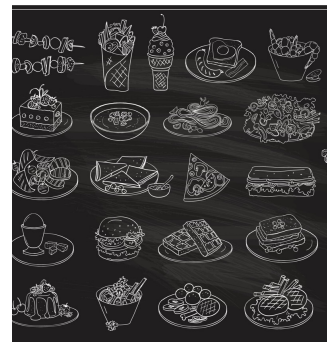


FBA5909 Microbiologia de Alimentos

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



1



Profa. Bernadette Franco
Farmacêutica-Bioquímica (USP)
Mestre em Microbiologia e Imunologia (EPM)
Doutora em Ciências dos Alimentos (USP)



Profa. Mariza Landgraf
Farmacêutica (UNESP)
Mestre em Ciência dos Alimentos (USP)
Doutora em Ciências Biológicas (Microbiologia-USP).



Prof. Uelinton Pinto
Engenheiro de Alimentos (UFV)
Mestre em Microbiologia (UFV)
Ph.D. Microbiologia (Cornell)



Prof. Svetoslavi Todorov
Bacharel e Mestre em Biotecnologia e Microbiologia Industrial - Sofiiski Universitet 'Kliment Ohridsky'
Doutor em Microbiologia Aplicada - Sofiiski Universitet 'Kliment Ohridsky'/Enitaa

2



3

Agenda de hoje

-  Apresentação da disciplina
-  Grupos microbianos importantes em alimentos
-  Fatores que controlam sua multiplicação

4

Cronograma

Abril

12/04 (4ª feira) 9h-12h	Prof. Uelinton	Apresentação da disciplina Grupos microbianos importantes em alimentos Fatores que controlam sua multiplicação
14/04 (6ª feira) 9h-12h	Prof. Uelinton	Micro-organismos patogênicos em alimentos I (Gram negativos)
19/04 (4ª feira) 9h-12h	Prof. Uelinton Marta Taniwaki	Micro-organismos patogênicos em alimentos II (clostrídios) Fungos e micotoxinas de importância em alimentos
21/4 (6ª feira)	Feriado	
26/04 (4ª feira) 9h-12h	Prof. Slavi	Micro-organismos patogênicos em alimentos III (<i>Listeria monocytogenes</i> ; <i>S. aureus</i> e <i>B. cereus</i>)
28/04 (6ª feira) 9h-12h	Prof. Bernadette	Microbiologia de produtos de origem animal
03/05 (4ª feira) 9h-12h	Prof. Mariza	Microbiologia de produtos de origem vegetal

5

Cronograma

Maio

05/05 (6ª feira) 9h-12h	Prof. Uelinton	Métodos de detecção/enumeração de micro-organismos em alimentos
10/05 (4ª feira) 9h-12h	Prof. Bernadette	Avaliação de Risco Microbiológico
12/05 (6ª feira) 9h-12h	Prof. Slavi	Métodos de controle de micro-organismos em alimentos
15/05 (2ª feira) 9h-12h		Trabalho final e prova Apresentação oral dos trabalhos (10-15 min/grupo), com a presença de todos os alunos. Prazo para entrega dos textos dos trabalhos finais (mandar para bfranco@usp.br , landgraf@usp.br , Todorov@usp.br uelintonpinto@usp.br) Prova

6



Avaliação (15/05):
Prova (50%)
Apresentação oral do trabalho final (20%)
Texto do trabalho final (30%).

7



Definição dos grupos

- Grupo 1 –
- Grupo 2 –
- Grupo 3 –
- Grupo 4 –

8

Projeto: escrever um artigo de revisão (minireview ou perspectiva).
O trabalho será feito em grupo, com até 3 alunos por grupo.

Temas para o
sorteio:

1. Limitations of the different methods used in the microbiological analyses of foods
2. Clarifying the concept of microbiological risk assessment in foods
3. Who is the worst enemy: "*Listeria monocytogenes*, *Salmonella* or *S. aureus*?"
4. Omics analyses in the study of food microbial ecology

9

LER History of Food
Microbiology (A Brief) –
Disponível no edisciplinas.

Prologue (capítulo 1) do livro
Pelczar, Chan, Krieg –
MICROBIOLOGY – Concept
and Applications, 1993.



