
Estimativa dos parâmetros de crescimento de *Bacillus cereus* em purê de batata armazenado em diferentes condições isotérmicas

| Wiaslan Figueiredo Martins
IF Goiano

RESUMO

Objetivo: estimar os parâmetros de crescimento de *B. cereus* em purê de batata sob diferentes condições isotérmicas de armazenamento, utilizando o *software Microrisk Lab*. **Método:** os dados de crescimento de *B. cereus* nas temperaturas entre 4 °C e 19,7 °C de armazenamento foram adquiridos do Instituto Nacional Francês de Pesquisa Agrícola, disponíveis na base de dados *ComBase* e o modelo de Baranyi e Roberts foi ajustado às curvas de crescimento utilizando o *MicroRisk Lab*. **Resultados:** pode-se afirmar que o modelo apresentou ótimo desempenho para descrever o crescimento de *B. cereus* em purê de batata nas cinco temperaturas avaliadas, com valores de $R^2 \geq 0,99$. Os modelos secundários representaram bem a influência da temperatura na velocidade específica máxima de crescimento, com melhores valores de R^2 para os modelos Exponencial e Raiz quadrada. **Conclusão:** pode-se concluir que a aplicação de modelos preditivos e *software* de fácil utilização podem ser usados para orientar os proprietários de restaurantes, estabelecimentos e indústria de produtos vegetais, para preparar e armazenar adequadamente o purê de batata e outros produtos relacionados para evitar o crescimento de *B. cereus*.

Palavras-chave: Patógeno, Segurança de Alimentos, Microbiologia Preditiva.

■ INTRODUÇÃO

Bacillus cereus, uma bactéria Gram-positiva, formadora de esporos e ubíqua, é amplamente reconhecida como um dos principais patógenos de origem alimentar (ROSENQUIST *et al.*, 2005). Esse micro-organismo pode sobreviver a altas temperaturas devido à formação de esporos e produzir dois tipos distintos de toxinas em termos de dois sintomas: tipo emético e tipo diarreico. A toxina cerulida causa os sintomas de intoxicação do tipo emético, sendo secretada por *B. cereus* quando sua população se aproxima de $6 \log_{10}$ UFC/g (KING *et al.*, 2007; TAKENO *et al.*, 2012), enquanto a intoxicação do tipo diarreica é geralmente induzida pelo consumo de alimentos contaminados pela enterotoxina não hemolítica (Nhe), citotoxina K (CytK) e a hemolisina BL (Hbl) (KIM *et al.*, 2011).

O *B. cereus* é frequentemente identificado em diversos produtos alimentícios, como vegetais, leite, produtos cárneos, arroz e cereais, portanto, é considerado um desafio significativo para a segurança de alimentos (GUINEBRETIERE *et al.*, 2003; PARK *et al.*, 2009; SAMAPUNDO *et al.*, 2011).

A batata é um alimento popular e básico comum como fonte de amido e nutrientes abundantes. *B. cereus* foi encontrado em produtos à base de batata, incluindo batatas cruas com casca, flocos de batata desidratados, produtos de batata prontos para consumo, purê de batata processado refrigerado e purê de batata cozido (HEINI *et al.*, 2018; RAJKOVIC *et al.*, 2006; THOMAS *et al.*, 2002). *B. cereus*, como uma bactéria formadora de esporos resistente ao calor, pode sobreviver durante o processamento (aquecimento e desidratação) de produtos de batata, devido aos tratamentos térmicos suaves dados a esses alimentos, sendo considerado um patógeno de origem alimentar significativo relacionado a alimentos processados à base de batata (DOAN; DAVIDSON, 2000; HEINI *et al.*, 2018).

Algumas cepas de *B. cereus* podem se multiplicar a 8 °C e abaixo de uma concentração que pode ser prejudicial à saúde humana e, portanto, representa um perigo para o consumo de alimentos refrigerados processados. Assim, é fundamental compreender e controlar o comportamento (crescimento, sobrevivência ou inativação) ou nível de contaminação dos micro-organismos em diferentes condições ambientais, para garantir que os alimentos sejam seguros para o consumo (GEERAERD; VALDRAMIDIS; VAN IMPE, 2005; AUGUSTIN, 2011; GONZÁLEZ *et al.*, 2018). Para isso, a microbiologia preditiva tornou-se uma ferramenta valiosa para estimar o nível de concentração bacteriana baseada no uso de modelos matemáticos (ROSS; MCMEEKIN, 1994; PELEG; CORRADINI, 2011; BARANYI; SILVA, 2017).

A utilização de modelos matemáticos auxilia na obtenção de dados sobre o comportamento dos micro-organismos, tanto na sua inativação, sobrevivência ou no seu crescimento. Os modelos a serem utilizados são divididos em modelos primários, secundários e terciários. Os modelos primários representam a dinâmica dos micro-organismos em condições

constantes, em função do tempo. Já os secundários descrevem a influência dos fatores intrínsecos ou extrínsecos sobre o crescimento dos micro-organismos e, por fim, os modelos terciários se detêm na utilização de *softwares* capazes de realizarem a consolidação dos dados obtidos nos modelos primários e secundários (WHITING; BUCHANAN, 1993).

