



**LETÍCIA GABRIELLE CAMPOS**

**ESTUDO CINÉTICO DE BACTÉRIAS DE INTERESSE NA  
INDÚSTRIA DE ALIMENTOS**

**LAVRAS - MG  
2019**

**LETICIA GABRIELLE CAMPOS**

**ESTUDO CINÉTICO DE BACTÉRIAS DE INTERESSE NA INDÚSTRIA DE  
ALIMENTOS**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Engenharia de Alimentos, para obtenção do título de Bacharel.

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Vanessa Rios de Souza  
Orientadora

Prof. Dr. Luís Roberto Batista  
Coorientador

**LAVRAS – MG  
2019**

**LETICIA GABRIELLE CAMPOS**

**ESTUDO CINÉTICO DE BACTÉRIAS DE INTERESSE NA INDÚSTRIA DE  
ALIMENTOS**

**KINETIC STUDY OF BACTERIA OF INTEREST IN THE FOOD INDUSTRY**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Engenharia de Alimentos, para obtenção do título de Bacharel.

APROVADA em 25 de novembro de 2019.

Dra. Vanessa Rios de Souza UFLA

Dr. Luís Roberto Batista UFLA

MSc. Nathasha de Azevedo Lira UFLA

Dra. Vanessa Rios de Souza  
Orientadora

Dr. Luís Roberto Batista  
Coorientador

**LAVRAS – MG  
2019**

## RESUMO

O calor é um dos métodos de conservação mais empregado para reduzir ou eliminar a carga de microrganismos patogênicos e deteriorantes, além de desativar as enzimas indesejáveis. Diante da necessidade de exploração da resistência térmica destes microrganismos visando a definição de tratamentos térmicos eficientes, o objetivo deste trabalho foi realizar um estudo cinético de inativação térmica de bactérias de interesse na indústria de alimentos (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* e *Listeria monocytogenes*). Partindo de uma concentração conhecida  $10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup> de cada microrganismo em meio BHI, foram realizados três tratamentos térmico (50°C, 55°C e 60°C) e em intervalos de tempos regulares foram coletadas alíquotas de cada amostra. Visando avaliar o efeito do pH, o experimento foi realizado em duas condições: pH 7 e pH 3,5. Para a contagem, as amostras em cada tempo foram devidamente diluídas e plaqueadas em meio PCA, apenas para a *Listeria monocytogenes* foi utilizado o meio TSA + glicose, e em seguida foram incubadas a 37°C por 48 horas. Analisando os resultados das quatro bactérias nos diferentes meios, pode-se observar que os valores de D diminuem drasticamente com o aumento da temperatura e consequentemente reduz-se o tempo do tratamento térmico. A bactéria *Staphylococcus aureus* apresentou em meio neutro  $D_{50^\circ\text{C}} = 22,88$  minutos,  $D_{55^\circ\text{C}} = 6,64$  minutos e  $D_{60^\circ\text{C}} = 1,36$  minutos, para meio ácido  $D_{50^\circ\text{C}} = 8,64$  minutos,  $D_{55^\circ\text{C}} = 5,21$  minutos,  $D_{60^\circ\text{C}} = 1,11$  minutos e valores de z iguais à  $z_{\text{pH}7} = 8,16^\circ\text{C}$  e  $z_{\text{pH}3,5} = 11,26^\circ\text{C}$ . A *Salmonella* obteve valores D iguais à  $D_{50^\circ\text{C}} = 15,75$  minutos,  $D_{55^\circ\text{C}} = 9,38$  minutos,  $D_{60^\circ\text{C}} = 0,9$  minutos em meio neutro e para meio ácido  $D_{50^\circ\text{C}} = 10,81$  minutos,  $D_{55^\circ\text{C}} = 5,78$  minutos,  $D_{60^\circ\text{C}} = 1,01$  minutos, e valores de z iguais à  $z_{\text{pH}7} = 8,06^\circ\text{C}$  e  $z_{\text{pH}3,5} = 9,72^\circ\text{C}$ . Já a *Escherichia coli* apresentou para meio neutro  $D_{50^\circ\text{C}} = 16,97$  minutos,  $D_{55^\circ\text{C}} = 6,47$  minutos,  $D_{60^\circ\text{C}} = 0,89$  minutos e para meio ácido  $D_{50^\circ\text{C}} = 16,20$  minutos,  $D_{55^\circ\text{C}} = 4,18$  minutos,  $D_{60^\circ\text{C}} = 1,53$  minutos e valores de z iguais à  $z_{\text{pH}7} = 7,83^\circ\text{C}$  e  $z_{\text{pH}3,5} = 9,76^\circ\text{C}$ . A *Listeria monocytogenes* apresentou em meio neutro  $D_{50^\circ\text{C}} = 15,03$  minutos,  $D_{55^\circ\text{C}} = 8,77$  minutos,  $D_{60^\circ\text{C}} = 1,68$  minutos e para meio ácido  $D_{50^\circ\text{C}} = 30,58$  minutos,  $D_{55^\circ\text{C}} = 12,53$  minutos,  $D_{60^\circ\text{C}} = 2,25$  minutos e valores de z iguais à  $z_{\text{pH}7} = 10,52^\circ\text{C}$  e  $z_{\text{pH}3,5} = 8,82^\circ\text{C}$ . As bactérias *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus* são as mais resistentes ao tratamento térmico, quando comparado com a *Escherichia coli* e *Salmonella* em meio com pH 7. Para o meio ácido pH 3,5 a bactéria *Staphylococcus aureus* foi a mais resistente seguida da *Escherichia coli*, *Salmonella* e *Listeria monocytogenes* respectivamente.

**Palavras-Chave:** Estudo cinético. Valor D. Valor z. *Escherichia coli*. *Staphylococcus aureus*. *Salmonella*. *Listeria monocytogenes*.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema de um trocador de calor de placas. ....	13
Figura 2 - Esquema de dois trocadores de calor de casco e tubos. ....	14
Figura 3 - Curva da taxa de letalidade. ....	16
Figura 4 - Curva do tempo de destruição térmica. ....	17
Figura 5 - Curva de tratamentos térmicos equivalentes. ....	18
Figura 6 - <i>Escherichia coli</i> . ....	23
Figura 7 - <i>Staphylococcus aureus</i> . ....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
Figura 8 - <i>Salmonella</i> ssp. ....	26
Figura 9 - <i>Listeria monocytogenes</i> . ....	27
Figura 10 - Fluxograma para determinação do valor D a 50°C. ....	32
Figura 11 - Curva de morte térmica para o <i>Staphylococcus aureus</i> ....	35
Figura 12 - Curva de tempo de destruição térmica para <i>Staphylococcus aureus</i> em meio com pH 7 (a) e pH 3,5 (b). ....	38
Figura 13 - Curva de morte térmica para a <i>Salmonella</i> . ....	39
Figura 14 - Curva de tempo de destruição térmica para <i>Salmonella</i> em pH 7 (a) e pH 3,5 (b). ....	41
Figura 15 - Curva de morte térmica para <i>Escherichia coli</i> . ....	42
Figura 16 - Curva de tempo de destruição térmica para <i>Escherichia coli</i> em pH 7 (a) e pH 3,5. ....	43
Figura 17 - Curva de morte térmica da <i>Listeria monocytogenes</i> . ....	44
Figura 18 - Curva de tempo de destruição térmica para a <i>Listeria monocytogenes</i> em pH 7 (a) e pH 3,5 (b). ....	46

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores encontrados de D para a bactéria <i>Staphylococcus aureus</i> em meio com pH 7. ....	36
Tabela 2 - Valores encontrados de D para a bactéria <i>Staphylococcus aureus</i> em meio com pH 3,5. ....	37
Tabela 3 - Valor z para a bactéria <i>Staphylococcus aureus</i> em diferentes meios.....	38
Tabela 4 - Valores encontrados de D para a bactéria <i>Salmonella</i> em meio com pH 7.....	40
Tabela 5 - Valores encontrados de D para a bactéria <i>Salmonella</i> em meio com pH 3,5.....	40
Tabela 6 - Valor z para a bactéria <i>Salmonella</i> em diferentes meios.....	41
Tabela 7 - Valores de D para <i>Escherichia coli</i> em meio com pH 7. ....	43
Tabela 8 - Valores de D para <i>Escherichia coli</i> em meio com pH 3,5. ....	43
Tabela 9 - Valor z para a bactéria <i>Escherichia coli</i> em diferentes meios. ....	44
Tabela 10 - Valores D para <i>Listeria monocytogenes</i> para meio pH 7.....	45
Tabela 11 - Valores D para <i>Listeria monocytogenes</i> para meio pH 3,5.....	46
Tabela 12 - Valor z para a bactéria <i>Listeria monocytogenes</i> em diferentes meios. ....	47

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	7
2	<b>OBJETIVO</b> .....	9
2.1	Objetivo Geral.....	9
2.2	Objetivos Específicos .....	9
3	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	10
3.1	Tratamento térmico.....	10
3.1.1	Branqueamento.....	11
3.1.2	Pasteurização.....	12
3.1.3	Esterilização .....	14
3.2	Estudo cinético .....	15
3.3	Fatores que influenciam na resistência térmica dos microrganismos .....	19
3.3.1	Composição nutricional do alimento .....	19
3.3.2	pH.....	20
3.3.3	Umidade e atividade de água .....	21
3.3.4	Presença ou não de oxigênio .....	22
3.4	Microrganismos problemáticos na indústria de alimentos.....	23
3.4.1	<i>Escherichia coli</i> .....	23
3.4.2	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	24
3.4.3	<i>Salmonella</i> .....	25
3.4.4	<i>Listeria monocytogenes</i> .....	27
4	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	30
4.1	Preparação do inóculo .....	30
4.2	Ensaio de inativação térmica .....	30
4.3	Análise dos dados.....	33
5	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	34
5.1	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	34
5.2	<i>Salmonella</i> .....	38
5.3	<i>Escherichia coli</i> .....	41
5.4	<i>Listeria monocytogenes</i> .....	44
6	<b>CONCLUSÃO</b> .....	49
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	50

## 1 INTRODUÇÃO

Como a maioria dos alimentos possuem determinadas características intrínsecas, como por exemplo, alta atividade de água, pH adequado e composição nutricional e química balanceada, estão naturalmente sujeitos a alterações de origem química como ação de enzimas e de origem microbiológica. Desta forma, para garantir a segurança alimentar e estender a vida útil dos alimentos realiza-se a aplicação de métodos de conservação. Dentre os métodos mais efetivos e amplamente utilizados pela indústria de alimentos tem-se o calor. O calor é um dos métodos de conservação mais empregado para eliminar/destruir os microrganismos presentes, sendo eles deterioradores e patogênicos, além de inativar as enzimas indesejáveis (FELLOWS, 2006).

O tratamento térmico consiste na aplicação de calor ao alimento durante um período de tempo e a uma temperatura cientificamente determinada para alcançar uma esterilidade comercial, sendo então, descrito minimamente como um binômio tempo e temperatura a que o produto foi submetido. Este binômio é geralmente definido com base no microrganismo de interesse mais resistente no alimento, de maneira que, a temperatura e tempo aplicados devam ser suficientes para promover uma destruição até níveis considerados seguros, de acordo com a legislação vigente (FELLOWS, 2006; GAVA; SILVA; FRIAS, 2009).

É importante frisar que os microrganismos são considerados inativados quando perdem, de forma irreversível, a capacidade de se multiplicar. Os microrganismos são inativados pela desnaturação de proteínas, danos aos ácidos nucleicos e fluidificação de lipídeos na presença de calor úmido, ou por oxidação na presença de calor seco. De acordo com a rigorosidade do tratamento térmico, o mesmo pode promover a inativação dos microrganismos de forma vegetativa e também de forma esporulada. Quando uma população microbiana é aquecida, a redução do número de organismos viáveis ocorre em taxas elevadas, contudo, há variações de resistência de organismo para organismo. A resistência depende do tipo de microrganismo, forma vegetativa ou esporulada, fase de crescimento, condições do meio e características do produto, tais como, composição, umidade, pH, entre outros. Em relação ao pH, alimentos que possuem pH ácidos, requerem tratamentos térmicos mais brandos, pois os microrganismos tendem a ser menos resistentes ao tratamento (ALTERTHUM; CARVALHAL, 1999; FOGOLARI; REIS; PHILIPPI, 2012).

O binômio de tempo e temperatura o qual deve ser aplicado ao alimento visando a obtenção de produtos seguros ao consumidor e para a sua determinação é imprescindível o conhecimento dos modelos matemáticos de Rhan e Bigelow, assim como os parâmetros cinéticos definidos por eles. Pode-se destacar dois parâmetros importantes no processo de

inativação térmica, o valor D e o valor z. O valor D é representa o tempo necessário para reduzir em 90% a concentração de microrganismos (ou qualquer outro composto) a uma temperatura constante. É também o tempo necessário para reduzir um ciclo logaritmo na curva de morte ou destruição térmica. Já o valor z é a variação da temperatura necessária para reduzir em 90% o tempo de tratamento para destruir uma carga definida de microrganismos. Ambos estão relacionados com o grau de resistência ao calor de um determinado microrganismo (FOGOLARI; REIS; PHILIPPI, 2012; HAUG, 1993).

Dessa forma, estudos cinéticos de inativação microbiológica, bem como o conhecimento dos parâmetros de resistência térmicos dos microrganismos alvo são de fundamental importância para o cálculo do tratamento térmico o qual o produto em questão deve ser submetido. Ou seja, o conhecimento destes parâmetros cinéticos, associado às características reológicas do alimento e dos equipamentos disponíveis para cada processo, permite a otimização e delineamento de processos de aplicação de calor que maximizem o atendimento de objetivos desejáveis e minimizem os indesejáveis (EMBRAPA, 2004).

## **2 OBJETIVO**

### **2.1 Objetivo Geral**

O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo cinético de inativação térmica de bactérias de interesse na indústria de alimentos em meios com diferentes pHs.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Determinar os parâmetros de resistência térmica D e z dos microrganismos patogênicos *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* e *Listeria monocytogene* em meios com diferentes pHs (ácido e básico)
- Comparar a resistência térmica dos microrganismos em estudo.
- Avaliar o efeito do pH do meio na resistência térmica dos microrganismos em estudo.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Tratamento térmico

O calor é um dos métodos mais utilizados no processamento de alimentos, apresentando efeitos desejáveis na qualidade sensorial (vários alimentos são consumidos cozidos, além de que o forneamento produz sabores que não podem ser obtidos de outras formas), na preservação dos alimento (através da destruição de enzimas, microrganismos, parasitas e insetos), capacidade de produzir alimentos que não necessitam de refrigeração e com vida útil prolongada, aumento da disponibilidade de alguns nutrientes e destruição de fatores antinutricionais (FELLOWS, 2019). No entanto, altas temperaturas podem também ocasionar no produto alimentício alterações indesejáveis, tais como, depreciações sensoriais (cor, sabor e textura) e nutricionais (como perda de vitaminas termo-sensíveis) (SHANMUGAM; CHANDRAPALA; ASHOKKUMAR, 2012).

Como os alimentos, devida a natureza da sua constituição, estão naturalmente susceptíveis a alterações de ordem química e microbiológica, faz necessário a aplicação de métodos de conservação visando a obtenção de produtos mais estáveis, seguros e com vida útil estendida. Dentre os mais aplicados tem-se o calor. O termo calor é usado para designar uma quantidade líquida de energia transferida nos processos de interação térmica entre diferentes sistemas (VAZQUEZ, 1987). No processamento de alimentos, o tratamento térmico tem como objetivo garantir a segurança e a preservação dos alimentos, agindo na desnaturação das enzimas e destruição dos microrganismos patogênicos e deterioradores, fornecendo assim produtos com maior vida útil (NUNES; TAVARES, 2019; PALOP; MATINEZ, 2006; RAIKOS, 2010).

Os alimentos podem ser submetidos ao tratamento térmico antes ou após serem acondicionados em sua embalagem. Nos processos executados dentro da embalagem, esta é processada junto com o alimento, o qual não sofre mais contato com o ambiente após processo (sistema hermético), como é o caso dos alimentos apertizados. Caso o alimento seja processado em trocadores de calor, o envase deve ser realizado subsequentemente em uma embalagem tratada previamente e em um ambiente apropriado para evitar recontaminação. Os processos em que o alimento é submetido ao tratamento já embalado são considerados mais seguros pelo fato de apresentarem menor probabilidade de contaminação, porém resultam em maior gradiente de reações e gasto energético (AUGUSTO, 2009).

