



e-Tec Brasil  
*Escola Técnica Aberta do Brasil*

# Técnico em Alimentos

*Irineide Teixeira de Carvalho*

## Microbiologia dos Alimentos





e-Tec Brasil  
*Escola Técnica Aberta do Brasil*

# Microbiologia dos Alimentos

*Irineide Teixeira de Carvalho*



UFRPE/CODAI  
2010

Presidência da República Federativa do Brasil

Ministério da Educação

Secretaria de Educação a Distância

Este Caderno foi elaborado em parceria entre o Colégio Agrícola Dom Agostinho Ikas (CODAI) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e a Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) para o Sistema Escola Técnica Aberta do Brasil – e-Tec Brasil.

**Equipe de Elaboração**

Colégio Agrícola Dom Agostinho Ikas (CODAI) / UFRPE

**Reitor**

Prof. Valmar Correa de Andrade

**Vice-Reitor**

Prof. Reginaldo Barros

**Diretor**

Prof. Luiz Augusto de Carvalho Carmo

**Coordenadora Institucional**

Profa. Argélia Maria Araújo Dias Silva

**Coordenadora do Curso**

Profa. Claudia Mellia

**Professor Pesquisador**

Prof. Paulo Ricardo Santos Dutra

**Professor-Autor**

Irineide Teixeira de Carvalho

**Equipe de Validação**

Secretaria de Educação a Distância / UFRN

**Reitor**

Prof. José Ivonildo do Rêgo

**Vice-Reitora**

Profa. Ângela Maria Paiva Cruz

**Secretária de Educação a Distância**

Profa. Maria Carmem Freire Diógenes Rêgo

**Secretária Adjunta de Educação a Distância**

Profa. Eugênia Maria Dantas

**Coordenador de Produção de Materiais Didáticos**

Prof. Marcos Aurélio Felipe

**Revisão**

Jânio Gustavo Barbosa

Verônica Pinheiro da Silva

Cristinara Ferreira dos Santos

Rosilene Alves de Paiva

**Diagramação**

Rafael Marques Garcia

**Arte e Ilustração**

Leonardo dos Santos Feitoza

Roberto Luiz Batista de Lima

**Revisão Tipográfica**

Elizabeth da Silva Ferreira

**Projeto Gráfico**

e-Tec/MEC

**Ficha catalográfica**

Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Central - UFRPE

**C331m** Carvalho, Irineide Teixeira  
Microbiologia dos alimentos / Irineide Teixeira Carvalho. –  
Recife: EDUFRPE, 2010.  
84 p.: il.

Programa Escola Técnica Aberta do Brasil (ETEC - Brasil).  
Referências.

ISBN: 978-85-7946-071-5

1. Alimentos 2. Microbiologia 3. Preservação  
4. Microorganismos I. Título

CDD 576.163

# Apresentação e-Tec Brasil

Prezado estudante,

Bem-vindo ao e-Tec Brasil!

Você faz parte de uma rede nacional pública de ensino, a Escola Técnica Aberta do Brasil, instituída pelo Decreto nº 6.301, de 12 de dezembro 2007, com o objetivo de democratizar o acesso ao ensino técnico público, na modalidade a distância. O programa é resultado de uma parceria entre o Ministério da Educação, por meio das Secretarias de Educação a Distância (SEED) e de Educação Profissional e Tecnológica (SETEC), as universidades e escolas técnicas estaduais e federais.

A educação a distância no nosso país, de dimensões continentais e grande diversidade regional e cultural, longe de distanciar, aproxima as pessoas ao garantir acesso à educação de qualidade, e promover o fortalecimento da formação de jovens moradores de regiões distantes, geograficamente ou economicamente, dos grandes centros.

O e-Tec Brasil leva os cursos técnicos a locais distantes das instituições de ensino e para a periferia das grandes cidades, incentivando os jovens a concluir o ensino médio. Os cursos são ofertados pelas instituições públicas de ensino e o atendimento ao estudante é realizado em escolas-polo integrantes das redes públicas municipais e estaduais.

O Ministério da Educação, as instituições públicas de ensino técnico, seus servidores técnicos e professores acreditam que uma educação profissional qualificada – integradora do ensino médio e educação técnica, – é capaz de promover o cidadão com capacidades para produzir, mas também com autonomia diante das diferentes dimensões da realidade: cultural, social, familiar, esportiva, política e ética.

Nós acreditamos em você!

Desejamos sucesso na sua formação profissional!

Ministério da Educação  
Janeiro de 2010

Nosso contato  
[etecbrasil@mec.gov.br](mailto:etecbrasil@mec.gov.br)



# Indicação de ícones

Os ícones são elementos gráficos utilizados para ampliar as formas de linguagem e facilitar a organização e a leitura hipertextual.



**Atenção:** indica pontos de maior relevância no texto.



**Saiba mais:** oferece novas informações que enriquecem o assunto ou “curiosidades” e notícias recentes relacionadas ao tema estudado.



**Glossário:** indica a definição de um termo, palavra ou expressão utilizada no texto.



**Mídias integradas:** remete o tema para outras fontes: livros, filmes, músicas, *sites*, programas de TV.



**Atividades de aprendizagem:** apresenta atividades em diferentes níveis de aprendizagem para que o estudante possa realizá-las e conferir o seu domínio do tema estudado.



# Sumário

<b>Palavra do professor-autor</b> .....	<b>11</b>
<b>Projeto instrucional</b> .....	<b>13</b>
<b>Aula 1 – Microrganismos de interesse na Microbiologia de Alimentos</b> .....	<b>15</b>
1.1 Características gerais.....	15
1.2 Microrganismos de interesse em alimentos.....	16
1.3 Bcores.....	21
1.4 Leveduras.....	25
<b>Aula 2 – Controle do desenvolvimento dos microrganismos nos alimentos</b> .....	<b>27</b>
2.1 Existem diversas maneiras para que esse controle seja exercido:.....	27
2.2 Princípios básicos da conservação dos alimentos do ponto de vista microbiano.....	28
2.3 Controle do microrganismo por remoção.....	28
2.4 Controle dos microrganismos por manutenção em condições desfavoráveis .....	28
2.5 Métodos de conservação dos alimentos.....	29
2.6 Conservação pelo emprego de baixas temperaturas.....	33
2.7 Conservação pelo controle da umidade.....	36
2.8 Fermentação.....	37
2.9 Método de conservação por adição de aditivos químicos.....	38
2.10 Outros métodos de conservação.....	39
<b>Aula 3 – Microbiologia do leite e seus derivados</b> .....	<b>41</b>
3.1 Microbiologia do leite.....	41
3.2 Classificação dos microrganismos presentes no leite.....	41
3.3 Origem da flora microbiana.....	42

3.4	Produção higiênica do leite.....	43
3.5	Tratamento do leite.....	43
3.6	Alterações microbiológicas no leite.....	45
3.7	Leites e queijos Fermentados.....	47
<b>Aula 4</b>	<b>– Alterações microbiológicas do pescado .....</b>	<b>53</b>
4.1	Qualidade microbiológica do pescado .....	53
4.2	Gêneros de bactérias, leveduras e fungos predominantes em pescados frescos.....	53
4.3	Fatores que influenciam no tipo e velocidade da deterioração.....	54
4.4	Sinais de alterações do pescado.....	54
4.5	Avaliação do frescor do peixe.....	56
<b>Aula 5</b>	<b>– Microbiologia da carne.....</b>	<b>59</b>
5.1	Fontes de Contaminação.....	59
5.2	Medidas de controle.....	61
5.3	Sintomas de alterações da carne.....	62
<b>Aula 6</b>	<b>– Contaminação e alterações de hortaliças e frutas .....</b>	<b>65</b>
6.1	Cuidados na pré-colheita.....	65
6.2	Cuidados na pós-colheita.....	65
6.3	Espécies de microrganismos presentes nas frutas e hortaliças .....	66
6.4	Tipos de microbiota natural encontrados nos produtos frescos .....	66
6.5	Principais microrganismos causadores da deterioração pós-colheita.....	66
<b>Aula 7</b>	<b>– Principais microrganismos causadores de toxinfecção alimentar.....</b>	<b>69</b>
7.1	Definições.....	69
7.2	Toxinfecção alimentar.....	70
7.3	Principais microrganismos causadores de infecção alimentar.....	73

<b>Aula 8 – Microrganismos indicadores</b> .....	<b>79</b>
8.1 Definição de microrganismos indicadores.....	79
8.2 Indicador de contaminação fecal e higiênico-sanitária do alimento .....	80
8.3 Contagem total de bactérias mesófilas aeróbias.....	81
8.4 <b><i>Stafilococcus aureus</i></b> .....	81
8.5 Contagem de esporos de termófilos.....	81
8.6 Contagem de bolores em equipamentos.....	82
<b>Referências</b> .....	<b>83</b>
<b>Currículo do professor-autor</b> .....	<b>84</b>



## Palavra do professor-autor

Na Aula 1, teremos uma breve descrição dos gêneros de bactérias, leveduras e fungos filamentosos de maior ocorrência nos alimentos e o papel que cada um desempenha nesses alimentos.

Na Aula 2, abordaremos o controle do desenvolvimento microbiano, visando eliminar riscos à saúde do consumidor, bem como prevenir ou retardar o surgimento de alterações indesejáveis nos alimentos, utilizando os métodos de conservação dos alimentos. Na aula seguinte, estudaremos os contaminantes do leite durante o processo de ordenha e do leite cru, o tratamento do leite, as alterações decorrentes dos contaminantes e os produtos da fermentação láctica.

Na Aula 4, falaremos sobre a microflora contaminante do pescado e as alterações decorrentes da ação desses microrganismos. Em seguida, na Aula 5, veremos as fontes de contaminação, as medidas de controle e os sintomas de alterações da carne. Na próxima aula, estudaremos os principais tipos de contaminações e alterações microbianas em hortaliças e frutas. Estudaremos as principais bactérias causadoras de toxinfecções e infecções alimentares por número de ocorrências e virulência na Aula 7. E na última aula, aprenderemos quais são os microrganismos utilizados como indicadores de contaminação fecal, da qualidade higiênico-sanitária do alimento, das condições deficientes de manipulação e processamento.



# Projeto instrucional

**Disciplina:** Microbiologia dos Alimentos

**Ementa:** Origem dos microrganismos dos alimentos; fatores intrínsecos e extrínsecos relacionados com a microbiologia dos alimentos; incidência e tipos de microrganismos presentes nos alimentos; modificações microbiológicas dos alimentos; Princípios dos métodos de conservação dos alimentos; microrganismos indicadores; padrões microbiológicos da água; infecção e toxinfecção alimentar; microrganismos na indústria de alimentos; análises microbiológicas em alimentos.

AULA	OBJETIVOS DE APRENDIZAGEM	CARGA HORÁRIA (horas)
1. Microrganismos de interesse na Microbiologia de Alimentos	Conhecer e identificar os gêneros de bactérias, leveduras e fungos filamentosos de maior ocorrência nos alimentos e o papel que cada um desempenha nesses alimentos.	80
2. Controle do desenvolvimento dos microrganismos nos alimentos	Entender o controle do desenvolvimento microbiano no alimento, visando eliminar riscos à saúde do consumidor. Entender a prevenção ou retardamento do surgimento de alterações indesejáveis nos alimentos.	
3. Microbiologia do leite e seus derivados	Estudar os contaminantes do leite durante o processo de ordenha Estudar os contaminantes do leite cru, Estudar os tratamentos do leite Estudar as alterações decorrentes dos contaminantes Estudar os produtos da fermentação láctica.	
4. Alterações microbiológicas do pescado	Estudar a microflora contaminante do pescado. Estudar as alterações decorrentes da ação dos microrganismos.	
5. Microbiologia da carne	Determinar as fontes de contaminação da carne. Identificar as medidas de controle da carne. Definir os sintomas de alterações da carne.	
6. Contaminação e alterações de hortaliças e frutas	Estudar os principais tipos de contaminações microbianas em hortaliças e frutas. Estudar os principais tipos de alterações microbianas em hortaliças e frutas.	

<p>7. Principais microrganismos causadores de toxinfecção alimentar</p>	<p>Estudar as principais bactérias causadoras de toxinfecções alimentares. Estudar as principais bactérias causadoras de infecções alimentares por número de ocorrências e virulência.</p>	
<p>8. Microrganismos indicadores</p>	<p>Conhecer os microrganismos indicadores de contaminação fecal de alimentos. Conhecer os microrganismos indicadores de condições inadequadas de manipulação de alimentos. Relacionar os indicadores de qualidade sanitária dos alimentos, na produção e armazenamento.</p>	<p>80</p>

# Aula 1 – Microrganismos de interesse na Microbiologia de Alimentos

## Objetivos

Conhecer e identificar os gêneros de bactérias, leveduras e fungos filamentosos de maior ocorrência nos alimentos e o papel que cada um desempenha nesses alimentos.

### 1.1 Características gerais

Sabemos hoje em dia que os microrganismos são encontrados praticamente em todos os lugares. Até pouco tempo, antes da invenção do microscópio, os microrganismos eram desconhecidos dos cientistas. Centenas de pessoas morriam em epidemias devastadoras cujas causas não eram identificadas. A comida estragada frequentemente não podia ser controlada e famílias inteiras morriam porque as vacinas e os antibióticos não estavam disponíveis para combater as infecções.

É desconhecido o período em que se tomou conhecimento da existência de microrganismos e da sua importância para os alimentos, porém, com o surgimento de alimentos preparados, começaram a ocorrer problemas relacionados a doenças transmitidas pelos alimentos e com a rápida deterioração dos mesmos, devido, principalmente, à conservação inadequada.

Embora sem o conhecimento dos fundamentos técnicos e científicos da fabricação de manteiga e queijo, bem como da conservação de alimentos como a salga e a defumação de carnes, peixes e a fabricação de vinhos, estes processos, apesar da forma empírica, já eram realizados pelos povos da Antiguidade.

A indústria de alimentos dos dias de hoje inclui os microrganismos na produção de diversos produtos, entre eles vinagre, pickles, bebidas alcoólicas, azeitonas, leites fermentados, pães, entre outros.

Veremos, a seguir, os principais microrganismos de importância na Microbiologia de Alimentos.

## 1.2 Microrganismos de interesse em alimentos

Nesta aula, abordaremos os microrganismos deterioradores e os úteis, ou seja, os que são utilizados para produção de alimentos. Os microrganismos causadores de doenças serão abordados na Aula 7.

### 1.2.1 Bactérias

Poucas bactérias existentes na natureza são de importância para a Microbiologia de Alimentos. Falaremos de cada gênero bacteriano resumidamente e daremos ênfase aos aspectos mais relevantes a seguir.

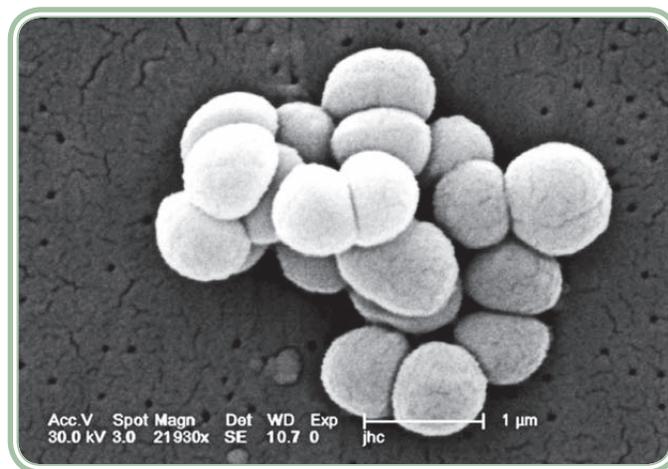
#### 1.2.1.1 *Aeromonas*

Compreendem espécies anaeróbias, facultativas, gram-negativas. São encontradas em muitos produtos, principalmente nos refrigerados. São determinantes na deterioração de carnes, pescados e ovos.

