

# Modelagem do Crescimento de Bactérias Lácticas e Análise Microbiológica em Apresuntado e Presunto Cozido Fatiados e Embalados a Vácuo

## Growth Modeling of Lactic Acid Bacteria and Microbiological Analysis in Two Types of Sliced Vacuum Package Cooked Ham

**Simone Geitenes**

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Curitiba, PR

*simone\_geitenes@hotmail.com*

**Mariana Florindo Batista de Oliveira**

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Curitiba, PR

*mariana\_oliveira8@hotmail.com*

**Daneysa Lahis Kalschne**

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Medianeira, PR

*daneysa@hotmail.com*

**Cleonice Mendes Pereira Sarmiento**

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Medianeira, PR

*cleosarmiento@utfpr.edu.br*

**Resumo:** A carne e os produtos cárneos são altamente perecíveis, com vida de prateleira dependente do tipo e quantidade de microrganismo inicialmente presente. O objetivo deste trabalho foi analisar microrganismos patogênicos e deteriorantes (*Salmonella*, *Staphylococcus coagulase* positiva, *Clostridium* sulfito redutores, Coliformes a 45° C e bactérias lácticas) em duas marcas de apresuntado e presunto fatiados e embalados a vácuo comercializadas na região Oeste do Paraná. A partir dos resultados obtidos para a enumeração de bactérias lácticas durante a vida de prateleira (45 dias), realizou-se a predição do crescimento com aplicação de modelagem matemática por meio do ajuste aos Modelos de Gompertz Modificado e Logístico. Foi possível ve-

Recebido em 23/06/2013 - Aceito em 26/11/2013.

RECEN 15(1) p. 113-133 jan/jun 2013 DOI: 10.5935/RECEN.2013.01.07

rificar que nem todas as amostras atenderam aos parâmetros de qualidade estipulados pela legislação brasileira e, com a predição do crescimento de bactérias lácticas, verificou-se que ambos os modelos matemáticos estudados podem descrever bem o crescimento das bactérias lácticas.

**Palavras-chave:** microbiologia preditiva; modelo de Gompertz modificado; modelo logístico.

**Abstract:** Meat and meat products are highly perishable with shelf life dependent on the type and quantity of microorganisms present initially. The aim of this work was to analyze the pathogenic microorganisms (*Salmonella*, coagulase-positive *Staphylococcus*, *Clostridium* sulphite reducer and Coliforms at 45 °C) and deteriorating (acid lactic bacteria) in two brands of two kinds of sliced vacuum-packed cooked ham in Western Paraná. By the results for the enumeration of lactic acid bacteria during shelf life (45 days), it was held the predicting growth with application of mathematical modeling by adjusting the models of Modified Gompertz and Logistic. The results indicated that not all samples met the quality standards set by Brazilian legislation, and the lactic acid bacteria prediction of growth showed that both mathematical models studied can describe well the lactic acid bacteria growth.

**Key words:** predictive microbiology; Gompertz modified model; logistic model.

## 1 Introdução

Atualmente, um dos principais desafios das indústrias de alimentos é desenvolver produtos de qualidade microbiológica que não prejudiquem a saúde dos consumidores. Para que isso seja possível, faz-se necessário um controle rigoroso das condições higiênico-sanitárias às quais os alimentos são submetidos durante o seu processamento até a chegada ao consumidor final.

A carne e os produtos cárneos são altamente perecíveis, sendo que suas vidas de prateleira são estritamente dependentes do número e do tipo de bactéria inicialmente presente e do seu crescimento nas condições aplicadas durante o armazenamento,

particularmente pH, temperatura e atmosfera gasosa[1]. Dentre os vários produtos cárneos disponíveis no mercado, o apresuntado e o presunto fatiados embalados a vácuo se destacam em relação à comodidade, pois são comercializados em embalagens contendo porções pequenas já fatiadas.

Entende-se por apresuntado o produto cárneo industrializado, obtido a partir de recortes e/ou cortes e recortes de massa muscular dos membros anteriores e/ou posteriores de suínos, adicionado de ingredientes e submetido ao processo de cozimento adequado [2]. Já o presunto é preparado exclusivamente com pernil de suínos, desossado, adicionado de ingredientes e submetido a um processo de cozimento [3]. O apresuntado difere do presunto em alguns pontos: pelo fato de a carne ser moída, enquanto que o presunto se caracteriza por ter pedaços de carne inteiros, em blocos ou reestruturados [4]; por ser permitida a adição de proteína não cárnica no valor máximo de 2,5% comparado com um máximo de 2,0% para o presunto; e por ser permitido um teor máximo no produto final de 2,0% de amido, o qual não deve ser detectado no presunto [3].

Para que os alimentos, em geral, sejam considerados aptos para o consumo e possam ser disponibilizados nos pontos de venda, é necessário estarem de acordo com os padrões microbiológicos estabelecidos na Resolução da Diretoria Colegiada, RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001 da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) [6].

Os microrganismos que se desenvolvem nos alimentos são classificados em benéficos quando modificam as características originais desses transformando-os em um novo alimento; deteriorantes quando causam alterações prejudiciais; e patogênicos quando representam risco a saúde do consumidor[7].

Dentre os microrganismos patogênicos de importância em alimentos mais conhecidos destacam-se: *Salmonella sp.*, *Staphylococcus* e *Clostridium*. As bactérias do gênero *Salmonella* da família *Enterobacteriaceae*, são comuns ao trato gastrointestinal dos animais. São Gram-negativas, anaeróbias facultativas, não formam esporos e têm forma de bastonetes curtos (1 a 2  $\mu\text{m}$ ) [8]. As doenças causadas por *Salmonella* incluem a febre tifóide, febre entérica e salmoneloses (enterocolites). A febre tifóide causa septicemia, febre alta, diarreia e vômitos, enquanto que a febre entérica

causa sintomas semelhantes a febre tifóide, porém mais brandos. As salmoneloses caracterizam-se por diarreia, febre, dores abdominais e vômitos [9]. A taxa de fatalidade da febre tifoide é de 10%, comparado com menos de 1% das outras salmoneloses [8].