Muitos sistemas de modelagem interativa foram desenvolvidos nas últimas décadas (TENENHAUS-AZIZA; ELLOUZE, 2015). Entre as ferramentas *online* gratuitas, destaca-se o DMFit *online* do ComBase (www.combase.cc) pode ser facilmente acessado por meio de diferentes dispositivos conectados à internet, o que proporciona a capacidade de multiplataforma aos usuários. Recentemente, um sistema de modelagem *online* que integra modelos preditivos microbianos abrangentes, o *Microrisk Lab*, foi desenvolvido para a estimação de parâmetros e simulação de modelos em microbiologia preditiva (LIU *et al.*, 2021). A primeira versão do *Microrisk Lab* foi implantada no servidor ‘Shinyapps.io’ e está disponível em <https://microrisklab.shinyapps.io/english/>.

Diante desse contexto, objetivou-se estimar os parâmetros de crescimento de *B. cereus* em purê de batata sob diferentes condições isotérmicas de armazenamento, utilizando o *software Microrisk Lab*.

■ MÉTODO

Dados de crescimento

Os dados de crescimento em diferentes temperaturas foram obtidos do navegador ComBase (www.combase.cc), utilizando a categoria de alimento “*vegetable or fruit and their products*”, o micro-organismo “*Bacillus cereus*” e a faixa de temperatura entre 4 °C e 20 °C. Foram selecionados dados do crescimento (\log_{10} UFC/g) de *B. cereus* em purê de batata (pH = 5,78) em cinco temperaturas de armazenamento: 4 °C, 7 °C, 10,6 °C, 15,1 °C e 19,7 °C. Os dados foram reportados do Instituto Nacional Francês de Pesquisa Agrícola (*French National Institute for Agricultural Research - INRA*).

Modelagem primária

Para uma avaliação mais biológica sob a presença de micro-organismos e as consequências que eles desencadeiam no alimento armazenado, foi utilizado o modelo matemático primário sigmoidal com função de ajuste, Baranyi e Roberts (BARANYI; ROBERTS, 1994) (Equações 1, 2 e 3), que foi ajustado às curvas experimentais de *B. cereus* em purê de batata em diferentes temperaturas.

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

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

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

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

Modelagem secundária

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

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

$$\mu_{max} = ae^{(bT)} \quad (5)$$

$$\sqrt{\mu_{max}} = a(T - T_{min}) \quad (6)$$

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

Análises numéricas

Os ajustes do modelo primário aos dados experimentais de crescimento de *B. cereus* em purê de batata nas temperaturas de armazenamento entre 4 $^{\circ}C$ e 19,7 $^{\circ}C$ foram realizados no software *MicroRisk Lab online* versão 1.0. O ajuste foi realizado em apenas uma etapa, obtendo os parâmetros $\mu_{m\acute{a}x}$, t_{lag} , y_0 e $y_{m\acute{a}x}$.

Os valores estimados, os erros padrão e os intervalos de confiança inferior e superior de 95% (Eq. 8) foram determinados pelo pacote R de “stats” e “nlstool”.

$$\begin{cases} L95\%IC = \hat{\beta} - t_{95\%,df} \times MSE \times \hat{B} \\ U95\%IC = \hat{\beta} + t_{95\%,df} \times MSE \times \hat{B} \\ t_{95\%,df} = t_{95\%,\infty} \approx 1,96 \end{cases} \quad (8)$$

Em que, $\hat{\beta}$ é o parâmetro estimado; MSE é a soma média do erro quadrado; \hat{B} é o inverso da matriz de segundas derivadas da função log-probabilidade (*log-likelihood*) em função de β avaliada nas estimativas dos parâmetros $\beta = \hat{\beta}$; df é grau de liberdade, que é assumido infinito; $t_{95\%,df}$ é o valor da distribuição *t* para 95% de confiança para o número especificado de df.

Os modelos secundários foram ajustados no programa Microsoft Excel®. As equações dos modelos secundários foram realizadas em planilhas do Excel®.

Avaliação do desempenho dos modelos

Vários indicadores estatísticos foram relatados para avaliar e comparar a qualidade do ajuste entre os valores observados e previstos, como a soma dos quadrados residual (RSS, Eq. 9, DRAPER; SMITH, 1998), soma média do erro quadrado (MSE, Eq. 10, GEERAERD; VALDRAMIDIS; VAN IMPE, 2005), soma da raiz média do erro quadrático (RMSE, Eq. 11, MCKELLAR; LU; RATKOWSKY, 2003), critério de informação Akaike regular (AIC, Eq. 12, AKAIKE, 1974), AIC corrigido (AIC_c, Eq. 13, BURNHAM; ANDERSON, 2003), critérios de informação Bayesianos (BIC, Eq. 14, SCHWARZ, 1978) e o coeficiente de determinação (R², Eq. 15, RAWLINGS; PANTULA; DICKEY, 2001).