10



11

Micro-organismos x alimentos





- Fonte de nutrientes
- cogumelos comestíveis

12

Micro-organismos x alimentos

- Alteram características do produto de maneira desejável
 - pães
 - iogurtes e bebidas lácteas fermentadas
 - queijos
 - manteiga
 - cerveja
 - vinho

13

Deterioradores

Micro-organismos x alimentos

14

Micro-organismos
x alimentos





Patógenos que podem causar doenças

15

FONTES DE CONTAMINAÇÃO



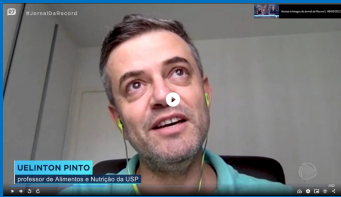




PRODUÇÃO PRIMÁRIA
TRANSPORTE
INDÚSTRIAS
RESTAURANTES/PONTOS COMERCIAIS
RESIDÊNCIAS

16

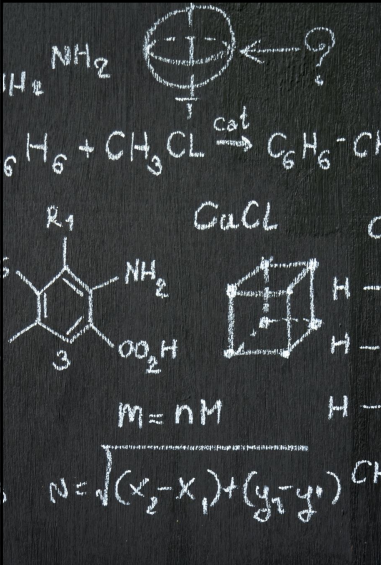
Na mídia



JORNAL USP
<https://bitly.com/FmNVy>
<https://saude.abril.com.br/alimentacao/22-erros-na-cozinha/>

17



$$C_6H_6 + CH_3Cl \xrightarrow{cat} C_6H_6-CH_3$$

$$m = nM$$

$$N = \sqrt{(x_2 - x_1)^2 + (y_2 - y_1)^2}$$

Fatores que afetam a multiplicação microbiana

- Fatores intrínsecos
- Fatores extrínsecos
- Interações microbianas (Fatores implícitos)

18

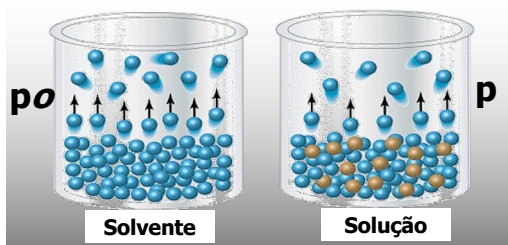


19

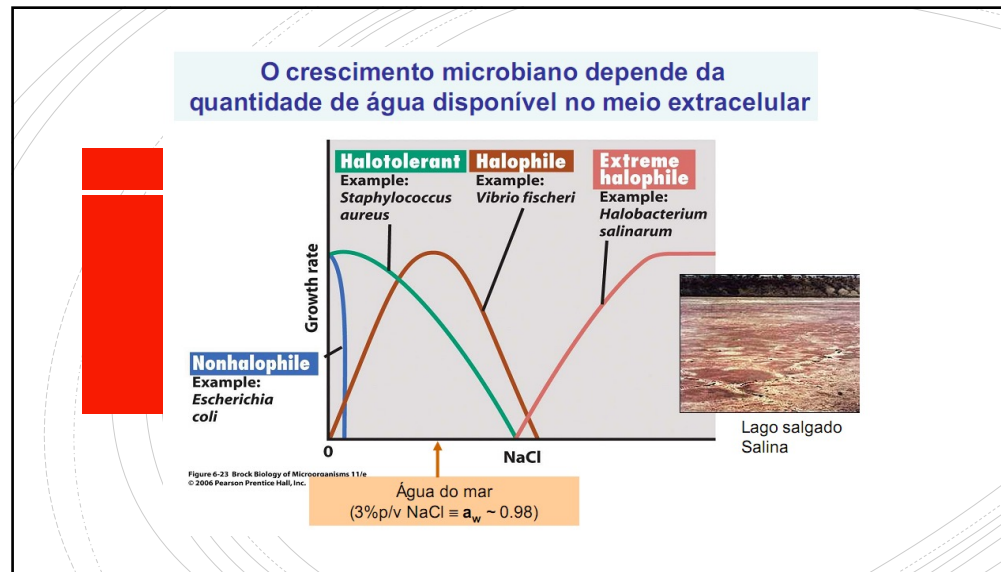
Fatores Intrínsecos - A_w

Atividade de água (a_w)

