

Microbiologia de Produtos de Origem Vegetal



Dreamstream.com

Prof. Mariza Landgraf
landgraf@usp.br
FBA

Vegetais?

- Frutas
- Hortaliças/legumes
- Nozes
- Grãos

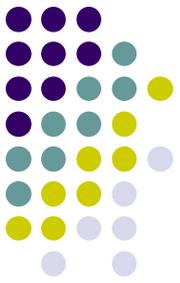


Microbiologia de frutas e hortaliças



- Depende da composição do produto
 - Fatores intrínsecos
 - A_w
 - Elevada
 - pH
 - Hortaliças
 - 5,0 – 6,0
 - Frutas
 - Ácidos presentes nas frutas
 - ácido cítrico (ex. abacaxi, laranja, limão)
 - ácido málico (ex. maçã, pêra)
 - ácido tartárico (ex. uva)

Diversidade microbiana em frutas e hortaliças



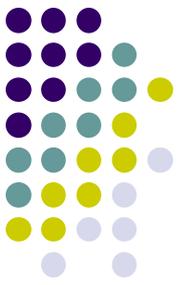
- Depende da composição do produto
 - Fatores intrínsecos
 - A_w
 - pH
 - Frutas
 - Ácidos presentes nas frutas
 - Maracujá 1,9 – 2,2
 - Maçã 2,9 – 3,6
 - Laranja 3,0 – 4,0
 - Tomate 4,0 – 4,5
 - Figo 4,8 – 5,0

Composição (%) de algumas frutas e hortaliças



	Frutas			Hortaliças		
Água	85			88		
Carboidratos	13,2	Morango	8,3	8,6	Pepino	2,7
		Banana	23		Milho	20,5
Proteína	0,9	Maçã	0,3	2,0	Melão	0,2
		Figo	1,4		Ervilha	6,7
Gordura	0,5	Maça	0,3	0,3	Batata	0,1
		Banana	0,8		Milho	1,2
Cinzas	0,5	Pêssego	0,1	0,8	Espinafre	1,5
		Uva	1,4		Melancia	0,3

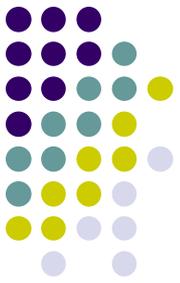
Fonte: Jay 2000



Presença de micro-organismos

- Alterações benéficas
 - Vegetais fermentados
 - Chucrutes
 - Pickles





Presença de micro-organismos

- Alterações indesejadas
 - Deterioração
 - Perdas microbianas
 - 20% - 40% de todas as frutas e hortaliças



http://portuguese.xinhuanet.com/2017-12/26/c_136852176_2.htm



http://recursos.fitescola.dge.mec.pt/wp-content/uploads/2015/05/Fotolia_75502792_Subscription_Monthly_M.jpg

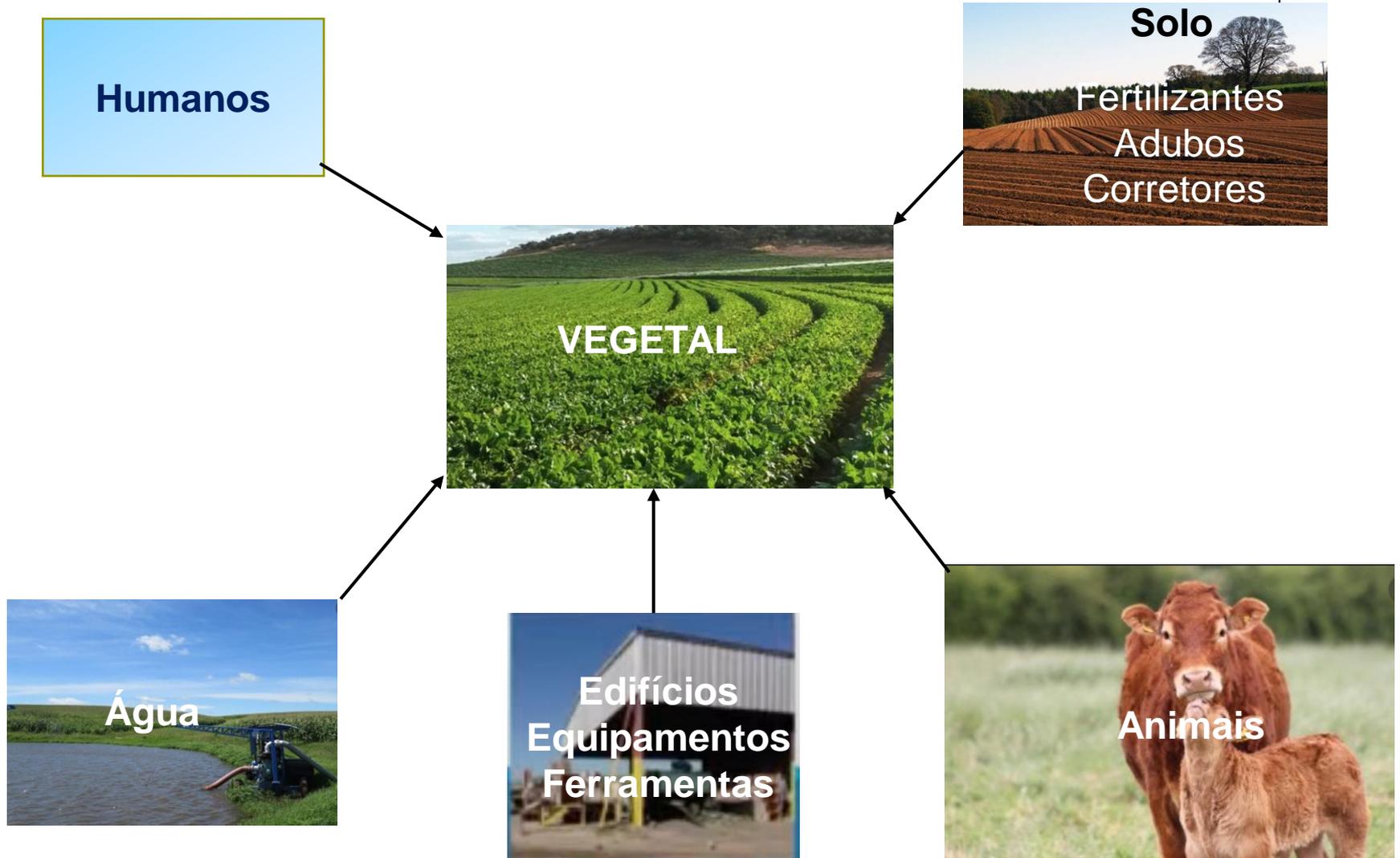
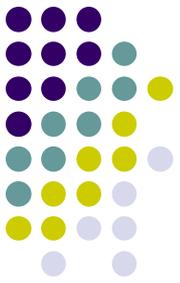