O tratamento térmico assegura que todo o alimento atinja uma temperatura de no mínimo 70°C. No entanto, no tratamento térmico podem ser aplicadas temperaturas inferiores desde que as combinações de tempo e temperatura sejam eficientes para garantir a qualidade

higiênico-sanitária dos alimentos. A eficácia do tratamento térmico é analisada pela verificação do tempo e da temperatura empregados e, quando aplicável, pelas mudanças na textura e cor na parte central do alimento (SILVA et al., 2015). O tempo e a temperatura a serem aplicados irão depender da resistência ao calor dos microrganismos ou enzimas a serem destruídos e da sensibilidade ao calor dos alimentos; por esses motivos podem ser encontrados na literatura vários estudos que utilizam diferentes binômios tempo-temperatura em um mesmo produto (OLIVEIRA et al., 2011). De acordo com a rigorosidade do tratamento térmico o mesmo pode ser classificado em branqueamento, pasteurização e esterilização, esses se diferem na intensidade e conseqüentemente nos efeitos causados aos alimentos.

### **3.1.1 Branqueamento**

O branqueamento é caracterizado como um pré-tratamento de frutas e vegetais, sendo normalmente realizado antes de alguns processos industriais tais como em tratamentos de congelamento, produção de conservas, secagem e apertização. Este método consiste em um processo térmico de rápida aplicação, na qual os alimentos são aquecidos em água fervente ou vapor, e posteriormente é realizado um choque térmico em água com temperatura próxima ao ambiente para evitar o amolecimento excessivo dos tecidos (CORREIA; FARAONI; PINHEIRO-SANT'ANA, 2008; EVANGELISTA, 2008; MANPREET et al., 2000; PROCHASKA et al., 2000).

O processo consiste em submeter o alimento a temperaturas na ordem de 70 a 100°C e tempos que variam de 1 a 5 minutos (RANJAN et al., 2016). O branqueamento a vapor, consiste em submeter o alimento por um certo tempo e temperatura por meio de uma atmosfera de vapor saturado, levando a uma duração 1,5 vezes maior que o branqueamento com água quente. A combinação de branqueamento a vapor e água quente também é muito utilizada (SHEETAL; JYOTHI; JAMUNA; 2008).

O objetivo principal do branqueamento é inativar enzimas que são responsáveis pelas reações de deterioração, ou seja, que ocasionam escurecimento dos tecidos e alterações de ordem nutricional e sensorial (HUANG et al., 2016). Além disso, o branqueamento também promove o amaciamento de tecidos vegetais, conseqüentemente, facilitando o envase, remove o ar dos espaços intercelulares, no caso de vegetais enlatados, além de diminuir a carga microbiana inicial do produto e ajuda a preservar a cor e o sabor, enquanto remove o ar aprisionado (AZEREDO, 2004; BAHCECI et al., 2004; ELISABETH; MARISA; DIANE, 2001; NEGI; ROY, 2000; PAULA; MACHADO; COSTA, 2014). Para as hortaliças objetiva

eliminar resíduos de defensivos agrícolas e de produtos resultantes do metabolismo vegetal, proporciona a reativação da cor característica de cada produto, além da eliminação de sabor e aroma desagradáveis ou mais intensos (OETTERER; REGITANO-d'ARCE; SPOTO, 2006). Porém, o calor intenso da água fervida pode levar à ruptura da estrutura celular e a perda de bioativos fito-químicos (RUNGAPAMESTRY et al., 2007). Por isso, a duração do branqueamento deve ser ajustada adequadamente, com base na suscetibilidade variável à degradação com o processamento térmico (HUANG et al., 2016).

### **3.1.2 Pasteurização**

Consiste em um tratamento térmico onde os alimentos líquidos são aquecidos a uma temperatura inferior a 100°C durante um determinado tempo, visando essencialmente estender a vida útil dos produtos alimentícios por alguns dias ou semanas. Tem o objetivo principal de eliminar os microrganismos patogênicos e deteriorados que se encontram na forma vegetativa, além de inativar enzimas deterioradoras (FELLOWS, 2019; TADINI et al., 2016).

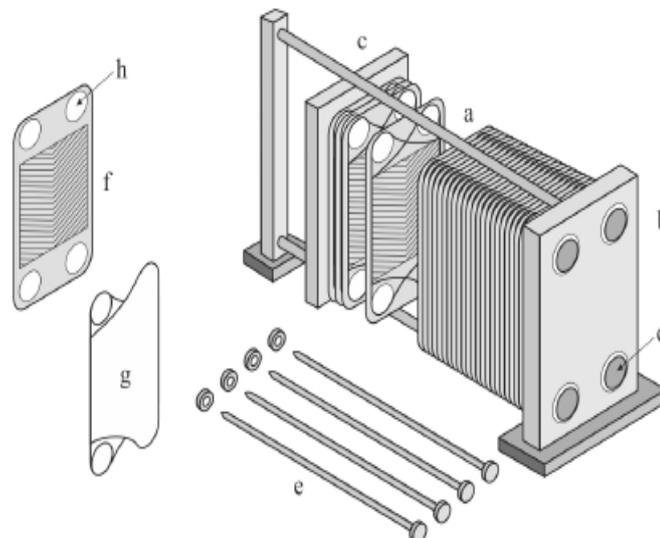
Em alimentos tais como o leite e ovo líquido que apresentam baixa acidez ( $\text{pH} > 4,5$ ), a pasteurização é aplicada com o intuito de reduzir os riscos à saúde pública com relação aos microrganismos patogênicos, além de contribuir para aumentar a vida útil de alimentos por vários dias ou semanas. Como estes alimentos apresentam condição propícia para germinação dos esporos, os alimentos pasteurizados precisam ser mantidos sob refrigeração. No entanto, alimentos ácidos, tais como os sucos de frutas que apresentam alta acidez ( $\text{pH} < 4,5$ ), a pasteurização é utilizada para aumentar a vida útil em várias semanas sob armazenamento em temperatura ambiente pelo fato de ocasionar inativação de enzimas e a destruição de microrganismos deteriorantes, tais como as leveduras e bolores. A pasteurização é um tratamento considerado brando propiciando geralmente pequenas depreciações no valor nutricional e nas características sensoriais do alimento (FELLOWS, 2019).

Para realizar a pasteurização pode ser utilizado um trocador de calor. Um trocador de calor, é um equipamento usado para efetuar a troca térmica entre duas (ou mais) correntes, um fluido, a temperatura maior (fluido quente), cede energia térmica para outro (fluido frio) sem que ocorra mistura. O contato indireto entre os fluidos ocorre por meio de uma parede metálica (TADINI et al., 2016). Há diversos tipos de trocador de calor, a sua escolha depende de vários fatores como custo global, requisitos do processo, características dos fluidos quente e frio, desempenho térmico, perda de carga, facilidade de manutenção e limpeza, espaço

ocupado entre outros (TADINI et al., 2016). Geralmente a pasteurização é realizada em trocadores do tipo casco e tubos e em trocadores de placas.

O trocador de calor de placas é constituído por um pacote de finas placas metálicas que formam canais de escoamento entre cada par de placas. Os fluidos quente e frio escoam alternadamente por esses canais. Para que não haja contaminação entre os fluidos é fundamental a vedação dos canais (TADINI et al., 2016). É composto por painel de controle com termo-registrador, seguido de resfriamento até que a temperatura seja igual ou inferior a 4°C para alimentos de baixa acidez, já os alimentos ácidos o resfriamento ocorre até atingir a temperatura ambiente (ABRANCHES; CERES, 2008). As placas são, em geral, corrugadas para melhorar a sua resistência mecânica (o enrugamento confere maior rigidez) assim como melhorar a eficiência de troca térmica (intensificação da turbulência). Há vários formatos de ranhuras, sendo as mais usuais a “espinha de peixe”, com ranhuras inclinadas (FIGURA 1) e a “tábua de lavar” em que as ranhuras são paralelas e horizontais.

Figura 1 - Esquema de um trocador de calor de placas.



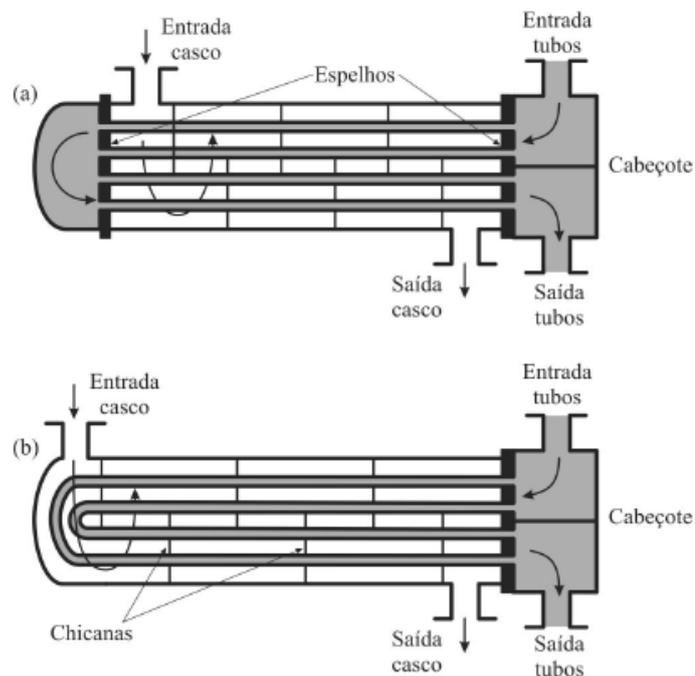
a- Pacote de placas aberto; b - pedestal fixo; c- pedestal móvel; d - conexão para entrada ou saída de fluido; e - parafusos de aperto; f - placa com corrugação espinha de peixe; g - gaxeta da placa; h- orifício

Fonte: Tadini et al. (2016).

A pasteurização também pode ser realizada utilizando trocadores de calor do tipo casco e tubo (FIGURA 2) que são muito utilizados para pasteurizar alimentos e alguns são adequados para alimentos com maior viscosidade e não newtonianos como a maionese, *ketchup*, produtos lácteos e alimentos para bebês (FELLOWS, 2019). Nos trocadores de calor do tipo casco e tubos também chamado de feixe tubular, um feixe de tubos (que pode chegar a

ter mais de mil tubos) preso em um disco conhecido como “espelho” é envolto em um corpo cilíndrico, chamado de “casco”. Um dos fluidos escoa pelo interior do feixe de tubos e o outro escoa pelo interior do casco. Dentro do casco, é comum o uso de chicanas, que são placas que forçam o fluido a mudar de direção, aumentando a turbulência e, conseqüentemente, a troca térmica (TADINI et al., 2016).

Figura 2 - Esquema de dois trocadores de calor de casco e tubos.



a - Trocador com espelhos fixos; b - trocador com feixe de tubos em U.

Fonte: Tadini et al. (2016).

A pasteurização feita em produtos pasteurizados do tipo lácteos líquidos, tais como os sorvetes, sobremesas geladas de leite ou gemada que possuem alto teor de açúcar ou que apresentem alta viscosidade geralmente necessitam de tempos/temperaturas de pasteurização maiores do que as condições mínimas para o leite (FELLOWS, 2019).

### 3.1.3 Esterilização

A esterilização é um método em que os alimentos são aquecidos a uma temperatura elevada (normalmente entre 121 a 140°C), durante um tempo que pode variar de alguns segundos a vários minutos que irá depender das condições de aquecimento, tamanho e formato do recipiente, resistência ao calor dos microrganismos, pH do alimento e estado físico do alimento (DEAK, 2014; FELLOWS, 2019; LI; FARID, 2016).

É um processo que consiste em uma operação unitária, tratando-se de um dos métodos mais eficazes de preservação de alimentos, capaz de inativar a forma vegetativa (mais resistente) de microrganismos deterioradores e patogênicos que colocam em risco a saúde pública. Este procedimento tem como referência a destruição os esporos da bactéria *C. botulinum*, responsável pelo botulismo, uma das formas mais perigosas de intoxicação alimentar e a que representa maior resistência ao calor. Além disso também inativa enzimas e microrganismos que são responsáveis por deteriorar os alimentos durante o período de armazenamento (FELLOWS, 2019; RAMASWAMY, 2010). A esterilização pode ser feita em produtos embalados (apertização) ou a granel, em alimentos antes do envase.

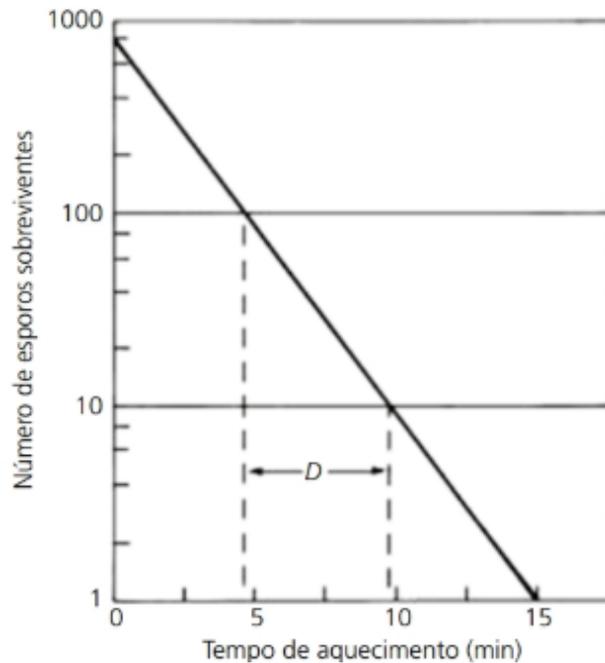
Nos alimentos embalados é utilizado uma temperatura que varia entre 115-125°C, por aproximadamente 15 minutos, sendo a esterilização geralmente realiza em autoclave. Já em alimentos a granel, antes do acondicionamento, o sistema UHT (135-150°C/2 a 5 segundos), pode ser utilizado, sendo neste caso imprescindível o envase em ambiente asséptico e em embalagens estéreis (VASCONCELOS; FILHO, 2010).

Assim, como resultado os alimentos esterilizados têm uma vida útil maior que 6 meses em temperatura ambiente, sendo esta uma das vantagens da esterilização. Os alimentos também são pré-cozidos e requerem aquecimento mínimo antes de serem consumidos, o que aumenta assim sua conveniência. Porém, o severo tratamento térmico no processo convencional de esterilização pode ocasionar alterações na qualidade nutricional e sensorial dos alimentos, além de afetar a cor e a textura, comprometendo a qualidade final dos produtos (BERK, 2013; DEAK 2014; FEATHERSTONE, 2015; FELLOWS, 2019; TEIXEIRA, 2015).

### **3.2 Cinética de Inativação Térmica**

A taxa de destruição microbiológica segue normalmente uma reação de primeira ordem, ou seja, quando o alimento é submetido ao aquecimento em temperatura alta (suficiente para inativar microrganismos), a mesma porcentagem morre em um determinado intervalo de tempo independentemente do número presente inicialmente. Isso é conhecido como ordem logarítmica de morte e é descrita pela curva de morte térmica (FIGURA 3) (FELLOWS, 2019; HOFFMAN, 2004).

Figura 3 - Curva da taxa de letalidade.



Fonte: Fellows (2019).

A letalidade requerida para o processamento, é definida como o tempo necessário em uma temperatura específica, para reduzir a população de microrganismos até níveis seguros no produto final (FELLOWS, 2006). Diante disso, o tempo necessário para destruir 90% dos microrganismos é referido como tempo de redução decimal ou valor D. Valores de D, variam para diferentes espécies microbianas, e um maior valor D indica uma maior resistência ao calor (FELLOWS, 2019).

O modelo matemático (Equações 1 e 2) proposto por Rahn é utilizado para descrever o efeito do tratamento térmico a uma temperatura constante na destruição de microrganismos e componentes do alimento, que durante sua degradação obedeça a equação de uma reação de primeira ordem (NORONHA, 1999).

$$\ln(N) = \ln(N_0) - k_d \cdot t \quad (1)$$

$$\log(N) = \log(N_0) - 0,4343k_D \cdot t \quad (2)$$

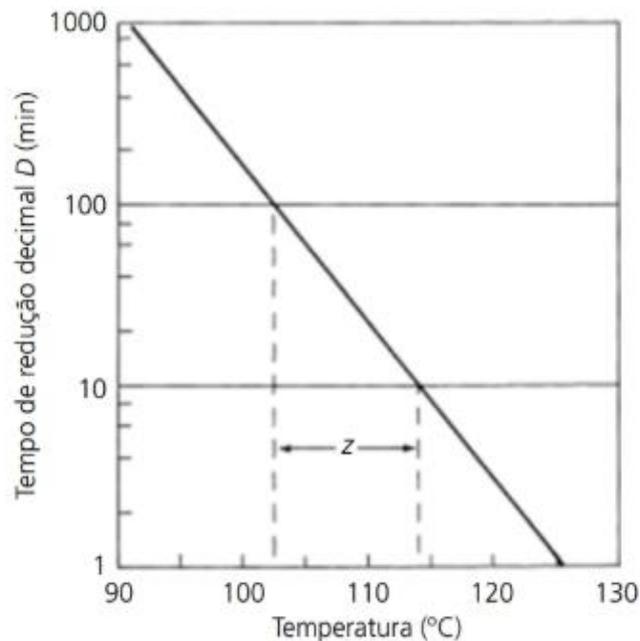
Em que  $N$  é a concentração de microrganismos viáveis ou composto de interesse,  $N_0$  a concentração inicial,  $k_d$  é a constante de proporcionalidade (a velocidade específica de morte ou destruição) e  $t$  o tempo.

