentos*. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711 p.
11. MERCK microbiology manual. Darmstadt, Germany: Merck, 1996. 405 p.
12. PRATA, L.F.; FUKUDA, R.T. *Fundamentos de higiene e inspeção de carnes*. Jaboticabal, São Paulo: FUNEP, 2001. 349 p.
13. RIEDEL, G. *Controle sanitário dos alimentos*. 3.ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2005. 455 p.
14. SAMPLING for microbiological analysis: principles and specific applications. In: *Microorganisms in food*. 2.ed. Nova Iorque: University of Toronto Press, 1986.
15. SANTOS, E.B. *Eficiência da radiação gama sobre a carga bacteriana da carne de siri (*Callinectes sapidus*) pré-cozida, congelada, inspecionada e irradiada*. 2008. 57f. Monografia (Especialização em Irradiação de Alimentos) – Curso de Especialização em Irradiação de Alimentos, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ.
16. SOARES, I.C.; MESQUITA, E.F.M.; FRANCO, R.M. *et al.* Análise bacteriológica de músculo e gônadas de vieira, *Nodipecten nodosus* (Mollusca: Bivalvia), congelados e irradiados. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.49, p.24-29, 2012.

17. SPECIES fact sheets. *Micropogonias furnieri*. [s.l.]: Fisheries and Aquaculture Department, 2013. Disponível em: <<http://www.fao.org/fishery/species/2351/en>>. Acessado em: 9 fev. 2013.
18. VALENTE, A. M. *Efeito da irradiação sobre mexilhões [Perna perna (Linnaeus, 1758)]: coliformes termotolerantes e enterococcus; ação antimicrobiana e análise sensorial das amostras*. Niterói, 2004. 85f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói. RJ.

SOBRE O ORGANIZADOR

Wiaslan Figueiredo Martins

Professor do Ensino Básico, Técnico e Tecnológico do Instituto Federal Goiano (IF Goiano). Coordenador de Educação Profissional Técnica de Nível Médio. Engenheiro de Alimentos pela Universidade Federal de Campina Grande - UFCG (2013), Mestre em Engenharia de Alimentos pela Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC (2015). Doutor em Engenharia de Alimentos pela UFSC, na área de concentração em Processos Biotecnológicos e Cinética Microbiana Aplicada, com período sanduíche na Universidad de Burgos - UBU, Espanha. Atua na área de Microbiologia, com ênfase em Microbiologia Preditiva Aplicada à Alimentos (modelagem matemática; softwares; estudo da vida útil de produtos cárneos; aplicação de radiação ultravioleta UV-C em alimentos) e Biologia Molecular de Microrganismos (DNA de bactérias ácido-lácticas deteriorantes da carne e produtos cárneos; PCR quantitativa - qPCR)..

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/8726955804617572>

ÍNDICE REMISSIVO

A

Abatedouro: 94

Alimentos: 24, 39, 41, 71, 73, 96, 113, 116, 118, 119, 121, 123, 124, 130, 131, 132, 143