$$RSS = \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2 \quad (9)$$

$$MSE = \frac{RSS}{n} \quad (10)$$

$$RMSE = \sqrt{MSE} \quad (11)$$

$$AIC = -2 \log(\hat{\theta}) + k \ln(n) \quad (12)$$

$$AIC_c = AIC + \frac{2k(k+1)}{n-k-1} \quad (13)$$

$$BIC = -2 \log(\hat{\theta}) + k \ln(n) \quad (14)$$

Em que onde y_i é o *i*-ésimo valor da observação; \hat{y}_i é o *i*-ésimo valor da predição; k é o número de parâmetros; e n é o número de dados amostrais; $\log(\hat{\theta})$ é o valor numérico da probabilidade de log para o modelo ajustado (a probabilidade dos dados fornecidos a um modelo no modelo), que é doado pela função `logLik()` construída no pacote R 'stats'.

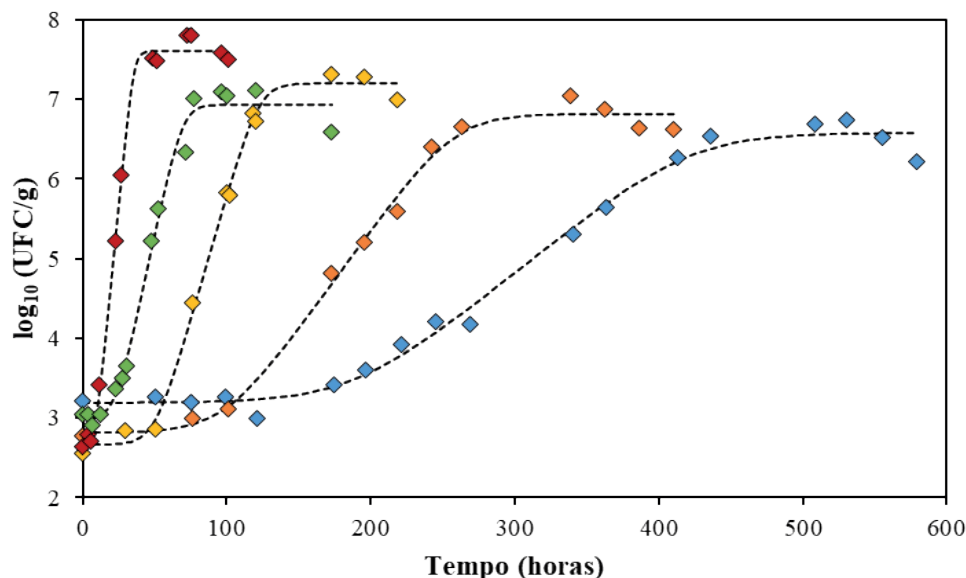
O desempenho dos modelos secundários foi avaliado pelo R², obtido do ajuste dos modelos aos dados de $\mu_{m\acute{a}x}$ em função da temperatura de armazenamento.

■ RESULTADOS E DISCUSSÃO

As curvas de crescimento foram obtidas em purê de batata para avaliar a temperatura de incubação no crescimento de *B. cereus* a 4 °C, 7 °C, 10,6 °C, 15,1 °C e 19,7 °C, e o modelo de Baranyi e Roberts foi ajustado aos dados experimentais utilizando o *software MicroRisk Lab*, apresentando um bom ajuste e todos os casos (Figura 1).

Independente da temperatura de crescimento, as contagens iniciais obtidas foram, em média, de 2,9 log₁₀ UFC/g, indicando que as curvas de crescimento foram construídas partindo, aproximadamente, do mesmo ponto. De acordo com Osimani, Aquilanti e Clementi (2018), vários surtos de origem alimentar foram causados por alimentos contaminados por *B. cereus* em contagens que variaram entre 2 log₁₀ UFC/g (um valor abaixo do limite relatado para produção de toxinas) e 9 log₁₀ UFC/g, sendo esse último valor detectado em alimentos ricos em amido. Curiosamente, 5 × 10² UFC/g (ou 2,7 log₁₀ UFC/g) corresponde ao limite mais baixo proposto de contagens de *B. cereus* para muitas categorias de alimentos de acordo com a Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019, que estabelece os padrões microbiológicos para alimentos (BRASIL, 2019), destacando, assim, a adequação desse limite.

Figura 1. Curvas de crescimento de *Bacillus cereus* em purê de batata e os ajustes do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais nas temperaturas de 4 °C (símbolos vermelhos), 7 °C (símbolos verdes), 10,6 °C (símbolos amarelos), 15,1 °C (símbolos laranjas) e 19,7 °C (símbolos azuis) de armazenamento. As linhas tracejadas representam o ajuste do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais.



Fonte: elaborada pelo autor (2022).