O valor D (Equação 3) pode ser facilmente calculado então obtendo-se o inverso da inclinação da reta da curva de morte térmica.

$$D = \frac{1}{0,4343K_d} \quad (3)$$

Com valores de D a diferentes temperaturas, pode-se construir uma curva semilogarítmica do tempo de destruição térmica (TDT) (FIGURA 4). A inclinação da curva de TDT é denominada de valor z, e é definida como o número de graus Celsius necessário para alterar dez vezes o tempo de redução decimal (FELLOWS, 2019).

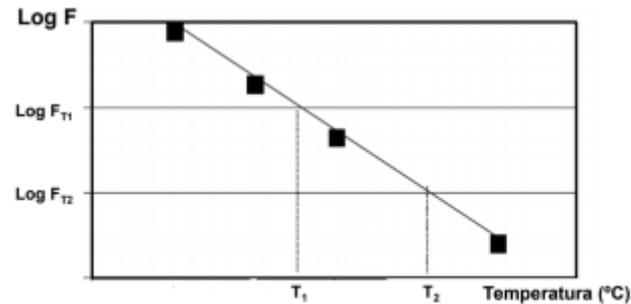
Figura 4 - Curva do tempo de destruição térmica.



Fonte: Fellows (2019).

Partindo de uma concentração determinada de microrganismo, é possível determinar o parâmetro cinético F, que é definido como o tempo necessário para destruir certa carga de microrganismo, a uma temperatura específica (FIGURA 5) (NORONHA, 1999).

Figura 5 - Curva de tratamentos térmicos equivalentes.



Fonte: Fellows (2019).

De acordo com a definição de F, pode-se calculá-lo através das equações (4 e 5) descritas a seguir.

$$\frac{t}{D} = \frac{F}{D} = \log(N_0) - \log(N) \quad (4)$$

$$F = \log\left(\frac{N_0}{N}\right) \cdot D = n \cdot D \quad (5)$$

O modelo matemático de Bigelow propõe tratamentos térmicos equivalentes, através de conhecidos valores de z e binômio tempo x temperatura. Utilizando as equações (6 e 7) descritas abaixo, pode-se calcular os tratamentos térmicos equivalentes.

$$F_{T1} = F_{T2} \cdot 10^{\frac{T2-T1}{z}} \quad (6)$$

$$D = D_{ref} \cdot 10^{\frac{T_{ref}-T}{z}} \quad (7)$$

De modo geral, quanto maior o valor de D, maior será a resistência do microrganismo ao tratamento térmico. E essa resistência não depende apenas do tipo de microrganismo, idade da célula, forma e estágio de crescimento, mas também de características do meio em que se aplica o tratamento como pH, atividade de água, composição nutricional, entre outras (FELLOWS, 2019).

### 3.3 Características do meio que influenciam na resistência térmica dos microrganismos

Os principais fatores que afetam na resistência térmica dos microrganismos são: a composição do alimento, pH, presença ou não de oxigênio, umidade e atividade de água. Estes fatores, que serão abaixo descritos em mais detalhes, afetam o meio de modo a favorecer ou não o crescimento dos microrganismos afetando conseqüentemente sua resistência térmica ao calor. De maneira geral, em meios propícios a atividade, os microrganismos apresentam maior resistência térmica exigindo dessa forma, tratamentos térmicos mais rigorosos.

#### 3.3.1 Composição nutricional do alimento

Os microrganismos se diferenciam quanto às suas exigências aos aspectos de crescimento e à capacidade de utilizarem os diferentes substratos que formam os alimentos. As condições que afetam o crescimento microbiano, principalmente das bactérias, são essencialmente a composição nutricional do seu meio envolvente (COWAN, 2012). Assim, baseado no tipo de nutriente que compõe o alimento, pode-se determinar qual o microrganismo terá maiores chances de se desenvolver.

Os requisitos nutricionais de cada microrganismo dependem da sua capacidade metabólica. Uma célula que não é capaz de sintetizar um nutriente essencial deve ser hábil para adquirir esse nutriente no seu meio de crescimento. As diferenças nos requisitos nutricionais das bactérias distinguem principalmente na fonte de carbono e na capacidade de sintetizar purinas, aminoácidos, pirimidinas e vitaminas. Os ingredientes básicos de um meio precívél aos microrganismos consistem em azoto, carbono, enxofre, fosforo, alguns sais inorgânicos e elementos essenciais (PELCZAR; CHAN; KRIEG, 1986).

Os carboidratos podem ser utilizados pela maioria dos microrganismos, seja por via oxidativa ou fermentativa. Processos fermentativos dão origem a alterações no aroma e sabor dos alimentos. Em relação as proteínas estas são dificilmente metabolizadas pela maioria de microrganismos, entretanto, algumas bactérias proteolíticas (algumas espécies de *Bacillus*, *Clostridium*, *Proteus*, *Aeromonas*, *Staphylococcus* e *Pseudomonas*) podem ocasionar a putrefação de alimentos proteicos, alterar a textura, ocasionando amolecimento e alteração no sabor (GAVA; SILVA; FRIAS, 2009).

As substâncias nitrogenadas e os aminoácidos são metabolizados por várias bactérias, provocam alterações no sabor e aroma, e estas mudanças indesejáveis dependem do microrganismo envolvido e do tipo de substrato. Em relação aos óleos e gorduras, estes não favorecem o desenvolvimento da maioria dos microrganismos, no entanto, sofrem ação de

leveduras, bolores e algumas bactérias lipolíticas. Além disso, alguns microrganismos possuem a capacidade de sintetizar todas ou algumas vitaminas na qual necessitam e, portanto, elas devem estar nos alimentos (GAVA; SILVA; FRIAS, 2009).

### 3.3.2 pH

O pH é a medida da atividade de íons de  $H^+$  dissolvidos e é utilizado a seguinte fórmula (Equação 8) para o cálculo do pH:

$$pH = - \log_{10} \alpha_H^+ \quad (8)$$

Onde  $\alpha_H^+$  significa a atividade dos íons H e é adimensional.

O valor do pH varia entre 0 a 14, sendo que 7 é o valor que representa a neutralidade. As soluções que apresentam concentrações de  $H^+$  maior do que a de  $OH^-$  (ácidos) possuem pH menor do que 7,0 e as soluções onde a concentração de  $OH^-$  é maior do que a de  $H^+$  (bases ou álcalis) apresentam um pH maior do que 7,0. Em alimentos, o pH é controlado por tampões químicos, tais como as proteínas, aminoácidos, ácidos carboxílicos, fosfatos, ácidos orgânicos fracos, ácido cítrico e sais de ácido fosfórico (FELLOWS, 2019).

O pH é um parâmetro de grande importância na limitação dos microrganismos que são capazes de se desenvolver no produto alimentício. Os alimentos em função do pH podem ser classificados em 3 grupos baseada na capacidade do esporo do *Clostridium botulinum* se desenvolver, sendo eles: alimentos pouco ácidos: apresentam pH 4,5; alimentos ácidos: possuem pH entre 4,0 e 4,5 e alimentos muito ácidos: apresentam pH 4,0. Em alimentos que possuem pH abaixo de 4,5 não há o risco de desenvolver *Clostridium botulinum*, bem como, de maneira geral, das bactérias patogênicas e em alimentos com pH > 4,5 há possibilidade de desenvolvimento da maioria das bactérias. Nos alimentos ácidos (pH 4,0 a 4,5), podem se desenvolver bactérias lácticas e algumas esporuladas (*Bacillus* e *Clostridium*); bolores e leveduras encontram-se em ótimas condições para se desenvolver (HOFFMANN, 2001).

Algumas bactérias podem ser alcalófilas, na qual, sobrevivem em ambiente alcalino (pH > 8,5) e há também as bactérias acidófilas, que resistem a ambientes com pH entre 2 e 5 (ENGELKIRK, 2012).

### 3.3.3 Umidade e atividade de água

Para que ocorra a proliferação de bactérias, a umidade é um fator fundamental visto que a água é essencial aos seres vivos para que possam realizar as funções metabólicas e assim dar continuidade ao processo da vida (ENGELKIRK; 2012).

O conhecimento somente do conteúdo de água não é suficiente para determinar a estabilidade de um alimento, uma vez que os alimentos são instáveis quando possuem um baixo teor de umidade, por exemplo o óleo de amendoim deteriora-se caso a úmida ultrapasse o valor de 0,60%, no entanto alguns alimentos são estáveis ao possuírem um teor de umidade relativamente alto, como é o caso do amido de batata que é estável a 20% de umidade. A vida útil de um alimento é determinada baseado na quantidade de água disponível para atividade microbiológica, química ou enzimática, e esta é medida pela atividade de água ( $a_w$ ) do alimento, que também é conhecida como a pressão de vapor relativa (PVR). A atividade de água é uma definição química da relação entre a pressão do vapor de água na substância ( $p$ ) e a pressão do vapor de água pura à mesma temperatura ( $p_0$ ), expresso pela equação:  $a_w = p/p_0$  (FELLOWS, 2019; TORTORA; FUNKE; CASE, 2010).

Nos alimentos a  $a_w$  está relacionada com a quantidade de umidificantes (cloreto de sódio ou sacarose) presentes, que se ligam a água disponível, tornando-a indisponível para serem utilizadas por microrganismos em suas atividades metabólicas (RIVERA-REYES; CAMPBELL; CUTTER, 2019; RUSSELL et al., 2003).

Em um sistema alimentar quando a  $a_w$  de um microrganismo é mais baixa do que a do alimento a água é absorvida e assim as espécies podem crescer, porém se a  $a_w$  do microrganismo for mais elevada, o organismo tende a se desidratar, e passa a se tornar dormente ou morre (COWAN, 2012).

A atividade microbiana geralmente é inibida abaixo de  $a_w = 0,6$ ; a maior parte dos fungos é inibido abaixo de  $a_w = 0,7$ ; a maioria das leveduras são inibidas abaixo de  $a_w = 0,8$  e geralmente as bactérias são inibidas abaixo de  $a_w = 0,9$ . Em alimentos com baixa  $a_w$  ocorrem duas reações importantes (escurecimento por Maillard e oxidação dos lipídeos), e em alimentos com  $a_w$  mais elevadas, o escurecimento atinge o seu máximo. Em  $a_w$  baixa a oxidação de lipídeos (rancificação) ocorre devido a ação dos radicais livres. A interação da  $a_w$ , com a temperatura, oxigênio, pH, dióxido de carbono ou conservantes químicos ocasiona um efeito na inibição do crescimento microbiano (FELLOWS, 2019).

Normalmente as bactérias são mais exigentes em relação à disponibilidade de água livre, seguidas pelos bolores e leveduras. Alguns grupos de microrganismos são resistentes a baixas  $a_w$ , tais como os microrganismos osmofílicos (precisam de ambiente com baixa  $a_w$ ),

microrganismos osmodúricos (suportam, porém não exigem ambientes com elevada concentração de açúcar), microrganismos halofílicos (para se desenvolver precisam de ambientes com elevada concentração salina), microrganismos halodúricos (resistem a ambientes com alta concentração de sal) e microrganismos xerofílicos (apresentam afinidade a ambientes secos) (HOFFMANN, 2001).

### 3.3.4 Presença ou não de oxigênio

De acordo com as características dos alimentos e embalagens, os mesmos podem apresentar diferentes concentrações de oxigênio dissolvido, sendo esse um fator crítico que afeta o crescimento dos microrganismos. De acordo com a necessidade e capacidade em presença/ausência de oxigênio os mesmos podem ser classificados em 4 grupos (aeróbios, facultativos, anaeróbios e microaerófilos) (GAVA; SILVA; FRIAS, 2009).

Microrganismos aeróbios necessitam de oxigênio para crescer e são capazes de gerar mais energia a partir do uso de nutrientes disponíveis, quando comparado com os microrganismos que não fazem uso de oxigênio para as reações de produção de energia (anaeróbios) (SPOLIDORIO; DUQUE, 2013).

Os microrganismos facultativos são aqueles que podem crescer tanto na presença quanto na ausência de oxigênio. Eles não necessitam de oxigênio para o seu crescimento, embora possam utiliza-lo para a produção de energia nas reações químicas (BERTHECORTI; FETZNER, 2002; DA CRUZ et al., 2011; PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005).

O grupo dos anaeróbios compreende uma ampla variação biológica. Neste grupo há os anaeróbios “estritos”, como por exemplo a bactéria *Treponema denticola* e várias espécies de *Clostridium* spp., que só crescem se o oxigênio (O<sub>2</sub>) estiver ausente no meio, no entanto, os anaeróbios “moderados” crescem em atmosferas que contêm até 10% de oxigênio (BERTHECORTI; FETZNER, 2002; SPOLIDORIO; DUQUE, 2013).

Os microaerófilos, são organismos que crescem em meios com quantidade de oxigênio muito baixa, e em meios com quantidades de oxigênio normal não conseguem crescer, ou seja, não toleram o oxigênio do ambiente. As leveduras pertencentes aos gêneros *Candida* spp., *Rhodotorula* spp., *Saccharomyces* spp., *Torulaspora* spp. e *Tricosporon* spp., na ausência de cuidados após o processamento térmico podem se desenvolver, uma vez que são microaerófilas, elas crescem em locais onde há quantidade residual de oxigênio, como por exemplo em embalagens a vácuo ou em atmosfera modificada e nestes casos o seu controle se dá pela utilização de conservantes (GUERRERO; CHABELA, 2000).

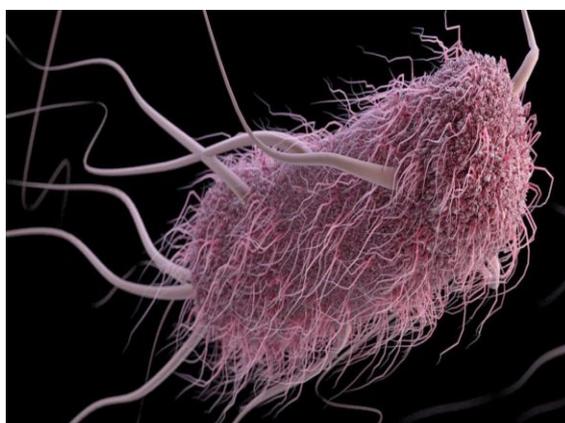
### 3.4 Microrganismos de interesse na indústria de alimentos

Existem vários microrganismos deteriorados e patogênicos de interesse na indústria de alimentos e dentro eles têm-se: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* e *Listeria monocytogenes*.

#### 3.4.1 *Escherichia coli*

A *E. coli* (FIGURA 6) foi isolada pela primeira vez em 1885, por Theodor Escherich, a partir de fezes de uma criança com diarreia, se tornando então, um dos microrganismos mais estudados em medicina e veterinária. Essa bactéria apresenta formato de bacilo, é Gram-negativo, pertencem ao filo Proteobacteria e família Enterobacteriaceae (AIJUKA; BUYS, 2019; SHIN et al., 2015). As enterobacteriaceae incluem seis gêneros e várias espécies de microrganismos, sendo que alguns são habitantes comuns do intestino de animais, e outros são causadores de febre entérica, toxinfecções e desintérias. No entanto, a maioria das cepas não são patogênicas, sendo benéficas ao intestino (GONÇALVES; MARQUES; LUCCA, 2002).

Figura 6 - *Escherichia coli*.



Fonte: Kitlabor (2019).

Além disso, são organismos aeróbios e anaeróbios facultativos, que são capazes de fermentar glucose e lactose e converter estes substratos em vários metabólitos orgânicos necessários para formar os seus lipídeos, proteínas, ácidos nucleicos, e outros constituintes orgânicos celulares, com produção de ácido e gás (MURARKA et al., 2008).

