



# Modelagem preditiva do crescimento de *Bacillus cereus* em refeições coletivas

Daniel Almeida Cozendey da Silva

Monografia em Engenharia de Alimentos

Orientadores:

Prof. Dra. Karen Signori Pereira

Prof. Dr. Ricardo Schmitz Ongaratto

Julho de 2022

# **MODELAGEM PREDITIVA DO CRESCIMENTO DE *Bacillus cereus* EM REFEIÇÕES COLETIVAS**

***Daniel Almeida Cozendey da Silva***

Monografia em Engenharia de Alimentos submetida ao Corpo Docente da Escola de Química, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Engenharia de Alimentos.

Aprovado por:

---

Prof. Dr. Ailton Cesar Lemes

---

Dr. Susana de Oliveira Elias

Orientado por:

---

Prof. Dra. Karen Signori Pereira

---

Prof. Dr. Ricardo Schmitz Ongaratto

Rio de Janeiro, RJ – Brasil

Julho de 2022

## CIP - Catalogação na Publicação

C882m Cozendey , Daniel Almeida  
Modelagem preditiva do crescimento de Bacillus cereus em refeições coletivas / Daniel Almeida Cozendey . -- Rio de Janeiro, 2022.  
76 f.

Orientadora: Karen Signori Pereira.  
Coorientador: Ricardo Schmitz Ongaratto.  
Trabalho de conclusão de curso (graduação) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Bacharel em Engenharia de Alimentos, 2022.

1. Microbiologia. 2. Microbiologia preditiva. 3. Bacillus cereus. 4. Refeição coletiva. I. Pereira, Karen Signori, orient. II. Ongaratto, Ricardo Schmitz, coorient. III. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob a responsabilidade de Miguel Romeu Amorim Neto - CRB-7/6283.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, que me deu saúde e forças para continuar e não desistir nos momentos difíceis, me guiando e iluminando com sabedoria.

Aos meus pais, Everton e Monica Cozendey, que foram os meus maiores apoiadores durante todos esses anos, não medindo esforços para que todos os meus sonhos fossem alcançados. Obrigado por todo amor e apoio, vocês são meus maiores exemplos.

Às minhas avós Lenira Carneiro e Maria Michael (*in memoriam*), que apesar de não se fazerem presentes fisicamente, sempre torceram muito por mim e faziam questão de lembrar todos os dias que teriam um neto engenheiro de alimentos. Meu eterno amor e gratidão a vocês duas.

Aos meus irmãos Victor Cozendey e Davi Cozendey, que também sempre se mantiveram positivos quanto a minha trajetória, me acalmando nos momentos de crise e sempre me passando confiança.

A minha orientadora Karen Signori Pereira, por se demonstrar uma pessoa dedicada no que faz, nunca escondendo seu amor pela sala de aula.

Ao meu coorientador Ricardo Schmitz Ongaratto, que não relutou em aceitar meu pedido de ajuda em fazer parte desse trabalho, pelas contribuições dentro e fora de aula que, com certeza, contribuíram para o meu crescimento profissional.

Aos meus amigos de graduação, em especial aqueles que se tornaram parte da minha família: Daniela, Isabella, João, Luís, Milena e Sarah. Vocês foram meu porto seguro durante todos esses anos e, com certeza, a finalização dessa jornada tem contribuição de todos vocês. Aos demais amigos, estendo meu agradecimento e saibam que vocês também contribuíram para que esse momento acontecesse.

Resumo da monografia apresentada à Escola de Química como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Engenharia de Alimentos.

## **Modelagem preditiva do crescimento de *Bacillus cereus* em refeições coletivas**

Daniel Almeida Cozendey da Silva

Julho, 2022

Orientadores: Prof. Karen Signori Pereira, D. Sc.

Prof. Ricardo Schmitz Ongaratto, D. Sc.,

Os micro-organismos são capazes de gerar problemas irreversíveis em alimentos, causando grande preocupação, pois afetam principalmente a qualidade e segurança dos alimentos, além de estarem diretamente ligados a perdas econômicas. Com isso, a microbiologia preditiva utiliza modelos matemáticos para prever a multiplicação de micro-organismos, sendo amplamente utilizada como ferramenta para garantir a segurança dos alimentos. Nesse sentido, o objetivo do trabalho foi utilizar o *software ComBase Predictor* na determinação de parâmetros cinéticos de crescimento de *Bacillus cereus*, importante patógeno alimentar, na composição de refeições prontas para 6 matrizes alimentares diferentes, que foram determinadas como composição básica dessas refeições: arroz, feijão e macarrão cozidos, purê de batata, carne bovina assada e peito de frango cozido. Foi definido a temperatura de 34 °C, arroz cozido e carne assada, como temperatura e matrizes críticas dessa composição, respectivamente. Através dos gráficos gerados, foi definido que após 4,8h de armazenamento a 34 °C para as matrizes consideradas críticas, a concentração de *B. cereus* ultrapassa a concentração máxima de 10<sup>6</sup> UFC/g de células vegetativas, podendo causar danos a saúde do consumidor. Dessa forma, os parâmetros tempo e temperatura são determinados como os mais importantes para o controle microbiológico, garantindo assim a segurança alimentar.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1** - Curva de crescimento microbiano. Fonte: Adaptado de DELHALLE et al. 2012.

**Figura 2** - Exemplo de uma curva de crescimento proposta por Baranyi e Roberts (1994).

**Figura 3** - Gráfico contendo temperaturas máxima, mínima e média para ano de 2021 na cidade do Rio de Janeiro.

**Figura 4** - Ilustração da composição básica de uma quentinha, contendo arroz e feijão cozidos, macarrão, purê de batata e carne moída.

**Figura 5** - Panorama dos Estados Unidos, relatando os surtos alimentares, reportes de sintomas e doenças, hospitalizações e mortes, no período de 2010 a 2020. .

**Figura 6** - Gráfico relacionando as matrizes alimentares de interesse e os principais micro-organismos envolvidos com o desenvolvimento de sintomas relacionados a ingestão de alimentos contaminados nos Estados Unidos, de 2010 a 2020.

**Figura 7** - Representação do mapa dos Estados Unidos, dividido por estados, apresentando as informações de surtos, doenças, hospitalização e morte envolvendo *Bacillus cereus*, de 2010 a 2020.

## LISTA DE QUADROS

**Quadro 1** - Condições favoráveis à sobrevivência, ao crescimento de *Bacillus cereus* e à produção de enterotoxinas.

**Quadro 2** - Modelos primários de crescimento microbiano e suas equações.

**Quadro 3** - Modelo secundário de crescimento microbiano e equações associadas.

**Quadro 4** - *Softwares* associados à microbiologia preditiva.

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1** - Parâmetros cinéticos obtidos pelo *software ComBase*, onde  $\mu_{\max}$  é a taxa específica máxima de crescimento e TG, tempo de geração, para o crescimento de *B. cereus* nas diferentes matrizes alimentares normalmente presentes em uma refeição pronta para o consumo.

**Tabela 2** - Determinação dos parâmetros críticos relacionados à cinética de crescimento de *B. cereus* no presente trabalho.

**Tabela 3** - Parâmetros críticos para a carne assada e arroz cozido.



## SUMÁRIO

1. Introdução.....	08
1.1. Contextualização.....	08
1.2. Motivação.....	09
1.3. Objetivo.....	09
1.3.1. Objetivos Específicos.....	09
2. Revisão Bibliográfica.....	10
2.1. Produção de Alimentos Seguros.....	10
2.2. <i>Bacillus cereus</i> .....	12
2.2.1. Ocorrência de <i>B. cereus</i> em alimento.....	14
2.3. Microbiologia Preditiva.....	15
2.3.1. Aplicações e Vantagens.....	18
2.4. Modelos Preditivos.....	19
2.4.1. Modelos Primários.....	20
2.4.2. Modelos Secundários.....	23
2.4.3. Modelos Terciários.....	25
2.4.3.1 <i>Pathogen Modeling Program (PMP) Online</i> .....	26
2.4.3.2 <i>ComBase Predictor</i> .....	27
3. Metodologia.....	29
3.1. Escolha dos parâmetros para a predição.....	29
3.1.1. Temperatura.....	29
3.1.2. Determinação da composição básica de uma refeição pronta para o consumo.....	30
3.1.3. Micro-organismo de interesse.....	30
3.1.4. Aplicação do <i>Software ComBase Predictor</i> .....	31
4. Resultados e Discussão.....	32
4.1. Micro-organismos presentes nas matrizes alimentares de interesse.....	32
4.2. Parâmetros cinéticos de crescimento de <i>B. cereus</i> .....	34
4.3. Definição dos parâmetros críticos na cinética de crescimento de <i>B. cereus</i> .....	36
4.4. Viabilidade da microbiologia preditiva.....	40
5. Conclusão.....	43
6. Referência Bibliográfica.....	45
7. Apêndice.....	53

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. CONTEXTUALIZAÇÃO

O micro-organismo *Bacillus cereus*, encontrado principalmente em equipamentos e utensílios mal higienizados durante o preparo de refeições, é conhecido principalmente pela capacidade de resistência térmica sob forma vegetativa de até 55 °C, e sobrevivência a uma ampla faixa de pH, entre 5,0 e 9,3 (MENDES et al., 2011). Esse agente é responsável por duas síndromes alimentares expressivas: emética e diarreica, onde a primeira é causada pela presença da toxina cereulida, e a segunda por, pelo menos, outros quatro tipos de toxinas (EHLING-SCHULZ et al., 2015). Entre as condições que mais favorecem a multiplicação e produção dessa toxina, se destaca a demora entre o preparo do alimento e seu consumo, alimentos mantidos à temperatura ambiente por longos períodos, principalmente se mantidos sob refrigeração acima de 4 °C e temperatura de manutenção a quente abaixo de 60 °C (SÃO PAULO, 2013).

Devido as tendências nutricionais cada vez mais frequentes do aumento de consumo de alimentos crus e frescos, produtos secos e refeições coletivas, a detecção de patógenos e proteção contra a deterioração dos alimentos é uma tarefa de suma importância para a população (Martinović et al., 2016; Sudershan et al., 2014). O estudo do comportamento de micro-organismos frente a diferentes parâmetros ambientais, como temperatura, pH e concentração salina, para obter maiores conhecimentos na determinação do aumento ou não da multiplicação microbiana é essencial para evitar riscos a saúde da população. Por conta disso, o desenvolvimento de ferramentas capazes de prever esse comportamento se tornou um grande aliado a indústria de alimentos.

Nesse contexto, surge então a microbiologia preditiva. Trata-se de um elemento fundamental aliado à microbiologia de alimentos moderna, que vem sendo estudado e usado como forma de favorecer o controle microbiológico no sentido de prever o comportamento microbiano em uma matriz alimentar sob determinadas condições, como temperatura, umidade, pH, entre outros (LIRA, et al, 2020). Dessa forma, fica favorecida a qualidade e segurança microbiológica dos alimentos, a análise de risco, análise de vida de prateleira e ações para tomada de decisões.

## 1.2. MOTIVAÇÃO

Nos últimos três anos, devido ao período pandêmico e a alta taxa de desemprego, a venda e o consumo de refeições prontas aumentaram significativamente. Entretanto, esse crescimento de produção e consumo devem estar alinhados a boas práticas de fabricação, uma vez que um dos principais pontos a serem observados em serviços de alimentação é a qualidade microbiológica dos alimentos.

Foram levantados questionamentos sobre a qualidade e o risco que os consumidores de quentinhas da cidade do Rio de Janeiro estão submetidos, uma vez que essas preparações passavam grande parte do seu tempo em condições não adequadas para armazenamento, acima de 5 °C e abaixo de 60 °C. Como o micro-organismo *Bacillus cereus* tem grande importância e envolvimento em surtos e doenças transmitidas por alimentos, compreender o seu crescimento em matrizes alimentares torna mais fácil a administração e tomada de ações para garantir que o consumo seja o mais seguro possível. Uma das ferramentas utilizadas é a microbiologia preditiva, que descreve o crescimento microbiano e determina parâmetros cinéticos através de equações matemáticas a partir de condições determinadas.

## 1.3. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi analisar o comportamento microbiano em refeições coletivas, utilizando a microbiologia preditiva como ferramenta de trabalho com foco no micro-organismo *Bacillus cereus*.

### 1.3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar revisão bibliográfica sobre matrizes alimentares e contaminação por *Bacillus cereus*;
- Aplicar o *software* ComBase para obtenção dos parâmetros cinéticos de crescimento;

- Determinar a temperatura crítica e o tempo máximo de armazenamento dos alimentos selecionados como composição básica de uma refeição coletiva;

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. PRODUÇÃO DE ALIMENTOS SEGUROS

Segundo dados emitidos no Informe 2022, Surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar no Brasil, da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde, durante o período de janeiro de 2012 a dezembro de 2021, ocorreram cerca de 6.347 surtos por doenças transmitidas por água e alimentos no Brasil. Durante esses surtos, 104.839 pessoas foram acometidas pelas doenças, 13.446 foram hospitalizadas e 89 vieram a óbito (BRASIL, 2022), sendo que este número pode estar subestimado, considerando a realidade da população brasileira e que a maioria dos casos acabam não sendo reportados. A ocorrência de doenças veiculadas por alimentos (DVA) é cada vez mais frequente, atingindo um número cada vez maior de indivíduos, o que pode ser observado pela ocorrência de surtos relatados em todo o mundo.

Os agentes mais relevantes, responsáveis por quase 86% de todas as DVA's reportadas são: *Escherichia coli* (29,6%), *Staphylococcus* (12,9%), *Salmonella* (11,2%), *Bacillus cereus* (7,2%), Norovírus (5,3%), coliformes (4,9%) e rotavírus (4,4%). A respeito dos grupos de alimentos identificados nos surtos, temos a presença de alimentos múltiplos (que é caracterizado pela união de duas ou mais matrizes alimentares), leite e derivados, frutas, produtos de frutas e similares, carne bovina *in natura*, processados e miúdos, ovos e produtos à base de ovos, pescados, frutos do mar e processados. A casa dos próprios consumidores foi o local mais recorrente de contaminação. Restaurantes, padarias, creche e escolas, alojamento ou trabalhos também acompanharam a lista de locais que mais foram reportadas contaminações por esses micro-organismos (BRASIL, 2020).

A segurança de alimentos surgiu frente a preocupação das práticas de manipulação para a garantia de qualidade do alimento, principalmente microbiológica, desde a produção até o consumo. Já o conceito de segurança alimentar, apesar de passar por diversas alterações, tem firmado sua definição na disponibilidade de alimentos para toda a população se atentando às questões de vulnerabilidade e socioambiental, mediante ação de políticas públicas (SPINELLI, 2020). Dessa forma, devemos nos atentar não somente na produção de alimentos em larga escala, mas também repensar as práticas de modo de produção,

adequando-se à política de sustentabilidade que é produzir, reduzindo os impactos ambientais e garantindo o controle microbiológico (ROSA, 2020).

Dentre as estratégias estabelecidas pela Food and Drug Administration (FDA) e a Organização Mundial de Saúde (OMS) para a segurança de alimentos, destaca-se a capacitação dos profissionais que realizam a manipulação dos alimentos. Essa capacitação está diretamente relacionada com a higiene e sanidade dos alimentos que serão servidos, garantindo que a contaminação seja a menor possível a partir das Boas Práticas de Fabricação (BPF). Para serviços de refeição coletiva, o risco de contaminação são maiores devido ao preparo dos alimentos serem realizados com antecedência, geralmente um dia antes das vendas, o que favorece a exposição prolongada e o crescimento de micro-organismos (OLIVEIRA et al., 2008).

Em 2004 com a RDC nº 216, a Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, dispôs sobre o regulamento técnico de boas práticas para serviços de alimentação. De modo geral, com essa resolução, foi considerada a necessidade de aperfeiçoamento das ações de controle sanitário, harmonização da ação de inspeção sanitária e a necessidade de elaboração de requisitos higiênico-sanitários gerais para serviço de alimentação, estabelecendo, então, os procedimentos de Boas Práticas a fim de garantir as condições higienicossanitárias do alimento preparado (BRASIL, 2004).

Partindo do princípio de que as cozinhas onde são montadas as refeições estão mais para cozinhas domésticas a cozinhas industriais, fica difícil a aplicação do cumprimento das normas regidas pela RDC 216. Hoje, as principais estratégias para o controle de qualidade envolvem a detecção e rápida correção de eventuais falhas que possam ocorrer no processo de preparo dos alimentos, assim como as condições ideais para armazenamento deles (AKUTSU et al., 2005).

## 2.2 *Bacillus cereus*

*B. cereus* foi isolado e descrito inicialmente em 1887 por Plazikowski, tendo sido reconhecido como principal agente causador de intoxicação alimentar após um surto grave nos Estados Unidos, onde foi isolado em molhos caseiros (JAY, 2005; SAVINI 2016). Pertencendo à família Bacillaceae, trata-se de uma bactéria Gram positiva, mesofílica, formadora de esporos e facilmente encontrada no ambiente devido à sua natureza ubíqua. Sua forma esporulada, resposta de algumas bactérias e fungos frente a condições adversas do ambiente, é resistente aos processos de secagem e aquecimento, onde sob condições adequadas, podem se transformar em formas vegetativas e causar intoxicações alimentares. De acordo com o Relatório de Zoonoses de 2018 da União Europeia, One Health, esse micro-organismo está entre os dez principais causadores de surtos de origem alimentar descritos ao redor do mundo (EFSA, 2019).

*B. cereus* é facilmente encontrado em produtos lácteos, principalmente, aos submetidos ao tratamento térmico, sendo responsável por causar *off-flavors* e prejuízos no produto devido à atividade de proteases, lipases e fosfolipases, além de comprometer a qualidade e segurança dos produtos lácteos (MAZIERO; BERSOT, 2011).

As cepas de *B. cereus* podem produzir uma ou mais enterotoxinas no intestino e/ou toxina emética no alimento. Assim, é possível que dois tipos de intoxicação alimentar sejam reportados através da ingestão de alimentos contaminados. As enterotoxinas que causam diarreia são lábeis ao calor, sendo destruídas quando submetidas a temperaturas de 56 °C por 5 minutos, e causam, além de diarreia, sintomas como dor abdominal, e ocorre após a ingestão de mais de 10<sup>5</sup> UFC/g de células de esporos através do alimento. Dentre os principais alimentos associados aos problemas causados por essa enterotoxina, pode-se destacar produtos frescos como hortícolas, leite, carne e produtos do mar. Atualmente, pelo menos quatro enterotoxinas são consideradas responsáveis pela intoxicação do tipo diarreico: hemolisina BL (HBL), enterotoxina não hemolítica (NHE), enterotoxina FM (EntFM) e citotoxina K (CytK) (FOGELE et al., 2017), onde HBL e NHE são as que estão mais relacionadas aos casos de intoxicação alimentar

(HARIRAM & LABBÉ, 2015). Já a toxina cereulide está relacionada ao tipo emético, e é um peptídeo codificado pelos genes *ces* (ROUZEAU-SZYNALSKI et al., 2019).

As toxinas responsáveis pela síndrome emética são estáveis ao calor, sendo destruídas apenas quando submetidas a temperatura de 126 °C por 90 minutos, e causam náuseas e vômitos (HARIRAM & LABBÉ, 2015). Em contrapartida à toxina diarreica, a do tipo emético ocorre após o consumo de alimentos contendo as toxinas que foram previamente produzidas pelas bactérias nos alimentos. A principal explicação para esse tipo de contaminação envolve o crescimento de células vegetativas acima de 10<sup>6</sup> UFC/g durante o crescimento ao longo prazo de alimentos cozidos em temperaturas que não são altas o suficiente para inativar essa toxina (FRENTZEL et al., 2018; EFSA, 2016). Quando os alimentos contendo esporos de *B. cereus* são cozidos a 70 °C, os esporos geralmente sobrevivem e podem retomar a forma vegetativa. Se esses alimentos são deixados para esfriar à temperatura ambiente, a germinação e o crescimento vegetativo podem ser iniciados, levando a produção da toxina emética. Dentre os principais alimentos associados à síndrome emética, pode-se destacar produtos desidratados, massas, queijos e pratos que levem arroz em sua composição. Quanto à presença da bactéria, é comumente encontrada em ervas desidratadas e especiarias, molhos e produtos de pastelaria.

No Quadro 1, foram agrupadas as informações referentes às condições favoráveis à sobrevivência, ao crescimento de *Bacillus cereus* e à produção de enterotoxinas.



**Quadro 1:** Condições favoráveis à sobrevivência, ao crescimento de *Bacillus cereus* e à produção de enterotoxinas.

<i>Bacillus cereus</i>		
<b>pH</b>	Crescimento	4,9 - 9,3
	Estável à toxina emética	2,0 - 11,0
	Estável à toxina diarreica	4,0 - 11,0
	Ótimo	6,0 - 7,0
<b>Temperatura</b>	Crescimento	4 - 55 ° C
	Estável à toxina emética	25 - 30 ° C
	Ótima	28 - 35 ° C
<b>Atividade de água</b>	Mínima para crescimento	0,92 - 0,95
	Ótima	-
<b>[NaCl]</b>	Sobrevivência	< 7,5%
	Ótima	-

Fonte: Adaptado de International Commission on Microbiological Specification for Foods (ICMSF, 1996).