Os parâmetros de crescimento calculados de *B. cereus* incubado em purê de batata nas temperaturas indicadas são mostrados na Tabela 1. *B. cereus* foi capaz de crescer em todas as temperaturas, mesmo sob refrigeração (4 °C a 7 °C). O crescimento foi relativamente rápido na menor temperatura de armazenamento (4 °C), iniciando a fase exponencial em

8-9 dias, com uma velocidade específica máxima de crescimento de $0,03 \text{ h}^{-1}$, equivalente a um tempo de duplicação (geração) de, aproximadamente, 10 h. Guinebretière *et al.* (2001) verificaram que as condições de armazenamento a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ favoreceram o desenvolvimento de *Bacillus macroides*/*Bacillus maroccanus* e *Paenibacillus* spp. em purês de abobrinha, enquanto outros autores (CARLIN *et al.*, 2000; CHOMA *et al.*, 2000) relataram o crescimento de *Paenibacillus* spp. em outros purês, como alho-poró, brócolis, ervilha, cenoura e batata a $4 \text{ }^\circ\text{C}$.

Tabela 1. Parâmetros de crescimento (\pm DP) estimados pelo ajuste do modelo de Baranyi e Roberts aos dados experimentais de *B. cereus* em purê de batata armazenado a $4 \text{ }^\circ\text{C}$, $7 \text{ }^\circ\text{C}$, $10,6 \text{ }^\circ\text{C}$, $15,1 \text{ }^\circ\text{C}$ e $19,7 \text{ }^\circ\text{C}$.

Temperatura ($^\circ\text{C}$)	Parâmetros e intervalos de confiança					
	$\mu_{\text{máx}}$ (h^{-1})	IC95%	<i>t</i> lag (h)	IC95%	$\gamma_{\text{máx}}$ (\log_{10} UFC/g)	IC95%
4	$0,03 \pm 0,00$	(0,03; 0,04)	$188,86 \pm 12,53$	(161,98; 215,74)	$6,58 \pm 0,08$	(6,41; 6,75)
7	$0,06 \pm 0,01$	(0,05; 0,07)	$98,29 \pm 13,00$	(68,31; 128,24)	$6,81 \pm 0,08$	(6,63; 6,99)
10,6	$0,14 \pm 0,01$	(0,13; 0,16)	$49,73 \pm 2,68$	(43,99; 55,47)	$7,20 \pm 0,08$	(7,03; 7,36)
15,1	$0,19 \pm 0,02$	(0,15; 0,24)	$22,11 \pm 3,04$	(15,42; 28,80)	$6,94 \pm 0,09$	(6,74; 7,14)
19,7	$0,42 \pm 0,04$	(0,34; 0,50)	$8,32 \pm 1,47$	(4,93; 11,71)	$7,61 \pm 0,06$	(7,48; 7,75)

IC95%: intervalo de confiança inferior e superior a 95%.

Fonte: elaborada pelo autor (2022).

Neste trabalho, o purê de batata apresentou valor de pH de 5,78, de acordo com as informações obtidas dos dados de crescimento no *ComBase* (www.combase.cc). De acordo com Valero, Fernández e Salmerón (2003), diferentes valores de pH influenciaram o crescimento de *B. cereus* em purê de cenoura. Em pH 5,1 e 5,2, o crescimento foi observado apenas quando a temperatura de incubação foi de $16 \text{ }^\circ\text{C}$. Por outro lado, à medida que o pH aumentava, aumentava também a temperatura de refrigeração necessária para inibir o crescimento de *B. cereus*. Segundo os autores, em pH 5,3, *B. cereus* não foi capaz de crescer a $5 \text{ }^\circ\text{C}$ e $8 \text{ }^\circ\text{C}$, mas em pH 5,4 e 5,5, a inibição foi detectada apenas na temperatura de $5 \text{ }^\circ\text{C}$, sendo considerada, de acordo com a morfologia da colônia, uma cepa psicrotrófica. Esse fato justifica o rápido crescimento de *B. cereus* em purê de batata, nesta pesquisa, pois o pH de 5,78 favoreceu o seu crescimento, independente da temperatura estudada.

Ao observar os parâmetros da Tabela 1, é possível verificar que a temperatura é um fator importante no crescimento dos micro-organismos, com um aumento da velocidade específica máxima de crescimento e, conseqüentemente, diminuição do tempo da fase *lag*. Foi possível observar que os valores do parâmetro *t*lag diminuíram com o aumento da temperatura, com valores variando entre 8,32 h e 188,86 h. O contrário ocorreu com a velocidade de crescimento, em que foi possível observar um aumento em temperaturas mais elevadas, variando de $0,03 \text{ (h}^{-1}\text{)}$ a $0,42 \text{ (h}^{-1}\text{)}$ nas temperaturas de $4 \text{ }^\circ\text{C}$ a $19,7 \text{ }^\circ\text{C}$, respectivamente. Assim, destaca-se a importância de manter toda a cadeia do frio, com a finalidade de

aumentar o tempo da fase *lag* e de retardar ao máximo a fase exponencial de crescimento, evitando atingir valores críticos de patogenicidade.