#### 1.2.1.2 *Micrococcus*

As espécies deste gênero são cocos, gram-negativos e produzem colônias pigmentadas (rosa, laranja) ou não. São amplamente distribuídos na natureza, sendo encontrados na pele do homem, pelos de animais, sujidades, solo, água e em muitos alimentos.

Algumas espécies são psicotróficas (ou seja, crescem a temperaturas menores que 7 °C) e estão associadas à deterioração de produtos de laticínios e de carnes processadas. Têm capacidade de se multiplicar em concentrações de 5% de NaCl.



**Figura 1.1: *Micrococcus* vista em microscópio**

Fonte: <<http://cellbiology.med.unsw.edu.au/units/images/Gram-positive%20Micrococcus%20luteus%20bacteria.jpg>>. Acesso em: 24 maio 2010.

### 1.2.1.3 *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*

Juntamente com o gênero *Lactobacillus*, constituem as **bactérias lácticas**. Possuem células esféricas ou ovoides, não móveis, gram-positivas, sendo anaeróbios facultativos. O habitat desses microrganismos é variado. Eles podem ser encontrados na mucosa bucal, trato intestinal, leite, derivados, superfície de vegetais e outros locais.

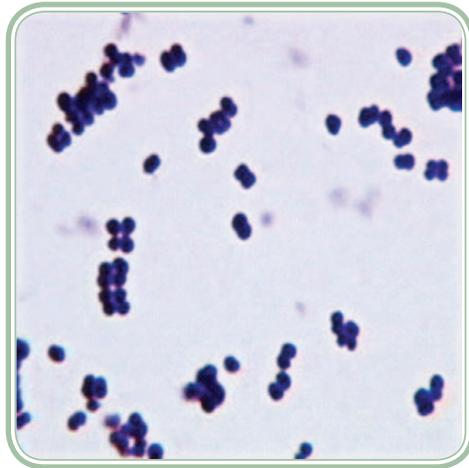
Esta família é importante para:

- a) **Laticínios:** espécies de *Streptococcus* e/ou *Leuconostoc* são utilizadas na produção de leites fermentados, queijos e manteigas.
- b) **Produção de vegetais fermentados:** tais como pickles, azeitonas e chucrutes.
- c) **Indicação de contaminação fecal:** a contagem de *Streptococcus* fecais é utilizada para indicar a contaminação de água e alimentos por material fecal. Por serem mais resistentes às condições adversas que os coliformes, são empregados em padrões para produtos processados, especialmente os congelados. Os *Streptococcus* fecais compreendem as seguintes espécies, pertencentes ao grupo D de Lancefield: *S. faecalis*, *S. faecium*, *S. bovis* e *S. equinus*.
- d) **Deterioração de alimentos e bebidas:** tais como cerveja e vinho e (especialmente espécies de *Pediococcus*); carnes e derivados (provocam acidificação, esverdeamento e viscosidade); leite (azedamento); sucos de frutas (odor de manteiga, azedamento).



#### 1.2.1.4 *Sarcina*

Compreende espécies em cocos, gram-positivos, imóveis. São facultativos e produzem pigmento amarelo. Crescem em ampla faixa de pH e têm crescimento mesófilo. São importantes na deterioração de alimentos à temperatura elevada.



**Figura 1.2:** *Sarcina*

Fonte: <<http://www.mc.maricopa.edu/~johnson/labtools/Dbacyst/sarcina9.jpg>>. Acesso em: 24 maio 2010.

#### 1.2.1.5 *Lactobacillus*

São microrganismos em bastonetes, gram-positivos, podendo ser móveis ou imóveis. Possuem metabolismo fermentativo, podendo ser homolático (no processo fermentativo tem como produto final apenas ácido lático) ou heterolático (tem como produto final ácido lático e outros produtos da fermentação). São importantes na produção de leites fermentados, queijos, produção de ácido lático, produção de vegetais fermentados e deterioração de alimentos e bebidas.

#### 1.2.1.6 *Halobacterium e Halococcus*

São bastonetes, gram-negativos, aeróbios. Vivem em ambientes que contêm alta concentração de cloreto de sódio, tais como salinas, lagos salgados, materiais salgados (ex.: charque), sendo, portanto, halofílicos. São responsáveis pelo chamado “vermelhidão do charque”, pois suas células possuem pigmentos vermelhos do tipo carotenoides. Produzem limosidade e odor extremamente desagradável. (GAVA; SILVA; FRIAS, 2009).

### 1.2.1.7 *Alcaligenes*

São bastonetes, gram-negativos, aeróbios, psicrotróficos e pouco proteolíticos. Vivem no trato intestinal do homem e animais, águas frescas e produtos de laticínios. São importantes na deterioração do leite, aves e outros alimentos.

### 1.2.1.8 *Acinetobacter* e *Moraxella*

São bastonetes, gram-negativos, aeróbios, que vivem principalmente no solo e na água. Podem provocar problemas na deterioração de alimentos conservados pelo frio, especialmente carnes e pescados não processados, dos quais são importantes deterioradores.

### 1.2.1.9 *Escherichia*, *Edwardsiella*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*, *Erwinia*

Constituem a família *Enterobacteriaceae*, que se caracteriza por possuir como representantes bactérias em bastonete, gram-negativas, facultativas, móveis e que reduzem  $\text{NO}_2$  a  $\text{NO}_3$ . Vivem no trato intestinal do homem e de animais, mas certas espécies podem ser encontradas vivendo saprofiticamente em plantas ou mesmo sendo patógenos em vegetais.



**Saprófito:** tipo de associação onde não há prejuízo para o hospedeiro

De importância, destacam-se, nessa família:

- a) Como indicadores de contaminação fecal: *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Klebsiella*.
- b) Como deterioradores:
  - ***Proteus***: deterioradores de produtos refrigerados de origem animal (ovos, carnes, pescados e aves).
  - ***Serratia***: produz pigmentos rosa e vermelho, insolúveis em água. Está envolvida na deterioração de pães, carnes, ovos e pescados.
  - ***Erwinia***: de importância na deterioração de vegetais (frutas e hortaliças). Algumas espécies produzem pigmentos amarelos, insolúveis em água e de natureza carotenóide.



### 1.2.1.10 *Pseudomonas*

São bastonetes gram-negativos, aeróbios, móveis. Muitas espécies são psicrófilas e dotadas de atividade lipolítica e proteolítica. Algumas espécies produzem pigmentos fluorescentes. Vivem especialmente no solo e na água salgada e doce.

As *pseudomonas*, de um modo geral, são importantes na deterioração de pescados, carnes e derivados, aves, leite e derivados, provocando problemas tais como limosidade superficial e odores desagradáveis devido à atividade proteolítica e lipolítica.



**Figura 1.3:** *Pseudomonas fluorescens*

Fonte: <[http://www.bivw.kuleuven.be/dtp/cmpg/pgprb\\_images/PseudoGreen.jpg](http://www.bivw.kuleuven.be/dtp/cmpg/pgprb_images/PseudoGreen.jpg)>. Acesso em: 24 maio 2010.

### 1.2.1.11 *Acetobacter*

Espécies deste gênero compõem o grupo das bactérias acéticas, pois produzem ácido acético a partir do etanol. São bastonetes, gram-negativos, aeróbios.

São importantes na produção de vinagre, estando também implicadas na deterioração de bebidas e vinagre, formando películas ou turvações nos mesmos. *Acetobacter aceti* é uma espécie bastante usada na produção de vinagre.

#### **1.2.1.12 *Flavobacterium***

São bacilos imóveis, produtores de pigmentos carotenoides, amarelos ou vermelhos, dependendo da temperatura e do substrato. Crescem melhor à temperatura abaixo de 30 °C, estando envolvidos na deterioração de vegetais frescos e congelados, pescados, carnes e derivados.

#### **1.2.1.13 *Serratia***

São bacilos imóveis. As espécies importantes em alimentos são *S. marcescens*, produtores de pigmentos carotenoides vermelhos, e *S. liquefaciens*, que causam deterioração de vegetais e carnes refrigeradas.

Após estudar as principais bactérias que causam alterações nos alimentos, faça uma pesquisa no mercado para verificar que tipos de alterações microbiológicas você identifica nos alimentos. Em seguida, faça uma tabela listando os alimentos, condições encontradas, tipo de alteração visualizada e qual contaminante você sugere que esteja envolvido na alteração.



### **1.3 Bolores**

São fungos filamentosos formados por hifas que em conjunto formam o micélio. As hifas, como já vimos na disciplina de Microbiologia Básica, podem ser septadas, isto é, divididas em células que se comunicam através de poros, e não septadas (ou cenocíticas), com os núcleos dispersos ao longo de sua extensão.

O micélio, que tem as funções de fixação e reprodução, é responsável pelo aspecto característico das colônias que se formam. Essas colônias podem ter um aspecto algodinoso, serem secas, úmidas, compactas, aveludadas, gelatinosas e com variadas colorações. Geralmente, uma análise macroscópica da colônia formada é suficiente para identificar, pelo menos, o gênero ao qual pertence o bolor.

A seguir, serão apresentados, de forma resumida, os principais bolores que se encontram em alimentos.

### 1.3.1 *Alternaria*

Produzem hifas septadas e se reproduzem assexuadamente. É o bolor mais comum na deterioração de tomates, pimentões, maçã e frutas cítricas, causando o escurecimento dos tecidos.



**Figura 1.4: Tomates deteriorados pela *Alternaria alternata***

Fonte: Foto de Michelle Grabowski. Disponível em: <[http://www.extension.umn.edu/gardeninfo/diagnostics/images/tomato/diseases/alternaria1\\_600px.jpg](http://www.extension.umn.edu/gardeninfo/diagnostics/images/tomato/diseases/alternaria1_600px.jpg)>. Acesso em: 24 maio 2010.

### 1.3.2 *Aspergillus*

Produzem hifas septadas e se reproduzem assexuadamente. Possuem mais de 100 espécies das quais umas são utilizadas na produção de alimentos, outras são deterioradoras e, ainda, encontram-se espécies produtoras de micotoxinas. *Aspergillus Niger* é um tipo muito comum em cascas de cebola, que aparecem como uma poeira preta.



**Figura 1.5: Milho infectado por *Aspergillus***

Fonte: <<http://www.ipm.iastate.edu/ipm/icm/2002/10-21-2002/molds.html>>. Acesso em: 24 maio 2010.

### 1.3.3 *Aureobasidium*

Produz manchas pretas em camarões e carne, sendo comum em frutas e hortaliças.

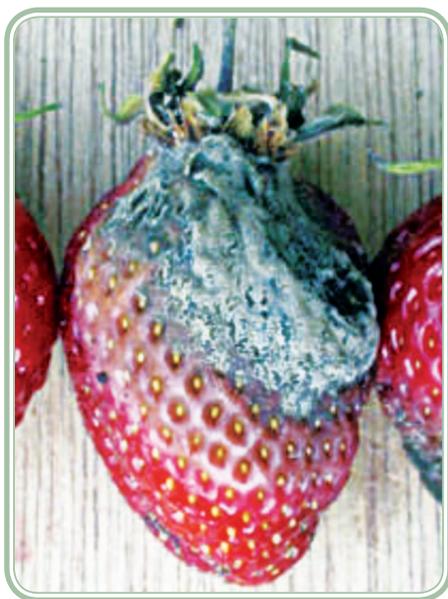


**Figura 1.6: *Aureobasidium pullulans***

Fonte: <<http://bugs.bio.usyd.edu.au/learning/resources/Mycology/StructureFunction/dimorphicStructures.shtml>>. Acesso em: 24 maio 2010.

### 1.3.4 *Botrytis*

Produzem hifas septadas. *B. cinerea* é a espécie mais comum em alimentos e é importante devido à podridão cinza que provoca em maçãs, peras, morangos e frutas cítricas.



**Figura 1.7: *Botrytis cinerea* em morangos**

Fonte: <[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/e/e4/Aardbei\\_Lambda\\_vruchtrot\\_Botrytis\\_cinerea.jpg/220px-Aardbei\\_Lambda\\_vruchtrot\\_Botrytis\\_cinerea.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/e/e4/Aardbei_Lambda_vruchtrot_Botrytis_cinerea.jpg/220px-Aardbei_Lambda_vruchtrot_Botrytis_cinerea.jpg)>. Acesso em: 24 maio 2010.

### 1.3.5 *Byssochlamys*

Possuem reprodução sexuada e assexuada. As espécies *B. fulva* e *B. nivea* possuem esporos sexuais de elevada resistência térmica e capazes de se mul-

tiplicar e pH baixo e sob baixa tensão de oxigênio, sendo ainda capazes de produzir enzimas pectinolíticas de intensa atividade. Por estas características são deterioradores de sucos de frutas e conservas de frutas. Estas alterações podem vir acompanhadas de produção de gás com estufamento da lata.

### 1.3.6 *Cladosporium, Fusarium, Geotrichum, Monília*

São comuns como deterioradores de frutas e hortaliças.



**Figura 1.8: Frutas contaminadas com *Monília***

Fonte: <[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/6e/Monilia\\_fructigena1\\_2006-08-24.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/6e/Monilia_fructigena1_2006-08-24.jpg)>. Acesso em: 24 maio 2010.

### 1.3.7 *Mucor*

Multiplica-se por brotamento ou através de micélios. São deterioradores de vegetais e frutas e muitas espécies são utilizadas na produção de queijos e alimentos fermentados orientais.



**Figura 1.9: *Mucor* em pêsego**

Fonte: <<http://www.agf.gov.bc.ca/cropprot/tfipm/images/mucor2.jpg>>. Acesso em: 24 maio 2010.

### 1.3.8 *Penicillium*

Possuem espécies que são utilizadas na produção de queijos. É muito comum como deterioradores de pães, bolos, queijos outros produtos.

### 1.4 Leveduras

As leveduras têm, na sua maioria, grande tolerância a alimentos com baixa atividade de água, podendo crescer em produtos com elevadas concentrações de açúcar e sal. Participam como deterioradores de frutas, refrigerantes, sucos, produtos lácteos, maionese e vinho. Algumas leveduras, a exemplo da *Saccharomyces*, são bastante utilizadas na tecnologia de alimentos para produção de pães, álcool e bebidas alcoólicas.

Os gêneros mais frequentes em alimentos são: *Pichia*, *Sacharomyces*, *Zygosacharomyces*, *Rhodotorula*, *Torulospora*, *Trichosporon*.



Faça uma garapa de açúcar com 100 ml de água e 60 g de açúcar. Adicione 1 g de fermento para pão e homogeneíze a mistura. Deixe à temperatura ambiente sem agitação por 2 a 3 dias. Observe que houve fermentação com produção de álcool. Justifique o que ocorreu.



### Resumo

Nesta aula, você teve uma breve descrição dos gêneros de bactérias, fungos filamentosos e leveduras de maior ocorrência nos alimentos e o papel que cada um desempenha nos alimentos.

## Atividades de aprendizagem

1. Que papéis podem desempenhar os microrganismos nos alimentos?
2. Quais são as bactérias que apresentam ações proteolíticas e lipolíticas?
3. Que tipos de alterações visíveis podem ser observadas por ação de bactérias proteolíticas em superfícies de carnes?
4. Quais são as bactérias responsáveis por vermelhidão em carnes salgadas?
5. Quais as bactérias que degradam alimentos refrigerados?
6. Quais são as bactérias responsáveis pela produção de pigmentos coloridos?
7. Que bactéria está envolvida na produção do vinagre?
8. Como se apresentam os bolores nos alimentos?
9. Que tipos de alterações os fungos apresentam nos alimentos?
10. As leveduras deterioram que tipos de alimentos?
11. Qual a importância da *Sacharomyces*?

# Aula 2 – Controle do desenvolvimento dos microrganismos nos alimentos

## Objetivos

Entender o controle do desenvolvimento microbiano no alimento, visando eliminar riscos à saúde do consumidor.

Entender a prevenção ou retardamento do surgimento de alterações indesejáveis nos alimentos.