A temperatura ótima de crescimento deste microrganismo está entre 30 a 37°C, mas podem crescer desde 2,5 a 45,5°C. A *E. coli* é capaz de crescer a valores de atividade de água mínimos de 0,9508 e este patógeno prefere ambientes que apresentem pH neutro (6,5 - 7,5)

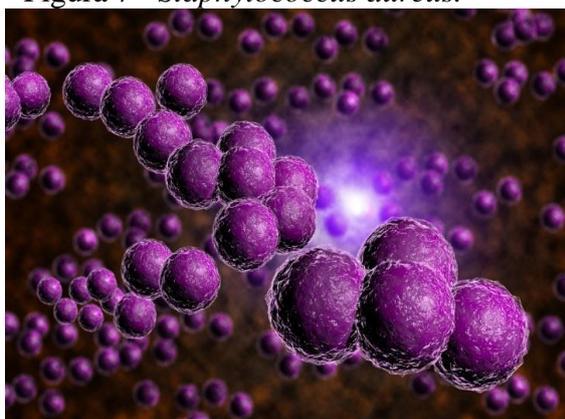
para obter um crescimento ótimo. Porém, este organismo pode se adaptar a condições ácidas no início da fase estacionária ou antes de se expor a um ambiente ácido sub-letal (FOSTER, 2004; GONÇALVES; MARQUES; LUCCA, 2002; LACOUR; LANDINI, 2004).

A *E. coli* pertence ao grupo coliforme e é um habitante natural do trato intestinal da maioria dos animais e humanos (JAY, 2005; MARQUEZI; GALLO; DIAS, 2010; SILVA et al., 2005), sendo considerado o indicador de contaminação fecal mais específico, uma vez que é o único membro das bactérias coliformes que é encontrado exclusivamente nas fezes e não se multiplica no ambiente (AIJUKA; BUYS, 2019; ANDRADE, 2008; BRASIL, 2004). A *E. coli* pode incidir em carne e produtos derivados durante a evisceração de animais no matadouro, e ainda pode ser facilmente encontrada em outros alimentos como vegetais e água, através de contaminação fecal (BHAVYA; HEBBAR, 2019; DOYLE; BEUCHAT; MONTVILLE, 2001).

### 3.4.2 *Staphylococcus aureus*

O *Staphylococcus aureus* (FIGURA 7) é uma bactéria esférica do grupo dos cocos Gram-positivo, não formador de esporos, geralmente não-encapsulados, com aproximadamente 0,5 a 1,5 µm de diâmetro, catalase positivo, anaeróbia e aeróbica facultativa. Essa bactéria pode apresentar-se de forma isolada, aos pares, em cadeias curtas ou agrupados (aspecto parecido com cacho de uvas) (SANTOS et al., 2007).

Figura 7 - *Staphylococcus aureus*.



Fonte: Murray-Brown Laboratories (2019).

Aproximadamente 30% da população é colonizada por essa bactéria, que frequentemente coloniza vias aéreas superiores e a pele, podendo causar bacteremia e endocardite infecciosa, infecções osteoarticulares, da pele e dos tecidos moles, podendo ocasionar infecções necróticas graves e potencialmente letais (FLORA et al., 2019;

HASANNEJAD-BIBALAN et al., 2019; KIM, 2019; TONG et al., 2015; WERTHEIM et al., 2005).

As cepas de *S. aureus* (aproximadamente 70%) secretam uma família de exotoxinas estruturalmente relacionadas, entre elas a toxina-1 da síndrome do choque tóxico e os sorotipos SEs SE-A, SE-B, SE-C, SE-D, SE-E e SE-G, que são superantígenos de células T (FLORA et al., 2019).

*S. aureus* é capaz de desenvolver e produzir enterotoxinas sob uma ampla faixa de temperaturas (10 - 46°C), pH (4,2 - 9,3), níveis de atividade de água (aw) (mínimo 0,86) e concentrações de cloreto de sódio (10 - 15%) (ADAMS; MOSS; MCCLURE, 2016; LE LOIR; BARON; GAUTIER, 2003; PAULIN; HORN; HUDSON, 2012; SANTANA et al., 2010). A diversidade de condições favoráveis para o crescimento de *S. aureus*, faz com que ele possa se desenvolver em vários alimentos e conseqüentemente expressar virulência (EFSA, 2017; HENNEKINNE; DE BUYSER; DRAGACCI, 2012).

Em 1914 foi descoberto associação de *S. aureus* com intoxicação alimentar e esse fato foi relatado por Barber (1914) que demonstrou que a intoxicação alimentar foi ocasionada pelo consumo de leite não refrigerado de uma vaca com mastite estafilocócica. A intoxicação alimentar estafilocócica (SFP) é uma intoxicação provocada pelas enterotoxinas estafilocócicas (SEs) e não pelas próprias bactérias. Assim, a virulência de *S. aureus* como patógeno de origem alimentar irá depender da quantidade de enterotoxinas estafilocócicas formados (ZEAKI et al., 2019).

O *S. aureus* pode entrar na cadeia alimentar através das matérias-primas, pelos manipuladores de alimentos ou devido à falta de higiene nos equipamentos que são utilizados no processamento de alimentos (FISHER; OTTO; CHEUNG, 2018; HENNEKINNE; DE BUYSER; DRAGACCI, 2012). Os alimentos prontos para consumo, que são manuseados e consumidos sem tratamento adicional, foram relatados em vários surtos de intoxicação alimentar estafilocócica (ZEAKI et al., 2019).

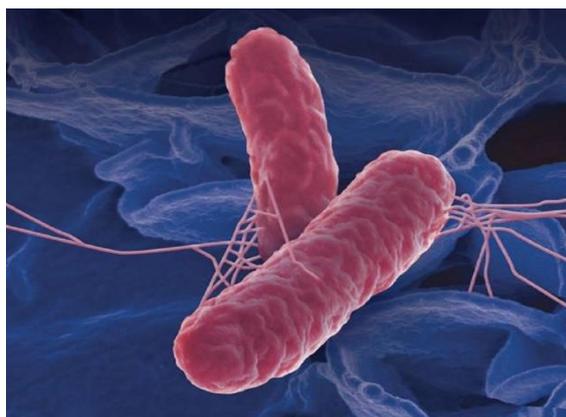
As enterotoxinas estafilocócicas resistem ao tratamento térmico e baixo pH, e podem estar presentes em alimentos mesmo após o processamento (LE LOIR; BARON; GAUTIER, 2003). Assim, o controle da produção de enterotoxinas é fundamental para prevenir surtos ocasionados por intoxicação alimentar estafilocócica (ZEAKI et al., 2019).

### **3.4.3 *Salmonella***

*Salmonella* (FIGURA 8) é um bacilo Gram-negativo, não produtor de esporos, anaeróbios facultativos e pertencente à família Enterobacteraceae (HARB et al., 2019). O

gênero *Salmonella*, foi isolado e descrito pela primeira vez em 1866 por Daniel Salmon e Theobald Smith (CHENG; EADE; WIEDMANN, 2019; SCHULTZ, 2008). Atualmente esse gênero é composto por duas espécies, a *Salmonella entérica* e *Salmonella bongori* (a qual contém 18 sorovares) (BRENNER et al., 2000; CHENG; EADE; WIEDMANN, 2019).

Figura 8 - *Salmonella ssp.*



Fonte: Cangussu (2016).

Desde 2012 mais de 2.587 sorotipos de *Salmonella entérica* foram relatados e esses sorotipos são divididos em seis subespécies: *S. entérica* (I), *S. salamae* (II), *S. arizonae* (IIIa), *S. diarizone* (IIIb), *S. houtenae* (IV) e *S. indica* (VI). Os isolados de *Salmonella* que contaminam hospedeiros de sangue quente, geralmente pertencem à subespécie entérica (I). As subespécies II-VI e *S. bongori* são isolados geralmente de fontes ambientais ou de hospedeiros de sangue frio, como os anfíbios e répteis. As espécies mais frequentes encontradas em nosso meio são a *Salmonella enteritidis* e *Salmonella typhimurium* (ACHTMAN et al., 2012; BAYAS-MOREJON et al., 2019; CHENG; EADE; WIEDMANN, 2019).

A *Salmonella* entérica não tifoide é uma bactéria zoonótica, responsável por uma das principais causas de gastroenterite aguda em crianças e adultos (BERN et al., 1992; KOSEK et al., 2003; RAMI et al., 2019). Em humanos, a forma mais comum de infecção por essa bactéria é através da ingestão de alimentos ou água contaminada (ENG et al., 2015; FABREGA; VILA, 2013). Ao ser contaminado com *Salmonella*, os primeiros sintomas aparecem entre o primeiro a terceiro dia após o contágio, podendo ocasionar febre, calafrios, vômitos, cólicas, náuseas e disenteria. No entanto, se a bactéria atingir a corrente sanguínea, o indivíduo pode ser acometido por septicemia, meningite e osteomielite (DE CESARE, 2018).

Após a infecção, a *Salmonella* é excretada nas fezes, geralmente durante cinco semanas (CHEN et al., 2013; CRUMP et al., 2015).

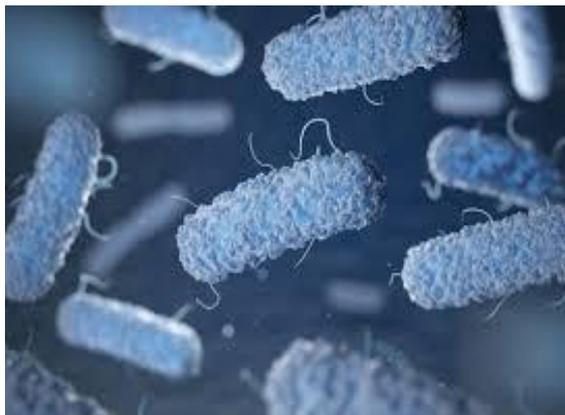
A *Salmonella* spp. é capaz de se adaptar, crescer e/ou sobreviver em uma ampla faixa de temperatura que varia de 2 a 54°C (ideal para seu crescimento 35 - 37°C), pH extracelular (abaixo de 3,9 até 9,5), aw (mínimo de 0,94) e concentrações de sal de até 4% NaCl (JARVIS et al., 2016; SPECTOR; KENYON, 2012; XU; LEE; AHN, 2008). Essa ampla faixa de condições de crescimento, podem ocasionar um efeito sobre a sobrevivência de *Salmonella* fora do organismo hospedeiro e também nos alimentos durante o processamento, preparo e até mesmo no período de armazenamento do produto (SPECTOR; KENYON, 2012; YANG, 2014).

Nos últimos anos vários incidentes de origem alimentar foram ocasionados por contaminação por *Salmonella* e esses surtos foram relacionados com produtos prontos para consumo e que apresentavam baixa umidade, tais como leite em pó, amêndoas cruas, manteiga de amendoim, temperos secos (HANNING et al., 2009; MACIOROWSKI et al., 2004; PARK et al., 2008; PILLAI; RICKE, 2002), ovos, vegetais, carnes bovinas, suínas e de ave (GREIG; RAVEL, 2009; RICKE et al., 2018; WU et al., 2017).

#### **3.4.4 *Listeria monocytogenes***

A *L. monocytogenes* (FIGURA 9) é uma bactéria Gram-positiva, anaeróbica facultativa, apresenta forma de bastonete, sem formação de esporos (SUKHADEO; TRINAD, 2009). Essa bactéria necessita um mínimo de 0,92 para o seu crescimento, podendo colonizar vários ambientes, sendo resistente a diferentes tipos de condições de estresse, apresenta ampla faixa de valores de pH (4,3 - 9,4), baixa temperatura (cresce a partir de 3,8°C) e alta salinidade (CHEN et al., 2018; LY; PARREIRA; FARBER, 2019; TE GIFFEL; ZWIETERING, 1999).

Figura 9 - *Listeria monocytogenes*.



Fonte: The Native Antigen Company (2019).

A *Listeria* é um patógeno que ocorre amplamente em ambientes agrícolas, aquícolas e de processamento de alimentos. Apresenta grande importância para a saúde pública, responsável por casos esporádicos ou surtos no mundo todo. Pode resultar em infecção assintomática ou ocasionar várias doenças, que vão desde uma gastroenterite leve até doenças invasivas de alto risco tais como infecções do sistema nervoso central, septicemia, entre outros. A incidência de listeriose sistêmica é muito maior em populações suscetíveis, tais como as crianças, idosos, mulheres grávidas e indivíduos imunocomprometidos (BUCHANAN et al., 2017; FERREIRA et al., 2014). A infecção por listeriose contraída por grávidas pode causar parto prematuro, aborto espontâneo ou natimorto (LAMONT et al., 2011; MYLONAKIS et al., 2002).

Esse patógeno gera taxa de hospitalização de 98,6% e uma taxa de letalidade de 13,8% (EFSA; ECDC, 2018). A *L. monocytogenes* é também residente transitório do trato intestinal de humanos, sendo que de 2 a 10% dos hospedeiros não manifestam consequências aparentes à saúde (BUCHANAN et al., 2017).

Porém, a principal fonte de infecção por listeriose em humanos se dá através da ingestão de leite contaminado, vegetais folhosos, produtos derivados de carne (APARECIDA et al., 2010; SCHLECH et al. 1983; ZHU; GOONERATNE; HUSSAIN, 2017), e em produtos frescos, onde a prevalência gira em torno de 1% (TANGO et al., 2018). Em saladas compostas por ingredientes como frango, presunto, salmão e macarrão, a contaminação por *L. monocytogenes* pode comprometer 10% dos produtos (SÖDERQVIST, 2017).

A *L. monocytogenes* também persiste após a colonização em uma ampla variedade de instalações de produção alimentícia, tais como produtos lácteos em pó, manteigas de nozes, farinhas e temperos (TAYLOR; QUINN; KATAOKA, 2019). Em ambientes de processamento de alimentos a *Listeria* pode entrar a partir de matérias-primas, movimento de pessoas ou equipamentos, podendo permanecer devido a limpeza e saneamento não eficazes,

projeto ou condição inadequada de equipamentos, controle insuficiente de movimento de pessoas ou equipamentos (BUCHANAN et al., 2017).

No ambiente alimentar a prevalência de *Listeria* pode não ser proporcional à prevalência no produto alimentar. Por exemplo, apesar da alta prevalência desse patógeno em fazendas, a sua presença no leite cru que é destinado a fabricação de queijo pode ser muito baixa (D'AMICO; DONNELLY, 2010), provavelmente devido a fatores inerentes a operações artesanais de pequena escala, tais como pouco rebanho, não estogem do leite por muito tempo, ordenha sazonal, alimentação à base de pasto, além de rígidos controles higiênicos (BUCHANAN et al., 2017).

A presença de *L. monocytogenes* nos alimentos ocasiona consequências econômicas indesejáveis, entre elas está a retirada de produtos do mercado consumidor, além da redução das vendas dos produtos incriminados (AUVOLAT; BESSE, 2016). Assim, o controle da *Listeria* nas instalações de produção de alimentos requer atenção redobrada dos gerentes de risco (BUCHANAN et al., 2017).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Preparação do inóculo

Foram utilizadas as cepas dos microrganismos *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella ssp* e *Listeria monocytogenes* provenientes da Coleção de Culturas de Microrganismos do Departamento de Ciência dos Alimentos (CCDCA) da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Estas cepas foram inicialmente ativadas em meio BHI (Brain Heart Infusion) em suas respectivas temperaturas ótimas de crescimento (37°C) por cerca de 24 horas até alcançar uma contagem de  $10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup>. Essa concentração foi verificada no espectrofotômetro, segundo o método de crescimento do NCCLS (2003). Em seguida realizou-se a diluição em água peptonada para que o inóculo fique padronizado em  $10^5$  UFC.mL<sup>-1</sup>.