As bactérias do gênero *Staphylococcus* são cocos Gram-positivos, pertencentes à família *Micrococcaceae* e, por dividirem-se em planos diferentes, quando vistos ao microscópio, aparecem na forma de cacho de uva [10]. O *Staphylococcus* causa intoxicação alimentar que manifesta sintomas como náuseas, vômitos e dores abdominais, lembrando que a toxina por ele produzida é termoestável, não sendo inativada por regimes de cocção padrão [8].

A maioria das espécies de *Clostridium* são anaeróbios obrigatórios, fermentativos, formadores de esporos, podendo ser mesófilos ou termófilos [11]. O *Clostridium botulinum* é o agente causador do botulismo, que se manifesta sob a forma clássica pela ingestão de neurotoxinas pré-formadas no alimento [9]. A toxina botulínica bloqueia a liberação do neurotransmissor acetilcolina, resultando em fraqueza muscular e subsequente paralisia, sendo que os principais sintomas associados com o botulismo são a visão dupla, náusea, vômito, fadiga, tonturas, dor de cabeça, falhas respiratórias, nariz e garganta secos, sendo que a taxa de fatalidade é de 10% [8].

Os Coliformes a 45°C são um subgrupo dos coliformes totais, restrito aos membros capazes de fermentar a lactose em 24 horas a 44,5-45,5°C, com produção de gás [12, 13], também chamados de Coliformes fecais. São microrganismos indicadores de contaminação fecal em determinadas situações, anaeróbios facultativos em forma de bastonetes, sendo que esse grupo inclui espécies do gênero *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Citrobacter*[8].

As bactérias lácticas (BAL), consideradas como principal microrganismo deteriorante encontrado em apesuntados e presuntos [12, 14], constituem um grupo de bactérias Gram-positivas [5], anaeróbias facultativas, sem motilidade, que podem ser cocos ou bacilos não esporulados, os quais obtêm energia pela fermentação de carboidratos, produzindo ácido lático como maior produto da fermentação [11].

Os modelos matemáticos da microbiologia preditiva são utilizados na descrição do crescimento de microrganismos em diferentes condições físico-químicas, como

também podem ser usados para prever a segurança alimentar e a vida de prateleira de produtos alimentícios [30].

Na microbiologia preditiva, dois modelos matemáticos primários são muito utilizados e se destacam para descrever o crescimento de microrganismos. São eles o modelo de Gompertz Modificado e o modelo logístico [15, 29].

O objetivo deste trabalho foi analisar duas marcas comerciais de apresuntado e de presunto fatiados e embalados a vácuo, comercializadas na Região Oeste do Paraná quanto aos microrganismos *Salmonella*, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Clostridium* sulfito redutores e Coliformes a 45<sup>o</sup> C, e quantificar, durante a vida de prateleira, o crescimento das BAL. Adicionalmente, ajustar os dados experimentais obtidos para a contagem de BAL aos Modelos de Gompertz Modificado e Modelo Logístico para a obtenção dos parâmetros de crescimento, duração da fase lag ( ), velocidade específica máxima de crescimento ( $\mu$ ) e população máxima atingida (A) com o *software Statistica 8.0*.

## 2 Desenvolvimento

Inicialmente, realizou-se visita aos pontos de venda de apresuntado e presunto fatiados e embalados a vácuo e foram selecionadas duas marcas comerciais a serem estudadas, ambas produzidas no estado do Paraná com Serviço de Inspeção Federal. Observou-se a data de fabricação do produto (selecionando-se produtos com data de fabricação mais próxima em relação à data de aquisição), o tipo de embalagem (a vácuo), a temperatura de estocagem indicada na embalagem (0 a 5<sup>o</sup>C) e a forma de armazenamento no estabelecimento comercial.

As amostras foram assim identificadas: A1: apresuntado da marca 1; A2: apresuntado da marca 2; P1: presunto da marca 1; P2: presunto da marca 2.

As amostras foram armazenadas em estufa incubadora tipo BOD (*Biochemical Oxygen Demand* - Tecnal, TE-391, SP, Brasil), à temperatura de 5<sup>o</sup>C. Inicialmente, foram realizadas as seguintes análises (tempo zero): pesquisa de *Salmonella*, contagem de *Clostridium* sulfito redutores, contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva e contagem de Coliformes a 45<sup>o</sup>C. Estas análises foram realizadas no Laboratório de Análises Microbiológicas e Físico-Químicas de Alimentos e Água (LAMAG) da

UTFPR - Campus Medianeira, de acordo com a Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) [16]. Semanalmente, durante 45 dias foi realizada a contagem de BAL das amostras de apresuntado e presunto (A1 e A2, P1 e P2) no Laboratório de Análises Microbiológicas da UTFPR - Campus Medianeira, seguindo-se a metodologia descrita por Silva et al. [13]. Todas as análises microbiológicas foram realizadas em duplicata.

As curvas de crescimento das BAL foram ajustadas aos modelos preditivos de Gompertz Modificado e ao Modelo Logístico.

O Modelo de Gompertz Modificado é dado pela equação 1 [17]:

$$y = A \cdot \exp\left[-\exp\left[\frac{\mu e}{A} \cdot (t - b)\right] + 1\right] \quad (1)$$

Em que:  $y = \frac{\log N}{N_0}$ ;  $A$  = população máxima atingida;  $\mu$  = velocidade específica máxima de crescimento ( $b^{-1}$ );  $e = 2,7182$ ;  $b$  = duração da fase lag (h);  $t$  = tempo (h).

O modelo logístico é dado pelas equações 2, 3 e 4:

$$y = \frac{A}{1 + \exp(D - P \cdot t)} \quad (2)$$

$$\mu = C \cdot \frac{P}{4} \quad (3)$$

$$b = D \cdot \frac{2}{P} \quad (4)$$

Em que:  $y = \log N/N_0$ ;  $A$  = população máxima atingida;  $C, D, P$  = parâmetros do modelo;  $\mu$  = velocidade específica máxima de crescimento ( $b^{-1}$ );  $b$  = duração da fase lag (h);  $t$  = tempo (h).