## 2.1 Existem diversas maneiras para que esse controle seja exercido:

- Através do uso de métodos para remoção dos microrganismos presentes (filtração, por exemplo).
- Através da manutenção de condições atmosféricas desfavoráveis à multiplicação microbiana (embalagem a vácuo, por exemplo).
- Através do uso de temperaturas elevadas e do frio.
- Através de desidratação.
- Através do uso de conservadores químicos.
- Através de irradiação do alimento.
- Através da destruição mecânica dos microrganismos (altas pressões, por exemplo).
- Através da combinação de dois ou mais métodos citados, geralmente a mais empregada.

A conservação dos alimentos, do ponto de vista microbiano, envolve dois princípios básicos, que serão apresentados a seguir:

## 2.2 Princípios básicos da conservação dos alimentos do ponto de vista microbiano

- a) Preservação ou retardamento da decomposição microbiana: é realizado dificultando-se o acesso de microrganismos aos alimentos, impedindo o crescimento e a atividade de microrganismos presentes (baixas temperaturas, desidratação, condições anaeróbias ou agentes químicos) e através da destituição dos microrganismos (calor ou irradiação).
- b) Prevenção de injúrias provocadas por insetos ou outros animais, causas mecânicas etc. que servirão de porta de entrada para os microrganismos.

## 2.3 Controle do microrganismo por remoção

O número de microrganismos presentes irá influenciar nos métodos de conservação e na qualidade do alimento. Quanto maior o número de microrganismos presentes maior serão as alterações de cor, textura, odor e sabor, decorrentes das ações microbianas sobre os constituintes dos alimentos. Uma das maneiras de se controlar a carga microbiana no alimento é pela remoção dos microrganismos presentes, que pode ser realizada pelos processos de **lavagem, centrifugação e filtração**. Esses processos são normalmente utilizados como etapa auxiliar na linha de produção ou processamento.

## 2.4 Controle dos microrganismos por manutenção em condições desfavoráveis

Os alimentos embalados a vácuo ou aqueles cujo ar do espaço livre tenha sido substituído por  $\text{CO}_2$  ou  $\text{NO}_2$  apresentam condições anaeróbias que impedem o desenvolvimento de microrganismos aeróbios.



Faça uma pesquisa sobre o método de potabilização da água. Observe que a redução da carga microbiana se dá através de etapas de floculação, sedimentação e filtração.

## 2.5 Métodos de conservação dos alimentos

### 2.5.1 Conservação pelo emprego de altas temperaturas

A temperatura elevada é um dos métodos de maior eficiência e um dos mais utilizados na destruição de microrganismos. O calor pode ser aplicado tanto em condições úmidas (vapor ou água) quanto secas (estufa com ar quente e seco).

- **Calor úmido**

O calor úmido é muito mais eficiente que o calor seco para destruir os microrganismos. Isto porque o calor úmido causa desnaturação e coagulação das proteínas vitais como enzimas, enquanto o calor seco causa oxidação dos constituintes orgânicos da célula (isto é, ele “queima” lentamente as células). A desnaturação de proteínas celulares ocorre com temperaturas e tempos de exposição menores que aqueles requeridos para oxidação.

Esporos bacterianos são as formas mais resistentes de vida. Por outro lado, as células vegetativas das bactérias são muito mais sensíveis ao calor e são usualmente mortas dentro de 5 a 10 min pelo calor úmido a 60-70 °C. Células vegetativas de leveduras e outros fungos são normalmente destruídas entre 5 e 10min pelo calor úmido a 50-60 °C. Para matar os esporos de fungos no mesmo período de tempo são necessárias temperaturas de 70-80 °C. A susceptibilidade dos protozoários e de muitos vírus ao calor é similar àquela da maioria das células vegetativas.

O calor úmido utilizado para matar os microrganismos pode ser na forma de vapor, água fervente ou água aquecida, a temperaturas abaixo do seu ponto de ebulição.

- **Calor seco**

Calor seco ou ar quente em temperaturas suficientemente altas levam os microrganismos à morte. Entretanto, essa técnica não é tão efetiva quanto o calor úmido e, portanto, são necessárias temperaturas muito altas e tempo de exposição maior. Por exemplo, a esterilização de vidrarias de laboratórios (como placas de Petri, pipetas) requer um tempo de 2h de exposição a 160-180 °C, enquanto a esterilização dos mesmos materiais em uma autoclave requer



Os esporos do *Bacillus anthracis* são destruídos entre 2 e 15 min pelo calor úmido a 100 °C, mas com o calor seco leva mais de 180 min a 140 °C para conseguir o mesmo resultado.

somente 15 min a 121 °C. Há situações, entretanto, em que um material não poderá ser exposto à umidade e o método pelo calor seco é preferido.

O tratamento térmico necessário para destruir os microrganismos ou seus esporos varia de acordo com o tipo de microrganismo, a forma em que ele se encontra e o ambiente durante o tratamento.

## 2.5.2 Fatores que afetam a termorresistência dos microrganismos

Existem alguns parâmetros ou fatores que podem afetar a resistência térmica dos microrganismos. São eles:

1. **Água:** a resistência térmica das células microbianas aumenta com a diminuição da umidade. Esse fato está relacionado com a desnaturação proteica, que ocorre mais rapidamente em ambiente hidratado que em ambiente desidratado. A presença de água permite a quebra térmica das ligações peptídicas, um processo que requer mais energia na ausência de H<sub>2</sub>O e, conseqüentemente, aumenta a reatividade ao calor.
2. **Gordura:** a presença de gordura aumenta a resistência térmica de alguns microrganismos. Presume-se que o aumento na resistência térmica esteja diretamente ligado ao fato de a gordura afetar o conteúdo de água da célula.
3. **Sais:** Os sais influenciam a resistência térmica dos microrganismos de maneira variável, dependendo do tipo de sal, concentração e outros fatores. Alguns sais têm efeito protetor para os microrganismos, enquanto outros tornam as células mais sensíveis ao calor, por diminuírem a atividade de água (Aa). Alguns sais aumentam a termorresistência das células microbianas, enquanto outros (Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, por exemplo), ao aumentarem a Aa, aumentam a sensibilidade ao calor.

O cloreto de sódio, em concentrações baixas, apresenta um efeito protetor, aumentando a resistência térmica de alguns esporos.

4. **Carboidratos:** os açúcares parecem proteger alguns microrganismos e esporos por diminuir a Aa, causada pelas altas concentrações de açúcar. A concentração ótima para essa proteção varia de acordo com o microrganismo. Os osmofílicos e os esporos são mais protegidos que os microrganismos não osmofílicos. Por outro lado, existe uma grande variação

entre os açúcares e alcoóis relativa ao seu efeito na termorresistência. Em estudos realizados com cinco substâncias foi encontrada a seguinte ordem decrescente: sacarose>glicose>sorbitol>frutose>glicerol. No quadro a seguir podemos verificar o efeito de diferentes meios sobre o ponto de destruição térmica da *Escherichia coli*.

Quadro 2.1: Efeito do meio sobre o ponto de destruição térmica da <i>Escherichia coli</i>	
Meio	Temperatura de destruição térmica (°C)
Creme	73
Leite integral	69
Leite condensado	65
Soro	63
Caldo	61

- 5. pH:** as células e esporos são mais termorresistentes em substratos com pH neutro ou próximo da neutralidade. O aumento na acidez ou alcalinidade torna mais rápida a destruição pelo calor.
- 6. Proteínas e outras substâncias:** a presença de proteínas, assim como a de lipídios, apresenta um efeito protetor sobre os microrganismos. Por isso, os alimentos com alto teor proteico necessitam de tratamento térmico mais rigoroso que aqueles com baixo conteúdo proteico.
- 7. Número de microrganismos:** quanto maior o número de microrganismos maior a quantidade de calor necessária para destruí-los. O mecanismo que tenta explicar essa proteção está relacionado à produção de substâncias excretadas pelas células e que as protegeriam. Entre essas substâncias estariam as de natureza proteica. Além disso, considera-se que quanto mais numerosa a população, maior será a possibilidade de se ter células com resistência térmica mais elevada.
- 8. Fase de crescimento:** as células na fase estacionária tendem a ser mais termorresistentes, com o inverso ocorrendo durante a fase logarítmica. A termorresistência também é maior no início da fase logarítmica, mas diminui conforme essa fase vai progredindo. Os esporos mais velhos são mais resistentes que os mais jovens. Por quê? Não se sabe.

- 9. Temperatura de crescimento:** a temperatura de multiplicação das células e a de esporulação tende a influenciar na termorresistência do microrganismo. Assim, ela tende a aumentar conforme a temperatura ótima de incubação aumenta. A ordem dos microrganismos mais sensíveis ao calor é a seguinte: leveduras, bolores, bactérias psicrófilas, seguidas de mesófilas e termófilas. Os cocos são mais resistentes que os bacilos não esporulados. As bactérias Gram+ são mais resistentes ao calor que as Gram-.
- 10. Compostos inibitórios:** a presença de inibidores microbianos durante o aquecimento, como antibióticos e  $SO_2$ , diminui a resistência térmica dos microrganismos. O efeito prático de se adicionar os conservadores químicos aos alimentos antes do tratamento térmico é a redução da quantidade de calor necessária para o tratamento térmico surtir efeito.
- 11. Relação tempo/temperatura:** o tempo necessário para destruição de células e esporos sob determinadas condições diminui conforme a temperatura aumenta.

- **Categorias de tratamento térmico**

Existem duas categorias de tratamento térmico: **pasteurização** e **esterilização**.

- a)** A **pasteurização** pode ter duas finalidades distintas: destruição de todos os microrganismos causadores de doença e não esporulados (por exemplo, a pasteurização do leite) e destruição ou redução do número de microrganismos deteriorantes (por exemplo, a pasteurização do vinagre, de sucos).

As temperaturas de pasteurização utilizadas para cada alimento devem ser suficientes para destruir os microrganismos patogênicos não formadores de esporos, inclusive os de maior resistência térmica como *Micobacterium tuberculosis* e *Coxiella burnetti*, além de todas as leveduras, bolores, bactérias gram-negativas e muitas gram-positivas. Os microrganismos sobreviventes são os termófilos e os termodúricos. São representados pelos gêneros *Lactobacillus* e *Streptococcus*.

- b)** A **esterilização**, por sua vez, significa a destruição de todas as células vegetativas e esporuladas. Em alimentos, emprega-se o termo “esterilização comercial” para indicar que nenhum microrganismo viável pode ser detectado pelos métodos usuais de semeadura, ou ainda, que o nú-

mero de sobreviventes é tão baixo que nessas condições de embalagem e armazenamento é insignificante. Para isso contribuem também o pH, o oxigênio e a temperatura de armazenamento.

Faça uma pesquisa e construa uma tabela com a temperatura x tempo de pasteurização para diversos produtos, tais como, suco de frutas, leite, creme de leite, vinagre, polpa de frutas.



## 2.6 Conservação pelo emprego de baixas temperaturas

O parâmetro temperatura é um dos fatores extrínsecos mais importantes na atividade bioquímica dos microrganismos. Quanto menor for a temperatura, menor será a velocidade das reações bioquímicas ou a atividade microbiana. Em consequência, poder-se-ia considerar que tanto o congelamento como a refrigeração são os melhores métodos de conservação para qualquer tipo de alimento, entretanto pode-se optar por outros métodos por diversos fatores, tais como: características fisiológicas do produto, fatores econômicos e de estocagem e comercialização.

Dois grupos de microrganismos estão envolvidos no processo de conservação pelo emprego de baixas temperaturas. São estes:

- **Microrganismos psicrófilos:** são aqueles cujas temperaturas de crescimento encontram-se na faixa de 0 °C a 20 °C, com ótimo entre 10 °C e 15 °C.
- **Microrganismos psicrotróficos:** são os capazes de se desenvolver entre 0 °C e 7 °C, com produção de colônias ou turvação do meio de cultura entre 7 e 10 dias.

### 2.6.1 Classificação das baixas temperaturas

- Temperaturas frias:** são as encontradas normalmente nos aparelhos domésticos de refrigeração (5 °C – 7 °C), e temperaturas ambientes entre 10°C e 15°C, sendo adequadas para o armazenamento de certos vegetais e frutas.
- Temperaturas de refrigeração:** são as da faixa de 0 °C a 7 °C.
- Temperaturas de congelamento:** são temperaturas a -18°C ou abaixo de -18 °C. Nessas temperaturas, praticamente cessa o crescimento de

todos os microrganismos, com raras exceções que o realizam em velocidade extremamente baixa.

### 2.6.1.1 Refrigeração

A temperatura mínima de crescimento para a maioria dos microrganismos está em torno de 10 °C. Mas, como ao falar em refrigeração geralmente nos referimos a temperaturas inferiores a 10 °C, os mesófilos não representam problema, pois não se desenvolvem nessas temperaturas. Os microrganismos de interesses são, pois, os psicotróficos. Mesmo para estes, no entanto, quanto mais baixa for a temperatura, menor será a sua velocidade de crescimento. Assim, um alimento sofrerá deterioração, aproximadamente, quatro vezes mais rápida a 10 °C e duas vezes mais a 5 °C e 0 °C.

Alguns microrganismos causadores de doenças de origem alimentar são capazes de se desenvolver ou produzir toxinas em temperaturas de refrigeração, mas a maioria não cresce abaixo de 4,4 °C. Exemplos: ***Yersinia enterocolitica***, ***Listeria monocytogenes***, ***Clostridium botulinum* tipo E**, ***Salmonella***.

Outros métodos de conservação de alimentos são frequentemente empregados em conjunto com a refrigeração. O uso de embalagens a vácuo ou com CO<sub>2</sub> para exclusão do oxigênio retarda o desenvolvimento da deterioração microbiana, uma vez que os psicotróficos são principalmente aeróbios. Processos de salga, cura, defumação ou emprego de outros agentes químicos, assim como o tratamento térmico brando, podem inibir ou reduzir o número de microrganismos no alimento refrigerado.

- **Choque frio:** Altera a permeabilidade da membrana celular microbiana, havendo, em consequência, o extravasamento de aminoácidos e nucleotídeos da célula. O choque frio é uma forma direta de causar injúria a células, resultante da redução da temperatura sem o congelamento do substrato.
- **Resfriamento rápido:** tanto frutas e vegetais como leite, ovos e carnes necessitam de refrigeração para prevenir a deterioração.

Os alimentos devem ser refrigerados em porções pequenas, de modo a serem resfriados completamente em um curto período de tempo, evitando dessa forma um maior tempo do alimento à temperatura ideal para o crescimento dos microrganismos.

### 2.6.1.2 Congelamento

Os alimentos são congelados com a finalidade de prolongar sua vida de prateleira em relação àquela conseguida apenas com refrigeração. As temperaturas utilizadas são baixas o suficiente para reduzir ou parar a deterioração causada pelos organismos, enzimas ou agentes químicos como o  $O_2$ .

O congelamento não melhora a qualidade do produto do ponto de vista de contaminação, entretanto tem-se demonstrado que o congelamento provoca a morte de certos microrganismos de importância alimentar. “Ingram” resumiu alguns fatores que acontecem em certos microrganismos quando congelados:

- Alguns microrganismos morrem logo após o congelamento.
- A redução do número de microrganismos é menor quando o congelamento o congelamento se dá a 20 °C do que quando ocorre a 2 °C.

#### Efeitos do congelamento sobre as células

- a) A água contida na célula se congela, reduzindo a atividade de água.
- b) Ocorre perda de gases citoplasmáticos como  $O_2$  e  $CO_2$ . A perda de  $O_2$  em células aeróbias reprime reações respiratórias.
- c) Provoca alteração no pH da matéria celular.
- d) Afeta a concentração de eletrólitos celulares.
- e) Causa alteração geral no estado coloidal do protoplasma celular.
- f) Causa desnaturação das proteínas celulares.
- g) Induz o choque de temperatura em alguns microrganismos, sendo mais característicos para microrganismos termófilos e mesófilos.
- h) Causa danos metabólicos para algumas bactérias.

Faça uma pesquisa a respeito das bactérias psicrófilas e psicrotróficas de interesse na microbiologia de alimentos.