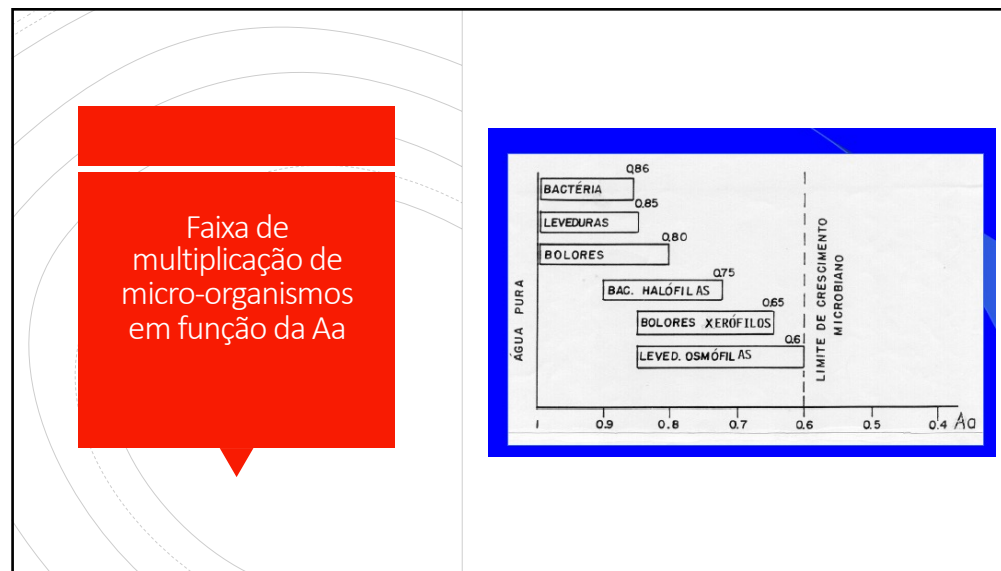
$$a_w = \frac{p}{p_o} \quad \begin{array}{l} \text{= Pressão de vapor da solução (alimento)} \\ \text{Pressão de vapor da água pura} \end{array}$$



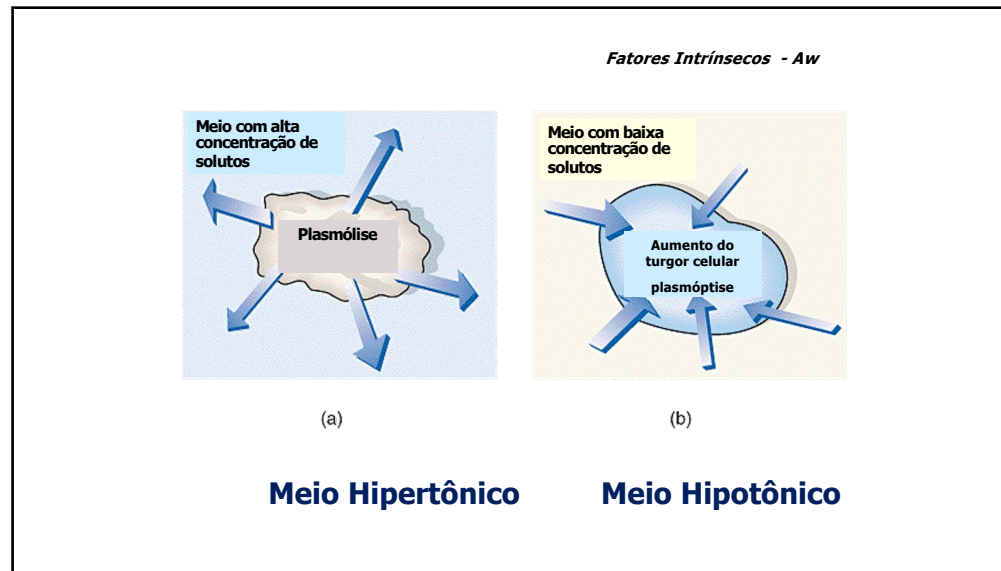
20



21



22



23

Como as células se adaptam a baixa A_w ?

24

Como as células se adaptam a baixa Aw?