Modelos preditivos podem apresentar algumas vantagens sobre outro em determinado aspecto, mas podem ser deficientes em outros aspectos, assim são necessários critérios pré-determinados para uma avaliação global dos modelos. Dessa forma, índices estatísticos são utilizados para avaliação e comparação dos modelos. Neste tra-

balho, os modelos foram avaliados utilizando os seguintes índices estatísticos: erro médio quadrático (MSE), fator bias e o fator de exatidão [18] e coeficiente de determinação ( $R^2$ ).

O MSE fornece um comparativo para o erro entre diferentes modelos levando em consideração a soma dos quadrados residuais e os graus de liberdade, conforme descrito na equação 5.

$$MSE = \frac{RSS}{n} = \frac{(\text{valor}_{observado} - \text{valor}_{predito})^2}{n} \quad (5)$$

Onde:  $RSS$  = soma dos quadrados residuais;  $n$  = número de graus de liberdade (número de pontos experimentais - número de parâmetros do modelo).

O fator *bias* representa a estimativa da diferença entre os valores preditos e os valores observados (Equação 6). O fator *bias* é um desvio relativo médio, pois procura dar o mesmo peso na média dos valores que sobre-estimam e subestimam a média. No entanto, quando o fator *bias* é maior que 1, significa que o valor predito é maior que o observado; enquanto que quando o fator *bias* é menor que 1, significa que o valor predito é menor que o observado.

$$\text{fator bias} = 10^{\left( \frac{\log\left(\frac{\text{valor}_{observado}}{\text{valor}_{predito}}\right)}{n} \right)} \quad (6)$$

Onde:  $n$  = número de graus de liberdade.

O fator de exatidão expressa uma medida para obter a diferença média absoluta entre os valores preditos e observados (Equação 7). Conforme aumenta o fator de exatidão, o modelo é menos exato na média, logo como se calcula uma média dos valores, os valores com sinais positivos e negativos tendem a se anular. O cálculo do fator de exatidão, por se tratar de valores absolutos, será sempre maior que 1; assim, quanto maior o seu valor, menor a exatidão da estimativa da média.

$$\text{fatorexatidao} = 10^{\left( \frac{|\log\left(\frac{\text{valor}_{observado}}{\text{valor}_{predito}}\right)|}{n} \right)} \quad (7)$$

Em que:  $n$  = número de graus de liberdade.

Coeficiente de determinação corresponde à proporção da variação explicada pela equação de regressão em relação à variação total das respostas [19]. Quanto mais próximo de 1 melhor é o valor do  $R^2$ , o qual é calculado pela equação 8.

$$R^2 = \frac{SQRL}{SQT_c} \quad (8)$$

Em que:  $SQRL$  = Soma quadrática da regressão linear;  $SQT_c$  = soma quadrática total corrigido.

### 3 Resultados

Pelos resultados obtidos nas análises microbiológicas, verificou-se que nem todas as amostras encontraram-se satisfatórias quanto ao resultado de microrganismos patogênicos. Conforme pode ser visualizado nos resultados apresentados na tabela 1, apresuntado da marca 1 (A1) teve presença de *Salmonella sp.*

Tabela 1. Resultados das análises microbiológicas das amostras de apresuntados e presuntos fatiados e embalados a vácuo.

Amostras	Pesquisa de <i>Salmonella sp.</i> em 25 g	Contagem de <i>Staphylococcus coagulase</i> positiva (UFC/g)*	Contagem de <i>Clostridium</i> sulfito redutor (UFC/g)*	Contagem de Coliformes a 45° C (UFC/g)*
A1	Presença	1,0x10 <sup>2</sup>	<10 <sup>1</sup>	<10 <sup>1</sup>
A2	Ausência	<10 <sup>2</sup>	<10 <sup>1</sup>	<10 <sup>1</sup>
P1	Ausência	1,0x10 <sup>2</sup>	<10 <sup>1</sup>	<10 <sup>1</sup>
P2	Ausência	<10 <sup>2</sup>	<10 <sup>1</sup>	<10 <sup>1</sup>
Legislação **	Ausência	3x10 <sup>3</sup>	5x10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>

\* UFC/g: unidade formadora de colônia/grama; \*\* padrão para amostra indicativa conforme Resolução RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001 [6].

De maneira similar, Mottin [3] ao analisar 30 amostras de apresuntado fatiado com serviço de inspeção federal, verificou duas com presença de *Salmonella*.

Como o grupo da *Salmonella* não forma esporos, elas são relativamente termosensíveis, podendo ser destruídas à temperatura de 60°C por 15 a 20 minutos [8]. Teoricamente os produtos cárneos para serem considerados cozidos, como no caso do apresuntado e do presunto, devem ser submetidos a um processo de cozimento que atinja temperatura mínima de 71°C no centro geométrico do produto [20], garantido a eliminação de patógenos como o gênero *Salmonella*.

Mas, contaminações cruzadas, principalmente durante a etapa de fatiamento podem gerar re-contaminações posteriores à etapa de cocção, que podem ser prevenidas com a implantação adequada de boas práticas de fabricação. De acordo com Forsythe [8], o crescimento de microrganismos em alimentos ocorre devido ao controle inadequado da temperatura, de práticas de manipulação inapropriadas ou por contaminação cruzada de alimentos crus com alimentos processados.

