



**Universidade de São Paulo**  
Brasil

**FBA 0437 – Diversidade microbiana em alimentos**

***Aula introdutória***

Prof. Uelinton Pinto  
Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental  
uelintonpinto@usp.br

<b>Maio</b>	
15	Apresentação da disciplina Introdução a Biodiversidade microbiana em Alimentos (Fatores intrínsecos, extrínsecos e implícitos)
22	Grupos de micro-organismos importantes em alimentos Micro-organismos indicadores
29	Microbiologia da água / Microbiologia de pescados Atividade em sala
<b>Junho</b>	
05	Microbiologia de leite e derivados Microbiologia de vegetais
12	<b>Atividade 1</b>
19	Microbiologia de carnes e derivados
26	Microbiologia de alimentos envasados/ Microbiologia de outros alimentos
<b>Julho</b>	
<b>03</b>	<b>Prova</b>

**Importante:**

1. Não haverá prova substitutiva;
2. Aluno que faltar à prova por motivo justo deverá comunicar aos professores dentro de 24 h para ter direito a uma prova extra. Caso isso não ocorra, o aluno perderá o direito a nova prova;

**Avaliações**

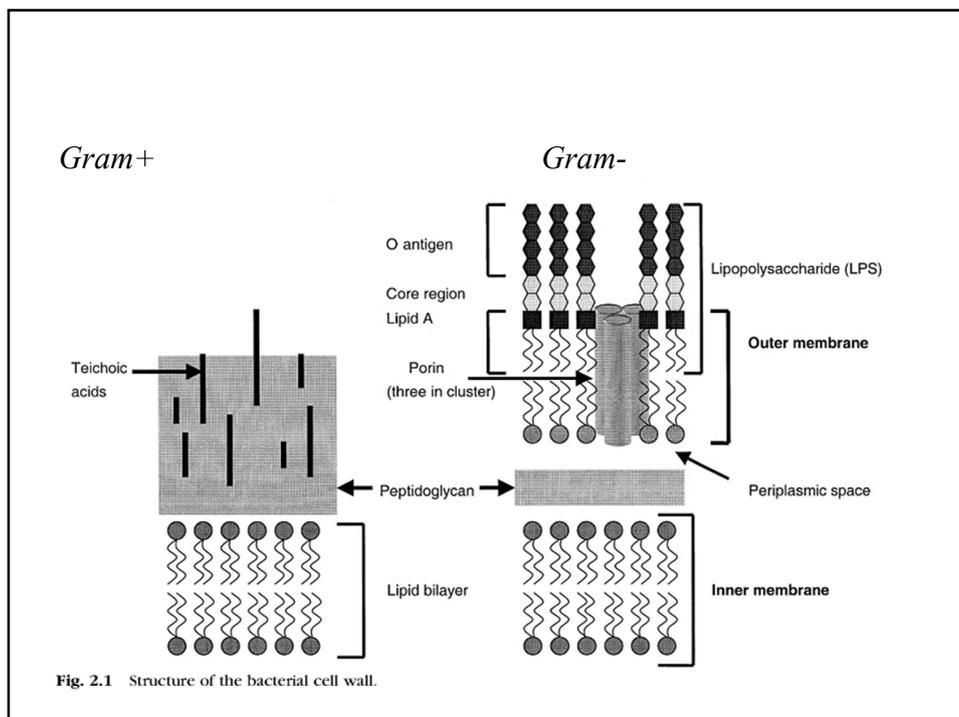
Atividade 1: 25%

Prova 2: 50%

Atividades em sala: 25%

**Bibliografia**

1. Adams, M. R. e Moss, M. O. Food microbiology. 3a ed., RSC Publishing, 2008.
2. Doyle, M.P. et al. Food Microbiology: fundamentals and frontiers. ASM Washington, DC;
3. Downes, F.P. e Ito, K. Compendium of Methods of Microbiological Examination of Foods. American Public Health Association, 4a ed, 2001;
4. Franco, B.D.G.M. e Landgraf, M. Microbiologia dos Alimentos, Ed. Atheneu, 1996;
5. Jay, J.M., Loessner, M.J. e Golden, D.A. Modern Food Microbiology, Ed.Springer. 7a ed. 2005;
6. Montville, T.J. e Matthews, K.R. Food Microbiology – an Introduction. ASM Press, 2008;
7. Trabulsi, L. R. e Alterthum, F. Microbiologia. Ed. Atheneu, 5ª ed., 2008;



## Taxonomia Bacteriana

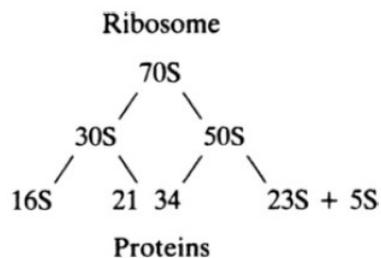
Antes da década de 80 – classificação era somente baseada em características morfológicas e bioquímicas

### Evolução da biologia molecular nas duas últimas décadas

- Homologia rDNA **16S**
- Conteúdo G+C
- Tipagem molecular
- Perfis sorológicos – caso da *Salmonella* e *E. coli*
- Perfil de ácidos graxos
- Proteômica
- Genômica

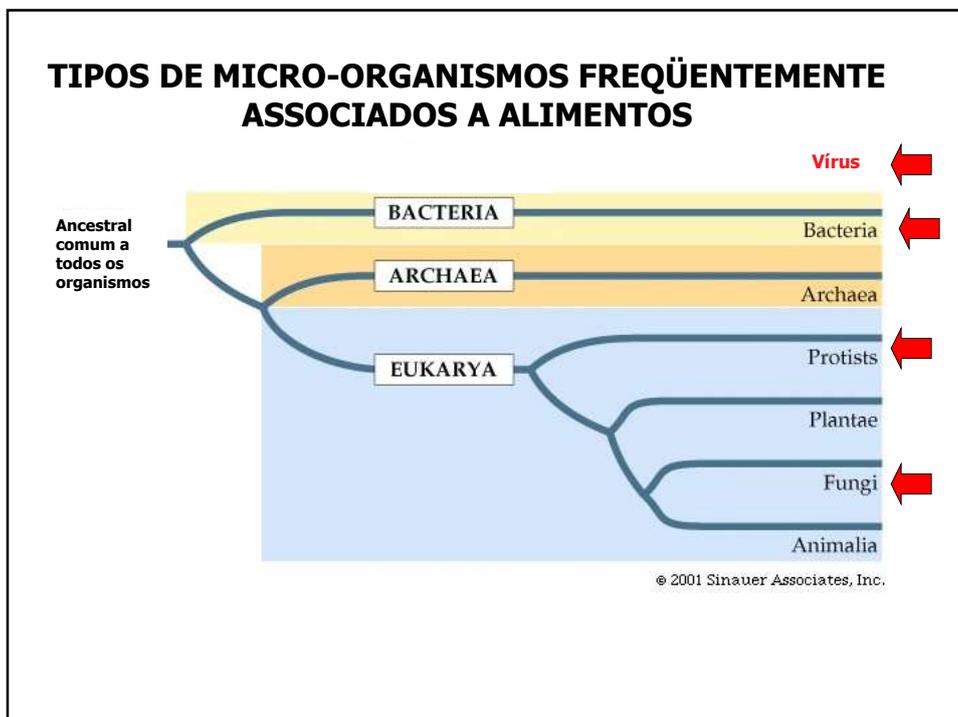
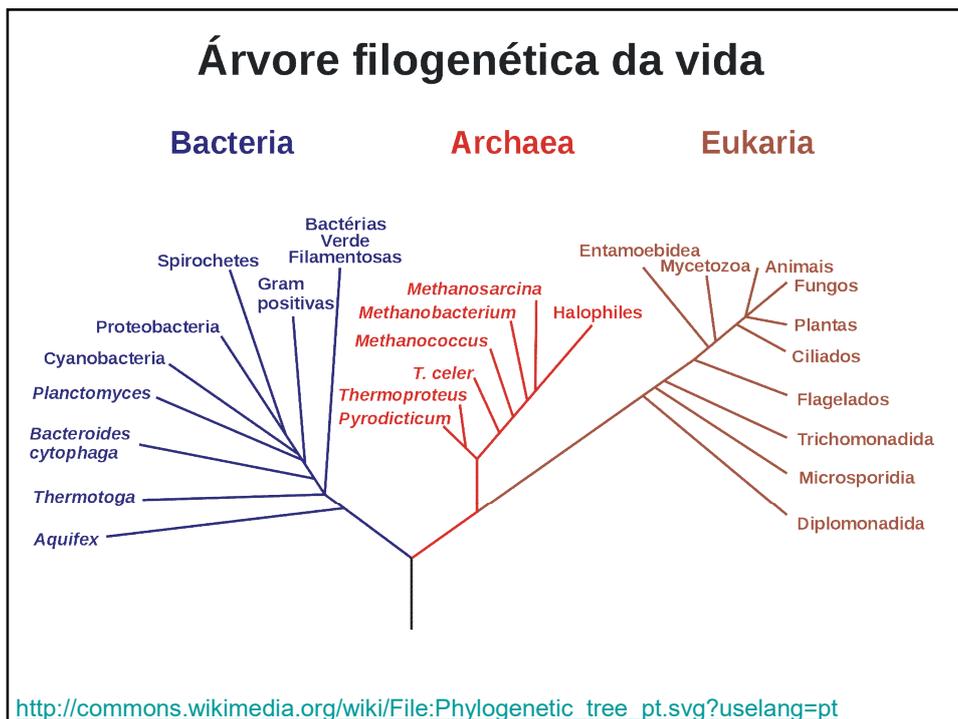
## Análise de rRNA (Carl Woese):

