

Retomando...

- Resumo da última aula..... Construção em conjunto....
- MICROORGANISMOS DE INTERESSE EM ALIMENTOS
- FONTES DE CONTAMINAÇÃO
- PADRÕES MICROBIOLÓGICO EM ALIMENTOS
- SEGURANÇA ALIMENTAR X SEGURANÇA DO ALIMENTO
- PERIGOS X RISCO
- DTA
- INFECCÃO
- INTOXICAÇÃO
- TOXINFECCÃO
- NOTIFICAÇÃO DE SURTOS

Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"
Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos

Fatores intrínsecos, extrínsecos e implícitos que controlam o desenvolvimento microbiano nos alimentos

Dra. Juliana Galvão

2024

A presença de micro-organismos nos alimentos pode causar:

- ❖ Alterações benéficas / desejáveis
- ❖ Alterações prejudiciais / indesejáveis
- ❖ Enfermidades de origem alimentar

Alimentos

Matriz quimicamente complexa - difícil prever como e o quão rápido os micro-organismos irão se desenvolver.



Questionamento

Por que alguns alimentos se deterioram mais rápido do que outros?



Alimentos



Multiplicação microbiana

Como ocorre?

Multiplicação microbiana

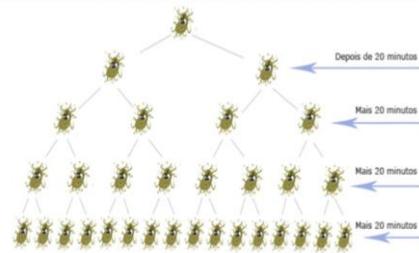
- O "crescimento microbiano" é normalmente associado ao crescimento de uma população de células de um dado micro-organismo;
- Grande parte dos micro-organismos multiplica-se por **fissão binária** (1 - 2 - 4 - 8 - 16 - 32 etc.) = tempo de geração ou de duplicação;
- Tempo de geração/duplicação: tempo necessário para que ocorra uma geração, isto é, para a formação de duas células a partir de uma.

Multiplicação microbiana

- O tempo de geração/duplicação varia entre os micro-organismos;
- É influenciado por **fatores intrínsecos, extrínsecos e implícitos**;

Ex. em condições nutricionais e ambientais ótimas, a bactéria *Escherichia coli* pode ter um tempo de geração de apenas 30 minutos. Outras bactérias podem sofrer divisão celular mais rapidamente, mas a maior parte divide-se com tempos de duplicação de 1-3 horas.

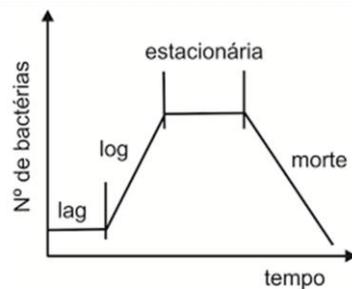
Multiplicação microbiana



Ciclo de multiplicação microbiana

1. **Fase lag** = as células não estão se multiplicando, mas sintetizando as enzimas apropriadas para o novo ambiente.
2. **Fase log (exponencial)** = a população está se multiplicando.
3. **Fase estacionária** = a taxa de crescimento é igual à de mortalidade. A morte é causada por mudanças no ambiente.
4. **Fase da morte** = o número de células morrendo é maior do que o número de células nascendo.

Ciclo de multiplicação microbiana



Fatores intrínsecos, extrínsecos e implícitos

Fatores intrínsecos, extrínsecos e implícitos

Fatores intrínsecos: características inerentes ao alimento.

Fatores extrínsecos: características inerentes ao ambiente onde o alimento se encontra.

Fatores implícitos: interações (positivas e/ou negativas) entre os micro-organismos.