Tratando-se de uma bactéria mesofílica, sua eliminação é facilmente observada através da aplicação de temperaturas elevadas durante o processo de cozimento de alimentos. Das várias formas de tratamento térmico, o cozimento em vapor sob pressão, a fritura e o assar em forno a temperaturas superiores a 100 °C permitirá a eliminação das células vegetativas, contudo parte dos esporos pode não ser eliminado, pois já se sabe que nem todos os esporos poderiam germinar ao mesmo tempo e que resistem a temperaturas superiores a 100 °C (BLACKBURN e McCLURE, 2000). Dessa forma, é necessário controlar dois parâmetros na fase posterior à confecção dos alimentos: tempo e temperatura. Com isso, deve-se manter uma temperatura elevada até o momento do consumo e/ou promover um esfriamento rápido antes de armazenar ou até mesmo garantir que o alimento seja consumido dentro de um prazo determinado de tempo, essencial para evitar altos níveis de contaminação.

### 2.2.1. OCORRÊNCIA DE *B. cereus* EM ALIMENTOS

Em geral, os alimentos são contaminados com esporos de *B. cereus* pelo solo. O número de células no solo pode variar de  $10^3$  a  $10^5$  esporos de *B. cereus* por grama (HALVERSON et al., 1991; KOTIRANTA et al., 2000). Além disso, os esporos podem se aderir a biofilmes devido às propriedades adesivas e, como consequência, os alimentos podem ser contaminados ao circularem por tubulações e superfícies. Em alimentos prontos para consumo, suas células vegetativas geralmente são destruídas por processos térmicos adequados, porém, o armazenamento de produtos processados sem refrigeração ou sob abuso de temperatura e uso de matérias-primas em alimentos complexos permite que esses esporos germinem e cresçam, apresentando riscos aos consumidores (EFSA, 2005).

Estudos realizados com arroz cru indicam que esporos de *B. cereus* são frequentemente isolados deste alimento. Em geral, uma prevalência de 100% foi observada em 2010 na Argentina. Da mesma forma, na Colômbia foram analisadas 244 amostras de alimentos contendo arroz em diferentes regiões do país e os resultados mostraram que 11,92% desses alimentos têm concentrações superiores a  $10^4$  UFC/g, concentrações consideradas de alto risco para a saúde humana (UERIA et al., 2011). Estudos realizados em restaurantes dos Estados Unidos e Reino Unido revelaram que a contaminação também pode ocorrer após o cozimento, principalmente através da contaminação cruzada com espátulas usadas para misturar o arroz durante o processo de cozimento (BRYAN et al., 1981). No Reino Unido, estudos indicam que os pequenos restaurantes representam um risco maior do que os grandes restaurantes, devido à má formação em práticas de higiene, bem como a preparação do arroz muito antes de ser servido (NYCHOLS et al., 1999). A contaminação do alimento durante o processamento também requer a aplicação de boas práticas higiênicas e projeto higiênico adequado dos equipamentos como medidas adicionais para controlar a contaminação dos produtos.

Vidal-Martins et al., em 2006 realizaram uma pesquisa com 300 amostras de leite e evidenciaram que 75% das amostras de leite UHT (*ultra high temperature*) apresentaram concentrações elevadas de *B. cereus*, seguido de 50% de amostras de leite cru e, aproximadamente 21% em amostras de leite pasteurizado. Com isso, a indústria de alimentos e autoridades sanitárias foram alertadas a respeito do

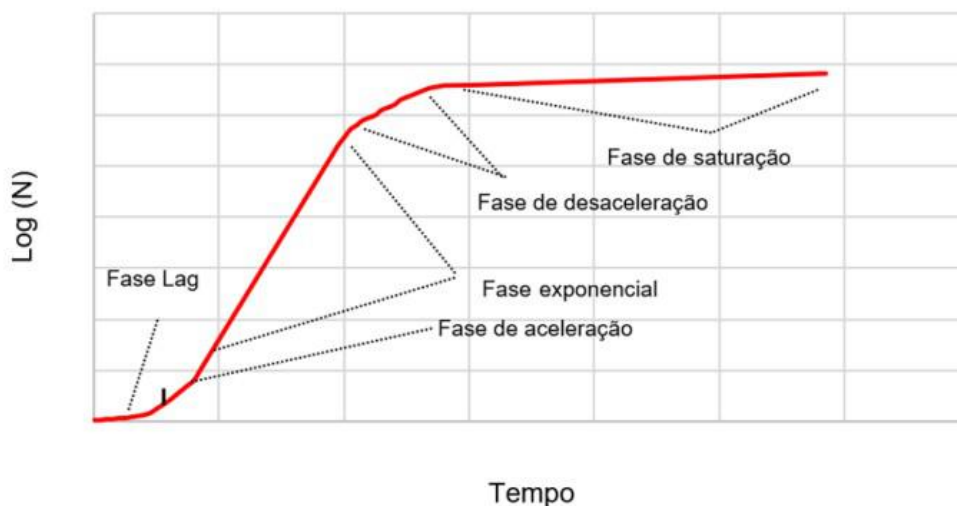
consumo de leite UHT, uma vez que esse alimento pode ser considerado um risco a saúde da população consumidora e indicando uma necessidade de melhorias na cadeia produtiva de leite UHT.

Sánchez, et al. em 2014, avaliaram a presença de *B. cereus* toxigênicos em amido de mandioca e nos suplementos alimentares para crianças em Medellín, na Colômbia. Os autores analisaram 75 amostras de suplementos e de amido e a contaminação foi de 70,7% e 44% respectivamente. Esses alimentos se apresentaram impróprios para consumo, pois as bactérias encontradas poderiam acarretar deterioração nos alimentos e síndromes se ingeridos pelos consumidores

### **2.3. MICROBIOLOGIA PREDITIVA**

A microbiologia de alimentos estuda a influência dos micro-organismos nas características dos produtos alimentícios de consumo humano e animal, além de estar relacionada diretamente com a qualidade microbiológica do produto, preocupando-se à quantidade e ao tipo de micro-organismo que podem estar inicialmente presentes e/ou após o crescimento destes nos alimentos (GIBBS, 2001).

A microbiologia preditiva descreve quantitativamente os efeitos das condições ambientais de exposição, como pH, temperatura, umidade, concentração de sais, inibidores, entre outros, nos processos de crescimento e inativação de micro-organismos em alimentos, baseada na curva de crescimento microbiano. Uma curva típica é composta pela fase *lag*, fase exponencial e fase estacionária ou de saturação e, para alguns autores, também incluem a fase de aceleração e desaceleração, como pode ser observado na Figura 1 (DELHALLE et al., 2012; HALL et al., 2014).



**Figura 1** - Curva de crescimento microbiano.

Legenda: N é o número de micro-organismos

Fonte: Adptado de DELHALLE et al. 2012

Na fase *lag*, ocorre o ajuste da fisiologia e bioquímica das células para torná-las aptas a explorar o ambiente onde se encontram. Na fase exponencial ocorre o crescimento balanceado, no qual a síntese de cada componente celular é ajustada e todo metabolismo é direcionado para a divisão celular. Na fase estacionária a velocidade de crescimento é nula devido ao acúmulo de metabólitos tóxicos no meio de crescimento ou a restrição de algum composto vital para a multiplicação. As fases *lag* e exponencial são as mais importantes na microbiologia, pois o tempo de vida útil dos alimentos, no geral, é atingido antes de alcançar a fase estacionária. Dessa forma, quanto maior é a fase *lag* e menor a velocidade de crescimento na fase exponencial, maior é o tempo de vida útil do alimento (NAKASHIMA et al., 2000).

Associado à microbiologia, são utilizados modelos matemáticos que surgiram a partir de estudos quantitativos de micro-organismos sob determinadas condições ambientais. Com isso, pode-se dizer que a microbiologia preditiva foi desenvolvida a partir do conhecimento do crescimento de micro-organismos sob diferentes condições, o que permitiu a modelagem da influência de cada parâmetro ambiental sobre esse crescimento (DANNENHAUER, 2010).

Essa área da microbiologia tem sua origem a partir de trabalhos realizados por Bigelow (1921), Bigelow e Esty (1920) e Esty e Meyers (1922) a partir da

proposição de um modelo logarítmico-linear para descrever a cinética de morte bacteriana utilizando calor. Em 1937, Scott também apresentou ideias relatando a importância de se conhecer a cinética de crescimento de micro-organismos em diferentes temperaturas com o objetivo de prever mudanças populacionais em carnes bovinas. Durante as décadas de 1960 e 1970, diversos trabalhos utilizaram ferramentas matemáticas aliadas à microbiologia para inativação de patógenos em alimentos, como os trabalhos de Spencer e Braines (1964) e Nixon (1971).

Devido a um grande aumento de casos de doenças transmitidas por alimentos, aliado a uma maior consciência das limitações dos métodos microbiológicos utilizados na época (McMEEKIN et al. 1993), a década de 80 foi considerada o período de maior desenvolvimento da microbiologia preditiva, onde de fato *softwares* começaram a ser desenvolvidos para propor modelos complexos e precisos de crescimento microbiano. Alguns estudos tiveram como objetivo descrever a taxa de crescimento de bactérias em função da temperatura utilizando modelos do tipo Bêlehrádek (RATKOWSKY et al., 1982), estudar a probabilidade de crescimento e produção de toxinas em um determinado período (ROBERTS et al., 1981; GENIGEORGIS, 1981), outros desenvolveram outros métodos matemáticos baseados na forma sigmóide da curva de crescimento microbiano, como o modelo logístico e a equação de Gompertz modificada (GIBSON et al., 1987; ROBERTS, 1994). Essas pesquisas levaram a avanços importantes na modelagem, propondo diferentes funções matemáticas para descrever a relação entre temperatura e outros fatores ambientais e parâmetros cinéticos.

### **2.3.1. APLICAÇÕES E VANTAGENS**

A utilização dos modelos preditivos é, principalmente, baseada em observações obtidas de experimentos desenvolvidos em condições controladas. Entretanto, como na maioria das vezes esses experimentos são multifatoriais, ou seja, o resultado é dependente dos parâmetros adotados, os dados acabam sendo obtidos de modelos experimentais simplificados baseados em quais fatores primordiais que estão sob controle. Esta prática está de acordo com a abordagem reducionista implícita à microbiologia preditiva, que afirma que o comportamento

microbiano pode ser explicado considerando apenas os fatores mais importantes que governam o fenômeno (McMEEKIN & ROSS, 2002).

Os modelos preditivos são ferramentas importantes e úteis para melhorar a segurança e a qualidade dos alimentos, podendo ser aplicada a diferentes vertentes do setor de alimentos. Entre suas aplicações mais importantes, pode-se destacar sua integração com sistemas de autocontrole, como o Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) para determinar critérios de processo e limites de controle (McDONALD & SUN, 1999) através da análise preliminar de perigo, identificação e estabelecimento de pontos críticos de controle, aplicação de medidas corretivas e avaliação da interação de variáveis (PÉREZ-RODRIGUES et al., 2013).

A área de Avaliação de Risco Microbiológico (ARM) também é uma das áreas mais relevantes que surgiu ao longo das décadas devido à aplicação dos modelos preditivos ajudarem em estudos de vida de prateleira, protegendo e reformulando produtos alimentícios com base em uma segurança ou perspectiva de qualidade (van BOEKEL, 2008). A ARM é definida como um processo de base científica que consiste em 4 etapas: (1) identificação do perigo, (2) caracterização do perigo, (3) avaliação da exposição e (4) caracterização do risco (Codex Alimentarius Commission, 1999). Uma outra abordagem aplicada é a utilização de dados numéricos ou informações quantitativas para avaliar o destino de um micro-organismo patogênico ou não, ao longo da cadeia alimentar, da fazenda à mesa, e estimar o risco associado. O desenvolvimento de um método quantitativo de ARM é baseado nas predições dos modelos, uma vez que em muitos casos não há dados disponíveis experimentais para descrever alguns processos ou etapas específicas da cadeia alimentar (LAMMERDING & FAZIL, 2000).

Uma aplicação da microbiologia preditiva também pode ser evidenciada pela estrutura de gestão de risco proposta pela Comissão Internacional de Especificações Microbiológicas para Alimentos (ICMSF) (VAN SCHOTHORST, 2004), baseada em uma abordagem quantitativa em que os processos alimentares podem ser definidos por aumentos ou decaimentos da carga microbiológica em alimentos. Para isso, modelos preditivos são necessários para descrever o potencial

microbiano em determinadas condições, determinando se aumenta ou diminui ao longo da cadeia produtiva.

Para as indústrias de alimentos, além das questões econômicas, o desejo de produzir alimentos seguros baseia-se na compreensão das fontes e magnitudes dos perigos e é por isso que a APPCC e a avaliação de riscos são importantes para ações de tomada de decisão (McMEEKIN & ROSS, 2002). Assim, a microbiologia preditiva fornece uma visão quantitativa melhorada das propriedades dos alimentos consideradas importantes para a segurança e qualidade dos mesmos (SCHLEI et al., 2018)

#### **2.4. MODELOS PREDITIVOS**

Além das curvas de crescimento, as curvas de inativação também são uma importante ferramenta para a segurança de alimentos e melhoria da qualidade no tratamento térmico. Um aumento na qualidade pode ser obtido pela possibilidade de redução de tempo e temperatura no tratamento térmico, obtendo o mesmo ou superior efeito de inativação de micro-organismos (GARRE *et al.*, 2017). Os modelos podem ser classificados em mecanísticos ou empíricos. Os modelos mecanísticos descrevem a resposta microbiana com base teórica. Entretanto, por se tratar de modelos raros e levarem em consideração a complexidade da fisiologia microbiana, não são facilmente ajustados, dificultando a sua utilização. Por isso, os modelos empíricos são mais utilizados e descrevem um conjunto de dados por meio de uma relação matemática conveniente, se ajustando facilmente à fisiologia microbiana, favorecendo a sua utilização (KRIST et al., 1998).

Os modelos empíricos são classificados em modelos cinéticos e probabilísticos. Os modelos cinéticos levam em consideração o estudo do comportamento da população microbiana, crescimento, velocidade de crescimento e/ou destruição de micro-organismos, em função do tempo (NAKASHIMA *et al.*, 2000). É bastante utilizado em situações em que há crescimento de micro-organismos patogênicos não produtores de toxinas e para deteriorantes (ROBERTS, 1992).

Os modelos probabilísticos são oriundos da probabilidade da ocorrência de algum evento, como a germinação de esporos, formação de metabólitos secundários, também em função do tempo (NAKASHIMA *et al.*, 2000). Na maior parte das vezes estes modelos são utilizados em situações em que é estritamente proibido o crescimento de micro-organismos específicos (ROBERTS, 1992).

A primeira proposição de classificação dos modelos em primários, secundários e terciários foi feita por Whiting e Buchanan (1993). Os três grupos descritos se diferem, de forma geral, em:

- Modelos primários: Não há variação de fatores ambientais; descreve o crescimento microbiano em função do tempo.
- Modelos secundários: Há variação de fatores ambientais; descreve parâmetros cinéticos em função de influenciadores externos, como pH, temperatura, atividade de água, entre outros.
- Modelos terciários: Há integração dos dois modelos anteriores com ferramentas de *softwares*.

#### **2.4.1. MODELOS PRIMÁRIOS**

O conceito dos modelos primários para o crescimento microbiológico está diretamente relacionado com a descrição dos processos cinéticos com o menor número de parâmetros possíveis, mas permanecendo eficiente em diferenciar os estágios de crescimento microbiano, já descritos na Figura 1. Para isso, foram desenvolvidas diversas equações e modelos matemáticos que pudessem explicar e descrever o crescimento microbiano segundo esses parâmetros. Dentre elas, as que ganham mais destaques são: Equação logística modificada, Gompertz modificada, Baranyi e Hills, descritas no Quadro 2.



**Quadro 2** - Modelos primários de crescimento microbiano e suas equações.

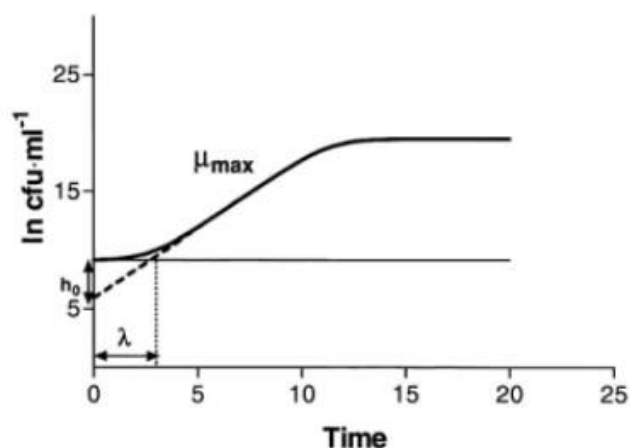
Nome do modelo	Equação
Logística modificada	$\log x(t) = A + \frac{C}{1 + e^{(-B)(t-M)}}$ (1)
Gompertz modificada	$\log x(t) = A + C \exp\{-\exp[-B(t-M)]\}$ (2)
	$y(t) = y_0 + \mu_{\max} A(t) - \frac{1}{m} \ln$ (3)
Baranyi	$A(t) = t + \frac{1}{v} \ln \left( \frac{e^{-vt} + q_0}{1 + q_0} \right)$ (4)
Hills	$M(t) = M(0) \exp(At)$ (5)

Legenda:  $x(t)$  é o número de células em um determinado tempo  $t$ ,  $A$  é a contagem assintótica quando  $t$  decresce para zero,  $C$  a diferença dos valores superiores e inferiores à assíntota,  $B$  a taxa de crescimento relativo em  $m$ ,  $m$  o tempo no qual a taxa de crescimento absoluto é máxima,  $q_0$  é o parâmetro que está relacionado ao estado fisiológico da célula,  $y$  é a contagem de micro-organismos em log,  $y_0$  é a contagem de micro-organismos inicial,  $\mu_{\max}$  é a taxa de crescimento máxima,  $M$  é o total de biomassa em cultura celular,  $n$  é o número total de células em cultura e  $v$  é parâmetro de curvatura para caracterizar a transição para a fase exponencial.

Fonte: McMEEKIN et al., 1993; SKINNER et al., 1994; BARANYI, 1994; HILLS et al., 1994).

Apesar de ser considerada uma das primeiras equações com parâmetros definidos e associados à microbiologia preditiva, McMeekin em 1993 fez duras críticas à utilização dessas equações. A falta de interpretação dos mecanismos utilizados faz com que a equação seja utilizada de forma empírica. Com isso, a comunidade científica vem propondo novas equações que modelem o crescimento microbiano, levando em consideração mecanismos básicos de crescimento, como a equação do modelo de Baranyi e modelo de Hills.

Para Baranyi (1993), um novo modelo foi introduzido, uma vez que a fase *lag* é atribuída à necessidade de síntese de um substrato desconhecido  $q$ , crítico para o crescimento. Uma vez ajustado ao novo ambiente que estão localizados, os micro-organismos crescem exponencialmente até restrições do meio impedirem seu crescimento. Com isso, a curva de crescimento microbiano passa a ser interpretada conforme demonstrado na Figura 2, atribuindo também novos parâmetros.



**Figura 2** - Exemplo de uma curva de crescimento proposta por Baranyi e Roberts (1994).

Legenda:  $h_0$  é a duração da fase lag,  $\mu_{max}$  é a velocidade máxima específica de crescimento e  $\lambda$  é a duração da fase lag.

Fonte: Baranyi e Roberts (1994).

Esse modelo foi utilizado recentemente para descrever o crescimento de *Aeromonas hydrophila* em atum cru (KIM et al., 2022), e foi concluído que os resultados sugerem uma futura contribuição para o desenvolvimento de um modelo ótimo de crescimento de *A. hydrophila* sob uma variedade de condições ambientais. Esse modelo de crescimento pode ser utilizado para desenvolver produtos usando atum cru e para estabelecer pontos críticos de controle e limites críticos na aplicação de sistema APPCC.

Para Hills (1994), o modelo mais provável seria combinar um modelo cinético estruturado com equações de reação-difusão que descrevessem o transporte de nutrientes, levando em consideração que a síntese de DNA e a divisão celular são dependentes do excesso de biomassa celular (HILLS et al., 1994,).

O modelo de Hills pode ser generalizado para sistemas espacialmente não homogêneos, como superfícies de alimentos. Se mais informações cinéticas forem conhecidas, elas podem ser incorporadas na equação, podendo contribuir para descrever fenômenos de lesão letal e subletal e condições transientes. Há poucas aplicações do modelo de Hills. Entretanto, o modelo foi aplicado para ajustar dados de crescimento para *Listeria monocytogenes* (HILLS et al., 1994) e *Salmonella Typhimurium* (BROCKLEHURST, et al., 1997).

## 2.4.2. MODELOS SECUNDÁRIOS

Os modelos secundários são aqueles que descrevem a variação dos parâmetros cinéticos em função da variação de uma condição ambiental, tendo como principais os modelos de Belehrádek, modelo de Ratkowsky ou raiz quadrada, modelo de Arrhenius, modelos modificados de Arrhenius, modelos probabilísticos, valores Z, polinomiais ou resposta, modelo de superfície, modelo de Williams-Landel Ferry, modelo log-logístico, modelo de Weibullde e Modelo de Ding. (WHITING, 1995; McDONALD & SUN, 1999; NAKASHIMA et al., 2000; McMEEKIN & ROSS, 2002; MARKS, 2008; CHENG, 2007; DING et al., 2012). Esses modelos podem ser divididos em dois grandes grupos, sendo o primeiro estabelecido para fornecer alta qualidade de ajuste com base na interpretação biológica dos parâmetros, que geralmente levam a melhores estimativas, simplificando o modelo, e o segundo grupo descreve de forma puramente empírica uma relação subjacente e desconhecida entre parâmetros de evolução microbiana e as influências ambientais (GIBSON et al., 1988; HAJMEER et al., 1997). Resumidamente, os modelos secundários mais importantes que descrevem o crescimento microbiano estão descritos no Quadro 3.