- Sequenciamento e comparação das seqüências
- Informações taxonômicas importantes
- Relógio molecular: subunidade 16S é altamente conservada – cronômetro das bactérias (rRNA 16S)



- rRNA: **1500 pb**

- Bibliotecas: NCBI



## Importância dos Micro-organismos nos Alimentos

### ➤ Classificação:

- Micro-organismos como **fonte** de nutrientes
- Micro-organismos como **produtores** de alimentos
- Micro-organismos como agentes de **deterioração** dos alimentos
- Micro-organismos como agentes **patogênicos** veiculados por alimentos

### Micro-organismos fonte de nutrientes

Cogumelos comestíveis



Bactérias lácticas produtoras de vitaminas

### Micro-organismos como **produtores** de alimentos

- Alteram características do produto de maneira desejável

pães  
iogurtes e bebidas lácteas fermentadas  
queijos  
manteiga  
cerveja  
vinho



### Micro-organismos como agentes de **deterioração** dos alimentos



**Micro-organismos como agentes patogênicos  
veiculados por alimentos**

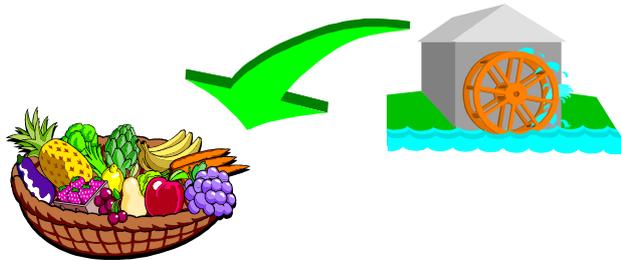
Podem causar Doenças veiculadas pelos  
alimentos (DVA)

OMS "... o problema de saúde mais  
disseminado no mundo contemporâneo..."

**Fontes primárias dos micro-organismos encontrados em  
alimentos**

- Solo e água
- Plantas
- Utensílios
- Trato gastrointestinal
- Manipuladores de alimentos
- Rações animais
- Pêlo e pele dos animais (caso do leite)
- Ar e pó

## Solo e água



*\* Uma colher de solo produtivo contem entre 100 milhões e um bilhão de bactérias*

*\* $10^9$  células bacterianas por grama de solo*

## Material Vegetal



**Pode ser semelhante a microbiota do solo e água, porém somente persistem aqueles capazes de se aderir à superfície.**

**Ex.: Bactérias lácticas, algumas leveduras, fungos.**

## Utensílios e Equipamentos

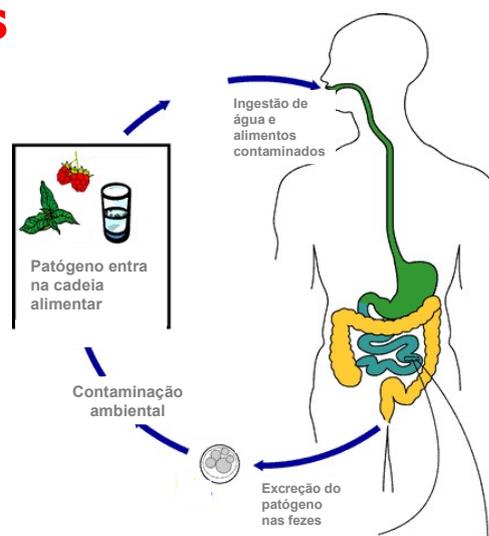
A contaminação reflete aquela do produto em contato com a superfície do equipamento.  
Moedores de carne, tábuas de corte, containers.

Contaminação cruzada

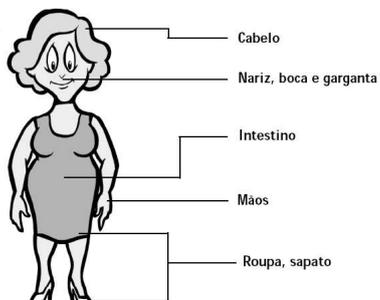
Equipamentos mal higienizados



## Trato Intestinal do Homem e Animais



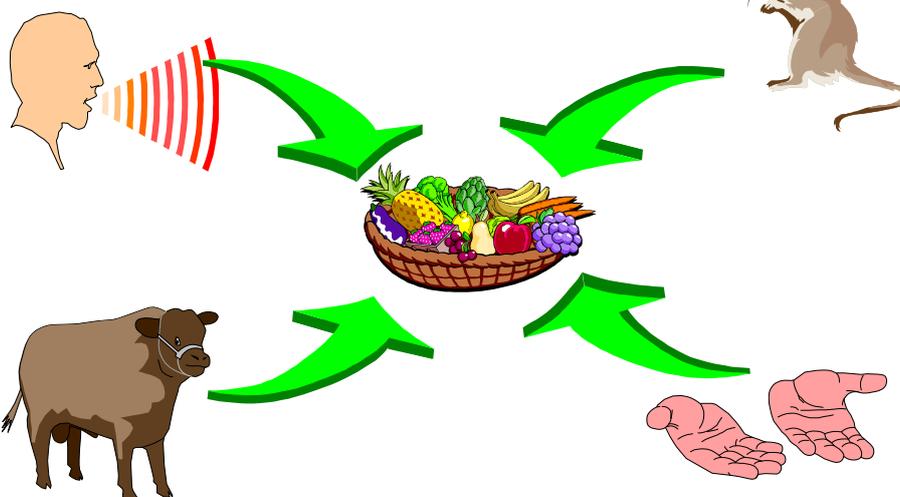
## Contaminação por Manipuladores



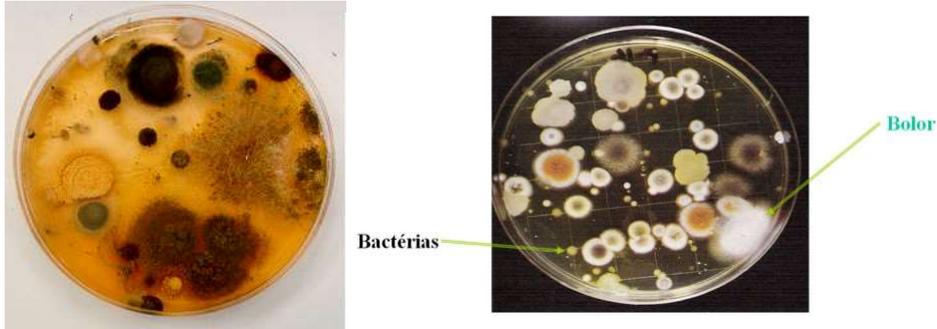
Uso de máscaras, aventais, gorros e luvas

Perigos físicos: cabelo solto, adornos, esmalte nas unhas

## Homens e Animais



## Ambiente (Poeira e Ar)



Grande número de fungos e leveduras, além das bactérias que também podem estar presentes.

Ambientes fechados – dutos de ar

## EXISTEM ESTRATÉGIAS DE CONTROLE

- BOAS PRÁTICAS
- APPCC
- EDUCAÇÃO DO CONSUMIDOR
- TECNOLOGIA E INOVAÇÃO
- APLICAÇÃO DE MÉTODOS DE CONSERVAÇÃO EFICAZES



## PRINCÍPIOS BÁSICOS DE CONSERVAÇÃO DE ALIMENTOS

### 1. MINIMIZAR CONTAMINAÇÃO

**Boas práticas**

### 2. REMOÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS

### 3. INIBIÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS

### 4. INATIVAÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS

## BOAS PRÁTICAS DE PRODUÇÃO

- São procedimentos sanitários mínimos necessários para garantir a produção de alimentos seguros
- Melhorar a qualidade e, especialmente, a segurança dos produtos
- Da fazenda a mesa do consumidor



## **PRINCÍPIOS BÁSICOS DE CONSERVAÇÃO DE ALIMENTOS**

### **1. MINIMIZAR CONTAMINAÇÃO**

**Boas práticas**

### **1. 2. REMOÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS**

**(Lavagem e sanitização, centrifugação e filtração)**

### **3. INIBIÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS**

### **4. INATIVAÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS**

<b>Sanitizantes</b>	<b>Aplicação</b>	<b>Concentração</b>	<b>Efetividade (% redução)</b>
<b>Compostos Clorados</b>	<b>Equipamentos, água frutas e hortaliças inteiras ou fatiadas</b>	<b>150-200 ppm</b>	<b>90-99%</b>
<b>Ácido Peracético</b>	<b>Frutas e hortaliças fatiadas</b>	<b>200 ppm</b>	<b>99%</b>
<b>Ácidos Acético, Láctico</b>	<b>Frutas e hortaliças</b>	<b>1-3%</b>	<b>90-99%</b>
<b>Ozônio</b>	<b>Água de lavagem, frutas e hortaliças</b>	<b>1-4 ppm</b>	<b>99-99,9%</b>
<b>Peróxido de Hidrogênio</b>	<b>Frutas e hortaliças inteiras ou fatiadas</b>	<b>5%</b>	<b>99,9%</b>

### **3. INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICROBIANO**

**3.1 Desidratação**

(estresse osmótico)

**3.2 Atmosfera modificada**

(estresse oxidativo)

**3.3 Aditivos Químicos**

(estresse ácido)

**3.4 Temperaturas baixas**

(estresse frio)

 refrigeração  
congelamento

### **CONSERVAÇÃO DE ALIMENTOS**

#### **4. Inativação de Micro-organismos**

**Tratamento Térmico**

**Irradiação (ionizante e não ionizante)**

**Altas pressões**

Várias outras técnicas

## Perguntas

1. Por que alguns micro-organismos crescem mais rapidamente em um dado tipo de alimento?
2. Por que alguns alimentos são mais facilmente conservados?