### 4.2 Ensaio de inativação térmica

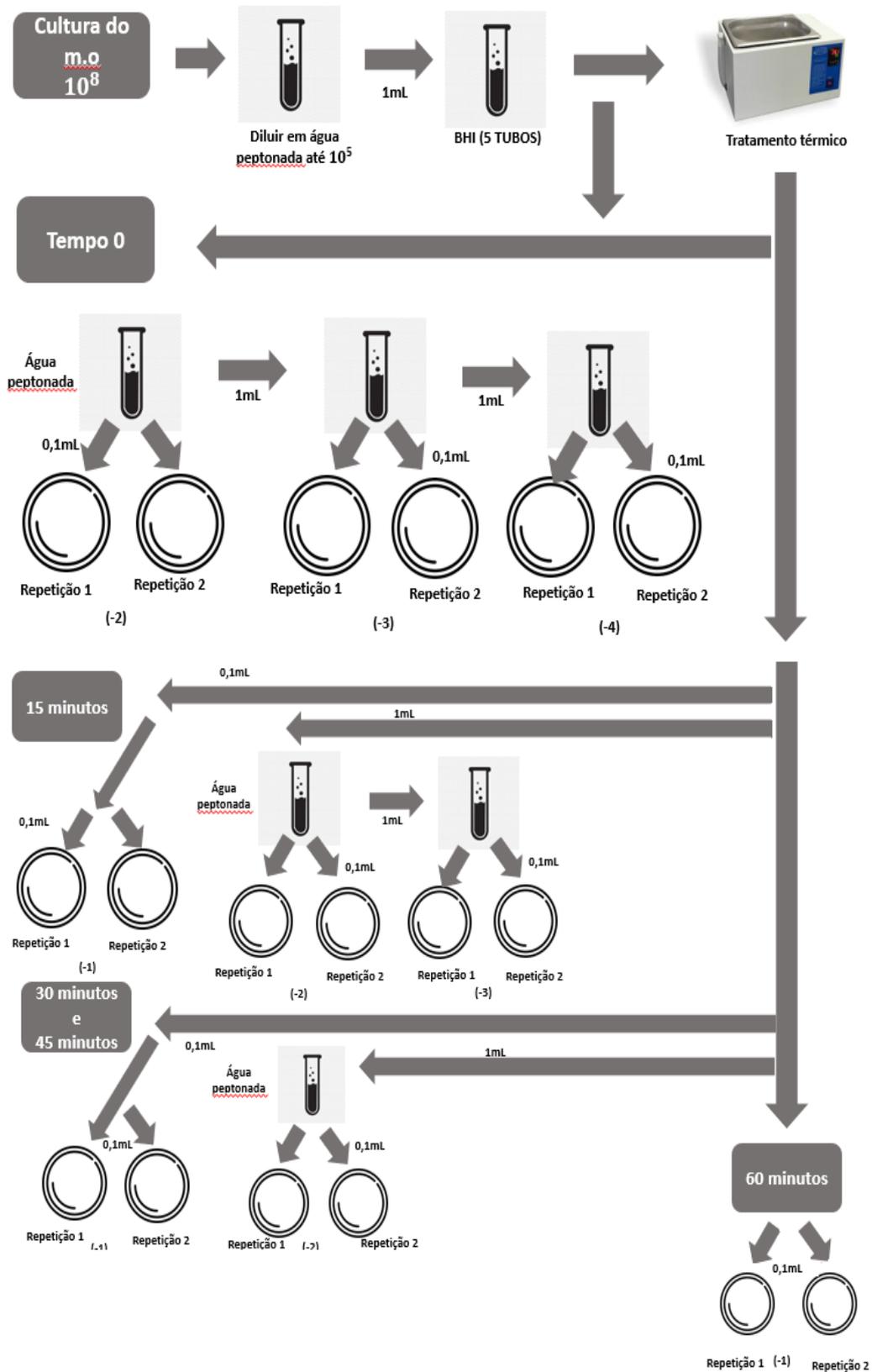
Para a determinação dos parâmetros cinéticos, inicialmente, foi realizada a inoculação de 0,5 mL do inóculo de cada um dos microrganismos em 9 mL de meio BHI. Para o experimento em meio ácido foi adicionado ainda ácido clorídrico na concentração de 1 mol até que o caldo de BHI atingisse o pH de 3,5. Em seguida foi feito o tratamento térmico em três temperaturas (50, 55 e 60°C) e em cada tratamento foi retirada uma alíquota em intervalos de tempos regulares para contagem dos microrganismos. Em um banho termostático, foi iniciado o monitoramento do tempo de aquecimento.

Para a temperatura 50°C (FIGURA 10) as alíquotas foram retiradas nos tempos 0, 15, 30, 45 e 60 minutos, já para a temperatura de 55°C as alíquotas foram retiradas nos tempos 0, 8, 16, 24 e 32 minutos e para temperatura 60°C as alíquotas foram retiradas nos tempos 0, 1,5, 3, 4,5 e 6 minutos. Os tempos foram definidos através de pré-testes. A temperatura foi monitorada através de um termômetro digital acoplado em um tubo de ensaio contendo BHI e imediatamente após cada um dos tempos, as amostras foram retiradas do banho e foram resfriadas em água corrente até atingir a temperatura ambiente.

Após serem devidamente diluídas em água peptonada, alíquotas de 0,1 mL do meio foram transferidas para as placas, em duas repetições, contendo o meio de cultura específico para cada uma das bactérias. Foi utilizado o meio PCA (Agar para contagem de placas) para as bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella*, apenas para a *Listeria monocytogenes* foi utilizado o meio TSA (Agar tripton de soja) + glicose.

Após o plaqueamento, seguiu-se para incubação na temperatura ótima (37°C) por 48 horas. O protocolo de Silva et al. (2010) foi seguido para a realização da análise de cada um dos microrganismos estudados e após a incubação realizou-se a contagem total das placas em cada tratamento térmico, havendo duas repetições para cada tratamento, a contagem foi considerada quando o número de colônias esteve entre 25 – 250 UFC.

Figura 10 – Fluxograma para determinação do valor D a 50°C.



Fonte: Do autor (2019).

### 4.3 Análise dos dados

Considerando o decaimento dos microrganismos como sendo de primeira ordem quando submetidos ao aquecimento, o tempo de redução decimal ( $D_T$ ) foi obtido a partir da regressão linear dos dados de concentração microbiana versus tempo, considerando o modelo de Rahn - Curva de morte térmica (Equação 9).

$$\log N = \log N_0 - FT/DT \quad (9)$$

A taxa de inativação térmica ( $k_d$ ) foi determinada a partir da relação (Equação 10):

$$Kd = 2,303/DT \quad (10)$$

Já o parâmetro cinético  $z$ , foi determinado a partir da regressão linear dos dados de tempo de redução decimal ( $D_T$ ) versus temperatura. O  $z$  então foi obtido a partir do inverso da inclinação da curva de tempo de destruição térmica.

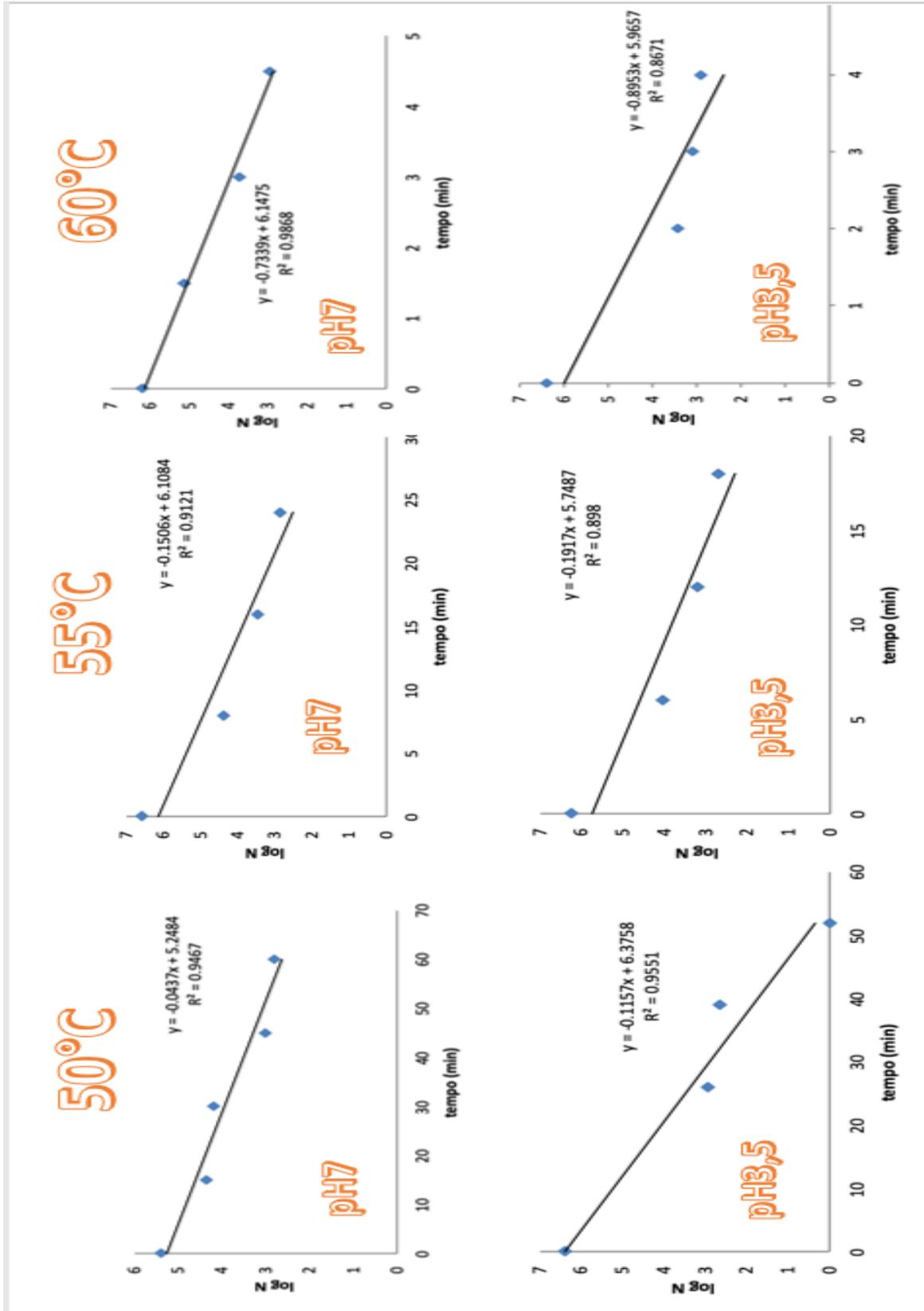
## **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A partir dos resultados obtidos no estudo cinético segue as curvas de morte térmica e de tempo de destruição térmica, bem como os parâmetros cinéticos D e z para cada um dos microrganismos estudados, nas duas condições avaliadas (pH = 7 e pH = 3,5).

### **5.1 *Staphylococcus aureus***

A Figura 11 representa a curva de morte térmica da bactéria *Staphylococcus aureus* na temperatura de 50, 55 e 60°C, respectivamente para ambos os meios (pH 7 e pH 3,5).

Figura 11 - Curva de morte térmica para o *Staphylococcus aureus*



Fonte: Do autor (2019).

Tabela 1 - Valores encontrados de D para a bactéria *Staphylococcus aureus* em meio com pH 7.

<b>Temperatura</b>	<b>Valor D (min)</b>
<b>50°C</b>	22,88
<b>55°C</b>	6,64
<b>60°C</b>	1,36

Fonte: Do autor (2019).

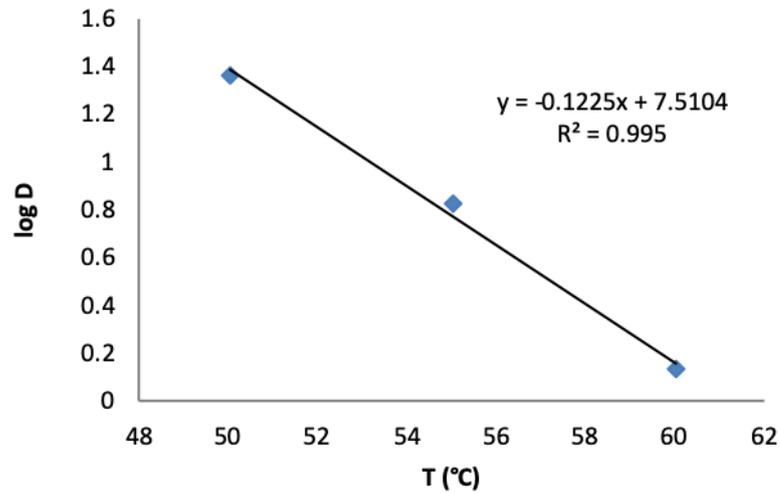
Tabela 2 - Valores encontrados de D para a bactéria *Staphylococcus aureus* em meio com pH 3,5.

<b>Temperatura</b>	<b>Valor D (min)</b>
<b>50°C</b>	8,64
<b>55°C</b>	5,21
<b>60°C</b>	1,11

Fonte: Do autor (2019).

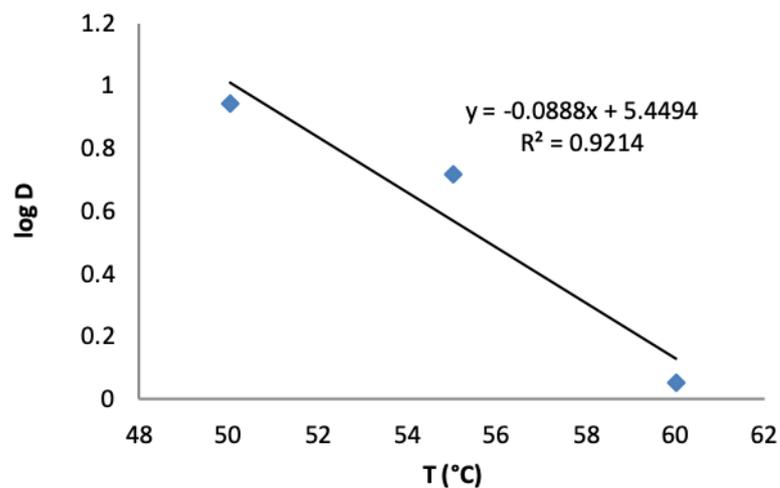
Figura 12 - Curva de tempo de destruição térmica para *Staphylococcus aureus* em meio com pH 7 (a) e pH 3,5 (b).

a)



Fonte: Do autor (2019).

b)



Fonte: Do autor (2019).

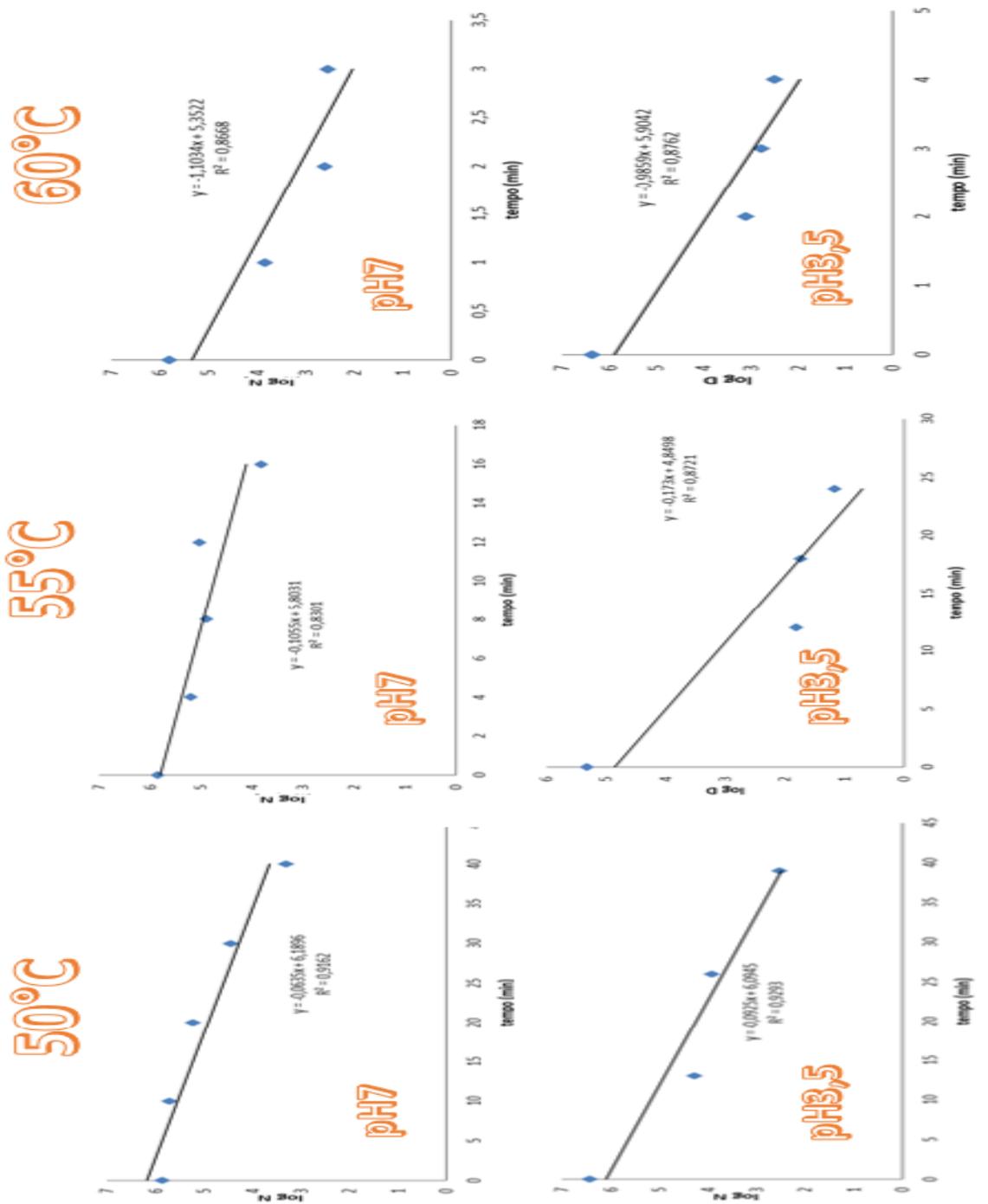
Tabela 3 - Valor z para a bactéria *Staphylococcus aureus* em diferentes meios.

pH do meio	Valor z (°C)
7,0	8,16
3,5	11,26

Fonte: Do autor (2019).