Presença de micro-organismos

- Doenças no ser humano
 - Leve
 - Moderada
 - Grave



Fontes de Contaminação





Introdução do microrganismo

- Semente
- Durante o crescimento da planta
- Durante a colheita e pós-colheita
- Durante o armazenamento e distribuição



Microrganismos presentes nos vegetais



Microrganismos
presentes em
vegetais

Pré-colheita
GAP



Pós-colheita



Mesa do
consumidor





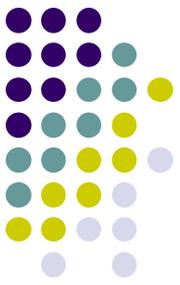
Fungos e Bactérias

- Barreiras a serem vencidas
 - Cutina
 - Microbiota epifítica
 - Acidez natural nos frutos



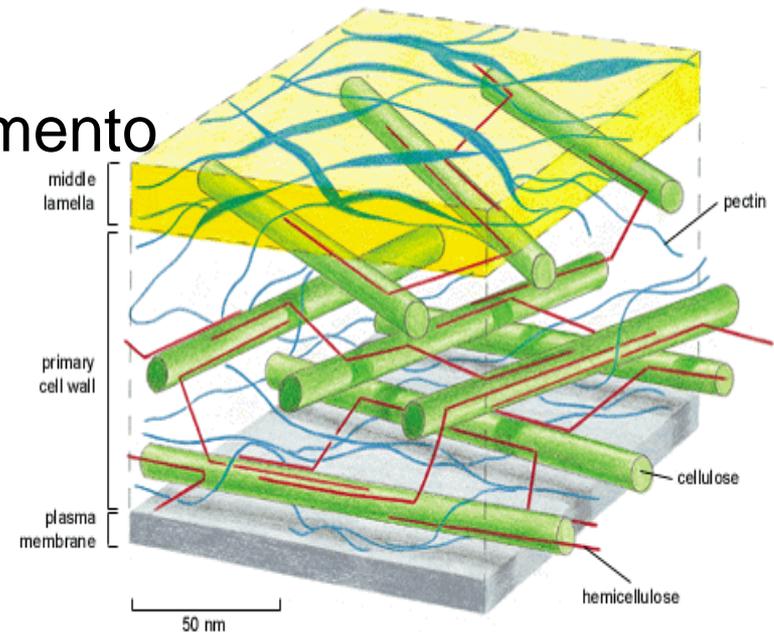
Fungos e Bactérias

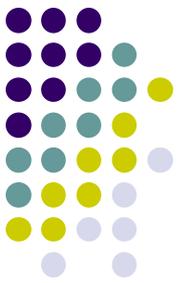
- Barreiras a serem vencidas
- Como vencer essas barreiras?
 - Armas bioquímicas que permitem
 - Identificar e reconhecer a superfície da planta
 - Empregar uma ou mais estratégias de adesão irreversível à superf. do vegetal
 - Internalizar
 - Vasos (xilema e floema), estômatos, lenticelas → qdo não for o fruto
 - Fruto: não tem muitas dessas estruturas
 - Deteriorante tem que empregar outros métodos



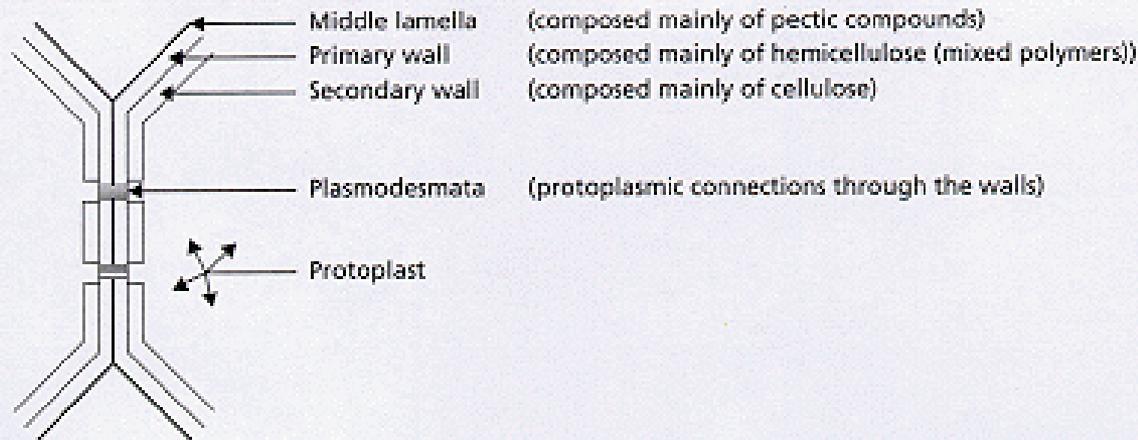
Estrutura do vegetal

- Polissacarídeos da parede
 - Pectina
 - Celulose
 - Hemicelulose
- Polissacarídeo de armazenamento
 - Amido





Junctions between plant cells

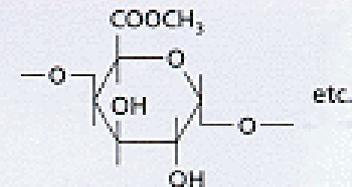
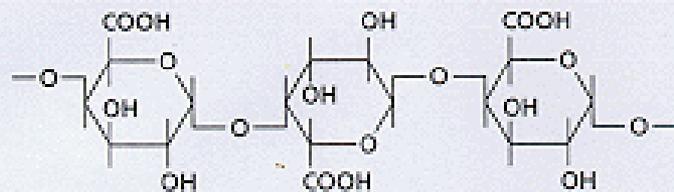


Pectic compounds

Composed mainly of pectic acids and pectinic acids.