Fatores intrínsecos, extrínsecos e implícitos

Importância

- Influenciam diretamente a probabilidade, a capacidade e a velocidade de multiplicação dos micro-organismos no alimento;
- Influenciam também a vida de prateleira (micro-organismos deteriorantes) e segurança dos alimentos (probabilidade de multiplicação de patógenos e/ou produção de toxinas);
- Influenciam as espécies ou grupos de micro-organismos predominantes em um alimento;

Fatores intrínsecos, extrínsecos e implícitos

Importância

- O conhecimento destes fatores serve como base para a adoção de estratégias de controle microbiano nos alimentos;
- Podem ser manipulados para favorecer (ex. fermentação) ou inibir (ex. patógenos e deteriorantes) a multiplicação microbiana;
- Importante conhecer não apenas cada um destes fatores isoladamente, mas também os efeitos interativos entre eles.

Fatores intrínsecos, extrínsecos e implícitos

Fatores intrínsecos

- ✓ Atividade de água (a_w)
- ✓ Potencial hidrogeniônico (pH)
- ✓ Potencial redox (Eh)
- ✓ Composição química (nutrientes)
- ✓ Fatores antimicrobianos naturais
- ✓ Estruturas biológicas
- ✓ Interações entre micro-organismos (= fator implícito)

Fatores intrínsecos, extrínsecos e implícitos

Fatores extrínsecos

- ✓ Temperatura
- ✓ Umidade relativa
- ✓ Atmosfera envolvendo o alimento (composição gasosa)

Fatores intrínsecos, extrínsecos e implícitos

Fatores implícitos

- ✓ Interações entre micro-organismos

Ex: simbiose, antagonismo, sinergismo e metabiose etc.

Fatores intrínsecos

Atividade de água

Fatores intrínsecos

Atividade de água (a_w / a_w)

- Água disponível em um alimento: água ligada a macromoléculas por forças físicas não está disponível para reações e não pode ser usada pelos micro-organismos;
- Os valores de a_w variam entre 0 e 1 (água pura);
- Os micro-organismos não se multiplicam em água pura nem em ausência total de água;

Fatores intrínsecos

Atividade de água (a_w)

- Cada micro-organismo apresenta valores ótimos, mínimos e máximos de a_w para sua multiplicação:

Valor máximo: ligeiramente menor do que 1,0

Ótimo: varia de acordo com o micro-organismo

Valor mínimo já relatado: 0,60 (leveduras osmofílicas)

Fungos (bolores e leveduras) < Bactérias

Fatores intrínsecos

Atividade de água (a_w)

- Quando a a_w for mínima, a multiplicação da população bacteriana será mínima;
- A multiplicação aumentará sempre que aumentar a a_w ;
- Em valores mais baixos do que o mínimo, as bactérias não necessariamente morrerão (pode acontecer);
- As bactérias que sobreviverem poderão permanecer inativas, mas infecciosas.

Exemplos de estudos



Food Control
Volume 47, January 2015, Pages 295-297

Enterobacteriaceae contamination in chocolate processing

H.S. Izacchamets, E.M. Elic, Suelen, A.R.S. Santos, Y.E. Moreira, N. Siba

Show more

<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.07.020> Get rights and content

Highlights

- Identification of the Enterobacteriaceae contamination source in chocolate.
- Cocoa-based ingredients were not a significant contamination source in chocolate.
- Processing environment was the most likely Enterobacteriaceae source in chocolate.



Fatores intrínsecos

Atividade de água (a_w)

Alimento	a_w
Alimentos <i>in natura</i> (vegetais)	>0,98
Carne cozida, pão	0,98 – 0,95
Carnes curadas, queijos	0,95 – 0,91
Salsichas, xaropes	0,91 – 0,87
Farinhas, cereais e leguminosas secas	0,87 – 0,80
Geléias, marmeladas, balas	0,80 – 0,65
Frutas secas	0,65 – 0,60
Massas desidratadas, Condimentos, Leite em pó	0,60 – 0,20

Fatores intrínsecos

Atividade de água (a_w)

Micro-organismos resistentes à baixa a_w .

- **Osmofílicos:** ambientes com elevada concentração de açúcar;
- **Halofílicos:** ambientes com elevada concentração salina;
- **Xerofílicos:** afinidade a ambientes secos.

Fatores intrínsecos

Atividade de água (a_w)

Valores mínimos de a_w para alguns micro-organismos de importância em alimentos

Grupos de micro-organismos

- Bactérias deteriorantes: 0,90
- Leveduras deteriorantes: 0,88
- Bolores deteriorantes: 0,80
- Bactérias halofílicas: 0,75
- Bolores xerofílicos: 0,65
- Leveduras osmofílicas: 0,60

Algumas bactérias patogênicas

- Staphylococcus aureus*: 0,86
- Clostridium perfringens*: 0,94
- Clostridium botulinum*: 0,97
- Vibrio parahaemolyticus*: 0,94

Fatores intrínsecos

Atividade de água (a_w)

- A redução da a_w dos alimentos constitui um dos métodos mais antigos de conservação de alimentos adotados pelo homem;
- Pode-se reduzir a a_w de um alimento pela adição de solutos (sal ou açúcar) ou remoção da água livre (desidratação ou congelamento);



Alimentos liofilizados





Fatores intrínsecos

Atividade de água (a_w)

- A diminuição da a_w de um alimento provoca um aumento na fase lag do crescimento microbiano, uma diminuição da velocidade de multiplicação e também afeta negativamente o tamanho final da população microbiana.
- Isso ocorre porque todas as atividades metabólicas são afetadas, já que dependem de água.

Fatores intrínsecos

Atividade de água (a_w)

Embora alguns micro-organismos apresentem multiplicação quase normal em baixa a_w , por não estarem em suas condições metabólicas ótimas, por vezes não produzem certos metabólitos extracelulares;

Ex: toxinas produzidas por *S. aureus*

Embora não ocorra multiplicação microbiana em a_w inferior a 0,60, alguns micro-organismos podem se manter viáveis por longos períodos nestas condições;

Ex: micro-organismos esporulados

Fatores intrínsecos

pH

Fatores intrínsecos

pH

- Potencial Hidrogeiônico (pH) - representa uma escala que mede o grau de acidez, alcalinidade ou neutralidade de uma solução;
- Esta escala varia entre 0 e 14, sendo 0 o valor máximo de acidez, 14 o valor máximo de alcalinidade e 7 o valor neutro;
- Os micro-organismos possuem valores de pH máximo, mínimo e ótimo para sua multiplicação;
- Em geral, valores próximos à neutralidade (6,5-7,5) são mais favoráveis à multiplicação microbiana.

Fatores intrínsecos

pH

Os alimentos são subdivididos em três grandes grupos, em relação aos valores de pH:

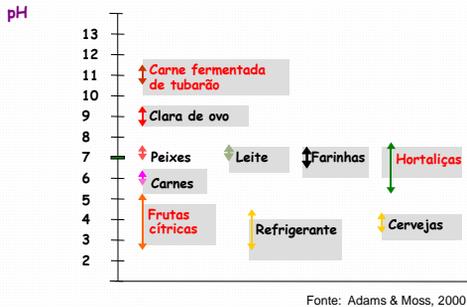
Alimentos de baixa acidez (pouco ácidos): pH superior a 4,5

Alimentos ácidos: pH entre 4,0 e 4,5

Alimentos muito ácidos: pH inferior a 4,0

Estes valores baseiam-se no pH mínimo para a multiplicação da maioria das bactérias (4,0) e no pH mínimo para a multiplicação e produção de toxinas de *Clostridium botulinum* (4,5)

Fatores intrínsecos



Fatores intrínsecos

pH

- ✓ Alguns micro-organismos são favorecidos por valores de pH fora da neutralidade, por eliminação da microbiota competidora:
- ✓ Bactérias produtoras de ácido (bactérias lácticas) - toleram valores mais baixos de pH;
- ✓ Bactérias proteolíticas (*Pseudomonas*), toleram valores mais altos de pH;

Fatores intrínsecos

pH

- ✓ Quanto mais baixo for o pH do meio, mais energia a célula gasta para manter o seu pH intracelular na neutralidade = **menos energia** para sua multiplicação, produção de toxinas etc.
- ✓ Em geral, bactérias se multiplicam mais rápido em ambientes neutros (menor tempo de geração - vantagem competitiva). Porém, em valores de pH abaixo de 5,0, perdem em competição para as leveduras.

Fatores intrínsecos

Potencial redox

Fatores intrínsecos

Potencial redox (Eh)

Definido como a facilidade ou tendência de um substrato em ganhar ou perder elétrons;

- * Quando o substrato **perde elétrons** ele se torna **oxidado**;
- * Quando o substrato **ganha elétrons** ele se torna **reduzido**;

A transferência de elétrons de um composto para outro gera uma **diferença de potencial**, que pode ser medida por aparelhos específicos e é expressa em milivolts (mV).

Fatores intrínsecos

Potencial redox (Eh)

Substratos **oxidados** apresentam **Eh positivo**;

Substratos **reduzidos** apresentam **Eh negativo**;

O Eh de um ambiente pode ser afetado por uma série de compostos, sendo o oxigênio o fator que mais contribui para o aumento do Eh de um alimento;

As reações de oxidação e redução fornecem energia para os processos celulares e afetam a multiplicação microbiana.

Fatores intrínsecos

Potencial redox (Eh)

Em relação aos micro-organismos:

- Aeróbios:** Eh positivo para a multiplicação (+350 e +500 mV);
- Anaeróbios:** Eh negativo para a multiplicação (inferior a -150 mV);
- Microaerófilos:** multiplicam-se melhor em condições ligeiramente reduzidas de Eh;
- Anaeróbios facultativos:** multiplicam-se igualmente em Eh positivo ou negativo.

Fatores intrínsecos

Potencial redox (Eh)

Valores gerais de Eh dos alimentos:

- ✓ Alimentos de origem vegetal: +300 e +400 mV;
- ✓ Carnes: pedaços grandes inteiros - 200 mV, carne moída +200 mV;
- ✓ Queijos: variável dependendo das condições de fabricação (-20 até -200 mV).

Fatores intrínsecos

Composição química

Fatores intrínsecos

Composição química

O desenvolvimento microbiano depende diretamente da presença de nutrientes disponíveis para a síntese de componentes celulares e produção de energia.

Fatores intrínsecos

Composição química

Nutrientes necessários para a multiplicação microbiana:

- ❖ Água
- ❖ Fonte de energia (fonte de carbono)
- ❖ Fonte de nitrogênio
- ❖ Vitaminas
- ❖ Sais minerais

Fatores intrínsecos

Composição química

Fonte de energia:

- ✓ Micro-organismos podem utilizar açúcares, álcoois ou aminoácidos;
- ✓ Alguns micro-organismos podem utilizar carboidratos complexos como amido e celulose, degradando os mesmos em açúcares simples;
- ✓ Lipídeos também podem ser utilizados, porém, poucos micro-organismos são capazes de utilizar este nutriente como fonte de energia.

Fatores intrínsecos

Composição química

Fonte de nitrogênio

- ✓ Os aminoácidos contêm a fonte mais importante deste nutriente para os micro-organismos. São utilizados para a síntese de proteínas, incluindo enzimas.
- ✓ Outros compostos também podem ser utilizados (nucleotídeos, peptídeos e proteínas complexas);
- ✓ Compostos mais simples, como aminoácidos, são metabolizados antes dos compostos mais complexos (o mesmo se aplica para os carboidratos e lipídeos).

Fatores intrínsecos

Composição química

Vitaminas e minerais

- ✓ São fatores de crescimento microbiano - fazem parte de diversas coenzimas responsáveis por várias reações metabólicas;
- ✓ As mais importantes são as vitaminas do complexo B - a biotina e o ácido pantotênico. Bactérias Gram-positivas são mais exigentes em suas necessidades de vitaminas do que as Gram-negativas.
- ✓ Embora necessários em quantidades muito reduzidas, os minerais são indispensáveis para a multiplicação microbiana, pois estão envolvidos em muitas reações enzimáticas.

Fatores intrínsecos

Fatores antimicrobianos naturais

Fatores intrínsecos

Fatores antimicrobianos

Substâncias que apresentam a capacidade de inibir ou retardar a multiplicação microbiana. Podem ser:

- naturais (alicina = alho, aldeído cinâmico = canela)



- Produzidas por micro-organismos (ácido lático = bactérias lácticas)
- Adicionadas aos alimentos (ácidos, nitratos e nitritos)

Fatores intrínsecos

Estruturas biológicas

Fatores intrínsecos

Estruturas biológicas

As estruturas biológicas dos alimentos também podem funcionar como barreiras físicas para a penetração de micro-organismos em alimentos.

Ex: cascas de castanhas, frutas e ovos; pele de animais e película de sementes.



Fatores extrínsecos

Temperatura

Fatores extrínsecos

Temperatura

Fator ambiental relevante para a multiplicação microbiana:

- Temperatura de estocagem influencia na qualidade e segurança do alimento: vida de prateleira (deteriorantes) e probabilidade de multiplicação de patógenos;
- De acordo com as temperaturas máxima, mínima e ótima para a multiplicação, os micro-organismos de importância em alimentos podem ser divididos em 3 grupos principais: **mesófilos**, **psicrotróficos** e **termófilos**.

Fatores extrínsecos

Temperatura

Micro-organismos mesófilos:

- ❖ Temperatura ótima de multiplicação entre 25 °C e 40 °C
- ❖ Mínima entre 5 °C e 25 °C
- ❖ Máxima entre 40 °C e 50 °C

Nesta categoria encontra-se a maioria dos micro-organismos de importância em alimentos: maioria dos patógenos.

Fatores extrínsecos

Temperatura

Micro-organismos psicrotróficos:

- ❖ Capacidade de se desenvolver sob refrigeração (0 - 7 °C), independente da temperatura ótima de multiplicação.

Micro-organismos psicrófilos são aqueles que têm temperatura de multiplicação entre 0°C e 20°C, com um ótimo entre 10°C e 15°C.

Fatores extrínsecos

Temperatura

Micro-organismos termófilos:

Temperatura ótima de multiplicação entre 45 °C e 65 °C
Mínima entre 35 °C e 45 °C
Máxima entre 60 °C e 90 °C

Sobrevivência em alimentos aquecidos entre 60-80 °C
Principais gêneros de importância em alimentos

Deteriorantes: *Bacillus coagulans*

Patogênicos: *C. botulinum* e *C. perfringens*

Fatores extrínsecos

Efeito da temperatura adversa nos micro-organismos:

Frio:

- * Diminuição na velocidade de multiplicação;
- * Menor velocidade de reações enzimáticas;

Calor:

- * Provoca desnaturação enzimática e consequente inativação da célula.

Fatores extrínsecos

Efeito da temperatura adversa nos micro-organismos:



Fatores extrínsecos

Umidade relativa do ambiente

Fatores extrínsecos

Umidade relativa do ambiente

Dependendo das condições de armazenamento (umidade relativa do ambiente e embalagem), pode ocorrer troca de água entre o ambiente e os alimentos;

- ✓ Quando a UR é superior à a_w do alimento: absorção de água do ambiente e aumento da a_w .
- ✓ Quando a UR é inferior à a_w do alimento: perda de água para o ambiente e diminuição da a_w .

Uma vez que a a_w influencia na multiplicação dos micro-organismos em alimentos, alterações na a_w , provocadas pela UR, também exercem efeito na multiplicação destes organismos.

Fatores extrínsecos

Atmosfera envolvendo o alimento
(composição gasosa)

Fatores extrínsecos

Atmosfera envolvendo o alimento (composição gasosa)

Pode determinar os tipos de micro-organismos que poderão se multiplicar no alimento:

- * Presença de O_2 favorece a multiplicação de aeróbios
- * Ausência de O_2 favorece a multiplicação de anaeróbios.

Pode-se manipular a composição gasosa do ambiente onde os alimentos serão armazenados para controlar a multiplicação microbiana:

Fatores extrínsecos

Atmosfera envolvendo o alimento (composição gasosa)



Fatores implícitos

Interações entre os micro-organismos

Fatores implícitos

Interações entre micro-organismos

- ✓ A interação entre os diferentes micro-organismos presentes nos alimentos exerce influência na composição da microbiota;
- ✓ A produção de alguns metabólitos pode tanto favorecer, quanto inibir a multiplicação de outros micro-organismos;

Fatores implícitos

Interação entre os micro-organismos

Simbiose: os micro-organismos convivem em harmonia. Em condições ideais para o desenvolvimento de todos eles, há sempre uma predominância das bactérias sobre os fungos.

Antagonismo: a presença de um determinado microrganismo inviabiliza a presença de outro, seja devido competição por nutrientes, alterações no pH do meio (ex. BAL) e/ou produção de bacteriocinas.

= Condições adversas para o desenvolvimento de competidores.

Fatores implícitos

Interação entre os micro-organismos

Sinergismo: dois ou mais microrganismos em convívio simultâneo, apresentam suas funções metabólicas potencializadas.

Metabiose: ocorre uma predominância de um grupo de microrganismos que vão sendo, sucessivamente, substituídos em consequência da modificação progressiva do meio.

Ex: produção de nutrientes, remoção de oxigênio do meio pelos aeróbios, favorecendo os anaeróbios etc.

Fatores implícitos

Interações entre micro-organismos

* Exclusão competitiva: inibição de micro-organismos patogênicos;

Substituição da microbiota nociva por micro-organismos inofensivos ou benéficos com vantagem competitiva;

Colonização do trato gastrointestinal de aves recém-nascidas com micro-organismos inócuos de aves adultas para inibir a contaminação com *Salmonella* e *Campylobacter*;

Colonização do trato gastrointestinal do homem com probióticos - relacionada a diversos efeitos benéficos.

Teoria dos obstáculos

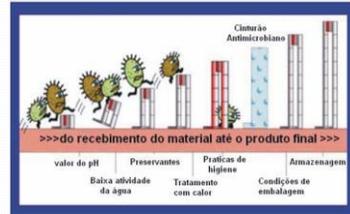
Conceito dos obstáculos de Leistner

Teoria dos obstáculos

- ✓ Refere-se às interações entre os fatores intrínsecos e extrínsecos para impedir a multiplicação de micro-organismos deteriorantes ou patogênicos, melhorando a estabilidade e a qualidade dos alimentos.
- ✓ Baseia-se na utilização simultânea de mais de uma forma de controle microbiano, de forma a dificultar o desenvolvimento dos micro-organismos.

Teoria dos obstáculos

Os micro-organismos aumentam o gasto energético para superar todas as "barreiras" utilizadas. Com isso, ocorre diminuição da velocidade de multiplicação.



Fonte: <http://www.qsalimentos.xpg.com.br/microdeali.htm>

Teoria dos obstáculos

Barreiras potenciais entre as mais usadas:

- Aquecimento
- Resfriamento
- pH
- Atividade de água
- Atmosfera modificada (dióxido de carbono, oxigênio, nitrogênio)
- Embalagem (vácuo, embalagem ativa)
- Processos físicos: radiação, ultrassom etc.
- Conservantes (nitritos, sorbatos, sulfitos)

Referências

- DOYLE, M.P., BEUCHAT, L.R. *Food microbiology: fundamentals and frontiers*. 3rd ed. Washington, DC: ASM Press, 2007. 1038p.
- FORSYTHE, S. J. *Microbiologia da segurança dos alimentos*. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 602p.
- FRANCO, B.D.G.M., LANDGRAF, M. *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: Editora Atheneu, 2008. 182p.
- JAY, J.M., LOESSNER, M.J., GOLDEN, D.A. *Modern food microbiology*, 7th ed. New York: Springer, 2005. 790p.
- MONTVILLE, T.J., MATTHEWS, K.R. *Food microbiology: an introduction*, 2nd ed. Washington, DC: ASM Press, 2008. 427p.
- SPLITTSTOESSER, D.F., VANDERZANT, C. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 3rd ed. Washington (D.C.): American Public Health Association, 1992.