Pela contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva verificou-se que os produtos avaliados estavam dentro do padrão exigido pela legislação brasileira [6]. Esse grupo está diretamente ligado com contaminações cruzadas e práticas de higiene inadequada por parte dos manipuladores de alimentos [13]. Os humanos e os animais são os principais reservatórios, estando os estafilococos presentes nas vias nasais e na garganta, além do cabelo e pele de 50% ou mais dos indivíduos saudáveis [8]. O principal representante desse grupo é o *Staphylococcus aureus*, o qual tem sido associado frequentemente às doenças estafilocócicas, quer sejam de origem alimentar ou não, causadas por suas enterotoxinas [9]. O *Staphylococcus aureus* não é resistente ao calor, sendo facilmente destruído na pasteurização ou na cocção de alimentos, entretanto suas toxinas são altamente resistentes, suportando tratamentos térmicos como a esterilização [13].

A contagem de *Clostridium* sulfito redutor foi inferior a  $10^1$  UFC/g para as quatro amostras analisadas, números que indicam conformidade com o preconizado na legislação brasileira [6]. O grupo *Clostridium* sulfito redutor pode ser encontrado nos produtos cárneos, entretanto o nitrito de sódio amplamente utilizado em produtos cárneos é um componente nocivo ao seu desenvolvimento. Segundo Strasburg et al. [21] o nitrito de sódio induz e estabiliza a coloração rosada da carne magra, contribui para o sabor característico da carne curada, retarda o desenvolvimento da rancidez oxidativa e inibe a deterioração microbiana, em especial o *Clostridium botulinum*. Esse microrganismo é responsável pela causa do botulismo, intoxicação alimentar causada pela ingestão de neurotoxinas pré-formadas que bloqueiam a liberação do neurotransmissor acetilcolina resultando em fraqueza muscular e subsequente paralisia [8].

Pela contagem de Coliformes a 45°C, verificou-se conformidade com a legislação

brasileira [6] para as quatro amostras analisadas. São considerados microrganismos indicadores de contaminação fecal, pois a contagem de Coliformes é muito utilizada nas análises de alimentos tratados termicamente, ainda que esse grupo represente uma pequena porção das bactérias gram-negativas [8].

Alimentos deteriorados são aqueles que possuem sabor e odor desagradáveis, muitas vezes provenientes do desenvolvimento de microrganismos indesejáveis produtores de compostos voláteis durante o seu metabolismo, os quais o olfato e o paladar humano podem detectar [8]. De forma geral, a degradação dos alimentos envolve qualquer alteração que torne o alimento inaceitável para o consumo. As carnes e os produtos cárneos, em especial, são meios nutritivos ideais para microrganismos patogênicos e deteriorantes [22].

Segundo Hugas [23] nas carnes, as bactérias lácticas constituem uma parte da flora inicial a qual se desenvolve facilmente após o seu processamento, estocadas a baixas temperaturas, embaladas a vácuo ou em atmosfera modificada. Ainda segundo o mesmo autor, as linhagens de bactérias lácticas geralmente consideradas como naturais em carnes e produtos cárneos são: *Carnobacterium piscicola*, *C. divergens*, *L. sakei*, *L. viridescens*, *L. curvatus*, *L. plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Le. gelidum*. Os produtos metabólicos das bactérias lácticas têm sua importância na preservação dos alimentos. Entretanto, o crescimento incontrolável de algumas espécies de bactérias lácticas pode causar deterioração em carnes e produtos cárneos [23].

De acordo com Slongo et al. [24], o principal grupo deteriorante presente em produtos cárneos curados e cozidos, armazenados em temperaturas de refrigeração sob condições anaeróbicas (que envolvem embalagens com atmosfera modificada e embalagem a vácuo), é representado pelas BAL.

Nas figuras 1 e 2 podem ser visualizadas as curvas de crescimento das BAL presentes nas amostras de apresuntados (A1 e A2, respectivamente) ajustadas ao modelo de Gompertz modificado (A) e ao modelo logístico (B).

As BAL tiveram um rápido desenvolvimento nas amostras analisadas. A amostra A2 teve contagens inferiores (1 log) quando comparada com a amostra A1.

De forma semelhante, os resultados obtidos para o presunto das duas marcas comerciais também indicaram a presença e evolução rápida de BAL, conforme pode

ser visualizado nas figuras 3 e 4.

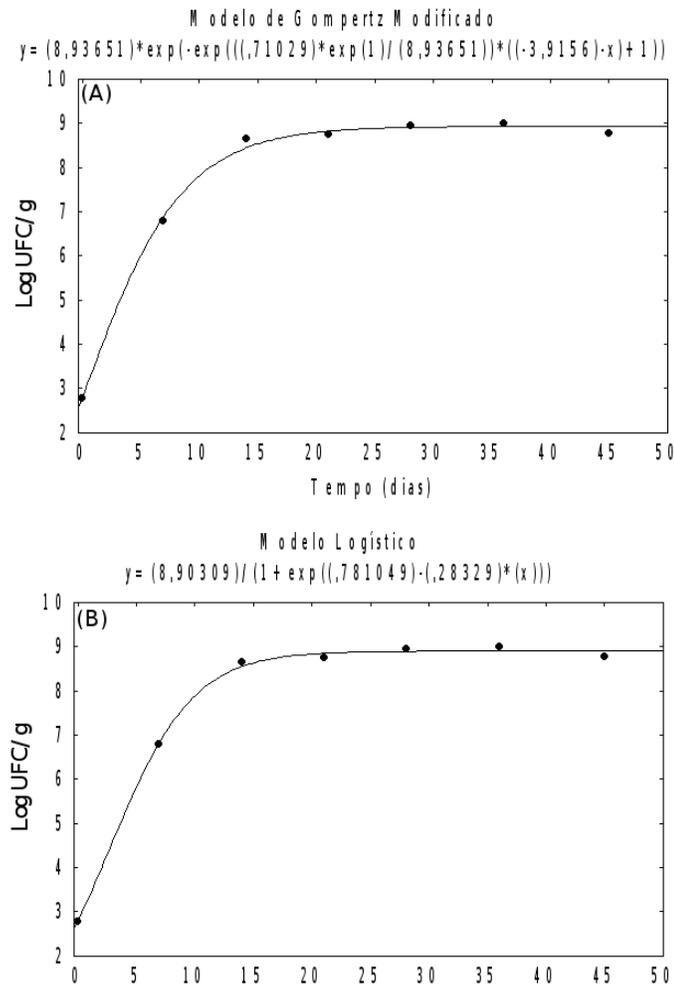


Figura 1. Curva de crescimento das BAL para a amostra de apresuntado fatiado da marca 1 (A1) ajustada ao Modelo de Gompertz Modificado (A) e ao Modelo Logístico (B).