## **ECOLOGIA MICROBIANA DOS ALIMENTOS**

- **Fatores Intrínsecos**
- **Fatores Extrínsecos**
- **Fatores Implícitos**
- **Métodos de Processamento Adotados**

## FATORES INTRÍNSECOS

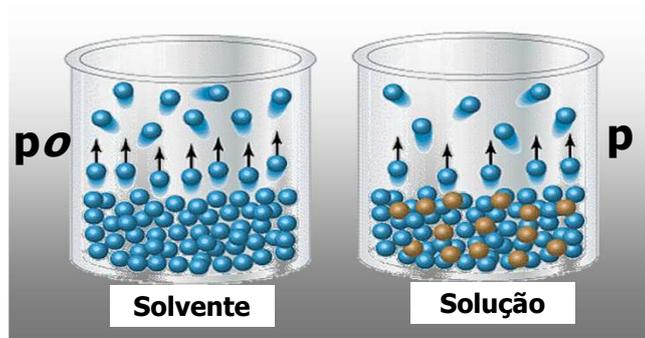
- 1. Atividade de Água ( $A_w$ )**
- 2. pH**
- 3. Potencial de Oxiredução ( $E_h$ )**
- 4. Nutrientes (composição química)**
- 5. Inibidores (antimicrobianos naturais)**
- 6. Estrutura biológica**

Jay, Cap. 3

*Fatores Intrínsecos -  $A_w$*

### Atividade de água ( $a_w$ )

$$a_w = \frac{p}{p_0} \quad \begin{array}{l} = \text{Pressão de vapor da solução (alimento)} \\ \text{Pressão de vapor da água pura} \end{array}$$



## 1. Atividade de água - $a_w$

$a_w$  é a quantidade de água “livre” ou disponível.

“Livre”: mesmas propriedades físicas da água pura

“Ligada”: propriedades físicas diferentes

**Regra geral: quanto maior a concentração de solutos menor a  $a_w$**

Faixa: 0 (completamente seco) — 1.0 (água pura)



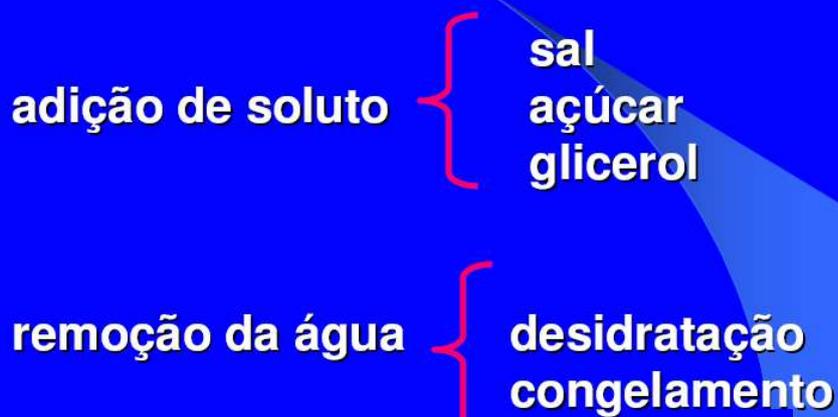
## Umidade vs Atividade de água

	Aa	Umidade (%p/p)
Alta umidade	> 0.90	> 50%
Umidade Intermediária	0.60 – 0.90	10 – 50%
Baixa umidade	< 0.60	< 10%

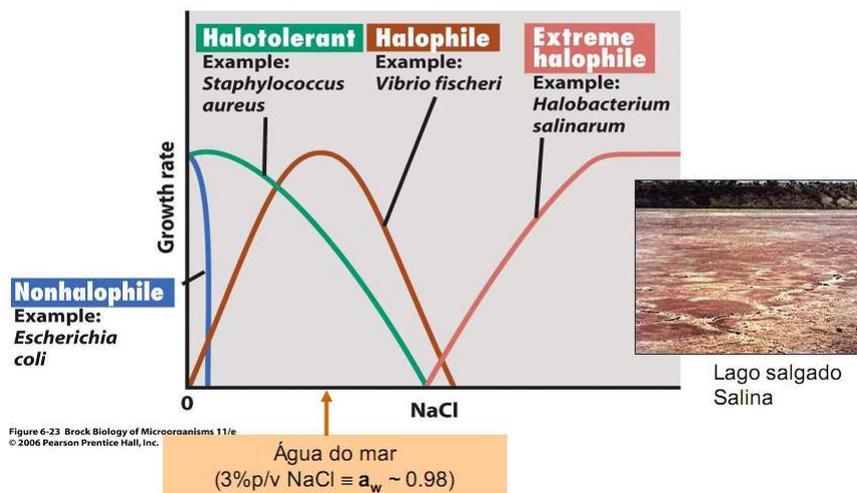
## Umidade vs Atividade de água

Umidade	aW
• Frutas: 70 a 90%;	0,97-0,99
• Vegetais: 80 a 90%	0,97-0,99
• Carne: 50 a 75%	0,95-0,99
• Peixe: 70 a 80%	$\geq 0,98$
• Leite: 87 a 91%	$\geq 0,98$
• Frutas secas: 15-20%	0,51 a 0,89
• Leite em pó: 2 a 4%	0,20

### Redução da atividade de água no alimento



O crescimento microbiano depende da quantidade de água disponível no meio extracelular



Faixa de multiplicação de micro-organismos em função da  $a_w$

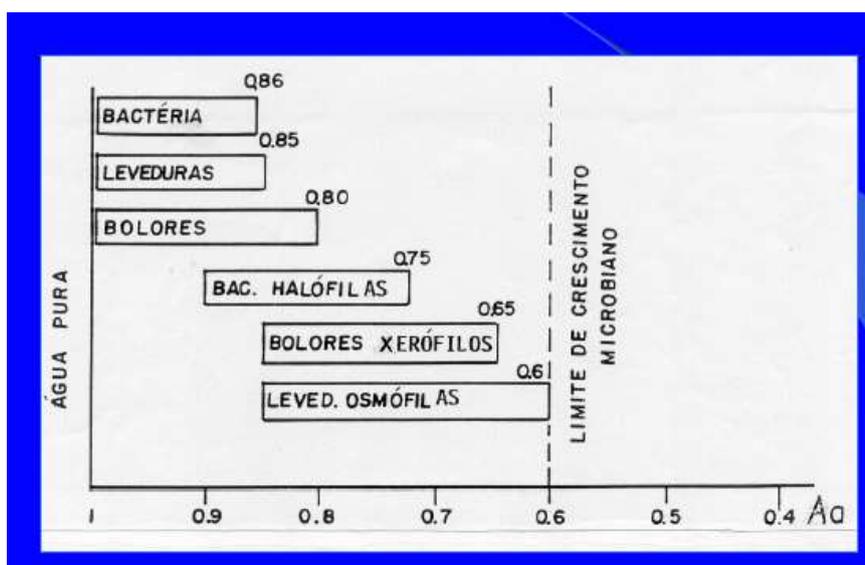
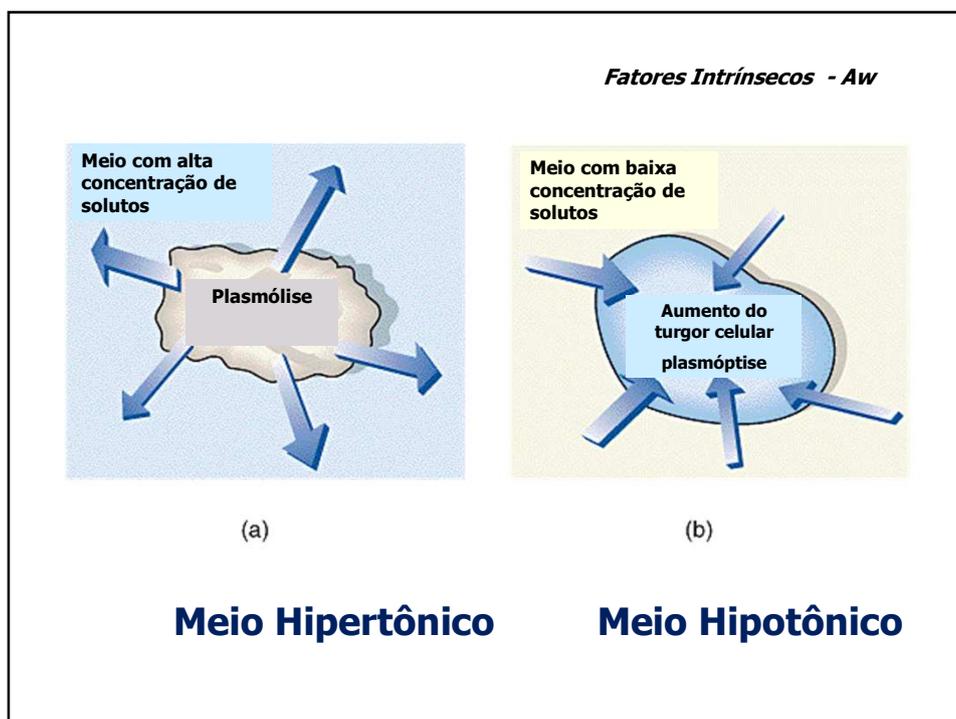
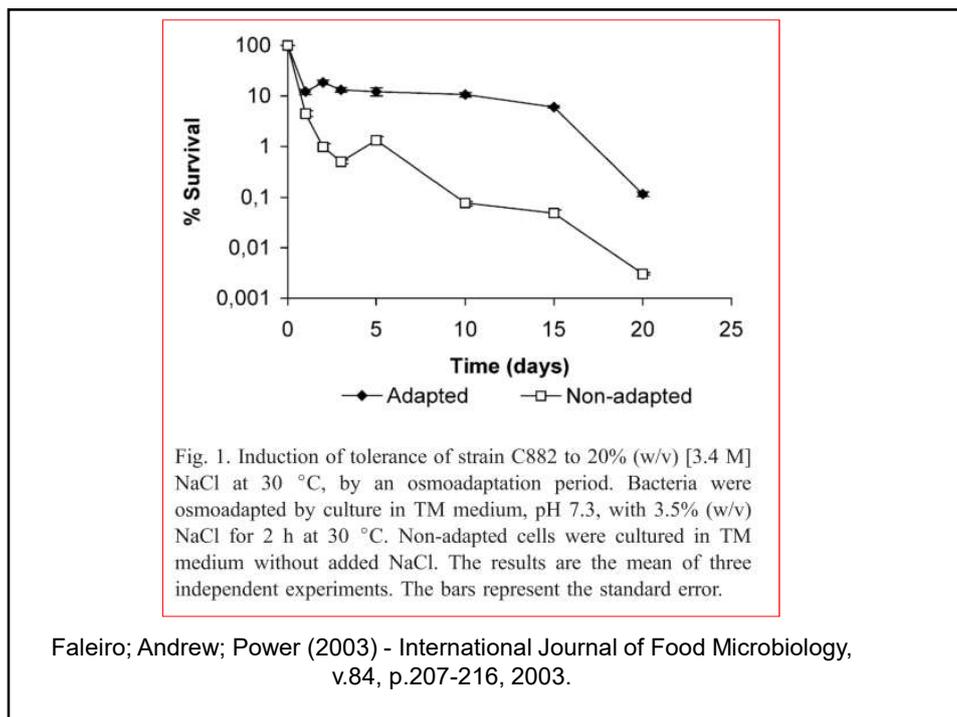