**Quadro 3** - Modelo secundário de crescimento microbiano e equações associadas.

Nome da função	Equação
Modelo de Arrhenius	$k = k_0 \exp\left(\frac{-E_0}{RT_0}\right)$ (6)
	$\ln(k) = \ln(k_0) - \frac{E_0}{RT_0}$ (7)
Ratkowsky	$\sqrt{k} = b(T - T_{min})$ (8)
Polinomial (modelo linear)	$y = a_0 + \sum_i b_i x_i$ (9)

Legenda: K é a taxa de crescimento específica em [log(ufc/mL.h)], K<sub>0</sub> é constante, E<sub>0</sub> é energia de ativação em kJ/mol, R é a constante universal dos gases, T<sub>0</sub> é a temperatura absoluta em Kelvin, T é a temperatura experimental em °C, T<sub>min</sub> é uma temperatura mínima especulativa de crescimento microbiano em °C, b é o coeficiente de regressão linear, y representa a variável de resposta, x<sub>i</sub> é o fator ambiental, a<sub>0</sub> e b<sub>i</sub> são coeficientes de regressão.

Fonte: WHITING, 1995; McDONALD & SUN, 1999; NAKASHIMA et al., 2000; ROSS, 2002; MARKS, 2008.

O modelo de Arrhenius, que utiliza a equação clássica de Arrhenius, é derivado empiricamente de considerações termodinâmicas para descrever a relação entre a taxa específica de crescimento microbiano e a temperatura (LABUZA & RIBOH, 1982).

Entretanto, devido à complexidade que pode ser observada pela influência de fatores externos para o crescimento microbiano, as extrapolações de gráficos podem gerar curvas inconsistentes e não compatíveis com a realidade. Alguns estudos indicam que o modelo de Arrhenius é inadequado para descrever a resposta da taxa de crescimento abaixo de um mínimo ou acima de um ótimo para o crescimento em sistemas biológicos (RATKOWSKY et al., 1982; ROSS E McMEEKIN, 1994), sendo amplamente utilizado em faixas de temperatura limitadas (LABUZA & FU, 1993). Recentemente, o modelo de Arrhenius foi utilizado para prever o tempo de prateleira de *Litopenaeus vannamei* em baixas temperaturas, que beneficiaria partes interessadas no desenvolvimento de melhores práticas de gestão de controle (DON et al., 2018).

Outro modelo frequentemente utilizado é o de Ratkowsky ou modelo de raiz quadrada. Esse modelo foi desenvolvido originalmente baseado no modelo de Belehrádek (1930) para descrever uma relação linear entre a raiz quadrada da taxa de crescimento específico e a temperatura. Entretanto, como previamente dito, o modelo é bastante utilizado em faixas de temperaturas limitadas, geralmente baixas temperaturas, entre -2 °C e 15 °C. Com o objetivo de tornar mais eficiente essa equação, estendendo-a para temperaturas mais elevadas vários termos podem ser adicionados. Manthou et al. (2020) utilizaram o modelo preditivo para prever o crescimento de *Pseudomonas* spp. indígena em cogumelo ostra como uma função de temperaturas de armazenamento, demonstrando que o modelo dinâmico exibiu uma performance satisfatória quando validado externamente e pode ser considerado promissor com o objetivo de prever a população de *Pseudomonas* spp indígena.

O modelo polinomial ou resposta de superfície também é bastante utilizado por estabelecer relação entre parâmetros do próprio modelo com fatores ambientais.

Esse modelo foi primeiramente descrito por Gibson em 1988 para descrever o crescimento microbiano e o tempo de fase *lag* como uma função de temperatura de armazenamento, pH e concentração de sal.

### 2.4.3. MODELOS TERCIÁRIOS

Os modelos terciários utilizam programas computacionais que combinam os modelos primários e secundários podendo calcular respostas microbianas em diferentes condições e comparar o efeito dessas variações ou ainda contrastar o comportamento de vários micro-organismos (OLIVEIRA et al., 2013). No Quadro 4 estão listados alguns dos programas associados à microbiologia preditiva, disponíveis na internet juntamente aos sites que permitem esse acesso.

**Quadro 4 - Softwares associados à microbiologia preditiva.**

<b>Software</b>	<b>Site de acesso</b>
<i>ComBase Predictor</i>	<a href="http://modelling.combase.cc/ComBase_Predictor.aspx">http://modelling.combase.cc/ComBase_Predictor.aspx</a>
<i>Pathogen Modeling Program (PMP)</i>	<a href="http://pmp.arserrc.gov/PMPOne.aspx">http://pmp.arserrc.gov/PMPOne.aspx</a>
<i>Seafood Spoilage Predictor</i>	<a href="http://www.dfu.min.dk/micro/ssp">http://www.dfu.min.dk/micro/ssp</a>
<i>Growth Predictor</i>	<a href="http://www.ifr.ac.uk/Safety/GrowthPredictor/">http://www.ifr.ac.uk/Safety/GrowthPredictor/</a>
<i>THERM</i>	<a href="http://www.wisc.edu/foodsafety/meatresearch">http://www.wisc.edu/foodsafety/meatresearch</a>
<i>Bacanova Project</i>	<a href="http://www.ifr.ac.uk/bacanova/default.html">http://www.ifr.ac.uk/bacanova/default.html</a>
<i>Refrigeration Index</i>	<a href="http://www.mla.com.au">http://www.mla.com.au</a>
<i>Sym'Previus</i>	<a href="http://www.symprevius.net">http://www.symprevius.net</a>
<i>Food Product Modeller</i>	<a href="http://www.agresearch.co.nz">http://www.agresearch.co.nz</a>

Fonte: Sites de acesso encontrados no Quadro 4.

Diversos estudos vêm sendo feitos para que novos programas aliados à microbiologia preditiva sejam desenvolvidos, aumentando cada vez mais a eficiência da utilização desses recursos para a predição do comportamento microbiano sob a influência de diversos fatores. Esses programas funcionam como uma base de

dados onde a informação é facilmente compartilhada. Caso algum pesquisador tenha feito uma simulação e indexado nessa base de dados, após ser verificado a veracidade das informações submetidas, a análise fica disponível para ser consultada por qualquer pessoa ao redor do mundo. Dentre os mais utilizados, encontram-se o *ComBase Predictor* e o *Pathogen Modeling Program (PMP)*.

#### **2.4.3.1. PATHOGEN MODELING PROGRAM (PMP) ONLINE**

O Pathogen Modeling Program (PMP) foi desenvolvido pelo Departamento de Agricultura e Serviço de Pesquisa Agrícola dos Estados Unidos da América (USDA-ARS), no início dos anos 90. Nesse software, é possível obter a previsão de comportamento microbiano baseado na multiplicação (*Growth*), sobrevivência (*Non-thermal Inactivation*), inativação térmica (*Thermal Inactivation*), resfriamento (*Cooling*), transferência (*Transfer*) e contaminação cruzada (*cross contamination*). Todas as previsões contêm referências dos estudos utilizados para determinar o comportamento microbiano e são gerados a partir de meios de cultura e alimentos específicos.

Com uma interface mais simples, o programa permite escolher a bactéria patogênica a partir de um modelo de crescimento ou selecionar uma bactéria específica e, a partir dessa escolha, prever o seu comportamento frente a um dos modelos que o programa disponibiliza. Após selecionar todos os parâmetros para que a predição seja feita, os resultados são apresentados em formato de gráficos e tabelas. No entanto, as previsões utilizando o PMP são específicas para bactérias, assim, não é possível utilizar o *software* para garantir previsões para outras cepas microbianas ou outros ambientes sem que suas validações sejam previamente adequadas.

#### **2.4.3.2. COMBASE PREDICTOR**

O *ComBase* é o *software* de Microbiologia Preditiva mais utilizado mundialmente, somando mais de 70.000 usuários pelo mundo. Trata-se de um programa com acesso gratuito e engloba um conjunto de modelos de previsão de resposta de patógenos importantes de origem alimentar ou de muitos micro-organismos

deteriorantes em função de fatores ambientais, incluindo temperatura, pH e concentração de sal (*COMBASE PREDICTOR*, 2012).

Lançado em 2003 e atualmente administrado pela Universidade da Tasmânia e pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos da América – Serviço de Pesquisa Agrícola (USDA-ARS), o *ComBase* conta com mais de 60.000 registros do comportamento microbiano em ambientes alimentares como crescimento, sobrevivência ou inativação em meios de culturas e alimentos.

Em *Browser* é possível realizar a pesquisa em um banco de dados do programa que é alimentado por diversas instituições que realizaram pesquisas e avaliaram o comportamento de micro-organismos deteriorantes e patogênicos em alimentos e meios de cultura. A pesquisa pode ser feita a partir de classificações como: Micro-organismos, categoria de alimentos, nome de alimentos, condições, propriedades, temperatura, atividade de água e/ou concentração de NaCl, pH, autor e Record ID. Em micro-organismos, podem ser classificados em patógenos, bactérias deteriorantes e bolores e leveduras. Em condições, podem ser selecionadas diferentes concentrações de conservantes, embalados a vácuo e presença de microbiota natural. Em propriedades pode-se selecionar inoculação de esporos, cepas resistentes a antibióticos ou tolerantes a ácidos.

Em *Broth Models* é possível obter as previsões baseadas em dados selecionados do banco de dados, a partir dos modelos matemáticos, em função de fatores ambientais. Os modelos disponíveis são de multiplicação, inativação térmica e sobrevivência não térmica.

Em *Food models* é possível observar o crescimento de micro-organismos patogênicos em alimentos. Atualmente, o software conta com a disponibilidade de dados de dois modelos: *Perfringens predictor* e *Salmonella in egg*, que preveem a multiplicação de *Clostridium perfringens* durante o resfriamento de carnes e *Salmonella* resistente a antibióticos em produtos líquidos à base de ovos, entre 10 e 42 °C.

Em *DMFit* é possível realizar ajustes de dados experimentais de acordo com os modelos de Baranyi e Roberts, trilinear, bifásico ou linear. Com a adição dos dados experimentais, ao clicar em FIT, os pontos (contagem microbiana x tempo) serão ajustados aos modelos selecionados.

Já em *Resources* é possível observar uma série de ferramentas de microbiologia preditiva e sua descrição, que podem redirecionar o usuário para páginas específicas envolvendo aquelas ferramentas. Em “Help” há uma explicação mais detalhada em como utilizar cada tópico do programa.

É importante ressaltar que, tanto para o PMP quanto para o *ComBase Predictor*, as previsões utilizando esses programas não são 100% precisas, pois variações e incertezas são inseridas por meio de erros experimentais e ajustes nos modelos primários e secundários. Apesar disso, a utilização da microbiologia preditiva é uma importante estratégia para gestão e garantia de segurança em alimentos.



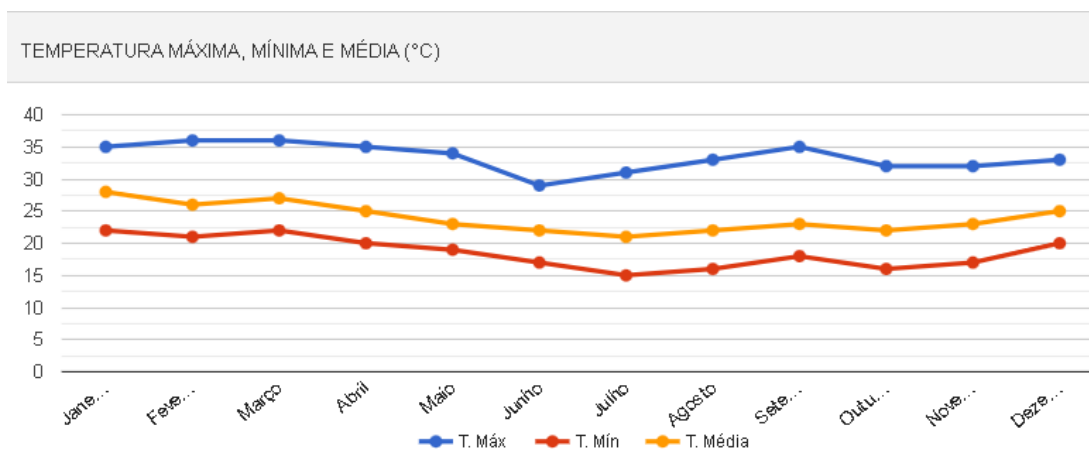
### 3. METODOLOGIA

Foram escolhidos parâmetros que influenciam diretamente o crescimento microbiano, sendo: Temperatura, matrizes alimentares que fazem parte da composição básica das refeições prontas para consumo, o microrganismo de interesse e o *software* utilizados.

#### 3.1. ESCOLHA DOS PARÂMETROS PARA A PREDIÇÃO

##### 3.1.1 TEMPERATURA

Para estimar a faixa de temperatura avaliada, foi utilizada como referência a cidade do Rio de Janeiro. No gráfico da Figura 3 pode ser observada as temperaturas máximas, mínimas e médias dos meses de janeiro até dezembro do ano de 2021. Com isso, as investigações quanto o crescimento microbiano foi realizado nas temperaturas de 34 °C, 25 °C e 15 °C, atendendo ao perfil de temperatura da cidade ao longo do ano.



**Figura 3** - Perfil de temperaturas máxima, mínima e média para ano de 2021 na cidade do Rio de Janeiro.

Fonte: Central de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos/Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais – CPTEC/INPE.

### 3.1.2. DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO BÁSICA DE UMA QUINTINHA

A matriz alimentar foi selecionada baseada na composição básica de uma quentinha. Como observado presencialmente de modo recorrente, essa composição envolve arroz, feijão e macarrão cozidos, purê de batata e carne, seja bovina ou de frango, assim como demonstrado na Figura 4. Logo, as predições foram realizadas utilizando essas matrizes como alvo do crescimento microbiano.



**Figura 4** - Ilustração da composição básica de uma quentinha, contendo arroz e feijão cozidos, macarrão, purê de batata e carne moída.

Fonte: Freepik, imagens livres de royalties.

### **3.1.3. MICRO-ORGANISMO DE INTERESSE**

Para a determinação do micro-organismo de interesse, foi utilizado como base os dados obtidos pelo Informe 2022 da Secretaria de Vigilância Sanitária em Saúde do Ministério da Saúde e pelo Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Através do site do CDC, foi possível pesquisar e acessar dados de relatórios e surtos de doenças transmitidas por alimentos e água, surtos de doenças entéricas disseminadas por contato por fontes ambientais, pessoas ou animais infectados, além de outros meios de pesquisa, nos Estados Unidos da América (EUA).

Para a obtenção dos dados pelo CDC, foi selecionada apenas a opção “Foodborne”, que contém informações provenientes de matrizes alimentares, escolhido os anos entre 2010 e 2020, e adicionado em “Food/Ingredients” os alimentos que fazem parte da composição básica de uma quentinha, determinados no item 3.1.2.

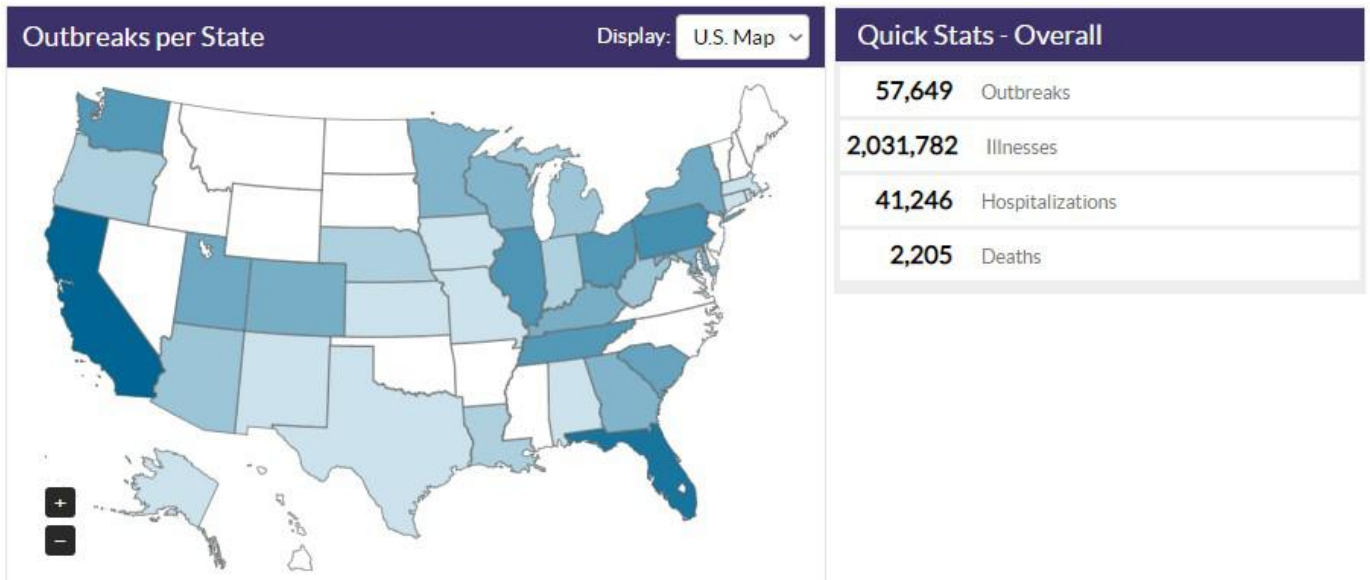
### **3.1.4. APLICAÇÃO DO SOFTWARE COMBASE PREDICTOR**

Para os resultados obtidos, apenas o *software* ComBase Predictor foi utilizado. Apesar de outros *softwares* terem sido citados ao longo do trabalho, o ComBase foi o mais completo, contendo todas as informações desejadas a respeito das temperaturas, do micro-organismo e das matrizes alimentares escolhidas. Através da ferramenta *Browser* do *software* foram adicionadas as informações sobre matriz alimentar e microrganismo de interesse, que geraram gráficos contendo o comportamento microbiano sob parâmetros desejados. Os parâmetros cinéticos de crescimento como duração da fase de *lag*, taxa máxima de crescimento e tempo de geração foram calculados através das curvas de crescimento geradas a partir da interpolação dos pontos experimentais utilizando o programa DMFit, com o *software* *ComBase*, baseado na equação de Baranyi e Roberts (1994).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 MICRO-ORGANISMOS PRESENTES NAS MATRIZES ALIMENTARES DE INTERESSE

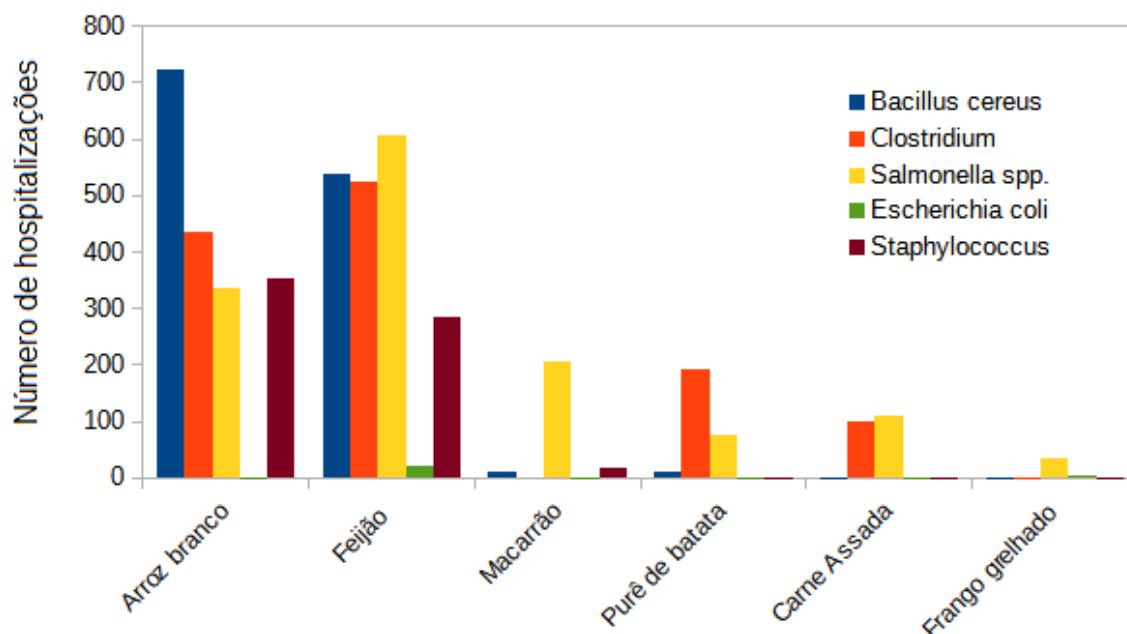
Como pode ser observado na Figura 5, no período de 2010 a 2020 nos Estados Unidos foram observados 57.649 surtos alimentares, sendo reportados 2.031.782 surgimentos de sintomas relacionados a ingestão de alimentos contaminados com micro-organismos. Desses casos, 41.246 resultaram em hospitalização e 2.205 mortes.



**Figura 5** - Panorama dos Estados Unidos, relatando os surtos alimentares, reportes de sintomas e doenças, hospitalizações e mortes, no período de 2010 a 2020.