Podem ser visualizados na tabela 2 os parâmetros de crescimento, duração da fase *lag*, velocidade específica máxima de crescimento e população máxima atingida para as amostras de apresuntado e presunto.

Nenhuma das quatro curvas de crescimento de BAL apresentou fase *lag*. Em contraste, Slongo et al. [24] analisaram BAL amostras de presunto fatiado tratado por alta pressão hidrostática comparados com uma amostra controle, e observaram fase *lag* para todos os ensaios, sendo que a menor delas foi verificada para a amostra

controle, que se estendeu por 11 dias, mas que, aos 19 dias, já atingiu contagens superiores a log 7 UFC/g.

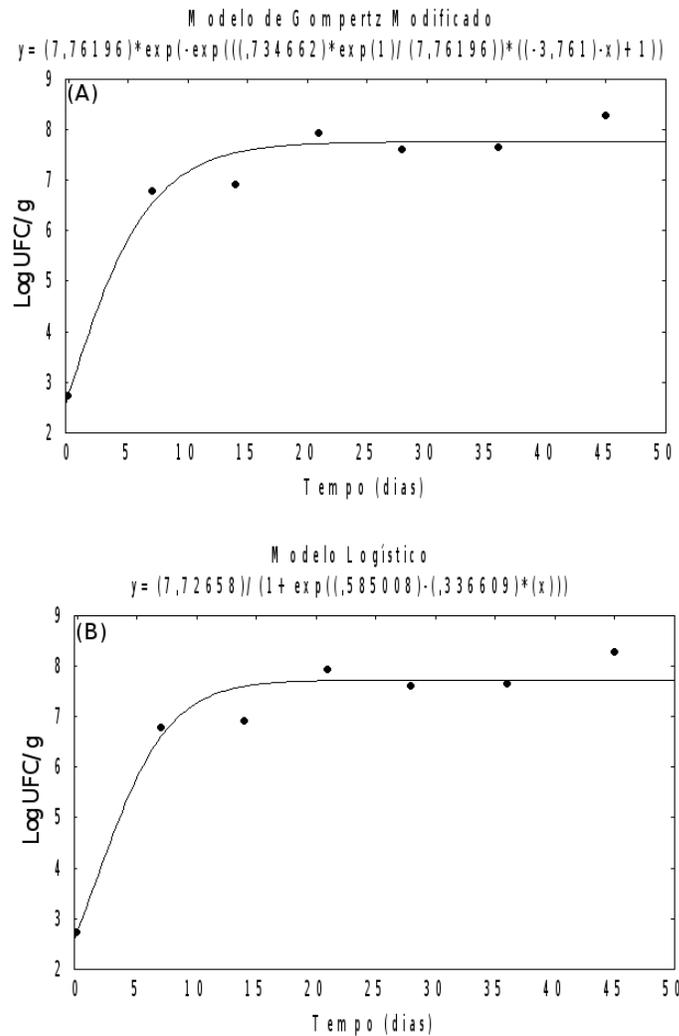


Figura 2. Curva de crescimento das BAL para a amostra de apresuntado fatiado da marca 2 (A2) ajustada ao Modelo de Gompertz Modificado (A) e ao Modelo Logístico (B).

De maneira similar, Cayré et al. [25] analisaram amostras de embutido cárneo cozido, armazenado em embalagens com diferentes permeabilidades ao oxigênio e em diferentes temperaturas para a contagem de BAL, sendo os dados experimentais ajustados aos modelo de Gompertz modificado. Verificaram que todas as amostras analisadas não tiveram fase lag, pois a contagem inicial estava entre 1,61 e 1,86 log

UFC/g.

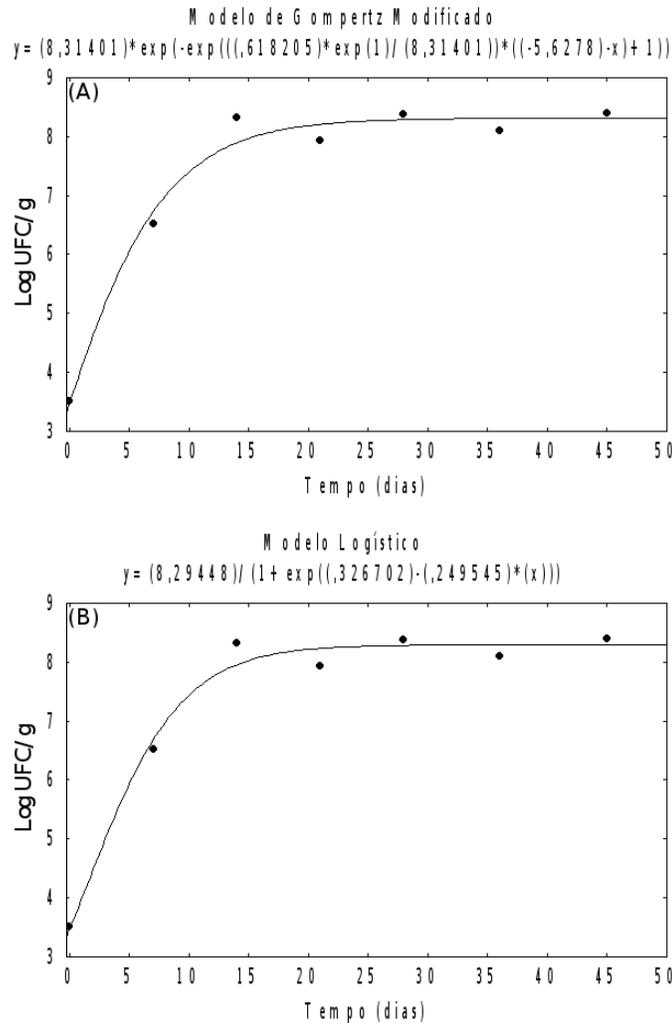


Figura 3. Curva de crescimento das BAL para a amostra de presunto fatiado da marca 1 (P1) ajustada ao Modelo de Gompertz Modificado (A) e ao Modelo Logístico (B).