Pectic acids: straight chains of α -1,4-galacturonic acid.

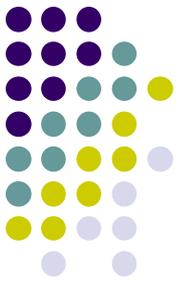
Pectinic acids: like pectic acids but some residues are methylated.



Pectic enzymes

- 1 Pectinmethylesterase hydrolyses methyl esters of pectinic acid to produce pectic acid.
- 2 Polygalacturonases (*exo*- and *endo*- types) hydrolyse pectic acid chains to galacturonic acid.
- 3 Pectin lyase (*exo*- and *endo*- types). Cleave pectic acid chains to monomers by eliminating water in the process.

Enzimas extracelulares produzidas pelos microrganismos



- Pectinases
- Celulases
- Proteases
- Fosfatidases
- Desidrogenases

Enzimas extracelulares produzidas pelos microrganismos: Pectinases

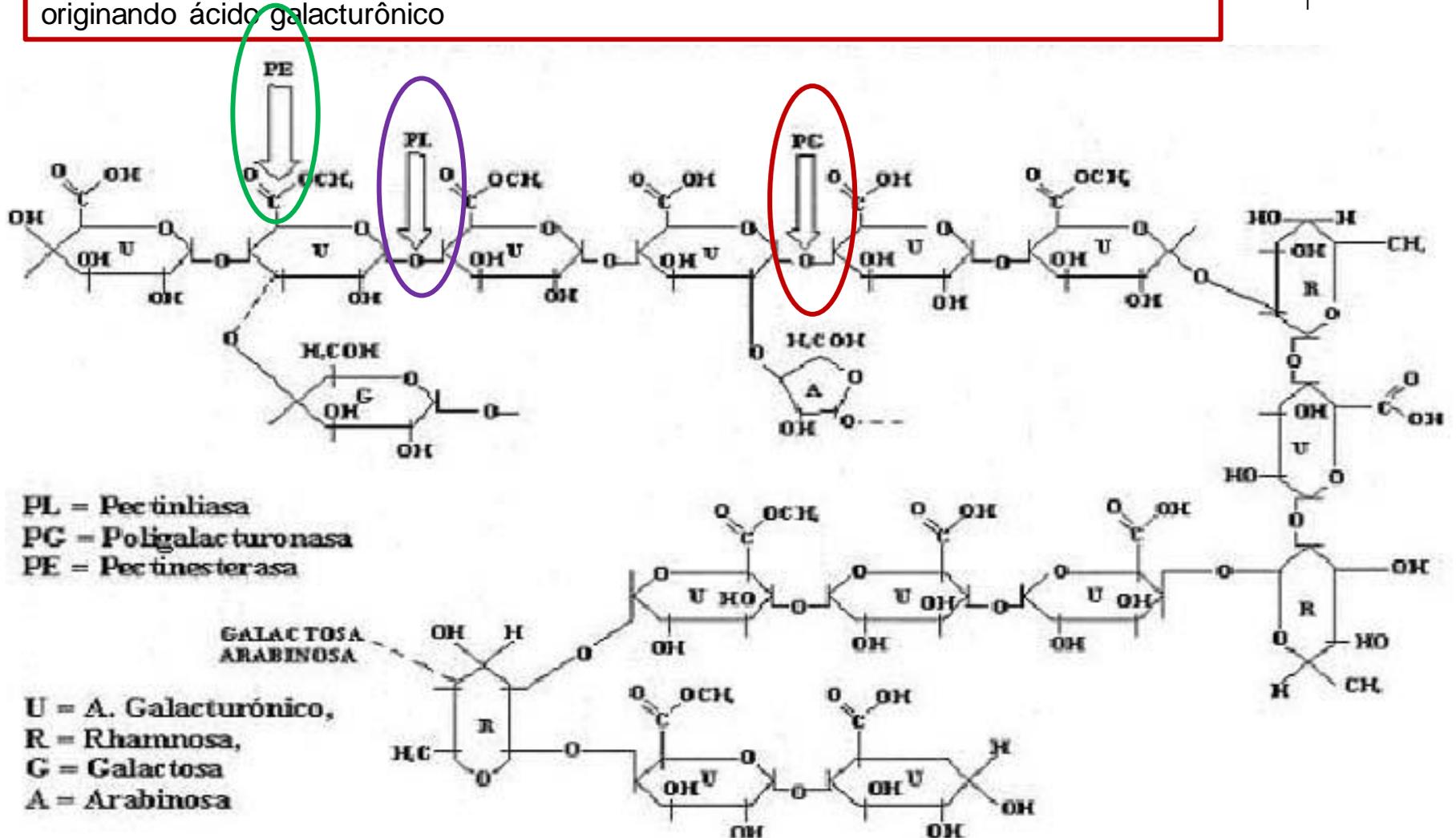


- Poligalacturonidasas (PG)
- Pectina-transeliminases ou pectato liases (PL)
- Pectino-esterase ou polimetilesterase (PME)