Fonte: National Outbreak Reporting System (NORS), Center for Disease Control and Prevention

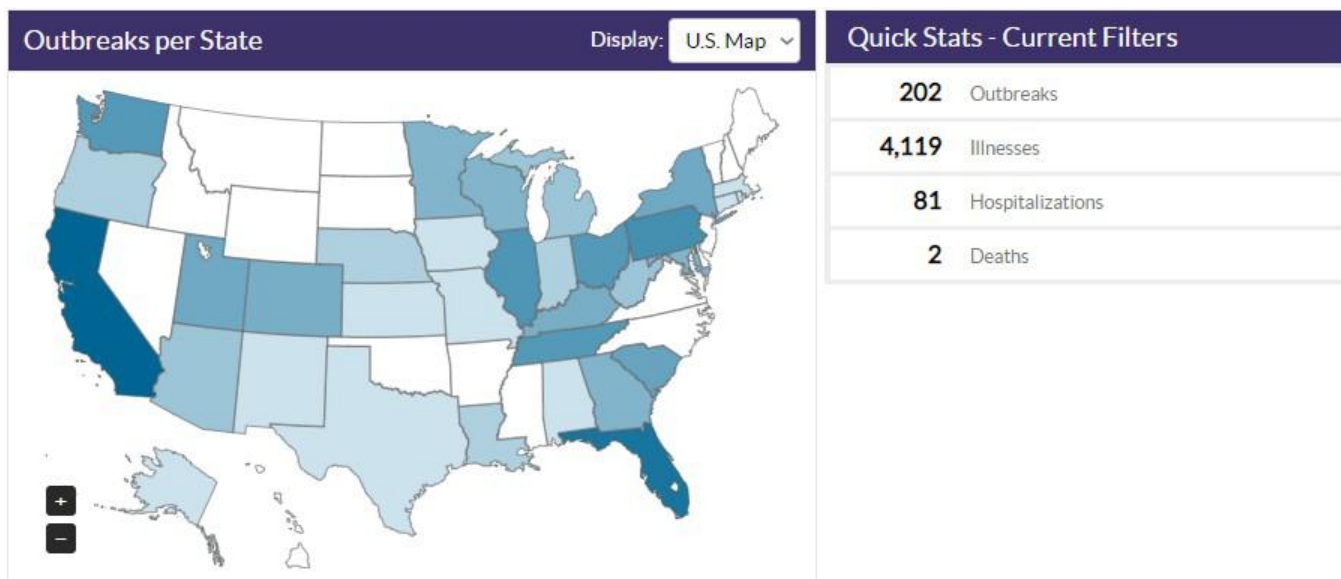
Com esses dados foi possível criar um gráfico, observado na Figura 6, relacionando as matrizes alimentares de interesse no trabalho, o número de casos relatados envolvendo o surgimento de algum sintoma devido a ingestão de alimentos com concentrações acima do permitido para a saúde humana e os principais micro-organismos envolvidos.



**Figura 6** - Relação entre as matrizes alimentares de interesse e os principais micro-organismos envolvidos com o desenvolvimento de sintomas relacionados à ingestão de alimentos contaminados nos Estados Unidos, de 2010 a 2020.

Pode-se destacar a presença de *B. cereus*, micro-organismos do gênero *Clostridium*, *Salmonella*, *Staphylococcus* e *Escherichia coli* como um dos principais micro-organismos relacionados às seis matrizes alimentares envolvidas no estudo. Traçando um paralelo com o Brasil, onde o consumo de alimentos costuma seguir uma base contendo principalmente arroz e feijão, é possível alertar que o micro-organismo *B. cereus* está diretamente relacionado a surtos ou doenças transmitidas por alimentos, envolvendo principalmente essas duas matrizes alimentares. Com isso, esse micro-organismo foi selecionado como aquele a ser estudado no trabalho pois seu relato expressivo principalmente em arroz e feijão desperta um alerta sobre os riscos que os consumidores estão submetidos ao ingerirem esses alimentos que foram previamente preparados e armazenados em condições que podem garantir seu crescimento e desenvolvimento.

Analisando de forma mais aprofundada para *B. cereus*, pode-se também observar na Figura 7 que, nos Estados Unidos, para o mesmo período de tempo, foram observados 202 surtos alimentares, sendo 4.119 reportes de sintomas, 81 hospitalizações e 2 mortes, reafirmando seu risco associado.



**Figura 7** - Representação do mapa dos Estados Unidos, dividido por estados, apresentando as informações de surtos, doenças, hospitalização e morte envolvendo *Bacillus cereus*, de 2010 a 2020.

Fonte: National Outbreak Reporting System (NORS), Center for Disease Control and Prevention.

Dessa forma, foi determinado que o micro-organismo de interesse seria *B. cereus*, importante patógeno alimentar envolvido em diversos surtos de doenças transmitidas por alimentos não somente no Brasil, mas também no mundo.

#### 4.2 PARÂMETROS CINÉTICOS DE CRESCIMENTO DE *B. cereus*

Os parâmetros cinéticos de crescimento podem ser observados na Tabela 1. Todos os valores que compõem a tabela, assim como o perfil de crescimento microbiano podem ser observados nos gráficos localizados no apêndice do trabalho.

**Tabela 1** - Parâmetros cinéticos obtidos pelo *software ComBase*, onde  $\mu_{\max}$  é a taxa específica máxima de crescimento e TG, tempo de geração, para o crescimento de *B. cereus* nas diferentes matrizes alimentares normalmente presentes em uma refeição pronta para consumo.

Matriz Alimentar	Predições			
	T (°C)	Fase lag (h)	$\mu_{\max}$ (log UFC/h)	TG (h)
Arroz Cozido	15	24,39	0,146	2,065
	25	5,83	0,611	0,493
	34	2,26	1,579	0,191
Feijão Cozido	15	30,70	0,116	2,597
	25	8,15	0,437	0,688
	34	3,46	1,028	0,293
Macarrão	15	35,26	0,101	2,991
	25	10,17	0,350	0,860
	34	4,66	0,765	0,394
Purê de batata	15	33,28	0,107	2,803
	25	9,11	0,391	0,770
	34	4,00	0,891	0,338
Carne Assada	15	24,39	0,146	2,065
	25	5,83	0,611	0,493
	34	2,26	1,579	0,191
Peito de Frango	15	31,52	0,113	2,664
	25	8,46	0,421	0,714
	34	3,63	0,980	0,307

De forma geral, o comportamento dos parâmetros cinéticos foi semelhante para as diferentes matrizes. A duração da fase *lag* e do tempo de geração diminuem com o aumento da temperatura e, como esperado, ocorre o inverso para a taxa específica de crescimento. A temperatura e o tempo são, então, os principais fatores relacionados ao controle do crescimento microbiano em alimentos perecíveis.

A 15 °C, próximo à temperatura mínima de crescimento de *B. cereus* é possível observar uma fase *lag* extensa variando entre 24,4 e 35,3 horas. Para essa mesma temperatura, os valores da taxa específica de crescimento foram baixos, variando de

0,10 a 0,15 log UFC/h, e os valores para o tempo de geração também foram baixos, variando entre 2,07 e 2,99 horas. Os valores observados para esses parâmetros podem ser explicados pela adaptação necessária do micro-organismo com o meio ao qual está inserido, antes de iniciar o crescimento exponencial. Por estar submetido a uma temperatura mais afastada da ótima para o seu crescimento, a adaptação do micro-organismo é dificultada, prolongando a fase *lag*. Como o crescimento de micro-organismos patogênicos está associado a promoção de doenças em seres humanos, é necessário prever o tempo da fase *lag* com precisão, além de entender a velocidade de crescimento em condições determinadas (GALARZ et al., 2010).

Com a temperatura aumentada para 25 °C é observado uma alteração em todos os parâmetros obtidos. A fase *lag* adota valores entre 5,8 e 10,2 horas, taxa específica de crescimento entre 0,35 e 0,61 log UFC/h e tempo de geração entre 0,49 e 0,96 horas. A 34 °C, estando mais próximo da temperatura ótima de crescimento determinada por Gillbert et al. (1974), esses valores se alteram ainda mais. A fase *lag* agora varia entre 2,3 e 4,7 horas, taxa específica de crescimento entre 0,77 e 1,58 log UFC/h e tempo de geração entre 0,19 e 0,39 horas, para as matrizes definidas como alvo desse estudo.

#### **4.3 DEFINIÇÃO DOS PARÂMETROS CRÍTICOS NA CINÉTICA DE CRESCIMENTO DE *B. cereus***

Foi definida entre as seis matrizes e três temperaturas avaliadas, qual a condição crítica de crescimento de *B. cereus*, que representa maior risco se consumida, devido à maior possibilidade de produção de células vegetativas acima da concentração máxima, descrita na Tabela 2. A temperatura de 34 °C foi determinada como crítica para todas as matrizes alimentares. Foi determinado então os parâmetros críticos de crescimento, ou seja, os parâmetros na condição que maior oferece risco após o consumo, para cada matriz alimentar que compõe as refeições coletivas.



**Tabela 2** - Determinação dos parâmetros críticos relacionados à cinética de crescimento de *B. cereus* na temperatura de 34 °C.

Parâmetros críticos de cada matriz alimentar a 34°C			
Matriz Alimentar	Fase lag (h)	$\mu_{max}$ (log UFC/h)	TG (h)
Arroz Cozido	2,26	1,305	0,231
Feijão Cozido	3,46	1,028	0,293
Macarrão Cozido	4,66	0,765	0,394
Purê de Batata	4,00	0,891	0,338
Carne Assada	2,26	1,305	0,231
Peito de Frango	3,63	0,980	0,307

A temperatura de 34°C foi determinada como crítica para todas as matrizes alimentares, pois quando comparadas às outras temperaturas de 15 e 25°C, foi a que demonstrou os menores valores de fase *lag*, o que indica um menor tempo de adaptação do micro-organismo ao meio, garantindo melhores condições para o seu crescimento e desenvolvimento nas refeições. Além disso, destacam-se valores elevados de  $\mu_{max}$ , ou seja, a alta velocidade máxima de crescimento observada, e menores tempos de geração, que é o tempo necessário para a formação de duas células a partir de uma. Uma justificativa relevante para a determinação de 34°C como temperatura crítica comum para todas as matrizes é o fato da temperatura ótima de crescimento de *B. cereus* ser entre 28 e 35°C, como demonstrado no Quadro 1.

Dessa forma, é possível inferir que quanto mais próximo da temperatura ótima de crescimento desse micro-organismo, menor é o tempo que essa matriz pode ser mantida sob armazenamento. Com essa informação, torna-se importante trabalhar respeitando o binômio tempo-temperatura. Em situações em que o tempo não pode ser alterado, a temperatura de armazenamento deve ser um fator importante a ser analisado, utilizando aquele que menos favorece o crescimento microbiano. Em situações em que a temperatura não pode ser alterada, o tempo de armazenamento deve ser o fator mais relevante a ser estudado para garantir que o crescimento de *B.*

*cereus* seja inferior à concentração máxima que causa danos à saúde de quem consome.

Na Tabela 3, é possível observar o tempo crítico de armazenamento que foi encontrado através dos gráficos gerados pelo *software*, localizados no apêndice do trabalho. Dessa forma, foi determinado o tempo necessário para atingir a concentração de  $10^6$  UFC/g de células vegetativas, que conhecidamente é responsável por causar danos a saúde humana através da produção de enterotoxinas (FRENTZEL et al., 2018; EFSA, 2016). Esses valores foram calculados considerando uma concentração inicial padronizada de *B. cereus* de  $10^2$  log UFC/g.

**Tabela 3** - Tempo crítico de armazenamento para cada matriz alimentar a temperatura de 34 °C.

Tempo crítico de armazenamento	
Matriz Alimentar	Tempo (h)
Arroz Cozido	4,8
Feijão Cozido	7,3
Macarrão Cozido	10,1
Purê de Batata	8,5
Carne Assada	4,8
Peito de Frango	7,8

O arroz cozido e a carne assada foram determinados como as matrizes alimentares críticas entre as seis analisadas, por apresentarem o menor tempo de armazenamento necessário para atingir a concentração de  $10^6$  UFC/g de células vegetativas. Numericamente, os valores dos parâmetros cinéticos de crescimento para essas duas matrizes são idênticos, o que gerou um tempo crítico de armazenamento também idêntico. Apesar de terem sido realizadas buscas na literatura que confrontem esse resultado, não foram encontrados explicações para tal acontecimento. Dessa forma, após o preparo das refeições, se mantido sob temperatura de 34 °C, o tempo de 4,8 h já é suficiente para que a concentração final

de *B. cereus* em arroz cozido e carne assada, seja igual ou superior a  $10^6$  log UFC, suficiente para causar intoxicação ao consumidor. Uma situação real onde essas condições não são respeitadas, pode ser observada diariamente na cidade do Rio de Janeiro com vendedores que saem pelas cidades e/ou praias com diversas refeições e as mantêm sob condições inadequadas, aguardando a venda de todas as refeições preparadas.

Torna-se importante discutir também que, para estudo de caso, a concentração inicial de *B. cereus* foi padronizada para  $10^2$  UFC/g para todas as matrizes. Entretanto, como relatado ao longo do trabalho, algumas amostras podem conter concentrações mais elevadas devido a má condições higiênico-sanitárias que esses alimentos podem estar submetidos. Dessa forma, é importante ressaltar que o tempo necessário para atingir a concentração de  $10^6$  UFC/g pode ser ainda menor, caso a concentração inicial de micro-organismo seja maior.

A determinação do tempo crítico para arroz e feijão cozidos corroboram com os dados levantados na Figura 5, que demonstram essas duas matrizes alimentares como sendo uma das matrizes com maiores reportes de incidência de contaminação por *B. cereus* nos Estados Unidos nos anos de 2010 a 2020.

Apesar de todos os parâmetros cinéticos de crescimento terem sido calculados, uma importante discussão a ser realizada é que independentemente da composição da refeição coletiva, a presença de uma única matriz em condições ideais para o crescimento de *B. cereus* já é suficiente para haver risco microbiológico quanto ao consumo da preparação. Por isso, a determinação de matrizes alimentares críticas presentes nessa composição alerta ainda mais aos riscos que os consumidores estão submetidos quanto as condições de armazenamento dessas refeições não estão dentro dos padrões determinados pela legislação, abaixo de  $5\text{ }^{\circ}\text{C}$  ou acima de  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Trazendo para a realidade onde as quentinhas geralmente são preparadas um dia antes de serem comercializadas, ou no mesmo dia e ficam longos tempos à temperatura ambiente até serem comercializadas e consumidas, se mantidas à temperatura de  $34\text{ }^{\circ}\text{C}$ , como é a média de alta temperatura da cidade do Rio de Janeiro, 4,8 horas já é considerado um tempo que apresenta riscos para os consumidores, sendo necessária a refrigeração do ambiente de armazenamento, a

manutenção de temperaturas acima de 65°C ou uma maior atenção para que essas marmitas sejam vendidas em um menor tempo possível.

#### 4.4 VIABILIDADE DA MICROBIOLOGIA PREDITIVA

Com a definição e interpretação desses parâmetros, como tempo de geração, fase *lag* e  $\mu_{\max}$ , pode-se traçar um comparativo com o que foi realizado experimentalmente e descrito em literatura para avaliar, de modo geral, se a utilização da microbiologia preditiva é viável para esse microrganismo, como uma ferramenta mais rápida para definir o comportamento microbiano.

Hwang et al. (2018) utilizaram um modelo dinâmico para desenvolver um método terciário capaz de descrever o crescimento e sobrevivência de *B. cereus* a partir da variação da temperatura de armazenamento com o tempo. A partir dos resultados obtidos, as temperaturas mínimas, máximas e ótimas observadas foram de 8,2, 46,8 e 37,6 °C, respectivamente. A taxa de crescimento específica foi de 0,96 log UFC/g/h na temperatura ótima de crescimento. Sabendo da capacidade desse microrganismo em produzir esporos, o trabalho desenvolvido por Juneja et al., (2018) sugeriu que era praticamente inviável inativar esporos de *B. cereus* em arroz durante o cozimento, minimizando o risco ao consumidor. Esses valores de tempo de morte térmica são relevantes para a indústria de serviços de alimentação de varejo para projetar regimes de cozimento e planos APPCC, assim como estabelecer limites críticos de controle para eliminar efetivamente esses esporos em arroz.

Quando analisados em amostras de feijão cozido, Juneja et al., (2018) obtiveram os dados de crescimento a partir de esporos sob várias condições isotérmicas, entre 10 e 49 °C. Os dados obtidos foram ajustados para diferentes modelos de crescimento microbiano e, apesar de todos os quatro modelarem bem esse crescimento, o modelo de Baranyi foi o que melhor descreveu esses dados. Quando um resfriamento foi realizado em etapa única, de 54,5 a 7,28 °C em 6 horas, a população de *B. cereus* não mudou. À medida que a duração do resfriamento exponencial aumentou, o crescimento observado de *B. cereus* também aumentou. Durante o experimento de resfriamento de 21 horas, mais de 4 logs de crescimento foram registrados, indicando que os grãos devem ser resfriados a uma taxa mais

rápida após o cozimento. Já durante o experimento de resfriamento em duas etapas, o crescimento observado de *B. cereus* aumentou à medida que a duração da primeira etapa de resfriamento (54,5 a 27 °C) aumentou. Quando a primeira etapa foi concluída em 1,5 hora, o crescimento observado de esporos foi insignificante. Essas observações são consistentes com a temperatura ótima para o crescimento de *B. cereus* de 30 a 37 °C. Quando o tempo em que o alimento é mantido nesta “zona de perigo” aumenta, há risco de germinação e crescimento de células vegetativas do patógeno.

O estudo de crescimento desse microrganismo também foi analisado para macarrão por Juneja et al. (2007). Como resultado, o crescimento bacteriano aumentou à medida que o tempo de resfriamento também aumentou. A massa resfriada ao longo de 21 horas continha uma média de 4,48 log UFC/g a mais de *B. cereus* do que a massa resfriada ao longo de 6 horas. Da mesma forma, a massa que passou 6,5 horas na faixa de temperatura de 54,5 a 27 °C apresentou em média 1,86 log UFC/g a mais do que a massa com 1,5 hora na mesma faixa de resfriamento. Com a aplicação do modelo primário de Baranyi e secundário de Ratkowsky, foi possível fornecer um modelo capaz de prever o crescimento de *B. cereus* em massas cozidas em condições de crescimento dinâmico. O modelo que foi apresentado por Juneja et al. (2007) permite que a indústria de alimentos determine etapas de resfriamento adequadas para evitar o crescimento desse microrganismo, além de prever seu crescimento durante desvios de temperatura.

Mahakarnchanakul et al., (1999) realizou um estudo para determinar a influência da temperatura no crescimento e produção de toxinas características para cepas mesofílicas de *B. cereus* quando inoculado em purê de batata. Como resultado, foi possível observar o crescimento da população bacteriana em concentrações superiores a  $10^6$  e  $10^7$ , quando submetidos a temperaturas de 30 e 37 °C. Apesar de saber que essas concentrações são conhecidamente responsáveis por causar doenças, a produção de toxinas não foi observada nesse caso. Uma possível explicação para o ocorrido, foi a correlação da composição do substrato como um grande influenciador na produção de toxinas. Além disso, foi possível concluir que o armazenamento de alimentos cozidos à temperatura ambiente antes de servir facilita a germinação e o crescimento de esporos de *B. cereus*, mais uma

vez, evidenciando o risco associado à ingestão de alimentos que fiquem por grandes períodos expostos a temperaturas não ideais de armazenamento.

Güven et al. (2005), analisaram a incidência e caracterização de *B. cereus* em carne e produtos cárneos consumidos na Turquia. Um total de 100 amostras de varejo de carne e produtos cárneos foram examinados, sendo que 22,4% das amostras continham níveis detectáveis de *B. cereus* com contagens variando de 0,69 a 4,80 UFC/g. Outra grande parte continha a presença de outros microrganismos com contagens variando até 9,06 log UFC/g, o que gerou uma discussão sobre inibição do crescimento de *B. cereus* por competição em produtos cárneos. O autor ressalta que, o entendimento sobre o comportamento e crescimento microbiano é uma excelente estratégia para realizar monitoramentos em escala mais ampla, o que fornece mais informações sobre a qualidade de um produto. O gerenciamento preventivo de higiene nos pontos de venda deve ser realizado para garantir uma redução na contaminação microbiana de carnes cruas e processadas.

Dessa forma, analisando os resultados experimentais presentes na literatura, foi possível observar que as maiores concentrações de *B. cereus* encontradas após a finalização dos experimentos foi entre 30 e 37 °C, próximo à temperatura ótima de crescimento desse micro-organismo. De forma comparativa aos resultados obtidos utilizando a ferramenta de microbiologia preditiva, a determinação da temperatura de 34 °C como crítica, dentre as temperaturas médias que compõe o estudo, está compatível com os dados que foram observados experimentalmente para as diferentes matrizes alimentares. Além disso, o perfil de encurtamento da fase *lag* com o aumento da temperatura até a temperatura ótima também foi observado tanto de forma experimental, conforme a discussão anterior, quanto utilizando o *software ComBase Predictor*. Com isso, é possível sugerir que a utilização da microbiologia preditiva é uma importante ferramenta para aumentar a segurança na tomada de decisões por parte da indústria ou pequenos produtores de refeições coletivas e, também, por parte dos consumidores, garantindo previsões próximas ao que acontece experimentalmente.

## 5. CONCLUSÃO

O modelo de Baranyi e Roberts, utilizando o *software ComBase Predictor* foi suficiente para prever o crescimento microbiano de *B. cereus* nas seis matrizes alimentares, sendo elas arroz, feijão e macarrão cozidos, purê de batata, carne assada e peito de frango cozido e nas três temperaturas definidas como referência para a cidade do Rio de Janeiro, de 15, 25 e 34°C. Além disso, os parâmetros cinéticos de crescimento microbiano também foram gerados e foram definidas condições críticas para o desenvolvimento de *B. cereus*. As matrizes alimentares e a temperatura crítica determinada foram arroz cozido e carne assada e 34°C, por apresentarem valores de parâmetros cinéticos considerados favoráveis à contaminação por enterotoxina, caso o consumo da refeição seja realizado. Por fim, foi determinado um tempo de 4,8 horas como tempo crítico de armazenamento a 34°C, como o tempo máximo previsto pelo modelo de crescimento microbiano para se atingir concentrações de *B. cereus* acima da concentração que conhecidamente causa danos à saúde humana após o consumo. Dessa forma, o objetivo geral e os objetivos específicos foram alcançados.