Table 3-5 Approximate Minimum  $a_w$  Values for Growth of Microorganisms Important in Foods

Organisms	$a_w$	Organisms	$a_w$
<b>Groups</b>		<b>Groups</b>	
Most spoilage bacteria	0.9	Halophilic bacteria	0.75
Most spoilage yeasts	0.88	Xerophilic molds	0.61
Most spoilage molds	0.80	Osmophilic yeasts	0.61
<b>Specific Organisms</b>		<b>Specific Organisms</b>	
<i>Clostridium botulinum</i> , type E	0.97	<i>Candida scottii</i>	0.92
→ <i>Pseudomonas</i> spp.	0.97	<i>Trichosporon pullulans</i>	0.91
→ <i>Acinetobacter</i> spp.	0.96	<i>Candida zeylanoides</i>	0.90
→ <i>Escherichia coli</i>	0.96	<i>Geotrichum candidum</i>	ca. 0.9
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0.95	<i>Trichothecium</i> spp.	ca. 0.90
<i>Bacillus subtilis</i>	0.95	<i>Byssoschlamys nivea</i>	ca. 0.87
→ <i>Clostridium botulinum</i> , types A and B	0.94	→ <i>Staphylococcus aureus</i>	0.86
<i>Candida utilis</i>	0.94	<i>Alternaria citri</i>	0.84
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0.94	→ <i>Penicillium patulum</i>	0.81
<i>Botrytis cinerea</i>	0.93	<i>Eurotium repens</i>	0.72
<i>Rhizopus stolonifer</i>	0.93	<i>Aspergillus glaucus</i> *	0.70
<i>Mucor spinosus</i>	0.93	<i>Aspergillus conicus</i>	0.70
		<i>Aspergillus echinulatus</i>	0.64
		<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	0.62
		<i>Xeromyces bisporus</i>	0.61





## Como as células se adaptam a baixa Aw?

### → Síntese e transporte de Solutos Compatíveis

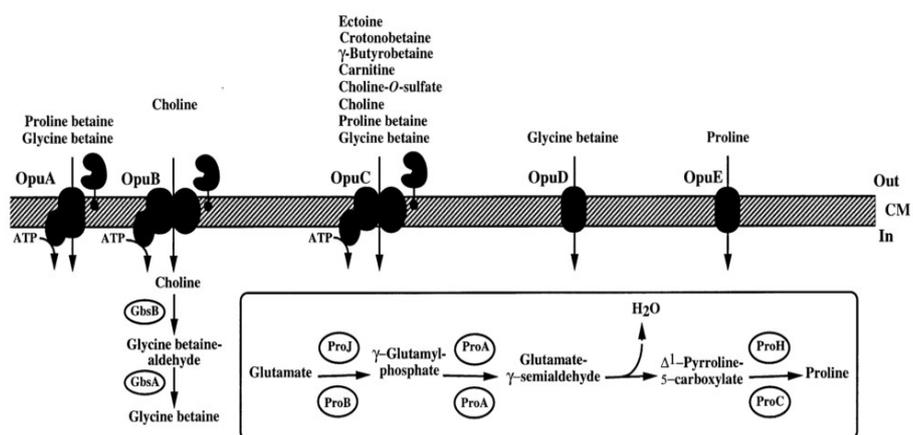


Fig. 2. Osmoprotectant transporters and compatible solute synthesis pathways in *B. subtilis*. This figure was adapted from a review by Bremer and Kraemer (2000).

Wood et al. (2000) - Comparative Biochemistry and Physiology - Part A, v.130, p.437-460, (2001).

## Some Compatible Solutes

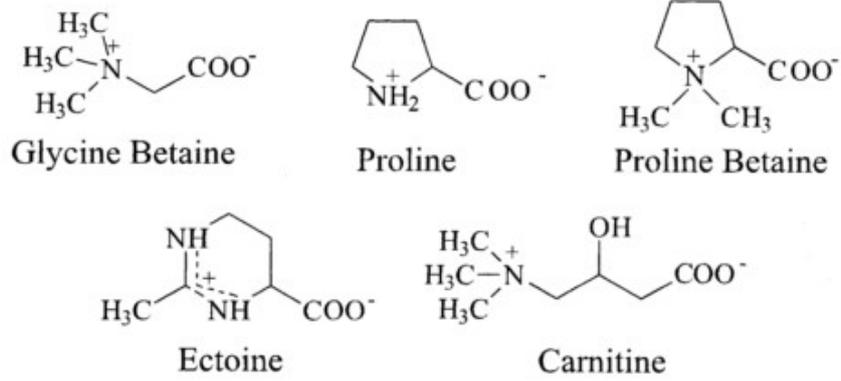
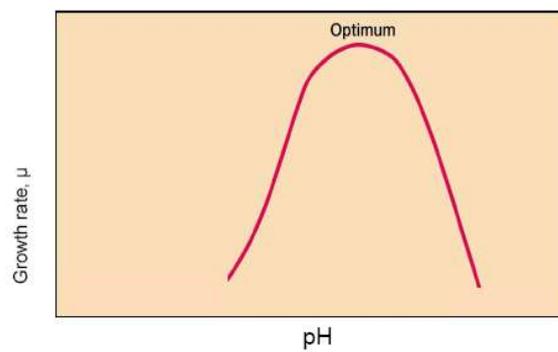


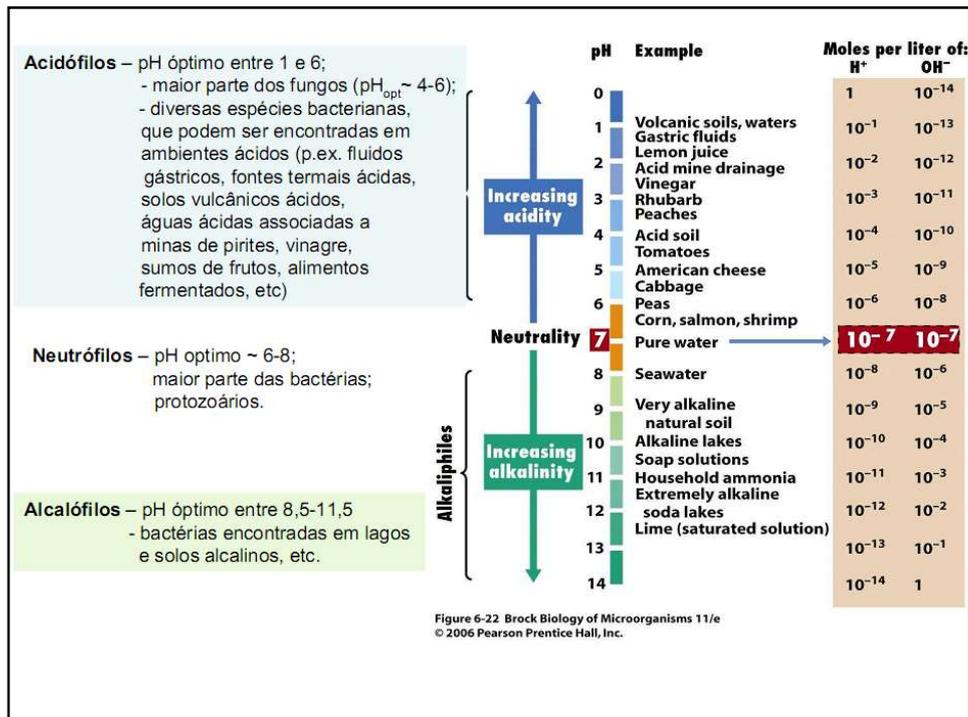
Fig. 1. Structures of selected compatible solutes.