→ Síntese e transporte de Solutos Compatíveis

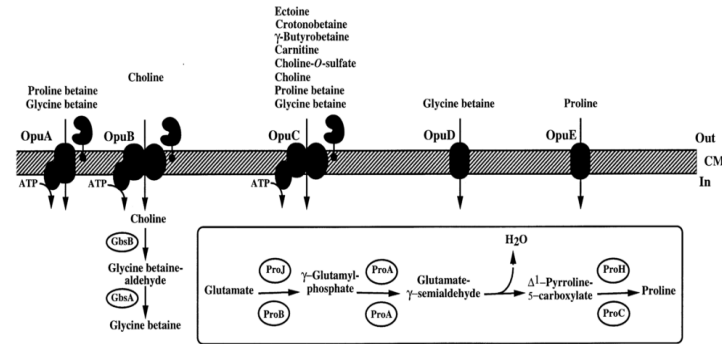


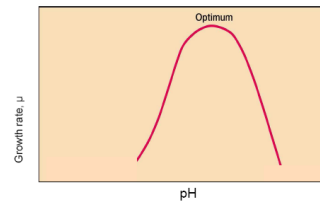
Fig. 2. Osmoprotectant transporters and compatible solute synthesis pathways in *B. subtilis*. This figure was adapted from a review by Bremer and Krämer (2000).

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

25

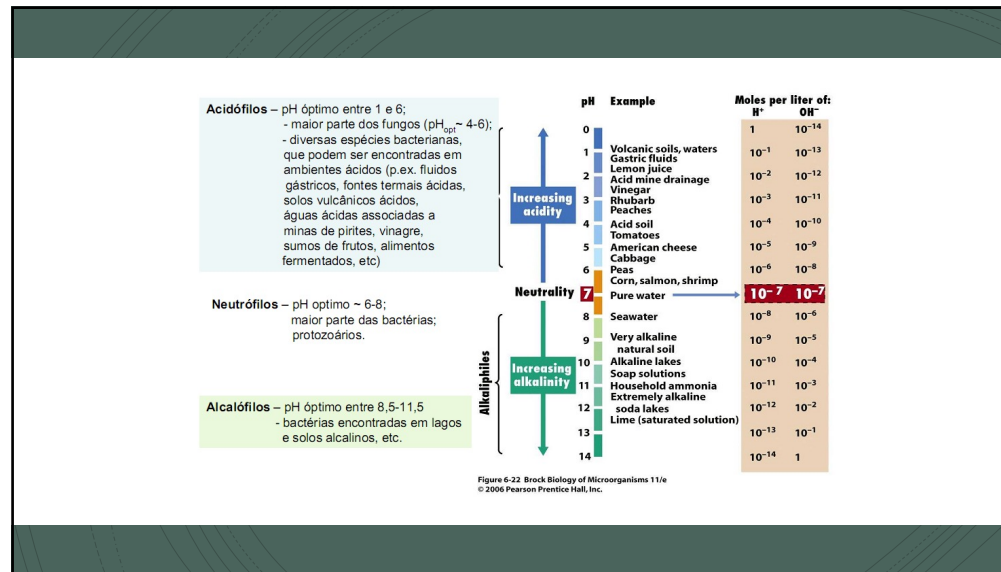
O crescimento microbiano depende do valor do pH extracelular

Para cada microrganismo:



2. pH

26



27

A ação antimicrobiana de um dado ácido depende do pKa

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

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

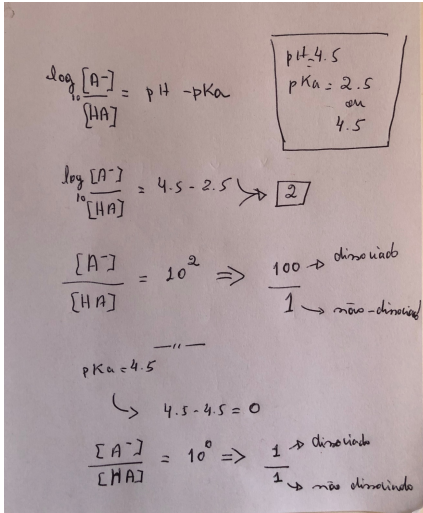
$pH = pKa + \log_{10} \frac{[A^-]}{[HA]}$

Situações hipotéticas:
 $pH = 4,5$ e $pKa = 2,5$
 $pH = 4,5$ e $pKa = 4,5$
 Determinar as concentrações de A^- e HA