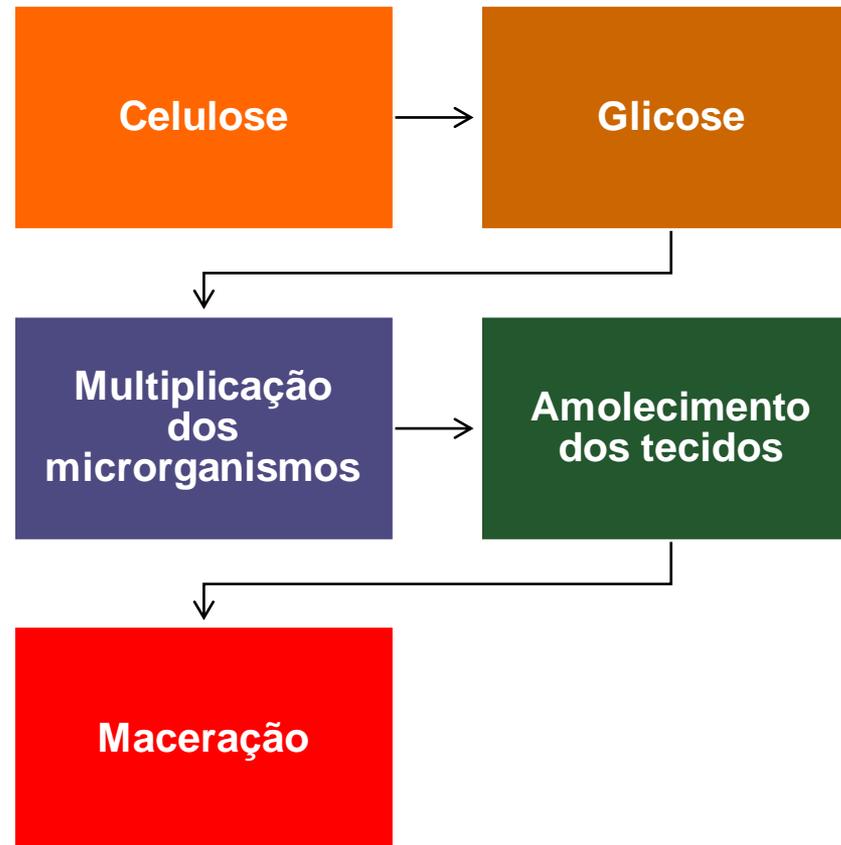
pectina-esterases ou polimetilesterase (PME) (exo e endo): hidrolisam ésteres metilados do ácido pectínico originando ácido péctico

pectina-transeliminases ou pectato-liase (PL): hidrolisam as cadeias de ácido péctico em monômeros pela eliminação de molécula de água

poligalacturonidasas (PG) (exo e endo): hidrolisam as ligações glicosídicas α 1-4 originando ácido galacturônico



Enzimas extracelulares produzidas pelos microrganismos: celulases



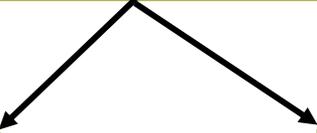
Atenção!!!!!!!!!!
Não confundir ação das enzimas microbianas com
aquela das enzimas do vegetal!!



**Quais microrganismos produzem
essas enzimas em maior
quantidade?**



FUNGOS





Frutas (pH)	Fungos				
	<i>Penicillium</i>	<i>Geotrichium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Botrytis</i>	<i>Colletotrichum</i>
Maçãs (2,9 – 3,6)	+			+	+
Bananas (5,0)			+		+
Citros (1,8 – 4,0)	+	+			+
Uvas (4,0)	+			+	
Melão (6,5)					
Pêssego (3,8 – 4,5)	+			+	
Peras (4,0)	+			+	
Abacaxis (3,2 – 4,3)			+		



Frutas (pH)	Fungos			
	<i>Mucor</i>	<i>Monilinia</i>	<i>Rhizopus</i>	<i>Phytophthora</i>
Maçãs (2,9 – 3,6)	+	+		
Bananas (5,0)				
Citros (1,8 – 4,0)				+
Uvas (4,0)			+	
Melão (6,5)				
Pêssego (3,8 – 4,5)		+	+	
Peras (4,0)	+			
Abacaxis (3,2 – 4,3)				

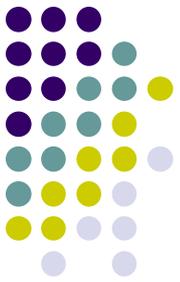


E

- Algumas bactérias



Frutas (pH)	Bactérias			
	<i>Pseudomonas</i>	<i>Erwinia</i>	<i>Xanthomonas</i>	<i>Acidovorax</i>
Maçãs (2,9 – 3,6)		+		
Bananas (5,0)				
Citros (1,8 – 4,0)	+		+	
Uvas (4,0)			+	
Melão (6,5)				+
Pêssego (3,8 – 4,5)		+	+	
Peras (4,0)		+		
Abacaxis (3,2 – 4,3)				



Frutas

- Colonização e desenvolvimento da lesão
 - Rapidamente no tecido danificado/comprometido

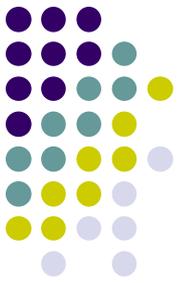
locais de embalagem e armazenamento

contusões,
rachaduras,
perfurações

risco

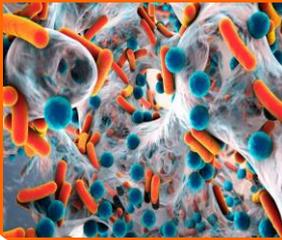
Contaminação
cruzada

Inevitável
Gerenciada!!



Contaminação cruzada

- Câmara fria



Microrganismos persistentes na instalação

- Biofilme



Contaminação de toda a câmara fria por deteriorantes

Efeito devastador em produtos armazenados por longos períodos
Ex. maçãs: 12 meses



Hortalicas

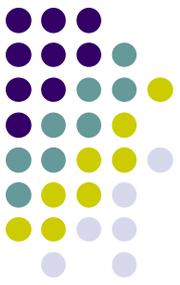


Hortalças (pH)	Bactérias			
	<i>Pseudomonas</i>	<i>Erwinia</i>	<i>Xanthomonas</i>	<i>Bacillus</i>
Brócolis (6,5)		+		
Repolho (5,5 – 6,75)				
Cenoura(5,9 – 6,4)	+		+	
Milho (5,90 - 7,3)			+	
Alface (5,7 - 6,2)				+
Cebola (5,3 – 5,8)		+	+	
Pepino (5.1 - 5,8)		+		
Espinafre (5,1 - 5,7)				
Batata (5,5 – 6,0)	+	+	+	



Hortalças (pH)	Bactérias		
	<i>Bacillus</i>	<i>Clostridium</i>	Bactéria lácticas
Brócolis (6,5)			
Repolho (5,5 – 6,75)			
Cenoura(5,9 – 6,4)	+		
Milho (5,90 - 7,3)			
Alface (5,7 - 6,2)			
Cebola (5,3 – 5,8)	+		
Pepino (5.1 - 5,8)	+		
Espinafre (5,1 - 5,7)			
Batata (5,5 – 6,0)	+	+	
Tomates (4,3 – 4,9)	+		+