A fase lag, assim como a exponencial são as de maior interesse para os microbiologistas de alimentos, pois, para a maioria dos alimentos, a deterioração ocorre antes de os microrganismos chegarem à fase estacionária [11]. Assim, em situações que se pretende reduzir o crescimento microbiano, uma maior extensão da fase lag retarda a chegada da fase exponencial e estacionária, consequentemente.

A velocidade específica máxima de crescimento das BAL variou entre as amostras,

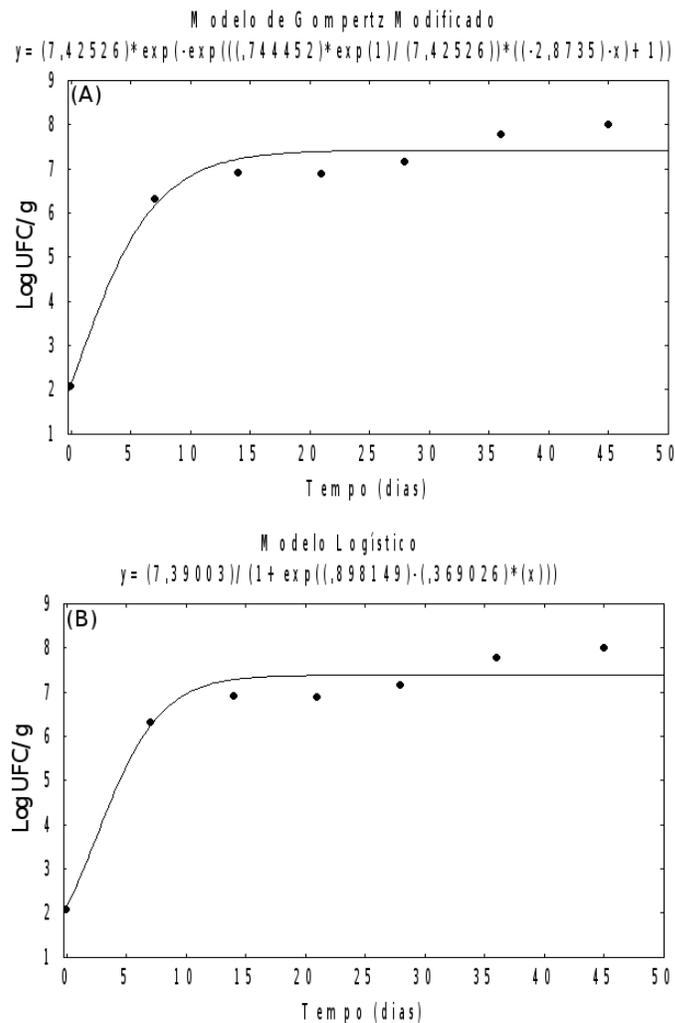


Figura 4. Curva de crescimento das BAL para a amostra de presunto fatiado da marca 2 (P2) ajustada ao Modelo de Gompertz Modificado (A) e ao Modelo Logístico (B).

sendo que a menor predita por ambos os modelos em relação às quatro amostras analisadas, refere-se à amostra de presunto da marca 1, e a maior para ao presunto da marca 2.

Pode ser observado, nas figuras 1 e 2, que as amostras de apresuntado tiveram uma maior população máxima atingida em relação às amostras de presunto (Figuras 3 e 4). Entre as marcas, o fabricante 1 mostrou contagens superiores (maior A), tanto para o apresuntado como para o presunto, quando comparada ao fabricante 2.

Tabela 2. Parâmetros de crescimento preditos para o crescimento de bactérias láticas pelo modelo de Gompertz Modificado e modelo Logístico.

Amostra	Modelo de Gompertz Modificado			Modelo Logístico		
	$a$	$\mu^b$	$A^c$	$a$	$\mu^b$	$A^c$
A1	0	0,71	8,937	0,28	0,781	8,903
A2	0	0,735	7,762	0,336	0,585	7,727
P1	0	0,618	8,314	0,25	0,327	8,294
P2	0	0,744	7,425	0,369	0,898	7,39

a: duração da fase *lag* (dias); b: velocidade específica máxima de crescimento ( $dias^{-1}$ ); c: população máxima atingida (log UFC/g).

De um modo geral, foi possível observar na modelagem do crescimento descrita por ambos os modelos, bem como pelos pontos experimentais, que as amostras de apresuntado atingiram contagens de BAL superiores em relação às amostras de presunto. Isso pode estar correlacionado com a diferença na quantidade de carboidratos permitida pela legislação brasileira, 2,0% para o presunto e 5,0% para o apresuntado [2] e, também, pelo tamanho dos cortes da carne, pois quanto menor o corte, maior é a área de contato pelos microrganismos.

Porém, indiferente da quantidade de carboidrato permitida nos produtos, nas quatro amostras analisadas, a população máxima atingida de BAL ultrapassou contagens de 7 log UFC/g, consideradas como limite máximo para evidências de alterações sensoriais e decréscimo do pH [27].

Dentre as alterações sensoriais geradas pelas BAL no substrato destacam-se os aromas e sabores indesejáveis, descoloração e até mesmo coloração esverdeada. Também, pode ser observado o decréscimo do pH, exsudado leitoso, estufamento das embalagens e perda de vácuo [14, 27, 28] que podem acabar gerando rejeição por parte dos consumidores.

