



CADERNO SUPLEMENTAR DE MICROBIOLOGIA

Fatores que Influenciam o Desenvolvimento de Microrganismos nos Alimentos - Gráfico dos Obstáculos

Uma das primeiras perguntas que surge ao examinar um alimento é se ele é perecível ou não. A resposta a essa pergunta deve levar em consideração diferentes fatores do próprio alimento (**Fatores Intrínsecos**) e do ambiente onde o alimento se encontra (**Fatores Extrínsecos**).

Os principais Fatores Intrínsecos dos alimentos são: **Nutrientes, Osmolaridade, pH, Eh, Presença de Antimicrobianos Naturais e Presença de uma Microbiota Capaz de Fazer Antagonismo Microbiano.** Já os **principais Fatores Extrínsecos** dos alimentos são: **Temperatura e Atmosfera.**

Principais Fatores Intrínsecos:

- **Nutrientes:** devem existir nutrientes em quantidades e diversidade adequadas para suportar o crescimento microbiano. Por exemplo, na Água Mineral **inexistem** nutrientes plásticos (carboidratos, aminoácidos, lipídeos, ...), com isso ela pode ser considerada como **não perecível**. Já o “Açúcar Refinado” é composto basicamente de sacarose, um carboidrato muito interessante para alguns microrganismos, contudo a ausência de outros grupos de nutrientes (aminoácidos, lipídeos, ...) faz com que ele seja um alimento não perecível. Em contraposição a esses alimentos temos por exemplo o leite, esse possui carboidratos, proteínas, lipídios, água e sais minerais em quantidades capazes de permitir um rápido crescimento bacteriano, sendo, portanto, um alimento altamente perecível. Desse modo, ao analisar este Fator Intrínseco deve ser sempre observado “**Quantidade**” e “**Diversidade**” dos nutrientes do alimento.

- **Osmolaridade:** É o resultado da presença de substâncias osmoticamente ativas e a quantidade de água no alimento. Pode ser uma característica do alimento “**in natura**” ou então de alimentos que sofreram “**processamento**” para sua conservação. Por exemplo, o mel, um alimento “**in natura**”, apresenta uma alta osmolaridade devido as concentrações elevadas de glicose (38 %) e frutose (30 %). Em alguns alimentos “processados”, a finalidade desse tratamento pode ser aumentar a sua osmolaridade, possibilitando com isso uma maior “vida de prateleira”. Esses processamentos, em geral, empregam a adição de cloreto de sódio, em vegetais e carnes, ou de sacarose, em frutas. A adição de sal pode ser feita através de uma salmoura, muitas vezes combinada com a adição de ácido acético (“conservas”), ou pela adição de cloreto de sódio combinada “retirada” de água (“secagem”, “desidratação”) em diferentes graus (carne seca, bacalhau). Em frutas, muitas vezes só a retirada da água é suficiente para o aumento da osmolaridade em virtude da grande quantidade de carboidratos





UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA E PARASITOLOGIA
DISCIPLINA DE MICROBIOLOGIA

naturalmente presentes (uva passa, banana passa, ...). Muitas vezes, pode existir também a adição de sacarose combinada com a “retirada de água” (“frutas cristalizadas”), a cocção da fruta em uma calda de açúcar (“pêssego em calda”, “abacaxi em calda”, ...), bem como a homogeneização da fruta com a sacarose, combinada ou não com a “retirada de água” (doces em pasta, goiabada, ...). Importante destacar que nesses alimentos, apesar da osmolaridade elevada proteger o alimento contra o desenvolvimento da maioria das bactérias, essa condição pode induzir a seleção e desenvolvimento de fungos deteriorantes.

Nota: A osmolaridade está diretamente relacionada ao conceito de “**Atividade Água**” (A_w ; A_a). Em **Microbiologia** a A_w representa a **água disponível**, ou seja, a água do alimento que não está sendo usada na solvatação dos solutos osmoticamente ativos. Consequentemente, essa “água disponível” que pode ser utilizada no crescimento microbiano. A A_w é um parâmetro analítico muito empregado na indústria para controle do processamento de alimentos. Uma grande vantagem dessa análise é que ela pode ser realizada rapidamente com o emprego de equipamentos.