A utilização do modelo preditivo no *ComBase Predictor* segue como uma alternativa para avaliar o crescimento de *B. cereus* uma vez que a comparação com resultados descritos experimentalmente é compatível com os parâmetros definidos através da equação de Baranyi e Roberts.

É necessário levar em consideração que as ferramentas preditivas são construídas a partir de dados experimentais adquiridos em meio de cultura ou matrizes alimentares, em condições laboratoriais ou determinadas. Com isso, é possível que não haja previsão para matrizes alimentares e microrganismos específicos devido à falta de alimentação de informação nessas bases de dados, sendo que mais estudos e investigações sejam realizadas para melhorar as ferramentas preditivas, tornando-as mais aliadas ao setor de alimentos.

Além disso, para trabalhos futuros, pode-se ampliar o estudo para diferentes micro-organismos que sejam os principais para cada matriz alimentar e em diferentes faixas de temperatura, principalmente que abranjam temperaturas superiores a 34 °C, que foi um limitador de temperatura máxima disponível pelo *software*.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGATA, N., Ohta, M., Mori, M., & Isobe, M. (1995). A novel dodecadepsipeptide, cereulide, is an emetic toxin of *Bacillus cereus*. **FEMS Microbiology Letters**, 129(1), 17–20. [https://doi.org/10.1016/0378-1097\(95\)00119-P](https://doi.org/10.1016/0378-1097(95)00119-P).
- AKUTSU, R.C. et al. Adequação das boas práticas de fabricação em serviços de alimentação. Rev. **Nutr. PUCAMP**, v.18, n. 3, p.419-427, 2005.
- BARANYI, J.; ROBERTS, T.A.A. Dynamic approach to predicting bacterial growth in food. **International Journal of Food Microbiology**, v. 23, p. 277-294, 1994.
- BIGELOW W. D, ESTY J. R., The Thermal Death Point in Relation to Time of Typical Thermophilic Organisms, **The Journal of Infectious Diseases**, Volume 27, Issue 6, December 1920, Pages 602–617.
- BIGELOW W. D, The logarithmic nature of thermal death time curves, **The Journal of Infectious Diseases**, Volume 29, Issue 5, November 1921, Pages 528–536.
- BRASIL. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária- ANVISA. Resolução – RDC Nº 216, de 15 de Setembro de 2004. Estabelece procedimentos de boas Praticas para serviço de alimentação, garantindo as condições higiênico-sanitárias do alimento preparado. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 17 setembro de 2004.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária em Saúde. Surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar no Brasil. Informe 2022. Janeiro de 2022.
- BRYAN F.L., BARTLESON C., A., CRISTOPHERSON N. Hazard analysis in reference to *Bacillus cereus* of boiled and fried rice in Cantonese style restaurants. **J. Food Proct.** 1981;44:500–512.
- BUCHANAN, R. L., WHITING, R. C., AND DAMERT, W. C., When is simple good enough: a comparison of the Gompertz, Baranyi, and three-phase linear models for fitting bacterial growth curves, **Food Microbiol.**, 14, 313, 1997
- BUCHANAN, R.L. Identifying and Controlling Emerging Foodborne Pathogens: Research Needs. **Emerging Infectious Diseases**, v.3, n.4, p.517-521, 1997.
- BURTON, G.R.W.; ENGELKIRK, P.G. **Microbiologia para as ciências da saúde**. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro: 7ª ed, 2005



CHENG, H. Use of linear, Weibull, and log-logistic functions to model pressure inactivation of seven foodborne pathogens in Milk. **Food Microbiology**, v. 24, p. 197-204, 2007.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION (1999) Principles and guidelines for the conduct of microbiological risk assessment. CAC/GL-30-1999. Secretariat of the Joint FAO/WHO Food Standards Programme. FAO, Rome

CUNHA, C.P.; NASCIMENTO, M.G.F.; JESUS, V.L.T.; NASCIMENTO, E.R. & CORBIA, A.C.G. Queijo tipo Minas frescal com e sem serviço de Inspeção Federal - Contaminação por coliformes fecais e *Escherichia coli*. V Congresso Brasileiro de Higienistas de Alimentos. Foz de Iguaçu, PR, 17-21 de maio de 1999. Revista Higiene Alimentar 13(61):34-35, 1999.

DANNENHAUER, C.E., **DESENVOLVIMENTO DE UM APLICATIVO COMPUTACIONAL PARA MICROBIOLOGIA PREDITIVA**. 2010. 147f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimento) – Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

DING, T.; WANG, J.; FORGHANI, F.; HA, S.; CHUNG, M.; BAHK, G.; HWANG, I.; ABDALLAH, E.; OH, D. Development of Predictive Models for the Growth of *Escherichia coli* O157:H7 on Cabbage in **Korea Journal of Food Science**, v. 77, n. 5, 2012.

DON, S., XAVIER, K. A. M., DEVI, S. T., NAYAK, B. B., & Kannuchamy, N. (2018). Identification of potential spoilage bacteria in farmed shrimp (*Litopenaeus vannamei*) : Application of Relative Rate of Spoilage models in shelf life-prediction. **LWT**, 97, 295–301.

EFSA (European Food Safety Authority). (2016). Scientific opinion on the risks for public health related to the presence of *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. including *Bacillus thuringiensis* in foodstuffs. **EFSA Journal**, 14, 4524.

EFSA & ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control). (2019). The European Union one health 2018 zoonoses report. **EFSA Journal**, 17(12), 5926. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5926>.

EFSA Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp. in foodstuffs. **EFSA J.** 2005;175:1–48

EHLING-SCHULZ, M. et al. M.Food – bacteria interplay: pathometabolism fementic *Bacillus cereus*. **Frontiers in Microbiology**, v.6, n.704, p. 12, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00704>.

FRENNTZEL, H., KRAUSHAAR, B., KRAUSE, G., BODI, D., WICHMANN-SCHAUER, H., APPEL, B., et al. (2018). Phylogenetic and toxinogenic characteristics of *Bacillus cereus* group members isolated from spices and herbs. **Food Control**, 83, 90–98. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.12.022>.

GARRE, A.; FERNÁNDEZ, P.S.; LINDQVIST, R.; EGEEA, J.A. Bioinactivation: Software for modelling dynamic microbial inactivation. **Food Research International**, 93, 66-74, 2017.

GENIGEORGIS, C. A. (1981) Factors affecting the probability of growth of pathogenic microorganisms in foods. **J Am Vet Med Assoc** 179:1410–1417

GIBBS, P.; GEKAS V.; Water Activity and Microbiological Aspects of Foods a knowledge. **Leatherhead Food Research Association**, Randalls Road, Leatherhead, Surrey UK, University of Hania, Crete, Greece, 2001.

GIBSON, A.M., BARTCHETIL N., ROBERTS T.A., (1987) The effect of sodium chloride and temperature on the rate and extent of growth of *Clostridium botulinum* type A in pasteurised pork slurry. **J Appl Bacteriol** 62:479–490.

HAJMEER, M.N., BASHEER, I.A. & NAJJAR, Y.M. (1997). Computational neural networks for predictive microbiology II. Application to microbial growth. **International Journal of Food Microbiology**, 34, 51-66.

HALVERSON L., HANDELSMAN J. Enhancement of Soybean Nodulation by *Bacillus cereus* UW85 in the field and in growth chamber. **Appl. Environ. Microbiol.** 1991;57:2767–2770.

HARIRAM, U., & LABBÉ, R. (2015). Spore prevalence and toxigenicity of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* isolates from U.S. retail spices. **Journal of Food Protection**, 78, 590–596. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-380>.

HILLS, B. P. AND MACKEY, B. M., Multi-compartment kinetic models for injury, resuscitation, induced lag and growth in bacterial cell populations, **Food Microbiol.**, 12, 333, 1995.

HILLS, B. P. AND WRIGHT, K. M., A new model for bacterial growth in heterogeneous systems, **J. Theor. Biol.**, 168, 31, 1994

ICMSF (1996) *Bacillus cereus*. **Microorganisms in Foods**, vol 5. Microbiological Specifications of Food Pathogens. Londres, Blackie Academic & Professional: 20-35.

J. R. ESTY, K. F. MEYER, The heat resistance of the spores of *B. botulinus* and allied anaerobes. XI, **The Journal of Infectious Diseases**, Volume 31, Issue 6, December 1922, Pages 650–663.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

JI YOON KIM, EUN BI JEON, MIN GYU SONG, SUNG HEE PARK, SHIN YOUNG PARK, Development of predictive growth models of *Aeromonas hydrophila* on raw tuna *Thunnus orientalis* as a function of storage temperatures, **LWT**, Volume 156, 2022, 113052, ISSN 0023-6438.

JUNEJA, VIJAY K.; GOLDEN, CHASE E.; MISHRA, ABHINAV; HARRISON, MARK A.; MOHR, TIM B. (2019). Predictive Model for Growth of *Bacillus cereus* at Temperatures Applicable to Cooling of Cooked Pasta. **Journal of Food Science**, (), –. doi:10.1111/1750-3841.14448 v.

JUNEJA, VIJAY K.; MISHRA, ABHINAV; PRADHAN, ABANI K. (2018). Dynamic Predictive Model for Growth of *Bacillus cereus* from Spores in Cooked Beans. **Journal of Food Protection**, 81(2), 308–315. doi:10.4315/0362-028X.JFP-17-391.

Kang, K.-A., Kim, Y.-W., & Yoon, K.-S. (2010, October 31). Development of Predictive Growth Models for *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* on Various Food Matrices Consisting of Ready-to-Eat (RTE) Foods. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**. Korean Society for Food Science of Animal Resources.

KOTIRANTA A., LOUNATMAA K., HAAPASALO M. Epidemiology and pathogenesis of *Bacillus cereus* infections. **Microb. Infect.** 2000;2:189–198.

KRIST, K. A.; ROSS, t.; McMEEKIN, T.A. Final optical density and growth rate; effects of temperature and NaCl differ from acidity. **International Journal of Food Microbiology**, v. 43, p. 195-203, 1998.

- LAMMERDING, A. M., FAZIL A (2000) Hazard identification and exposure assessment for microbial food safety risk assessment. **Int J Food Microbiol** 58:147–157.
- LANDGRAF, M. micro-organismos Indicadores. In: FRANCO, B. D G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**, São Paulo: Atheneu, 1996. cap. 3, p. 27-31
- LEDERBERG, J. Infectious Disease as an Evolutionary Paradigm. **Emerging Infectious deases**, v. 3, n. 4, p. 417-423, 1997.
- LEVINGER, B. School feeding, school reform, and food security: connecting the dots. **Food Nutrition Bulletin**, v.26, p.170-178, 2005
- MANTHOU, E., TARLAK, F., LIANOU, A., OZDEMIR, M., ZERVAKIS, G. I., PANAGO, E. Z., & NYCHAS, G. E. (2019). Prediction of indigenous *Pseudomonas* spp. growth on oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus*) as a function of storage temperature. **LWT**.
- MARKS, B. P. Status of Microbial Modeling in Food Process Models. Comprehensive Reviews. **Food Science and Food Safety**, v. 7, p. 137-143, 2008.
- McDONALD K, Sun DW (1999) Predictive food microbiology for the meat industry: a review. **Int J Food Microbiol** 52:1–27.
- McDONALD, K., SUN, D.W. Predictive food microbiology for the meat industry: A review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 52, p. 1-27, 1999.
- MCKELLAR, R. C., A heterogeneous population model for the analysis of bacterial growth kinetics, **Int. J. Food Mocrbiol.**, 36, 179, 1997.
- McMEEKIN T.A., OLLEY J., ROSS T., RATKOWSKY D.A., (1993) Predictive microbiology: theory and application. **Research Studies Press**, Taunton.
- McMEEKIN, T. A.; ROSS, T. Shelf-life prediction: status and future possibilities. **International Journal of Food Microbiology**, v. 33, p. 65-83, 1996.
- MENDES, R. A. et al. Contaminação por *Bacillus cereus* em superfícies de equipamentos e utensílios de alimentação e nutrição. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 16 n. 9, p. 3933-3938, 2011.

NAKASHIMA, S.M.K.; ANDRÉ, D.S.; FRANCO, B.D.G.M. Revisão: Aspectos Básicos da Microbiologia Preditiva. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 3, p.41-51, 2000.

NAKASHIMA, S.M.K.; ANDRÉ, D.S.; FRANCO, B.D.G.M. Revisão: Aspectos Básicos da Microbiologia Preditiva. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 3, p.41-51, 2000.

NASCIMENTO, M.G.F.; CUNHA, C.P.; CORBIA, A.C.G.; JESUS, V.L.T.; LIGNON, G.B. & OLIVEIRA, C.Z.F. Análise microbiológica e determinação da umidade e pH de queijos tipo Minas frescal. VII Jornada de Iniciação Científica da UFRRJ, 25-27 de novembro, 1998, p.205-206.

NICHOLS G.L., LITTLE C.L., MITHANI V., DE LOUVOIS K. The microbiological quality of cooked rice from restaurants and take away premises in the United Kingdom. **J. Food Proct.** 1999;62:877–882.

NIXON, P.A, (1971). Temperature integration as a mean of assessing storage conditions. Report on quality in fish products. Seminar No 3. **Fishing Industry Board**, New Zealand, pp 33-44

Oliveira, Mariana de Novaes; Brasil, Anne Lise Dias; Taddei, José Augusto de Aguiar Carrazedo (2008). Avaliação das condições higiênico-sanitárias das cozinhas de creches públicas e filantrópicas. **Ciência & Saúde Coletiva**, 13(3), 1051–1060. doi:10.1590/s1413-81232008000300028

Panetta JC. O manipulador: fator de segurança e qualidade dos alimentos. **Hig Aliment.** 1998; 12(57):8-10.

PÉREZ-RODRIGUEZ, F., & VALERO, A. (2012). Predictive Microbiology in Foods. **Predictive Microbiology in Foods**, 1–10. doi:10.1007/978-1-4614-5520-2\_1

RATKOWSKY, D. A., OLLEY J., McMeekin TA, Ball A (1982) Relationship between temperature and growth rates of bacterial cultures. **J Bacteriol** 149:1–5

ROBERTS, T. A. Control microbiológico de la producción de alimentos. In: ELEY, R. **Intoxicaciones Alimentarias de Etiología Microbiana**. Zaragoza: Acribia, 1992.

ROBERTS, T. A., GIBSON A. M., ROBINSON A. (1981) Prediction of toxin production by *Clostridium botulinum* in pasteurised pork slurry. **J Food Technol** 16:337–355

ROBERTS, T. A., JARVIS B. (1983), Predictive modelling of food safety with particular reference to *Clostridium botulinum* in model cured meat systems. *In*: Roberts TA, Skinner FA (eds) **Food microbiology: advances and prospects**. Academic Press, New York, pp 85–95

Rosa, C. R. (2020). Impactos ambientais: direito agrário e agronegócio. Contentus SÃO PAULO. Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo. Portaria CVS5, de 09 de abril de 2013. Aprova o regulamento técnico sobre boas práticas para estabelecimentos comerciais de alimentos e para serviços de alimentação, e o roteiro de inspeção, anexo. **Diário Oficial do Estado de São Paulo**, São Paulo, 19 abr. Seção 1, p. 32-35, 2013.

SAVINI, V. The Diverse Faces of *Bacillus Cereus*. **Academic Press is an imprint of Elsevier**. London, (ISBN: 978-0-12-801474-5), 2016.

SKINNER, G. E., LARKIN, J. W., and Rhodehamel, E. J., Mathematical modeling of microbial growth: a review, **J. Food Saf.**, 14, 175, 1994

SOARES, CELINA & KABUKI, DIRCE & KUAYE, ARNALDO (2012). Growth of enterotoxin producing *Bacillus cereus* in meat substrate at 10 °C and 30 °C. **Brazilian journal of microbiology**. 43. 1401-5.10.1590

SPENCER R, BAINES CR (1964). The effect of temperature on the spoilage of wet fish: I. Storage at constant temperature between -1 °C and 25 °C. **Food Technol Champaign**,18:76-772

Spinelli, S. M. C. (2020). Segurança alimentar, a soberania alimentar e a globalização. Contentus

T.F BROCKLEHURST, G.A MITCHELL, A.C SMITH, A model experimental gel-surface for the growth of bacteria on foods, **Food Microbiology**, Volume 14, Issue 4, 1997, Pages 303-311.

VAN SCHOTHORST MV (2004), A proposed framework for the use of FSOs. **Food Cont.**

WARAPA MAHAKARNCHANAKUL; LARRY R BEUCHAT (1999). Influence of temperature shifts on survival, growth, and toxin production by psychrotrophic and mesophilic strains of *Bacillus cereus* in potatoes and chicken gravy. 47(3), 179–187.

WHITING, R. C. Microbial modelling in foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 35, p. 467-494, 1995

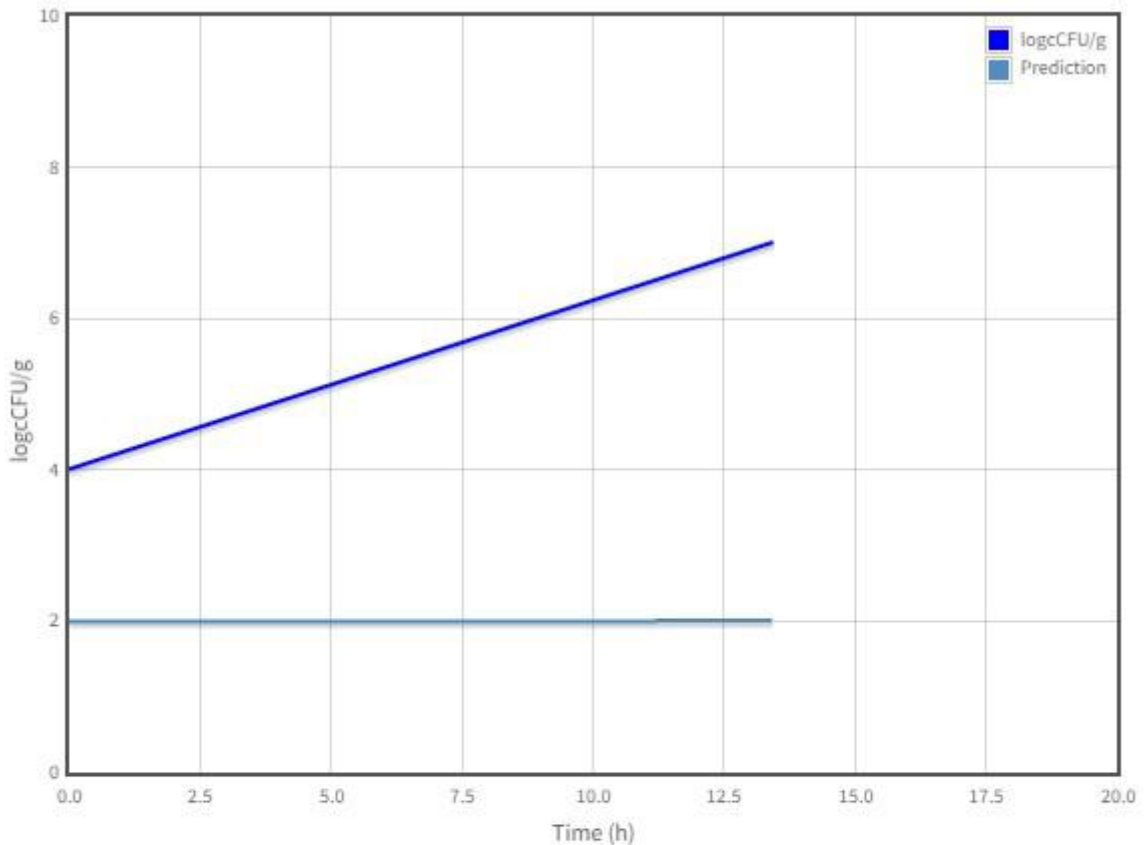
WHITING, R.C.; BUCHANAN, R. L. A classification of models in predictive microbiology e reply, 10(2), 175-177, 1993.

ZWIETERING, M. H., LONGENBURGEF, L, ROMBOUB, F.M and van'T Riel. K (1990) **Appl Environ Microbiol** 56.1875-18~1

## 7. APÊNDICE

**Apêndice 1** – Curva de crescimento de *B. cereus* e predição de crescimento em arroz cozido, sob condições definidas, logc UFC/g por tempo, obtido pelo software ComBase Predictor.

**Apêndice 1A** – Predição do crescimento de *B. cereus* em arroz cozido, a 15 °C, pH 7 e atividade de água ( $A_w$ ) 0.997.