28

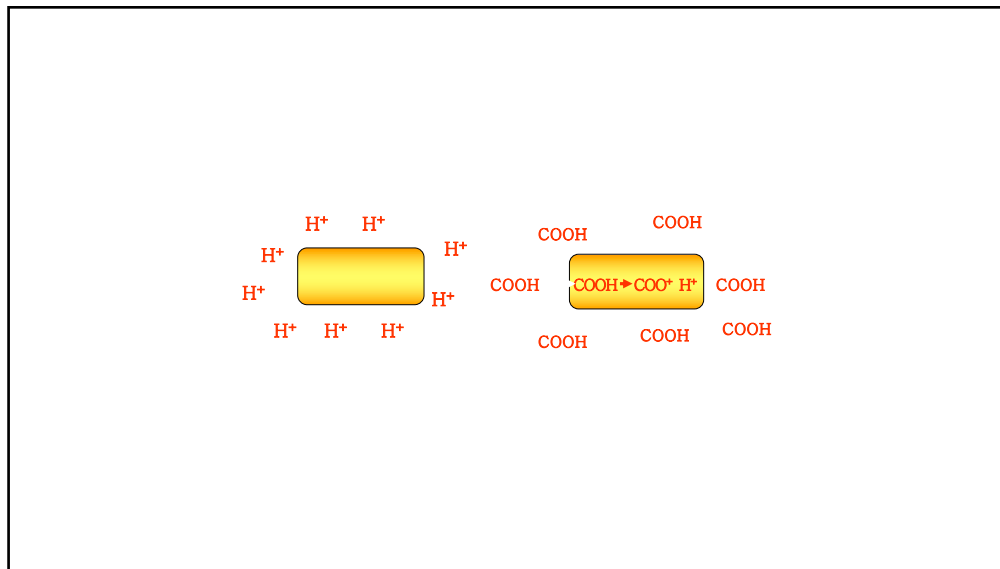


Resolução



$\log \frac{[A^-]}{[HA]} = pH - pKa$
 $\log \frac{[A^-]}{[HA]} = 4.5 - 2.5 \Rightarrow \boxed{2}$
 $\frac{[A^-]}{[HA]} = 10^2 \Rightarrow \frac{100}{1} \rightarrow \begin{matrix} \text{dissociado} \\ \text{não dissociado} \end{matrix}$
 $pKa = 4.5$
 $\hookrightarrow 4.5 - 4.5 = 0$
 $\frac{[A^-]}{[HA]} = 10^0 \Rightarrow \frac{1}{1} \rightarrow \begin{matrix} \text{dissociado} \\ \text{não dissociado} \end{matrix}$

29



30

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



31

Resposta de
Tolerância a
Ácidos

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

32

Fatores Intrínsecos - E_h

POTENCIAL DE ÓXIDO-REDUÇÃO (E_h)

elemento perde elétrons : oxidação
elemento ganha elétrons : redução

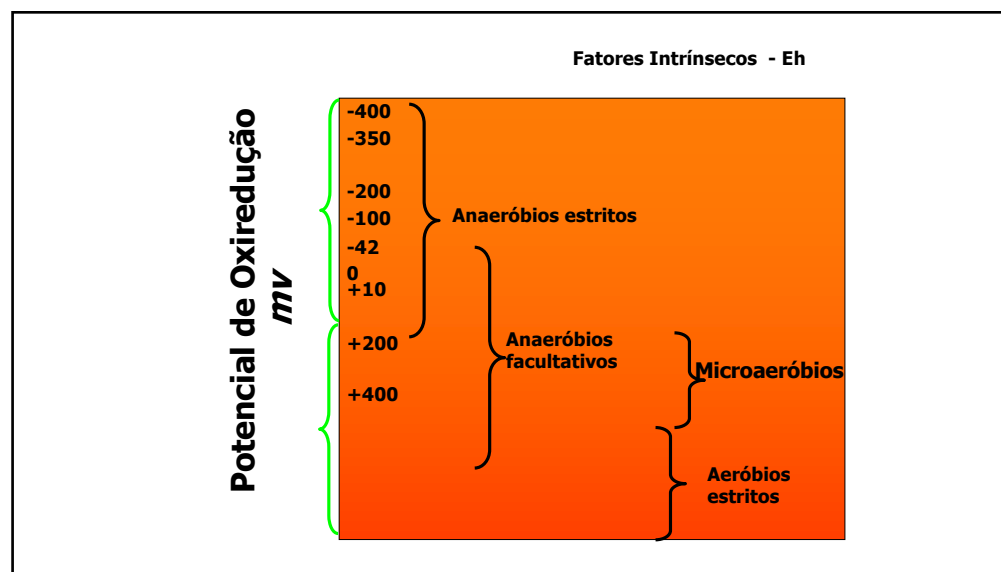
$$\text{Cu} \rightleftharpoons \text{Cu}^{++} + 2\text{e}^{-}$$