## 2. pH

O crescimento microbiano depende do valor do **pH** extracelular

Para cada microrganismo:





$$\text{pH} = -\log_{10}[\text{H}^+]$$

$$\text{pKa} = -\log_{10}[\text{Ka}]$$

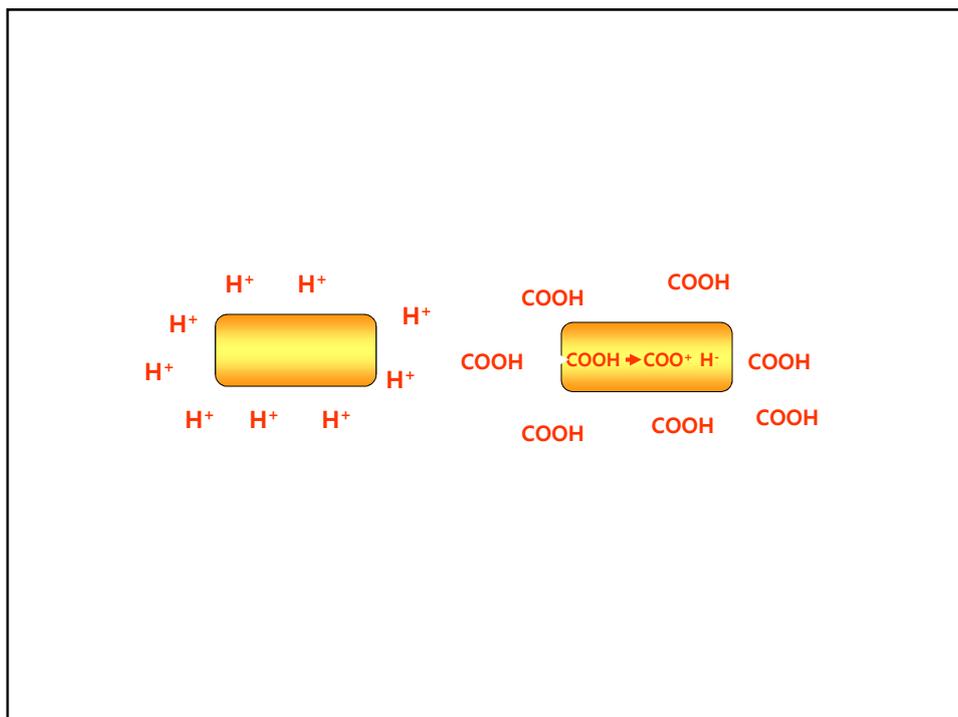
$$\text{pH} = \text{pKa} + \log_{10} \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

Situações hipotéticas:

pH = 4,5 e pKa = 2,5

pH = 4,5 e pKa = 4,5

Determinar as concentrações de A<sup>-</sup> e HA



Ácido	Fórmula	$pK_{a1}$
acético	$HC_2H_3O_2$	4,75
benzóico	$C_6H_5COOH$	4,20
cítrico	$C_5H_7COOH$	3,10
cloroso	$HClO_2$	1,92
fluoroacético	$HC_2H_2FO_2$	2,59
lático	$HC_3H_5O_3$	3,08
metilparabenzóico	$C_7H_9OCO_2H$	8,50
nitroso	$HNO_2$	3,14
propiónico	$HC_3H_5O_2$	4,87
sorbico	$C_5H_5COOH$	4,80
tricloroacético	$HC_2Cl_3O_2$	0,52

Valores de pKa de alguns ácidos e percentagem de ácido não dissociado em diferentes valores de pH

Ácidos orgânicos	pKa	pH				
		3	4	5	6	7
Ácido acético	4,7	98,5	84,5	34,9	5,1	0,5
Ácido benzóico	4,2	93,5	59,3	12,0	1,4	0,5
Ácido láctico	3,1	86,6	39,2	6,0	0,6	< 0,1
Ácido propiônico	4,9	98,5	87,6	41,7	6,7	0,7
Ácido sórbico	4,8	97,4	82,0	30,0	4,1	0,5

### - Tolerância a valores baixos de pH

bolores > leveduras > bactérias

- Microrganismos patogênicos apresentam um faixa de pH ótimo mais estreita

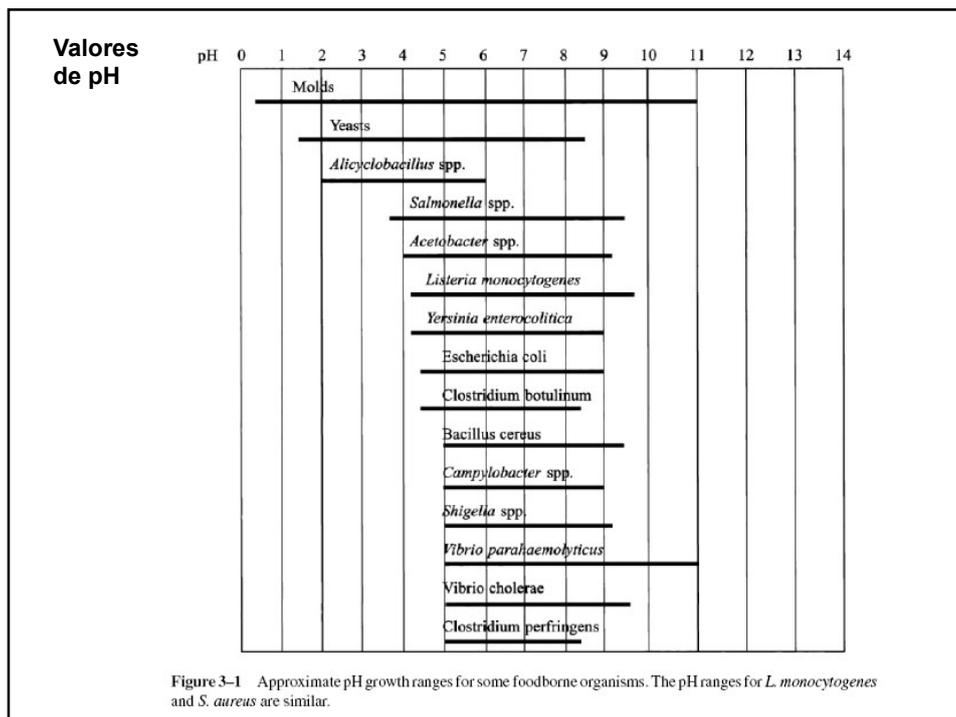
- Tipo de ácido influencia a tolerância ao pH

### Faixa de multiplicação de alguns microrganismos

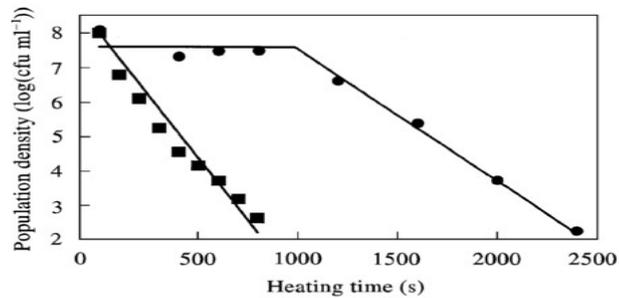
Microrganismo	pH ótimo	pH máximo	pH mínimo
Bactérias (a maioria)	6,5 a 7,5	9,0	4,5
Leveduras	4 a 6,5	8,0 a 9,0	1,5 a 3,5
Bolores	4,5 a 7,0	8,0 a 11,0	1,5 a 3,5

### Efeito dos ácidos nos microrganismos

- Maior gasto de energia para manter o pH intracelular
- Denaturação de proteínas, DNA
- Alteração da atividade das enzimas responsáveis pelas atividades vitais da célula
- Menor velocidade de crescimento



Alimento	pH
<b>laticínios</b>	
leite	6,3 a 6,5
manteiga	6,1 a 6,4
creme de leite	6,5
queijos	4,9 a 5,9
<b>carne bovina e aves</b>	
carne crua	5,1 a 6,2
frango	6,2 a 6,4
presunto	5,9 a 6,1
<b>pescado</b>	
peixe fresco	6,6 a 6,8
camarão	6,8 a 7,0
salmão	6,1 a 6,3
ostras	4,8 a 6,3
<b>vegetais</b>	4,2 a 7,3
<b>frutas</b>	1,8 a 6,7



Buchanan e Edelson -  
Food Microbiology, v.16,  
p.447-458.

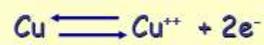
**Figure 1.** Representative example of the survivor curves observed with *E. coli* O157:H7 (SEA13B88) grown in acidogenic (●) and non-acidogenic (■) medium and then heated in brain–heart infusion broth (pH 6.0) at 58°C.

## Resposta de Tolerância a Ácidos

- Células tentam manter a Homeostase.
- Exemplo: *Salmonella* submetida a estresse ácido induz a síntese de 50 proteínas (Proteínas do Choque Ácido – ASPs).

**Fatores Intrínsecos -  $E_h$** **POTENCIAL DE ÓXIDO-REDUÇÃO ( $E_h$ )**

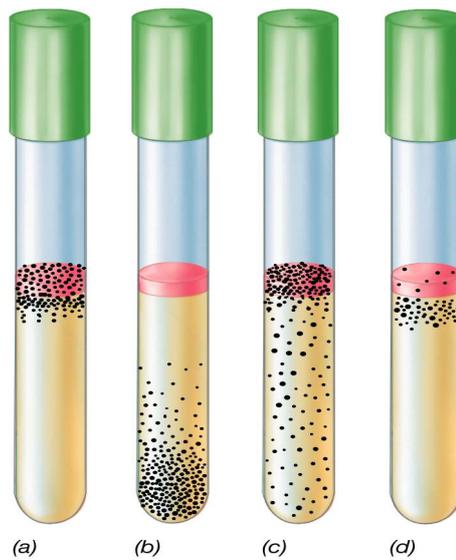
elemento perde elétrons : oxidação  
 elemento ganha elétrons : redução

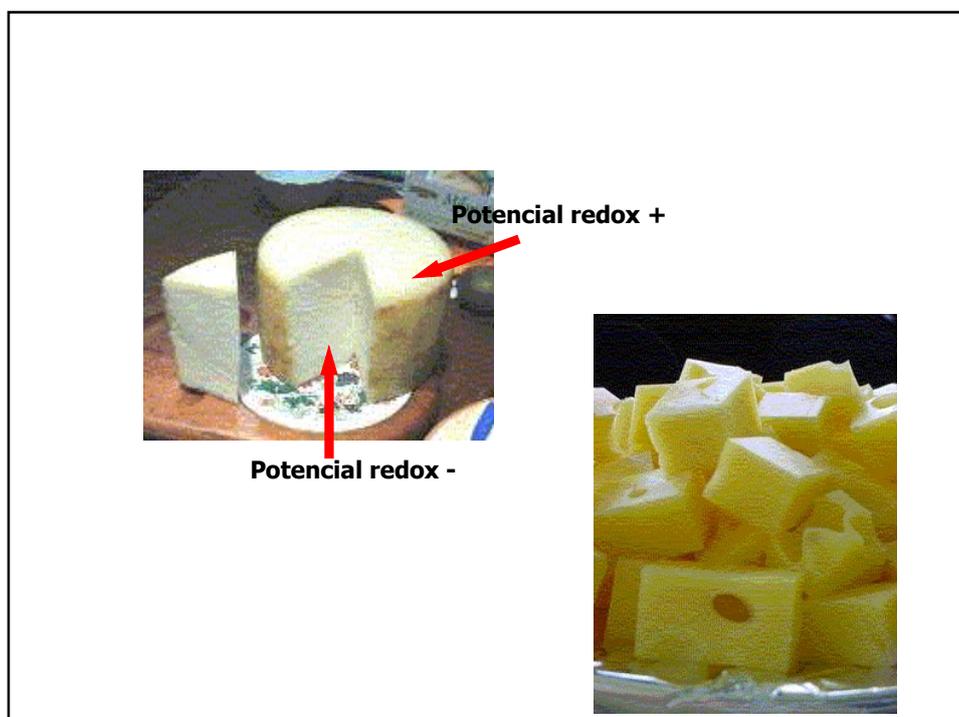
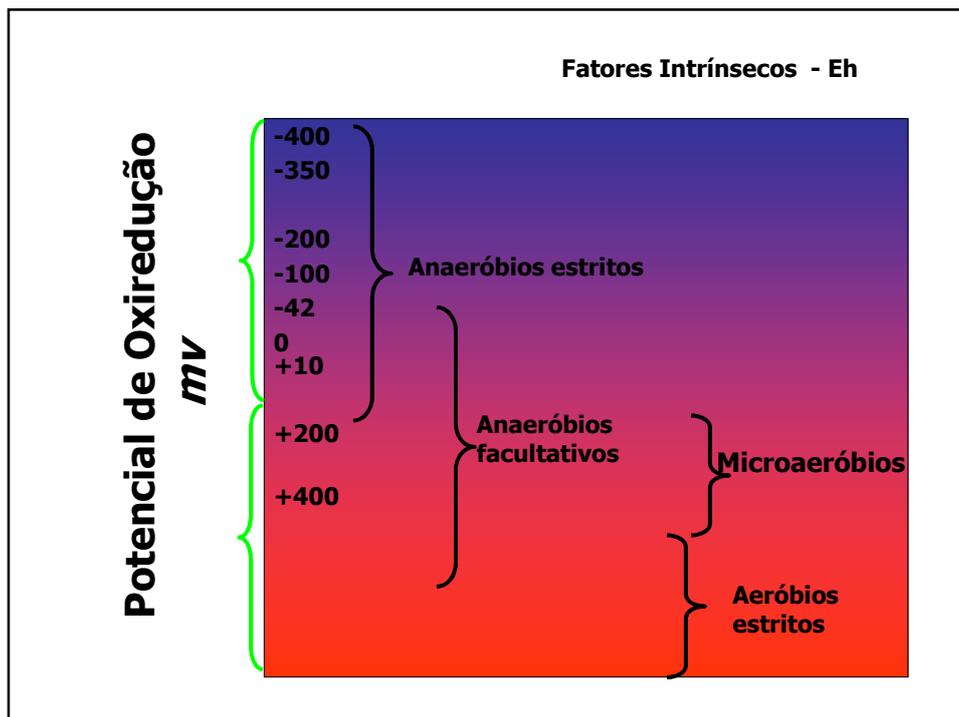


aeróbios: requerem  $E_h$  positivo (entre +350 e +500 mV)

anaeróbios: requerem  $E_h$  baixo ou negativo (< -150 mV)

Além disso, alguns anaeróbios requerem ausência de  $\text{O}_2$

**Crescimento microbiano em diferentes potenciais redox**



*Fatores Intrínsecos - nutrientes*

## 4. PRESENÇA DE NUTRIENTES

➤ **Nutrientes Complexos**

Ex. Polissacarídeos, proteínas, lipídeos

➤ **Nutrientes Não Disponíveis**

Ex. Vitaminas, minerais como ferro

**Nutrientes necessários para a multiplicação microbiana:**

- água
- fonte de energia (carbono)
- fonte de nitrogênio
- vitaminas
- sais minerais

*Fatores Intrínsecos - inibidores*

## 5. PRESENÇA DE INIBIDORES

➤ **Ácidos Orgânicos**

➤ **Compostos Fenólicos**

➤ **Sistemas Antimicrobianos**

➤ **Outros**

**Constituintes antimicrobianos**

<b>Condimentos:</b>	Eugenol (cravo, canela) Aldeído cinâmico (canela) Timol (orégano, sálvia) Calvacrol (orégano) Alicina (alho)
<b>Leite:</b>	Lactoferrina Conglutinina Sistema lactoperoxidase Lisozima
<b>Ovos:</b>	lisozima conalbumina
<b>Frutas e vegetais:</b>	ácido cumárico

## 6. Estrutura Biológica

- **Cascas de frutas, nozes, tuberculos, raízes**
- **Casca do ovo**
- **Película que envolve as sementes**
- **Pele dos animais**

## FATORES EXTRÍNSECOS

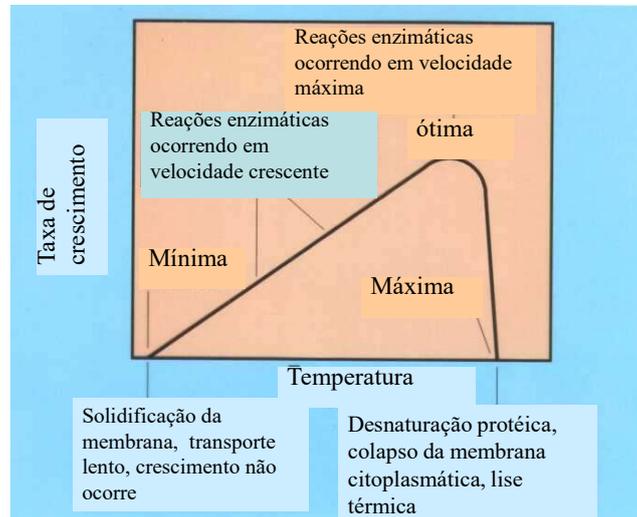
1. Temperatura
2. Umidade
3. Atmosfera gasosa

### *Fatores extrínsecos - temperatura*

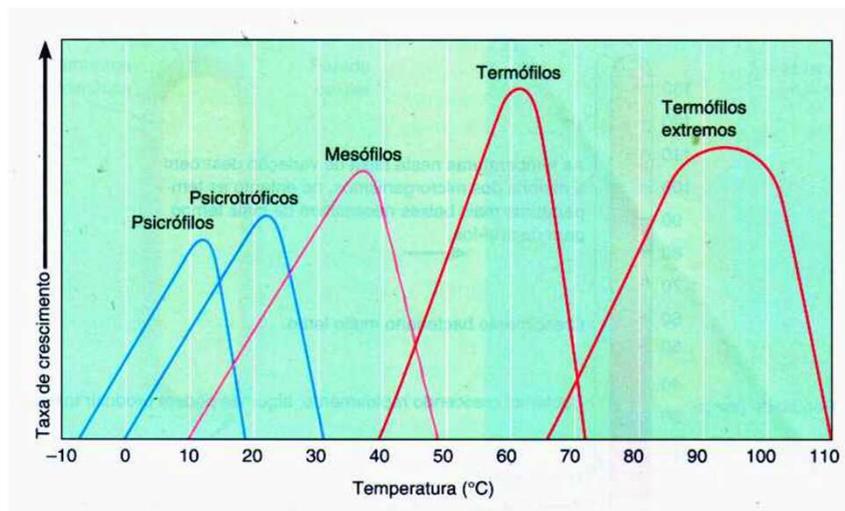
#### Temperaturas Cardeais para Crescimento Microbiano

Grupo	Mínima	Ótima	Máxima
Psicrófilo	-5°C	12 a 15°C	20°C
Mesófilo	10°C	30 a 45°C	50°C
Termófilo	40°C	55 a 75°C	60 a 90°C
<b>Psicrotrófico</b>	<b>0°C</b>	<b>25 a 37°C</b>	<b>40°C</b>

## Efeito da Temperatura no Crescimento Microbiano



## Classificação dos Micro-organismos Quanto à Temperatura de Crescimento



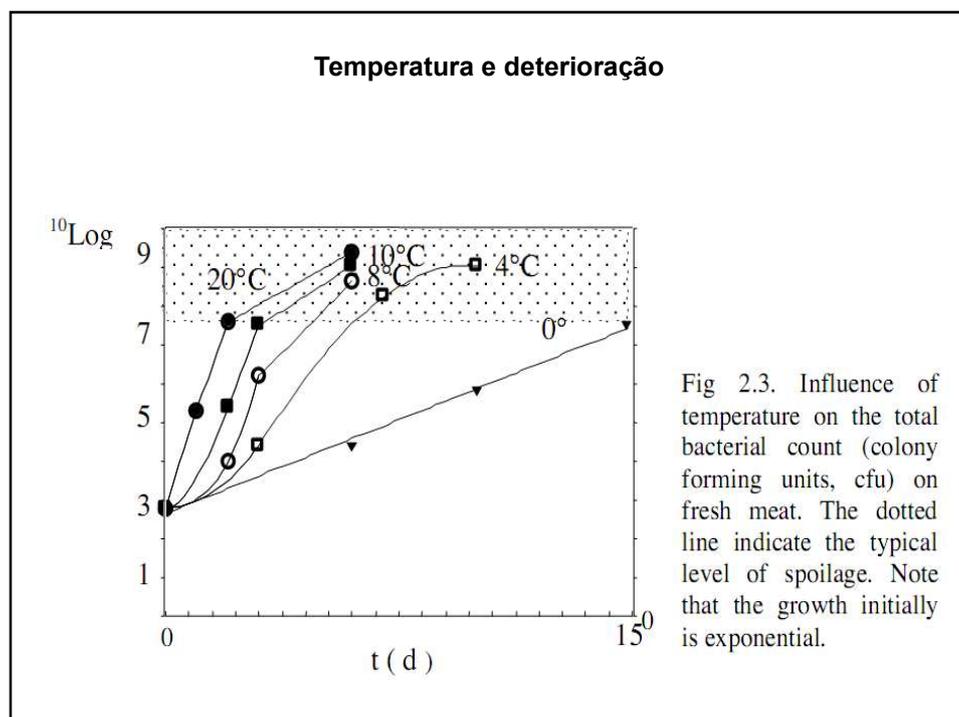
**Psicrotróficos** - *Pseudomonas*, *Alcaligenes*,  
*Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Listeria*, *Yersinia*.

**Mesófilos** - A maioria das espécies e a maior parte dos patógenos

**Termófilos** - Algumas espécies de *Bacillus* e *Clostridium*

**Bolores** - Faixa mais ampla de temperatura – crescem na temperatura de refrigeração

**Leveduras** - Crescem na temperatura de psicrotróficos e mesófilos



## Tempo de geração (g)

- É o tempo necessário para uma célula se dividir (ou seja, tempo para a população dobrar em número).

- tempo varia de acordo com o micro-organismo e das condições ambientais;
- maioria das bactérias: 1 – 3 h.

Número Aritmético de Células	Números Expressos como Potência de 2	Representação Visual dos Números
1	$2^0$	•
2	$2^1$	••
4	$2^2$	••••
8	$2^3$	••••••••
16	$2^4$	••••••••••••••
32	$2^5$	••••••••••••••••••••

- Quando o n° aritmético de células em cada geração é expresso como potência de 2 o expoente (**n**) reflete o n° de duplicações (gerações) que ocorreram.
- Crescimento exponencial.

## Exemplo no quadro

$$N = 1 \times 2^n$$

$$N = N_0 \times 2^n$$

$$\text{Log}N = \text{log} N_0 + n \text{log} 2$$

$$n = (\text{log}N - \text{log}N_0) / \text{log} 2 = (\text{log}N - \text{log}N_0) / 0.301$$

$$n = 3.3(\text{log}N - \text{log}N_0) \rightarrow N_0 = 1000 \text{ células}, N = 100 \text{ mil células}$$

$$n = 3.3(8-3) = 16.5 \text{ gerações}$$

Tempo de geração “g” = tempo decorrido / número de gerações

Digamos as 16.5 gerações aconteceram em 6 h.

$$g = 6 / 16.5 = 0.36 \text{ h} = 22 \text{ min.}$$

***Escherichia coli*: tempo de geração (g) 20 min sob condições ótimas**

**→ quantas células teremos após 3.5 h de incubação, considerando uma população inicial de  $10^3$  UFC/mL?**

**Dado:**

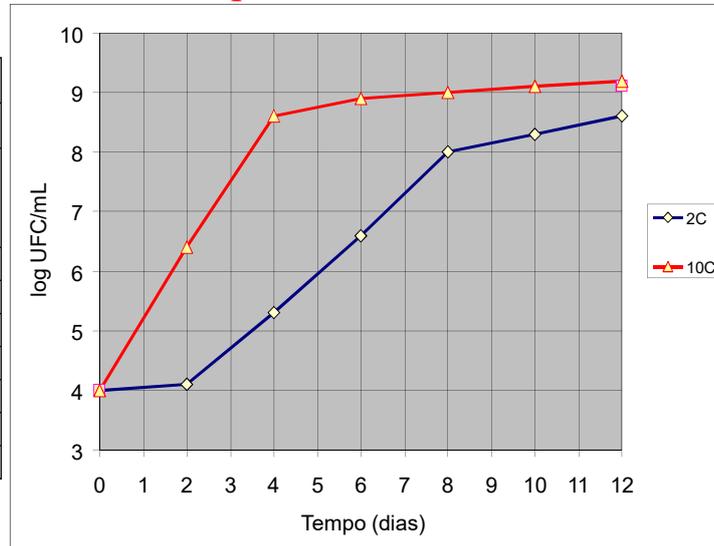
$$n = (\text{log}N - \text{log}N_0) / 0.301$$

$$g = t / n$$

**Calcule o tempo de geração (g) a 2 e 10°C**

→ **Entregar resultado na próxima semana**

tempo (dias)	Temperatura	
	2C	10C
	Log UFC/mL	Log UFC/mL
0	4	4
2	4,1	6,4
4	5,3	8,6
6	6,6	8,9
8	8	9
10	8,3	9,1
12	8,6	9,2



## **Problemas para a célula devido ao armazenamento ao frio**

- Redução da fluidez da membrana;
- Mudanças estruturais no DNA e no RNA;
- Diminuição da atividade enzimática;
- Enovelamento ineficiente ou lento das proteínas
- Ribossomos podem não funcionar bem a baixas temperaturas

O que acontece quando a célula é colocada a baixa temperatura?

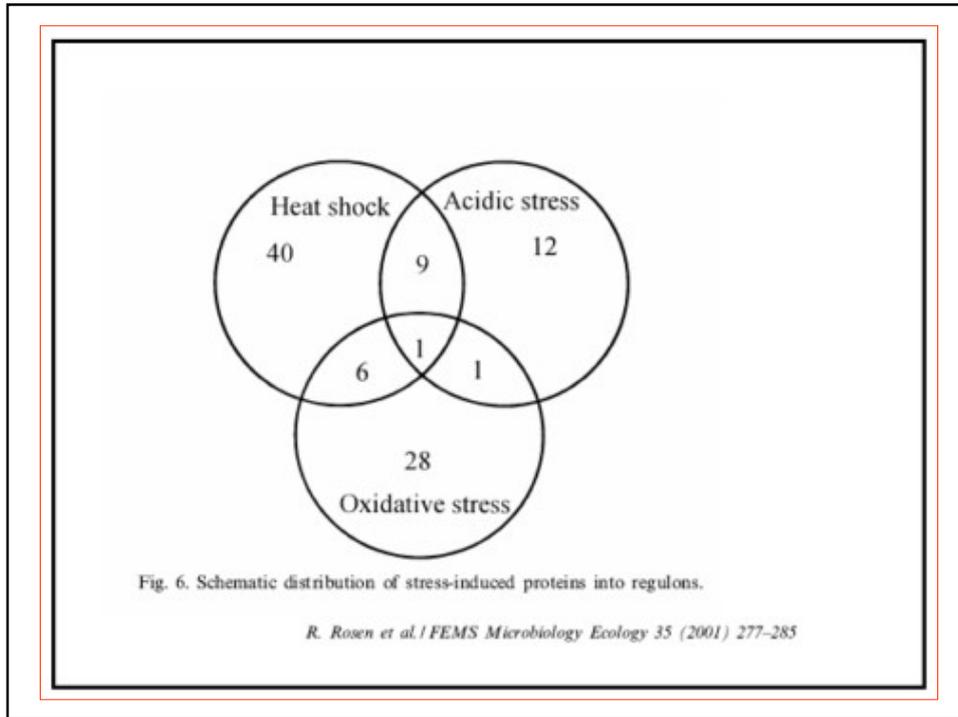
- Choque frio → síntese de “cold shock proteins - CSPs”
- Adaptação
- CSPs são encontradas em vários patógenos como *L. monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio vulnificus*, *V. cholerae*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, e *Aeromonas hydrophila*

### Proteínas do choque frio

Proteínas de diversas funções:

1. Transporte – solutos compatíveis
2. RNA chaperones
3. Enzimas para modificar a fluidez da membrana
  - Alteração da composição dos ácidos graxos da membrana (mais insaturações e mais cadeias laterais)