Ainda conforme a tabela 2, observa-se que o modelo de Gompertz modificado mostrou fase *lag* estipulada como zero, enquanto o logístico mostrou-se próximo de zero. No modelo de Gompertz modificado a fase *lag* não é paralela ao eixo das abcissas e a assíntota matemática (número de células no inóculo) está fora da escala em tempo negativo [26]; como é conhecido que não existe fase *lag* negativa, esta foi

considerada como zero. Apesar de o modelo Logístico ter apresentado um valor numérico positivo para a fase *lag*, esse não atingiu nem 1 dia, o que permite afirmar que não houve fase *lag* para as quatro amostras analisadas, tendo em vista que amostras já tinham contagens elevadas no primeiro dia de vida de prateleira. A velocidade específica máxima de crescimento foi ligeiramente maior para o modelo de Gompertz modificado, exceto para a amostra A1. A população máxima atingida ficou semelhante para ambos os modelos, entretanto o modelo de Gompertz modificado foi ligeiramente superior.

Para avaliar, comparar e selecionar os modelos avaliados aos dados experimentais, foram utilizados índices estatísticos: o MSE, Fator *bias*, Fator de Exatidão e  $R^2$ , conforme mostrado na tabela 3.

Tabela 3. Índices estatísticos para avaliar a adequação dos modelos de Gompertz Modificado e modelo Logístico aos dados experimentais de crescimento das BAL.

Amostra	MSE <sup>a</sup>	Fator <i>bias</i>	Fator de exatidão	R <sup>2b</sup>	MSE	Fator <i>bias</i>	Fator de exatidão	R <sup>2b</sup>
	Modelo de Gompertz Modificado				Modelo Logístico			
A1	0,022	1,001	1,021	0,999	0,012	1,001	1,016	0,999
A2	0,203	0,996	1,069	0,981	0,223	0,996	1,068	0,979
P1	0,09	1	1,045	0,991	0,077	1,001	1,042	0,992
P2	0,224	0,995	1,081	0,981	0,24	0,995	1,081	0,98

a: erro médio quadrático; b: coeficiente de correlação.

Analisando os índices estatísticos, nota-se que ambos os modelos descreveram bem os dados experimentais obtidos para as amostras de apresuntado e presunto cozidos fatiados embalado a vácuo.

Partindo do pressuposto que quanto menor o erro médio quadrático melhor, será o ajuste do modelo, de um modo geral os valores para o MSE foram próximos de zero. Mas, de forma adicional, o apresuntado e o presunto da marca 1 mostram valores de MSE menores em relação a marca 2 para ambos os modelos de predição do crescimento. Para o Fator *bias*, resultados superiores a 1 indicam que o valor predito é maior que o observado, enquanto que inferiores a 1, significam que o valor predito é menor que o observado. Conforme os resultados obtidos, o Fator *bias* apresentou

valores muito próximos de 1 para todas as amostras avaliadas. O Fator de Exatidão também teve um bom ajuste, pois ficou próximo de 1, valor tido como mínimo de desvio entre os dados preditos e observados. O  $R^2$  mostrou-se muito próximo de 1 (valor ideal) para as amostras da marca 1, e para as amostras da marca 2 também apresentou um bom ajuste.

O modelo de Gompertz modificado trata-se de uma função exponencial dupla, que descreve uma curva sigmóide assimétrica. Apesar de existir uma grande variedade de curvas sigmóides, o Modelo de Gompertz Modificado é o que fornece melhores ajustes aos dados relacionados com a microbiologia [29]. Slongo et al. [24] constataram que o modelo de Gompertz modificado teve uma performance ligeiramente superior na predição das curvas de crescimento das BAL de amostras de presunto fatiado tratados por alta pressão hidrostática quando comparado com o modelo logístico.

Apesar de o modelo de Gompertz Modificado ser considerado o que fornece os melhores ajustes aos dados relacionados, o modelo logístico também tem sido utilizado [15]. De maneira coerente, pelos resultados obtidos com a modelagem dos dados experimentais, verificou-se que ambos os modelos forneceram um excelente ajuste das curvas de crescimento das BAL, de tal forma ambos podem ser utilizados para prever o crescimento desses microrganismos em amostras de apresuntado e presunto cozido fatiado embalado a vácuo.

## 4 Conclusões

As análises de *Salmonella sp.*, *Staphylococcus coagulase positiva*, *Clostridium* sulfito redutor e Coliformes a 45°C indicam que foram atendidos os critérios da legislação brasileira vigente para as amostras de apresuntado da marca 2, e presuntos das marcas 1 e 2, indicando boa qualidade microbiológica. Porém, na amostra do apresuntado da marca 1 foi detectada a presença de *Salmonella sp.*, o que caracteriza todo o lote desta amostra como condenado, impossibilitando o seu consumo. Com o acompanhamento microbiológico semanal para a contagem de BAL, verificou-se uma rápida evolução dessas bactérias, indicando que as duas marcas de apresuntado e presunto avaliadas não estariam em boas condições de consumo até o final da vida de

prateleira de 45 dias proposta pelos respectivos fabricantes, considerando um limite de 7 log UFC/g para a contagem de BAL. Verificou-se, também, que a contagem de BAL nas amostras de apresuntado foi superior as amostras de presunto. Dentre as marcas analisadas, concluiu-se que as amostras do apresuntado e presunto da marca 2 (P2 e A2) apresentaram menor população máxima atingida (em torno de 1 log), comparado às amostras do presunto e apresuntado da marca 1 (P1 e A1).

Ambos os modelos matemáticos estudados apresentaram excelente ajuste aos dados experimentais obtidos para o crescimento das BAL.

## 5 Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação Araucária pelo fornecimento de uma bolsa de pesquisa ao primeiro autor do artigo.