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 O_2

33



34

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

35

Fatores Intrínsecos - inibidores

5. PRESENÇA DE INIBIDORES



Ácidos
Orgânicos



Compostos
Fenólicos



Sistemas
Antimicrobianos

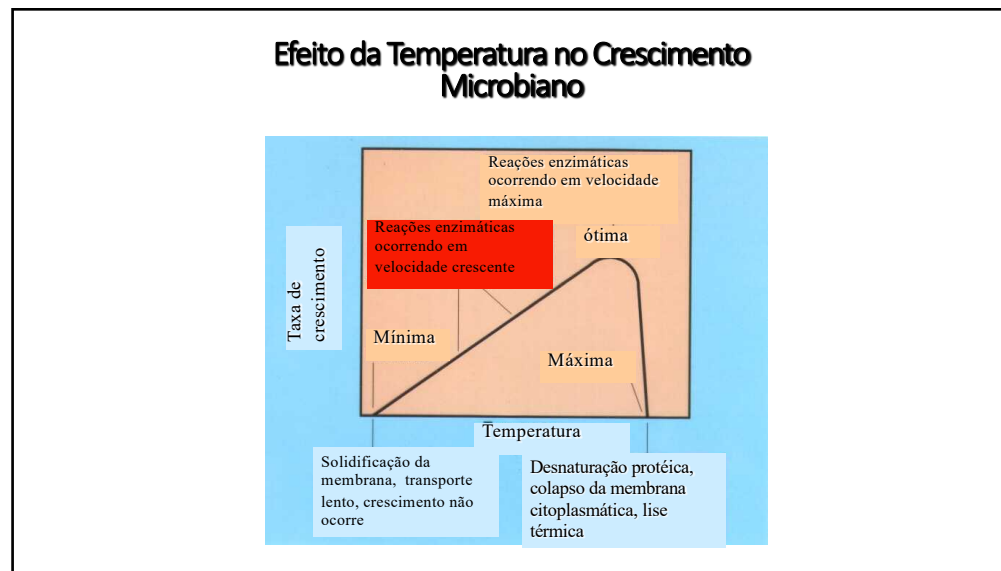


Outros

36

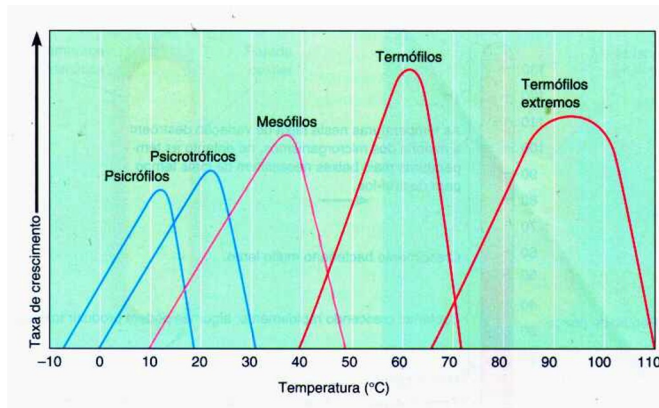


37



38

Classificação dos Micro-organismos Quanto à Temperatura de Crescimento



39

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

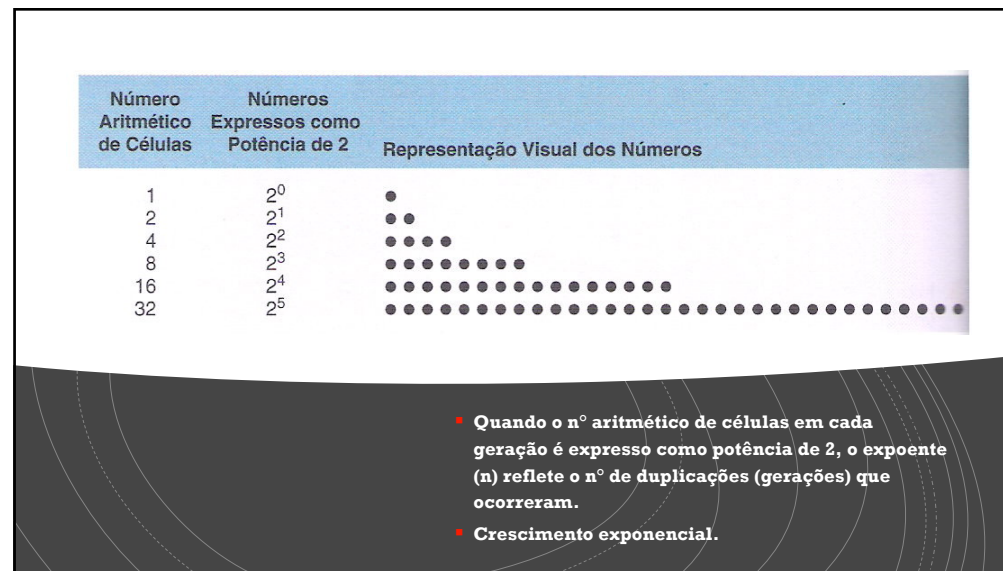
40

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.