Os valores da população máxima atingida variaram entre 6,58 e 7,61 \log_{10} UFC/g, indicando o ótimo crescimento de *B. cereus* em purê de batata. Em estudo relatado por Schmid *et al.* (2016), um surto massivo de *B. cereus* enterotoxigênicos ocorreu em um hotel em 2013, na Áustria Ocidental, onde 44% entre os 32 hóspedes que estavam envolvidos apresentaram os sintomas de vômitos e diarreia entre 1,5 e 24 horas após o consumo de pratos de purê de batata com contagens de *B. cereus* de 5 \log_{10} UFC/g. Segundo os autores, as inadequações na limpeza e na desinfecção das superfícies de contato com alimentos, juntamente com o abuso da temperatura de armazenamento, provavelmente, permitiram a multiplicação do patógeno em purê de batata.

Os valores elevados da contagem de *B. cereus*, apresentados neste estudo, podem indicar a presença de toxinas no alimento. Estudos reportaram que a toxina emética pode ser produzida por cepas de *B. cereus* nas quais as contagens de células vegetativas sejam de, pelo menos, 5 \log_{10} UFC/g, enquanto as enterotoxinas, que causam a síndrome diarreica, são geralmente produzidas por *B. cereus* em contagens de 6 \log_{10} UFC/g ou superiores (VALERO; FERNÁNDEZ; SALMERÓN, 2003; FSAI, 2016). Além disso, seus esporos são resistentes ao calor e podem suportar tratamentos térmicos suaves (SAMAPUNDO *et al.*, 2011).

Ao avaliar os índices estatísticos do desempenho do modelo de Baranyi e Roberts obtidos pelo *software MicroRisk Lab* (Tabela 2), pode-se afirmar que o modelo apresentou ótimo desempenho para descrever o crescimento de *B. cereus* em purê de batata nas cinco temperaturas avaliadas. Em estatística, os índices AIC, AICc e BIC são mais frequentemente usados para seleção de modelos. Ao calcular e comparar os valores desses índices de diferentes modelos, é possível indicar aquele que melhor se ajusta aos dados experimentais. Neste trabalho, apenas o modelo de Baranyi e Roberts foi utilizado, assim, apenas os valores de RSS, MSE, RMSE e R^2 foram comparados para o desempenho do modelo nas diferentes temperaturas estudadas.

Os valores de R^2 foram $\geq 0,99$ para todas as curvas de crescimento e valores de MSE e RMSE foram próximos de zero. Embora todos esses índices demonstrem o bom ajuste do modelo, os valores de RSS, MSE e RMSE foram ligeiramente maiores para a curva de crescimento de *B. cereus* a 15,1 °C, indicando um menor desempenho em relação às outras temperaturas.

Tabela 2. Índices estatísticos de desempenho do modelo de modelo de Baranyi e Roberts ajustado aos dados experimentais de *B. cereus* em purê de batata armazenado a 4 °C, 7 °C, 10,6 °C, 15,1 °C e 19,7 °C.

Temperatura (°C)	Índices estatísticos						
	RSS	MSE	RMSE	AIC	AICc	BIC	R ²
4	1,93	0,14	0,37	18,87	13,94	22,43	0,990
7	1,09	0,14	0,37	13,32	11,03	15,26	0,993
10,6	1,39	0,10	0,32	13,00	8,08	16,57	0,995
15,1	2,28	0,21	0,46	22,32	18,32	25,15	0,990
19,7	0,84	0,11	0,32	10,20	7,91	12,14	0,997

*Resultado não mostrado no *MicroRisk Lab*.

Fonte: elaborada pelo autor (2022).