## Referências

- [1] RUSSO, F.; ERCOLINI, D.; MAURIELLO, G.; VILLANI, F. Behaviour of *Brochothrix thermosphacta* in presence of other meat. *Food Microbiol*, v. 23, p. 797-802, 2006.
- [2] BRASIL. Instrução normativa nº 20, de 31 de julho de 2000 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Diário Oficial da União de 03/08/2000.
- [3] MOTTIN, V. D. Avaliação microbiológica de apresuntados, fatiados e comercializados em supermercados de Porto Alegre, RS. Dissertação de Mestrado, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2008.
- [4] SANTOS, B. P. D. Caracterização físico-química e sensorial dos apresuntados elaborados com carne suína proveniente da raça JRS, e acrescidos dos hidrocolóides: carragena, fécula de mandioca e maltodextrina. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2005.

- [5] AXELSSON, L. Acid lactic bacteria: classification and physiology. In: SALMINEN, S., WRIGHT, A.V., OUWEHAND, A. Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects. 3 ed. New York: Marcel Dekker Inc, p. 1-66, 2004.
- [6] BRASIL. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 do Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial da União de 10 de janeiro de 2001.
- [7] FRANCO, B. D. G. M. Importância dos microrganismos nos alimentos. In: FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Microbiologia de alimentos. Atheneu, p. 1-12, 2008.
- [8] FORSYTHE, S. J. Microbiologia da segurança alimentar. Artmed, Porto Alegre, 2007.
- [9] FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Microrganismos patogênicos de importância em alimentos. In: FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Microbiologia de alimentos. Atheneu, p. 33-81, 2008.
- [10] GAVA, A. J.; SILVA, C. A. B.; FRIAS, J. R. G. Tecnologia de alimentos: Princípios e aplicações. São Paulo. Nobel, 2009.
- [11] MASSAGUER, P. R. D. Microbiologia dos processos alimentares. São Paulo. Varela, 2006.
- [12] LANDGRAF, M. Microrganismos indicadores. In: FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. Microbiologia de alimentos. Atheneu, p. 27-31, 2008.
- [13] SILVA, N. S.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. D. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S. D.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI, M. M. Manual de métodos de análises microbiológica de alimentos. Varela: São Paulo, 2007.
- [14] HU, P.; ZHOU, G.; XU, X.; LI, C.; HAN, Y. Characterization of the predominant spoilage bacteria in sliced vacuum-packed cooked ham based on 16S rDNA-DGGE. *Food Control*, v.20, p.99-104, 2009.

- [15] ERKMEN, O.; BARAZI, A. Modelling the effects of modified atmosphere on *Salmonella typhimurium* in packaged meat during storage in the refrigerator and at 12 °C. *Annals of Microbiology*, v.1, p. 73-81, 2008.
- [16] BRASIL. Instrução normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Diário Oficial da União de 18/09/2003.
- [17] ZWIETERING, M. H.; DE KOOS, J. T.; HASENACK, B. E.; DE WIT, J. C.; VAN'T RIET, K. Modelling of bacterial growth as a function of temperature. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 57, p. 1875–1881, 1991 .
- [18] ROSS, T. Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology. *Journal of Applied Bacteriology*, n. 81, v.5, p. 501-508, 1996.
- [19] RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. Planejamento de experimentos e otimização de processos. *Cárta*, Campinas, 2009.
- [20] BRASIL. Portaria nº 711, de 01 de novembro de 1995 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Diário oficial da União de 03 de novembro de 1995.
- [21] STRASBURG, G.; XIONG, Y. L.; CHIANG, W. Fisiologia e química dos tecidos musculares comestíveis. In: DAMODARAN, S., PARKIN, K.L., FENNEMA O.R. Química de Alimentos de Fennema. Artmed: Porto Alegre, p. 719-757, 2010.
- [22] ZHANG, H.; KONG, B.; XIONG, Y. L.; SUN, X. Antimicrobial activities of spice extracts against pathogenic and spoilage bacteria in modified atmosphere packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices stored at 4°C. *Meat Science*, v. 81, p. 686–692, 2009.
- [23] HUGAS, M. Bacteriocinogenic lactic bacteria for the biopreservation of meat and meat products. *Meat Science*, v. 49, p. S139- S150, 1998.

- [24] SLONGO, A. P.; ROSENTHAL, A.; CAMARGO, L. M. Q.; DELIZA, R.; MATHIAS, S. P.; ARAGÃO, G. M. F. D. Modeling the growth of lactic acid bacteria in sliced ham processed by high hydrostatic pressure. *LWT - Food Sci Technol*, v. 42, n. 1, p. 303-306, 2009.
- [25] CAYRÉ, M. E.; GARROA, O.; VIGNOLO, G. Effect of storage temperature and gas permeability of packaging film on the growth of lactic acid bacteria and *Brochothrix thermosphacta* in cooked meat emulsions. *Food Microbiol*, v. 22, p. 505-512, 2005.
- [26] NAKASHIMA, S. M. K.; ANDRÉ, C. D. S.; FRANCO, B. D. G. M. Review: Basic Aspects of Predictive Microbiology. *Braz J Food Technol*, v. 3, p. 41-51, 2000.
- [27] KREYENSCHMIDT, J.; HUBNER, A.; BEIERLE, E.; CHONSCH, L.; SCHERER, A.; PETERSEN, B. Determination of the shelf life of sliced cooked ham based on the growth of lactic acid bacteria in different steps of the chain. *J Appl Microbiol*, v. 108, p. 510-520, 2010.
- [28] AUDENAERT, K.; D'HAENE, K.; MESSENS, K.; RUYSSSEN, T.; VANDAMME, P.; HUYS, G. Diversity of lactic acid bacteria from modified atmosphere packaged sliced cooked meat products at sell-by date assessed by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. *Food Microbiol*, v. 27, p. 12-18, 2010.
- [29] SARMENTO, C. M. P. Modelagem do crescimento microbiano e avaliação sensorial no estudo da vida de prateleira de mortadela e linguiça defumada em armazenamento isotérmico e não isotérmico. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2006.
- [30] FERREIRA, L. D. Utilização da microbiologia preditiva na avaliação do crescimento de bactérias ácido lácticas em presunto fatiado. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2004..