41



42

Exemplo – calcular o tempo de geração

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

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

$$\log N = \log N_0 + n \log 2$$

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

$$n = 3.3(\log N - \log N_0)$$

$$\rightarrow N_0 = 1000 \text{ células} - N = 100 \text{ milhões de células}$$

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

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

$$g = t/n \leftrightarrow n = t/g$$

Digamos as 16.5 gerações aconteceram em 6 h.

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

43

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

44

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*

45

Fatores extrínsecos - umidade

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

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

46



Umidade relativa do ambiente – UR

Há uma correlação entre aW de um alimento e a UR

$UR = aW \times 100$

UR_{eq} = umidade relativa de equilíbrio

$UR > a_w \rightarrow$ alimento absorve água

$UR < a_w \rightarrow$ alimento perde água

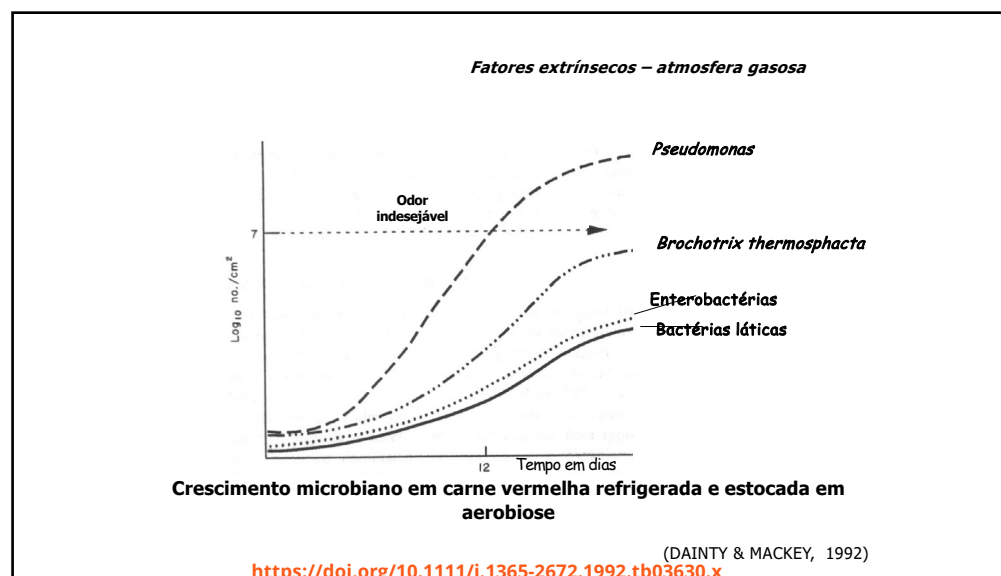
47



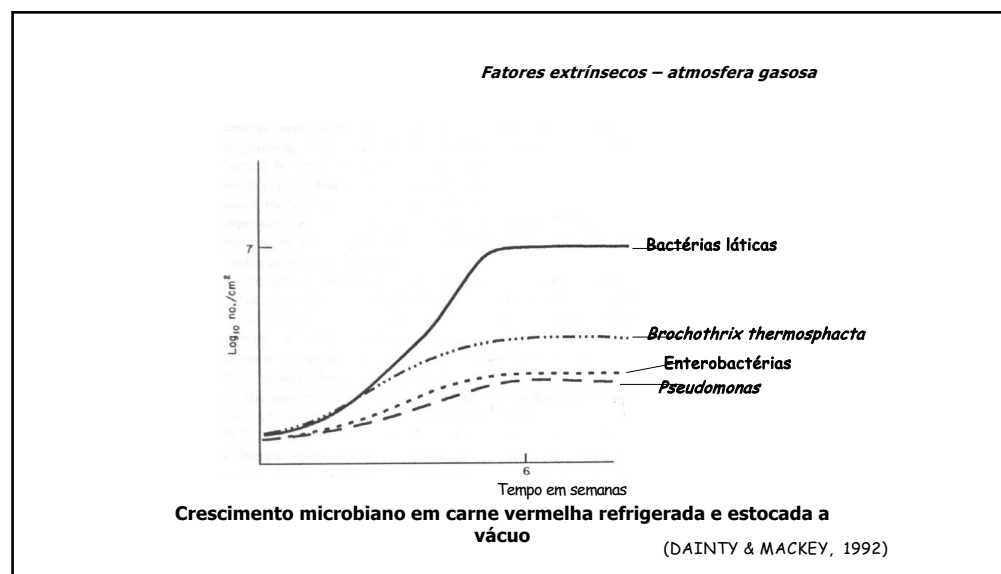
3. ATMOSFERA GASOSA

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

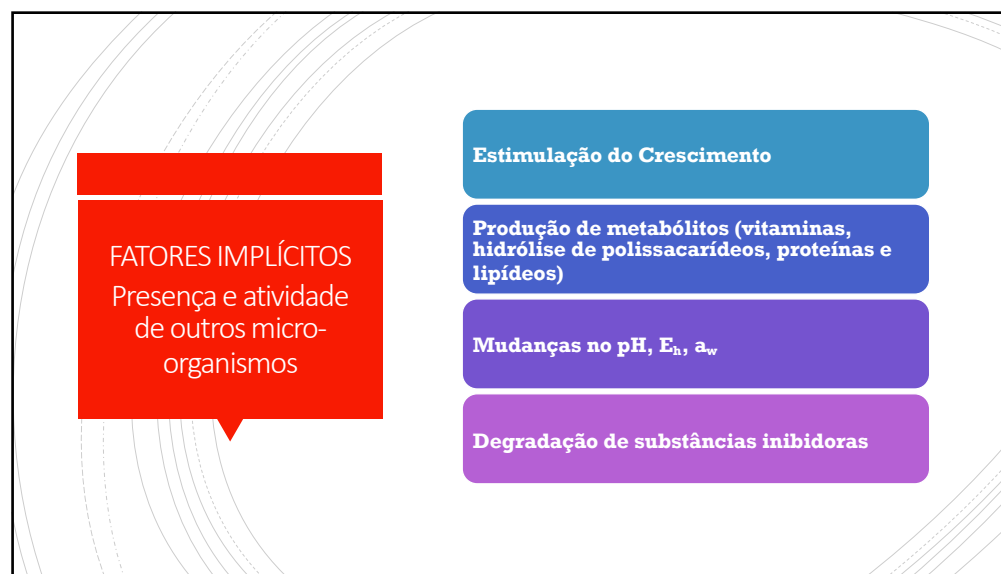
48



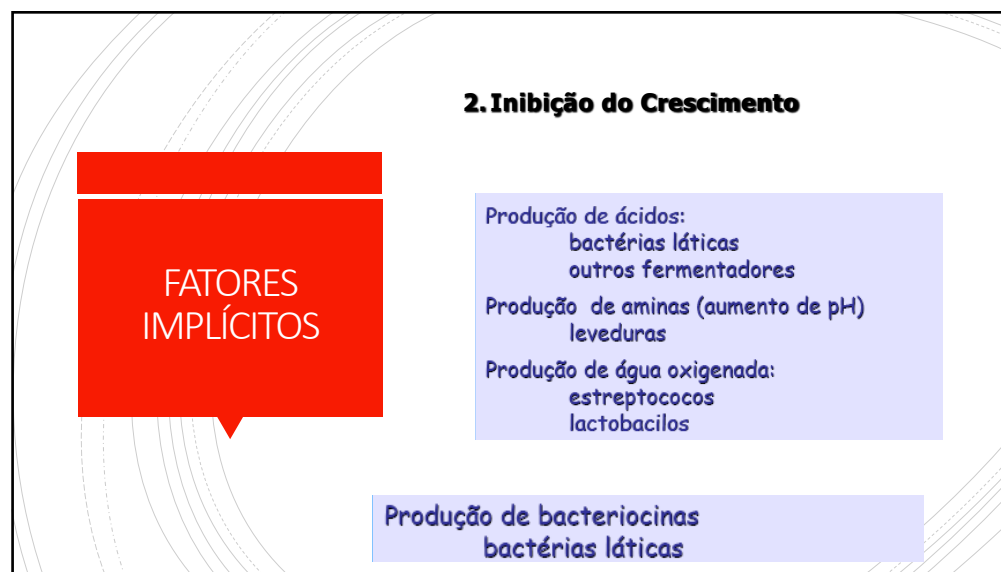
49



50



51



52