Growth Model [prediction]

×

Init. level	2
Phys.state	2.7e-4
Temp (°C)	15
pH	7
$A_w$	0.997

[ $A_w$  | NaCl]

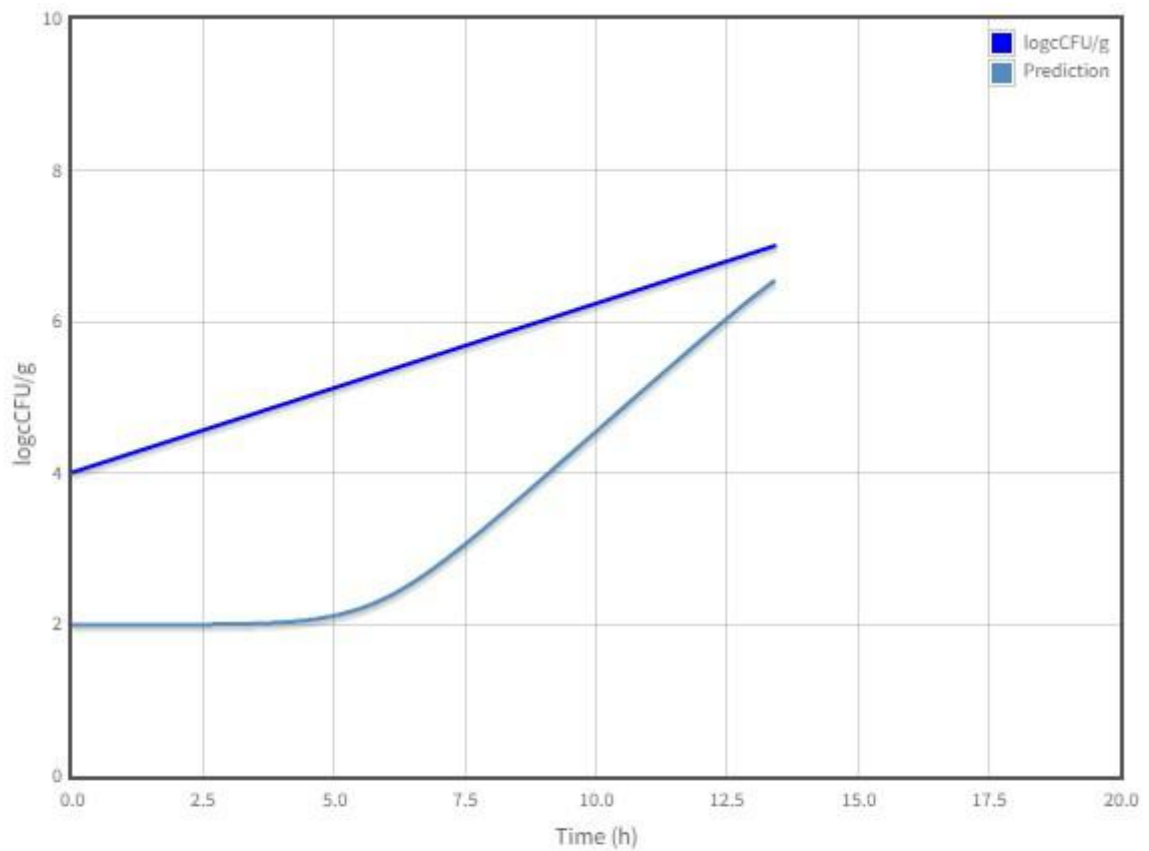


Max.rate (log.conc/h) 0.146  
MPD (log CFU/g) 7.61

Dbl. time(Hours) 2.065  
Lag time (Hours) 24.39



**Apêndice 1B** – Predição do crescimento de *B. cereus* em arroz cozido, a 25 °C, pH 7 e atividade de água ( $A_w$ ) 0.997.



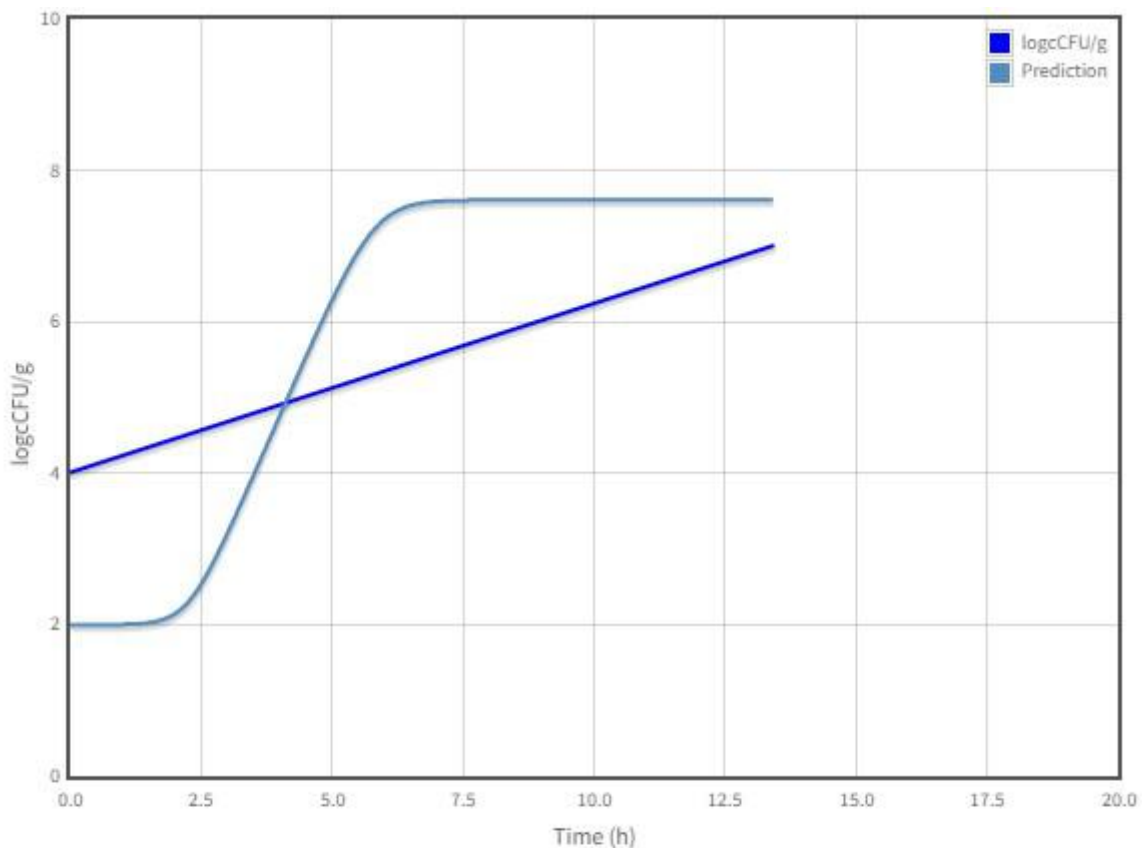
Growth Model [prediction]

[Aw | NaCl]

Init. level	2	0	7
Phys.state	2.7e-4	0	1
Temp (°C)	25	5	34
pH	7	4.9	7.4
Aw	0.997	0.94	1

Max.rate (log.conc/h) 0.611      Dbl. time(Hours) 0.493  
 MPD (log CFU/g) 7.61      Lag time (Hours) 5.83

**Apêndice 1C** – Predição do crescimento de *B. cereus* em arroz cozido, a 34 °C, pH 7 e atividade de água ( $A_w$ ) 0.997.



Growth Model [prediction]

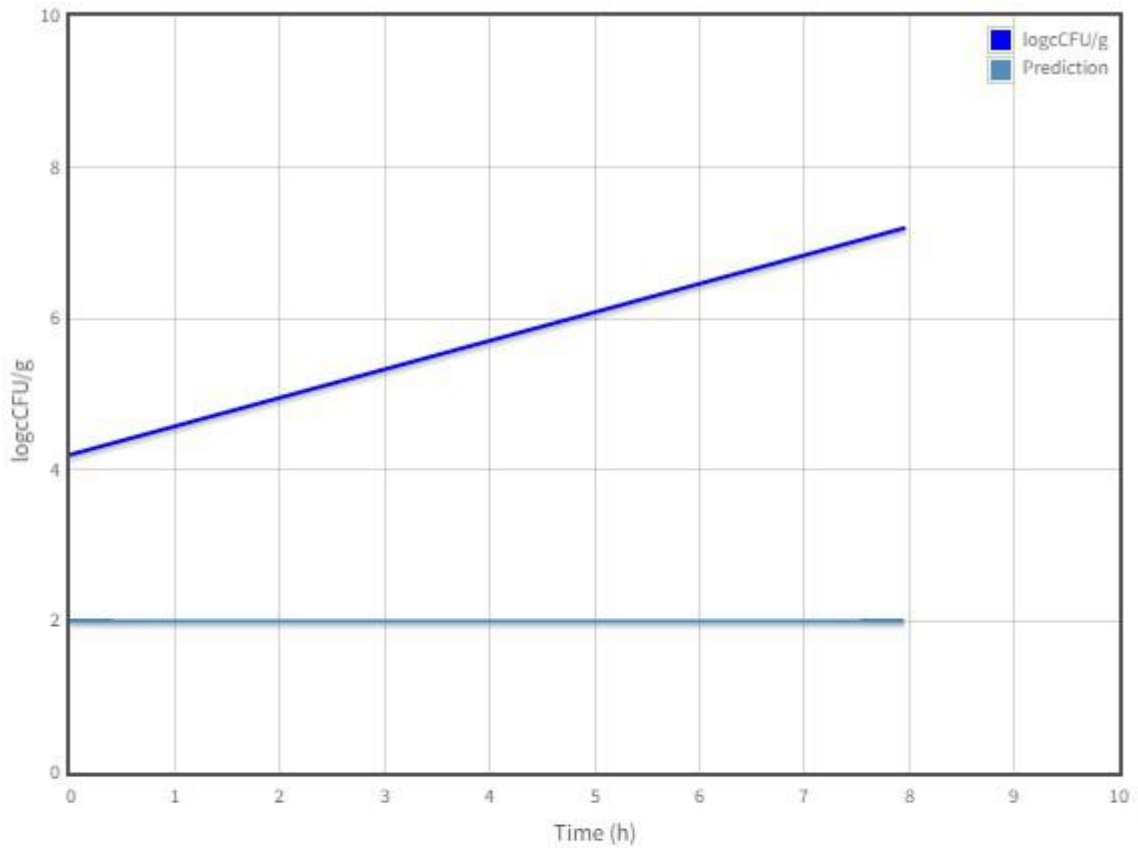
[Aw] NaCl

Init. level	2	0	7
Phys.state	2.7e-4	0	1
Temp (°C)	34	5	34
pH	7	4.9	7.4
Aw	0.997	0.94	1

Max.rate (log.conc/h) 1.579      Dbl. time(Hours) 0.191  
 MPD (log CFU/g) 7.61      Lag time (Hours) 2.26

**Apêndice 2** – Curva de crescimento de *B. cereus* e predição de crescimentos de grãos de feijão cozido, sob condições definidas, logc UFC/g por tempo, obtido pelo software ComBase Predictor.

**Apêndice 2A** – Predição do crescimento de *B. cereus* em grãos de feijão cozido, a 15 °C, pH 6.1 e atividade de água (Aw) 0.997.



Growth Model [prediction]

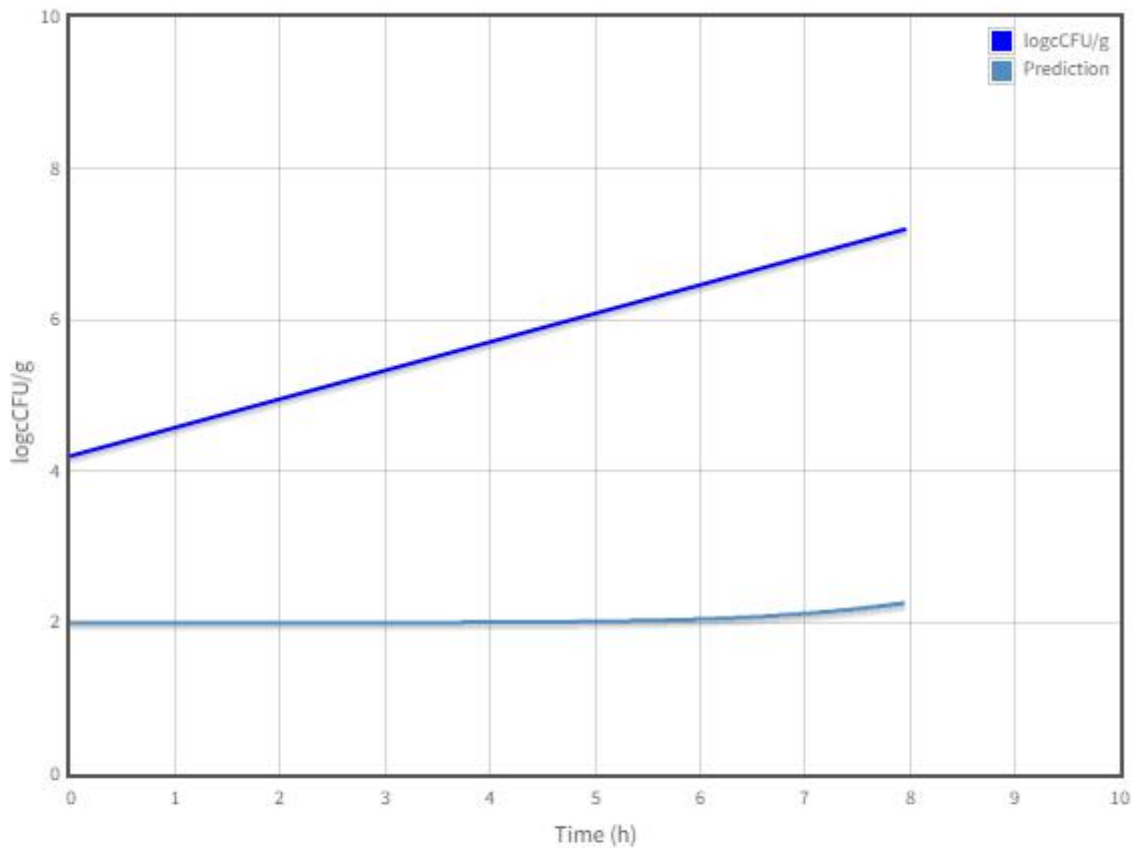
[Aw | NaCl]

Init. level	2
Phys.state	2.7e-4
Temp (°C)	15
pH	6.1
Aw	0.997

0 7  
0 1  
5 34  
4.9 7.4  
0.94 1

Max.rate (log.conc/h) 0.116      Dbl. time(Hours) 2.597  
MPD (log CFU/g) 7.61              Lag time (Hours) 30.7

**Apêndice 2B** – Predição do crescimento de *B. cereus* em grãos de feijão cozido, a 25 °C, pH 6.1 e atividade de água ( $A_w$ ) 0.997.



Growth Model [prediction]

×

[Aw | NaCl]

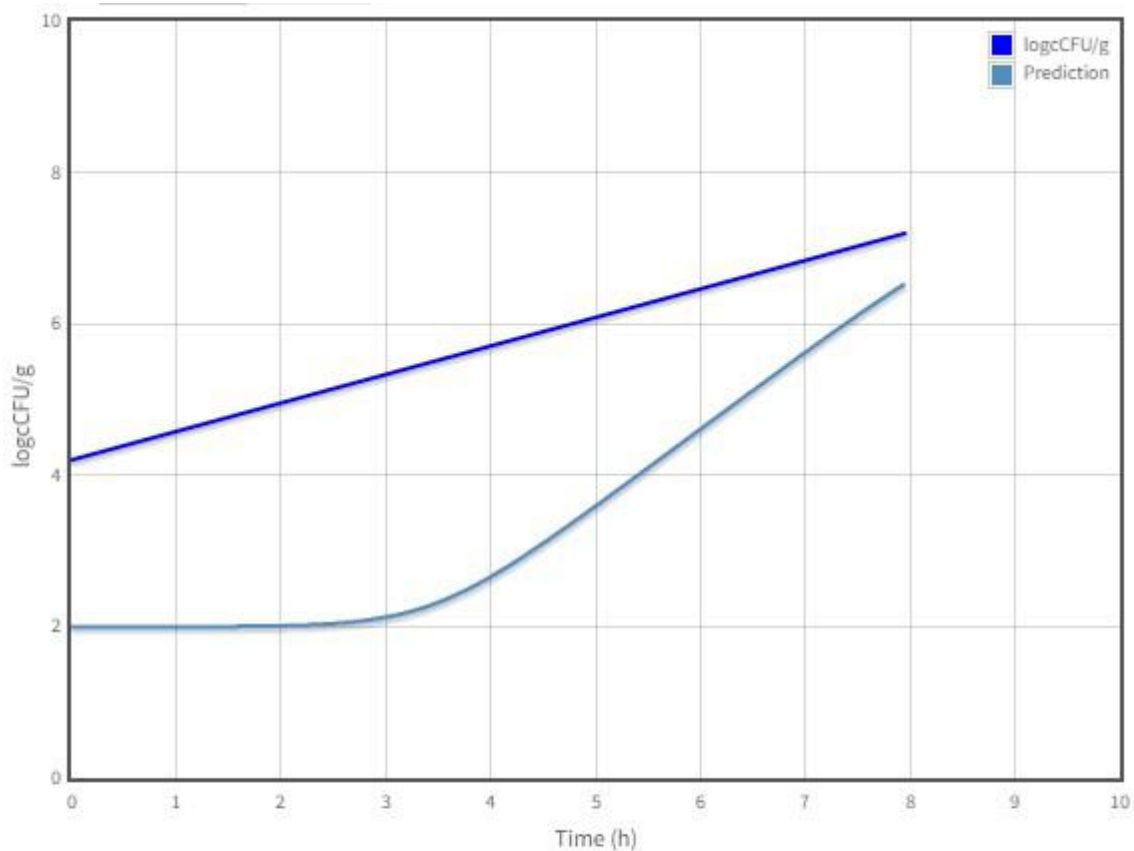
Init. level	2
Phys.state	2.7e-4
Temp (°C)	25
pH	6.1
Aw	0.997



Max.rate (log.conc/h) 0.437  
MPD (log CFU/g) 7.61

Dbl. time(Hours) 0.688  
Lag time (Hours) 8.15

**Apêndice 2C** – Predição do crescimento de *B. cereus* em grãos de feijão cozido, a 34 °C, pH 6.1 e atividade de água ( $A_w$ ) 0.997.



Growth Model [prediction]

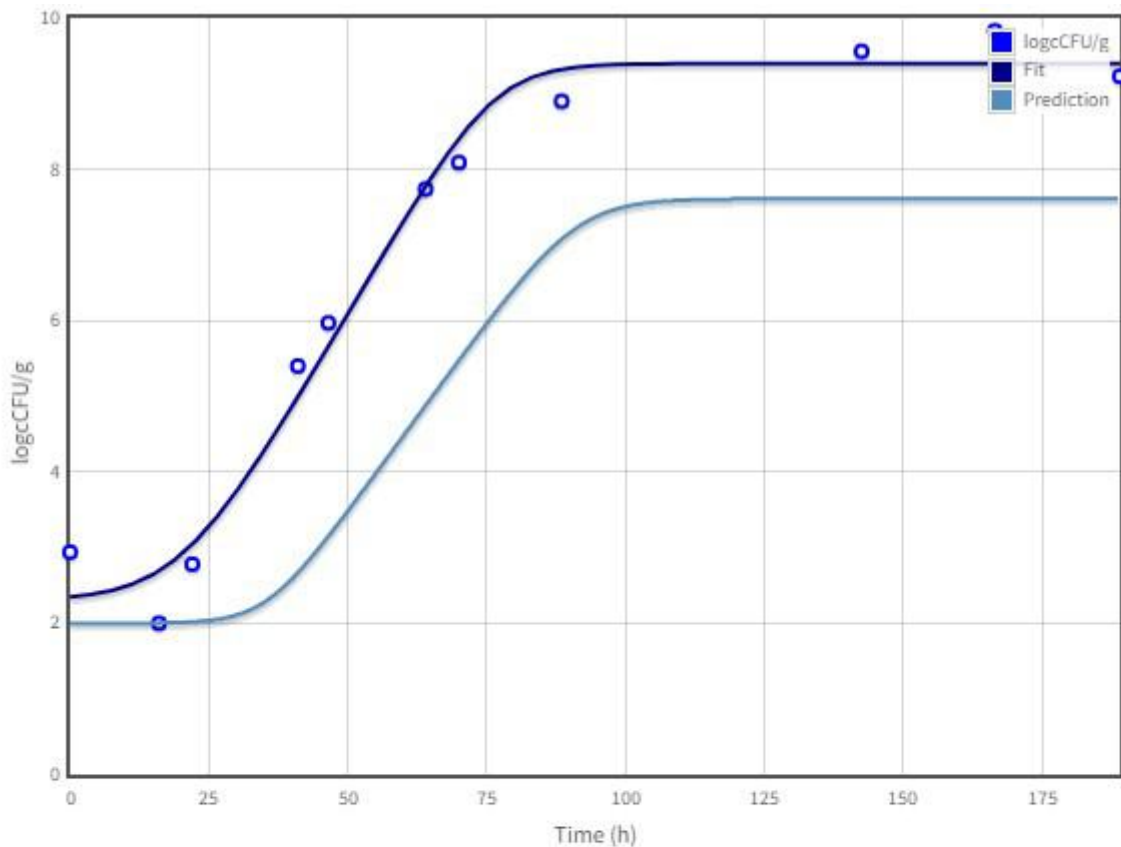
[Aw] NaCl

Init. level	2	0	7
Phys.state	2.7e-4	0	1
Temp (°C)	34	5	34
pH	6.1	4.9	7.4
Aw	0.997	0.94	1

Max.rate (log.conc/h) 1.028      Dbl. time(Hours) 0.293  
 MPD (log CFU/g) 7.61      Lag time (Hours) 3.46

**Apêndice 3** – Curva de crescimento de *B. cereus* e predição de crescimento em macarrão cozido, sob condições definidas, logc UFC/g por tempo, obtido pelo software ComBase Predictor.