**A umidade do ambiente de estocagem dos alimentos interfere com a  $A_w$  dos mesmos**

$$\text{URE} = A_w \times 100$$

- **Umidade relativa do ambiente – UR**

**Há uma correlação entre aW de um alimento e a UR**

$$\text{UR} = aW \times 100$$

**UREq = umidade relativa de equilíbrio**

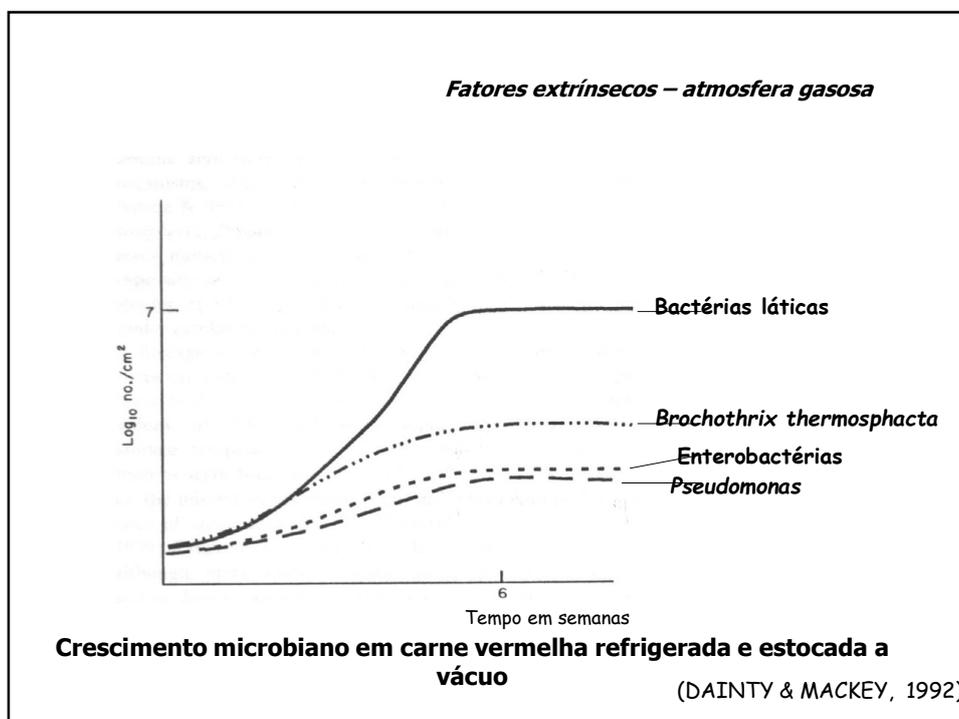
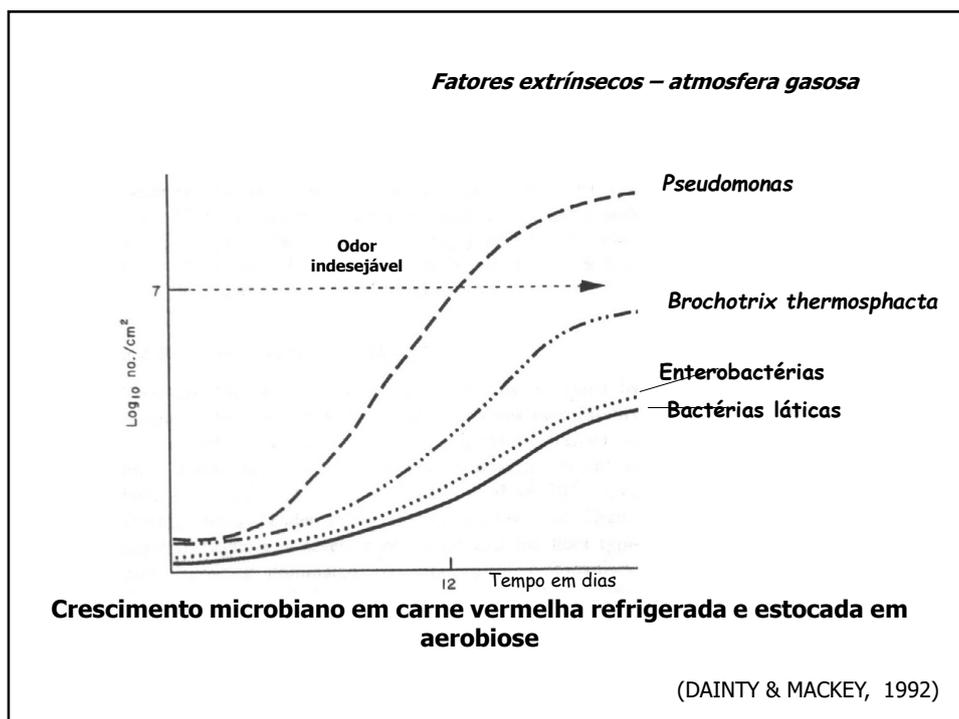
**UR > aw → alimento absorve água**

**UR < aw → alimento perde água**

*Fatores extrínsecos – atmosfera gasosa*

### **3. ATMOSFERA GASOSA**

**A atmosfera do ambiente de estocagem dos alimentos interfere com o  $E_h$  dos mesmos**



## FATORES IMPLÍCITOS

### Presença e atividade de outros micro-organismos

#### 1. Estimulação do Crescimento

- ✓ Produção de metabólitos (vitaminas, hidrólise de polissacarídeos, proteínas e lipídeos)
- ✓ Mudanças no pH,  $E_{h'}$ ,  $a_w$
- ✓ Degradação de substâncias inibidoras

## FATORES IMPLÍCITOS

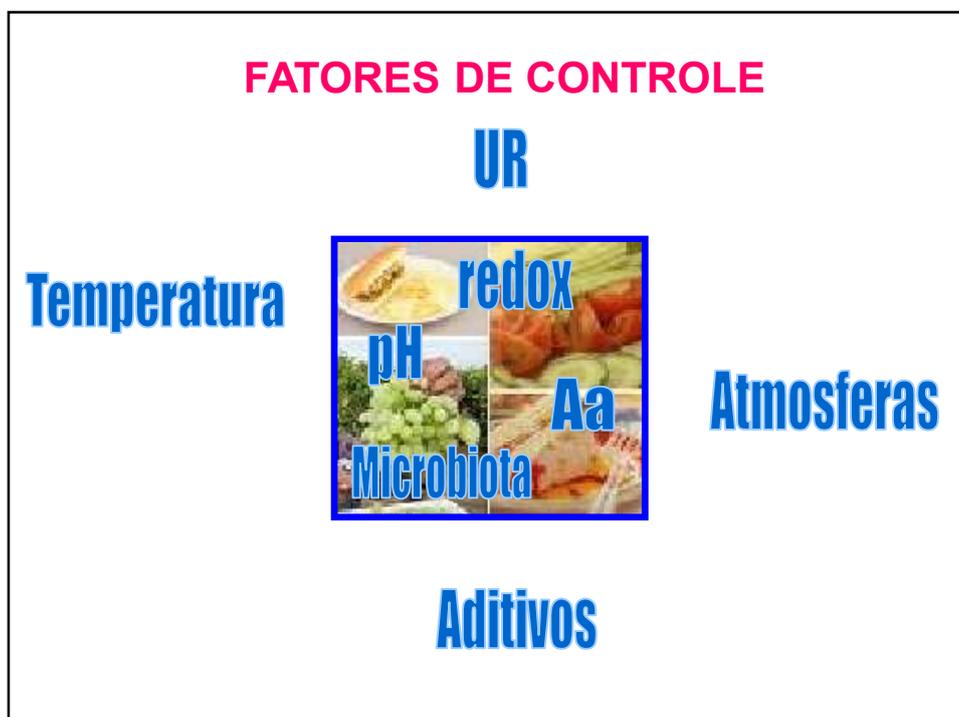
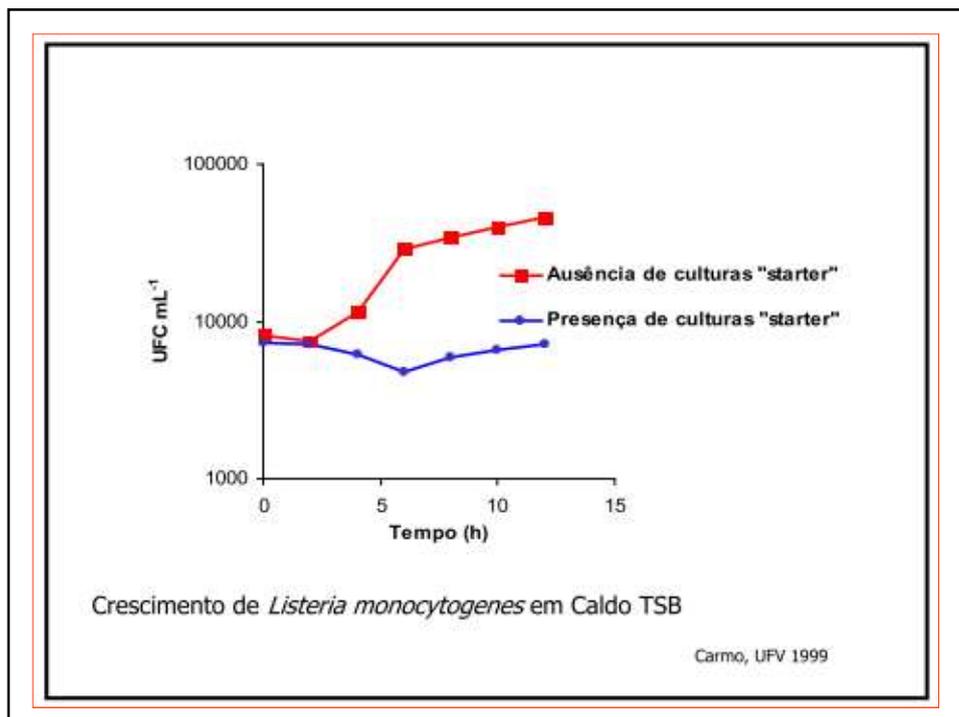
#### 2. Inibição do Crescimento

Produção de ácidos:  
bactérias lácticas  
outros fermentadores

Produção de aminas (aumento de pH)  
leveduras

Produção de água oxigenada:  
estreptococos  
lactobacilos

Produção de bacteriocinas  
bactérias lácticas



## PROCESSOS TECNOLÓGICOS DE CONSERVAÇÃO DE ALIMENTOS

### TEORIA DE BARREIRAS

Para prevenir a germinação de esporos de *C. botulinum* vários parâmetros que combinam os fatores intrínsecos e extrínsecos podem ser usados

pH < 4,6 – aw < 0,94 – 10% NaCl – 120 ppm nitrato  
– Temperatura < 10 °C

### CONCEITO DOS OBSTÁCULOS DE LEISTNER