## 5.2 Salmonella

A Figura 13 representa a curva de morte térmica da bactéria *Salmonella* na temperatura de 50, 55 e 60°C, respectivamente para ambos os meios (pH 7 e pH 3,5)

Figura 13 - Curva de morte térmica para a *Salmonella*.

Fonte: Do autor (2019).

Tabela 4 - Valores encontrados de D para a bactéria *Salmonella* em meio com pH 7.

<b>Temperatura</b>	<b>Valor D (min)</b>
<b>50°C</b>	15,75
<b>55°C</b>	9,38
<b>60°C</b>	0,90

Fonte: Do autor (2019).

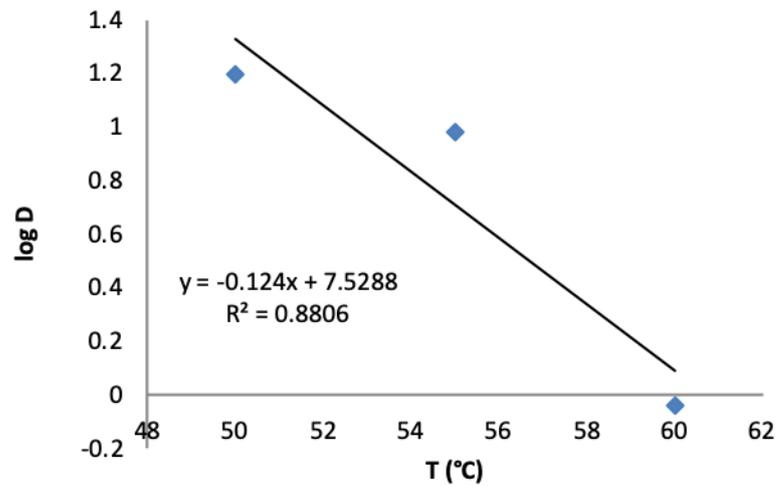
Tabela 5 - Valores encontrados de D para a bactéria *Salmonella* em meio com pH 3,5.

<b>Temperatura</b>	<b>Valor D (min)</b>
<b>50°C</b>	10,81
<b>55°C</b>	5,78
<b>60°C</b>	1,01

Fonte: Do autor (2019).

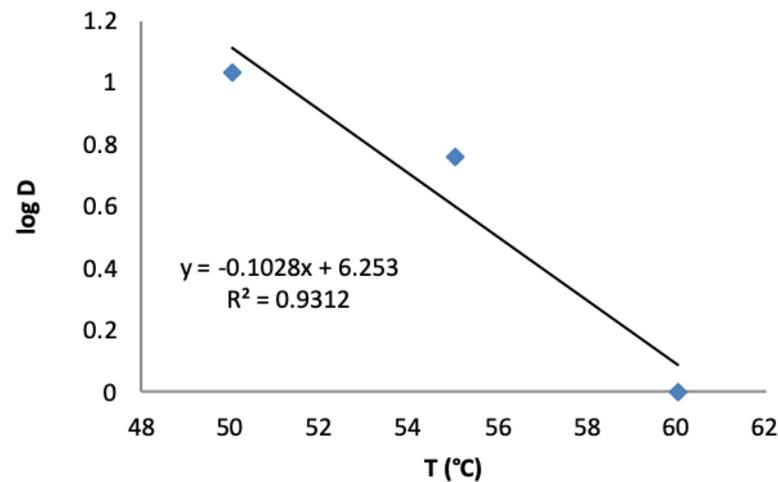
Figura 14 - Curva de tempo de destruição térmica para *Salmonella* em pH 7 (a) e pH 3,5 (b).

a)



Fonte: Do autor (2019).

b)



Fonte: Do autor (2019).

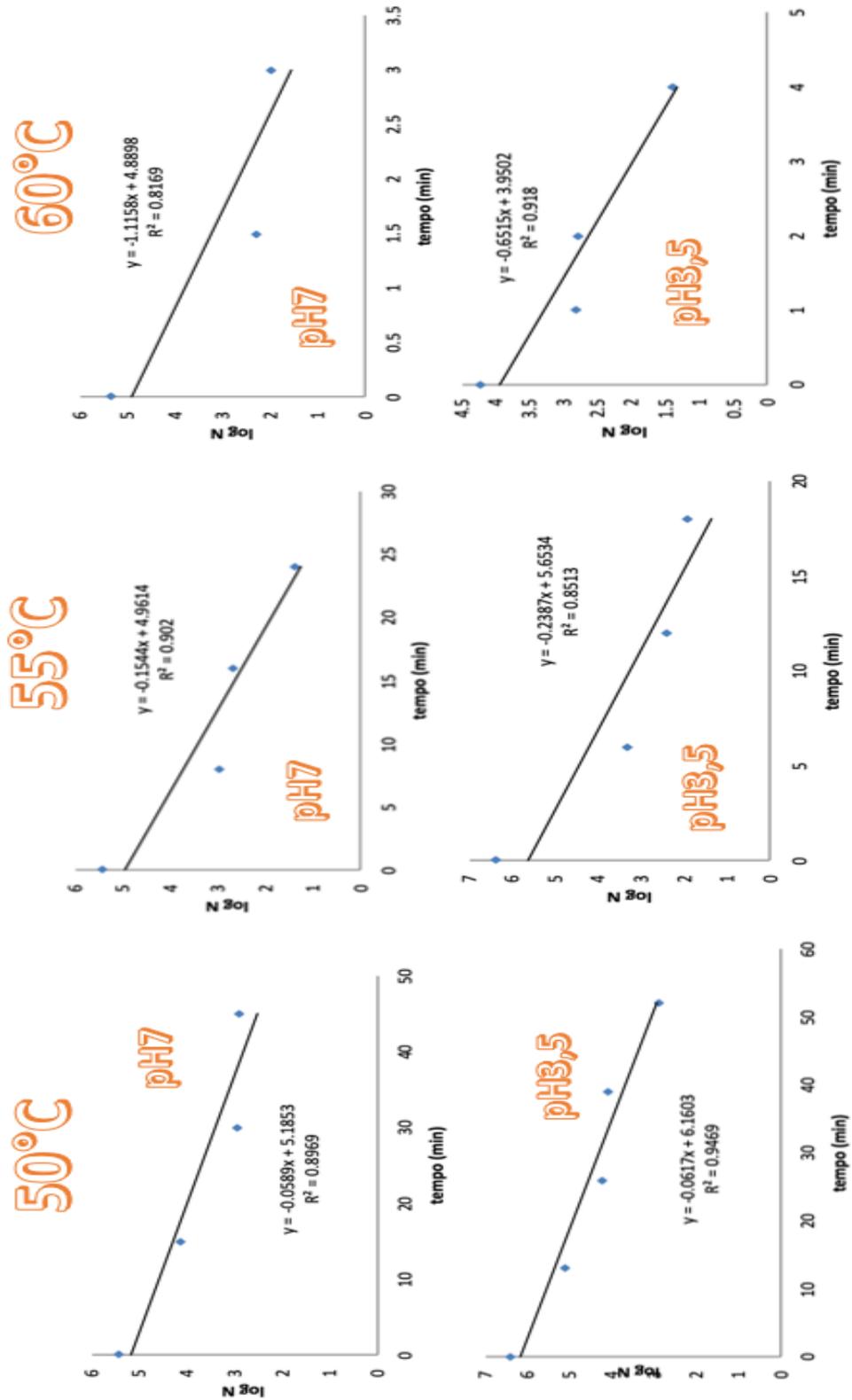
Tabela 6 - Valor z para a bactéria *Salmonella* em diferentes meios.

pH do meio	Valor z (°C)
7,0	8,06
3,5	9,72

Fonte: Do autor (2019).

### 5.3 *Escherichia coli*

A Figura 15 representa a curva de morte térmica da bactéria *Escherichia coli* na temperatura de 50, 55 e 60°C, respectivamente para ambos os meios (pH 7 e pH 3,5).

Figura 15 - Curva de morte térmica para *Escherichia coli*.

Fonte: Do autor (2019).

Tabela 7 - Valores de D para *Escherichia coli* em meio com pH 7.

Temperatura	Valor D (min)
50°C	16,97
55°C	6,47
60°C	0,89

Fonte: Do autor (2019).

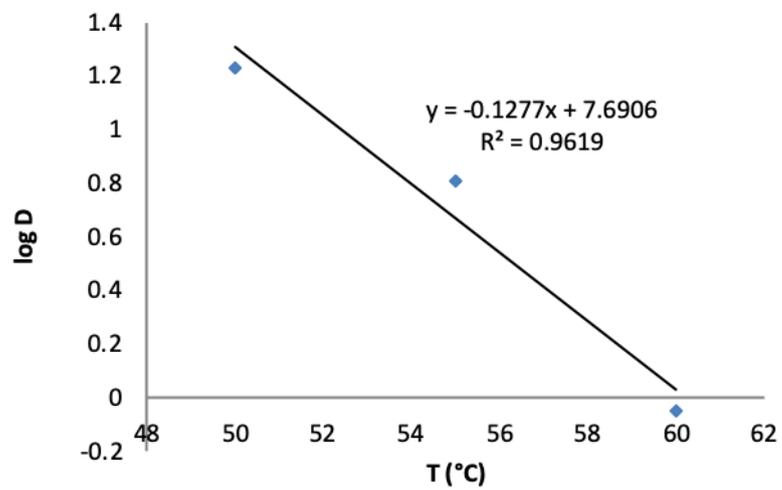
Tabela 8 - Valores de D para *Escherichia coli* em meio com pH 3,5.

Temperatura	Valor D (min)
50°C	16,20
55°C	4,18
60°C	1,53

Fonte: Do autor (2019).

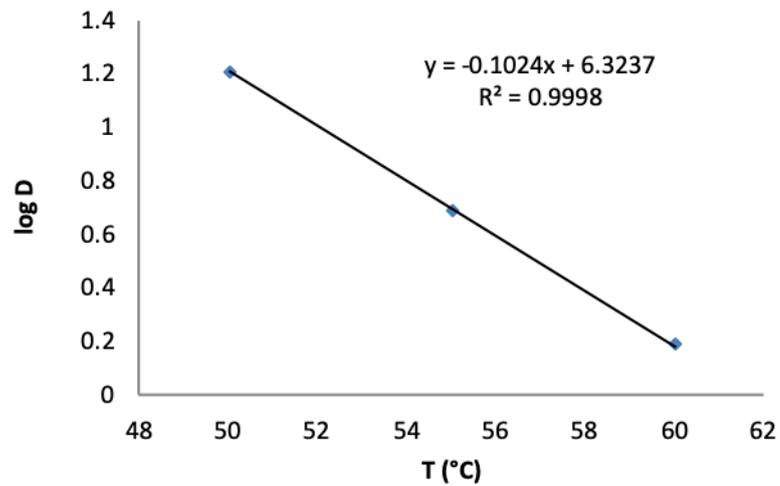
Figura 16 - Curva de tempo de destruição térmica para *Escherichia coli* em pH 7 (a) e pH 3,5.

a)



Fonte: Do autor (2019).

b)



Fonte: Do autor (2019).

Tabela 9 - Valor z para a bactéria *Escherichia coli* em diferentes meios.

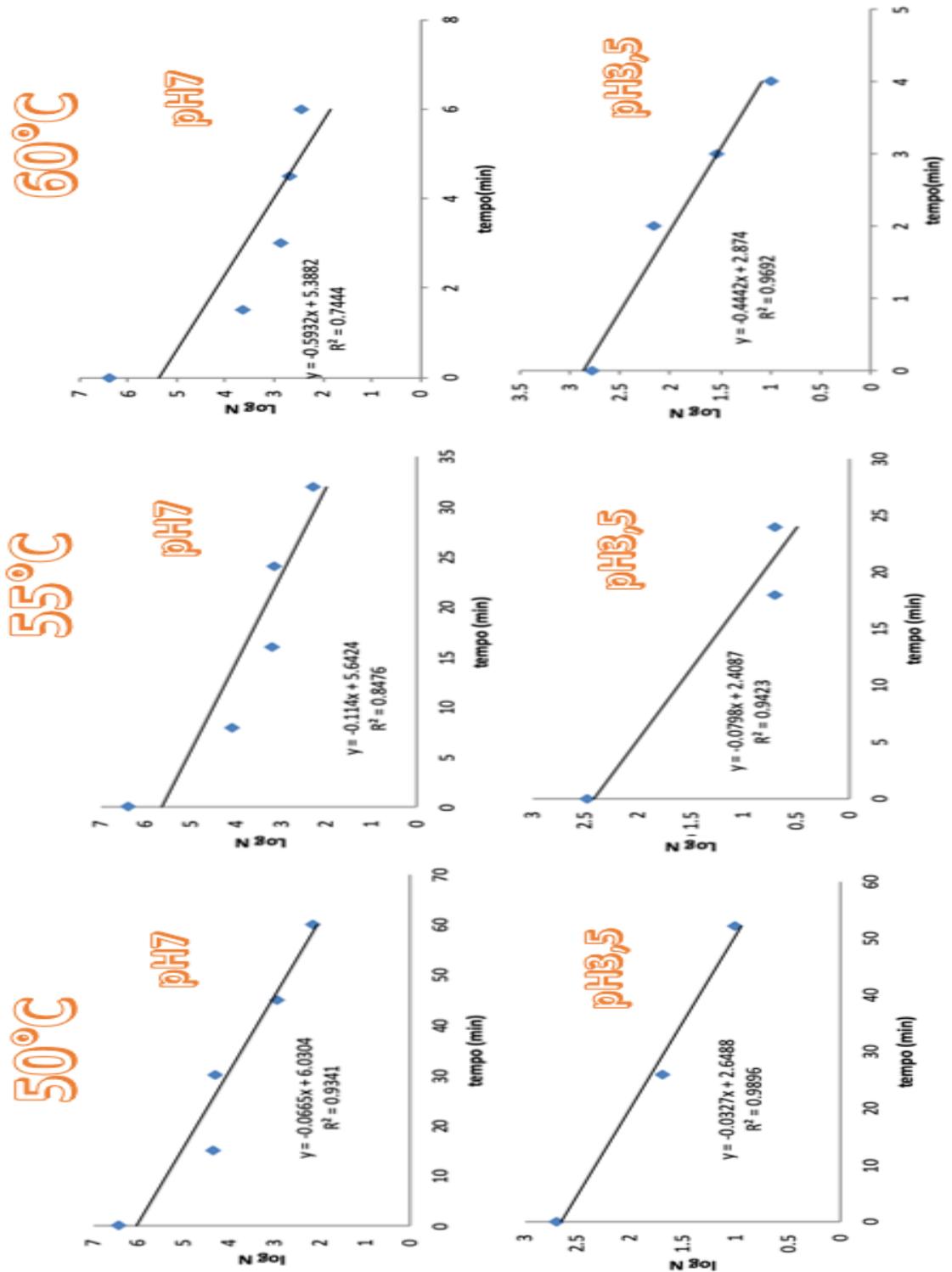
pH do meio	Valor z (°C)
7,0	7,83
3,5	9,76

Fonte: Do autor (2019).

#### 5.4 *Listeria monocytogenes*

A Figura 17 representa a curva de morte térmica da bactéria *Listeria monocytogenes* na temperatura de 50, 55 e 60°C, respectivamente para ambos os meios (pH 7 e pH 3,5).

Figura 17 - Curva de morte térmica da *Listeria monocytogenes*.



Fonte: Do autor (2019).

Tabela 10 - Valores D para *Listeria monocytogenes* para meio pH 7.

Temperatura	Valor D (min)
50°C	15,03

<b>55°C</b>	8,77
<b>60°C</b>	1,68

Fonte: Do autor (2019).