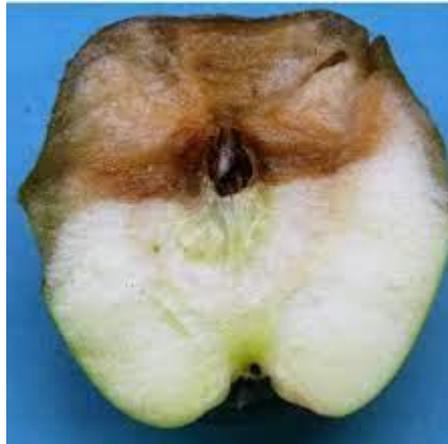
Exemplos de fungos que deterioram frutas pós-colheita



- *Penicillium expansum* em maçã
 - Fungo de armazenamento
 - Emboloramento azul
 - Podridão azul



treefruit.wsu.edu



treefruit.wsu.edu



Genetic Variation in Resistance to Fungal Storage Diseases in Apple; Inoculation-Based Screening, Transcriptomics and Biochemistry Photo by M. Ahmadi-Afzadi.

Exemplos de fungos que deterioram frutas pós-colheita



- *Botrytis cinerea*
 - Fungo de armazenamento
 - Emboloramento cinza
 - Podridão cinza



[Edward Sikora, Auburn University, Bugwood.org](http://www.bugwood.org)



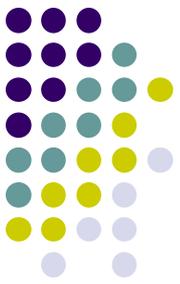
vineyardapp.com



dreamstime.com

© 18780000 / 18780000

Exemplos de fungos que deterioram vegetais pós-colheita



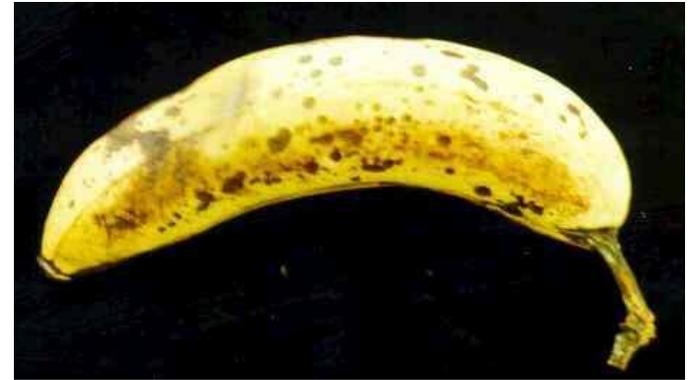
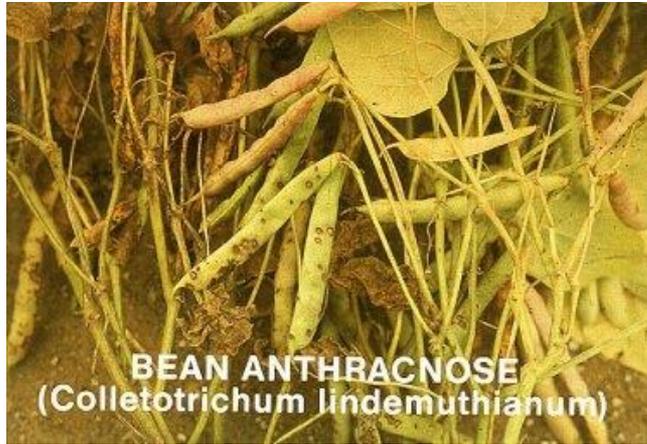
- *Colletotrichum*
 - Manchas nas folhas, frutos e favas
 - ANTRACNOSE



jardinedia.com



<https://www.librosymanualesdeagronomia.com/>

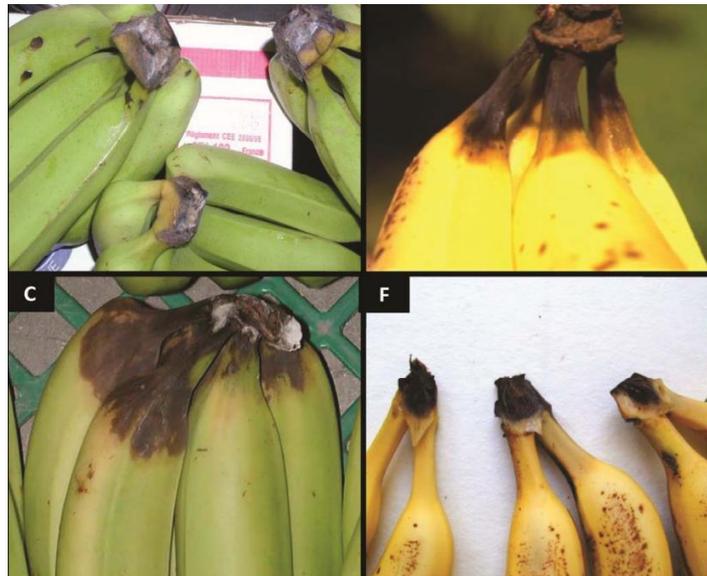


Ploetz, R.C. Antracnosis en mango:
Manejo de la enfermedad más
importante pre y postcosecha. P

Exemplos de fungos que deterioram vegetais pós-colheita

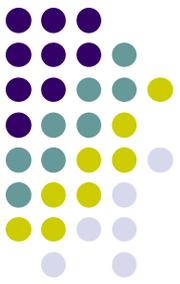


- Doença da coroa de frutos
 - Banana
 - Complexo de fungos
 - *Musicillium theobromae*, *Colletotrichum musae*, *Ceratocystis paradoxa*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Nigrospora sphaerica*, *Cladosporium* sp., *Acremonium* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Fusarium* spp.