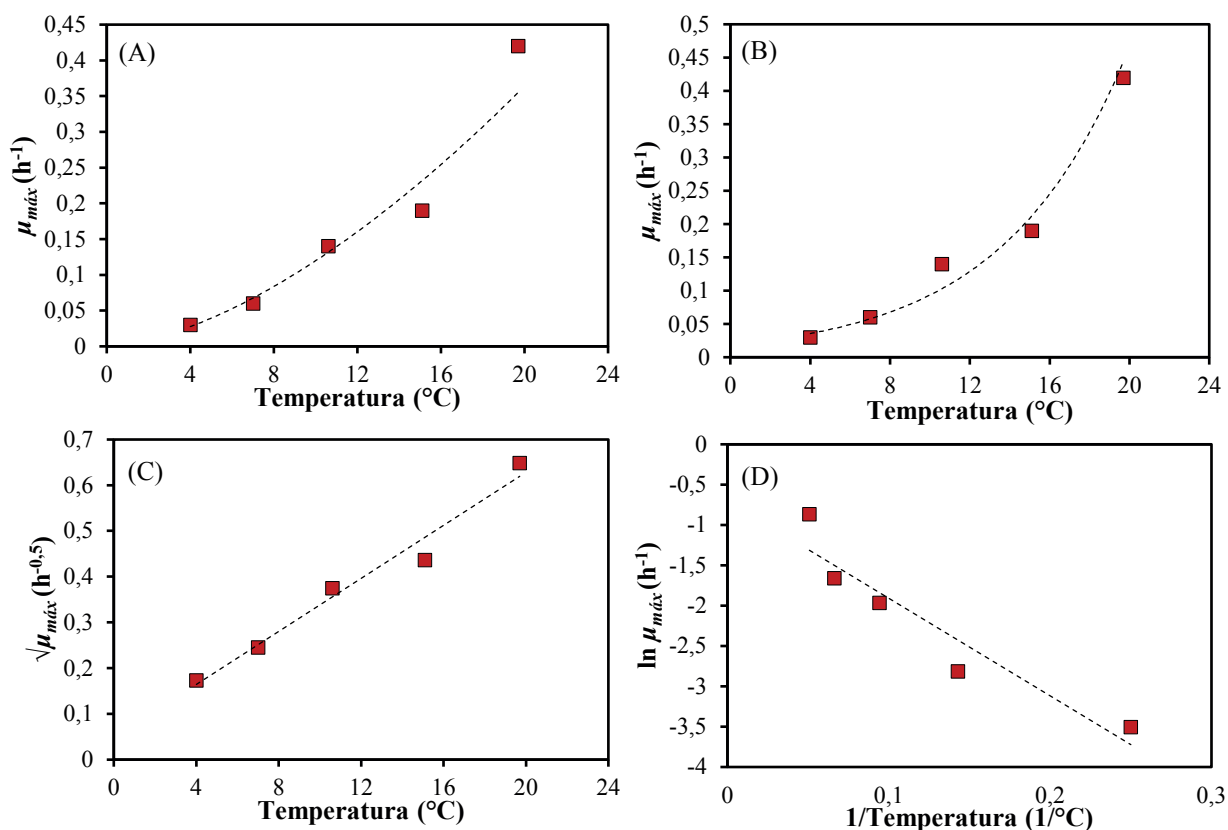
De acordo com os resultados publicados por Guinebretière *et al.* (2003), as contagens de *B. cereus* atingiram $4,6 \pm 1,9 \log_{10}$ UFC/g em purês armazenados a 10 °C por 21 dias, superior ao limite recomendado pelos padrões microbiológicos de vários países, incluindo o Brasil. Os autores verificaram que, em purês mantidos a 4 °C não apresentaram crescimento significativo de *B. cereus*. No entanto, os autores não indicaram os valores de pH dos purês, que podem influenciar no crescimento de *B. cereus*, conforme já explicado neste trabalho. Dessa forma, dependendo o pH do alimento, destaca-se a importância que a refrigeração seja mantida adequadamente em toda a cadeia de frio (câmara fria da planta de processamento, transporte, distribuição e refrigeradores domésticos). De acordo com Choma *et al.* (2000), as flutuações de armazenamento antes do consumo do produto, ocorrendo mais frequentemente durante a distribuição do produto ou na geladeira dos consumidores, podem induzir o crescimento de *B. cereus*, pois algumas cepas de purês de vegetais pasteurizados foram capazes de crescer em temperaturas abaixo de 10 °C.

Os resultados dos ajustes obtidos neste trabalho corroboram com o estudo realizado por Valero, Fernández e Salmerón (2003), ao estudar a influência do pH e da temperatura no crescimento de *B. cereus* em substratos vegetais, reportaram o bom ajuste do modelo primário de Baranyi e Roberts, com valores de R² variando entre 0,984 e 0,998 para o crescimento de *B. cereus* em purê de cenoura (pH 5,5) para todas as condições de temperatura, enquanto em caldo de abobrinha natural (pH 6,5) os valores de R² variaram entre 0,987 e 0,999, valores esses próximos aos relatados neste estudo.

Os modelos secundários que melhor se ajustaram aos dados do parâmetro $\mu_{\text{máx}}$ obtidos pelo ajuste do modelo de Baranyi e Roberts para os dados de crescimento de *B. cereus* em purê de batata são apresentados na Figura 2 e as equações dos modelos com seus parâmetros ajustados são apresentadas na Tabela 3.

Ao analisar a Figura 3, é possível verificar de forma qualitativa que os modelos apresentaram bons ajustes aos dados experimentais, sendo que os modelos secundários apresentados na Tabela 3 podem ser usados para prever a velocidade específica máxima de crescimento de *B. cereus* nas condições estudadas e em condições que não extrapolem a temperatura no intervalo entre 4 °C e 19,7 °C.

Figura 2. Modelos secundários que representam o efeito da temperatura no parâmetro velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{m\acute{a}x}$) de *Bacillus cereus* em purê de batata. (A) modelo da potência, (B) modelo exponencial, (C) modelo da raiz quadrada e (D) modelo do tipo Arrhenius.



Fonte: elaborada pelo autor (2022).

Os modelos exponencial, raiz quadrada e potência apresentaram valores de R^2 acima de 0,95, com maior destaque para o modelo exponencial ($R^2 = 0,983$) e Raiz quadrada ($R^2 = 0,972$). Os valores de R^2 próximos a 1,0 são considerados como um ajuste satisfatório (ROSS, 1996). O modelo do Tipo Arrhenius que apresentou um menor desempenho, com um valor de R^2 igual a 0,896.

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

Modelos	Equação	R^2
Potência	$\mu_{m\acute{a}x} = 0,003 \times T^{(1,6033)}$	0,952
Exponencial	$\mu_{m\acute{a}x} = 0,0188 \times e^{0,1606 \times T}$	0,983
Raiz quadrada	$\sqrt{\mu_{m\acute{a}x}} = 0,029 (T + 1,67)$	0,972
Tipo Arrhenius	$\ln \mu_{m\acute{a}x} = -12,083 \times (1/T) - 0,7028$	0,896

Fonte: elaborada pelo autor (2022).

Os modelos secundários juntamente com os modelos primários podemos ser utilizados para prever o crescimento de *B. cereus* em purê de batata na faixa de temperatura estudada. Para isso, um modelo preditivo precisa ser validado, a partir de simulações do crescimento desse micro-organismos em condições de flutuação de temperatura de armazenamento.

Assim, a aplicação de modelos preditivos e *software* de fácil utilização pode auxiliar na identificação de patógenos contaminantes de alimentos em diferentes condições de armazenamento, sem a necessidade de realização de vários experimentos para determinar a qualidade e a segurança do produto. Além disso, os modelos podem ser utilizados para a tomada de decisão nas indústrias de vegetais, como verificar a eficiência de diferentes valores de pH na conservação dos alimentos, o desenvolvimento de novas formulações de alimentos, novas embalagens para o aumento da vida útil de alimentos, entre outras aplicações.

■ CONCLUSÃO

O modelo primário de Baranyi e Roberts apresentou bom desempenho para descrever o crescimento da *B. cereus* em purê de batata, com a estimativa dos parâmetros de crescimento. Além disso, os modelos secundários descreveram bem a influência da temperatura na velocidade específica máxima de crescimento de *B. cereus*, com destaque para os modelos Exponencial e Raiz quadrada. Assim, pode-se concluir que a aplicação de modelos preditivos e *software* de fácil utilização podem ser usados para orientar os proprietários de restaurantes, estabelecimentos e indústria de produtos vegetais, para preparar e armazenar adequadamente o purê de batata, e outros produtos relacionados, para evitar o crescimento de *B. cereus*.

■ REFERÊNCIAS

1. AKAIKE, H. A new look at the statistical model identification. **IEEE Transactions on Automatic Control**, v. 19, p. 716–723, 1974.
2. AUGUSTIN, J. -C. Challenges in risk assessment and predictive microbiology of foodborne spore-forming bacteria. **Food Microbiology**, v. 28, p. 209–213, 2011.
3. BARANYI, J.; ROBERTS, T. A. A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. **International Journal of Food Microbiology**, v. 23, p. 277-294, 1994.
4. BARANYI, J.; SILVA, N. B. The use of predictive models to optimize risk of decisions. **International Journal of Food Microbiology**, v. 240, p. 19–23, 2017.
5. BRASIL. Instrução Normativa nº. 60, de 23 de dezembro de 2019. A Diretoria Colegiada da ANVISA/MS estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União. 2019.
6. BURNHAM, K. P.; ANDERSON, D. R. Model Selection and Multimodel Inference. **Springer Science & Business Media**, 2003.
7. CARLIN, F. et al. Spore-forming bacteria in commercial cooked, pasteurised and chilled vegetable purées. **Food Microbiology**, v. 17, p. 153-165, 2000.