- **pH** (potencial hidrogeniônico de uma solução; indica a concentração de íons hidrogênio = H^+): Na indústria os alimentos são classificados de acordo com o pH em **Muito Ácidos** (pH < 4,0), **Ácidos** (pH 4,0 – 4,5) e de **Baixa Acidez** (pH > 4,5), tendo como um dos referenciais para essa classificação o menor valor de pH para produção da toxina botulínica (pH 4,6). Ou seja, é uma classificação mais relacionada com a Segurança Alimentar que propriamente com a possibilidade de deterioração dos alimentos. Para o processo de deterioração dos alimentos deve ser considerado como perecíveis os alimentos com pH próximo da neutralidade, já que a maioria das bactérias deteriorantes são neutrófilas. Alimentos com pH ácido podem ser alvo de microrganismos deteriorantes, não devendo ser esquecido que os Fungos se desenvolvem muito bem nesses alimentos. O pH dos alimentos pode ser reduzido em processamentos, sendo o mais conhecido a fermentação que é empregada em inúmeros alimentos, como o leite (leite fermentado, iogurtes), em vegetais (repolho fermentado → chucrute; pepino → picles). Outra ação teoricamente esperada do pH ácido é relacionada aos ácidos orgânicos, que podem ter uma ação bacteriostática sobre alguns microrganismos.

Alimento	pH
Clara de ovo	9,0 a 10,0
Creme de Leite	6,5
Carne de peixe	6,6 a 6,8
Leite	6,3 a 6,5
Carne bovina (moída)	5,1 a 6,2
Queijos (em geral)	4,9 a 5,9
Banana	4,5 a 4,7
Tomate	4,2 a 4,3
Yogurte	3,7 a 4,4
Laranja	3,4 a 3,6
Maçã	2,9 a 3,3



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA E PARASITOLOGIA
DISCIPLINA DE MICROBIOLOGIA

• **Eh** (potencial de oxirredução; quimicamente é a tendência de um elemento ganhar - redução ou perder elétrons – oxidação, sendo medido mV; em Microbiologia indica indiretamente a presença de oxigênio: O_2 = oxidado e Ausência de O_2 = reduzido): Se relaciona com a possibilidade de desenvolvimento no alimento de grupos específicos de bactérias. As **Aeróbias Estritas** exigem para seu desenvolvimento O_2 , conseqüentemente o Eh deve estar na faixa do oxidado (Eh +350 a +500mV), as **Anaeróbias Estritas** exigem ausência de O_2 e com isso o Eh deve estar na faixa do “reduzido” (+30 a - 550mV) e os Facultativos crescem na presença ou ausência de O_2 (+100 a 350mV). No passado, a modificação do Eh dos alimento era relacionada aos enlatados, pois neles existe a expulsão do oxigênio do interior da lata, nos dias atuais é cada vez mais comum o uso de embalagens a vácuo ou que empregam “atmosfera modificadas”. Um detalhe importante nas carnes é que o fracionamento ou a moagem, por aumentar a superfície de contato com o oxigênio da atmosfera, determina um aumento do Eh do alimento.

Alimento	Eh (mV)
Leite	+200 a +400
Carne bovina (inteira)	-60 a -150
Carne bovina (moída)	+300
Carne enlatada	-20 a -150
Queijo Suíço	-50 a -200
Queijo Cheddar	+300 a -100
Cenoura enlatada	-18
Suco de Uva	+409
Suco de Limão	+383
Espinafre	+74
Pêssego	+175

• **Presença de Antimicrobianos Naturais:** muitos alimentos possuem substâncias com ação antimicrobiana na sua composição, o que auxilia na sua conservação, como por exemplo: alho, baunilha, canela, cravo, erva doce, hortelã, mostarda, noz moscada e orégano. As especiarias, um grupo bastante conhecido de alimentos que no passado eram misturados a outros alimentos com a finalidade de conservação, possuem componentes (óleos essenciais) cujos componentes antimicrobianos já foram isolados e são cada vez mais estudados.

Alho	Pimenta	Especiaria	Agente Antimicrobiano
		Canela	Aldeído
		Mostarda	Alil-Isotiocianato
		Orégano; Tomilho	Carvacrol
		Páprica; Pimenta Vermelha	Capsaicina
		Sálvia; Alecrim	Cânfora
		Pimenta da Jamaica; Cravo; Canela; Alfavaca	Eugenol
		Cidreira	Limolemo
		Coentro	Linalol
		Orégano; Tomilho	Timol