doi:10.1094/ PDIS-94-6-0648

Exemplos de bactérias que deterioram vegetais pós-colheita



- ***Pectobacterium carotovora* (*Erwinia carotovora*)**
- ***Pseudomonas* spp (*P. marginalis*)**
- **Amolecimento mole**
 - **Transparência, formação de água, desintegração do vegetal**



Exemplos de bactérias que deterioram vegetais pós-colheita

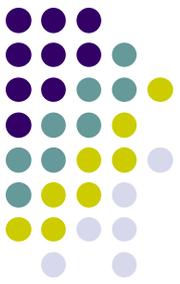
- ***Pectobacterium carotovora* (*Erwinia carotovora*)**
 - Multiplica-se em $T > 20\text{ °C}$
- ***Pseudomonas* fluorescentes**
 - Multiplica-se em T refrigeração



Manter vegetal T ref

***Pectobacterium* + *Pseudomonas* fluorescentes desafio para os produtores da produção à comercialização**

Exemplos de bactérias que deterioram vegetais pós-colheita



- ***Xanthomonas campestris***
 - **Deterioração negra**
 - **Problema em crucíferas**
 - **Couve, couve-flor**



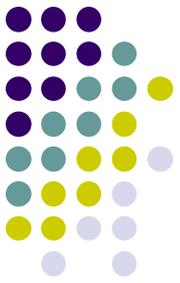
canr.msu.edu



©M.T. McGrath

vegetablemndonline.papth.cornell.edu

Prevenção e Controle dos Microrganismos



- Frutas e Hortaliças frescos
 - Entre os alimentos mais desafiadores para produzir e distribuir
 - Metabolicamente ativos
 - Colheita até a completa deterioração
 - Período mais suscetível para contaminação e deterioração
 - Maturação e senescência
 - Vegetais climatéricos

Lembrando que existem Vegetais



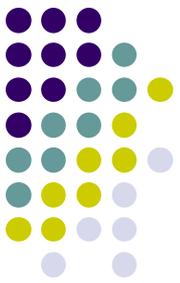
- Amadurecimento para com a colheita
 - Feijões, morango, alface
- Amadurecimento não para com a colheita
 - Mais suscetíveis à deterioração
 - Amadurecimento excessivo
 - Menor integridade celular
 - Deterioração do tecido
 - Banana, tomate

CLIMATÉRICOS

Prevenção e Controle dos microrganismos



- Frutas e Hortaliças frescos
 - Entre os mais desafiadores para produzir e distribuir
 - Medidas de controle no campo
 - Remoção de matéria orgânica da cultura e do solo
 - Reduz os contaminantes e outras pestes
 - Aplicação de fungicidas
 - Isolar, tanto quanto possível, a cultura de animais domésticos e selvagens/silvestres
 - Reduz inclusive contaminação com patógenos causadores de DTA



Prevenção e Controle

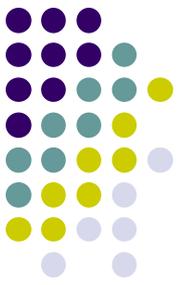
- Frutas e Hortaliças frescos
 - Entre os mais desafiadores para produzir e distribuir
 - Medidas de controle no campo
 - Remoção de matéria orgânica da cultura e do solo
 - Reduz os contaminantes e outras pestes
 - Isolar, tanto quanto possível, a cultura de animais domésticos e selvagens/silvestres
 - Reduz inclusive contaminação com patógenos causadores de DTA
 - Aplicação de fungicidas
 - Gerenciamento de pestes
 - Principalmente as que perfuram as plantações e podem inocular m.o.

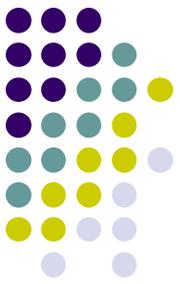


Prevenção e Controle

- Frutas e Hortaliças frescos
 - Medidas Pós-colheita
 - Integridade do produto e **GERENCIAMENTO DA TEMPERATURA**
 - Fatores críticos que contribuem para a vida de prateleira dos vegetais frescos.
 - Após colheita
 - Limpeza da superfície do vegetal
 - Rápida refrigeração
 - Reduz a taxa metabólica)
 - Reduz a taxa respiratória)
 - Reduz a velocidade de deterioração)

Produtos frescos prontos para o consumo Vegetais Minimamente Processados

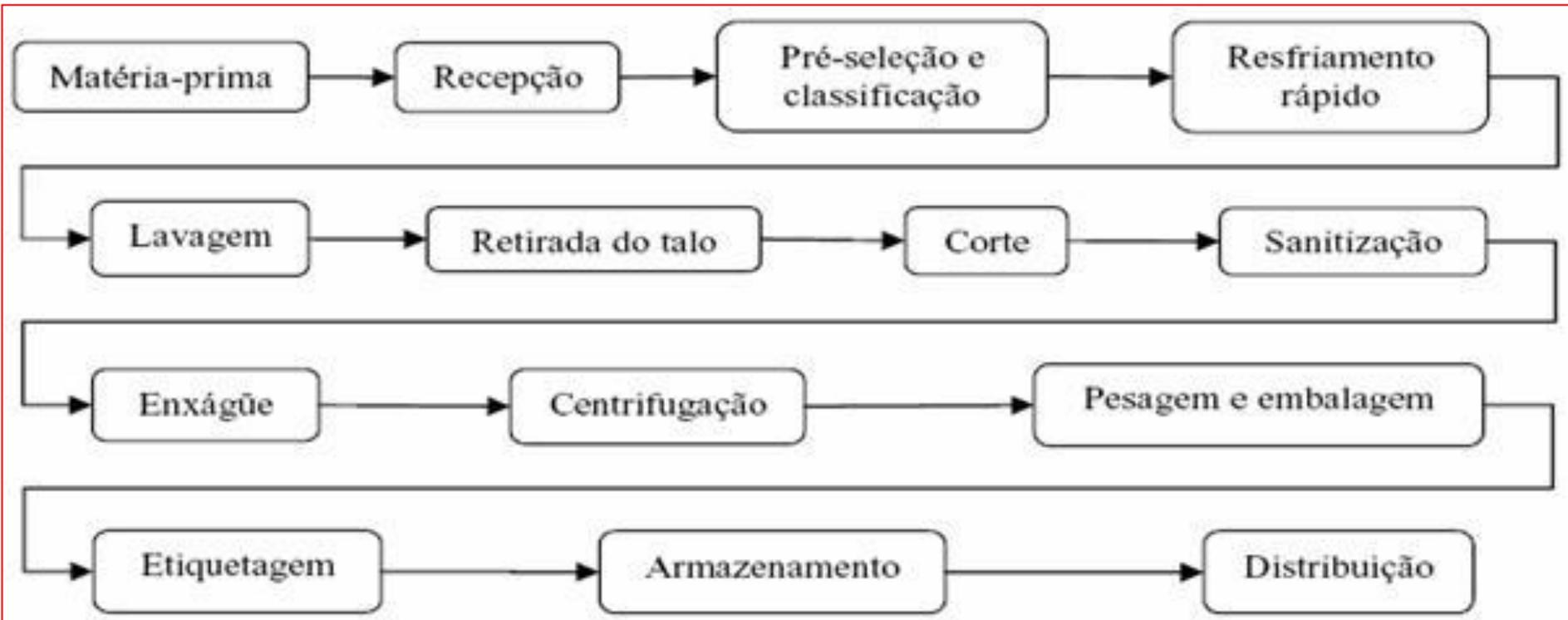
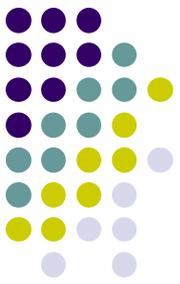