## 2.7 Conservação pelo controle da umidade

As técnicas utilizadas para cada método de controle da umidade serão estudadas na disciplina de “Tecnologia de Alimentos”, razão pela qual apenas citaremos em que consiste cada método. Do ponto de vista da Microbiologia dos Alimentos, estudaremos o fundamento e os microrganismos de interesse na conservação pelo controle da umidade.

O controle da umidade tem como princípio de conservação dos alimentos a redução da atividade de água do alimento.

### 2.7.1 Métodos de controle da umidade

- **Secagem natural** – eliminação da água do alimento por exposição do sol.
- **Desidratação** – temperatura, umidade e correntes de ar cuidadosamente controlados.
- **Instantaneização** – consiste no auxílio da secagem por substâncias dispersantes ou por processo de aglomeração.
- **Concentração ou evaporação** – remoção de parte da água dos alimentos.
- **Liofilização** – processo de desidratação em condições de pressão e temperatura em que a água previamente congelada a  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  passa do estado sólido diretamente para vapor.

Os métodos de controle de umidade muitas vezes estão associados à adição de sal ou açúcar.

### 2.7.2 Ação do sal nos microrganismos

A quantidade usual adicionada pode ser suficiente para retardar ou prevenir o crescimento microbiano.

#### 2.7.2.1 Propriedades do sal

- Aumenta a pressão osmótica causando plasmólise dos germes.
- Reduz a atividade de água.
- Ao ionizar-se libera íons cloro ( $\text{Cl}^-$ ), tóxicos aos germes.
- Reduz a solubilidade e  $\text{O}_2$  na água.
- Interfere na ação proteolítica enzimática.

### 2.7.2.2 Classificação dos microrganismos frente ao NaCl

- Ligeiramente halófilico: 2 – 5% de NaCl. Como exemplos, temos: *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter* e *Flavobacterium*.
- Moderadamente halófilicos: 5 – 20% NaCl. Incluindo bactérias Gram + das famílias *Bacillaceae* e *Micrococcaceae*.
- Extremamente halófilos: 20 – 30% NaCl. Os gêneros *Halobacterium* e *Halococcus* são responsáveis pela deterioração vermelha em carnes e peixes fortemente salgados.
- Halotolerantes – são capazes de crescer em meio isento de sal e com mais de 5% de sal. As famílias *Micrococcaceae* e *Bacillaceae* fazem parte dessa classificação.

Os fungos *Aspergillus*, *Penicillium* e, principalmente, *Sporendomena Expizoum* são importantes deteriorantes de pescados salgados.

As bactérias patogênicas têm crescimento totalmente inibido em concentração acima de 10% de NaCl, com exceção do *S. aureus* que nessa concentração não produz toxina.

Faça uma pesquisa de produtos conservados pelo controle de umidade e tabule os resultados relacionando o produto, a umidade e o tempo de conservação.



## 2.8 Fermentação

O método de fermentação envolve a transformação do alimento através do processo fermentativo e é muito utilizado para a obtenção de vários produtos como queijos maturados, leites fermentados, picles e outros que têm sua vida de prateleira maior que sua matéria-prima de origem.

**Tabela 2.1: Três exemplos de tipos de fermentação**

Tipo	Matéria-prima	Produto	Agente
Alcoólica	Açúcares solúveis	Etanol + CO <sub>2</sub>	<i>S. cerevisiae</i>
Acética	Etanol	Ácido acético	<i>Acetobacter</i>
Lática	Carboidrato	Ácido lático	<i>Lactobacillus</i> e <i>Leuconostoc</i>

A classificação da fermentação se faz em função do material a fermentar, do produto da fermentação e do agente da fermentação.

Na tabela a seguir temos três exemplos de tipos de fermentação.

<b>Tabela 2.2: Os conservadores mais usados e permitidos no Brasil</b>			
<b>Aditivos</b>	<b>Ação</b>	<b>Alimentos que podem ser tolerados</b>	<b>Umidade mg/100g</b>
Ácido Benzoico (Benzoato de sódio)	Conservador – inibe bactérias, leveduras e fungos	Concentrados de frutas para refrigerantes	0,10
		Conservas vegetais (exceto as que sejam submetidas à esterilização)	0,10
		Embalagens de queijo fundido	0,20
		Margarinas	0,10
		Molho	0,10
		Refrigerantes	0,10
Ácido Sórbico (sorbato de sódio, de potássio ou de cálcio)	Conservador – inibe leveduras e fungos	Chocolate	0,10
		Concentrados de frutas	0,10
		Conservas de carne (exclusivamente nos revestimentos dos embutidos)	0,10
		Conservas vegetais (exceto as que sejam submetidas à esterilização)	0,10
		Doces em massa	0,20
		Leite de coco	0,10
		Maioneses	0,10
		Margarinas	0,05
		Produtos de confeitaria	0,20
		Queijos (nos revestimentos)	0,10
Queijo (ralado e em fatias, expostos ao consumo empacotados)	0,10		
Nitrato de sódio	Conservador	Leites para fabricação de queijos	0,05
		Queijos	0,02
Nitrito de sódio ou de potássio isolados ou combinados	Conservador	Conservas de carne: em salmoura	0,24
		Em carne picada ou triturada	0,015
		Em cura seca	0,06

## 2.9 Método de conservação por adição de aditivos químicos

Aditivos ou conservadores são substâncias que impedem ou retardam as alterações dos alimentos provocadas por microrganismos ou enzimas. Veja a Tabela 2 a seguir.



Compre a massa crua para confecção de 2 pães. Em um dos pães adicione sorbato de sódio na proporção permitida pela legislação. Ponha para assar.

Ponha cada um em um saco plástico e deixe-os à temperatura de refrigeração. Após 10 dias observe o resultado.

## 2.10 Outros métodos de conservação

### 2.10.1 Radiação

- Radiações tipo  $\alpha$  e  $\beta$   
Vantagens: esteriliza dentro de qualquer tipo de embalagem sem danificá-la e sem aumentar a temperatura.
- Ultravioleta – é desnaturante proteico.

### 2.10.2 Defumação

É um método de conservação que tem como fundamento o emprego de fumaça para inibir o crescimento microbiano.

O aldeído fórmico formado a partir da queima da madeira tem ação bactericida.

## Resumo

Nesta aula, você estudou como controlar o desenvolvimento microbiano, visando eliminar riscos à saúde do consumidor, bem como prevenir ou retardar o surgimento de alterações indesejáveis nos alimentos, utilizando os métodos de conservação dos alimentos.

## Atividades de aprendizagem

1. Quais as finalidades dos métodos de conservação dos alimentos?
2. Entre o calor úmido e o calor seco, qual o mais eficiente? Por quê?
3. De que depende a eficiência do processo térmico?
4. Diferencie pasteurização de esterilização. Qual o processo mais eficiente? E quando optamos pela pasteurização?
5. A temperatura de pasteurização foi definida em função de quais microrganismos?
6. Que microrganismos podem sobreviver à temperatura de pasteurização?

7. Quais microrganismos são representantes dos termodúricos?
8. Cite os fatores que afetam a termoresistência dos microrganismos.
9. Diferencie microrganismos psicrófilos de psicrotróficos.
10. Quais são os microrganismos que apresentam crescimento a baixa temperatura?
11. Sob a refrigeração é possível multiplicação de patógenos e produção de toxinas? Dê exemplos.
12. Que processos auxiliares podemos utilizar para produtos refrigerados?
13. Diferencie choque frio de resfriamento rápido.
14. Diferencie refrigeração de congelamento.
15. Qual o fundamento do método de conservação por desidratação e/ou secagem?
16. Quais as propriedades do sal?
17. Classifique os microrganismos frente ao NaCl.
18. Qual a concentração de NaCl que inibe o crescimento de patógenos?
19. Qual o comportamento do *S. aureus* frente ao NaCl?
20. O que são aditivos conservadores?
21. Qual a ação dos seguintes aditivos: ácido benzoico, ácido sórbico, nitrato de sódio, nitrito de sódio ou potássio?
22. Cite outros métodos de conservação.

# Aula 3 – Microbiologia do leite e seus derivados

## Objetivos

Estudar os contaminantes do leite durante o processo de ordenha

Estudar os contaminantes do leite cru,

Estudar os tratamentos do leite

Estudar as alterações decorrentes dos contaminantes

Estudar os produtos da fermentação láctica.

## 3.1 Microbiologia do leite

O leite ao ser extraído do animal sadio já contém alguns microrganismos provenientes do corpo do animal que penetram através dos canais galactóforos e saem misturados ao leite durante a ordenha. Ainda no processo natural de ordenha, o leite está exposto à contaminação por microrganismos encontrados no corpo do animal, no esterco, solo e água. Portanto, são necessários tratamentos do leite, para se prolongar as condições saudáveis ao ser humano.

Por ser um alimento rico em nutrientes, como proteínas, carboidratos, lipídeos, vitaminas, sais minerais, é um alimento necessário na vida do ser humano e também um excelente meio para o crescimento de vários grupos de microrganismos desejáveis e indesejáveis. Esses germes contaminantes podem causar defeitos físico-químicos e organolépticos, além de problemas econômicos e de saúde pública, limitando a durabilidade do leite e seus derivados.

## 3.2 Classificação dos microrganismos presentes no leite

Os microrganismos, de acordo com a ação e as correspondentes transformações tecnológicas que provocam no leite e derivados, podem ser classificados em três classes:

- a) Microrganismos benéficos para a indústria de laticínios: já que são necessários para as fermentações, a formação de aromas, bem como para decompor proteínas (necessárias na fabricação de queijos).
- b) Microrganismos prejudiciais para a indústria: provocam transformações indesejáveis aos processos tecnológicos, por exemplo, coagulação do leite, modificação da cor e sabor, decomposição de proteínas etc.
- c) Microrganismos causadores de enfermidades (patógenos): durante o processo de produção, elaboração, transporte, preparação, armazenamento ou distribuição, o leite pode estar sujeito à contaminação por substâncias tóxicas ou por bactérias patogênicas, vírus ou parasitos, capazes de transmitir importantes doenças para o homem.

### 3.3 Origem da flora microbiana

A carga microbiana do leite cru diz muito da sua qualidade. A contaminação do leite usualmente ocorre na fazenda, durante ou após a ordenha, devido à infecção dos animais e do homem e à deficiência de higiene do ambiente e dos utensílios.

O leite ao sair do úbere possui uma flora variável de 500 a 1000 microrganismos/ml, podendo atingir 10000, representada por ***Micrococcus*** e ***Bacillus*** não patogênicos. Deve-se evitar a multiplicação desses microrganismos patogênicos através de sério controle médico veterinário, por inspeção desde a fonte de produção até o beneficiamento do produto e seus derivados.

#### 3.3.1 Flora microbiana do leite

Os microrganismos presentes no leite cru são os mesmos encontrados no úbere do animal, na pele, no ambiente de ordenha e nas tubulações da coleta. Sob boas condições de ordenha (manuseio e conservação), a microbiota do leite é representada principalmente pelos gêneros *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Bacillus* e outros.

É considerada flora normal do leite os microrganismos não patógenos e que estão sempre presentes no leite após a ordenha. Essa flora é classificada em homofermentativa e heterofermentativa, dependendo do número de produtos finais obtidos em decorrência da fermentação. As bactérias que fermentam a lactose dando como produto principal ácido lático e pequena

quantidade de outros produtos como ácido acético, CO<sub>2</sub>, e outras substâncias voláteis são denominados de heterofermentativas.

A seguir temos os representantes homofermentativos e heterofermentativos.

- a) Flora normal homofermentativa: ***Streptococcus cremoris***  
***Streptococcus lactis***  
***Lactobacillus bulgaricus***  
***Lactobacillus acidophilus***
- b) Flora normal heterofermentativa: ***Streptococcus diacetylactis***  
***Streptococcus thermophilus***  
***Leuconostoc dextranicus***  
***Leuconostoc citrovarum***

### 3.4 Produção higiênica do leite

A obtenção de um leite com qualidade higiênica é fator imprescindível, pois é a quantidade inicial de bactérias do leite que vai determinar a sua qualidade. Não é possível evidentemente produzir um leite isento de bactérias, mas é possível produzir um leite com um mínimo de bactérias.

Quando se fala em higiene na produção de leite, deve-se considerar particularmente as sujidades físicas visíveis a olho nu, pois do ponto de vista bacteriológico são essas sujidades as responsáveis pelo início de toda contaminação do leite.

Cada fase da produção tem a sua importância e cuidados devem ser observados em cada uma delas para que se possa obter um leite em condições de ser transformado em produtos derivados de boa qualidade.

Os principais fatores que afetam a qualidade do leite são as instalações de ordenha, o animal que deve estar limpo e sadio, Os utensílios que deverão ser rigorosamente lavados e o tipo de ordenha ( manual ou mecânica).

### 3.5 Tratamento do leite

O detalhamento das etapas de tratamento do leite você verá na disciplina de Tecnologia do Leite. Nesta aula, citaremos apenas as etapas de importância microbiológica.

- a) **Filtração** – a filtração do leite tem como objetivo eliminar os detritos e impurezas que venham por ventura a cair no leite, na ocasião da ordenha.
- b) **Resfriamento** – a temperatura do leite na ocasião da ordenha (35°C) é bastante favorável à multiplicação da flora microbiana. O resfriamento do leite consiste em uma medida bastante eficaz no que diz respeito à contenção da acidificação do mesmo. Após a ordenha, o leite deve ser resfriado a uma temperatura de 3°C a 5°C.
- c) **Pasteurização do leite** – a pasteurização objetiva a obtenção de um leite livre de germes patogênicos e da maioria dos que podem causar sua alteração, mantendo suas características nutritivas praticamente inalteradas. O processo de pasteurização reduz a digestibilidade do leite em apenas 95% a 93% (Montes), sendo destruídas as bactérias patogênicas, particularmente a *Micobacterium tuberculosis* e *Coxiella burnetti*, as quais foram usadas como referência para definição de temperatura de pasteurização do leite. As temperaturas de pasteurização do leite são suficientes para destruir também todas as leveduras, fungos filamentosos, bactérias gram-negativas, e muitas das gram-positivas, sobrevivendo, entretanto, as termodúricas. Os microrganismos não esporulados que resistem à pasteurização do leite são geralmente dos gêneros *Streptococcus* e *Lactobacillus*. Os gêneros *Bacillus* e *Clostridium* contêm os termófilos de maior importância em alimentos (Jay).

### 3.5.1 Tipos de pasteurização

- a) **Rápida**: consiste no aquecimento do leite a 72°C a 73°C, e manutenção dessa temperatura por 15 segundos, seguido de resfriamento brusco a 32°C ou 5°C.
- b) **Lenta**: consiste no aquecimento do leite a 65°C e manutenção dessa temperatura por 30 minutos, seguido de resfriamento a 32°C. A maior parte dos microrganismos produtores de acidez morre na pasteurização, entretanto os termoestáveis que sobrevivem não se desenvolvem se o leite é conservado sob refrigeração a temperaturas entre 5°C a 10°C.

A eficácia da pasteurização está na dependência do número inicial de bactérias existentes no leite cru e do tipo de bactérias contaminantes, visto que as esporuladas e termodúricas resistem a temperaturas de pasteurização. Se o número de bactérias for muito elevado, estima-se que 5% da população total sobreviverá ao processo de pasteurização. Por exemplo, se o número

inicial for de 5000000/ml, 5% significa 250000 microrganismos sobreviventes/ml que em condições favoráveis rapidamente se multiplicam (Montes).

### 3.5.2 Classificação do leite pasteurizado

O leite é classificado em tipo "A", "B" e "C" em função da carga microbiana e dos cuidados higiênicos, tipo de ordenha e beneficiamento. O leite tipo "C" é proveniente de ordenha manual. O tipo "B" e "A", de ordenha mecânica. Para o leite ser classificado como tipo "A", a pasteurização é realizada na própria fazenda.

**Quadro 3.1: Quantidade de microrganismos em 1cm<sup>3</sup> de leite**

Leite	Após ordenha	Após pasteurização
A	10.000	500
B	500.000	40.000
C	-	150.000

**Esterilização:** visa a eliminação total dos microrganismos encontrados no leite, tanto nas formas vegetativas quanto esporuladas.

### 3.6 Alterações microbiológicas no leite

Sabores e odores estranhos: tanto o odor como os sabores do leite são delicados e facilmente alteráveis. O aparecimento de sabores e de odores estranhos no leite e derivados é decorrente da multiplicação de microrganismos que resistiram ao processo de pasteurização ou de microrganismos que contaminaram o produto depois do processo térmico.

O sabor e odor ácidos são devidos a reações de fermentação de açúcares por bactérias presentes nesses produtos, como por exemplo, a fermentação láctica e a fermentação butírica.

O sabor amargo é decorrente da presença de peptídeos devido à proteólise, enquanto que o sabor e o aroma de ranço são devidos à oxidação ou hidrólise da gordura do leite e derivados.

Aroma de caramelo ou queimado, semelhante ao de leite cozido, pode ser provocado por cepas de *Lactobacillus lactis var. maltigenes*.

Odor de estábulo é causado pelo desenvolvimento de *Enterobacter*, o de batata por *Pseudomonas mucidolens* e o de peixe por *Aeromonas hydrophila*.

- a) **Alterações de cor:** a cor do leite ou de seu creme está diretamente relacionada às suas características físicas e composição química. As alterações de cor podem ser devidas a outras reações químicas ocorridas anteriormente ao processo ou ao crescimento de microrganismos produtores de pigmentos. Entre as cores que podem aparecer no leite, podem ser citadas:
- Azul - crescimento de *Pseudomonas syncyanea*.
  - Amarela - *P. syncyanea* pode causar essa cor na porção cremosa, concomitantemente à lipólise e proteólise. O gênero *Flavobacterium* também produz pigmento amarelo.
  - Vermelha - *Serratia marcescens* e *Micrococcus roseus*, além de algumas leveduras, ao crescerem, produzem colônias vermelhas ou rosas na superfície do leite ou do creme.
- b) **Rancidez:** as bactérias, através de suas enzimas lipolíticas atuam sobre as gorduras hidrolisando-as e/ou oxidando-as. Alguns dos produtos dessas reações são cetonas, aldeídos e ácidos, no caso de oxidação, e ácidos graxos e glicerol, no caso da hidrólise. Estes compostos são responsáveis pelo odor e sabor característico da rancificação. Os gêneros responsáveis são: *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Proteus*, *Clostridium*, além de bolores e leveduras.
- c) **Alterações da viscosidade:** esse tipo de alteração ocorre ao leite. O material capsular das células bacterianas apresenta, geralmente, aspecto mucilaginoso, sendo que a sua produção é mais intensa em baixas temperaturas. O aumento da viscosidade pode se dar na superfície do leite, devido ao crescimento de *Alcaligenes viscolatis*, ou então dispersa por todo interior do líquido, devido ao desenvolvimento de *Enterobacter spp*, *Klebsiella oxytoca*, *Lactobacillus spp* e *Lactococcus lactis*.
- d) **Produção de gás:** esse defeito normalmente é acompanhado pela acidificação do leite e derivados. As principais bactérias produtoras de gás são os coliformes, *Clostridium spp*, algumas espécies do gênero *Bacillus* com produção de CO<sub>2</sub>.

No leite em estado líquido, a produção de gás é visualizada pela formação de espumas na superfície. No leite cru, os principais causadores desse problema são as bactérias do grupo dos coliformes, enquanto que no pasteurizado, são as espécies de **Bacillus** e **Clostridium**. Em queijos, os responsáveis são as bactérias propiônicas e no leite condensado, as leveduras fermentadoras de sacarose.

Ponha 200ml de leite pasteurizado em dois copos de vidro, limpos e estéreis, cobertos com filme plástico. Um deles deixe à temperatura ambiente, o outro ponha na geladeira. Proceda da mesma forma com leite esterilizado. Faça as observações das alterações encontradas após 24h e após 48h.



### 3.7 Leites e queijos Fermentados

Os produtos fermentados necessitam de uma cultura *starter* apropriada para sua fabricação, para conferir ao produto a fermentação láctica necessária, bem como sabor e aroma característicos do produto.

Os leites e queijos fermentados têm uma característica em comum: são todos preparados pela multiplicação de bactérias lácticas em uma variedade apropriada do leite. O ácido láctico coagula ou espessa o leite e lhe confere um sabor ácido. Os sabores característicos dos diferentes leites e queijos fermentados são devidos a vários fatores, como a composição do leite, a temperatura de pasteurização, as espécies bacterianas inoculadas e a temperatura de incubação.

A fermentação láctica protege o leite contra a decomposição durante algum tempo e impede o crescimento das bactérias patogênicas.

A seguir confira mais detalhadamente os microrganismos que compõem a cultura *starter* do iogurte e alguns produtos lácteos fermentados.



Figura 3.1: Queijos fermentados

### 3.7.1 Iogurte

Iogurte é o produto resultante da fermentação láctica de leite integral ou desnatado concentrado ou não pelo emprego da cultura láctica selecionada de *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* em cultura associada.

#### 3.7.1.1 Organismos do iogurte

*Lactobacillus delbrueckii* subspécie *bulgaricus* – é um bastonete delgado, imóvel, Gram+, mostrando-se às vezes gram-negativo quando a cultura é velha, apresenta temperatura mínima de desenvolvimento de 22°C e ótima de 45°C a 50°C. Em cultura pura, coagula o leite de 6 a 8h, produzindo acidez bastante elevada, chegando a 2% de ácido láctico (200°D).

*Streptococcus thermophilus* – é um coco com formato de esférico a ovoides, gram positivo, encontrado sob a forma de cadeias de células em número que varia de 2 a inúmeras. Apresenta temperatura de desenvolvimento de 20°C a 50°C, sendo considerada ótima de 40°C a 45°C. Em cultura pura, coagula o leite de 6 a 8h, produzindo a acidez máxima em torno de 1% de ácido láctico (100°D). Na presença dos *lactobacillus*, os cocos crescem mais rápido que os bastonetes, produzindo uma quantidade maior de ácido do que se estivessem sozinhos.

Preparo da cultura e do iogurte:

- a) Deve-se preparar em paralelo à fabricação, uma cultura em condições especiais, a fim de que sempre se possa partir de uma cultura pura preparada para o devido fim.
- b) O leite utilizado para fabricação do iogurte deve preencher as seguintes condições:
  - acidez inferior a 20°D;
  - aroma e sabor normais;
  - alto teor de sólidos;
  - ausência de substâncias inibidoras de fermentação láctica;
  - ausência de microrganismos patogênicos;
  - teor de gordura padronizado.

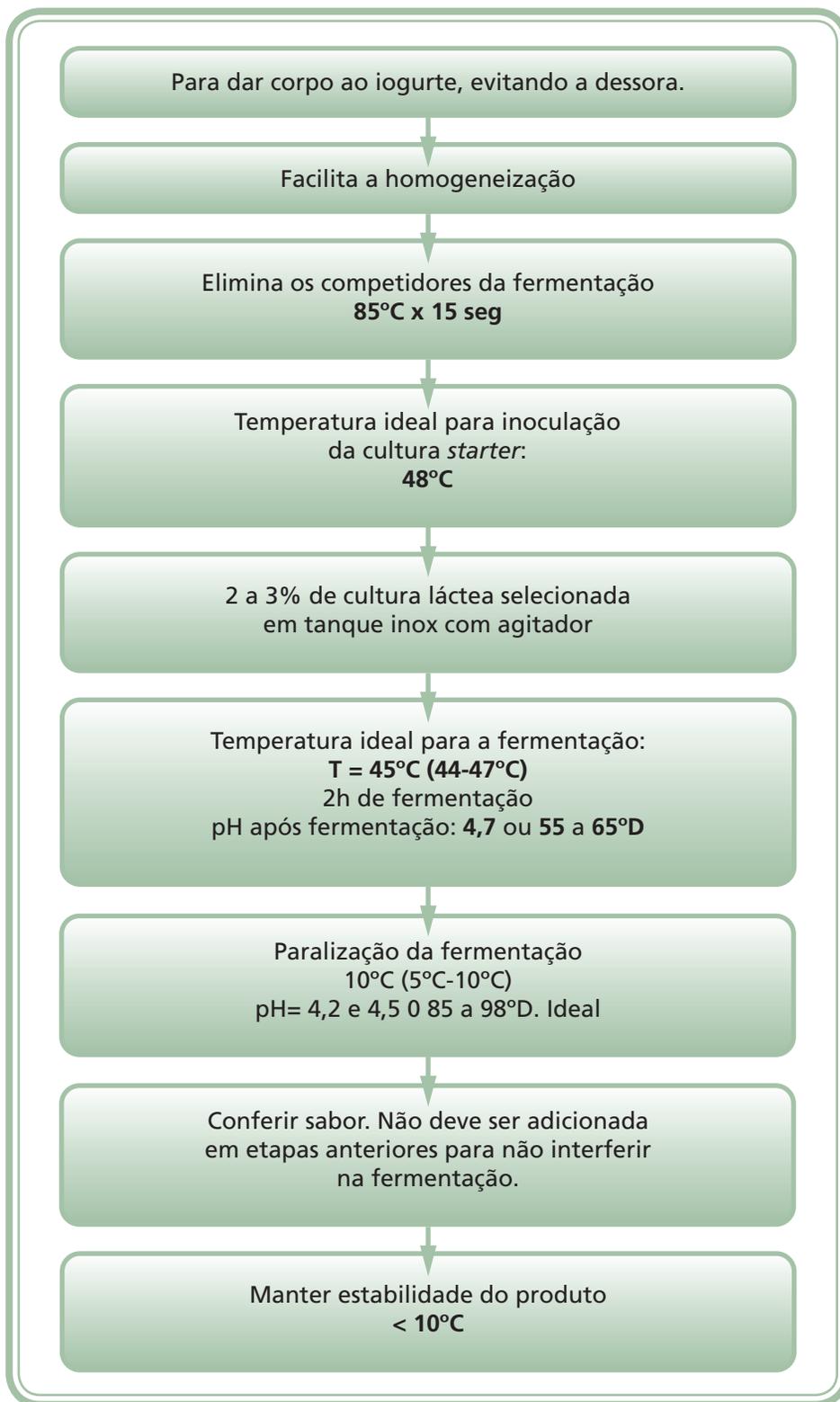


Figura 3.2: Fluxograma de processamento do iogurte

Defeitos do iogurte devido ao desequilíbrio da cultura:

- pouca resistência de coalhada;
- perda de sabor e odor típico;
- demora para coagular.

Esses efeitos são mais problemáticos quando o ***Streptococcus*** é organismo dominante.

**Tabela 3.1: Alguns produtos fermentados**

Alimentos e produtos	Matéria-prima	Organismos Fermentadores	Local de Produção
Buttermilk búlgaro iogurte <sup>1</sup>	Leite, sólidos do leite	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>S. thermophilus</i>	Balcãs Todo o mundo
Kefir	Leite	<i>Lactococcus lactis</i> , <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , " <i>Torula</i> " ssp.	Sudoeste Asiático
Kumiss	Leite cru de égua	<i>Lactobacillus leichmannii</i> , <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , " <i>Tortula</i> " ssp.	Rússia
Leite acidificado	Leite	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Vários países
Queijos (maturados)	Leite coalhado	Culturas <i>starter</i> lácticas	Todo o mundo
Taette	Leite	<i>S. lactis</i> var. <i>taette</i>	Península Escandinava
Tarhana*	Farinha de trigo e iogurte	Lácticos	Turquia

\* Similar ao *kishk* na Síria e ao *kushuk* no Irã.

<sup>1</sup> Também considerados iogurtes (*matzoon* na Armênia; *leben* no Egito; *naia* na Búlgaria; *aiodd* na Itália; *dadhi* na Índia).

Fonte: Jay (2005, p. 141).



Com os conhecimentos adquiridos nesta aula, produza um iogurte caseiro a partir do leite pasteurizado.

## Resumo

Nesta aula, você estudou os contaminantes do leite durante o processo de ordenha e do leite cru, o tratamento do leite, as alterações decorrentes dos contaminantes e os produtos da fermentação láctica.

## Atividades de aprendizagem

1. De onde provêm os primeiros microrganismos que contaminam o leite?
2. Que problemas os microrganismos podem causar ao leite?
3. Quais os efeitos benéficos dos microrganismos para a indústria de laticínios?
4. Qual a variação do número de UFC/ml de leite ao sair do útero da vaca?
5. Como se divide a flora microbiana do leite?
6. Quais os representantes dessa flora?
7. Com que fatores devemos nos preocupar para a produção higiênica do leite?
8. Quais as etapas do beneficiamento (tratamento do leite)?
9. Qual a finalidade de cada etapa?
10. Como deve ser feito o resfriamento do leite?
11. Qual o objetivo da pasteurização do leite?
12. Que microrganismos podem sobreviver à temperatura de pasteurização do leite?
13. Quais os tipos de pasteurização?
14. Qual, dentre os tipos de pasteurização, é mais eficiente do ponto de vista microbiológico?
15. Do que depende a eficiência da pasteurização?
16. Por que o leite pasteurizado deve ser mantido sobre refrigeração e comercializado rapidamente?
17. Em que se baseia a classificação do leite em "A", "B" e "C"?

18. O que visa a esterilização do leite?
19. Quais os tipos de alterações que podem ocorrer no leite?
20. O que é uma cultura *starter*?
21. O que é iogurte?
22. Que tipo de fermentação ocorre no leite para produção de iogurte?
23. Quais os microrganismos envolvidos na produção de iogurte?
24. Quais as temperaturas ideais de crescimento dos microrganismos do iogurte?
25. Qual a vantagem de se utilizar a cultura mista para a produção do iogurte?
26. Quais as características necessárias ao leite para a produção de iogurte?
27. Por que o leite deve ser pasteurizado para a produção de iogurte?
28. Qual a importância de só se adicionar açúcar ou frutas após a fermentação do leite?
29. Por que o iogurte deve ser resfriado após a fermentação ideal e deve ser mantido sob refrigeração?
30. Qual a temperatura ideal para armazenamento do iogurte?
31. Quais os defeitos que podem apresentar o iogurte?
32. Quais os outros produtos obtidos a partir da fermentação láctica?

# Aula 4 – Alterações microbiológicas do pescado

## Objetivos

Estudar a microflora contaminante do pescado.

Estudar as alterações decorrentes da ação dos microrganismos.

## 4.1 Qualidade microbiológica do pescado

Do ponto de vista microbiológico, considera-se que a carne do pescado está livre de bactérias, e que em estado natural somente se encontram microrganismos na pele, brânquias e intestinos e carapaças. Essa flora microbiana é oriunda das águas onde vivem os pescados, uma vez que estão imersos em um mundo de microrganismos. Estes microrganismos existem dentro do corpo ou sobre ele quantitativa e qualitativamente em equilíbrio biológico. Sua permanência pode ser contínua ou passageira, e produzem variações segundo a espécie do animal, habitat, estação do ano e fase do ciclo de reprodução. Podemos citar os microrganismos mais encontrados nos pescados frescos, tanto em água salgada quanto em água doce. Além da água, os microrganismos são adquiridos nas várias etapas de processamento, como descasque e escamação, evisceração, filetagem e outros.

## 4.2 Gêneros de bactérias, leveduras e fungos predominantes em pescados frescos

Os gêneros abaixo citados podem variar de acordo com os fatores acima mencionados.

*Alcaligenes, Aeromonas, Acinetobacter, Bacillus, Corynebacterium, Enterobacter, Enterococcus, Clostridium, Escherichia, Flavobacterium, Lactobacillus, Listeria, Pseudomonas, Photobacterium, Vibrio, Shewanella; Candida, Cryptococcus, Rhodotorula, Aspergillus, Aureobasidium (Pullularia), Penicilium, outros.*

### **4.3 Fatores que influenciam no tipo e velocidade da deterioração**

Ao examinar o pescado alterado, a flora que se encontra se compõe de bacilos Gram-negativos dos gêneros, *Pseudomonas* e *Achromobacter*. Muitas das bactérias produtoras de alterações no pescado são capazes de crescer satisfatoriamente entre 0 e -1 °C a -5 °C (*Pseudomonas* são capazes de produzir alterações a -3 °C).

As alterações no peixe de água doce e salgada se processam do mesmo modo, com as diferenças relativas à flora de água salgada dos mares e a composição química dos diversos peixes e, principalmente pela capacidade que têm de utilizar, para o seu desenvolvimento, substâncias nitrogenadas não-proteicas. As alterações no pescado são decorrentes especialmente do tipo de pescado, das condições que se encontra o pescado capturado, tais como esgotamento físico durante a captura, falta de oxigênio, manipulação excessiva e conteúdo gástrico; tipo e grau de contaminação bacteriana muscular e temperatura (quanto mais baixa a temperatura, maior a conservação).

### **4.4 Sinais de alterações do pescado**

As modificações ou alterações do pescado para a subsequente utilização para o consumo é lenta e gradual e de difícil identificação. Desde muito se tem buscado um sistema prático de determinar a qualidade do pescado.

Muitos pesquisadores são favoráveis a utilização de um método baseado na produção de trimetilamina nos pescados procedentes do mar, outros preferem outras provas bioquímicas, tais como determinação de ácido voláteis, etc.

#### **4.4.1 Sinais de alterações que devem ser observados ao se adquirir o pescado**

**Peixes:**

- Modificação do aspecto pálido brilhante para pardo/amarelo fosco;
- Aumento da viscosidade da superfície da pele ou escamas especialmente nas guelras;
- Guelras de cor rosa e, finalmente, amarelada;
- Musculatura flácida, sem resistir à pressão;

- Espinha dorsal pode separar-se do músculo com facilidade;
- Todo corpo muda de coloração para pardo arroxeado, como consequência da oxidação da hemoglobina;
- Modificação de odor de peixe fresco para amoniacal e finalmente pútrido, devido ao indol, ácido sulfuroso e outras substâncias de odores desagradáveis;
- Os pescados gordos podem apresentar odor rançoso.

#### **Camarões e lagostas:**

- Cabeça facilmente destacável,
- Carapaça se solta facilmente;
- Odor alterado.

### **4.4.2 Bactérias que alteram o pescado**

As primeiras alterações são produzidas principalmente por espécies psicrófilas (*Pseudomonas*, *Achromobacter*), depois agem espécies de *Flavobacterium*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Leuconostoc*, *Proteus* e leveduras. Muitas vezes o pescado tem odor de mofo ou lama, que é atribuído à *Streptomyces*.

Imediatamente após a captura, a microbiota apresenta-se restrita apenas ao muco superficial, guelras e trato intestinal, com a virtual ausência de microrganismos no tecido muscular do pescado. A intensidade de contaminação é variável em função de fatores ambientais como temperatura das águas e intensidade de poluição, bem como em função das vísceras estarem ou não repletas de alimentos.

O crescimento bacteriano no pescado após a sua captura e ao longo do armazenamento sob refrigeração é, indubitavelmente, o principal responsável pela deterioração. A penetração microbiana nos músculos a partir das vísceras ou guelras ocorre com intensidades diferentes, dependendo fundamentalmente das condições de temperatura e umidade durante o armazenamento, ou seja, quanto mais elevada a temperatura e a umidade, mais rápida será a penetração e deterioração. No entanto, nas condições

usuais de armazenamento , sob refrigeração, as alterações organolépticas e químicas que levam à rejeição do produto são fundamentalmente restritas ao ataque às substâncias nitrogenadas não-proteicas presentes no tegumento e no muco superficial; já em pescados mantidos a temperaturas mais elevadas a penetração bacteriana será intensa e o tecido muscular será atacado pelos microrganismos.

Após a morte do pescado, as reações enzimáticas que ocorrem nos tecidos irão permitir a produção de substâncias como aminoácidos, inosina, ribose, creatina, ureia, óxido de trimetilamina e outros, que, em conjunto, constituem as substâncias nitrogenadas não-proteicas. Essas substâncias são utilizadas preferencialmente pelas bactérias, havendo gradativamente acúmulo de produtos resultantes do metabolismo bacteriano e que irão influir decisivamente na aceitação ou rejeição do pescado como alimento.

## 4.5 Avaliação do frescor do peixe

Na avaliação do frescor e da qualidade do pescado são utilizados vários métodos, dos quais os mais utilizados são:

- **Testes organolépticos** baseados no exame externo do pescado, envolvendo aspectos como brilho, transparência dos olhos, coloração própria do pescado, sem viscosidade e aroma característico de peixe ou maresia, guelras vermelhas e sem muco, tecidos resistentes à pressão dos dedos, víceras intactas.
- **Testes físicos** envolvendo, entre outras, determinações do pH dos tecidos, índice de refração do fluido ocular, textura do tecido muscular, perda de água dos tecidos etc.
- **Testes químicos** em que se procura quantificar a formação de compostos de degradação, resultantes do desenvolvimento bacteriano ou de processos autolíticos ou oxidativos não necessariamente provocados pelos microrganismos. Ex: Bases voláteis, tais como óxido de dimetilamina, trimetilamina, amônia.



Com os conhecimentos adquiridos nesta aula, vá ao mercado e procure identificar os sinais de alterações do pescado.

## Resumo

Nesta aula, você estudou a microflora contaminante do pescado e as alterações decorrentes da ação desses microrganismos.

## Atividades de aprendizagem

1. Onde se encontram os microrganismos no pescado?
2. Quais os principais gêneros de bactérias responsáveis pela deterioração do pescado?
3. Quais os fatores que influenciam no tipo e velocidade de deterioração do pescado?
4. Quais os sinais de alteração do pescado?
5. De que depende a intensidade de contaminação do pescado?
6. Que tipo de substâncias nitrogenadas e não-proteicas são introduzidas após a morte do pescado?
7. Que testes podem ser usados para avaliação do frescor do peixe?



# Aula 5 – Microbiologia da carne

## Objetivos

Determinar as fontes de contaminação da carne.

Identificar as medidas de controle da carne.

Definir os sintomas de alterações da carne.

## 5.1 Fontes de Contaminação

Os diversos microrganismos que alteram a carne chegam a ela pela infecção do animal vivo (contaminação endógena) ou pela invasão *post mortem* (contaminação exógena). Ambas são altamente prejudiciais, mas as alterações por contaminações exógenas são as mais frequentes e não raras vezes acarretam graves enfermidades aos consumidores. Vamos entendê-las.

### 5.1.1 Contaminação endógena

Antes de considerarmos as enfermidades adquiridas pelo homem através do consumo de carnes procedentes de animais contaminados, faremos referência às transmitidas pelo contato. Entre elas, encontramos o antraz, a tuberculose bovina e a brucelose. Além destas, o homem adquire outras enfermidades ao consumir carnes de animais infectados ainda vivos. São contaminações causadas por bactérias e parasitas. A principal enfermidade de natureza bacteriana é a produzida pela **Salmonella**. Adquire-se comumente pelo consumo de carne insuficientemente cozida. A infecção do animal bovino ou ovino pela **Salmonella typhimurium** ocorre geralmente na granja. Nos próprios matadores, quando os animais ainda vivos aguardam o abate, também são contaminados pelos portadores de salmonelose.

### 5.1.2 Contaminação exógena

Embora as contaminações ocorram principalmente após a morte do animal, abordaremos principalmente o estado do sangue do animal no período que precede o abate e durante o mesmo. No intestino grosso do animal vivo, podem existir cerca de  $33 \times 10^{12}$  bactérias viáveis. A invasão dos diferentes

tecidos e órgãos corporais por estas bactérias via corrente sanguínea é impedida pela membrana mucosa do trato digestivo, pelos anticorpos que aglutinam as bactérias e pelas células do retículo endotelial que fagocitam as bactérias. Uma vez que existe um equilíbrio entre a invasão e a destruição dos organismos invasores, os tecidos dos animais adultos saudáveis normalmente se acham isentos de bactérias.

Tudo indica que o sistema retículo endotelial de determinadas espécies de animais é mais eficiente que em outras. A carne de certos animais se conserva melhor em temperatura ambiente do que a de outros. A atividade fagocitária e o conteúdo de gamaglobulina sofrem variações mediante diferentes razões.

Existem, ainda, as possibilidades de contaminação em vida, já muito conhecidas como condições predisponentes da invasão sanguínea por microrganismos intestinais: a fadiga e o stress dos animais, o jejum prolongado e, inclusive, a ingestão de alimentos. Para tanto, contribuem a prática generalizada de fazer os animais jejuarem por 24h antes do sacrifício e a conservação deficiente da carne de animais cansados, para o que, neste último caso, contribui o pH elevado.

### **5.1.2.1 Fontes potenciais de contaminação nos matadouros**

- As peles e pelos dos animais impregnados de sujidades e fezes, que podem carrear milhões de bactérias aeróbias e anaeróbias;
- Ar e poeira;
- A água utilizada na lavagem da carcaça, dos equipamentos, dos utensílios (facas, serras e ganchos) e dos vários recipientes usados;
- A mão de obra utilizada.



Merece referência especial a contaminação por conteúdo gastrointestinal em virtude da flora específica.

A carne está exposta a contaminações em todas as fases, particularmente nas operações em que é mais manipulada e sempre que não são tomados cuidados especiais, como o condicionamento da atmosfera em volta dela.

## 5.2 Medidas de controle

O controle de microrganismos que alteram a carne fresca relaciona-se basicamente com as medidas de higiene, iniciando-se nos cuidados antes da morte dos animais. Os animais destinados ao abate devem estar descansados, hidratados e em jejum ajustado à espécie. Os cuidados devem prosseguir na higiene dos currais, nos banhos de aspersão, no atordoamento, sangria, esfolagem, oclusões, evisceração, toailete e demais operações decorrentes na sala de matança. Tão rapidamente quanto possível, as meias-carcaças devem ser levadas à refrigeração onde, através do uso de técnica especial, deve ocorrer a perda do calor sensível até a queda da temperatura até um nível que suporte, sem maiores contaminações, os fenômenos presentes na transformação do músculo em carne.

As contaminações são reduzidas durante o processo de obtenção das carcaças através de cuidados antes, durante e após a morte. Tais técnicas constituem-se de: maior atenção aos detalhes de construção, favorecendo a limpeza e desinfecção de currais; da supressão do banho de imersão e instituição de chuveiro de aspersão com drenagem constante; de cautela com o chamado “vômito”; da esfolagem aérea e, muito particularmente, das técnicas de oclusão do reto, dos intestinos e do esôfago; da higienização das mesas rolantes de evisceração e da supressão de panos e escovas na toailete das carcaças. Dá-se ênfase especial à prática de oclusões, considerando-se os intestinos como ponderável fonte de contaminação por enterobactérias. Neste caso, a técnica de evisceração numa única etapa será obrigatória, em virtude de sua comprovada eficiência.

Cuidados higiênicos com o manipulador e constante vigilância das suas condições de saúde e da existência de portadores assintomáticos são medidas importantes.

É indispensável tecer algumas considerações a propósito da contaminação cruzada. Este conceito abrange todas as operações da indústria de alimentos, onde não se permite que o produto acabado tenha qualquer forma de contato com a matéria-prima ou com o produto em processamento. O conceito se aplica ao pessoal, ao ponto de não se admitir que os operadores das zonas consideradas “limpas” trabalhem nas zonas chamadas “sujas”. Emprega-se o mesmo critério ao pessoal encarregado de reparos no equipamento e instalações, reparos estes complementados por limpeza e sanitização.



Para saber mais sobre limpeza e sanitização, retome a disciplina de Microbiologia Básica.

## 5.3 Sintomas de alterações da carne

Ao satisfazer as necessidades nutritivas, os microrganismos modificam a carne. Nem todas as modificações são prejudiciais; algumas, inclusive, são favoráveis, mas a maioria altera a carne.

Normalmente não ocorrem alterações devidas somente a uma espécie microbiana, nem ocorrência de casos fatais são frequentes. Entretanto, a higiene profilática deve ser observada com rigor absoluto.

Os tipos mais comuns de deterioração de carnes podem ser classificados de acordo com a atmosfera que envolve os produtos e se são provocados por bactérias, bolores ou leveduras. A temperatura é outro fator de importância que influenciará o tipo de deterioração. Assim, a carne refrigerada será deteriorada por microrganismos que crescem nessas temperaturas, incluindo muitos daqueles capazes de produzir limosidade superficial, alterações na cor e pontos de crescimento superficial. Por outro lado, os microrganismos putrefativos requerem temperaturas mais elevadas. Observe as alterações a seguir:

- **Limosidade superficial**

Os gêneros de microrganismos responsáveis por essa deterioração estão relacionados com a temperatura de armazenamento e com a quantidade de água disponível. Um exemplo disso é o desenvolvimento de microrganismos do grupo *Pseudomonas* e *Alcaligenes* em alimentos com alta atividade de água mantidos em temperatura de refrigeração. Nos alimentos com menor atividade de água, como salsichas e linguiças, os causadores dessa alteração serão os Micrococos e as leveduras, e nos alimentos com baixa atividade de água, serão os bolores.

- **Alterações na cor**

Os pigmentos presentes na carne são constituídos, principalmente, por duas proteínas: a hemoglobina, que é o pigmento do sangue, e a mioglobina, que é o pigmento dos músculos. A porção heme do pigmento é importante na determinação da cor da carne. Os pigmentos da carne podem reagir com diversos substratos resultando em alterações na sua cor.

A cor vermelha da carne pode adquirir tons de verde, marrom ou cinza, devido à produção, por bactérias, de  $H_2S$  e compostos oxidantes, como peróxidos, por exemplo.

Em carnes vermelhas processadas podem ocorrer dois tipos de esverdeamento, sendo um causado pelo  $H_2O_2$  e outro pelo  $H_2S$ , que ocorre em alguns tipos de salsichas e carnes curadas. O esverdeamento também ocorre em decorrência de microrganismos no centro do produto. Apesar de o *Lactobacillus viridescens* ser o microrganismo mais comum nesse tipo de esverdeamento, outros também podem estar envolvidos, como *Leuconostocs*, *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis*.

- **Rancificação**

Os principais microrganismos lipolíticos causadores da deterioração de gorduras na carne são as *Pseudomonas* e outros Gram-negativos, *Bacillus*, leveduras e bolores. Esses mesmos são ativos na degradação oxidativa de ácidos graxos. Os ácidos graxos livres liberados pela hidrólise das gorduras são inibitórios para uma grande variedade de microrganismos. Tem sido observado que a população microbiana total de um produto cárneo rancificado tende a diminuir conforme a rancificação se desenvolve. Através da hidrólise da gordura há liberação de ácidos graxos, que também podem ser responsáveis por sabor e odor estranhos.

Faça uma tabela contendo os microrganismos que produzem alterações de limosidade, cor e rancificação da carne.



## Resumo

Nesta aula você estudou as fontes de contaminação da carne, as medidas de controle e os sintomas de alterações.

## Atividades de aprendizagem

1. De que depende a higiene da carne?
2. Quais os fatores que influenciam na proliferação microbiana da carne?
3. Quais as fontes de contaminação de carne?
4. Que prejuízos podem advir da contaminação da carne?

5. O que caracteriza uma contaminação endógena e exógena?
6. Quais as medidas de controle?
7. Quais as características organolépticas das alterações microbianas na carne?
8. Quais os principais microrganismos envolvidos na formação do limo?
9. Quais os microrganismos envolvidos nas alterações da cor carne?
10. Quais os microrganismos envolvidos na rancificação da carne?

# Aula 6 – Contaminação e alterações de hortaliças e frutas

## Objetivos

Estudar os principais tipos de contaminações microbianas em hortaliças e frutas.

Estudar os principais tipos de alterações microbianas em hortaliças e frutas.

## 6.1 Cuidados na pré-colheita

As boas práticas agrícolas são indispensáveis para a obtenção de uma matéria-prima de qualidade, principalmente do ponto de vista das contaminações por produtos químicos e de natureza microbiológica. As principais fontes de contaminação microbiológica são o uso inadequado de esterco não curtido na adubação, a água de irrigação contaminada e as mãos de manipuladores não adequadamente lavadas e limpas.

## 6.2 Cuidados na pós-colheita

A contaminação biológica pode ocorrer facilmente durante a etapa da colheita quando o trabalhador entra em contato direto com o produto. Além disso, o ambiente físico do produto é difícil de ser controlado e oferece muitas fontes de contaminação potenciais, tais como o solo, a água, o ar, as mãos, os recipientes etc. Portanto, a integridade da mercadoria é crítica, já que muitos dos nutrientes necessários para o desenvolvimento de patógenos são as porções internas dos produtos, que se tornam acessíveis através dos danos físicos. Neste caso, as condições de higiene na colheita são muito importantes. Os produtos danificados ou deteriorados devem ser retirados e não devem ser enviados para o mercado.

### 6.3 Espécies de microrganismos presentes nas frutas e hortaliças

As frutas e hortaliças são normalmente contaminadas com microrganismos em sua superfície, sendo as espécies microbianas e a quantidade presente em função do tipo de produto e do manejo e práticas agrícolas as quais a cultura foi submetida durante seu desenvolvimento. Como exemplos, podem-se citar as contaminações provenientes do uso de água contaminada na irrigação e da utilização de esterco não curtido, que pode ser fonte de contaminação por *Salmonella*. Portanto, para se obter eficiência e eficácia nos processos de desinfecção, é fundamental obter matérias-primas com baixo nível de contaminação, uma vez que os agentes desinfectantes têm uma limitada taxa de destruição, reduzindo em torno de 100 vezes a contaminação microbiana inicial.

### 6.4 Tipos de microbiota natural encontrados nos produtos frescos

Os principais tipos de microbiota natural encontrados nos produtos frescos são: *Pseudomonas*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, coliformes e bactérias lácticas. As frutas e hortaliças também podem ser importante veículo de transmissão de parasitas intestinais, incluem-se aí os protozoários patogênicos *Cryptosporidium ssp.*, algumas amebas como a *Entamoeba histolytica* e *Giardia SSP* e vírus como o da hepatite A.

### 6.5 Principais microrganismos causadores da deterioração pós-colheita

A deterioração em frutas e hortaliças no período pós-colheita pode ser ocasionado por fungos e bactérias. As perdas mais importantes são as ocasionadas pelos fungos dos gêneros *Alternaria*, *Botrytis*, *Diplodia*, *Monilinia*, *Penicillium*, *Phomopsis*, *Rhizopus* e *Sclerotinia*; pelas bactérias *Erwinia* e *Pseudomonas*. A maior parte desses microrganismos são pouco patogênicos. A relação entre o hospedeiro (frutas e hortaliças) e o agente patógeno são com frequência razoavelmente específica, por exemplo, o *Penicillium digitatum* altera apenas frutas cítricas e o *Penicillium expansum* apenas peras e maçãs, mas não os cítricos. No Quadro 1, podem ser observados alguns exemplos das principais enfermidades que podem aparecer em frutas e hortaliças. Frequentemente, o ataque inicial acontece rapidamente e é

seguido de todo um conjunto de patógenos mais fracos que aumentam o dano causado pelos patógenos primários.

**Quadro 6.1: Exemplos das principais alterações e microrganismos que podem surgir em frutas e hortaliças**

Produtos	Alterações	Microrganismos
Maçãs	Podridão do fruto Mofo azul	<i>Phylctaeana vagabunda</i> Desm. <i>Penicillium expansum</i> Thom
Banana	Podridão da concha inteira Antracnoses	<i>Fusarium roseum</i> , <i>Colletotrichum musae</i> <i>Colletotrichum musae</i>
Frutas cítricas	Podridão dos frutos  Mofo verde Mofo azul	<i>Phomopsis citri</i> <i>Diplodia natalensis</i> P. <i>Alternaria citri</i> <i>Penicillium digitatum</i> <i>Penicillium italicum</i>
Mamão e mangas	Antracnoses	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (Wint.) Honey
Batatas, hortaliças folhosas	Podridão bacteriana Podridão seca	<i>Erwinia carotovora</i> (Jones) Holland e outras espécies <i>Fusarium</i> spp.
Hortaliças folhosas e cenouras	Podridão branca e úmida	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary

É bom ressaltar que as enfermidades são ocasionadas nos vegetais e não no indivíduo que os consomem, havendo portanto prejuízos econômicos.



A degradação microbiana de frutas e hortaliças pode ser produzida como consequência de uma infecção que ocorreu enquanto o fruto ou hortaliça se encontrava aderido à planta produtora ou depois de ter sido separado da mesma, durante a colheita ou nas operações seguintes. A infecção pós-colheita é fortemente favorecida por lesões mecânicas sofridas pela pele, tais como abrasão, cortes ou picadas de insetos etc. O conhecimento de como transcorre o processo da infecção oferece considerável interesse para desenvolvimento de ações estratégicas adequadas para o controle e eliminação da mesma.

Faça uma visita a um centro de comercialização de frutas e hortaliças e observe os tipos de deteriorações em batata, tomate, pimentão verde, banana madura, couve-flor. Faça a descrição das alterações e se possível descreva o fungo encontrado (cor, forma, localização).



## Resumo

Nesta aula, estudamos os principais tipos de contaminações e alterações microbianas em hortaliças e frutas. Vimos que a deterioração em frutas e hortaliças no período pós-colheita pode ser ocasionada por fungos e bactérias, como consequência de uma infecção que ocorreu enquanto o fruto ou hortaliça se encontrava aderido à planta produtora ou depois, durante a colheita ou nas operações seguintes. O conhecimento de como transcorre o processo da infecção oferece considerável interesse para desenvolvimento de ações estratégicas adequadas para o controle e eliminação da mesma.

## Atividades de aprendizagem

1. Quais os atributos importantes para a qualidade das frutas e hortaliças?
2. Quais os fatores limitantes para a comercialização de frutas e hortaliças?
3. Qual a importância do gerenciamento da cadeia produtiva para a qualidade dos frutos e hortaliças?
4. Quais os cuidados que devem ser tomados na pré-colheita para diminuir o risco de proliferação microbiana em frutos e hortaliças?
5. Quais os cuidados que devem ser tomados na pós-colheita para diminuir o risco de proliferação microbiana em frutos e hortaliças?
6. Quais os microrganismos comumente encontrados em produtos frescos?
7. As frutas e hortaliças podem ser veículos de transmissão de parasitas intestinais, cite pelo menos 2 tipos.
8. Faça um breve relato sobre os microrganismos que provocam a deterioração de frutas e hortaliças no período pós-colheita.
9. Quais os microrganismos encontrados em mangas, mamão, frutas cítricas e bananas?
10. Quais as consequências da contaminação microbiana em mangas, mamão, frutas cítricas e bananas.

# Aula 7 – Principais microrganismos causadores de toxinfecção alimentar

## Objetivos

Estudar as principais bactérias causadoras de toxinfecções alimentares

Estudar as principais bactérias causadoras de infecções alimentares por número de ocorrências e virulência.

## 7.1 Definições

Você já estudou na disciplina de Microbiologia Básica os mecanismos de produção de Toxinfecções e Infecções alimentares. Agora você irá estudar os principais microorganismos responsáveis por essas doenças.

- **Toxinfecções ou intoxicações alimentares:** são infecções causadas pela ingestão de alimentos contendo toxinas microbianas pré-formadas.
- **Infecções alimentares:** são infecções causadas pela ingestão de alimentos contendo células viáveis de microrganismos patogênicos.

Para que ocorra a infecção é necessária a presença da bactéria patogênica em um número que represente a dose mínima infectante, que é definida como o número de células microbianas viáveis capazes de produzir a manifestação clínica da doença.

Fatores que contribuem para o aumento das doenças de origem alimentar:

- produção de alimentos em grande escala;
- transporte de alimentos a longas distâncias de seu lugar de fabricação;
- uso crescente de alimentos instantâneos, semipreparados, em pó e congelados;
- manutenção incorreta dos alimentos em supermercados;

- colocação de produtos por períodos prolongados à temperatura ideal para o desenvolvimento de patógenos;
- embalagens não controladas.

## 7.2 Toxinfecção alimentar

As bactérias causadoras de toxinfecção alimentar são Gram+. Estudaremos as principais bactérias causadoras de toxinfecção alimentar por número de ocorrências e virulência.

### 7.2.1 *Staphylococcus aureus*

**Características:** são cocos Gram +, produzem enterotoxinas, são mesófilos podendo crescer a uma temperatura de 7 °C a 47,8 °C com temperatura ótima de crescimento de 40 °C e 45 °C; são halofílicos, crescendo em concentração de 10% a 20% de NaCl, porém não produzem toxinas em concentrações superior a 5% de NaCl. São anaeróbios facultativos, porém só produzem toxinas em aerobiose. São fermentativos e proteolíticos, não produzindo odores ou aspectos desagradáveis no alimento. Podem crescer em pH menor que cinco em aerobiose e não crescem em pH menor que cinco em anaerobiose. Em valor mínimo de Aa de 0,86 são capazes de crescer, entretanto não produzem toxinas em Aa menor que 0,9.

As principais fontes de contaminação são os manipuladores de alimentos, mastite (inflamação da mama do animal) e feridas infectadas.



Os alimentos frequentemente contaminados são: leite e derivados, carnes, peixes, molhos, saladas.

**Sintomatologia:** os indivíduos que ingeriram a toxina pré-formada de *Staphylococcus aureus* no alimento apresentaram vômitos, diarreias, dores abdominais e sudorese. Podem ocorrer também dores de cabeça, calafrios, queda da pressão arterial e, raríssimas vezes, febre, que aparece quando a quantidade de toxina ingerida é grande. O período de aparecimento da sintomatologia é de 2 a 4 horas, com extremos de 30 minutos a 8 horas.

**Resistência térmica:** a célula do microrganismo é termolábil, porém a toxina é termoestável, resistindo à fervura por 20 a 60 minutos e a autoclavação pode reduzir a potencialidade da toxina.

**Fatores que favorecem a infecção *Staphylococica*:** que o alimento esteja contaminado com a enterotoxina; que o alimento apresente características que favoreçam o desenvolvimento do *S. aureus* até produzir de  $10^5$  a  $10^6$

UFC/g. A temperatura de 15,6 °C a 46,1 °C imprime ritmo acelerado de produção de enterotoxina de 4 horas a 6 horas.

### **7.2.2 *Clostridium botulinum***

**Características:** o *Clostridium botulinum* é um bacilo, anaeróbio, tem como habitat primário o solo, é saprofítico, se esporula em condições adversas, o que lhe confere maior resistência. É formador de gás e Gram+. É produtor da neurotoxina botulínica que apresenta um período de incubação entre 12 a 36 horas, com limites de 2 horas a 6 dias. A contaminação se dá por procedimento inadequado no processamento.

**Condições necessárias para o surto:** é necessária a existência no alimento de esporos de *C. botulinum* devido a um procedimento inadequado; que o alimento e as condições ambientais propiciem a germinação dos esporos; e que haja a ingestão do alimento contaminado sem aquecimento suficiente para inativar a toxina.

**Como evitar o botulismo:** algumas medidas são importantes para evitar a doença. Inicialmente, deve-se realizar um procedimento adequado de sanitização do alimento e aplicar um tratamento térmico para alimentos de baixa acidez ( $\text{pH} > 4,5$ ); rejeitar qualquer alimento suspeito que apresente odores putrefatos, ranços e estufamento de latas. Proceder ao aquecimento do alimento por 20 minutos a 100 °C quando suspeito.

**Características para destruição ou inibição da toxina:** a toxina botulínica é termolábil, sendo destruída a 80 °C por 30 minutos. A resistência térmica dos esporos é de 100 °C por 360min ou 120 °C por 4min. O pH menor que 4,5 inibe a produção de toxinas. A concentração de 8% de NaCl ou nitrato de sódio inibe a produção de toxina a 37 °C; e o alimento com menos de 30% de água inibe produção de toxina.

**Características da doença:** o início da ação da neurotoxina provoca fadiga e fraqueza muscular, desencadeando problemas de visão como queda das pálpebras, resposta alterada da pupila à luz e visão dupla, seguida de secura da boca, dificuldade de deglutição e de controle da língua. A musculatura que controla a respiração é progressivamente paralisada, podendo provocar a morte em 3 a 5 dias por parada respiratória.

### 7.2.3 *Clostridium perfringens*

**Características:** o *Clostridium perfringens* é um bacilo Gram+, anaeróbio, esporulado, apresenta cápsula e é móvel. Apresenta intensa atividade metabólica em alimento. É capaz de produzir grande variedade de enzima hidrolítica extracelular e de fermentar um grande número de carboidratos. Produz gás. Multiplica-se em temperatura ótima entre 40 °C e 45 °C, com limites de 15 °C a 51 °C. Para esporulação, a temperatura ótima fica entre 35 °C e 40 °C. Apresenta tempo de geração de 7,1 min a 41 °C, pH ideal 6,0 a 7,0 e Aa de 0,95 a 0,97, e para esporulação 0,98. Concentração de NaCl de 7% a 8% acarreta inibição do crescimento.

#### **Características da doença:**

*C. perfringens* é responsável por 2 tipos de toxinfecção alimentar:

- Cepas de *C. Perfringens* tipo A predispõe a toxinfecção alimentar na forma clássica.
- Cepas do tipo C levam à enterite necrótica com sintomatologia bem mais grave

#### **Sintomas da doença:**

**Cepas tipo A:** causam a toxinfecção clássica que se caracteriza por dores abdominais agudas, diarreia com náuseas e febre, sendo os vômitos raros.

**Cepas tipo C:** causam a toxinfecção necrótica, que é rara. Os sintomas são dores abdominais agudas e intensas, diarreia sanguinolenta, algumas vezes vômitos e inflamação necrótica do intestino delgado, sendo frequentemente fatal. Os casos descritos na literatura têm sido associados ao consumo da carne de porco mal cozida.

A dose mínima infecciosa é de  $10^6$  a  $10^8$  UFC/g do alimento e o período de incubação é de 8 a 24 horas.

**Mecanismo de patogenicidade:** é provocada por uma enterotoxina que aparece quando se formam esporos de *C. perfringens* no intestino delgado estimulado pela tripsina.

**Medidas de controle:** a célula vegetativa é inativada a 60 °C e apresenta inibição de crescimento à temperatura inferior a 15 °C, portanto manutenção do alimento preparado à temperatura ideal e procedimento adequado de higiene na elaboração de alimentos são medidas a serem adotadas a fim de evitar a contaminação ou a multiplicação.

### 7.2.4 *Bacillus cereus*

**Características:** são bacilos Gram<sup>+</sup>, aeróbio, mesófilo, com flagelos peritríquios e produtor de esporos. São capazes de utilizar vários carboidratos; todas as cepas são produtoras de hemolisinas; multiplica-se bem entre 19 °C e 48 °C com ótimo entre 28 °C e 35 °C e apresentam Aa mínima para multiplicação de 0,95, crescimento reduzido a 7,5% de NaCl e pH ideal entre 4,9 a 9,3. A enterotoxina é produzida na fase logarítmica com dose mínima infectante de 10<sup>7</sup> a 10<sup>9</sup> UFC/g.

As características da doença podem ser manifestadas de duas formas:

- Síndrome diarreica com período de incubação que varia de 8 a 16 horas, apresentando como sintomas: diarreia intensa, dores abdominais, raramente ocorrendo náuseas e vômitos. A duração da doença ocorre de 12 a 24 horas. Os principais alimentos envolvidos são vegetais crus e cozidos, produtos cárneos, pescados, leite, massas, sorvetes e pudins.
- Síndrome emética com período de incubação que varia de 1 a 5 horas, apresentando como sintomatologia: vômitos, náuseas e mal estar geral. Os principais alimentos envolvidos são alimentos farináceos, contendo cereais, principalmente arroz.

**Medidas de controle:** são necessários procedimentos higiênicos adequados e cocção dos alimentos à temperatura superior a 100 °C.

## 7.3 Principais microrganismos causadores de infecção alimentar

As bactérias causadoras de toxinfecção alimentar são Gram<sup>-</sup>. Estudaremos as principais bactérias causadoras de infecção alimentar por número de ocorrências e virulência.

### 7.3.1 *Escherichia coli*

**Características:** são bacilos Gram- não esporulados, capazes de fermentar glicose com produção de gás. Apresentam antígenos somáticos O, relacionados com polissacarídeos da membrana externa, antígenos flagelares H, relacionados com proteínas do flagelo e K, relacionados com polissacarídeos capsulares.

Linhagens patogênicas:

EPEC (*E. coli* enteropatogênica clássica)

EIEC (*E. coli* enteroinvasiva)

ETEC (*E. coli* enterotoxigênica)

EHEC (*E. coli* entero-hemorrágica)

#### **Mecanismo de patogenicidade:**

- A EPEC apresenta virulência associada à adesão a mucosa intestinal e destruição das microvilosidades das células epiteliais intestinais. Tem frequência alta em países tropicais, sendo responsável no Brasil por 30% da diarreia aguda em crianças pobres de idade inferior a seis anos.

**Características da doença:** a doença se manifesta com dores abdominais, diarreia, vômitos e febre. O período de incubação é de 17 a 72 horas.

#### **Mecanismo de patogenicidade:**

- A EIEC invade as células epiteliais e causa manifestações clínicas semelhantes à *Shigella*.

**Características da doença:** a doença se manifesta com disenteria, cólicas abdominais, febre e mal estar, com eliminação de muco e sangue nas fezes. O período de incubação é de 8 a 24 horas, com dose mínima infectante de  $10^6$  a  $10^8$  células.

Acomete mais comumente crianças maiores e adultos. O surto está relacionado à ingestão de água ou alimentos contaminados ou contato interpessoal.

### **Mecanismo de patogenicidade:**

- A ETEC apresenta virulência associada à produção de enterotoxinas LT (termolábil) que é desestabilizada com temperatura de 60 °C por 30 minutos e ST (termoestável) que é desestabilizada a 100 °C por 30 minutos.

**Características da doença:** a doença se manifesta com diarreia aquosa. Atinge pessoas de todas as faixas etárias, em áreas com saneamento básico precário, principalmente nos trópicos. É o agente etiológico da diarreia do viajante que acomete indivíduos que se deslocam de áreas desenvolvidas para regiões com problemas de saneamento básico.

### **Mecanismo de patogenicidade:**

- A EHEC tem sua virulência associada à produção de citotoxina com destruição de microvilosidades acarretando eliminação de sangue nas fezes.

**Medidas de controle:** são necessários procedimentos higiênicos adequados e cocção dos alimentos à temperatura superior a 100 °C.

## **7.3.2 Salmonella**

**Características:** são bacilos Gram-, anaeróbio facultativo, produz gás a partir da glicose, a maioria é móvel. Apresenta pH ótimo igual a 7,0. O pH menor que 4,0 tem efeito bactericida. Não toleram concentrações de NaCl maior que 9,0% e apresenta Temperatura ótima de crescimento de 35 °C a 37 °C.

**Características da doença:** a febre tifoide causada pela *Salmonella typhi* só acomete o homem, e normalmente é transmitida por água e alimentos contaminados com material fecal humano. Os sintomas são febre alta, diarreia, vômitos e septicemia.

- Febres entéricas tem como agente etiológico a *Salmonella paratyphi*. Os sintomas são febre entérica (menos grave que a *typhi*).
- Enterocolites ou salmonelose são causadas pelas demais Salmonellas (*S. newport*, *S. Mentevideo*, *S. oranienburg*). Os sintomas são diarreia, febre, dores abdominais e vômitos. A *S. typhimurium* é a mais comumente encontrada em alimentos. O período de incubação é de 12 a 36 horas. Sua dose mínima infectante é de 10 UFC/g ou ml.

*S. enteridis* coloniza o canal ovopositor das galinhas, causando a contaminação da gema durante a formação do ovo.

### 7.3.3 *Shigella*

**Características:** são bacilos, Gram negativos. Existem quatro espécies com sorogrupos distintos: *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii* e *S. sonnei*. Estão intimamente relacionadas à *E.coli* patogênica. Apresenta temperatura ótima de crescimento de 37 °C com variações de 10 °C a 40 °C. As fontes de contaminação são fezes, água e alimentos contaminados.

**Características da doença:** a doença se manifesta com disenteria, desidratação e até convulsões em crianças com menos de 4 anos. O período de incubação é de 4 a 7 dias, com dose mínima infectante de 10 a 10<sup>2</sup> UFC/g ou ml.

**Mecanismo de patogenicidade:** a bactéria adere ao epitélio intestinal, invade o epitélio, se multiplica e produz a toxina shiga.

### 7.3.4 *Vibrio*

**Características:** são bacilos, Gram negativos, retos ou curvos, móveis. Fermentam glicose sem produção de gás. São halofílicos, necessitando geralmente de 2% ou mais NaCl para um crescimento ótimo. 10 espécies são patogênicas para o homem, sendo quatro as mais comuns: *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. furnissii*, *V. fluvialis*.

*V. cholerae* é o agente etiológico da cólera. A produção da doença se dá através da toxina colérica. A dose mínima infectante é de 10<sup>4</sup> a 10<sup>6</sup> UFC/g ou ml, com período de incubação de menos de 24 horas.

**Características da doença:** a doença se manifesta com dor abdominal, vômitos, sensação de ardência no estômago e fezes aquosas.



Baseado no que você estudou nesta aula, faça uma tabela com os microrganismos que causam infecção e toxinfecção alimentar, suas características em relação ao oxigênio, pH, temperatura de crescimento e dose mínima infectante.

## Resumo

Nesta aula, você estudou quais são os principais microrganismos causadores de infecção e toxinfecção alimentar, por maior incidência de ocorrência ou por gravidade da doença.

## Atividades de aprendizagem

1. Diferencie infecção de toxinfecção alimentar.
2. Quais os fatores que contribuem para as doenças de origem alimentar?
3. O que é dose mínima infecciosa?
4. Diferencie patogenicidade de virulência.
5. Diferencie diarreia de disenteria.
6. Cite os principais microrganismos que causam toxinfecção alimentar.
7. Qual a origem do *Staphylococcus aureus*?
8. Quais as características da toxina do *S. aureus*?
9. Qual a concentração de NaCl na qual o *S. aureus* produz toxina?
10. Qual o valor de Aa capaz de inibir a produção de toxina pelo *S. aureus*?
11. Como se comporta o *S. aureus* em relação ao pH?
12. Qual a dose mínima infecciosa para *S. aureus*?
13. Como evitar a intoxicação Staphylococica?
14. Cite as principais características do *C. botulinum*?
15. Quais as características da toxina do *C. botulinum*?

16. Quais as características do alimento para favorecer a produção da toxina botulínica?
17. Quais as principais características do *C. perfringens*?
18. Qual a dose mínima para *C. perfringens*?
19. Quais as medidas de controle para *C. perfringens*?
20. Quais as principais características para *Bacillus cereus*?
21. Quais as características da toxina *B. cereus*?
22. Cite os principais microrganismos que causam infecção alimentar.
23. Quais as características da *E. coli*?
24. Quais as linhagens patogênicas?
25. Quais as principais características da *Salmonella*?
26. Qual a dose mínima infecciosa para a *Salmonella*?
27. Cite as principais características de *Shigella*?
28. Qual a dose mínima infecciosa para *Shigella*?
29. Cite os principais *Vibrios* patogênicos.
30. Qual a dose mínima infecciosa para *Vibrios* patogênicos?
31. Como se comportam os *Vibrios* frente ao NaCl?
32. Dentre os *Vibrios*, qual o mais virulento?

# Aula 8 – Microrganismos indicadores

## Objetivos

Conhecer os microrganismos indicadores de contaminação fecal de alimentos.

Conhecer os microrganismos indicadores de condições inadequadas de manipulação de alimentos.

Relacionar os indicadores de qualidade sanitária dos alimentos, na produção e armazenamento.

## 8.1 Definição de microrganismos indicadores

São grupos ou espécies de microrganismos que, quando presentes em um alimento, podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal, sobre a provável presença de patógenos ou sobre a deterioração potencial do alimento, além de poderem indicar condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento.

### 8.1.1 Critérios para microrganismos indicadores

A escolha de um microrganismo ou grupo de microrganismos para ser usado como um indicador deverá preencher os seguintes requisitos:

- deve ser de rápida e fácil detecção;
- ser facilmente distinguível de outros microrganismos da microbiota do alimento;
- deve estar sempre presente quando o patógeno associado estiver;
- deve apresentar necessidade de crescimento semelhante às do patógeno;

- deve ter velocidade de morte semelhante ou levemente superior à do patógeno;
- deve estar ausente nos alimentos livres do patógeno ou em quantidades mínimas.



Não é necessário que o indicador apresente todos os requisitos recomendados, porém deve apresentar a maioria deles.

## 8.2 Indicador de contaminação fecal e higiênico-sanitária do alimento

O indicador de contaminação fecal deve ter:

- hábitat exclusivo do trato intestinal do homem e outros animais;
- ocorrer em número muito alto nas fezes;
- apresentar alta resistência ao ambiente extraentestinal (fora do intestino);
- para sua detecção e/ou contagem são utilizadas técnicas rápidas, simples e precisas.

### 8.2.1 Os coliformes totais

São grupos de microrganismos que fazem parte da família Enterobacteriaceae. Fermentam a lactose com produção de gás a 35-37°C por 48 horas e são bacilos Gram negativos. Representam esse grupo a ***Escherichia coli***, que tem como hábitat primário o trato intestinal do homem e animais e ***Enterobacter***, ***Citrobacter*** e ***Klebsiella***, que têm como hábitat primário o trato intestinal, vegetais e solo.

### 8.2.2 Coliformes fecais ou termotolerantes e *Escherichia coli*

Para a determinação de coliformes fecais ou termotolerantes, o procedimento analítico é semelhante para os coliformes totais, com a diferença na temperatura de incubação que é de 44 °C a 45 °C. Quando incubado à temperatura de 44 a 45 °C e existe contaminação de origem fecal, 90% das células microbianas que crescem são de ***Escherichia coli*** e apenas algumas células de ***Enterobacter*** e ***Klebsiella***. Como a ***Escherichia coli*** é a única



A legislação atual usa o nome termotolerantes porque apesar da predominância ser de ***E.coli***, ***Enterobacter*** e ***Klebsiella*** são encontrados, embora em pequenas quantidades.

dentre o grupo dos coliformes que tem como hábitat primário apenas o intestino, o crescimento a essa temperatura confirma a contaminação fecal.

### **8.2.3 *Enterococcus faecalis* e *Enterobacter faecium***

Esses microrganismos apresentam restrições como indicadores de contaminação fecal por estarem também em ambientes diferentes do trato intestinal. A presença deles em número elevado indica práticas sanitárias inadequadas, exceto em produtos fermentados.

## **8.3 Contagem total de bactérias mesófilas aeróbias**

É indicadora da qualidade sanitária dos alimentos. Mesmo na ausência de patógenos, o número elevado indica que o alimento está insalubre. Quando a quantidade é maior que  $10^6$  UFC/g do alimento, já é possível observar alterações detectáveis no alimento. A contagem elevada em alimentos não perecíveis indica processamento inadequado do ponto de vista sanitário ou matéria-prima contaminada.

### **8.3.1 Contagem de bactérias psicrófilas e termófilas**

Avaliam o grau de deterioração de alimentos refrigerados ou tratados termicamente.

### **8.3.2 Contagem de bactérias anaeróbias**

A presença indica condições favoráveis para multiplicação de anaeróbios patogênicos como *Clostridium botulinum* e *Clostridium perfringens*.

### **8.3.3 Contagem de bolores e leveduras**

É indicada para frutas, vegetais e cereais e para sucos de frutas, queijos, alimentos congelados e picles, quando armazenados inadequadamente.

## **8.4 *Stafilococcus aureus***

A presença em número elevado no alimento indica existência de toxina, sanificação deficiente e presença de manipulador.

## **8.5 Contagem de esporos de termófilos**

É usada como indicador de sanificação de vegetais.

## 8.6 Contagem de bolores em equipamentos

É usada como indicadora de sanificação em equipamentos e superfícies de operações de processamento.



A partir dos conhecimentos adquiridos, construa uma tabela com os indicadores.

### Resumo

Nesta aula, você estudou os microrganismos de origem fecal indicadores de contaminação de alimentos, de qualidade higiênico-sanitária e indicadores de condições inadequadas de manipulação, produção e armazenamento.

### Atividades de aprendizagem

1. O que são microrganismos indicadores?
2. Quais os critérios necessários para a escolha de um microrganismo como indicador?
3. O que é necessário para ser um indicador de contaminação fecal?
4. Quais os microrganismos que fazem parte do grupo dos coliformes?
5. Diferencie coliformes totais de coliformes fecais?
6. Por que os coliformes fecais são chamados de termotolerantes?
7. O que significa uma contagem acima de  $10^6$  UFC/g no alimento?
8. O que significa a presença de *Stafilococos aureus* no alimento?
9. Para que tipo de alimentos se indica a contagem de bolores e leveduras?

## Referências

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002.

FRANCO, B. D. G. de M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D. C. **Microbiologia de los alimentos**. Zaragoza, Espanha: Acribia, 2003.

GAVA, Altanir Jaime; SILVA, Carlos Alberto Bento da; FRIAS, Jenifer Ribeiro Gava. **Tecnologia de alimentos: princípios e aplicações**. São Paulo: Nobel, 2009.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Artmed, 2005

ROBERTS, D.; HOOPER, W.; GREENWOOD, M. **Microbiologia práctica de los alimentos**. Zaragoza, Espanha: Acribia, 2000.

SANTOS, C. A. A.; COELHO, A. F. S.; CARREIRO, S. C. **Avaliação microbiológica de polpas de frutas congeladas**. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, v. 28, n. 4, p. 913-915, out./dez. 2008.

SCHAECHTER, M; ENGLEBERG, N.C; EISENSTEIN, B.I; MEDOFF, G. Microbiologia. Menanismos de doenças infecciosas. Guanabara Koogan S.A. Rio de Janeiro. 2002

STANIER, R. Y.; DOUDOROFF, M.; ADELBERG, E. A. **Mundo dos micróbios**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1969.

TEICHMANN, I. **Tecnologia culinária**. Caxias do Sul: EDUCS/RS, 2000. Coleção Hotelaria.

TRABULSI, L.R; TOLEDO, M.R.F. **Microbiologia**. São Paulo: Atheneu. 1991. 2ª ed.

WILLS, R. H. H. et al. **Fisiologia y manipulacion de frutas y hortalizas post-recoleccion**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1984.

## **Currículo do professor-autor**

Possuo graduação em Nutrição pela Universidade Federal de Pernambuco (1977), mestrado (1987) e doutorado (1994) em Nutrição na área de concentração Ciência dos Alimentos pela Universidade Federal de Pernambuco. Atualmente, sou professora associada nível 3 da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Tenho experiência na área de Microbiologia, com ênfase em Microbiologia de Alimentos e Cozinha Brasileira, atuando principalmente nos seguintes temas: Microbiologia e Segurança do Alimento, Tecnologia na Produção de Alimentos e Origem e Técnicas da Cozinha Brasileira.



**e-Tec Brasil**  
*Escola Técnica Aberta do Brasil*

ISBN 978-85-7946-071-5



9 788579 460715