**Apêndice 3A** – Predição do crescimento de *B. cereus* em macarrão cozido, a 15 °C, pH 6.1 e atividade de água ( $A_w$ ) 0.99.



Growth Model [prediction]

Init. level	2
Phys.state	2.7e-4
Temp (°C)	15
pH	6.1
$A_w$	0.99

[Aw | NaCl]

0 7

0 1

5 34

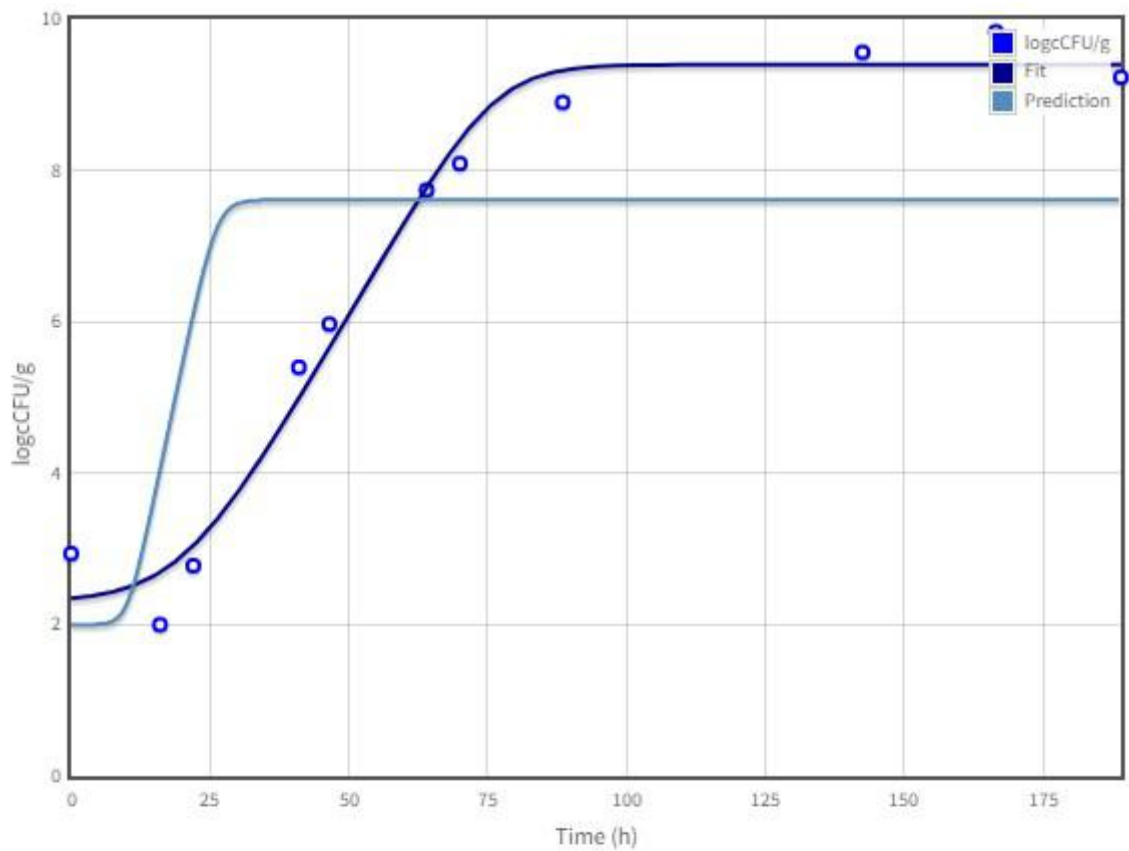
4.9 7.4

0.94 1

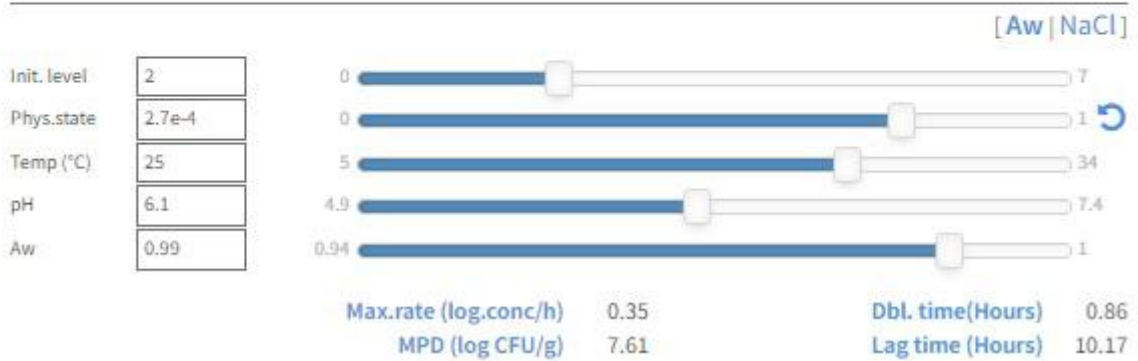
Max.rate (log.conc/h) 0.101      DbL.time(Hours) 2.991

MPD (log CFU/g) 7.61                      Lag time (Hours) 35.26

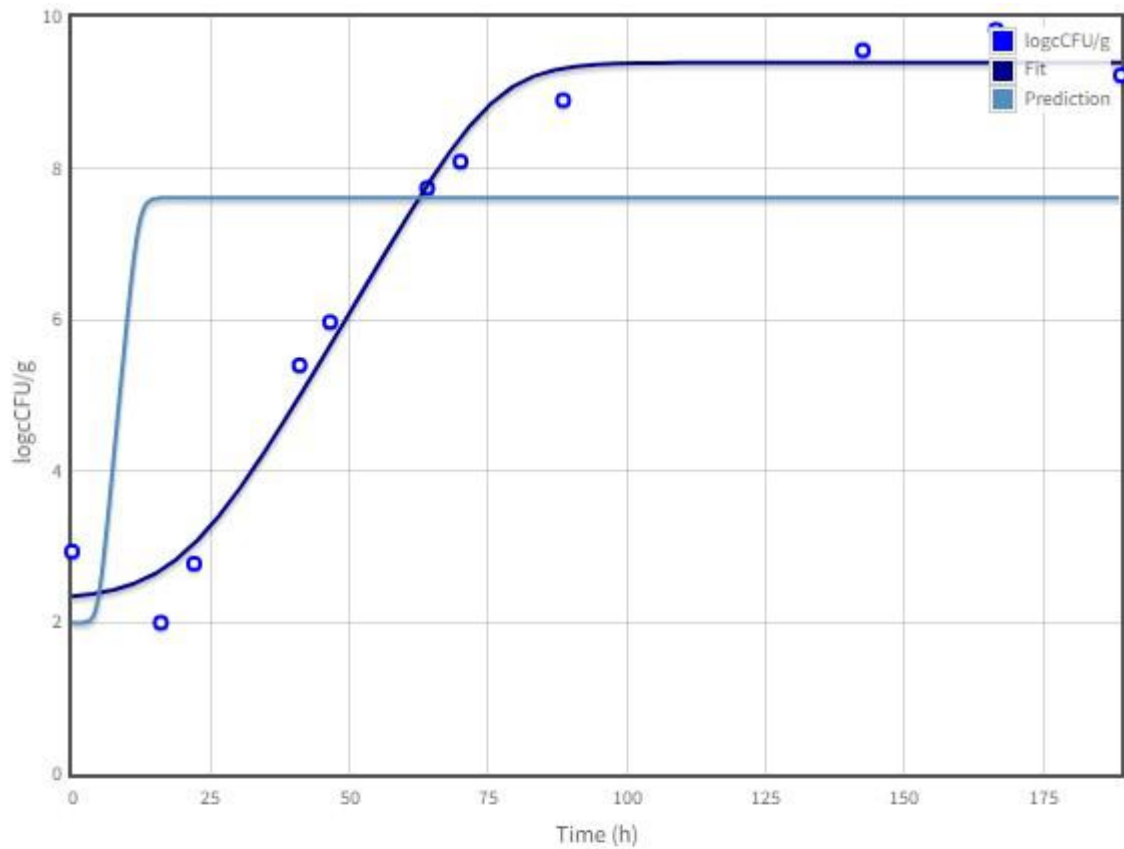
**Apêndice 3B** – Predição do crescimento de *B. cereus* em macarrão cozido, a 25 °C, pH 6.1 e atividade de água ( $A_w$ ) 0.99.



Growth Model [prediction]



**Apêndice 3C** – Predição do crescimento de *B. cereus* em macarrão cozido, a 34 °C, pH 6.1 e atividade de água (Aw) 0.99.



Growth Model [prediction]

[Aw | NaCl]

Init. level	2
Phys.state	2.7e-4
Temp (°C)	34
pH	6.1
Aw	0.99

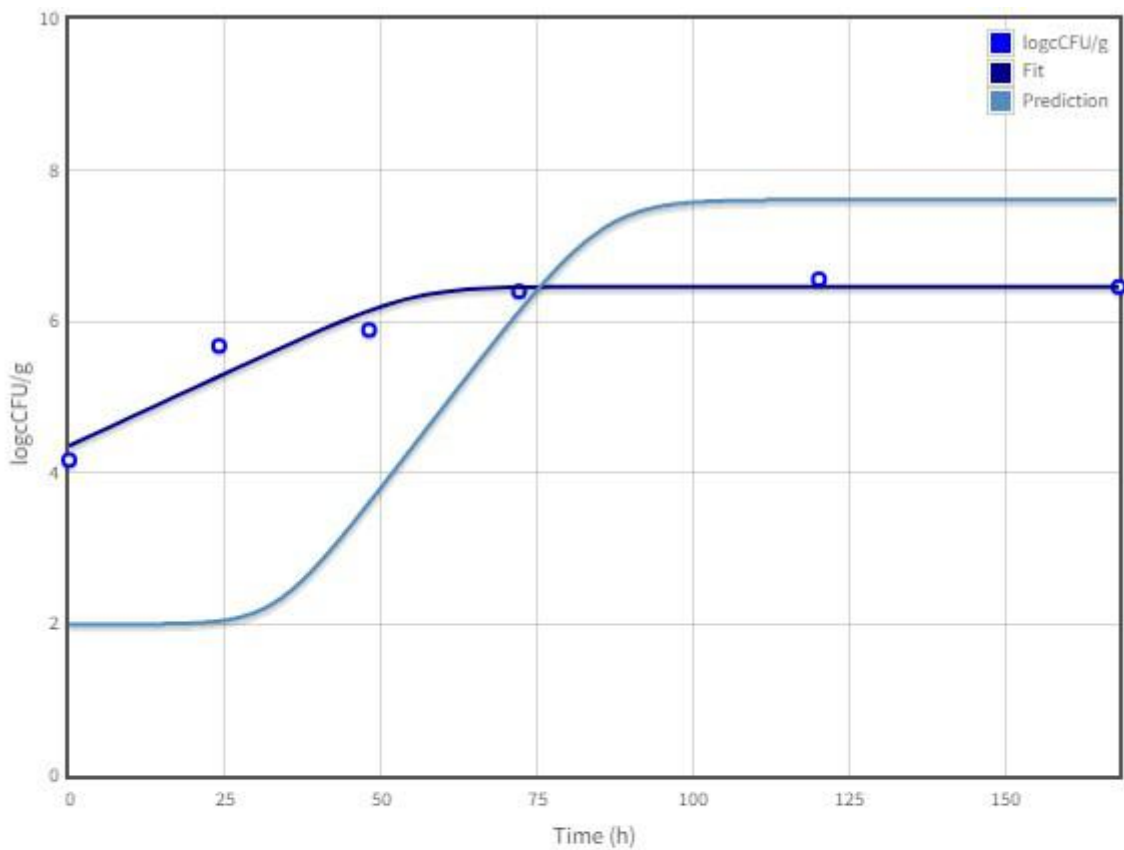
0 7  
0 1  
5 34  
4.9 7.4  
0.94 1

Max.rate (log.conc/h) 0.765      Dbl. time(Hours) 0.394  
MPD (log CFU/g) 7.61              Lag time (Hours) 4.66



**Apêndice 4** – Curva de crescimento de *B. cereus* e predição de crescimento em purê de batata, sob condições definidas, logc UFC/g por tempo, obtido pelo software ComBase Predictor.

**Apêndice 4A** – Predição do crescimento de *B. cereus* em purê de batata, a 15 °C, pH 5.8 e atividade de água ( $A_w$ ) 0.997.

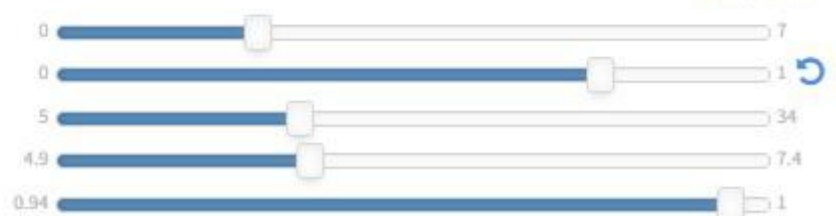


Growth Model [prediction]

×

[Aw | NaCl]

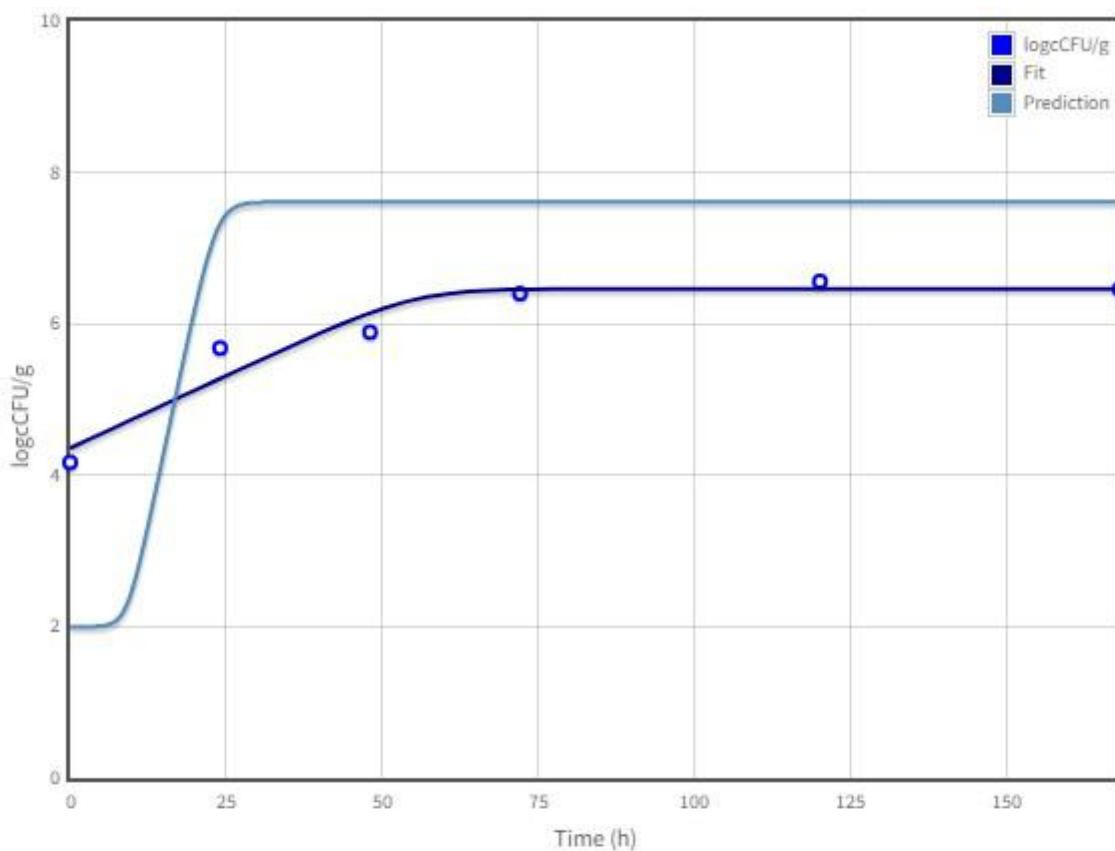
Init. level	2
Phys.state	2.7e-4
Temp (°C)	15
pH	5.8
$A_w$	0.997



Max.rate (log.conc/h) 0.107  
MPD (log CFU/g) 7.61

Dbl. time(Hours) 2.803  
Lag time (Hours) 33.28

**Apêndice 4B** – Predição do crescimento de *B. cereus* em purê de batata, a 25 °C, pH 5.8 e atividade de água (Aw) 0.997.



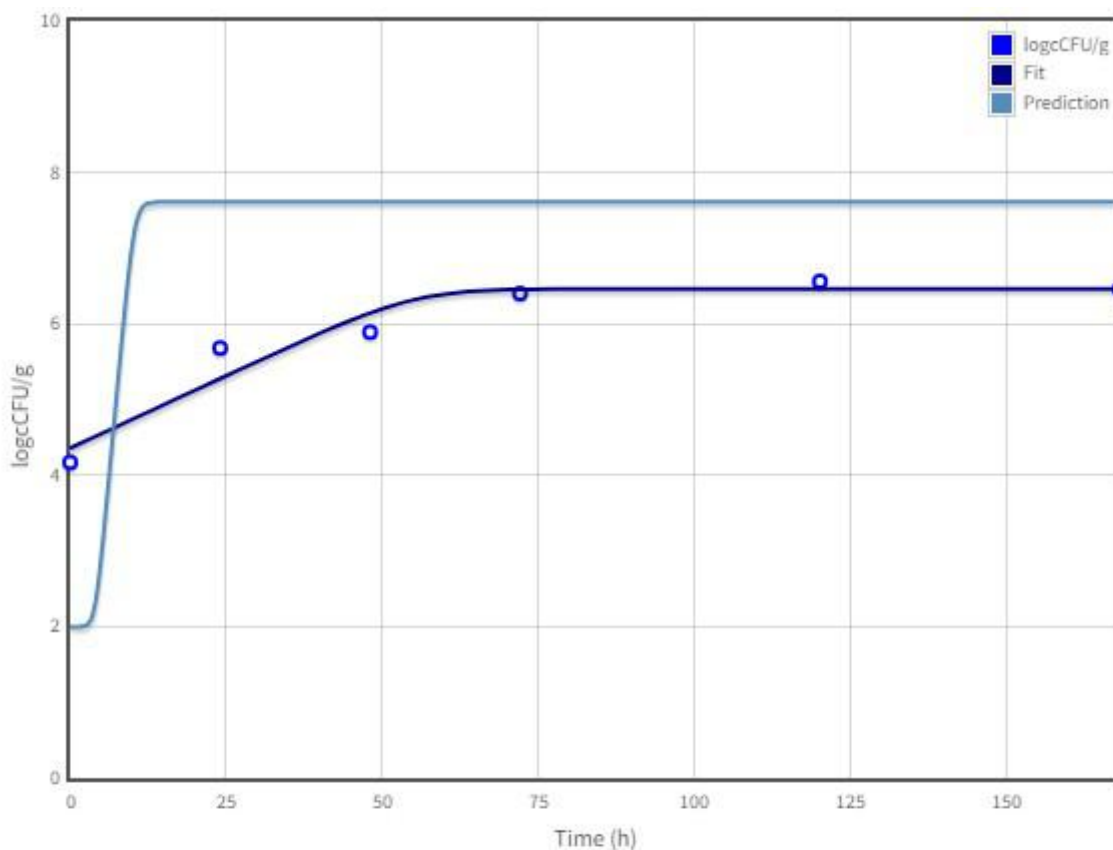
Growth Model [prediction]

[Aw | NaCl]

Init. level	2	0	7
Phys.state	2.7e-4	0	1
Temp (°C)	25	5	34
pH	5.8	4.9	7.4
Aw	0.997	0.94	1

Max.rate (log.conc/h) 0.391      Dbl. time(Hours) 0.77  
 MPD (log CFU/g) 7.61      Lag time (Hours) 9.11

**Apêndice 4C** – Predição do crescimento de *B. cereus* em purê de batata, a 34 °C, pH 5.8 e atividade de água ( $A_w$ ) 0.997.