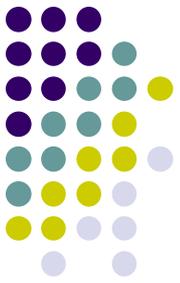


Produtos RTE/RTU (“ready to eat or to use”)

- “Qualquer fruta ou hortaliça ou combinação que tenha tido sua forma física original alterada mas cujo frescor **permaneça**” (International Fresh-cut Product Association (IFPA). (2001). Fresh-cut produce: Get the facts! <http://www.fresh-cuts.org>)
- **Ganhando importância no mercado**
 - Praticidade
 - Sabor de fresco
 - > valor agregado
- **Desvantagem**
 - \$ elevado em nosso país

VMP Fluxograma geral de processamento





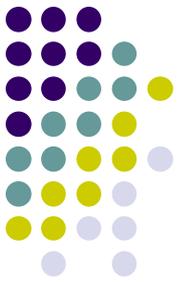
Produtos RTE/RTU

- Fracionamento
 - >risco de contaminação
 - Equipamentos
 - Manipulador
 - >superfície de contato
 - >umidade
 - Extravasamento de nutrientes
- **∴ RTE + suscetíveis à multiplicação de patógenos e deteriorantes**



Produtos RTE/RTU

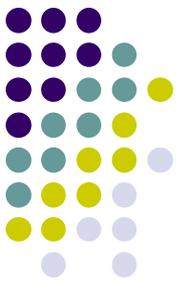
- Embalagem
 - Filme de alta permeabilidade a O_2
 - Preocupação com qualidade do produto
 - Escurecimento enzimático
 - Filme de baixa permeabilidade a O_2
 - Preocupação com *C. botulinum* e *L. monocytogenes*



Produtos RTE/RTU

- Embalagem
 - Atmosfera modificada
 - Reduz a concentração de O_2
 - Aumenta a concentração de CO_2
 - Reduz a taxa de respiração
 - Reduz processo de senescência
 - Altera a microbiota
 - *Pseudomonas* são inibidas por altas concentrações de CO_2

Fatores que influenciam na deterioração de VPC ou VMP



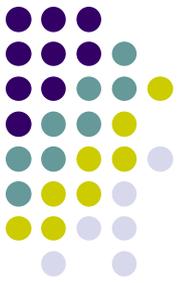
pH do produto	Atmosfera de estocagem	Temperatura de estocagem	Micro-organismos predominantes
>4,5	Ar	Refrigerado (<7°C)	<i>Pseudomonas</i>
<4,5	Ar	Refrigerado mas com abuso de temperatura (>7°C)	Fungos Bactérias do ácido láctico
>4,5	Atm Modificada (%O ₂ < 1 e CO ₂ > 10)	Abuso de temperatura (>7°C)	<i>Erwinia</i>
<4,5	Atm Modificada (%O ₂ < 1 e CO ₂ > 10)	Abuso de temperatura (>7°C)	Leveduras e bactérias do ácido láctico

Patógenos associados a Vegetais: Bactérias



- Formadoras de esporos
 - *Clostridium perfringens*
 - *Bacillus cereus*
 - *Clostridium botulinum* (vegetais em anaerobiose)
- Não formadores de esporos
 - *Escherichia coli* produtora de toxina de Shiga
 - *Salmonella*
 - *Listeria monocytogenes*
 -

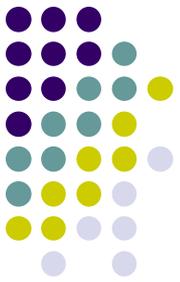
Patógenos associados a Vegetais: Vírus



- 2008 – 2018 frutas congeladas

- Hepatite A
- Norovírus

“berries” congeladas (morangos, framboesas, amoras,...) e romãs



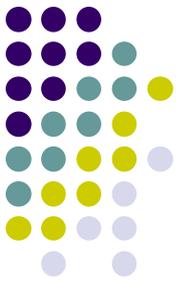
Diversidade Microbiana de Vegetais de Baixa Aw



Quem são?