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA E PARASITOLOGIA
DISCIPLINA DE MICROBIOLOGIA

Microbiota Capaz de Fazer Antagonismo Microbiano: os alimentos fermentados são produzidos com a participação de microrganismos e o objetivo principal da sua participação seria a produção de ácidos. Atualmente, os microrganismos fermentadores empregados nesse processo são selecionados também por sua capacidade de produção de substâncias com atividade antimicrobiana sobre microrganismos deteriorantes e/ou causadores de DTAs. As Bactérias do Ácido Lático (BAL) mais empregadas são produtoras de bacteriocinas diferenciadas (“bacteriocinas de amplo espectro”) que são utilizadas na “bioconservação” de produtos lácteos e cárneos. Bacteriocinas são conhecidas por atuarem sobre membros da própria espécie (*Escherichia coli* produz a colicina que atua em outras amostras de *E. coli* – ação intra-espécie). Entre as BAL existem espécies que produzem “bacteriocinas de amplo espectro”, como a nisina, pediocina e sakacina.

Essas bacteriocinas são capazes de atuar em diferentes microrganismos, deteriorantes ou causadores de DTAs. O uso da bioconservação, pelo uso culturas “starters” (iniciadoras)

Microrganismo	Bacteriocina
<i>Lactococcus lactis</i>	Nisina
<i>Pediococcus acidilactici</i>	Pediocina
<i>Lactobacillus sakei</i>	Sakacina

bacteriocinogênicas, têm sido cada vez mais comum produtos cárneos fermentados, pois esses são conservados sob refrigeração e possuem um tempo de prateleira “prolongado”. Como essas características favorecem as bactérias psicotróficas, um dos alvos da bioconservação é a bactéria *Listeria monocytogenes*, um importante agente de DTAs.

Principais Fatores Extrínsecos:

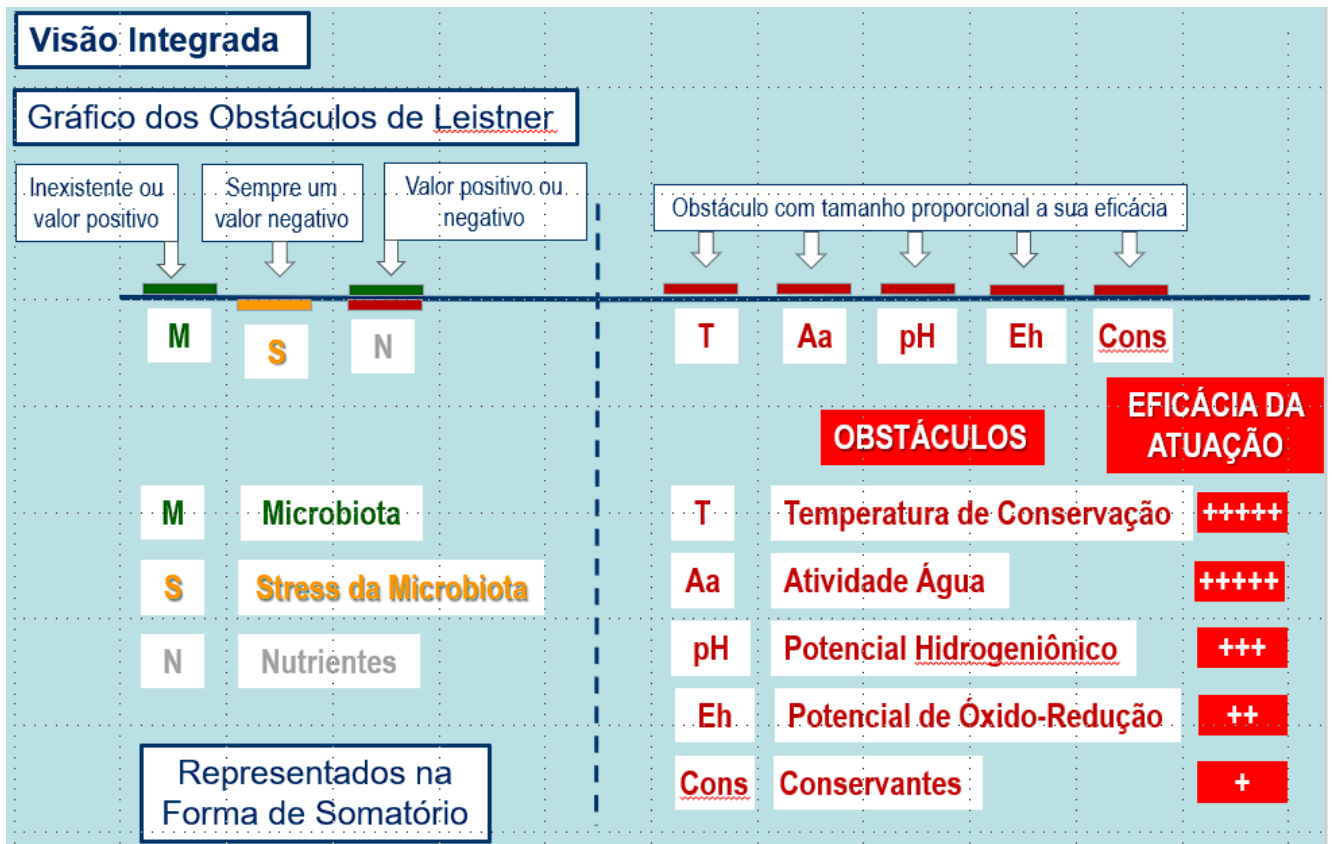
- **Temperatura:** as baixas temperaturas, refrigeração e congelamento, são comumente empregadas para conservação dos alimentos. A refrigeração (2 a 8°C) inibe a multiplicação da maioria das bactérias, sem ser eficaz sobre as psicotróficas. Isto contudo não é um impeditivo ao seu emprego pois esse grupo de bactérias se multiplica lentamente a baixas temperaturas e com isso sempre existirá um aumento do tempo de prateleira desses alimentos. O congelamento por sua vez impede a multiplicação dos microrganismos e com isso a conservação dos alimentos se dá por períodos de tempo consideravelmente superiores.
- **Atmosfera:** esse assunto está intimamente relacionado ao Eh e já foi apresentado anteriormente.