Growth Model [prediction]

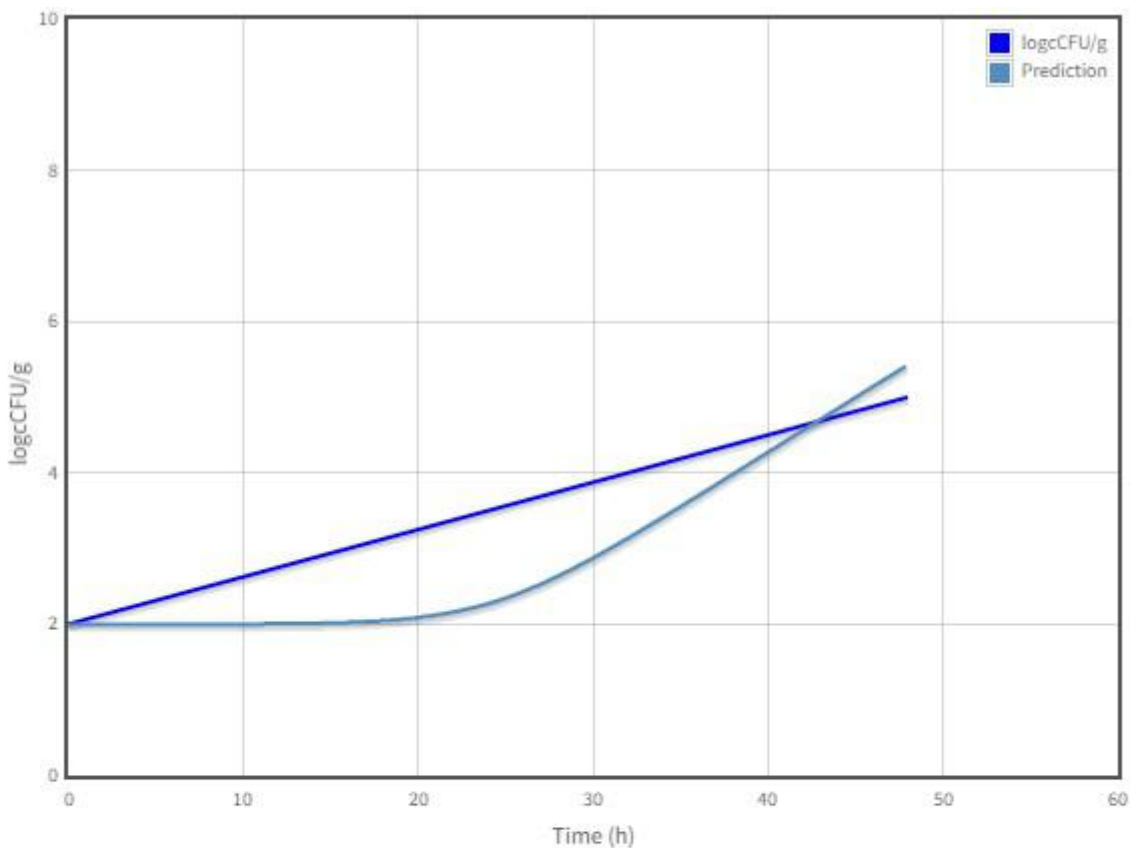
[Aw | NaCl]

Init. level	2	0	7
Phys.state	2.7e-4	0	1
Temp (°C)	34	5	34
pH	5.8	4.9	7.4
Aw	0.997	0.94	1

Max.rate (log.conc/h) 0.891      Dbl. time(Hours) 0.338  
 MPD (log CFU/g) 7.61      Lag time (Hours) 4

**Apêndice 5** – Curva de crescimento de *B. cereus* e predição de crescimento em carne assada, sob condições definidas, logc UFC/g por tempo, obtido pelo software ComBase Predictor.

**Apêndice 5A** – Predição do crescimento de *B. cereus* em carne assada, a 15 °C, pH 7 e atividade de água ( $A_w$ ) 0.997.



Growth Model [prediction]

×

[Aw | NaCl]

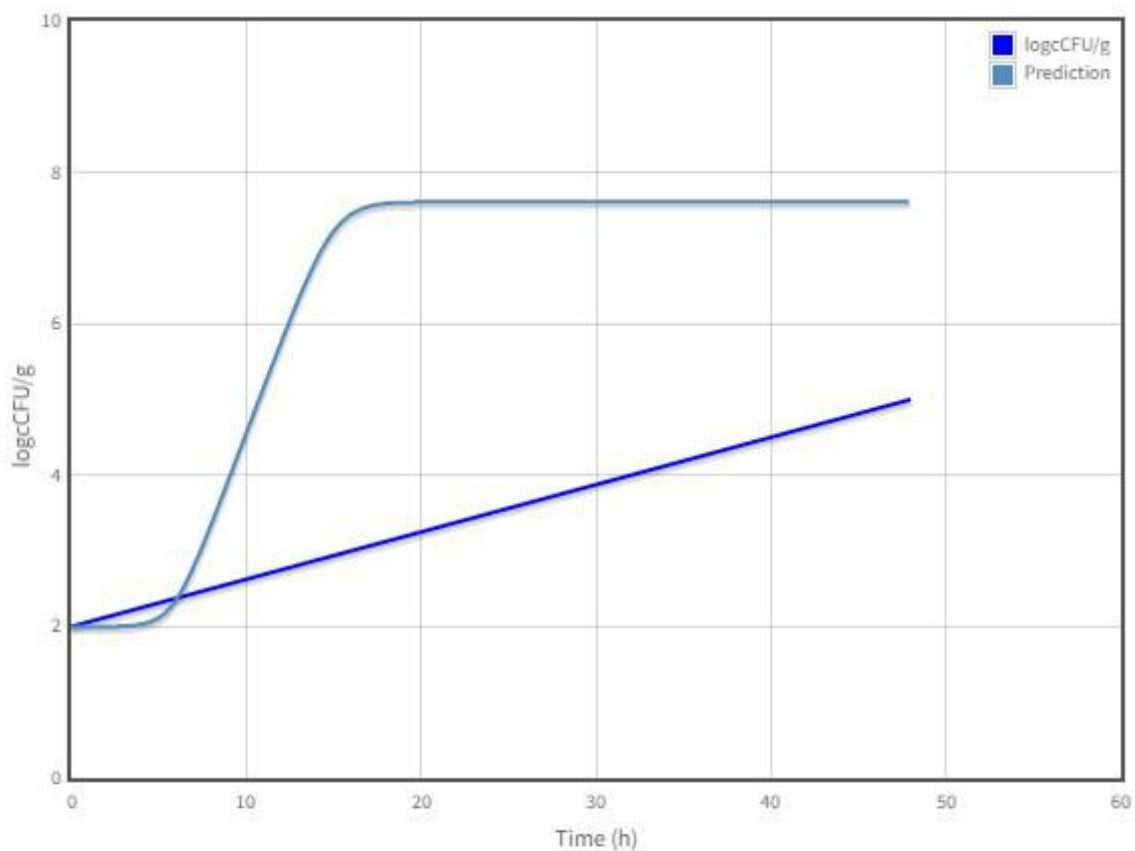
Init. level	2
Phys.state	2.7e-4
Temp (°C)	15
pH	7
Aw	0.997



Max.rate (log.conc/h) 0.146  
MPD (log CFU/g) 7.61

Dbl. time(Hours) 2.065  
Lag time (Hours) 24.39

**Apêndice 5B** – Predição do crescimento de *B. cereus* em carne assada, a 25 °C, pH 7 e atividade de água ( $A_w$ ) 0.997.



Growth Model [prediction]

×

[Aw | NaCl]

Init. level	2
Phys.state	2.7e-1
Temp (°C)	25
pH	7
Aw	0.997

0 7

0 1 ↻

5 34

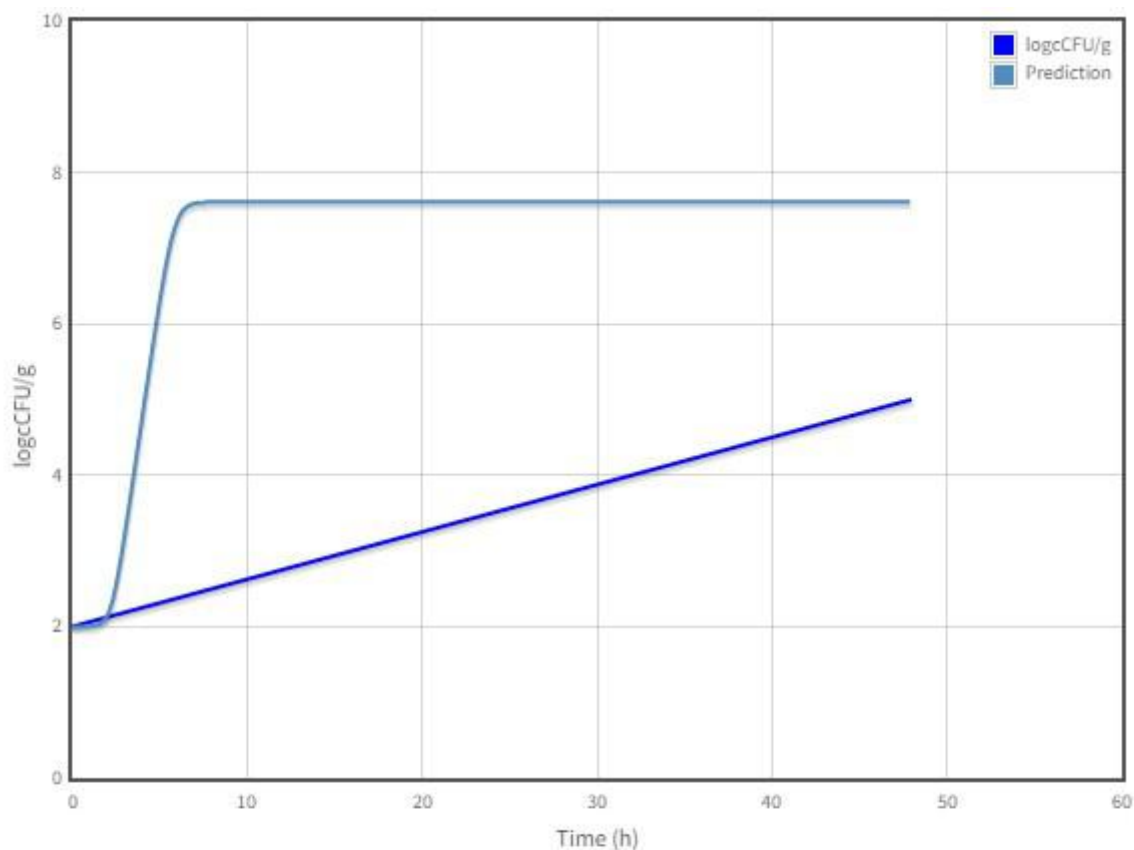
4.9 7.4

0.94 1

Max.rate (log.conc/h) 0.611      Dbl. time(Hours) 0.493

MPD (log CFU/g) 7.61                      Lag time (Hours) 5.83

**Apêndice 5C** – Predição do crescimento de *B. cereus* em carne assada, a 34 °C, pH 7 e atividade de água ( $A_w$ ) 0.997.



Growth Model [prediction]

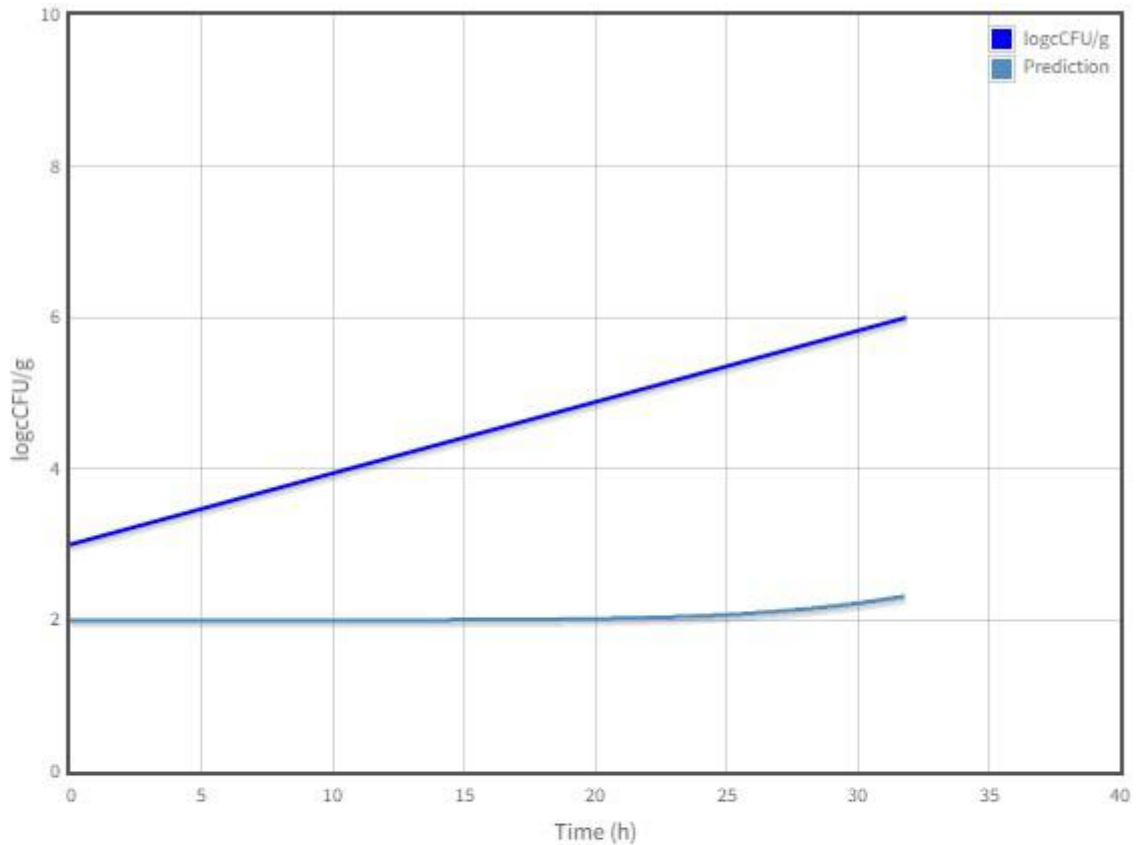
[Aw | NaCl]

Init. level	2	0	7
Phys.state	2.7e-4	0	1
Temp (°C)	34	5	34
pH	7	4.9	7.4
Aw	0.997	0.94	1

Max.rate (log.conc/h) 1.579      Dbl. time(Hours) 0.191  
 MPD (log CFU/g) 7.61      Lag time (Hours) 2.26

**Apêndice 6** – Curva de crescimento de *B. cereus* e predição de crescimento em peito de frango cozido, sob condições definidas, logc UFC/g por tempo, obtido pelo software ComBase Predictor.

**Apêndice 6A** – Predição do crescimento de *B. cereus* em peito de frango cozido, a 15 °C, pH 6 e atividade de água ( $A_w$ ) 0.997.

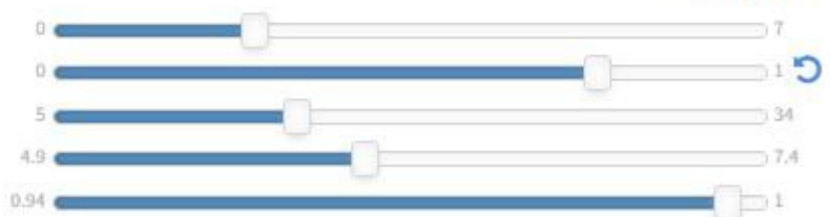


Growth Model [prediction]

×

[Aw | NaCl]

Init. level	2
Phys.state	2.7e-4
Temp (°C)	15
pH	6
Aw	0.997



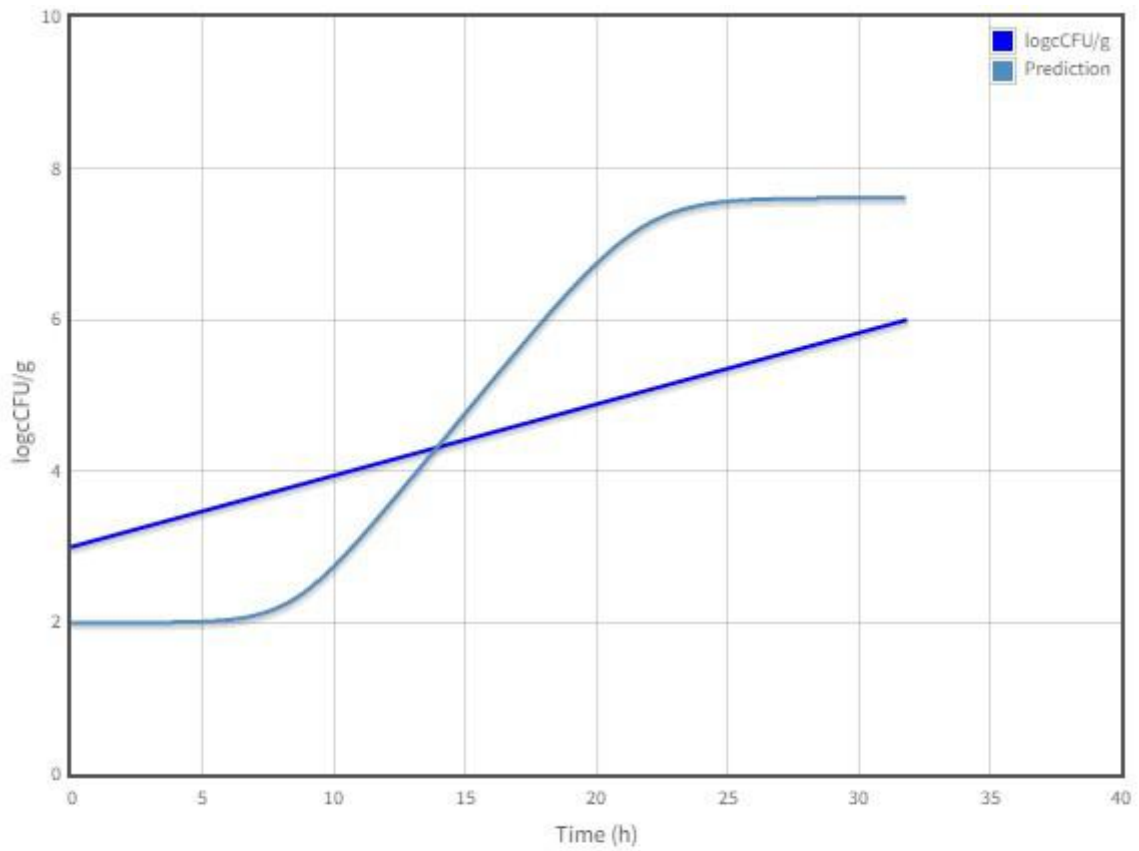
Max.rate (log.conc/h) 0.113

MPD (log CFU/g) 7.61

Dbl. time(Hours) 2.664

Lag time (Hours) 31.52

**Apêndice 6B** – Predição do crescimento de *B. cereus* em peito de frango cozido, a 25 °C, pH 6 e atividade de água ( $A_w$ ) 0.997.



Growth Model [prediction]

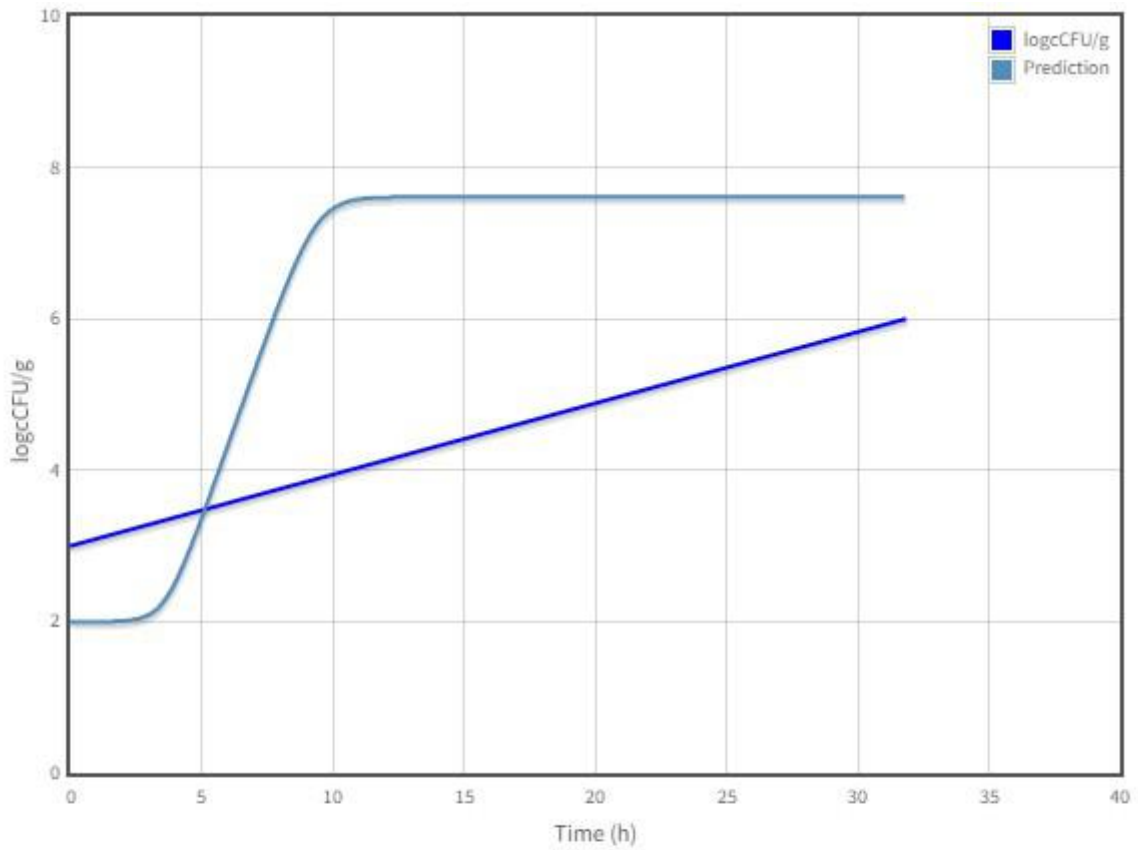
[Aw | NaCl]

Init. level	2	0	7
Phys.state	2.7e-4	0	1
Temp (°C)	25	5	34
pH	6	4.9	7.4
Aw	0.997	0.94	1

Max.rate (log.conc/h) 0.421      Dbl. time(Hours) 0.714  
 MPD (log CFU/g) 7.61      Lag time (Hours) 8.46



**Apêndice 6C** – Predição do crescimento de *B. cereus* em peito de frango cozido, a 34 °C, pH 6 e atividade de água ( $A_w$ ) 0.997.



Growth Model [prediction]

[Aw | NaCl]

Init. level	2
Phys.state	2.7e-4
Temp (°C)	34
pH	6
Aw	0.997

0 7  
0 1  
5 34  
4.9 7.4  
0.94 1

Max.rate (log.conc/h) 0.98  
MPD (log CFU/g) 7.61  
Dbl. time(Hours) 0.307  
Lag time (Hours) 3.63