- Nozes
- Grãos
- Atividade de Água < 0,70
 - Diminui o crescimento microbiano
 - Bolores
 - Micotoxinas

Grãos

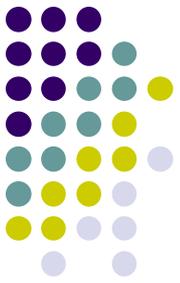


- Problema
 - Bolores
 - Produção de micotoxinas
 - Deterioração
 - Primeiramente
 - Oxidação lipídica



Farinhas e produtos de panificação

- Após processado,
 - Esporos de bolor e células microbianas vegetativas
 - Eliminados
 - **Cuidado:**
 - Recontaminação por esporos de bolores presentes no ar se a superfície do produto ficar exposta
 - Bolor: ppal causa de deterioração em prod. de panificação



Farinhas e produtos de panificação

- Formação de filamentos
 - No interior do produto
 - Interior úmido
 - Produção de cápsula por células vegetativas de *Bacillus subtilis*
 - Aparência mucilaginosa qdo cortados
 - Odor semelhante ao de melão



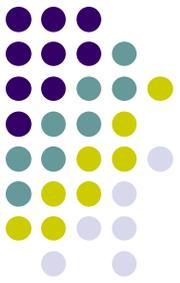
B. subtilis, *B. licheniformis*, *B. pumilus*

Cond. ótimas para se desenvolverem:

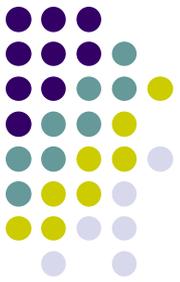
T: 35-45°C

Ambiente úmido: p.ex: pão embalado
quente/morno

pH >5.3

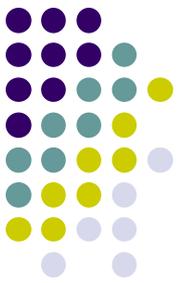


- **EU gets stricter on black pepper from Brazil and peanuts from India: FSNews 23/4/2021**
- UE: controles regulatórios nos portos de entrada estão mais rígidos nas análises de pimenta do reino importada do Brasil e amendoim da Índia
 - Pimenta do reino: *Salmonella*
 - 2020 - 2021: 20% → 50%
 - Amendoim: Aflatoxinas
 - 2020 – 2021: 10% → 20%



Patógenos: DTA

- *Salmonella* Infantis
 - 30/3/2023 CDC: ligou *S. Infantis* a farinha
 - 13 casos confirmados/11 estados
 - California 1, Illinois 2, Iowa 1, Minnesota 1, Missouri 1, Nebraska 1, New Jersey 1, New York 1, Ohio 1, Oregon 1, Tennessee 1 e Virginia 1.
 - 6 pessoas: 12 – 81 anos (92% mulheres)



Deterioração de Produtos Fermentados

- Bactérias
 - Bactérias lácticas
 - Deterioração mole
 - Produção de mucilagem
 - *Desulfotomaculum nigrificans*
 - Escurecimento
 - *Enterobacter, Pediococcus*
 - Estufamento
 - *Bacillus*
 - Amolecimento



Deterioração de Produtos Fermentados

- Bolores
 - Podridão, Amolecimento
 - *Fusarium*
 - *Phoma*
 - *Penicillium*
- Leveduras
 - Coloração rosa – *Torula* spp.



PADRÕES MICROBIOLÓGICOS DE ALIMENTOS, COM EXCEÇÃO DOS ALIMENTOS COMERCIALMENTE ESTÉREIS

DERIVADOS					
Categorias Específicas	Micro-organismo/Toxina/Metabólito	n	c	m	M
a) "In natura", inteiras, selecionadas ou não	<i>Salmonella</i> /25g	5	0	Aus	-
	<i>Escherichia coli</i> /g	5	2	102	103
b) Preparadas (inteiras, descascadas ou fracionadas), sanificadas, refrigeradas ou congeladas	<i>Salmonella</i> /25g	10	0	Aus	-
	<i>Escherichia coli</i> /g	5	2	10	102
d) Secas, desidratadas ou liofilizadas	<i>Salmonella</i> /25g	10	0	Aus	-
	<i>Escherichia coli</i> /g	5	2	10	102
	Bolores e leveduras/g	5	1	103	104



Padrões microbiológicos de alimentos com exceção dos alimentos comercialmente estéreis IN60 - 2019

c) Branqueadas ou cozidas	<i>Salmonella</i> /25g	10	0	Aus	-
	Enterobacteriaceae/g	5	1	102	103
d) Secas, desidratadas ou liofilizadas	<i>Salmonella</i> /25g	10	0	Aus	-
	<i>Escherichia coli</i> /g	5	2	10	102
	Bolores e leveduras/g	5	1	103	104

Padrões microbiológicos de alimentos com exceção dos alimentos comercialmente estéreis IN60 - 2019



3. NOZES, AMÊNDOAS E SEMENTES COMESTÍVEIS					
Categorias Específicas	Micro-organismo/Toxina/Metabólito	n	c	m	M
a) Nozes, amêndoas, castanhas, amendoins, nibs de cacau, sementes comestíveis, adicionadas ou não de outros ingredientes, com coberturas ou não, para consumo direto	<i>Salmonella</i> /25g	10	0	Aus	-
	<i>Escherichia coli</i> /g	5	2	10	102
b) Coco ralado, farinhas, farelos, pastas e paçoca de nozes, amêndoas, castanhas, amendoim, sementes leguminosas e sementes comestíveis, adicionadas ou não de outros ingredientes	<i>Salmonella</i> /25g	10	0	Aus	-
	<i>Escherichia coli</i> /g	5	2	10	102
c) Barras de nozes,	<i>Salmonella</i> /25g	10	0	Aus	-



Padrões microbiológicos de alimentos com exceção dos comercialmente estéreis IN60 - 2019

c) Barras de nozes, amêndoas, castanhas, amendoim, sementes leguminosas e sementes comestíveis, adicionadas ou não de outros ingredientes	<i>Salmonella</i> /25g	10	0	Aus	-
	<i>Escherichia coli</i> /g	5	2	10	102
	Bolores e leveduras/g	5	1	5x10 ²	10 ⁴



Bibliografía consultada

- Erickson, MC Microbiological Issues Associated with Fruits, Vegetables, Nuts, and Grains. In: Doyle, MP; Diez-Gonzalez, F.; Hill, C. (ed.) Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers, 5th ed. 2019 ASM Press, Washington, DC
DOI:10.1128/9781555819972.ch7
- Barth, M., Hankinson, T.R., Zhuang, H., Breidt, F Microbiological Spoilage of Fruits and Vegetable. In: Sperber, W.H., Doyle, M.P. (eds.), Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages, Food Microbiology and Food Safety. DOI 10.1007/978-1-4419-0826-1_6.