Análise Microbiológica: 122, 123, 131

Antimicrobianos: 86, 87, 88, 89, 90, 91, 135

Aquicultura: 87, 88, 89, 91

Ascósporos: 31

B

Bifidobactérias: 58

D

Digestão: 58

F

Fungi: 39, 45, 56

Fungos: 30

I

Irradiação de Alimentos: 134

K

Kombucha: 76, 77, 78, 80, 84, 85

M

Microbiologia: 25, 41, 43, 128, 143

Modelagem Matemática: 17

Q

Qualidade: 71, 94, 95, 96, 97, 106, 110, 113, 116, 134

Qualidade Microbiológica: 134

S

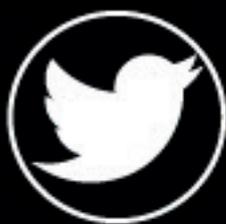
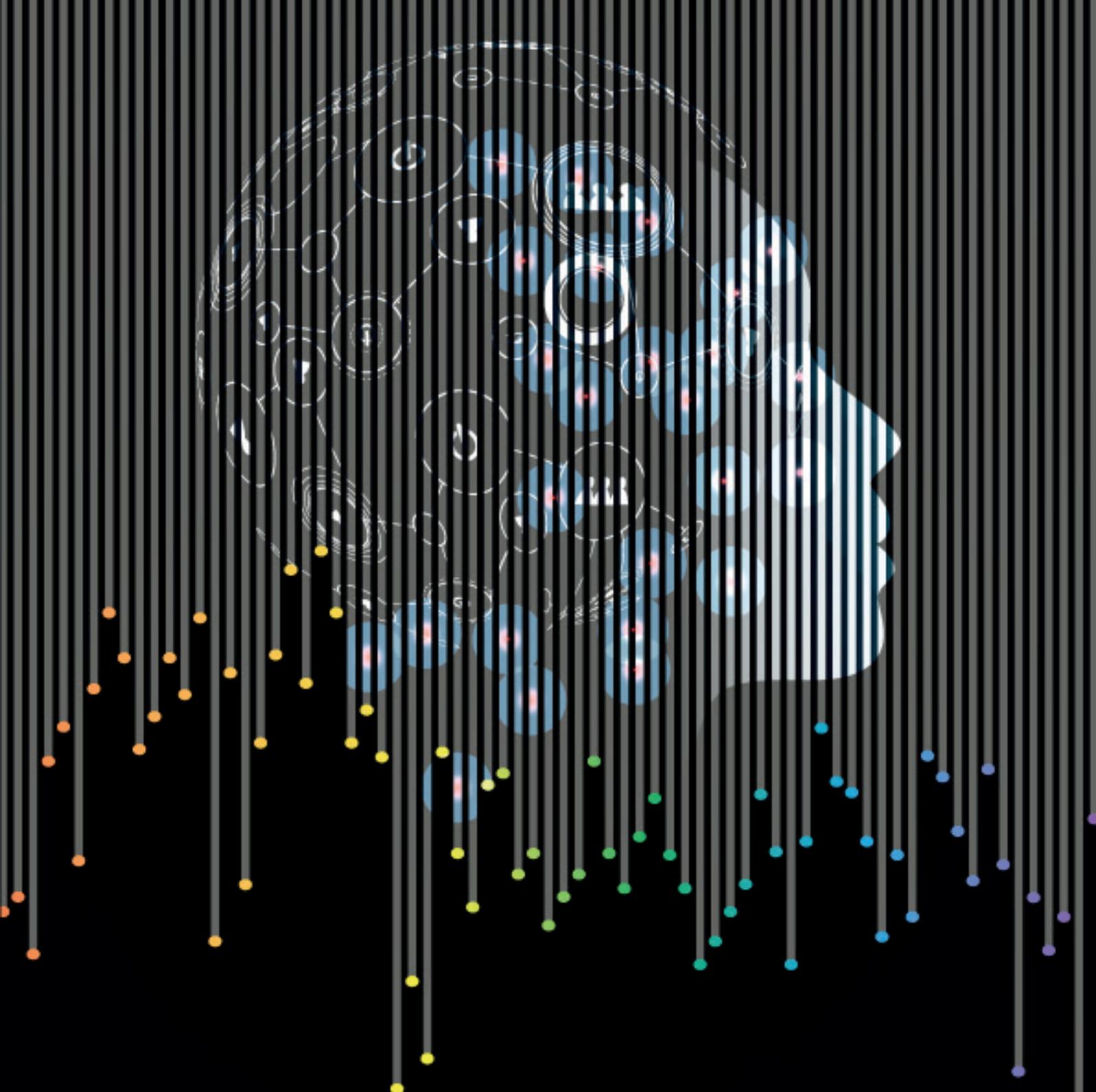
Segurança: 98, 113, 131

T

Tecnologia: 24, 73, 143

V

Viabilidade: 58



www.editoracientifica.org

contato@editoracientifica.org

ISBN 978-655360007-2



9

786553

600072

VENDA PROIBIDA - ACESSO LIVRE - OPEN ACCESS

TECNOLOGIA & MICROBIOLOGIA

SOB A PERSPECTIVA DA SEGURANÇA DOS ALIMENTOS



editora
científica digital