8. CHOMA, C. et al. Prevalence, characterization and growth of *Bacillus cereus* in commercial cooked chilled foods containing vegetables. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 88, p. 17-25, 2000.
9. DOAN, C. H.; DAVIDSON, P. M. Microbiology of potatoes and potato products: a review. **Journal of Food Protection**, v. 63, p. 668–683, 2000.
10. DRAPER, N. R.; SMITH, H. Applied regression analysis. **John Wiley & Sons**, 1998.
11. FOOD SAFETY AUTHORITY OF IRELAND (FSAI). Microbial Fact Sheet Series, *Bacillus cereus*, Issue No. 2 Food Safety Authority of Ireland, Abbey Court, Lower Abbey Street, Dublin 1 (2016). (Disponível online) <https://www.fsai.ie/WorkArea/DownloadAsset.aspx?id=10919>.
12. GEERAERD, A. H.; VALDRAMIDIS, V. P.; VAN IMPE, J. F. GlnaFIT, a freeware tool to assess non-log-linear microbial survivor curves. **International Journal of Food Microbiology**, v. 102, p. 95–105, 2005.
13. GONZÁLEZ, S. C. et al. “MicroHibro”: A software tool for predictive microbiology and microbial risk assessment in foods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 290, p. 226–236, 2018.
14. GUINEBRETIERE, M. H. et al. Contamination flows of *Bacillus cereus* and spore-forming aerobic bacteria in a cooked, pasteurized and chilled zucchini purée processing line. **International Journal of Food Microbiology**, v. 82, p. 223-232, 2003.
15. GUINEBRETIERE, M. H. et al. Identification of bacteria in pasteurized zucchini purées stored at different temperatures and comparison with those found in other pasteurized vegetable purées. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, p. 20-30, 2001.
16. HEINI, N. et al. Characterization of *Bacillus cereus* group isolates from powdered food products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 283, p. 59-64, 2018.
17. KIM, J. B. et al. Toxin genes profiles and toxin production ability of *Bacillus cereus* isolated from clinical and food samples. **Journal of Food Science**, v. 67, p. 25-29, 2011.
18. KING, N. J.; WHYTE, R.; HUDSON, J. A. Presence and significance of *Bacillus cereus* in dehydrated potato products. **Journal of Food Protection**, v. 70, p. 514-520, 2007.
19. LIU, Y. et al. Microrisk Lab: An Online Freeware for Predictive Microbiology. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 18, p. 607-615, 2021.
20. MCKELLAR, R.; LU, X.; RATKOWSKY, D. A. Model fitting and uncertainty. In: R. McKellar, & X. Lu (Eds.), **Modeling Microbial Responses in Foods** (p. 151–196). Boca Raton: CRC Press., 2003.
21. OSIMANI, A.; AQUILANTI, L.; CLEMENTI, F. *Bacillus cereus* foodborne outbreaks in mass catering. **International Journal of Hospitality Management**, v. 72, p. 145-153, 2018.
22. PARK, Y. B. et al. Prevalence, genetic diversity, and antibiotic susceptibility of *Bacillus cereus* strains isolated from rice and cereals collected in Korea. **Journal of Food Protection**, v. 72, p. 612–617, 2009.
23. PELEG, M.; CORRADINI, M. G. Microbial growth curves: What the models tell us and what they cannot. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 51, p. 917–945, 2011.

24. RAJKOVIC, A. et al. Prevalence and characterisation of *Bacillus cereus* in vacuum packed potato puree. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 41, p. 878-884, 2006.
25. RAWLINGS, J. O.; PANTULA, S. G.; DICKEY, D. A. Chapter 7: Model development variable selection. In: Applied regression analysis: a research tool (pp.205-234). **Springer Science & Business Media**, p. 205-234, 2001.
26. ROSENQUIST, H. et al. Occurrence and significance of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* in ready-to-eat food. **FEMS Microbiology Letters**, v. 250, p. 129-136, 2005.
27. ROSS, T. Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology. **Journal Applied Bacteriology**, v. 81, p. 501–508, 1996.
28. ROSS, T.; McMEEKIN, T. A. Predictive microbiology. **International Journal of Food Microbiology**, v. 23, p. 241–264, 1994.
29. SAMAPUNDO, S. et al. The influence of headspace and dissolved oxygen level on growth and haemolytic BL enterotoxin production of a psychrotolerant *Bacillus weihenstephanensis* isolate on potato based ready-to-eat food products. **Food Microbiology**, v. 28, p. 298-304, 2011.
30. SCHLEI, K. P. et al. Microbiologia prediva: aspectos gerais e tendências. **Perspectivas da Ciência e Tecnologia**, v. 10, p. 52-68, 2018.
31. SCHMID, D. et al. Elucidation of enterotoxigenic *Bacillus cereus* outbreaks in Austria by complementary epidemiological and microbiological investigations, 2013. **International Journal of Food Microbiology**, v. 232, p. 80-86, 2016.
32. SCHWARZ, G. Estimating the dimension of a model. **The Annals of Statistics**, v. 6, p. 461–464, 1978.
33. TAKENO, A. et al. Complete genome sequence of *Bacillus cereus* NC7401, which produces high levels of the emetic toxin cereulide. **Journal of Bacteriology**, v. 194, p. 4767–4768, 2012.
34. TENENHAUS-AZIZA, F.; ELLOUZE, M. Software for predictive microbiology and risk assessment: A description and comparison of tools presented at the ICPMF8 Software Fair. **Food Microbiology**, v. 45, p. 290–299, 2015.
35. THOMAS, L. V. et al. Effective use of nisin to control *Bacillus* and *Clostridium* spoilage of a pasteurized mashed potato product. **Journal of Food Protection**, v. 65, p. 1580–1585, 2002.
36. VALERO, M.; FERNÁNDEZ, P. S.; SALMERÓN, M. C. Influence of pH and temperature on growth of *Bacillus cereus* in vegetable substrates. **International Journal of Food Microbiology**, v. 82, p. 71-79, 2003.
37. WHITING, R. C.; BUCHANAN, R. L. A classification of models in predictive microbiology. **Food Microbiology**, v. 10, p. 175–177, 1993.