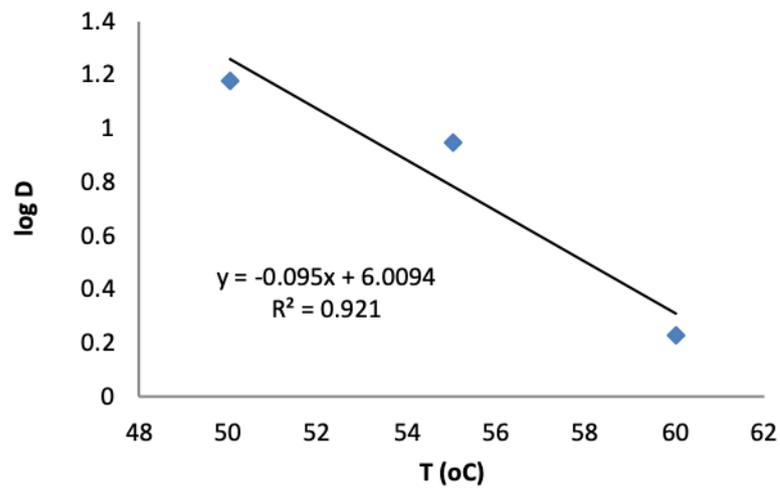
Tabela 11 - Valores D para *Listeria monocytogenes* para meio pH 3,5.

<b>Temperatura</b>	<b>Valor D (min)</b>
<b>50°C</b>	30,58
<b>55°C</b>	12,53
<b>60°C</b>	2,25

Fonte: Do autor (2019).

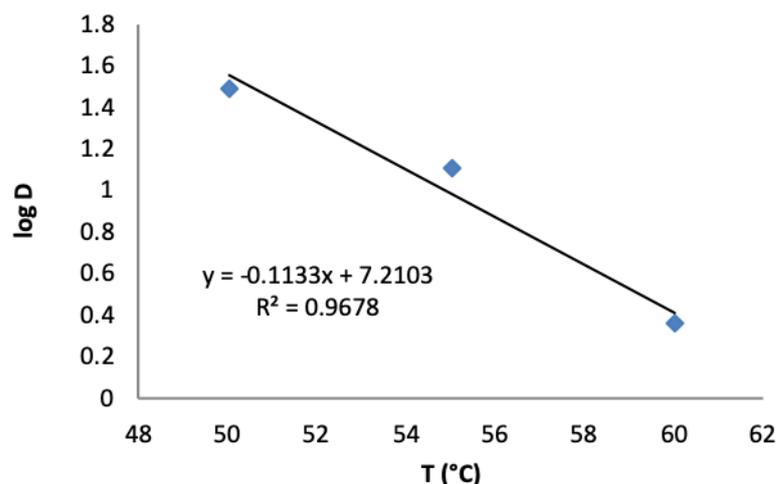
Figura 18 - Curva de tempo de destruição térmica para a *Listeria monocytogenes* em pH 7 (a) e pH 3,5 (b).

a)



Fonte: Do autor (2019).

b)



Fonte: Do autor (2019).

Tabela 12 - Valor z para a bactéria *Listeria monocytogenes* em diferentes meios.

pH do meio	Valor z (°C)
7,0	10,52
3,5	8,82

Fonte: Do autor (2019).

Conforme o esperado, o aumento da temperatura diminui o tempo necessário para se ter a redução de 1 ciclo logarítmico. Comprova que o aumento da temperatura, diminui o tempo de tratamento térmico.

- **Influência do pH na resistência térmica dos microrganismos**

Analisando os resultados das bactérias *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* e *Escherichia coli*, pode-se observar que em meio ácido as bactérias obtiveram menores valores D, quando comparados com o meio neutro. Diante disso, pode-se considerar que geralmente os alimentos ácidos necessitam de tempo de tratamento térmico menor quando comparado à alimentos não ácidos.

Já a bactéria *Listeria monocytogenes*, foi possível observar que em meio ácido a bactéria foi mais resistente ao tratamento térmico, apresentando maiores valores D para todos os tratamentos, quando comparadas aos tratamentos nas três temperaturas em meio neutro.

- **Comparação da resistência térmica dos microrganismos estudados**

Avaliando os resultados das quatro bactérias nos diferentes meios, pode-se observar que os valores de D diminuem drasticamente com o aumento da temperatura e conseqüentemente

reduz-se o tempo do tratamento térmico. Quanto maiores valores de D e z, maior será a resistência do microrganismo.

Fellows (2019) encontrou o valor D para *Staphylococcus aureus* a 60°C é de 0,9 minutos em produtos lácteos, sendo este resultado próximo ao observado em nosso estudo para ambos os meios  $D_{60^{\circ}\text{CpH}3,5} = 1,11$  minutos e  $D_{60^{\circ}\text{CpH}7} = 1,36$  minutos. D. Rowlands et al. (2006), encontrou o valor  $D_{60^{\circ}\text{C}} = 0,97$  minutos para *Salmonella* em fórmula láctea infantil reconstituída, sendo o valor semelhante ao encontrado neste estudo para ambos os meios analisados.

Gabriel e Nakano (2009), realizando testes em suco de maçã, determinaram valores de D para *Escherichia coli* iguais à  $D_{55^{\circ}\text{C}} = 4,43$  minutos, sendo o valor próximo ao encontrado em nosso experimento  $D_{55^{\circ}\text{CpH}3,5} = 4,18$  minutos. Oteiza, Giannuzzi e Califano (2003), utilizando caldo nutritivo comercial como meio, também determinaram para *Escherichia coli*  $D_{54^{\circ}\text{C}} = 4,5$  minutos;  $D_{58^{\circ}\text{C}} = 1,5$  minutos; e  $D_{62^{\circ}\text{C}} = 0,5$  minutos, ambos realizados em água deionizada. Segundo Fellows (2019), a *Listeria monocytogenes* em produtos cárneos pode apresentar uma faixa de valor D a 60°C variando de 1,6 a 16,7 minutos, e em nosso estudo, os valores encontrados ( $D_{60^{\circ}\text{CpH}7} = 1,68$  minutos e  $D_{60^{\circ}\text{CpH}3,5} = 2,25$  minutos) se enquadram dentro desta faixa para ambos os meios.

Noronha (1999), realizando testes com vegetais, encontrou valores D para *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* e *Listeria monocytogenes*, de  $D_{60^{\circ}\text{C}} = 10,4$  minutos,  $D_{60^{\circ}\text{C}} = 10,6$  minutos e  $D_{70^{\circ}\text{C}} = 0,3$  minutos, respectivamente. Comparando o resultado do nosso estudo com o que foi encontrado por este autor, pode-se observar que houve uma diferença entre os valores e essa diferença pode ser devido aos diferentes meios testados, uma vez que realizamos as análises em meio BHI e não em vegetais.

O maior valor D obtido foi para a bactéria *Listeria monocytogenes* em meio ácido a  $D_{50^{\circ}\text{C}} = 30,58$  minutos. Na temperatura de 60°C a *Escherichia coli* apresentou menor valor  $D_{60^{\circ}\text{C}} = 0,89$  minutos, em seguida a *Salmonella*  $D_{60^{\circ}\text{C}} = 0,9$  minutos, *Staphylococcus aureus*  $D_{60^{\circ}\text{C}} = 1,11$  minutos e por fim *Listeria monocytogenes*  $D_{60^{\circ}\text{C}} = 1,68$  minutos.

A 55°C a *Escherichia coli* apresentou o menor valor  $D_{55^{\circ}\text{C}} = 4,18$  minutos em meio ácido e a *Listeria monocytogenes* um maior valor  $D_{55^{\circ}\text{C}} = 12,53$  minutos em meio ácido, e em meio neutro a *Salmonella* foi a bactéria que apresentou o maior valor  $D_{55^{\circ}\text{C}} = 9,38$  minutos. Diante desses parâmetros é possível classificar a resistência das bactérias analisadas.

## 6 CONCLUSÃO

Neste estudo pode-se observar que os valores D e z podem variar conforme a cepa do microrganismo e o meio em que ela está inserida (neutro e ácido). As bactérias *Listeria monocytogenes* e a *Staphylococcus aureus* são mais resistentes ao tratamento térmico que *Escherichia coli* e a *Salmonella* em meio com pH 7. E para meio ácido pH 3,5 a bactéria *Staphylococcus aureus* foi a mais resistente seguida da *Escherichia coli*, *Salmonella* e *Listeria monocytogenes*.

## REFERÊNCIAS

- ABRANCHES, M. V.; CERES, M. D. L. Perdas de vitaminas em leite e produtos lácteos e possíveis medidas de controle. **Alimento Nutrição**, v. 19, n. 2, p. 207-217, 2008.
- ACHTMAN, M. et al. Multilocus sequence typing as a replacement for serotyping in *Salmonella enterica*. **PLOS Pathogens**, v. 8, n. 6, e1002776, 2012.
- ADAMS, M. R.; MOSS, M. O.; MCCLURE, P. J. Bacterial agents of foodborne illness - *Staphylococcus aureus*. **Food Microbiology**. 4. ed. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2016.
- AIJUKA, M.; BUYS, E. M. Persistence of foodborne diarrheagenic *Escherichia coli* in the agricultural and food production environment: Implications for food safety and public health. **Food Microbiology**, v. 82, p. 363–370, 2019.
- ALTERTHUM, F.; CARVALHAL, M.L. Controle de microrganismos. In: TRABULSI, L. R. et al. (Eds.). **Microbiologia**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 1999. p.75-86.
- ANDRADE, N. J. **Higiene na Indústria de alimentos: avaliação e controle da adesão e formação de biofilmes bacterianos**. São Paulo: Varela, 2008.
- APARECIDA, O. M. et al. Quantification of *Listeria monocytogenes* in minimally processed leafy vegetables using a combined method based on enrichment and 16S rRNA real-time PCR. **Food Microbiology**, v. 27, n. 1, p. 19–23, 2010.
- AUGUSTO, P. E. D. **Modelamento matemático da transferência de calor durante o tratamento térmico de alimentos líquidos embalados**. 2009. 253 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)-Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2009.
- AUVOLAT, A.; BESSE, N. G. The challenge of enumerating *Listeria monocytogenes* in food. **Food Microbiology**, v. 53, p. 135–149, 2016.
- AZEREDO, H. M. C. **Fundamentos de estabilidade de alimentos**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2004. p. 195.
- BAHCECI, S. K. et al. Study of lipoxygenase and peroxidase as indicator enzymes in green beans: Change of enzyme activity, ascorbic acid and chlorophylls during frozen storage. **Journal of Food Engineering**, v. 66, n. 2, p. 187–192, 2004.
- BARBER, M. A. Milk poisoning due to a type of *Staphylococcus albus* occurring in the udder of a healthy cow. **Philippine Journal of Science**, v. 9, p. 515–519, 1914.
- BAYAS-MOREJON, F. et al. Incidence of *Salmonella* spp. in different animal species and meat products in Ecuador during the period 2009-2019. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, v. 13, n. 2, p. 725-732, 2019.
- BERK, Z. **Thermal Processing**. In: Food Process Engineering and Technology. 2. ed. New York: Academic Press, 2013.

- BERN, C. et al. The magnitude of the global problem of diarrhoeal disease: A ten-year update. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 70, n. 6, p. 705–714, 1992.
- BERTHE-CORTI, L.; FETZNER, S. Bacterial metabolism of n-alkanes and ammonia under oxic, suboxic and anoxic conditions. **Acta Biotechnologica**, v. 22, n. 3–4, p. 299–336, 2002.
- BHAVYA, M. L.; HEBBAR, H. U. Sono-photodynamic inactivation of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in orange juice. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 57, p. 108–115, 2019.
- BRASIL. 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 União**, Brasília, DF, 16 set. 2004.
- BRENNER, F. et al. *Salmonella nomenclature*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 7, p. 2465–2467, 2000.
- BUCHANAN, R. L. et al. A review of *Listeria monocytogenes*: An update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments. **Food Control**, v. 75, p. 1–13, 2017.
- CANGUSSU, L. 2016. *Salmonella spp. - Microbiologia da água*. Disponível em: <<https://www.luciacangussu.bio.br/atlas/salmonella-spp/>>. Acesso em: 18 nov. 2019.
- CHEN, H. M. et al. Nontyphoid *Salmonella* infection: Microbiology, clinical features, and antimicrobial therapy. **Pediatrics and Neonatology**, v. 54, n. 3, p. 147–152, 2013.
- CHEN, M. et al. Prevalence, potential virulence, and genetic diversity of *Listeria monocytogenes* isolates from edible mushrooms in Chinese markets. **Frontiers in Microbiology**, v. 27, n. 9, p. 1711, 2018.
- CHENG, R. A.; EADE, C. R.; WIEDMANN, M. Embracing diversity: differences in virulence mechanisms, disease severity, and host adaptations contribute to the success of nontyphoidal *Salmonella* as a foodborne pathogen. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 2019. doi:10.3389/fmicb.2019.01368.
- CORREIA, L. F. M.; FARAONI, A. S.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Effects of industrial foods processing on vitamins stability. **Alimentos e Nutrição**, v. 19, n. 1, p. 83–95, 2008.
- COWAN, M. K. **Microbiology: A Systems Approach**. 3. ed. New York: McGraw-Hill, 2012.
- CRUMP, J. A. et al. Epidemiology, clinical presentation, laboratory diagnosis, antimicrobial resistance, and antimicrobial management of invasive *Salmonella* infections. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 28, n. 4, p. 901–937, 2015.
- DA CRUZ, G. F. et al. Could petroleum biodegradation be a joint achievement of aerobic and anaerobic microorganisms in deep sea reservoirs? **AMB Express**, v. 1, n. 47, p. 1–10. 25, 2011.
- D'AMICO, D. J.; DONNELLY, C. W. Microbiological quality of raw milk used for small-scale artisan cheese production in Vermont: Effect of farm characteristics and practices. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 1, p. 134–147, 2010.

DEAK, T. Food Technology: Sterilization. In: MOTARJEMI, Y.; MOY, G.; TODD, E. (Eds.). **Encyclopedia of Food Safety**. 3. ed. New York: Academic Press, 2014. p. 245- 252.

DE CESARE, A. *Salmonella* in foods: a reemerging problem. **Advances in food and nutrition research**, v. 86, p. 137-179, 2018.

DOYLE, B. M. P.; BEUCHAT, L. R.; MONTVILLE, T. J. **Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers**. 2. ed. Washington: ASM Press, 2001. p. 337–352.

EFSA; ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and foodborne outbreaks in 2017. **EFSA Journal**, v. 16, n. 12, p. 5500, 2018.

EFSA. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. **EFSA Journal**, p. 15-507, 2017.

ELISABETH, G.; MARISA, A. A.; DIANE, M. B. Residual pectinesterase activity in dehydrated onion and garlic products. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 26, n. 1, p. 11–26, 2001.

EMBRAPA. **Tratamento térmico**. 2004. Disponível em: <[https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/tecnologia\\_de\\_alimentos/arvore/CONT000fid5sgie02wyiv80z4s473wa0f4n8.html](https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/tecnologia_de_alimentos/arvore/CONT000fid5sgie02wyiv80z4s473wa0f4n8.html)>. Acesso em: 10 nov. 2019.

ENG, S.-K. et al. *Salmonella*: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. **Frontiers in Life Science**, v. 8, n. 3, p. 284–293, 2015.

ENGELKIRK, P. G.; DUBEN-ENGELKIRK, J. **Microbiologia para as ciências da saúde**, 9. ed. Brasil: Guanabara Koogan, 2012. p. 1-480.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de Alimentos**. São Paulo: Varela, 2008. p. 1-142.

FABREGA, A.; VILA, J. *Salmonella enterica* serovar Typhimurium skills to succeed in the host: Virulence and regulation. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 26, n. 2, p. 308–341, 2013.

FEATHERSTONE, S. A Complete course in canning and related processes. In: **12-Sterilization systems**. 14. ed. Woodhead Publishing Series in Food Science, 2015. p. 1-394.

FELLOWS, P. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e prática**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 602, 711 p.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e práticas**. 4. ed. São Paulo: Artmed, 2019. p. 1-944.

FERREIRA, V. et al. *Listeria monocytogenes* persistence in food-associated environments: epidemiology, strain characteristics, and implications for public health. **Journal of Food Protection**, v. 77, n. 1, p. 150–70, 2014.

FISHER, E. L.; OTTO, M.; CHEUNG, G. Y. C. Basis of virulence in enterotoxin-mediated staphylococcal food poisoning. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. 436, p. 1-18, 2018.

FLORA, M. et al. *Staphylococcus aureus* in chronic airway diseases: An overview. **Respiratory Medicine**, v. 155, p. 66–71, 2019.

FOGOLARI, O.; REIS, C. Z.; PHILIPP, L. S. Determinação de parâmetros cinéticos da inativação térmica de *Escherichia coli* em lodo de esgoto. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 17, n. 3, 2012.

FOSTER, J. W. *Escherichia coli* acid resistance: tales of an amateur acidophile. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, n. 11, p. 898–907, 2004.

FOULQUIÉ MORENO, M. R., et al. The role and application of enterococci in food and health. **International Journal of Food Microbiology**, v. 106, n. 1, p. 1-24, 2006.

GABRIEL, A. A.; NAKANO, H. Inactivation of *Salmonella*, *E. coli* and *Listeria monocytogenes* in phosphate-buffered saline and apple juice by ultraviolet and heat treatments. **Food Control**, v. 20, n. 4, p. 443-446, 2009.

GAVA, A. J.; SILVA, C. A. B.; FRIAS, J. R. G. **Tecnologia de alimentos – Princípios e aplicações**. Brasil: Nobel, 2009. p. 1-512.

GONÇALVES, E. S.; MARQUES, M. H. M.; LUCCA, P. S. R. Segurança alimentar e os consumidores: Um breve estudo sobre a *Escherichia coli*. **Revista Cesumar – Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**, v. 7, n. 1, p. 7-29, 2002.

GREIG, J. D.; RAVEL, A. Analysis of foodborne outbreak data reported internationally for source attribution. **International Journal of Food Microbiology**, v. 130, n. 2, p. 77–87, 2009.

GUERRERO, I.; CHABELA, L. Meat and poultry. Spoilage of cooked meats and meat products. Problems caused by bacteria. In: ROBINSON, R.; BATT, C.; PATEL, P. (Eds.). **Encyclopedia of food microbiology**. Bath: Academic Press, 2000. p. 1-3248.

HANNING, I. B.; NUTT, J. D.; RICKE, S. C. Salmonellosis outbreaks in the United States due to fresh produce: sources and potential intervention measures. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 6, n. 6, p. 635–648, 2009.

HARB, A. et al. Childhood diarrhoea in the eastern mediterranean region with special emphasis on non-typhoidal *Salmonella* at the human–food interface. **Pathogens**, v. 8, n. 2, p. 60, 2019.

HASANNEJAD-BIBALAN, M. et al. Antibacterial activity of tedizolid, a novel oxazolidinone against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: A systematic review and meta-analysis. **Microbial Drug Resistance**, 2019. doi:10.1089/mdr.2018.0457.

HAUG, R. T. **The practical handbook of compost engineering**. Boca Raton: Lewis. 1993. 717 p.

HENNEKINNE, J. A.; DE BUYSER, M. L.; DRAGACCI, S. *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 36, n. 4, p. 815–836, 2012.

HOFFMANN, M. V. G. S. **Estudo de resistêndia térmica de *Byssochlamys Nivea* e *Talaromyces Flavus* em suco de maçã**. 2004. 53 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)-Universidade federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2004.

HOFFMANN, F. L. HIGIENE - Fatores limitantes à proliferação de microrganismos em alimentos. **Brasil alimentos**, n. 9, p. 23-30, 2001.

HUANG, Y. et al. **Chemical changes of bioactive phytochemicals during thermal processing**, 2016. doi: 10.1016/b978-0-08-100596-5.03055-9.

KIM, M. -K. *Staphylococcus aureus* toxins: from their pathogenic roles to anti-virulence therapy using natural products. **Biotechnology and bioprocess engineering**, v. 24, n. 3, p. 424–435, 2019.

KITLABOR. **Soluções para análises microbiológicas**. 2019. Disponível em: <<https://kitlabor.com.br/2018/04/30/especial-microrganismos-conheca-a-escherichia-coli/>>. Acesso em: 08 nov. 2019.

KOSEK, M.; BERN, C.; GUERRANT, R. L. The global burden of diarrhoeal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 81, n. 3, p. 197–204, 2003.

JARVIS, N. A. et al. An overview of *Salmonella* thermal destruction during food processing and preparation. **Food Control**, v. 68, p. 280–290, 2016.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 1-712.

LACOUR, S.; LANDINI, P. SigmaS-dependent gene expression at the onset of stationary phase in *Escherichia coli*: function of 342 SigmaS-dependent genes and identification of their promoter sequences. **Journal of Bacteriology**, v. 186, n. 21, p. 7186–7195, 2004.

LAMONT, R. F. et al. Listeriosis in human pregnancy: a systematic review. **Journal of Perinatal Medicine**, v. 39, n. 3, p. 227-236, 2011.

LE LOIR, Y.; BARON, F.; GAUTIER, M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. **Genetics and Molecular Research**, v. 2, n. 1, p. 63–76, 2003.

LI, X.; FARID, M. A review on recent development in non-conventional food sterilization technologies. **Journal of Food Engineering**, v. 182, p. 33–45, 2016.

LY, V.; PARREIRA, V. R.; FARBER, J. M. Current understanding and perspectives on *Listeria monocytogenes* in low-moisture foods. **Current Opinion in Food Science**, v. 26, 2019. doi: doi.org/10.1016/j.cofs.2019.02.012

MACIOROWSKI, K. G. et al. Incidence, sources, and control of food-borne *Salmonella* spp. in poultry feeds. **World's Poultry Science Journal**, v. 60, n. 4, p. 446–457, 2004.

MANPREET, S.; SHIVHARE, U. S.; AHMED, J. Drying characteristics and product quality of bell pepper. **International Journal of Food Properties**, v. 3, n. 2, p. 249–257, 2000.

MARQUEZI, M. C.; GALLO, C. R.; DIAS, C. T. S. Comparação entre métodos para a análise de coliformes totais e *E. coli* em amostras de água. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 3, p. 291-296, 2010.

MURARKA, A. et al. Fermentative utilization of glycerol by *Escherichia coli* and Its implications for the production of fuels and chemicals. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 74, n. 4, p. 1124-1135, 2008.

MURRAY-BROWN LABORATORIES. *Staphylococcus aureus*. 2019. Disponível em: <<https://www.mb-labs.com/testlibrary/staphylococcus-aureus/>>. Acesso em: 08 nov. 2019.

MYLONAKIS, E. et al. Listeriosis during pregnancy: a case series and review of 222 cases. **Medicine**, v. 81, n. 4, p. 260-269, 2002.

NCCLS. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**. 6. ed. NCCLS document M7-A6. Pennsylvania USA: Wayne, 2003. p. 19087-1898.

NEGI, P. S.; ROY, S. K. Effect of blanching and drying methods on  $\beta$ -carotene, ascorbic acid and chlorophyll retention of leafy vegetables. **Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie**, v. 33, n. 4, p. 295-298, 2000.

NORONHA, J. F. **Notas sobre Processamento Térmico de Alimentos**, 1999. Disponível em: <<http://www.esac.pt/noronha/pgs/0708/aponta/ProcTermic1.htm>>. Acesso em: 10 nov. 2019.

NUNES, L.; TAVARES, G. M. Thermal treatments and emerging technologies: impacts on the structure and techno-functional properties of milk proteins. **Trends in Food Science & Technology**, 2019. doi:10.1016/j.tifs.2019.06.004

OETTERER, M.; REGITANO-d'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de Ciências e Tecnologia de Alimentos**. Barueri: Manole, 2006. 612 p.

OLIVEIRA, E. A. et al. Heat processing (HTST) of umbu (*Spondias tuberosa* Arruda Câmara) pulp. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 4, p. 923-928, 2011.

OTEIZA, J. M.; GIANNUZZI, L.; CALIFANO, A. N. Thermal inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Escherichia coli* isolated from morcilla as affected by composition of the product. **Food Research International**, v. 36, n. 7, p. 703-712, 2003.

PALOP, A.; MARTINEZ, A. **pH-Assisted Thermal Processing**. In: Thermal Food Processing: new technologies and quality issues. Boca Raton: CRC Press, 2006. p. 567-596.

PARK, S. Y. et al. Environmental dissemination of foodborne *Salmonella* in preharvest poultry production: reservoirs, critical factors, and research strategies. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 38, n. 2, p. 73–111, 2008.

PAULA, M. M. M. X.; MACHADO, A. V.; COSTA, R. O. Bleaching of fruit and vegetables: A literature review. **Revista Brasileira de Agrotecnologia**, v. 4, n. 1, p. 06-09, 2014.

PAULIN, S.; HORN, B.; HUDSON, J. A. Factors influencing staphylococcal enterotoxin production in dairy products. In: **MPI Technical Prepared for the Ministry for Primary Industries**. New Zealand: Wellington, 2012.

PELCZAR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiology**. 5. ed. Singapore: McGraw-Hill, 1986. p. 107-112.

PETERS, K. E.; WALTERS, C. C.; MOLDOWAN, J. M. **The biomarker guide: biomarkers and isotopes in the environment and human history**. 2. ed. vol. 1. United Kingdom: Cambridge University Press, 2005. p. 1-700.

PILLAI, S. D.; RICKE, S. C. Bioaerosols from municipal and animal wastes: background and contemporary issues. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 48, n. 8, p. 681-696, 2002.

PROCHASKA, L. J. et al. Effects of food processing on the thermodynamic and nutritive value of foods: literature and database survey. **Medical Hypotheses**, v. 54, n. 2, p. 254-262, 2000.

RAIKOS, V. Effect of heat treatment on milk protein functionality at emulsion interfaces. A review. **Food Hydrocolloids**, v. 24, n. 4, p. 259-265, 2010.

RAMASWAMY, H. High pressure sterilization of foods. **Food Engineering Interfaces**, p. 341-351, 2010.

RAMI, H. et al. Prevalence of enteric non-typhoidal *Salmonella* in humans in the Middle East and North Africa: A systematic review and meta-analysis, **Zoonoses Public Health**, p. 1-28. 2019.

RANJAN, S. et al. Microwave blanching: an emerging trend in food engineering and its effects on capsicum annuum. **Journal of Food Process Engineering**, v. 40, n. 2, e12411, 2016.

RICKE, S. C. et al. Molecular-based identification and detection of *Salmonella* in food production systems: current perspectives. **Journal of Applied Microbiology**, v. 125, n. 2, p. 313-327, 2018.

RIVERA-REYES, M.; CAMPBELL, J. A.; CUTTER, C. N. Survival of acid-adapted and non-adapted Shiga toxin-producing *Escherichia coli* using an in vitro model. **Food Control**, 2019. doi:10.1016/j.foodcont.2019.04.009.

ROWLANDS, R. E. G. et al. Resistência térmica de *Salmonella Enteritidis*, *S. Panama* e *S. Infantis* em fórmula láctea infantil reconstituída. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 65, n. 1, p. 36-39, 2006.

RUNGAPAMESTRY, V. et al. Effect of cooking brassica vegetables on the subsequent hydrolysis and metabolic fate of glucosinolates. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 66, n. 1, p. 69-81, 2007.

- RUSSELL, N. J., LEISTNER, L.; GOULD, G. W. Solutes and low water activity. In: RUSSELL, N. J.; GOULD, G.W. (Eds.). **Food Preservatives**. Boston: Springer, 2003. p. 119–45.
- SANTANA, E. H. W. et al. Estafilococos em alimentos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 3, p. 545–554, 2010.
- SANTOS, A. I. et al. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Brazilian Journal of Pathology and Laboratory Medicine**, v. 43, n. 6, p. 413-423, 2007.
- SCHLECH, W. F. et al. Epidemic listeriosis—evidence for transmission by food. **New England Journal of Medicine**, v. 308, n. 4, p. 203–206, 1983.
- SCHULTZ, M. Theobald Smith. **Emerging Infectious Diseases**, v. 14, n. 12, p. 1940–1942, 2008.
- SHANMUGAM, A.; CHANDRAPALA, J.; ASHOKKUMAR, M. The effect of ultrasound on the physical and functional properties of skim milk. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 16, p. 251–258, 2012.
- SHEETAL, G.; JYOTHI, L. A.; JAMUNA, P. Effect of different blanching treatments on ascorbic acid retention in green leafy vegetables. **Natural Product Radiance**, v. 7, n. 2, p. 111–116, 2008.
- SHIN, N. -R.; WHON, T. W.; BAE, J. -W. Proteobacteria: microbial signature of dysbiosis in gut microbiota. **Trends Biotechnology**, v. 33, n. 9, p. 496–503, 2015.
- SILVA, L. C. et al. Good Practices of food handling in Food and Nutrition Services. **Demetra**, v. 10, n. 4, p. 797-820, 2015.
- SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica da água**. 5. ed. São Paulo: Varela, 2005. 317 p.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4. ed. São Paulo: Varela, 2010.
- SÖDERQVIST, K. Is your lunch salad safe to eat? Occurrence of bacterial pathogens and potential for pathogen growth in pre-packed ready-to-eat mixed-ingredient salads. **Infection Ecology & Epidemiology**, v. 7, n. 1, p. 1407216, 2017.
- SPECTOR, M. P.; KENYON, W. J. Resistance and survival strategies of *Salmonella enterica* to environmental stresses. **Food Research International**, v. 45, n. 2, p. 455–481, 2012.
- SPOLIDORIO, D. M. P.; DUQUE, C. **Microbiologia e imunologia geral e odontológica**. São Paulo: Artes Médicas, 2013. 144 p.
- SUKHADEO, B. B.; TRINAD, C. Molecular mechanisms of bacterial infection via the gut. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v. 337, n. 19, p. 173–195, 2009.

TADINI, C.C., TELIS, V.R.N., MEIRELLES, A.J.A., PESSOA FILHO, P.A. **Operações Unitárias na Indústria de Alimentos**. 1. ed. Rio de Janeiro: LTC Editora, 2016.

TAYLOR, B. J.; QUINN, A. R.; KATAOKA, A. *Listeria monocytogenes* in low-moisture foods and ingredients. **Food Control**, v. 103, 153-160, 2019.

TANGO, C. N. et al. Microbiological quality and safety of fresh fruits and vegetables at retail levels in Korea. **Journal of Food Science**, v. 83, n. 2, p. 386–392, 2018.

TE GIFFEL, M. C.; ZWIETERING, M. H. Validation of predictive models describing the growth of *Listeria monocytogenes*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 46, n. 2, p. 135–149, 1999.

TEIXEIRA, A. A. Thermal food preservation techniques (pasteurization, sterilization, canning and blanching). In: **Conventional and advanced food processing technologies**. BHATTACHARYA, S. (Ed.). Chichester: Wiley Blackwell, Chapter 6, 2015. p. 115-128.

THE NATIVE ANTIGEN COMPANY. **Mouse Anti *Listeria monocytogenes* (LZH1)**. Disponível em: <<https://thenativeantigencompany.com/products/mouse-anti-listeria-monocytogenes-lzh1/>>. Acesso em: 08 nov. 2019.

TONG, S. Y. C. et al. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 28, n. 3, p. 603–661, 2015.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiology - An Introduction**. 10. ed. San Francisco: Pearson Benjamin Cummings, 2010. p. 280-751.

VASCONCELOS, M. A. S.; FILHO, A. B. M. **Conservação de Alimentos**. e-Tec Brasil. Recife: EDUFRPE, 2010. 122 p.

VAZQUEZ DIAZ, J. Algunos aspectos a considerar en la didáctica del calor. **Enseñanza de Las Ciencias**, v. 5, n. 3, p. 235-8, 1987.

WERTHEIM, H. F. et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. **Lancet Infect Dis**, v. 5, n. 12, p. 751–762, 2005.

WU, S. et al. Food safety hazards associated with ready-to-bake cookie dough and its ingredients. **Food Control**, v. 73, p. 986–993, 2017.

XU, H.; LEE, H. Y.; AHN, J. Cross-protective effect of acid-adapted *Salmonella enterica* on resistance to lethal acid and cold stress conditions. **Letters in Applied Microbiology**, v. 47, n. 4, p. 290–297, 2008.

YANG, Y. et al. Growth temperature alters *Salmonella enteritidis* heat/acid resistance, membrane lipid composition and stress/virulence related gene expression. **International Journal of Food Microbiology**, v. 172, p. 102–109, 2014.

ZEAKI, N. et al. The role of regulatory mechanisms and environmental parameters in staphylococcal food poisoning and resulting challenges to risk assessment. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 2019. doi:10.3389/fmicb.2019.01307.

ZHU, Q.; GOONERATNE, R.; HUSSAIN, M. A. *Listeria monocytogenes* in fresh produce: outbreaks, prevalence and contamination levels. **Foods**, v. 6, n. 3, p. 21, 2017.