Gráfico dos Obstáculos:

Um exercício muito útil para responder de forma analítica a pergunta “**esse alimento é perecível ou não**” é a construção do **Gráfico dos Obstáculos de Leistner**. Nesse gráfico são representados os **Fatores Intrínsecos** e os **Fatores Extrínsecos** dos alimentos de modo que quando correlacionados com a sua carga microbiana fique demonstrado se o alimento é perecível ou não.

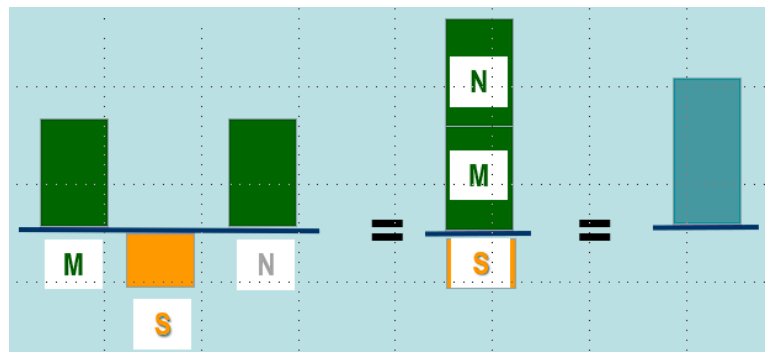


O **Gráfico dos Obstáculos** é composto pelos elementos apresentados abaixo:

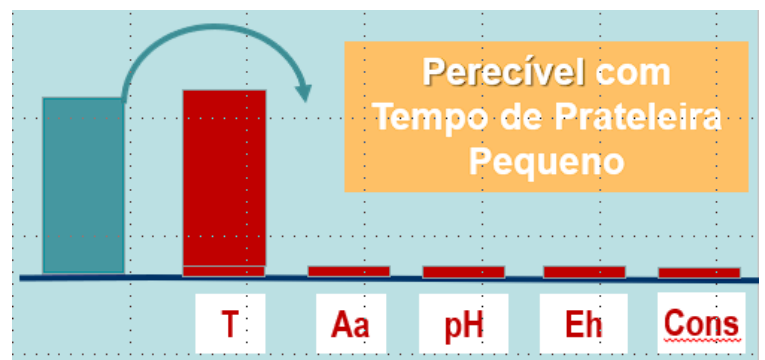


Abaixo é apresentado, passo a passo, como ele é feito. Para isso foi escolhido como alimento o **Leite Pasteurizado “em saquinho”**.

1º Passo: determine o somatório das variáveis: Microbiota – Stress da Microbiota – Nutrientes:



2º Passo: represente os obstáculos com um tamanho (altura) proporcional a sua eficácia





UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA E PARASITOLOGIA
DISCIPLINA DE MICROBIOLOGIA

Analise abaixo outros exemplos do **Gráfico dos Obstáculos** de alimentos:

