

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
FACULDADE DE FARMÁCIA

TATIANE DIAS DA SILVA

**MODELAMENTO PREDITIVO PARA CRESCIMENTO DE *Listeria monocytogenes*  
APLICÁVEL A SALSICHA**

Belo Horizonte

2018

TATIANE DIAS DA SILVA

**MODELAMENTO PREDITIVO PARA CRESCIMENTO DE *Listeria monocytogenes*  
APLICÁVEL A SALSICHA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestra em Ciência de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Gonçalves Junqueira

Coorientadora: Profa. Dra. Roseane Batitucci Passos de Oliveira

Belo Horizonte

2018

### Ficha Catalográfica

S586m Silva, Tatiane Dias da.  
Modelamento preditivo para crescimento de *Listeria monocytogenes* aplicável a salsicha / Tatiane Dias da Silva. – 2018.  
135 f. : il.

Orientador: Roberto Gonçalves Junqueira.  
Coorientadora: Roseane Batitucci Passos de Oliveira.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos.

1. Alimentos – Análise – Teses. 2. Embutidos – Microbiologia – Teses. 3. Salsichas – Análise – Teses. 4. Cinética de crescimento – Teses. I. Junqueira, Roberto Gonçalves. II. Oliveira, Roseane Batitucci Passos de. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. IV. Título.

CDD: 664

**Elaborado por Luciene Aparecida Costa – CRB-6/2811**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

PPCCA


## FOLHA DE APROVAÇÃO

MODELAMENTO PREDITIVO PARA CRESCIMENTO DE *Listeria monocytogenes*  
APLICÁVEL A SALSICHA

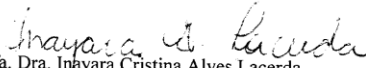
**TATIANE DIAS DA SILVA**

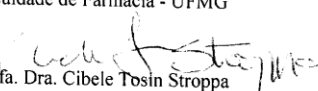
Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA DE ALIMENTOS, como requisito para obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIA DE ALIMENTOS, área de concentração CIÊNCIA DE ALIMENTOS.

Aprovada em 28 de fevereiro de 2018, pela banca constituída pelos membros:

  
Profa. Dr. Roberto Gonçalves Junqueira (Orientador)  
Faculdade de Farmácia - UFMG

Profa. Dra. Roseane Batitucci Passos de Oliveira  
Faculdade de Farmácia - UFMG

  
Profa. Dra. Inayara Cristina Alves Lacerda  
Faculdade de Farmácia - UFMG

  
Profa. Dra. Cibele Tosin Stroppa  
Centro Universitário de Belo Horizonte - UniBH

Belo Horizonte, 28 de fevereiro de 2018.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus acima de tudo, por ter colocado em minha vida pessoas incríveis que me ajudaram a concluir esta etapa.

Gostaria de agradecer à minha família: meu pai Sudário, minha mãe Neuza, minhas irmãs Joseane e Viviane e ao meu namorado Allan, por acreditarem que eu chegaria ao fim desse projeto e me darem a força necessária para que eu não desanimasse. Vocês são meu porto seguro merecem todo o meu carinho. Obrigada!

Ainda gostaria de agradecer aos meus orientadores Roberto e Roseane, por me darem o apoio necessário para que concluíssemos esse trabalho juntos. Obrigada!

## RESUMO

O efeito da temperatura de armazenamento, pH, teor de sal e de nitrito no crescimento de *Listeria monocytogenes* foi investigado por meio de modelos preditivos aplicáveis à salsicha, uma vez que este é um dos alimentos mais envolvidos em surtos alimentares causados por este patógeno. Para cada temperatura de incubação estudada, 10, 15 e 37°C, foi investigado o efeito dos fatores pH, NaCl e NaNO<sub>2</sub> no crescimento de *L. monocytogenes*. Para cada fator, dois níveis foram analisados: pH 5,5 e 6,8; 1,5 e 2,0 g/100g de NaCl; 75 e 150 mg/kg de NaNO<sub>2</sub>. Para cada meio de cultura foi lida a absorvância (turbidez) em espectrofotômetro a 630 nm, específico para leitor de microplacas, em intervalos de tempo de cerca de 2 h até que o crescimento atingisse absorvância entre 0,600 e 0,700 ou quando a leitura se tornasse inconsistente. Utilizando o software MatLab, os dados obtidos foram ajustados a curvas de crescimento para três modelos: Gompertz, Logístico e Logístico modificado. A adequação do ajuste dos dados aos modelos foi avaliada utilizando Fator de Influência e Fator de precisão e ainda por uma análise de resíduos. De um modo geral, as três curvas de crescimento apresentaram um bom ajuste, tanto ao utilizar meio de cultura sem inibidores para o crescimento de *Listeria monocytogenes* quanto ao utilizar os meios de cultura com os diferentes níveis de fatores estudados, com coeficientes de determinação ( $R^2$ ) maiores que 0,94. O modelo de Gompertz apresentou valores de Fatores de Influência (FI) e Fatores de Precisão (FP) mais próximos de 1, indicando um melhor ajuste, além de obter valores da taxa de crescimento específico ( $\mu_{\max}$ ) e valores de fase de adaptação ( $\lambda$ ) mais baixos, mas esses parâmetros são semelhantes nos diferentes modelos. Entretanto, o perfil dos gráficos de resíduos do modelo de Gompertz apresentou maiores inconsistências que o modelo Logístico Modificado, sendo este adotado como modelo preditivo para descrever o crescimento de *Listeria monocytogenes*. No Modelo Logístico Modificado, a fase de adaptação ( $\lambda$ ) diminuiu conforme a temperatura de incubação aumentava e  $\mu_{\max}$  e a taxa de crescimento relativo (B) aumentaram com o aumento da temperatura de incubação, na maioria dos meios de cultura estudados. Segundo esse modelo, aumentando o teor de sal do meio para 2,0 g/100g, o crescimento de *L. monocytogenes* poderia ser reduzido mesmo diminuindo o teor de nitrito de sódio para 75 mg/kg.

**Palavras-chave:** Modelos preditivos. *Listeria monocytogenes*. Salsicha. Cinética de crescimento.

## ABSTRACT

The effect of storage temperature, pH, content salt and nitrite on the growth of *Listeria monocytogenes* was investigated using predictive models applicable to the frankfurters, since this is one of the foods most involved in food outbreaks caused by this pathogen. For each incubation temperature studied, 10, 15 and 37°C, the effect of factors pH, NaCl and NaNO<sub>2</sub> on growth of *L. monocytogenes* was investigated. For each factor, two levels were analyzed: pH 5,5 and 6,8; 1,5 and 2,0 g/100g NaCl; 75 and 150 mg/kg NaNO<sub>2</sub>. For each culture media the absorbância (turbidity) was measured by means of spectrophotometer at 630 nm, specific for microplate reader, at time intervals of about 2 h until the growth reached absorbance between 0.600 and 0.700 or when the reading became inconsistent. Using the MatLab software, the obtained data were adjusted to growth curves for three models: Gompertz, Logistic and Logistic modified. The adequacy of fit of the data onto models was evaluated using Bias Factor and Accuracy Factor and also by a residue analysis. In general, the three growth curves showed a good fit, using culture media without inhibitors for the growth of *Listeria monocytogenes* and using the culture media with the different levels of factors studied as well, with determination coefficients ( $R^2$ ) greater than 0.94. Gompertz model showed Bias Factors and Accuracy Factors values closer to 1, indicating a better fit, in addition obtain lower specific growth rate ( $\mu_{\max}$ ) values and adaptation phase values ( $\lambda$ ), but these parameters are similar in different models. However, the Gompertz model residue graphs profile showed greater inconsistencies than the Modified Logistic model, which was adopted as a predictive model to describe the growth of *Listeria monocytogenes*. In the Modified Logistic Model, the Lag phase ( $\lambda$ ) decreased as the incubation temperature increased, the Specific Growth Rate ( $\mu_{\max}$ ) and the Relative Growth Rate (B) increased with increasing incubation temperature in most culture media studied. According to this model, increasing the salt content of the culture media to 2.0 g / 100 g, growth of *L. monocytogenes* could be reduced even lowering the sodium nitrite content to 75 mg / kg.

**Keywords:** Predictive models. *Listeria monocytogenes*. Sausage. Growth kinetics.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	10
<b>2</b>	<b>OBJETIVO</b>	12
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	13
3.1	INOCUIDADE EM PRODUTOS CÁRNEOS PRONTOS PARA O CONSUMO	13
3.2	<i>Listeria monocytogenes</i> E FATORES QUE INFLUENCIAM SEU CRESCIMENTO	18
3.2.1	<i>Listeria</i> EM ALIMENTOS	19
3.2.2	LISTERIOSE	19
3.2.3	MEDIDAS DE CONTROLE	21
3.3	SALSICHA	22
3.3.1	CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS	22
3.3.2	INGREDIENTES E FUNÇÕES	23
3.4	MICROBIOLOGIA PREDITIVA	24
3.4.1	MODELOS MATEMÁTICOS	26
3.4.1.1	<i>Modelo de Gompertz, Logístico, e Logístico Modificado</i>	28
3.4.2	ANÁLISE DE DESEMPENHO DOS MODELOS PREDITIVOS	29
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	31
4.1	ATIVAÇÃO E ENUMERAÇÃO DE <i>Listeria monocytogenes</i>	31
4.2	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	31
4.3	DETERMINAÇÃO DA CURVA DE CRESCIMENTO	32
4.4	DESENVOLVIMENTO DO MODELO PREDITIVO	33
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	34
5.1	ANÁLISE DO CRESCIMENTO DE <i>Listeria monocytogenes</i>	34
5.1.1	CRESCIMENTO À 10°C	34
5.1.2	CRESCIMENTO À 15°C	39
5.1.3	CRESCIMENTO À 37°C	43
5.2	ANÁLISE DOS PARÂMETROS OBTIDOS PELAS CURVAS DE CRESCIMENTO DOS MODELOS LOGÍSTICO, LOGÍSTICO MODIFICADO, E DE GOMPERTZ	48
5.3	ANÁLISES DE DESEMPENHO DOS MODELOS	69
5.3.1	ANÁLISE DE DESEMPENHO UTILIZANDO FATOR DE INFLUÊNCIA E FATOR DE PRECISÃO	69
5.3.2	ANÁLISE DE DESEMPENHO USANDO ANÁLISE DE RESÍDUO	74
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	78
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	79



APÊNDICE A - Absorvâncias lidas em leitor de placas de microtitulação das amostras .....	90
APÊNDICE B – Curva de crescimento de <i>L. monocytogenes</i> em meio de cultura com inibidores, incubado à temperatura de 10°C, na primeira repetição .....	95
APÊNDICE C – Curva de crescimento de <i>L. monocytogenes</i> em meio de cultura com inibidores, incubado à temperatura de 15°C, na primeira repetição .....	101
APÊNDICE D – Curva de crescimento de <i>L. monocytogenes</i> em meio de cultura com inibidores, incubado à temperatura de 37°C, na primeira repetição .....	107
APÊNDICE E – Resíduo dos experimentos realizados para meio de cultura com inibidores a 10°C, na primeira repetição.....	113
APÊNDICE F – Resíduo dos experimentos realizados para meio de cultura com inibidores a 15°C, na primeira repetição.....	121
APÊNDICE G – Resíduo dos experimentos realizados para meio de cultura com inibidores a 37°C, na primeira repetição.....	129

## 1 INTRODUÇÃO

A demanda da população em geral, por produtos cárneos prontos para consumo, como salsichas, está aumentando continuamente em todo o mundo devido à rotina cada vez mais corrida na vida dos consumidores, o que tem proporcionado a escolha de alimentos de fácil e rápido preparo. Esse tipo de produto é frequentemente associado a casos de listeriose, causada por *Listeria monocytogenes* em alimentos. Este patógeno pode sobreviver em condições ambientais severas, como refrigeração, alta concentração de NaCl, atmosferas modificadas ou vácuo, além de algumas estirpes formarem biofilme devido à limpeza e sanitização ineficazes (MENDONÇA et al., 2012; ALLEN et al., 2016), um fato que o torna uma grande ameaça para a indústria de alimentos.

A inocuidade de alimentos refere-se à inexistência de perigos inerentes aos alimentos, que prejudicariam a saúde do consumidor. Este termo muitas vezes se confunde com a qualidade dos alimentos, que por sua vez inclui todos os atributos que influenciam no valor do alimento, como a deterioração, contaminação, cor, sabor, textura, e o método de processamento de alimentos (FAO/WHO, 2003). Novas técnicas de processamento, características de composição e a embalagem de seus produtos estão sendo experimentadas pela indústria de alimentos com o objetivo de garantir a inocuidade e produzir produtos mais saudáveis, isto é, com teor reduzido de NaCl e gordura (BAKA et al., 2015).

Em relação à inocuidade de alimentos, *Listeria monocytogenes* é uma causa significativa de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA). Embora a doença seja na maioria dos casos expressa como leve, doença febril, também pode apresentar-se como listeriose sistêmica (invasiva) com sintomas mais graves e alta hospitalização e casos de fatalidade. A incidência de listeriose é baixa na população em geral, apesar da ampla distribuição desse microrganismo no ambiente e da frequência de isolamento em alimentos relativamente alta. Porém, uma das principais causas de morte ocasionadas por DTA (FDA, 2012), sendo que as estirpes 4b são o sorotipo de *L. monocytogenes* mais associadas à listeriose humana (MENDONÇA et al., 2012). A incidência de listeriose sistêmica é muito maior em populações suscetíveis, incluindo mulheres grávidas, idosos e indivíduos com sistema imunológico comprometido (FDA, 2012).

As medidas de controle se tornaram mais eficazes a partir da década de 1990, o que levou à redução da prevalência de *L. monocytogenes* em muitas categorias de alimentos, particularmente em carnes e produtos à base de carne. No entanto, recentes surtos de listeriose

em alimentos prontos para consumo têm desafiado as avaliações de risco, indicando que o conhecimento sobre esse microrganismo ainda não está completo (BUCHANAN et al 2017).

Com o intuito de apoiar na tomada de decisões com relação à segurança microbiológica e à qualidade dos alimentos, a microbiologia preditiva começou a ser usada para descrever o comportamento de microrganismos a partir de diferentes condições ambientais por meio de modelos matemáticos (FAKRUDDIN et al., 2011). Isto permite a avaliação objetiva das operações de processamento, distribuição e armazenamento dos alimentos. Os modelos matemáticos desenvolvidos pela microbiologia preditiva são muito importantes para a indústria de alimentos, permitindo uma ampla gama de aplicações, como suporte ao sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), design de produtos e processos, avaliação da vida útil, cumprimento de critérios microbiológicos, avaliação de exposição e desenvolvimento de planos de amostragem (GUILLIER, 2016; KOUTSOUMANIS; LIANOU; GOUGOULI, 2016; HORITA et al., 2018).

Em termos nutricionais, a redução da quantidade de NaCl e de nitrito, que são utilizadas em salsichas vem ao encontro das demandas saudáveis do consumidor atual. Para a indústria de alimentos há a necessidade de se verificar qual o impacto que essas modificações na formulação podem provocar na inocuidade desse produto, principalmente em relação a *L. monocytogenes*.

A medição e modelamento da resposta de crescimento microbiano determinada por fatores intrínsecos ou extrínsecos, como temperatura, pH, e atividade de água, pode indicar quanto do crescimento pode ser atribuído a esses fatores. Como o uso de modelos validados com dados independentes é tão confiável quanto a acumulação de resultados da literatura científica e como o método de enumerar microrganismos em diferentes estágios de armazenamento dos alimentos é moroso e caro, o uso de modelos matemáticos vem ganhando grande força (BARANYI e ROBERTS, 2004).

Em todo o mundo, surtos de listeriose e até mesmo mortes ocasionadas por essa doença, têm preocupado autoridades que controlam a segurança alimentar. Além disso, a busca por alimentos saudáveis tem despertado o interesse da indústria pela redução da quantidade de sal e de nitrito. Pelo uso de modelos preditivos é possível verificar qual o impacto que modificações na formulação poderiam provocar na inocuidade do alimento em relação a *L. monocytogenes*.

## 2 OBJETIVO

Verificar a adequação de modelos matemáticos aplicáveis a salsichas na predição dos efeitos da temperatura, pH, teor de sal e de nitrito de sódio no crescimento de *Listeria monocytogenes*.

### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Quantificar o crescimento de *L.monocytogenes* em função dos seguintes fatores: temperatura de armazenamento, pH, teor de sal e de nitrito, com dois níveis cada fator;
- Construir curvas de crescimento, utilizando três modelamentos: Gompertz, Logístico, e Logístico modificado;
- Avaliar o desempenho dos modelos utilizando análise de fator de influência, fator de precisão e análise de resíduo;
- Definir qual o modelo mais adequado para descrever o crescimento.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 INOCUIDADE EM PRODUTOS CÁRNEOS PRONTOS PARA O CONSUMO

A inocuidade de alimentos refere-se à inexistência de perigos inerentes aos alimentos, que prejudicariam a saúde do consumidor. Este termo muitas vezes se confunde com a qualidade dos alimentos, que por sua vez inclui todos os atributos que influenciam no valor do alimento, como a deterioração, contaminação, cor, sabor, textura e o método de processamento de alimentos (FAO/WHO, 2003).

De acordo com a Food and Agriculture Organization of the United Nations/ World Health Organization (FAO/WHO, 2003), os programas de controle alimentar são fundamentais para a proteção da saúde e da segurança alimentar dos consumidores, podendo assim garantir a inocuidade e a qualidade dos alimentos, sendo esta uma exigência do atual ambiente globalizado de comércio.

Os principais desafios das autoridades que controlam os alimentos são o aumento de doenças transmitidas por alimentos e novos riscos emergentes; a mudança de tecnologias na produção e comercialização dos alimentos; a necessidade de padronização das normas de segurança alimentar e qualidade; mudanças no estilo de vida; e a sensibilização dos consumidores (FAO/WHO, 2003).

A segurança alimentar é um problema de saúde pública, sendo as doenças transmitidas por alimentos, quer por microrganismos patogênicos ou por contaminantes químicos, consideradas graves ameaças à população consumidora. Muitos riscos alimentares podem ser controlados diante da aplicação da Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) em todas as fases da produção dos alimentos (FAO/WHO, 2003).

New Zealand Food Safety Authority (2005) afirma que testes de vida de prateleira mostram o período em que o alimento manterá sua qualidade durante o armazenamento, sendo que o controle do microrganismo patogênico deve ser realizado por meio do APPCC, da modelagem preditiva ou de testes de desafio. No decorrer da vida de prateleira do alimento, os mesmos devem permanecer seguros, mantendo sua aparência, odor, textura e sabor, além de atender às alegações nutricionais contidas no rótulo, sendo que o cumprimento deste prazo depende de fatores como os ingredientes utilizados, o processamento do alimento, o tipo de embalagem, e seu armazenamento, sendo esta data indicada na rotulagem do produto (NEW ZEALAND FOOD SAFETY AUTHORITY, 2005).

Diante da necessidade de um maior controle sanitário e elaboração de requisitos higiênico-sanitários nos Serviços de Alimentação, com o intuito de proteger a saúde da população, a ANVISA aprovou a Resolução RDC N° 216, de 15 de setembro de 2004, no qual dispõe sobre o Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação; a RDC N°. 218, de 29 de julho de 2005 que trata do Regulamento Técnico de Procedimentos Higiênico-Sanitários para Manipulação de Alimentos e Bebidas Preparados com Vegetais; e por fim a RDC N° 43, de 1 de setembro de 2015 que estabelece medidas para a prestação de serviços de alimentação em eventos de massa.

Produtos prontos para consumo à base de carne, como as salsichas, ganharam um grande impulso nos últimos anos pela demanda de consumidores por alimentos de rápido e fácil preparo (DE BOER et al., 2004; BRUNNER; VAN DER HORST; SIEGRIST, 2010; HORITA et al., 2018). Porém, à medida que os consumidores passam a se informar acerca da importância de uma dieta para adquirir uma vida saudável (FONTANA; PARTRIDGE, 2015; OHLHORST et al., 2013; HORITA et al., 2018), vários países vêm implementando regulamentos com o intuito de reduzir o açúcar, sódio, teor de gordura e aditivos na formulação dos alimentos (HASHIM; HE; MACGREGOR, 2016; ASIOLI et al., 2017; HORITA et al., 2018).

A redução de gordura, sódio e aditivos como o nitrito nestes produtos não é fácil, já que a gordura influencia na palatabilidade, bem como na capacidade de retenção de água, além de ser barata como matéria-prima (JIMENEZ-COLMENERO et al., 2015; HORITA et al., 2018). O sal (NaCl) possui propriedades antimicrobianas pela sua capacidade em reduzir a atividade de água e atuar em vários processos bioquímicos que influenciam no sabor (PETRACCI et al., 2013; ABDOLGHAFOUR e SAGHIR, 2014; HORITA, 2018). O nitrito de sódio é um conservante químico que inibe o crescimento de bactérias como o *Clostridium botulinum* e diminui a velocidade da oxidação lipídica (DUARTE, 2010; HORITA et al., 2018).

Uma grande preocupação do consumo de alimentos cárneos é a presença de microrganismos deteriorantes, mas principalmente de patogênicos, que são os responsáveis por surtos alimentares. A contaminação deste tipo de alimento depende de diversos fatores, tais como a carga microbiana inicial nas carcaças das carnes utilizadas como ingredientes, as condições higiênicas e sanitárias durante a manipulação e também estocagem das matérias-primas e produto pronto (MARTINS, 2006).

Houve vários surtos de listeriose associados a produtos prontos para o consumo à base de carne relatados no mundo (OKPO et al., 2015; BUCHANAN et al., 2017; HORITA et al.

2018). *L. monocytogenes* tem sido rotineiramente isolado destes alimentos, como mostram os estudos feitos por D'Ostuni et al., 2016; Kramarenko et al., 2016; Yang et al., 2016; Horita et al., 2018.

De acordo com Centers for Disease Control and Prevention (CDC, 2017), cerca de 1.600 pessoas adquirem listeriose a cada ano, com cerca de 260 mortes nos Estados Unidos da América (EUA). Em março de 2017, foram relatadas 8 pessoas infectadas em quatro estados dos EUA, sendo que 2 morreram pela ingestão de queijo feito com leite cru. De setembro de 2013 a maio de 2016, 9 pessoas foram infectadas com *Listeria* entre quatro estados, com 3 mortes pela ingestão de vegetais congelados contaminados. Em 2014, 2 pessoas foram infectadas pelo leite cru produzido por uma fazenda do país. Em nove estados do país, 19 pessoas foram infectadas, tendo 1 morte, em 2016, por saladas embaladas. Além destes surtos, entre os anos de 2011 e 2015, ocorreram surtos nos EUA devido aos seguintes alimentos contaminados: sorvetes, produtos de laticínio, melões, e brotos de feijão.

A listeriose passou a ser uma preocupação no mundo a partir da década de 80, quando ocorreram os primeiros surtos conhecidos, principalmente na América do Norte. A eclosão destes surtos se relaciona à mudança nos hábitos alimentares da população, que passou a consumir mais alimentos industrializados (FONTOURA, 2006).

O Instituto Oswaldo Cruz (IOC) iniciou um estudo em 1969, analisando a ocorrência de *Listeria monocytogenes* em várias fontes de infecção provenientes de diversas regiões do Brasil. Neste estudo foram analisadas 266 amostras de material clínico humano, coletadas entre os anos de 1969 e 2000 nos estados de Pernambuco, Bahia, Goiás, Distrito Federal, Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná e Rio Grande do Sul. Em 255 amostras foram detectadas bactérias do gênero *Listeria*, das quais 245 foram identificadas como *L. monocytogenes*, tendo sido isoladas, principalmente, em pacientes com meningite e com septicemia (FONTOURA, 2006).

A Resolução-RDC Nº 12, de 02 de janeiro de 2001, define os padrões microbiológicos para a salsicha, como mostra a Tabela 1.

Tabela 1 - Padrões microbiológicos sanitários para salsichas.

Microrganismo	Tolerância para Amostra indicativa	Tolerância para amostra representativa			
		n	c	m	M
Coliformes a 45°C/g	10 <sup>3</sup>	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
Estaf. coag. positiva/g	3x10 <sup>3</sup>	5	1	10 <sup>2</sup>	3x10 <sup>3</sup>
C. sulfito redutor a 46°C	5x10 <sup>2</sup>	5	1	10 <sup>2</sup>	5x10 <sup>2</sup>
Salmonella sp/25g	Aus	5	0	Aus	-

Fonte: ANVISA, 2001.

a) Coliformes a 45°C:

Coliformes são bastonetes gram-negativos, pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, que habitam o trato intestinal do homem e de animais (SOUSA, 2006) e fermentam a lactose em 48 horas (JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005).

Os coliformes são indicadores de segurança empregados para retratar a qualidade microbiológica dos alimentos e água, sendo estes de origem intestinal, resultado de contaminação fecal direta ou indireta. O primeiro indicador fecal utilizado foi a *Escherichia coli* (JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005).

Coliformes a 45°C equivalem a coliformes de origem fecal e termotolerantes (ANVISA, 2001). O grupo de coliformes termotolerantes (coliformes a 45°C) é constituído principalmente pela bactéria *Escherichia coli*, sendo que sua presença em alimentos indica contaminação fecal que ocorre devido às más condições higiênico-sanitárias durante o processamento do alimento (PEREIRA et al, 1999; BRIGIDO et al, 2004; CASTRO, 2011; BOLZAN; SILVA, 2012), sendo a diarreia o principal sintoma relacionado a um surto causado por esta bactéria (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

b) Estafilococos coagulase positiva:

As bactérias do gênero *Staphylococcus*, que são gram-positivas, de real interesse e potencial em alimentos e que são coagulase positivas são: *S. aureus subsp. Anaerobius*, *S. aureus subsp. Aureus*, *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. delphini*, e *S. schleiferi subsp. Coagulans* (JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005).

Algumas espécies e estirpes de estafilococos produzem enterotoxinas, que são capazes de provocar a gastroenterite estafilocócica, pela ingestão de alimentos contaminados (JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005). A bactéria *Staphylococcus aureus*, está entre os principais



patógenos de origem alimentar, podendo causar intoxicações alimentares pela produção de toxina no alimento (TIGRE; BORELLY, 2010), sendo que segundo a ANVISA (2001), a determinação de estafilococos coagulase positiva tem o interesse de substituir a de *S. aureus*.

A frequência de portadores de *S. aureus* em fossas nasais é relativamente alta, podendo esta bactéria ser transmitida ao alimento pelos manipuladores de alimentos (IARIA; FURLANETTO; CAMPOS, 1980; CASTRO; IARIA, 1984; NETO; SILVA; STAMFORD, 2002). Além dos portadores via fossas nasais, pessoas com mãos e braços com furúnculos e machucados, podem ser fontes de contaminação (JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005). A contaminação do alimento pode ocorrer pelas mãos contaminadas, ou por gotículas oro-nasais, e havendo condições favoráveis, estas bactérias podem se multiplicar, causando intoxicação alimentar aos consumidores (IARIA; FURLANETTO; CAMPOS, 1980). A enterotoxina estafilocócica é termoestável, portanto, esta continua presente no alimento após o cozimento (NETO; SILVA; STAMFORD, 2002; TIGRE e BORELLY, 2010). Os principais sintomas são náuseas, vômitos, diarreias, e sudorese, podendo ainda causar dores de cabeça, calafrios, perda de pressão arterial, e febre (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

c) Clostrídio sulfito redutor a 46°C:

Clostrídios sulfito redutores são bactérias no formato de bastonetes, gram-positivos, anaeróbios, e formadores de esporos sendo que sua determinação possui o intuito de identificar a ocorrência de *Clostridium perfringens* no alimento (ANVISA, 2001).

As estirpes de *C. perfringens* relacionadas à intoxicação alimentar estão presentes no solo, água, alimentos, poeira, especiarias e trato intestinal de seres humanos e outros animais. Esta bactéria está associada à gastroenterite, com sintomas como dor abdominal aguda e diarreia, náuseas, febre e vômitos, possuindo uma taxa de letalidade baixa (JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005). Alimentos envolvidos em surtos de intoxicação alimentar por *C. perfringens* costumam ser cozidos, indicando que o tratamento térmico foi insuficiente para destruir os esporos termorresistentes (MARTINS et al., 2008).

Ao contrário da intoxicação alimentar causada por *C. perfringens*, em que grande número de células viáveis devem ser ingeridas para causar intoxicação, o botulismo é causado pela ingestão da toxina produzida pelo *C. botulinum*, que é outro responsável por surtos de intoxicações alimentares (JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005).

d) *Salmonella* sp:

*Salmonella* sp são bacilos gram-negativos que causam intoxicação alimentar pela ingestão de alimentos que contenham estirpes em números significativos, causando gastroenterite alimentar nos consumidores, com sintomas como náuseas, vômitos, dor abdominal, cefaleia, calafrios, diarreia, prostração, fraqueza, desmaio, febre moderada, inquietação, sonolência, e em casos mais graves, pode ocasionar febre tifóide e febre paratifóide (JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005).

O homem e os animais são os principais reservatórios naturais da *Salmonella* sp (MESQUITA et al., 2006). Pessoas contaminadas por esta bactéria podem se tornar portadores destes microrganismos após a recuperação da doença, apesar dessas bactérias geralmente desaparecerem rapidamente do trato intestinal (JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005).

Sua presença em alimentos pode ocorrer por manipuladores que possuem a doença, até mesmo de forma assintomática e pelo contato direto de alimentos não contaminados com alimentos contaminados (contaminação cruzada) (JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005).

### 3.2 *Listeria monocytogenes* E FATORES QUE INFLUENCIAM SEU CRESCIMENTO

*Listeria monocytogenes* é uma bactéria Gram-positiva, em forma de bastonete, e move-se por flagelos. São anaeróbias facultativas, tolerantes ao sal (FDA, 2012), são catalase positivas e oxidase negativas (FRANCO; LANDGRAF, 1996), não são formadoras de esporos, e produzem ácido lático a partir de glicose. Podem ser encontradas em vegetação em decomposição e solos, fezes de animais, esgoto, silagem e água, podendo contaminar qualquer alimento fresco de origem animal ou vegetal (JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005).

Esta bactéria é um microrganismo psicrotrófico que cresce em uma ampla faixa de pH, entre 4,1 e 9,6, e em concentrações de sal de até 13% (HORITA et al., 2018), requer uma atividade de água mínima de 0,92. A temperatura mínima para seu crescimento é de -1,5°C, e seu tempo de redução decimal (tempo para alcançar a redução de 90% ou 1 ciclo logarítmico do microrganismo à temperatura especificada) é de 5 a 10 minutos para D<sub>60°C</sub> e 10 segundos para D<sub>70°C</sub> (NZFSA, 2005).

Não existe um método eficiente para distinguir *L. monocytogenes* de outras espécies de *Listeria* presentes numa mesma amostra de alimento. A diferenciação tem sido feita por análises fenotípicas das colônias em meios de cultivo, ocasionando em possíveis erros na especificidade destas bactérias (ANDRADE et al., 2014).

Possui 13 sorotipos: 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e e 7, sendo os sorotipos 1/2a, 1/2b, e 4b, os mais associados às infecções transmitidas pelos alimentos (FDA, 2012; RODRIGUES; SÁ; MELO, 2017).

### 3.2.1 *Listeria* EM ALIMENTOS

Alimentos como leite cru ou pasteurizado, sorvetes, peixe defumado e outros frutos do mar, aves e carnes cruas, salsichas, queijos, e legumes crus são os mais envolvidos em surtos alimentares por esta bactéria (FDA, 2012). Segundo New Zealand Food Safety Authority (2005), *L. monocytogenes* é o patógeno mais perigoso associado a alimentos processados refrigerados, já que é capaz de crescer em temperaturas de refrigeração. Por isso a importância de seu estudo em salsichas e outros produtos cárneos refrigerados.

Algumas estirpes de *L. monocytogenes* formam biofilme, se mostrando persistentes em ambientes de processamento de alimentos, devido à limpeza e sanitização ineficazes, que permitem a sua sobrevivência e adaptação (MENDONÇA et al., 2012; ALLEN et al., 2016; BUCHANAN et al., 2017; HORITA et al., 2018).

Visto a grande preocupação dos órgãos responsáveis pela inocuidade dos alimentos, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento instituiu os procedimentos de controle da *Listeria monocytogenes* em produtos de origem animal prontos para o consumo, através da Instrução Normativa (IN) nº 9, de 8 de abril de 2009, com o objetivo de monitorar e assegurar a inocuidade nestes alimentos processados. Esta IN aplica-se aos estabelecimentos que produzem alimentos de origem animal e prontos para o consumo com pH > 4,4, com atividade de água > 0,92, ou concentração de cloreto de sódio < 10% (BRASIL, 2009; MORAIS, 2015).

### 3.2.2 LISTERIOSE

O número de pessoas infectadas pela *Listeria* é comparativamente menor que outras bactérias, porém é uma das principais causas de morte ocasionadas por doenças transmitidas por alimentos (DTA). A listeriose é uma doença ocasionada por *L. monocytogenes* e os sintomas são náuseas, vômitos, dores, febre e diarreia, que geralmente desaparecem normalmente. Mas há outra forma mais grave e invasiva da doença, que ocorre quando há bacteremia e consequente infecção do sistema nervoso, resultando em meningite. Nesse caso o paciente apresenta dores de cabeça, pescoço rígido, confusão, perda de equilíbrio e

convulsões. A gastroenterite não invasiva tem um período de incubação relativamente curto, de algumas horas a 2 ou 3 dias. A forma grave e invasiva da doença pode ter um período de incubação muito longo, podendo variar de 3 dias a 3 meses, e a doença pode durar dias até várias semanas (FDA, 2012; BUCHANAN et al., 2017).

Pessoas imunodeprimidas (aquelas com AIDS ou doenças crônicas, ou que ingerem certos medicamentos contra artrite imunossupressora ou quimioterapia), idosos, e mulheres grávidas (pode causar aborto) são os mais suscetíveis à infecção por *Listeria monocytogenes* (FDA, 2012; BUCHANAN et al., 2017). O sorovar *L. monocytogenes* 4b é o mais frequentemente associadas à listeriose humana (MENDONÇA et al., 2012; BUCHANAN et al., 2017) e sua dose infectiva é indeterminada, podendo variar com a suscetibilidade do hospedeiro e a matriz alimentar (FDA, 2012). O período de incubação costuma ser de várias semanas, o que torna difícil determinar a dose infectiva exata a partir de dados epidemiológicos humanos. Por isso, modelos animais foram adotados para determinar a dose-resposta para listeriose, utilizando ratos, cobaias e primatas como modelos de exposição humana. Porém, estes modelos animais podem diferir do mecanismo de infecção em seres humanos (BONAZZI; LECUIT; COSSART, 2009; BUCHANAN et al., 2017).

*L. monocytogenes* é capaz de se espalhar diretamente de célula para célula no hospedeiro. Uma vez que a bactéria penetra nos monócitos, macrófagos ou leucócitos do hospedeiro, pode se reproduzir e causar bacteremia. Proteínas na superfície de células de *L. monocytogenes* possibilitam sua sobrevivência em células fagocíticas e aumentam a sua propagação de célula para célula. Sua identificação é feita a partir da cultura isolada de tecido, sangue, placenta ou feto (FDA, 2012).

Ao atingir o intestino, *L. monocytogenes* pode induzir a sua absorção pelo epitélio mucoso ou macrófagos, podendo se espalhar para o fígado e o baço, onde é absorvido por fagócitos. Neste ponto, a infecção é geralmente eliminada quando o indivíduo é saudável, porém em pessoas pertencentes ao grupo de risco, esta bactéria pode se espalhar para o cérebro ou, no caso de grávidas, para o feto (ANDERSSON, 2016).

Tilney e Portnoy (1989); Cruz, Martinez e Destro (2008); Bonazzi, Lecuit e Cossart (2009) descreveram a penetração da bactéria no citoplasma. *L. monocytogenes* se associa à membrana plasmática pelas proteínas de superfície InlA e InlB com E-cadherina e o receptor Met e se internalizam na célula por fagocitose. Nesse processo a membrana da célula eucariótica envolve a bactéria e esta provoca a lise da membrana vacuolar pela toxina LLO. Nessa etapa, a *Listeria* pode se multiplicar. *L. monocytogenes* usa a proteína ActA para se revestir com uma grande quantidade de filamentos de actina, formando uma grande "cauda"

de actina de até 5 µm de comprimento, explorando sua motilidade para células vizinhas pela formação de protrusões da membrana plasmática. Uma vez fagocitada por outra célula, ocorre a dissolução das membranas que a rodeiam, e o ciclo se repete. Assim, a *Listeria* consegue se multiplicar e se espalhar de célula para célula sem deixar o citoplasma do hospedeiro, disseminando a infecção, como mostra a Figura 1.

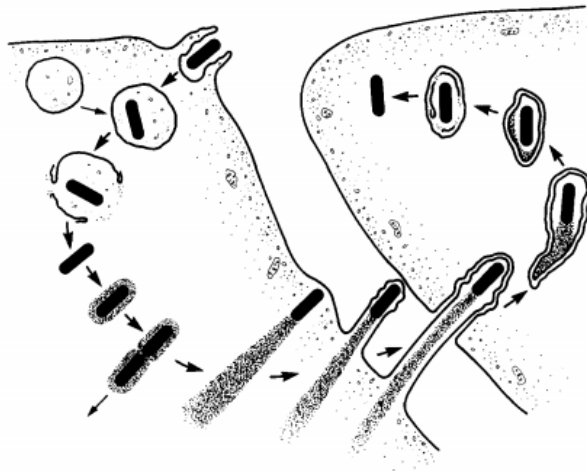


Figura 1 – Ciclo de vida intracelular da *L. monocytogenes*.  
Fonte: TILNEY e PORTNOY, 1989.

O principal mecanismo de patogenicidade da *L. monocytogenes* é a Listeriolisina O (LLO), que é uma hemolisina produzida por esta bactéria que promove a lise dos vacúolos que contêm a célula bacteriana (FRANCO; LANDGRAF, 1996; BONAZZI; LECUIT; COSSART, 2009).

### 3.2.3 MEDIDAS DE CONTROLE

As medidas de controle da listeriose incluem o adequado cozimento do alimento, a lavagem de frutas e legumes, a prevenção de contaminação cruzada, a lavagem constante das mãos (FDA, 2012), além do treinamento de funcionários para que eles possam compreender a importância de práticas sanitárias adequadas, a instalação de propriedades desumidificantes para regular a umidade em unidades de resfriamento, a paletização e cobertura de materiais de embalagem até serem usados, o monitoramento das temperaturas de refrigeração, e o descarte de alimentos vencidos (ADZITEY; HUDA, 2010).

Nas Indústrias de Alimentos é necessária a criação de planos de processamento e monitoramento ambiental para *L. monocytogenes*, que devem estar especificados no plano APPCC. Este plano deve dar ênfase às práticas de saneamento, processamento, operações de

embalagem, higiene pessoal e programas de testes de rotina para *L. Monocytogenes* (ADZITEY; HUDA, 2010).

### 3.3 SALSICHA

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Salsicha, da Instrução Normativa nº 4 define salsicha como:

O produto cárneo industrializado, obtido da emulsão de carne de uma ou mais espécies de animais de açougue, adicionados de ingredientes, embutido em envoltório natural, ou artificial ou por processo de extrusão, e submetido a um processo térmico adequado (BRASIL, 2000).

Segundo Brasil (2000), a salsicha, que é um produto cozido, ainda pode passar pelo processo de tingimento, depelacão, defumação e/ou uso de recheios e molhos. As salsichas ainda podem ser classificadas como:

Salsicha: Utiliza carnes de diferentes espécies de animais de açougue, no máximo 60% de carnes mecanicamente separadas (CMS), miúdos comestíveis de diferentes espécies de animais de açougue, tendões, pele e gorduras.

Salsicha Tipo Viena: Utiliza carnes bovina e/ ou suína, no máximo 40% de CMS, miúdos comestíveis de bovino e/ ou suíno, tendões, pele e gorduras.

Salsicha Tipo Frankfurt: Utiliza carnes bovina e/ ou suína, até 40% de CMS, miúdos comestíveis de bovino e/ ou suíno, tendões, pele e gorduras.

Salsicha Frankfurt: Fabricada com porções musculares de carnes bovina e/ ou suína e gorduras.

Salsicha Viena: Fabricada com porções musculares de carnes bovina e/ ou suína e gordura.

Salsicha de Carne de Ave: Produto fabricado com carne de ave, até 40% de CMS de ave, miúdos comestíveis de ave e gorduras.

#### 3.3.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS

As características físico-químicas das salsichas estão apresentadas na Tabela 2, sendo que de acordo com BRASIL (2000), a soma de amido e açúcares totais (carboidratos totais) não poderá superar 7%. Já o teor de cálcio em base seca varia de acordo o tipo de salsicha, como mostrado na Tabela 3.

Tabela 2 – Características físico-químicas das salsichas.

<b>Composição físico-química</b>	<b>Teor</b>
Amido	Máximo de 2%
Carboidratos totais	Máximo de 7%
Umidade	Máximo de 65%
Gordura	Máximo de 30%
Proteína	Mínimo de 12%

Fonte: BRASIL, 2000.

Tabela 3 – Teor de cálcio em base seca de acordo com a classificação das salsichas.

<b>Composição físico-química</b>	<b>Teor de cálcio</b>
Salsicha	0,9%
Salsicha Viena	0,1%
Salsicha Frankfurt	0,1%
Salsicha Tipo Viena	0,6%
Salsicha Tipo Frankfurt	0,6%
Salsicha de Ave	0,6%

Fonte: BRASIL, 2000.

Em um estudo realizado por Bolzan e Silva (2012), a atividade de água de amostras de salsichas embaladas tanto à vácuo quanto à granel, apresentaram variações entre 0,93 a 0,94. De acordo com este mesmo estudo, os valores de pH de salsichas embaladas à vácuo variaram entre 6,16 e 6,36 e as acondicionadas em bandejas obtiveram valores de pH entre 5,42 e 5,98, sendo assim, consideradas como alimento pouco ácido. Estes estudos indicam como a salsicha é favorável à contaminação.

### 3.3.2 INGREDIENTES E FUNÇÕES

Os ingredientes obrigatórios utilizados na fabricação de salsichas são carnes de diferentes espécies de animais de açougue, de acordo com a classificação do produto, e sal. Outros ingredientes que podem ser utilizados são no máximo 10% de miúdos e vísceras comestíveis, exceto nas Salsichas Viena e Frankfurt, além de gordura animal ou vegetal, água, proteína vegetal e/ ou animal, agentes de liga, aditivos intencionais, açúcares, aromas, especiarias e condimentos, podendo ainda se adicionar um máximo de 4% de proteínas não

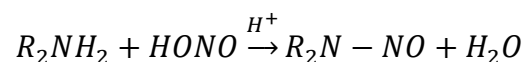
cárnicas como proteína agregada, exceto nas salsichas Viena e Frankfurt, que poderão adicionar proteínas lácteas (BRASIL, 2000).

O sal (NaCl) é utilizado para dar sabor, reduzir a deterioração microbiana pela diminuição da atividade de água, e ainda atua em vários processos bioquímicos que influenciam no sabor (PETRACCI et al., 2013; ABDOLGHAFOR e SAGHIR, 2014; HORITA, 2018).

Os nitratos ( $\text{NO}_3$ ) e nitritos ( $\text{NO}_2$ ) são conservantes químicos permitidos pela legislação brasileira, em no máximo 150 mg/L de nitrito de potássio ou de sódio, ou 300 mg/L de nitrato de potássio ou de sódio (BRASIL, 2006). De acordo com Duarte (2010) e Horita et al. (2018) seu uso em produtos cárneos tem a função de inibir o crescimento de microrganismos patogênicos, como o *Clostridium botulinum*, além de diminuir a oxidação lipídica, conferindo cor, sabor e odor aos alimentos à base de carne.

O nitrato pode dar origem ao nitrito, por redução enzimática ou microbiana (DUARTE, 2010), e em um ambiente ácido, ele se ioniza produzindo ácido nitroso ( $\text{HNO}_2$ ), que se decompõe produzindo óxido nítrico (NO), que é o responsável pela fixação de cor em carnes curadas, pela reação com a mioglobina em condições redutoras para produzir o pigmento vermelho desejável: nitrosomicoglobina (JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005). Sua ação antibacteriana pode ocorrer pela reação do óxido nítrico com compostos como a catalase, peroxidases, e citocromos, possuindo maior ação contra as bactérias em pH entre 4,5 e 5,5, quando está em sua forma não-dissociada máxima, já que o pKa do nitrito é de 3,29. Já em pH entre 6 e 7 sua ação é baixa, e com o pH acima de 7,5 sua presença pode até mesmo auxiliar o crescimento microbiano (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

O nitrito pode reagir com aminas secundárias e terciárias, formando N-nitrosaminas, que podem possuir atividade carcinogênica, mutagênica, teratogênica e embriopática. Essa toxicidade pode estar relacionada à quantidade excessiva destes compostos em alimentos ou ao alto consumo de alimentos com resíduos destes compostos (DUARTE, 2010; HORITA et al., 2018). Porém, ainda não foi possível encontrar um único substituto para o nitrito que reunisse todas as propriedades funcionais do mesmo (ALAHAKOON et al., 2015; HORITA et al., 2018). A forma generalizada pela qual as nitrosaminas podem se formar é a seguinte (JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005):



### 3.4 MICROBIOLOGIA PREDITIVA



A microbiologia preditiva pode ser definida como a compreensão das respostas dos microrganismos em relação às condições ambientais, resumidas em modelos matemáticos, permitindo que a avaliação das operações de processamento, distribuição e armazenamento com relação à inocuidade e a qualidade dos alimentos seja objetiva (KOUTSOUMANIS; LIANOU; GOUGOULI, 2016).

A microbiologia preditiva é uma área promissora que está se desenvolvendo rapidamente e ganhou uma grande atenção científica nos últimos anos devido à pesquisa de microbiologistas alimentares e cientistas. Ela envolve áreas interdisciplinares como matemática, engenharia, química e microbiologia para dar previsões do comportamento microbiano em determinados alimentos e em condições específicas (MCDONALD; SUN, 1999; GUILLIER, 2016).

Seu objetivo é desenvolver equações matemáticas que possam descrever o comportamento dos microrganismos a partir de diferentes fatores ambientais, fornecendo apoio na tomada de decisões com relação à segurança microbiológica e a qualidade dos alimentos (FAKRUDDIN et al., 2011).

Segundo Baranyi e Roberts (2004), a microbiologia de alimentos apresentou certa relutância em se adaptar a métodos modernos e conceitos inovadores, e muitos microbiologistas de alimentos ainda seguem o método de enumerar microrganismos em diferentes estágios de armazenamento dos alimentos, que é moroso e caro. Além disso, para Baranyi e Roberts (1995), o conhecimento adquirido utilizando essa abordagem não é cumulativo, e quando a formulação do produto, ou a temperatura ao qual é submetido muda, os testes precisam ser repetidos.

O estudo dos efeitos de fatores como temperatura, pH ou atividade da água sobre o crescimento microbiano resultou na aceitação de que determinados microrganismos não cresceriam abaixo de certas temperaturas, ou abaixo de um certo valor de pH ou atividade de água. Alguns cientistas reconheceram que outros fatores, extrínsecos ou intrínsecos eram importantes, como a composição da atmosfera, conservantes, ou estrutura alimentar, mas os experimentos necessários para incluir os efeitos de todos esses fatores seriam enormes. Então, se a resposta de crescimento determinada por esses fatores pudesse ser medida e modelada, seria possível indicar quanto o crescimento poderia ser atribuído a esses fatores. O uso de modelos validados com dados independentes tornou-se tão confiável quanto a acumulação de resultados da literatura científica ou com semanas gastas gerando mais dados microbiológicos. É importante se ter uma estimativa "precisa" do crescimento/sobrevivência do microrganismo, mas frequentemente, a estimativa é suficiente (BARANYI e ROBERTS,

2004). Porém, para McDonald e Sun (1999), apesar dos progressos realizados pela Microbiologia Preditiva, ela continua sendo uma pesquisa e não uma ferramenta industrial, já que os modelos são muitas vezes validados com o crescimento dos microrganismos em laboratórios, em condições específicas. Com isso, os modelos podem ter dificuldades em fazer previsões precisas dos alimentos.

Para Zwietering e Den Betsen (2011) e Guillier (2016), os modelos preditivos não são perfeitos, já que há imprecisões intrínsecas, além de serem feitas extrapolações e ainda contar com um inesperado comportamento biológico. Por isso, Guillier (2016) acredita na importância de se conhecer a precisão e confiabilidade das previsões para medir a qualidade e tirar conclusões biológicas para a tomada de decisões.

Os modelos matemáticos desenvolvidos pela microbiologia preditiva são muito importantes para a indústria de alimentos, permitindo uma ampla gama de aplicações, como suporte ao sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), design de produtos e processos, avaliação da vida útil, cumprimento de critérios microbiológicos, avaliação de exposição e desenvolvimento de planos de amostragem (FAKRUDDIN et al., 2011; GUILLIER, 2016; KOUTSOUMANIS; LIANOU; GOUGOULI, 2016). O maior benefício em se usar essas ferramentas é o fato do software auxiliar na tomada de decisões em um curto período de tempo (KOUTSOUMANIS; LIANOU; GOUGOULI, 2016).

#### 3.4.1 MODELOS MATEMÁTICOS

Modelos matemáticos são conjuntos de suposições, geralmente representadas por equações diferenciais (BARANYI e ROBERTS, 2004). Os modelos preditivos permitem estimar a vida de prateleira dos alimentos e verificar como as variáveis ambientais afetam o comportamento de bactérias, fornecendo uma estimativa do crescimento de microrganismos específicos sob condições variadas. Os modelos utilizados na microbiologia preditiva são desenvolvidos a partir de experimentos realizados em laboratórios, que são extrapolados para os alimentos (FAKRUDDIN et al., 2011).

Segundo Baty e Delignette-Muller (2004), ao se traçar o logaritmo da densidade bacteriana em função do tempo, a cinética de crescimento é dividida em três fases. As células recentemente inoculadas em um meio mostram um tempo de latência antes da primeira divisão, ou seja, um período de adaptação, que é seguido por uma fase de crescimento exponencial, no qual a população bacteriana duplica em cada tempo de geração.

Posteriormente, a densidade bacteriana atinge o máximo, quando o crescimento é parcialmente inibido pela falta de nutrientes.

Os microbiologistas usam dois parâmetros principais para caracterizar a curva de crescimento bacteriano: a duração da fase de adaptação ( $\lambda$ ) e a taxa de crescimento específico máximo ( $\mu_{\max}$ ), sendo que estes precisam ser estimados com precisão. Os modelos podem ser classificados de acordo com critérios diversos, diferindo quanto à precisão com que descrevem as sucessivas fases de crescimento (BATY; DELIGNETTE-MULLER, 2004).

Os modelos matemáticos podem ser classificados como cinéticos ou de probabilidade; empíricos ou mecanicistas; ou ainda como primários, secundários ou terciários. Os modelos cinéticos modelam a taxa de crescimento de um microrganismo para fazer previsões com base no crescimento exponencial dessa população microbiana, ou ajustam a função a um dado de crescimento da população microbiana para modelar os efeitos de vários fatores ambientais, o que permite que se façam previsões sobre o tempo de latência, tempo de geração ou taxa de crescimento exponencial dos microrganismos estudados (MCDONALD; SUN, 1999).

Os modelos probabilísticos têm a vantagem de usar a possibilidade de um evento particular ocorrer em condições prescritas. Porém, um problema com o uso desses modelos é que a probabilidade varia com o tempo. Geralmente são utilizados para modelar bactérias formadoras de esporos (MCDONALD; SUN, 1999).

Modelos empíricos descrevem dados em condições experimentais sob a forma de uma relação matemática conveniente. Já os modelos mecanicistas geram previsões a partir de hipóteses (MCDONALD; SUN, 1999).

Os modelos primários medem o crescimento do microrganismo com o tempo. Estas respostas podem ser medidas direta ou indiretamente pela densidade populacional microbiana ou pelos produtos gerados pelo metabolismo microbiano. Já os modelos secundários indicam como os parâmetros dos modelos primários mudam em relação a outros fatores, como a atmosfera, pH, temperatura e nível de sal. Os modelos terciários consistem de softwares de fácil utilização, nos quais são aplicados os modelos primários e secundários como base para gerar sistemas que forneçam previsões (FAKRUDDIN et al., 2011).

Dentre os modelos preditivos já desenvolvidos para *L. monocytogenes* estão os modelos de Baranyi, Modificado de Gompertz, e Logístico estudados em carne suína crua em função da temperatura. O modelo Baranyi foi o mais adequado para expressar o crescimento de microrganismos em carne suína crua e assim garantir a inocuidade alimentar (LEE et al., 2014). O modelo de Baranyi foi usado por Lianou et al. (2017) para avaliar o efeito da temperatura de armazenamento e a presença de extrato de canela em pudim de creme de

baunilha pasteurizado, que os fizeram perceber a utilidade do uso do modelo preditivo na avaliação do risco microbiano. Tiwari et al. (2014) usaram os modelos de Baranyi, Modificado de Gompertz e Logístico para modelar a interação entre a temperatura de armazenamento, pH e atividade da água sobre a *L. monocytogenes* em queijo utilizando leite cru e leite pasteurizado em diferentes temperaturas de armazenamento, indicando que estes modelos preditivos auxiliam na otimização das condições intrínsecas do alimento e ao mesmo tempo na redução do crescimento da bactéria em estudo. Buchanan, Stahl e Whiting (1989) utilizaram o modelo de Gompertz para perceber a interação entre os fatores temperatura, pH, atmosfera, cloreto de sódio e nitrito de sódio no crescimento de *Listeria monocytogenes*. McClure; Kelly e Roberts (1991) examinaram o efeito da combinação dos fatores temperatura, pH, cloreto de sódio e nitrito de sódio sobre o crescimento de *Listeria monocytogenes* em todos os níveis relevantes para uma grande variedade de alimentos. Duffy, Vanderlinde e Grau (1994) usaram o modelamento por equações quadráticas para verificarem os efeitos do pH, aw, nitrito e ascorbato no crescimento de *Listeria monocytogenes* em carnes cozidas embaladas a vácuo. Em um estudo feito por Myers e colaboradores (2013) visando identificar o efeito da alta pressão hidrostática, nitrito de sódio e sal no crescimento de *Listeria monocytogenes* em presunto e peru prontos para o consumo, verificaram o efeito positivo do uso de NaNO<sub>2</sub> na redução da bactéria, mas não perceberam diferença significativa no aumento do teor de sal.

#### 3.4.1.1 Modelo de Gompertz, Logístico, e Logístico Modificado

Essas curvas possuem quatro fases comparadas aos estágios das curvas de crescimento microbiano, que são a fase de adaptação inicial, onde não há alteração no crescimento microbiano; uma fase de rápido crescimento; uma de desaceleração; e uma fase estacionária (GIBSON, BRATCHELL; ROBERTS, 1987). Por isso estes modelos foram utilizados por Gibson, Bratchell e Roberts (1987) para o estudo do efeito do sal e da temperatura de cozimento e de armazenamento no crescimento de *Clostridium botulinum* tipo A em carne de porco pasteurizada.

Estes modelos são Primários (MCDONALD; SUN, 1999) e para avaliar a forma sigmoideal do crescimento microbiano, os modelos Logístico, equação (1) e de Gompertz, equação (2) foram ajustados à curva de crescimento (TIWARI et al., 2014).

$$N_t = N_0 + \frac{(N_{max}-N_0)}{1+\exp(-B(t-M))} \quad (1)$$

$$N_t = N_0 + (N_{max} - N_0)\exp(-\exp(-B(t - M))) \quad (2)$$

Corradini e Peleg (2005) propuseram uma nova versão do modelo Logístico, equação (3) (DANNENHAUER, 2010).

$$\ln\left(\frac{x}{x_0}\right) = \frac{(N_{max}-N_0)}{1+\exp(-B(t-M))} - \frac{(N_{max}-N_0)}{1+\exp(BM)} \quad (3)$$

Onde  $N_0$  é a densidade de população microbiana inicial,  $N_{max}$  é a densidade de população microbiana máxima;  $N_t$  é a densidade de população microbiana no tempo de armazenamento  $t$ ;  $B$  é o crescimento relativo máximo ( $\text{hora}^{-1}$ ) em  $t = M$  e  $M$  é o tempo em que a taxa de crescimento absoluto foi máxima.  $B$  e  $M$  podem ser usados para calcular a taxa de crescimento específico e a fase de adaptação do crescimento isotérmico. A taxa de crescimento específico e a fase de adaptação para o modelo de Gompertz podem ser calculadas utilizando as Eqs. (4) e (5) e para o modelo Logístico e Logístico Modificado são utilizadas as Eqs. (6) e (7), respectivamente (GIBSON, BRATCHELL; ROBERTS, 1987; CORRADINI; PELEG, 2005; DANNENHAUER, 2010; TIWARI et al., 2014).

$$\mu_{max} = \frac{(N_{max}-N_0)}{e} \chi B \quad (4)$$

$$\lambda = M - \frac{1}{B} \quad (5)$$

$$\mu_{max} = \frac{(N_{max}-N_0)}{4} \chi B \quad (6)$$

$$\lambda = M - \frac{2}{B} \quad (7)$$

### 3.4.2 ANÁLISE DE DESEMPENHO DOS MODELOS PREDITIVOS

De acordo com Ross (1996), foram pesquisados meios com base no desvio médio entre os tempos de geração previstos e os observados com o intuito de gerar índices interpretáveis. Como pode haver grandes variações nos tempos de geração, de acordo com o microrganismo ou com o ambiente, o desvio absoluto (diferença entre a resposta prevista e observada) para valores altos teria grande influência ao se utilizar algum processo de média.

Sendo assim, a medida relativa foi adotada para "padronizar" o desvio. Sabendo, no entanto, que a proporção pode ser enganosa, foi dado peso igual à sobre e à subpredição. O antilogaritmo do desvio relativo médio é a proporção média dos tempos de geração previstos e observados, sendo denominado como Fator de Influência (FI), equação (8), onde  $n$  é o número de observações usadas no cálculo do modelo preditivo (ROSS, 1996).

$$FI = 10^{\left(\frac{\sum \log(\text{valor predito}/\text{valor observado})}{n}\right)} \quad (8)$$

Ross (1996) ainda afirma que a previsão excessiva tenderá a cancelar este valor, já que o logaritmo dos índices terá sinais opostos. Com isso, o Fator de Influência não indica a precisão média das estimativas. Assim, calculou-se o Fator de Precisão (FP), equação (9), já que este usa o módulo do logaritmo.

$$FP = 10^{\left(\frac{\sum |\log(\text{valor predito}/\text{valor observado})|}{n}\right)} \quad (9)$$

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Faculdade de Farmácia (FAFAR) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

### 4.1 ATIVAÇÃO E ENUMERAÇÃO DE *Listeria monocytogenes*

A cultura congelada de *Listeria monocytogenes* 4b, cedida pela Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), foi descongelada e reativada por meio da transferência de 1 mL da cultura, em 9 mL de caldo Brain Heart Infusion (BHI) e incubada a 37°C por 24 horas. A partir desta cultura foi realizado o esgotamento por estrias em meio BHI ágar. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas para a obtenção de colônias isoladas.

Foi realizada a coloração de Gram das colônias isoladas para verificação de sua pureza. Uma colônia isolada foi transferida para 5 mL de caldo BHI, em triplicata, e foram incubados a 37°C por 48 horas. Foram transferidos 200 µL dessa cultura para 5 mL de caldo BHI e incubados a 37°C por 24 horas.

O plaqueamento do meio com 200 µL da cultura foi feito em duplicata, por superfície e por profundidade. Para isso, foram realizadas diluições decimais seriadas em água peptonada tamponada (BPW). As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas, e feita a contagem para determinar a quantidade de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de *Listeria monocytogenes* 4b que havia nesse inóculo.

### 4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Para cada temperatura de incubação (10, 15 e 37°C) foi estudado o efeito dos fatores pH, NaCl e NO<sub>2</sub>, conforme a Tabela 4. A temperatura de 10°C foi escolhida por ser a temperatura máxima de refrigeração, 15°C é uma temperatura de refrigeração abusiva e 37°C é a temperatura ótima de crescimento de *Listeria monocytogenes*.

Tabela 4 – Fatores investigados na variação da composição do meio BHI para o crescimento da *L. monocytogenes* nas diferentes temperaturas de incubação.

Fator	-	+	Unidade
pH	5,5	6,8	-
NaCl	1,5	2,0	g/100g
NaNO <sub>2</sub>	75	150	mg/kg

Foi utilizado o fatorial 2<sup>3</sup>, obtendo 8 tratamentos com o seguinte delineamento básico da Tabela 5. Foram atribuídas letras para cada tratamento.

Tabela 5 – Tratamentos obtidos pelo delineamento fatorial 2<sup>3</sup> com a letra representando cada variação da composição do meio de cultura BHI.

Meio	pH	NaCl (g/100g)	NaNO <sub>2</sub> (mg/kg)
A	6,8	1,5	150
B	6,8	2,0	75
C	6,8	1,5	75
D	6,8	2,0	150
E	5,5	1,5	75
F	5,5	2,0	75
G	5,5	1,5	150
H	5,5	2,0	150

#### 4.3 DETERMINAÇÃO DA CURVA DE CRESCIMENTO

Novamente foram transferidos 200 µL da cultura pura de *L. monocytogenes* para 5 mL de meio BHI e incubado a 37°C por 24 horas. Como houve um crescimento de cerca de 10<sup>9</sup> UFC/mL em um período de 24h, foram feitas diluições sucessivas até 10<sup>-3</sup>, pois ao se retirar 50 µL desta diluição, se obtinha cerca de 10<sup>2</sup> UFC/mL, que foi o inóculo escolhido para utilizar nos experimentos, uma vez que menores concentrações de microrganismos proporcionam melhor leitura de absorvância em microplacas, já que o crescimento da bactéria não seria tão acelerado, provocando uma demorada sedimentação de células no meio de cultura.

Em cada microplaca foram utilizados 150 µL de meio de cultura (BHI para o Branco ou BHI com os inibidores), e 50 µL da diluição 10<sup>-3</sup> do inóculo, ou 50 µL de BPW para o Branco, em cada poço. As placas foram incubadas nas temperaturas de 10°C, 15°C e 37°C.

Para a disposição das amostras na microplaca, foi realizado um sorteio com o auxílio do software MiniTab versão 17 (Minitab Inc, State College, Pensilvânia, Estados Unidos da



América), sendo que cada amostra variou entre as linhas A e H da microplaca 2 vezes, uma vez que foi utilizado uma pipetadora multicanal com 6 ponteiros e a microplaca apresenta 12 colunas, como exemplifica a Figura 2.

L/Co	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>a</b>	A	A	A	A	A	A	C	C	C	C	C	C
<b>b</b>	B	B	B	B	B	B	F	F	F	F	F	F
<b>c</b>	E	E	E	E	E	E	H	H	H	H	H	H
<b>d</b>	G	G	G	G	G	G	A	A	A	A	A	A
<b>e</b>	D	D	D	D	D	D	G	G	G	G	G	G
<b>f</b>	C	C	C	C	C	C	D	D	D	D	D	D
<b>g</b>	F	F	F	F	F	F	B	B	B	B	B	B
<b>h</b>	H	H	H	H	H	H	E	E	E	E	E	E

Figura 2 - Um dos sorteios feitos para disposição das amostras em microplaca.

L = linha; Co = coluna; A = meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; B = meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; C = meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; D = meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; E = meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; F = meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; G = meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; H = meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>.

A sedimentação de células dos meios foi avaliada pela medida da absorvância a 630 nm, utilizando espectrofotômetro específico (ThermoPlate, TP Reader, Brasil) para leitura de placas de microtitulação, em intervalo de duas horas, até que o crescimento atingisse absorvância entre 0,600 e 0,700 ou quando a leitura se tornava inconsistente. Os experimentos foram realizados em triplicata.

#### 4.4 DESENVOLVIMENTO DO MODELO PREDITIVO

Com os dados obtidos foram construídas curvas de crescimento utilizando o software MATLAB (R2015a, Estados Unidos da América) para os 3 modelos: Gompertz, Logístico e Logístico modificado.

A adequação dos modelos no ajuste dos dados foi avaliada pela análise dos gráficos gerados, pelos parâmetros obtidos pelo software utilizado, pelos valores de R<sup>2</sup> e RMSE, pelo Fator de Influência e Fator de precisão e ainda por uma análise de resíduos para a identificação de perfis que pudessem evidenciar a qualidade do ajuste.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 ANÁLISE DO CRESCIMENTO DE *Listeria monocytogenes*

Como os gráficos obtidos nos três modelos preditivos estudados são similares, foram analisados somente aqueles da primeira repetição. Como pode ser observada nas Figuras 3 a 35, a fase de adaptação (fase lag) de *L. monocytogenes* em meios de cultura com inibidores (Figuras 6 a 13; 17 a 24; 28 a 35) foi maior quando comparada à fase lag de *L. monocytogenes* em meios de cultura sem inibidores (Figuras 3 a 5; 14 a 16; 25 a 27) em diferentes temperaturas de incubação, já que os inibidores (sal, nitrito e pH) desaceleram o crescimento da bactéria, como pode ser visto no estudo realizado por Buchanan, Stahl e Whiting (1989), que perceberam que ao aumentar os teores dos inibidores NaCl e NaNO<sub>2</sub> e também ao diminuir o pH do meio, a fase de adaptação era menor.

#### 5.1.1 CRESCIMENTO À 10°C

Ao verificar os valores de absorvância lidos, percebeu-se que a fase lag da *Listeria monocytogenes* foi maior na temperatura de incubação de 10°C, assim como Buchanan, Stahl e Whiting (1989), que visualizaram uma fase de adaptação mínima nas temperaturas mais altas estudadas por eles: 37 e 28°C, e máxima na menor temperatura estudada: 5°C.

Nessa temperatura, valores de absorvância foram lidos a partir de 66 horas de incubação (Figuras 3 a 13), pois nesta fase a bactéria está se adaptando ao meio em que se encontra, e quando as condições extrínsecas ou intrínsecas não são tão favoráveis ao seu crescimento, esta fase de adaptação dura mais tempo.

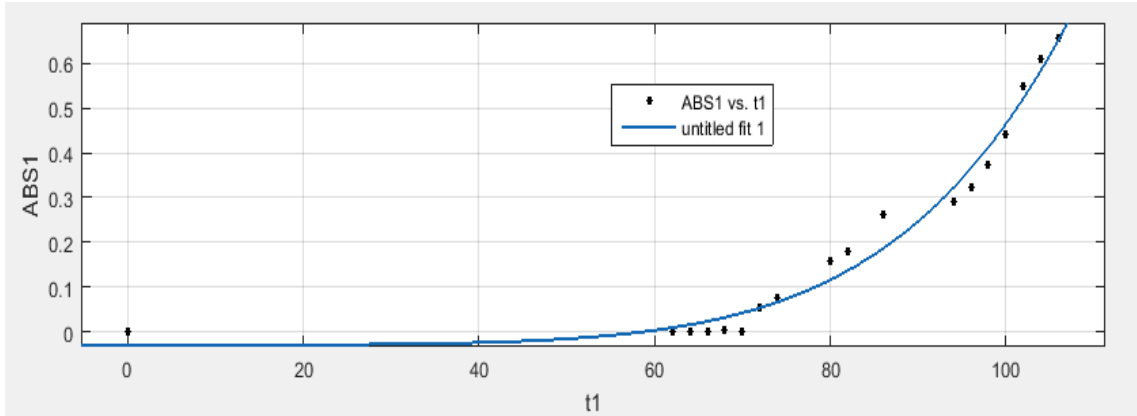


Figura 3 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura sem inibidores, incubado à temperatura de 10°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo de Gompertz. ABS1 = absorvância na primeira repetição; t1 = tempo de incubação (horas).

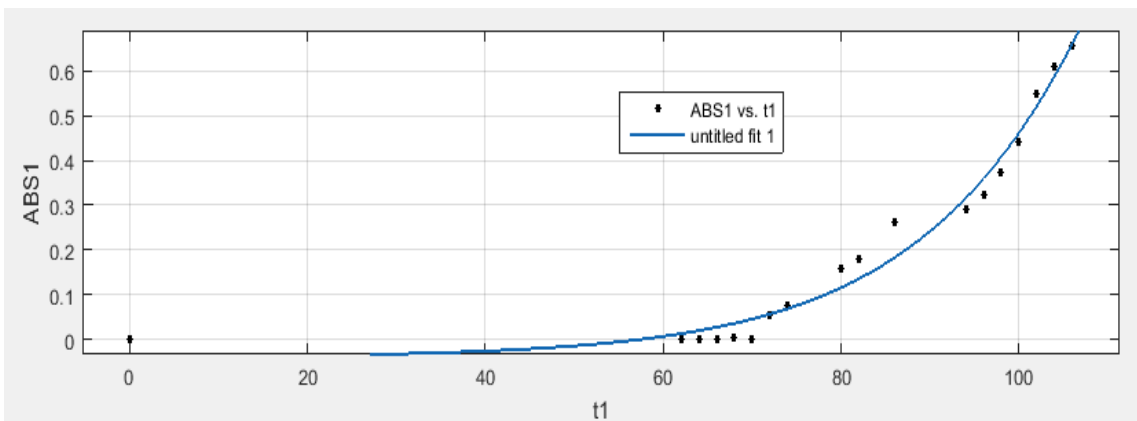


Figura 4 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura sem inibidores, incubado à temperatura de 10°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico. ABS1 = absorvância na primeira repetição; t1 = tempo de incubação (horas).

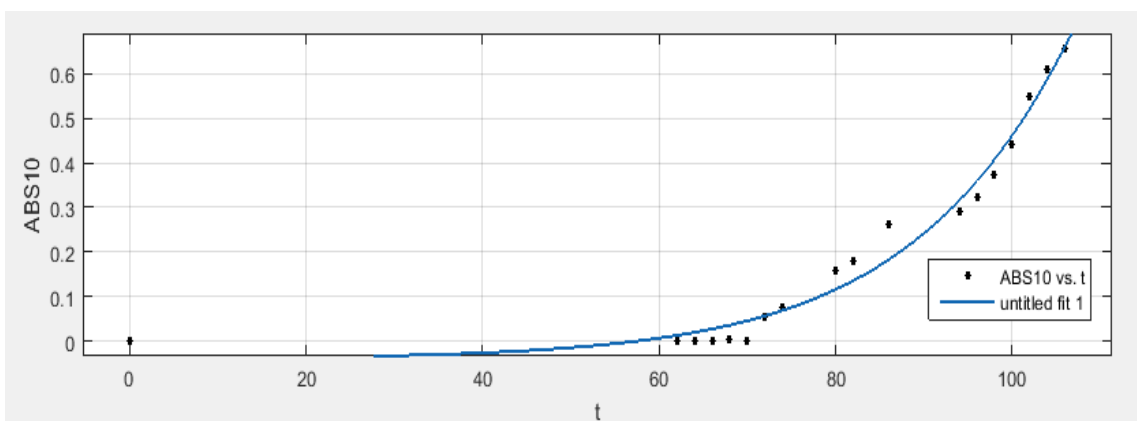


Figura 5 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura sem inibidores, incubado à temperatura de 10°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico Modificado. ABS10 = absorvância na primeira repetição; t: tempo de incubação (horas).

Pelas figuras 3, 4 e 5 observa-se a semelhança nos gráficos obtidos pelos diferentes modelos estudados na temperatura de incubação de 10°C, por isso a análise da absorvância

será feita usando apenas o modelo de Gompertz. A escolha do ajuste exposto nas figuras 6 a 13 foi feita de forma aleatória, para que cada modelo fosse ilustrado.

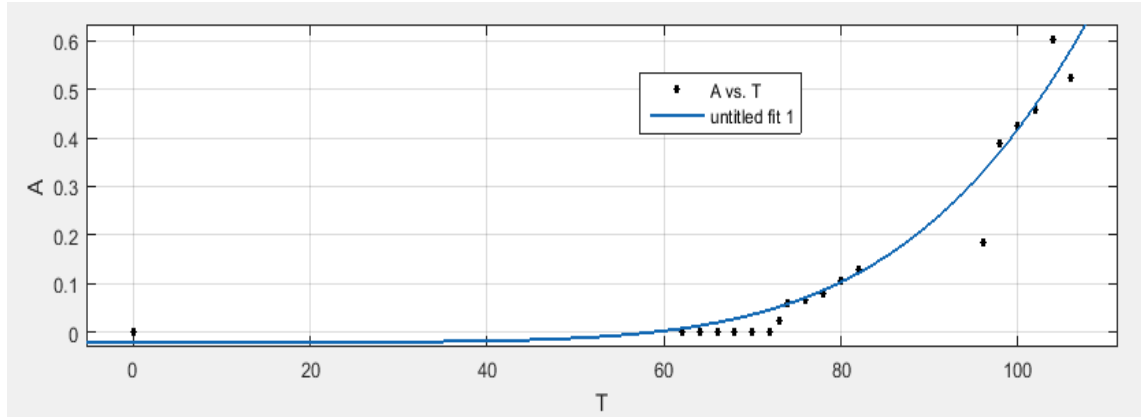


Figura 6 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura A, incubado à temperatura de 10°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo de Gompertz. A = absorvância lida no meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; T = tempo de incubação(horas).

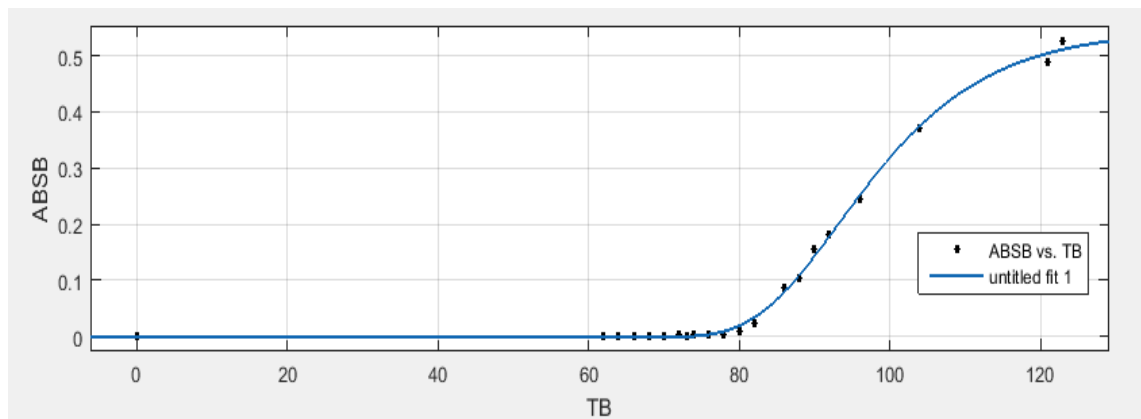


Figura 7 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura B, incubado à temperatura de 10°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo de Gompertz. ABSB = absorvância lida no meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; TB = tempo de incubação (horas).

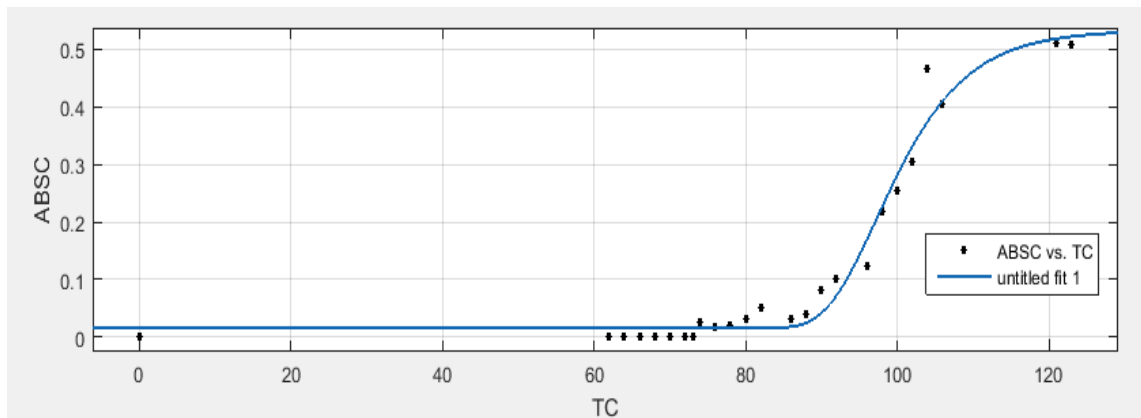


Figura 8 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura C, incubado à temperatura de 10°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo de Gompertz. ABSC = absorvância lida no meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; TC = tempo de incubação (horas).

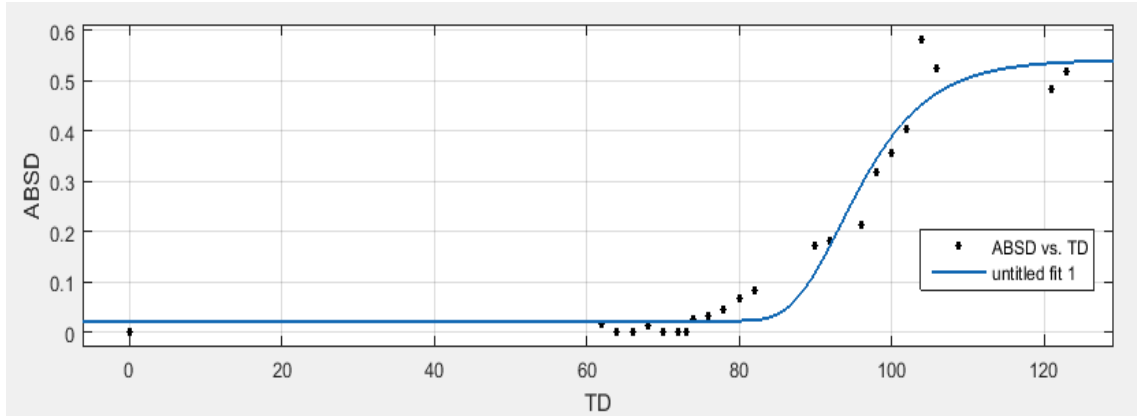


Figura 9 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura D, incubado à temperatura de 10°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo de Gompertz.  
ABSD = absorvância lida no meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; TD = tempo de incubação (horas).

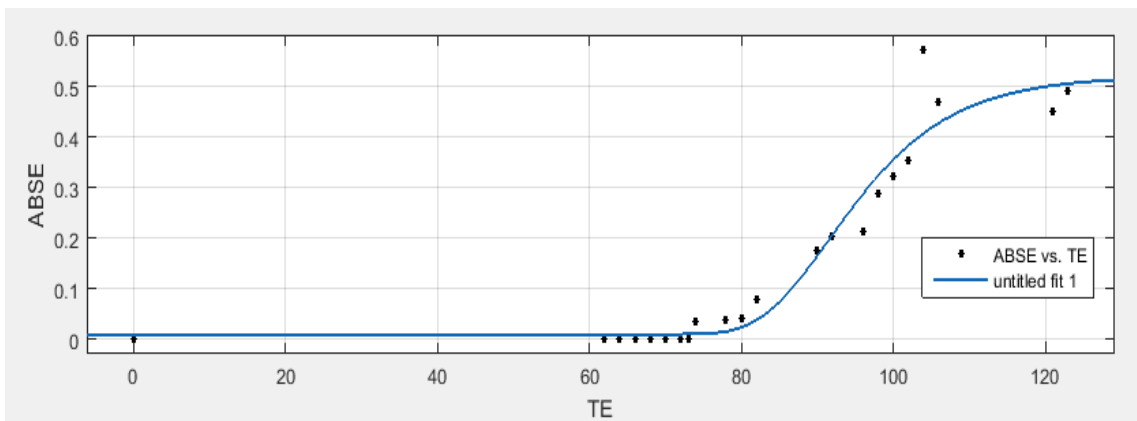


Figura 10 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura E, incubado à temperatura de 10°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo de Gompertz (horas).  
ABSE = absorvância lida no meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; TE = tempo de incubação.

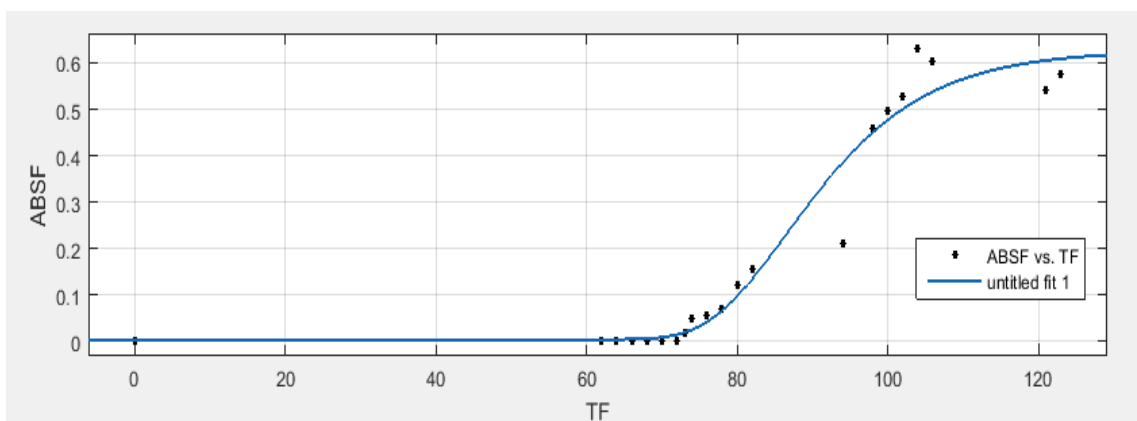


Figura 11 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura F, incubado à temperatura de 10°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo de Gompertz.  
ABSF = absorvância lida no meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; TF = tempo de incubação (horas).

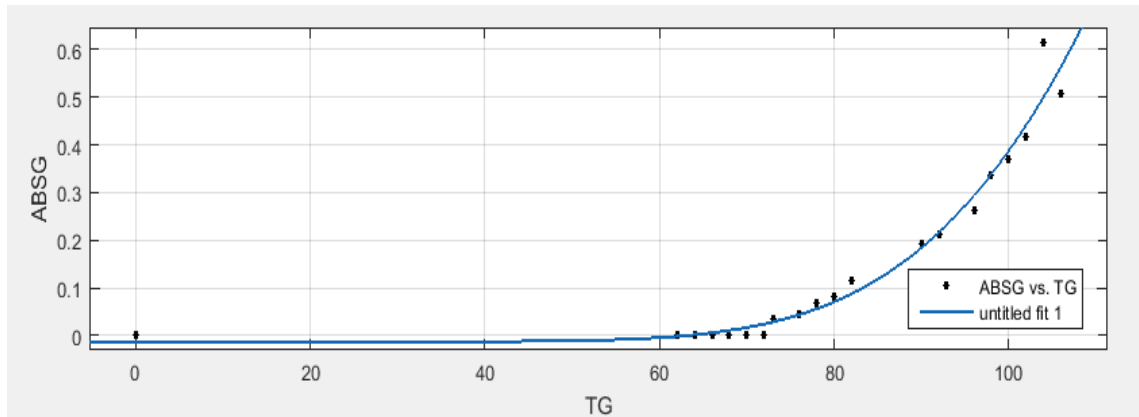


Figura 12 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura G, incubado à temperatura de 10°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo de Gompertz. ABSG = absorvância lida no meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; TG = tempo de incubação (horas).

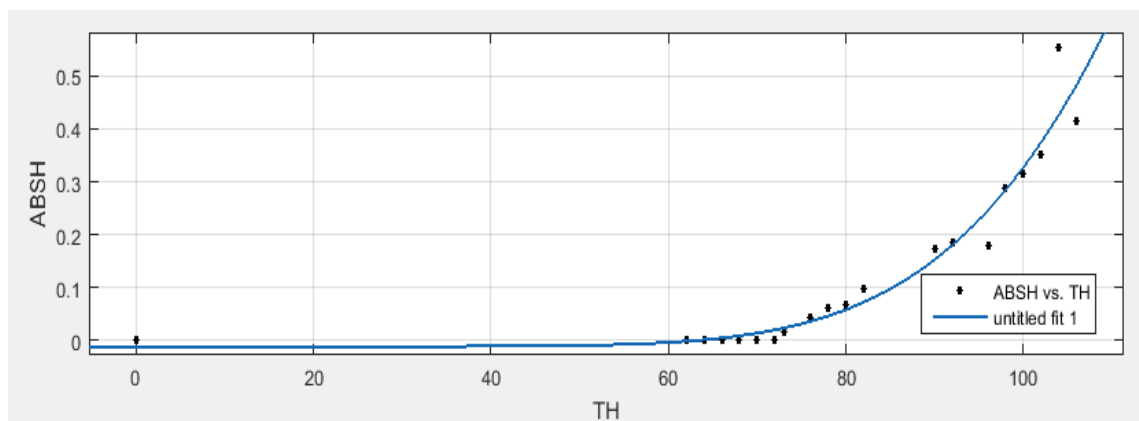


Figura 13 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura H, incubado à temperatura de 10°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo de Gompertz. ABSH = absorvância lida no meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; TH = tempo de incubação (horas).

O início da fase exponencial de crescimento bacteriano começou a ser observado por volta de 74 horas para o meio de crescimento A; 82 horas para B; 74 horas para C; 73 horas para D; 74 horas para E; 73 horas para F; 73 horas para G; 73 horas para H (Figuras 6 a 13).

O crescimento de *L. monocytogenes* após 100 horas, ainda na temperatura de 10°C, apresentou um crescimento mais intenso no meio de crescimento F, depois no A, G, D, H, C, E, e B. Ao comparar os meios de cultura B e F, que somente diferem pelo pH (6,8 e 5,5 respectivamente) (Figuras 7 e 11), observou-se que no meio B a bactéria deveria apresentar uma fase lag menor, já que em maiores valores de pH o crescimento de qualquer bactéria se torna mais favorável. Porém uma justificativa para isso está no trabalho realizado por Horita e colaboradores (2018), no qual afirmam que *L. monocytogenes* se multiplica em uma ampla faixa de pH (pH entre 4,1 e 9,6). Como a diferença entre os pH estudados não é expressiva, pH 5,5 e 6,8, a bactéria em questão pode ter crescido bem nestes dois pH na temperatura de

incubação de 10°C, já que seu tempo de adaptação ao meio foi maior que em outras temperaturas, possibilitando que adaptassem bem mesmo em menor pH.

### 5.1.2 CRESCIMENTO À 15°C

Nos valores de absorvância lidos na primeira repetição das análises, pôde-se observar que a fase lag observada na temperatura de incubação de 15°C foi a segunda maior, sendo que os valores começaram a serem lidos com 24 horas de incubação (Figuras 14 a 24).

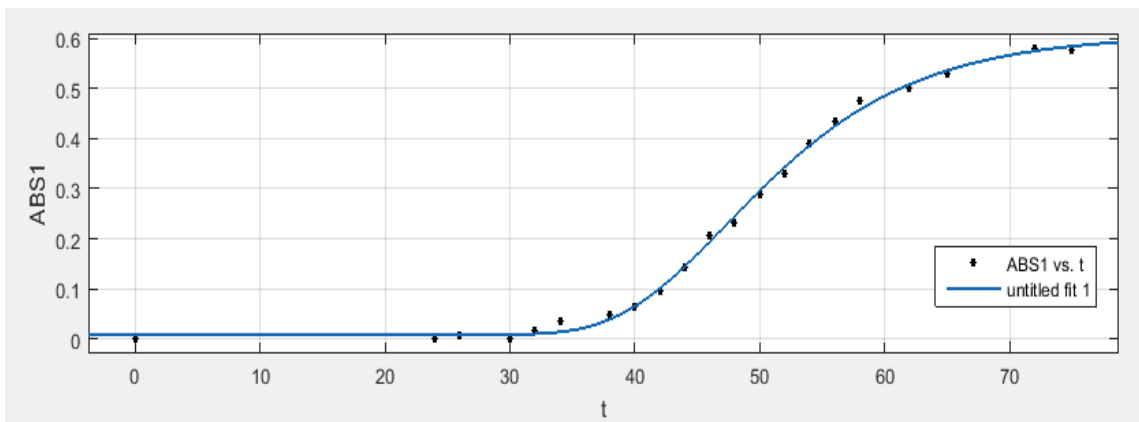


Figura 14 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura sem inibidores, incubado à temperatura de 15°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo de Gompertz. ABS1 = absorvância na primeira repetição; t = tempo de incubação (horas).

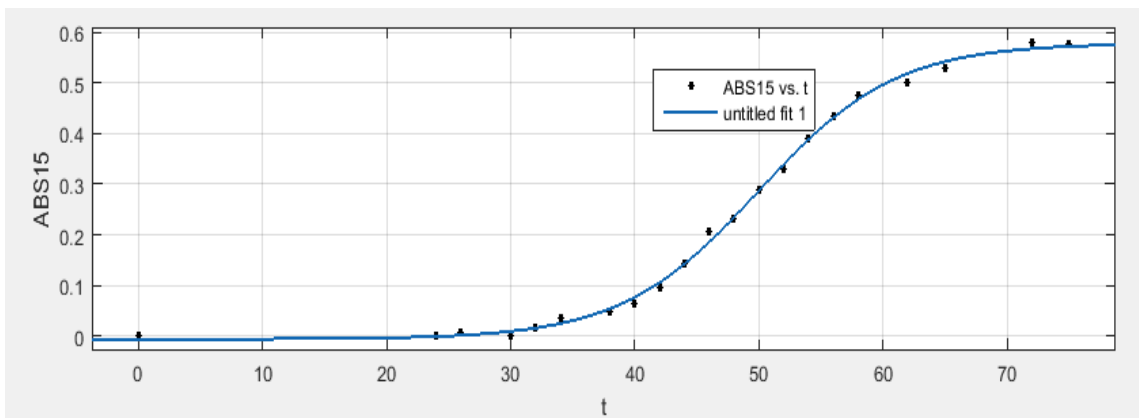


Figura 15 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura sem inibidores, incubado à temperatura de 15°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico Modificado.

ABS15 = absorvância na primeira repetição; t = tempo de incubação (horas).

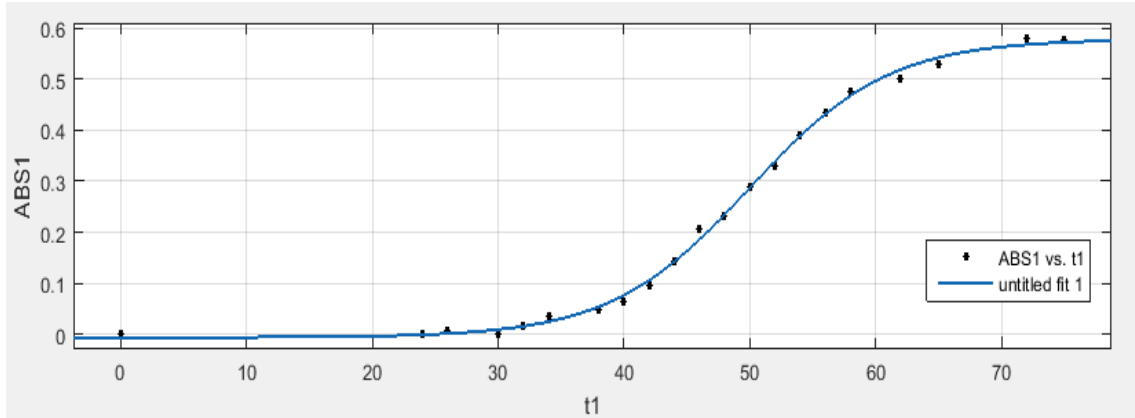


Figura 16 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura sem inibidores, incubado à temperatura de 15°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico. ABS1 = absorvância na primeira repetição; t1 = tempo de incubação (horas).

As figuras 14, 15 e 16 indicam a semelhança nos gráficos obtidos pelos diferentes modelos estudados na temperatura de incubação de 15°C. Com isso, a análise da absorvância só foi efetuada pelo modelo Logístico. A escolha do ajuste exposto foi feita de forma aleatória, para que cada modelo fosse ilustrado.

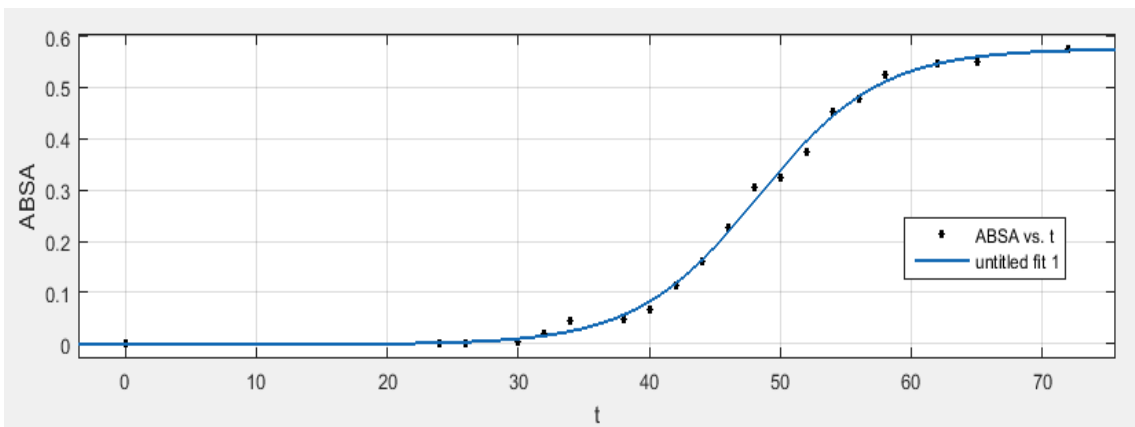


Figura 17 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura A, incubado à temperatura de 15°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico. ABSA = absorvância lida no meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).



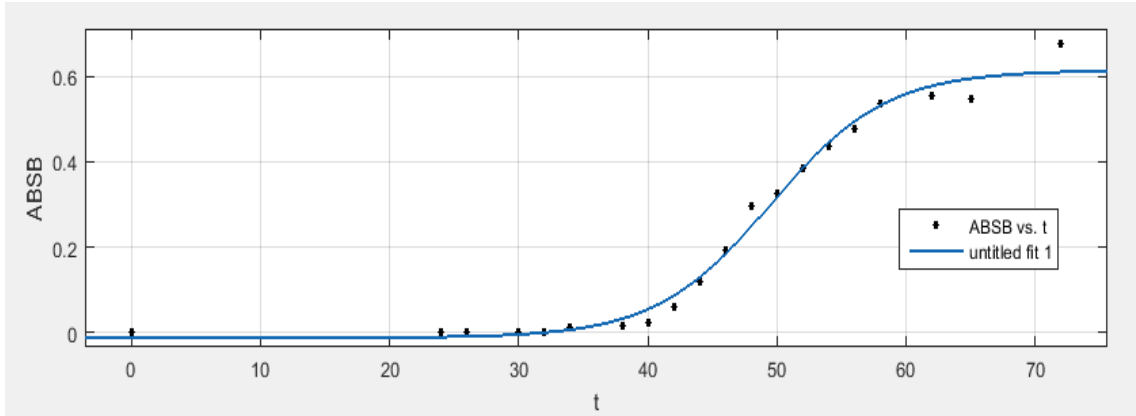


Figura 18 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura B, incubado à temperatura de 15°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico.  
 ABSB = absorvância lida no meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

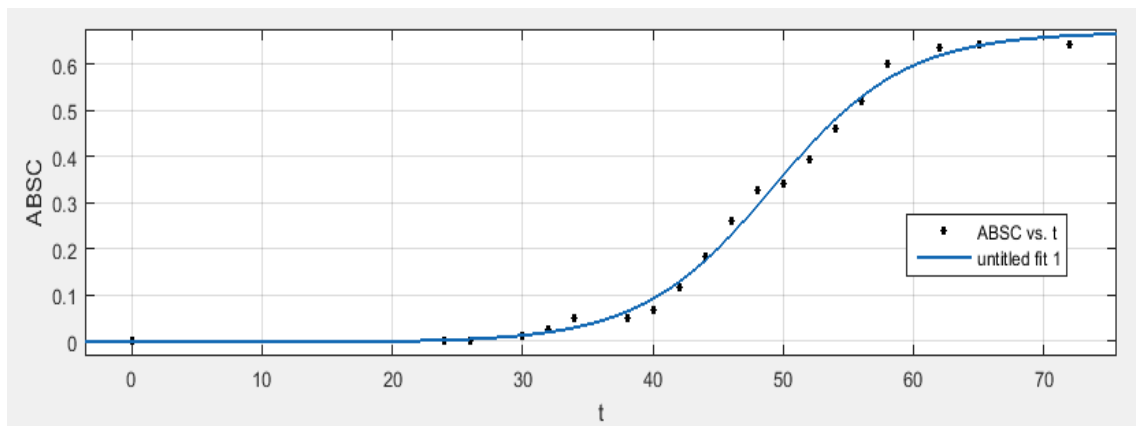


Figura 19 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura C, incubado à temperatura de 15°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico.  
 ABSC = absorvância lida no meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

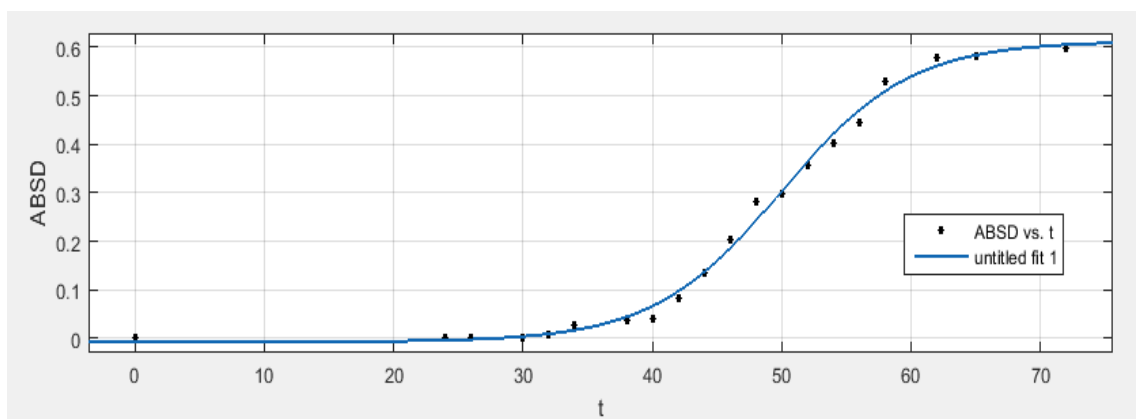


Figura 20 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura D, incubado à temperatura de 15°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico.  
 ABSD = absorvância lida no meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

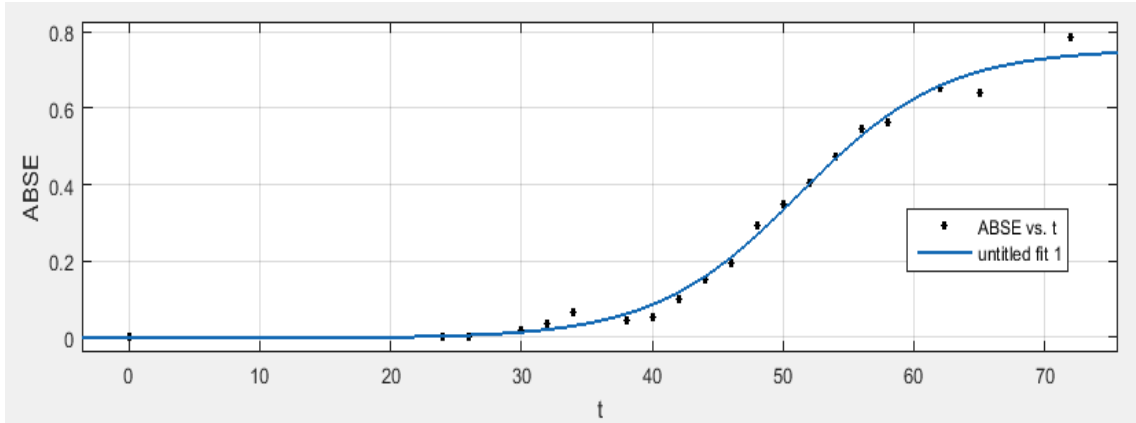


Figura 21 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura E, incubado à temperatura de 15°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico.  
 ABSE = absorvância lida no meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

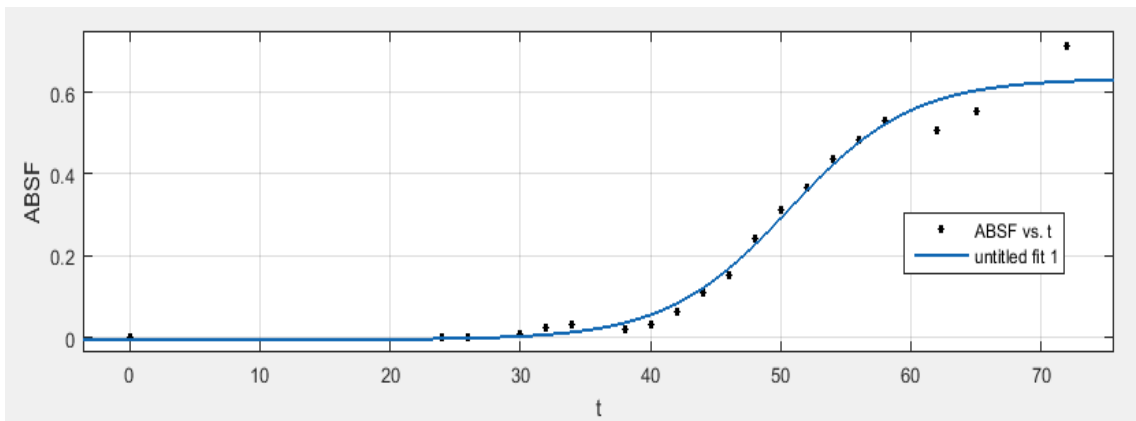


Figura 22 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura F, incubado à temperatura de 15°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico.  
 ABSF = absorvância lida no meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

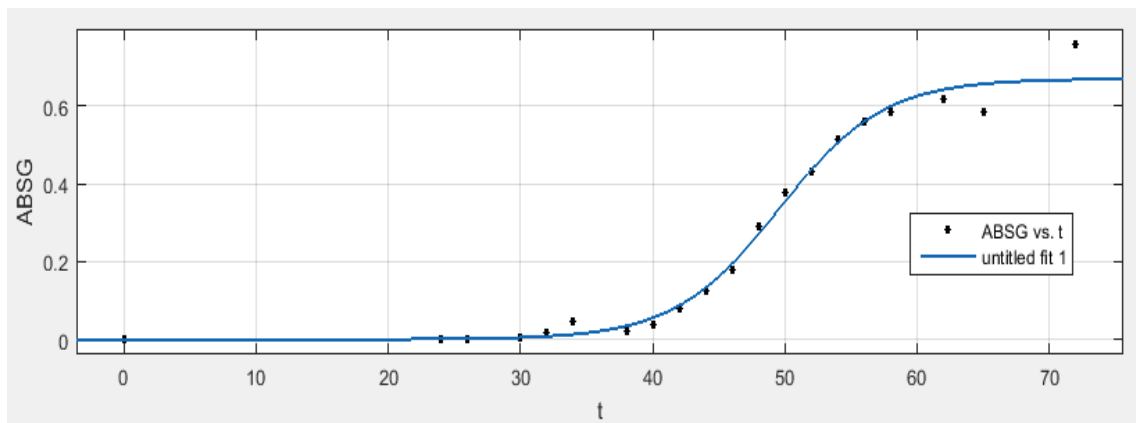


Figura 23 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura G, incubado à temperatura de 15°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico.  
 ABSG = absorvância lida no meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

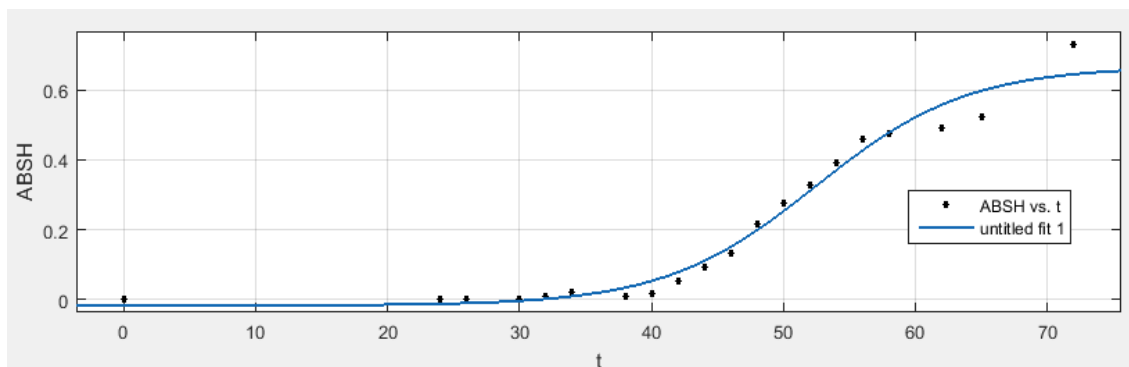


Figura 24 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura H, incubado à temperatura de 15°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico.

ABSH = absorvância lida no meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

O crescimento de *L. monocytogenes* começou a ser observado, por volta de 30 horas (Figuras 14 a 24). O crescimento de *L. monocytogenes* após 50 horas foi mais intenso nos meios de crescimento A e G, depois no E, C, F, B, D, e H. Como esperado, para o meio de cultura com menor pH, maior concentração de nitrito e maior concentração de sal (H), obteve-se o menor crescimento de *L. monocytogenes*. O fato de o crescimento ter sido mais intenso nos meios A e G pode ser justificado pela menor concentração de sal, e no caso do meio A, pelo maior valor de pH, indicando que a *L. monocytogenes* é mais sensível ao sal, seguido do pH e por último ao conservante nitrito de sódio, numa mesma temperatura de incubação.

Duffy, Vanderlinde e Grau (1994) também verificaram que a incorporação de NaNO<sub>2</sub> reduziu significativamente o crescimento de *L. monocytogenes* em carnes cozidas embaladas a vácuo armazenadas a 0 e 5°C e teve aumento na fase de adaptação. O aumento do pH fez com que a concentração de nitrito não dissociado aumentasse, reduzindo sua eficácia. No estudo realizado por Myers e colaboradores (2013) foi identificado o efeito do NaNO<sub>2</sub> no crescimento de *L. monocytogenes*, já que após 19 dias de incubação, todos os presuntos não curados com 1 log de inoculação tinham populações de *L. monocytogenes* significativamente maiores ( $p > 0,05$ ) que os presuntos curados. Porém não houve diferenças no crescimento de *L. monocytogenes* devido ao teor de NaCl (1,8% ou 2,4%), ao contrário deste estudo, no qual foi percebido o efeito inibitório do sal na concentração de 2,0%.

### 5.1.3 CRESCIMENTO À 37°C

Ao verificar os valores de absorvância lidos na primeira repetição das análises, percebeu-se que a fase lag observada na temperatura de incubação de 37°C foi a menor, sendo os valores de absorvância lidos com 6 horas de incubação (Figuras 25 a 35), e a partir de 24

horas os valores de absorvância começaram a ficar instáveis e por essa razão não foram considerados nos ajustes dos modelos.

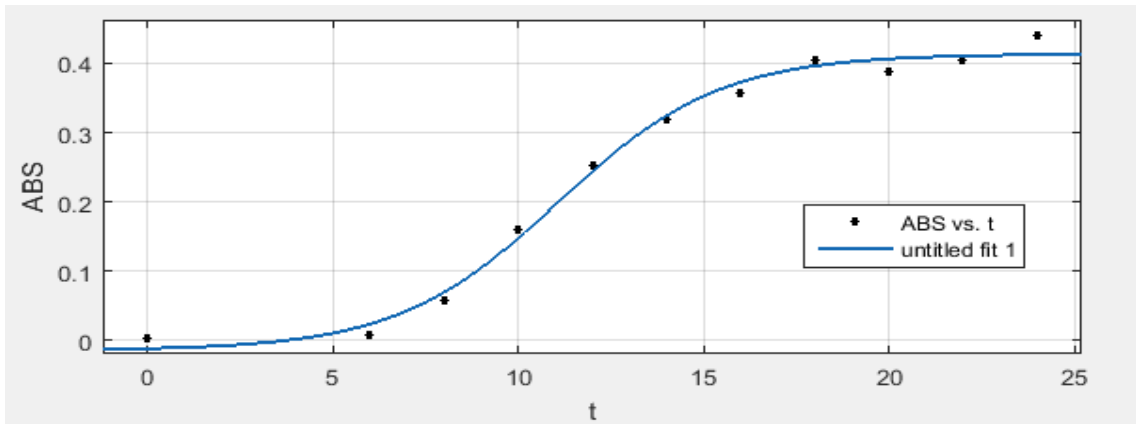


Figura 25 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura sem inibidores, incubado à temperatura de 37°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico. ABS = absorvância na primeira repetição; t = tempo de incubação (horas).

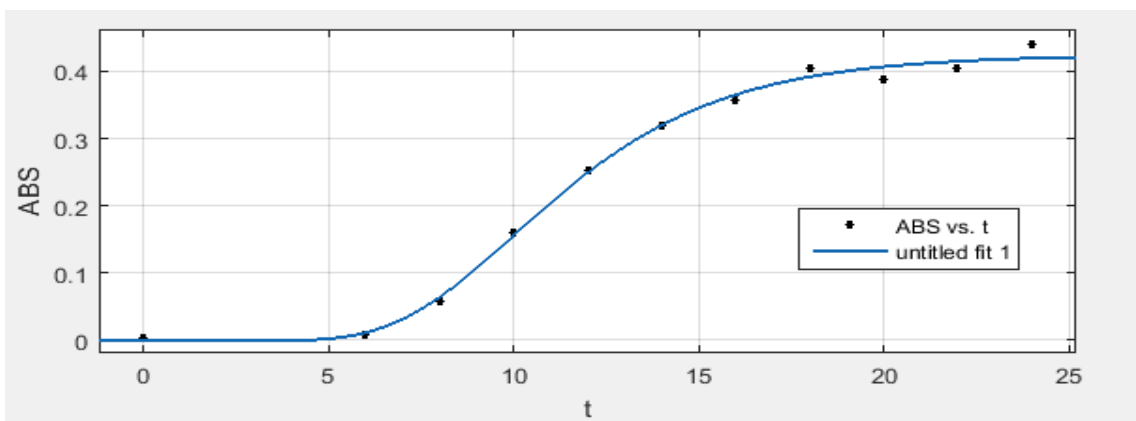


Figura 26 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura sem inibidores, incubado à temperatura de 37°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo de Gompertz. ABS = absorvância na primeira repetição; t = tempo de incubação (horas).

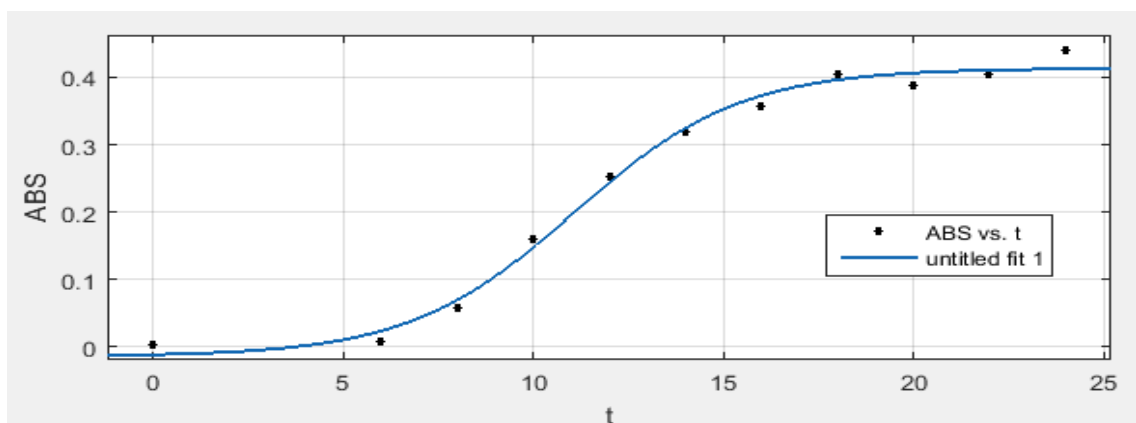


Figura 27 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura sem inibidores, incubado à temperatura de 37°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico Modificado. ABS = absorvância na primeira repetição; t = tempo de incubação (horas).

Examinando as figuras 25, 26 e 27 nota-se que os gráficos obtidos pelos diferentes modelos estudados na temperatura de incubação de 37°C são parecidos, então optou-se por analisar a absorvância apenas pelo modelo Logístico Modificado. A escolha do ajuste exposto foi feita de forma aleatória, para que cada modelo fosse ilustrado.

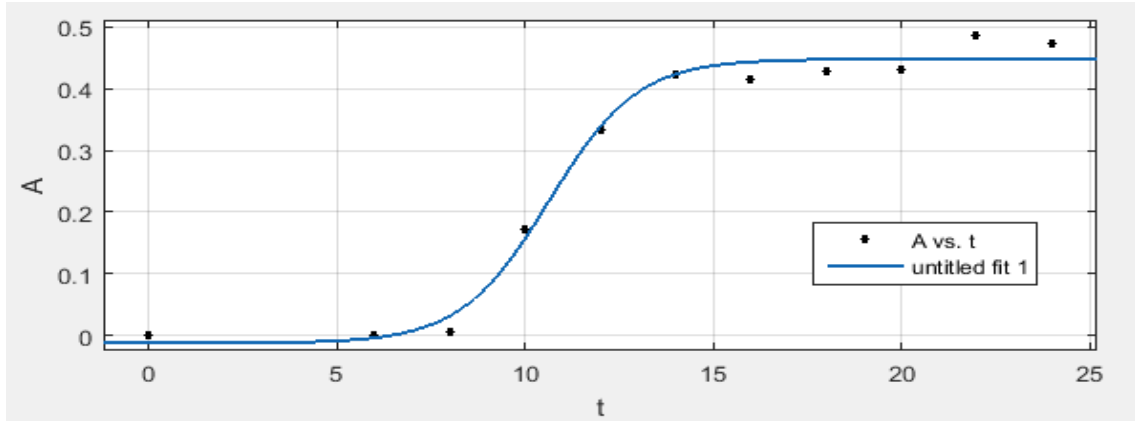


Figura 28 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura A, incubado à temperatura de 37°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico Modificado. A = absorvância lida no meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

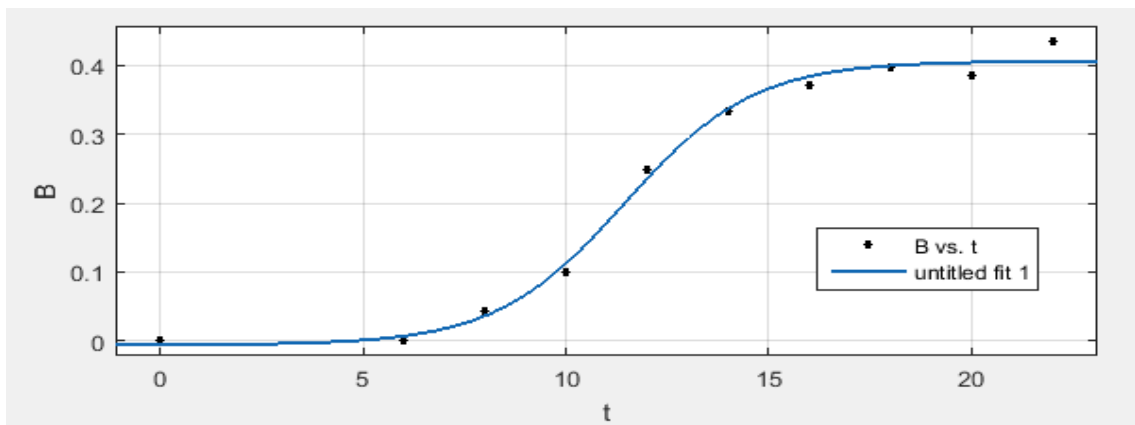


Figura 29 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura B, incubado à temperatura de 37°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico Modificado. B = absorvância lida no meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

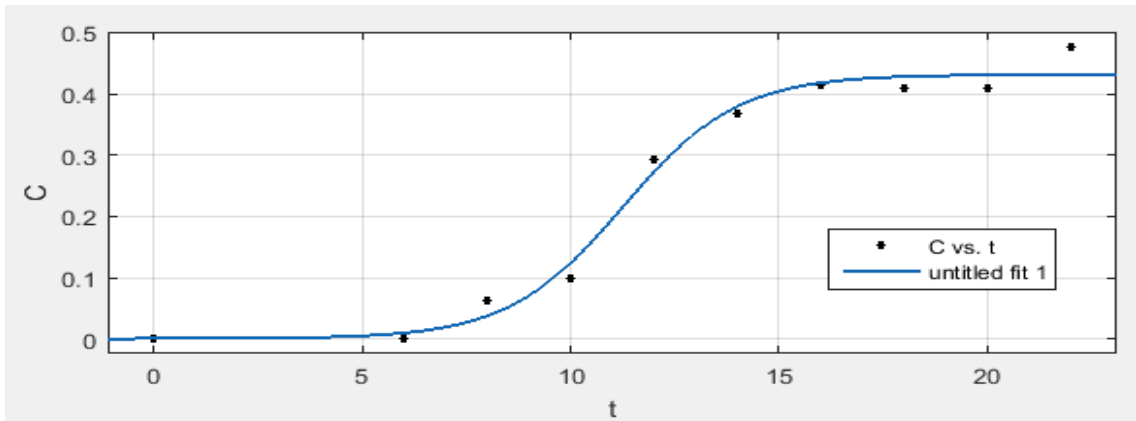


Figura 30 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura C, incubado à temperatura de 37°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico Modificado. C = absorvância lida no meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

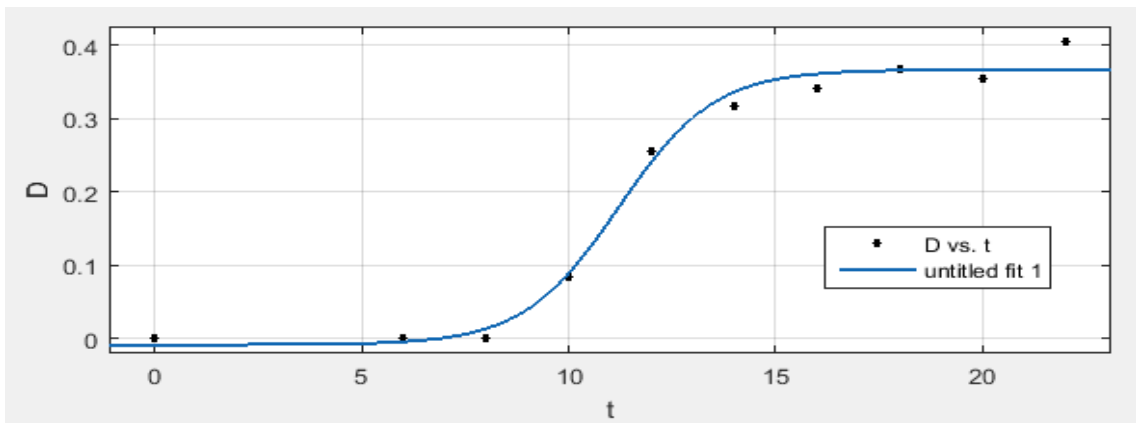


Figura 31 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura D, incubado à temperatura de 37°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico Modificado. D = absorvância lida no meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

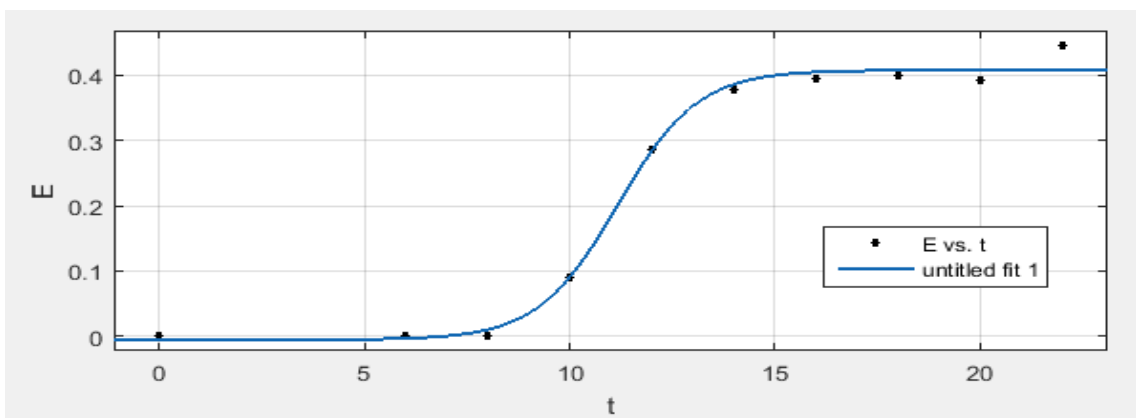


Figura 32 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura E, incubado à temperatura de 37°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico Modificado. E = absorvância lida no meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

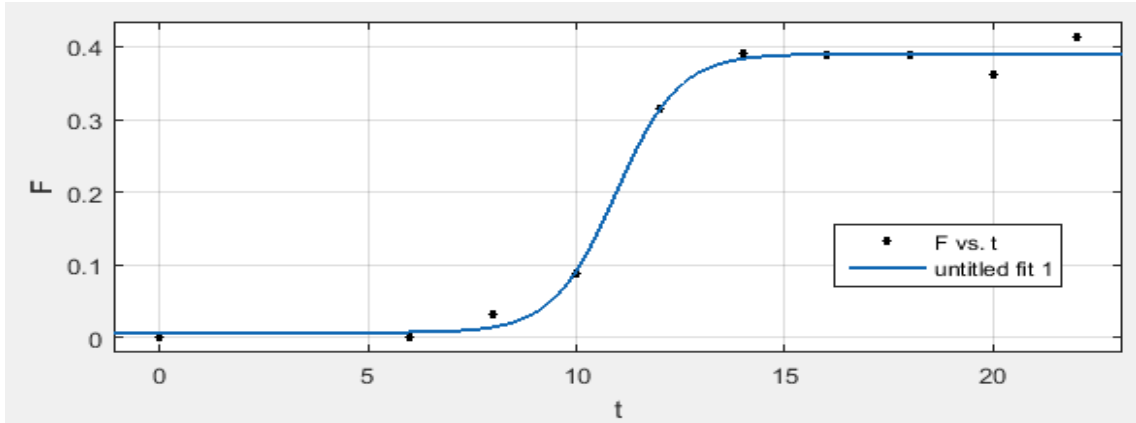


Figura 33 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura F, incubado à temperatura de 37°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico Modificado. F = absorbância lida no meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

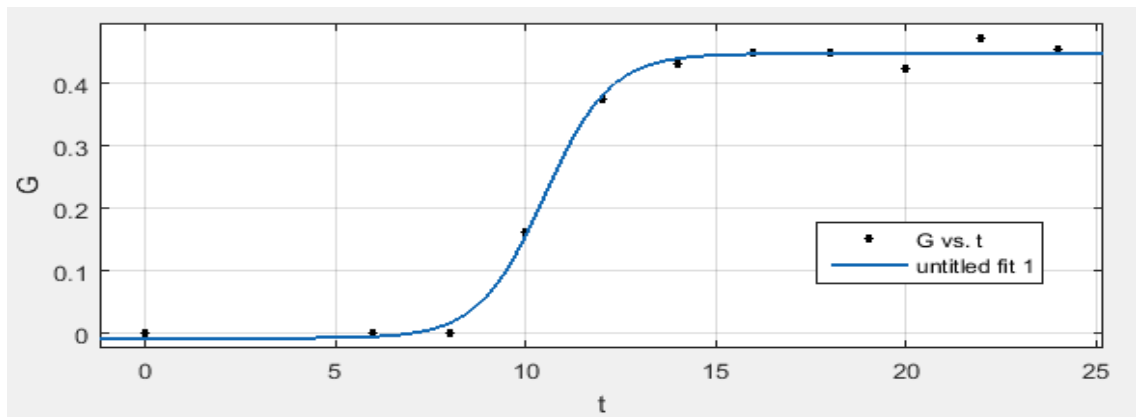


Figura 34 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura G, incubado à temperatura de 37°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico Modificado. G = absorbância lida no meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

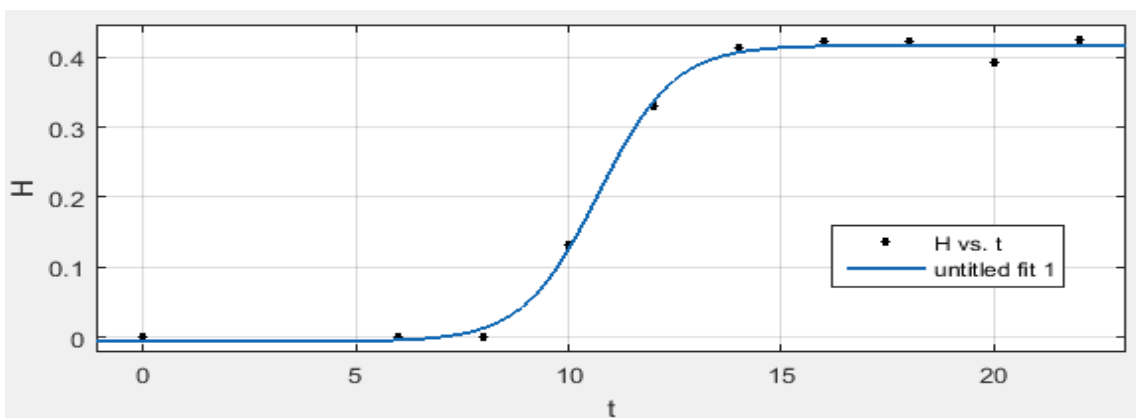


Figura 35 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura H, incubado à temperatura de 37°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico Modificado. H = absorbância lida no meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

O crescimento de *L. monocytogenes* começou a ser observado por volta de 6 horas para os meios C e F; de 8 horas para os meios A, B, E, e G, e de 10 horas para os meios D e

H, já sendo esperados a maior fase lag para os meios com maior concentração de nitrito e de sal (Figuras 28 a 35).

Após 20 horas de incubação a 37°C, atentou-se para um crescimento mais intenso de *L. monocytogenes* nos meios de crescimento A e E, depois no G, seguido pelo C, valores de D, F, e H muito próximos, e por fim, B, com crescimento menos intenso. O crescimento intenso da bactéria nos meios A e E pode ter ocorrido pela menor concentração de sal nestes meios, já que posteriormente vêm os meios G e C, que também possuem menor concentração de sal.

Segundo Baranyi e Roberts (2004), os fatores mais importantes que determinam o crescimento microbiano, depois da temperatura, são o pH, seguido por conservantes. A influência da temperatura pôde ser percebida pelos gráficos dos modelos preditivos, nos quais a fase lag foi maior na incubação a 10°C, seguida da incubação a 15°C, e por fim da incubação a 37°C. Porém, a 10°C a variação no pH e a adição de conservantes não mostrou interferência no crescimento da bactéria em estudo. Já a 15 e 37°C, pôde-se perceber a interferência dos fatores inibitórios no crescimento da *L. monocytogenes*, mas essa diferença no crescimento da bactéria em estudo nos meios de cultura com maiores e menores concentrações de inibidores não se mostrou significativa.

Lee et al. (2014) demonstraram que *L. monocytogenes* pode crescer em temperatura de refrigeração, abaixo ou igual a 10°C e que seu crescimento reduziu a temperaturas inferiores a 0°C. No presente estudo foi possível perceber a diminuição do crescimento de *L. monocytogenes* quando a temperatura de incubação também diminuiu. Com isso, constata-se a importância da manutenção da temperatura baixa durante as etapas de processamento de fabricação para se garantir a segurança alimentar.

## 5.2 ANÁLISE DOS PARÂMETROS OBTIDOS PELAS CURVAS DE CRESCIMENTO DOS MODELOS LOGÍSTICO, LOGÍSTICO MODIFICADO, E DE GOMPERTZ

Nas Tabelas 6 a 14 são apresentadas a média dos parâmetros obtidos pelas curvas de crescimento de *L. monocytogenes* usando os modelos de Gompertz, Logístico e Logístico modificado, com meio de cultura sem presença de inibidores e com inibidores. As três curvas de crescimento foram bem ajustadas ao se utilizar todos os meios de crescimento para *Listeria monocytogenes*, com um coeficiente de determinação ( $R^2$ ) maior que 0,94.



Tabela 6 – Parâmetros do modelo de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura sem presença de inibidores.

Modelo	Parâmetros dos modelos	Sem Inibidores		
		10°C	15°C	37°C
<b>Logístico</b>	$N_0$	0.303	0.006	0.138
	$N_{max}$	2.651	0.581	0.260
	$\ln(N_{max}/N_0)$	2.168	4.572	0.633
	B (hora <sup>-1</sup> )	0.024	0.177	0.271
	M (hora)	115.667	50.383	11.060
	$\mu_{max}$ (hora <sup>-1</sup> )	0.072	0.037	0.076
	$\lambda$ (hora)	110.723	44.685	10.810
	RMSE	0.029	0.019	0.025
	$R^2$	0.985	0.992	0.983
<b>Gompertz</b>	$N_0$	-0.012	0.022	0.004
	$N_{max}$	63.551	0.610	0.417
	$\ln(N_{max}/N_0)$	8.574	3.322	4.646
	B (hora <sup>-1</sup> )	0.017	0.115	0.371
	M (hora)	198.633	47.763	10.049
	$\mu_{max}$ (hora <sup>-1</sup> )	0.177	0.017	0.037
	$\lambda$ (hora)	62.023	30.288	3.968
	RMSE	0.038	0.019	0.023
	$R^2$	0.969	0.992	0.985
<b>Logístico Modificado</b>	$N_0$	-0.004	0.006	-0.005
	$N_{max}$	2.981	0.581	0.412
	$\ln(N_{max}/N_0)$	6.613	4.572	4.411
	B (hora <sup>-1</sup> )	0.253	0.177	0.504
	M (hora)	114.250	50.383	11.060
	$\mu_{max}$ (hora <sup>-1</sup> )	0.101	0.037	0.076
	$\lambda$ (hora)	103.865	44.685	8.908
	RMSE	0.034	0.019	0.025
	$R^2$	0.977	0.992	0.983

$N_0$  = densidade de população microbiana inicial;  $N_{max}$  = densidade de população microbiana máxima; B = crescimento relativo máximo (hora<sup>-1</sup>) em  $t = M$ ; M = tempo em que a taxa de crescimento absoluto foi máxima (hora);  $\mu_{max}$  = taxa de crescimento específico (hora<sup>-1</sup>);  $\lambda$  = fase de adaptação do crescimento (hora); RMSE = raiz quadrada do erro médio quadrático;  $R^2$  = coeficiente de determinação.

Apesar dos parâmetros de crescimento estimados a partir de dados de contagem de células viáveis serem mais confiáveis, sua estimativa baseada no método de absorção também é válida, principalmente quando as densidades celulares são baixas (PERNI; ANDREW e SHAMA, 2005).

Ao se utilizar meio de cultura sem inibidores para o crescimento de *Listeria monocytogenes* (Tabela 6), os modelos apresentaram coeficiente de determinação ( $R^2$ ) maior que 0,96, sendo que o melhor ajuste foi obtido nos experimentos no qual os meios de culturas foram incubados a 15°C ( $R^2 > 0,99$ ), seguidos pelos incubados a 37°C ( $R^2 > 0,98$ ), e por fim aqueles incubados a 10°C ( $R^2 > 0,96$ ), sendo estes valores observados em cada modelo de crescimento. A raiz quadrada do erro médio quadrático (RMSE) foi menor para os meios de cultura incubados a 15°C, seguidos pelos incubados a 37°C, e os incubados a 10°C apresentaram maior valor. Valores baixos de RMSE indicam a precisão do modelo ao descrever o efeito do tempo na formação de colônias de *L. monocytogenes* (LEE et al., 2014). O melhor ajuste, analisando os valores de  $R^2$  e RMSE, foi obtido no modelo Logístico.

$N_0$  é a população microbiana inicial, ou seja, a concentração inicial de inóculo, e  $N_{max}$  é a densidade populacional máxima, ou a média da população de patógenos máxima que foi estimada pelas curvas de crescimento durante a incubação em condições isotérmicas (LIANOUE et al., 2017). Os valores de  $\ln(N_{max}/N_0)$  representam o aumento logarítmico populacional, e pela análise das Tabelas 6 a 14 é possível verificar que no modelo Logístico este aumento foi menor na maioria dos experimentos.

A fase de adaptação ( $\lambda$ ), calculada pela Eq 5 para o modelo de Gompertz e pela Eq 7 para o modelo Logístico e Logístico Modificado, diminuiu conforme a temperatura de incubação aumentava em todos os meios de cultura analisados (Tabelas 6 a 14), o que já era esperado, visto que a bactéria necessita de menor tempo de incubação a maiores temperaturas para começar a crescer, já que a faixa de temperatura ótima para o crescimento de bactérias do gênero *Listeria* é de 30 a 37°C (FRANCO; LANDGRAF, 1996; MANTILLA et al, 2007). A taxa de crescimento específico ( $\mu_{max}$ ), calculada pela Eq 4 para o modelo de Gompertz e pela Eq 6 para o modelo Logístico e Logístico Modificado, foi menor a 15°C, depois a 37°C e maior a 10°C, exceto no modelo Logístico, cujo  $\mu_{max}$  obteve maior valor a 37°C, seguido por 10°C, porém se esperava que essa taxa fosse menor na temperatura de incubação de 10°C, assim como no estudo de Lianou et al., 2017 e Tiwari et al., 2014, em que o patógeno cresceu mais rápido (maiores valores de  $\mu_{max}$  e baixos valores de  $\lambda$ ) com o aumento da temperatura de armazenamento.

O parâmetro B representa a taxa de crescimento relativo em determinado tempo de armazenamento M (TIWARI et al., 2014). Essas taxas aumentaram com o aumento da temperatura de incubação uma vez que a variação no número de microrganismos por unidade de tempo tende a aumentar com o aumento da temperatura de incubação. Porém, no modelo Logístico Modificado esse valor foi menor a 15°C, e depois a 10°C. Os valores de M

reduziram com o aumento da temperatura de incubação em todos os meios de cultura estudados, visto que o crescimento de microrganismos é mais rápido a temperaturas mais elevadas.

Tabela 7 – Parâmetros do modelo de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura com presença de inibidores (meio de cultura A).

Modelo	Parâmetros dos modelos	Com Inibidores (A)		
		10°C	15°C	37°C
<b>Logístico</b>	$N_0$	0.012	0.007	-0.011
	$N_{max}$	0.539	0.583	0.414
	$\ln(N_{max}/N_0)$	3.804	4.422	3.627
	B (hora <sup>-1</sup> )	0.201	0.249	1.088
	M (hora)	96.263	48.020	11.360
	$\mu_{max}$ (hora <sup>-1</sup> )	0.039	0.053	0.169
	$\lambda$ (hora)	90.506	43.925	10.117
	RMSE	0.033	0.021	0.024
	$R^2$	0.972	0.992	0.988
<b>Gompertz</b>	$N_0$	0.022	0.019	0.145
	$N_{max}$	0.564	0.602	0.264
	$\ln(N_{max}/N_0)$	3.244	3.455	0.599
	B (hora <sup>-1</sup> )	0.234	0.168	0.273
	M (hora)	95.303	45.947	11.093
	$\mu_{max}$ (hora <sup>-1</sup> )	0.030	0.025	0.072
	$\lambda$ (hora)	80.181	33.781	9.590
	RMSE	0.037	0.022	0.024
	$R^2$	0.969	0.991	0.989
<b>Logístico Modificado</b>	$N_0$	0.002	0.007	-0.010
	$N_{max}$	0.866	0.583	0.415
	$\ln(N_{max}/N_0)$	6.070	4.422	3.725
	B (hora <sup>-1</sup> )	0.166	0.249	1.088
	M (hora)	102.043	48.020	11.360
	$\mu_{max}$ (hora <sup>-1</sup> )	0.042	0.053	0.169
	$\lambda$ (hora)	94.481	43.925	10.117
	RMSE	0.035	0.021	0.024
	$R^2$	0.973	0.992	0.988

Meio de cultura A = meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>;  $N_0$  = densidade de população microbiana inicial;  $N_{max}$  = densidade de população microbiana máxima; B = crescimento relativo máximo (hora<sup>-1</sup>) em t = M; M = tempo em que a taxa de crescimento absoluto foi máxima (hora);  $\mu_{max}$  = taxa de crescimento específico (hora<sup>-1</sup>);  $\lambda$  = fase de adaptação do crescimento (hora); RMSE = raiz quadrada do erro médio quadrático;  $R^2$  = coeficiente de determinação.

Para o meio de cultura A (Tabela 7) o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) foi maior que 0,96. As curvas de crescimento para a temperatura de incubação de 15°C apresentaram o melhor ajuste, com um coeficiente de regressão ( $R^2$ ) maior que 0,99, seguidas das curvas de crescimento para a temperatura de incubação de 37°C, com  $R^2$  maior que 0,98, e por fim aqueles incubados a 10°C, com  $R^2$  maior que 0,96. O RMSE foi menor para os meios de cultura incubados a 15°C, seguidos pelos incubados a 37°C, e os incubados a 10°C apresentaram maior valor. Estes valores variaram pouco entre os três modelos. O melhor ajuste, analisando os valores de  $R^2$  e RMSE, foi obtido nos modelos Logístico e Logístico Modificado.

A taxa de crescimento específico ( $\mu_{\max}$ ) foi menor a 10°C, depois a 15°C e maior a 37°C, como se esperava. Porém no modelo de Gompertz o valor de  $\mu_{\max}$  foi um pouco menor a 15°C, depois a 10°C e maior a 37°C. A taxa de crescimento relativo (B) aumentou com o aumento da temperatura de incubação. Porém no modelo de Gompertz, B foi menor a 15°C, depois a 10°C e maior a 37°C.

Tabela 8 – Parâmetros do modelo de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura com presença de inibidores (meio de cultura B).

Modelo	Parâmetros dos modelos	Com Inibidores (B)		
		10°C	15°C	37°C
<b>Logístico</b>	$N_0$	-0.008	-0.008	0.127
	$N_{max}$	0.520	0.603	0.255
	$\ln(N_{max}/N_0)$	4.174	4.322	0.697
	B (hora <sup>-1</sup> )	0.160	0.229	0.128
	M (hora)	98.043	49.843	12.297
	$\mu_{max}$ (hora <sup>-1</sup> )	0.031	0.051	0.081
	$\lambda$ (hora)	91.770	45.368	11.472
	RMSE	0.015	0.028	0.023
	$R^2$	0.993	0.987	0.986
<b>Gompertz</b>	$N_0$	0.000	0.004	0.000
	$N_{max}$	0.561	0.636	0.404
	$\ln(N_{max}/N_0)$	-	5.068	-
	B (hora <sup>-1</sup> )	0.095	0.147	0.371
	M (hora)	95.223	47.693	11.320
	$\mu_{max}$ (hora <sup>-1</sup> )	0.013	0.023	0.037
	$\lambda$ (hora)	73.755	33.729	5.758
	RMSE	0.012	0.023	0.021
	$R^2$	0.996	0.991	0.988
<b>Logístico Modificado</b>	$N_0$	-0.018	-0.008	-0.010
	$N_{max}$	3.325	0.604	0.146
	$\ln(N_{max}/N_0)$	5.218	4.324	2.681
	B (hora <sup>-1</sup> )	0.093	0.229	0.153
	M (hora)	128.943	49.840	12.297
	$\mu_{max}$ (hora <sup>-1</sup> )	0.088	0.051	0.081
	$\lambda$ (hora)	116.274	45.362	11.540
	RMSE	0.022	0.028	0.023
	$R^2$	0.982	0.987	0.986

Meio de cultura B = meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>;  $N_0$  = densidade de população microbiana inicial;  $N_{max}$  = densidade de população microbiana máxima; B = crescimento relativo máximo (hora<sup>-1</sup>) em  $t = M$ ; M = tempo em que a taxa de crescimento absoluto foi máxima (hora);  $\mu_{max}$  = taxa de crescimento específico (hora<sup>-1</sup>);  $\lambda$  = fase de adaptação do crescimento (hora); RMSE = raiz quadrada do erro médio quadrático;  $R^2$  = coeficiente de determinação.

Ao se utilizar o meio de cultura B para o crescimento de *Listeria monocytogenes* (Tabela 8), as curvas de crescimento forneceram coeficiente de regressão ( $R^2$ ) maior que 0,98. O RMSE foi menor para os meios de cultura incubados a 10°C, seguidos pelos incubados a

37°C, e os incubados a 15°C apresentaram maior valor. O melhor ajuste, analisando os valores de  $R^2$  e RMSE, foi obtido no modelo de Gompertz.

A taxa de crescimento específico ( $\mu_{\max}$ ) foi maior com o aumento da temperatura de incubação. Porém no modelo Logístico Modificado este valor foi menor a 15°C, seguido pelos incubados a 37°C, e pelos incubados a 10°C. A taxa de crescimento relativo (B) aumentou com o aumento da temperatura de incubação. Porém no modelo Logístico, o valor de B foi menor na temperatura de 37°C, seguido pela temperatura de 10°C e 15°C.

Tabela 9 – Parâmetros do modelo de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura com presença de inibidores (meio de cultura C).

Modelo	Parâmetros dos modelos	Com Inibidores (C)		
		10°C	15°C	37°C
<b>Logístico</b>	$N_0$	0.006	-0.004	-0.006
	$N_{max}$	0.578	0.673	0.401
	$\ln(N_{max}/N_0)$	4.567	5.125	4.202
	B (hora <sup>-1</sup> )	0.164	0.208	0.662
	M (hora)	99.190	50.090	11.510
	$\mu_{max}$ (hora <sup>-1</sup> )	0.034	0.050	0.099
	$\lambda$ (hora)	92.935	44.973	9.985
	RMSE	0.031	0.024	0.024
	$R^2$	0.973	0.991	0.987
<b>Gompertz</b>	$N_0$	0.011	0.012	0.143
	$N_{max}$	0.636	0.720	0.258
	$\ln(N_{max}/N_0)$	4.057	4.094	0.590
	B (hora <sup>-1</sup> )	0.104	0.136	0.138
	M (hora)	96.833	47.900	11.200
	$\mu_{max}$ (hora <sup>-1</sup> )	0.015	0.023	0.047
	$\lambda$ (hora)	74.133	31.669	9.584
	RMSE	0.030	0.022	0.023
	$R^2$	0.978	0.992	0.988
<b>Logístico Modificado</b>	$N_0$	0.008	-0.004	-0.006
	$N_{max}$	0.239	0.673	0.402
	$\ln(N_{max}/N_0)$	3.397	5.125	4.204
	B (hora <sup>-1</sup> )	0.021	0.208	0.661
	M (hora)	99.457	50.090	11.510
	$\mu_{max}$ (hora <sup>-1</sup> )	0.038	0.050	0.099
	$\lambda$ (hora)	96.347	44.971	9.984
	RMSE	0.020	0.024	0.024
	$R^2$	0.982	0.991	0.987

Meio de cultura C = meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>;  $N_0$  = densidade de população microbiana inicial;  $N_{max}$  = densidade de população microbiana máxima; B = crescimento relativo máximo (hora<sup>-1</sup>) em t = M; M = tempo em que a taxa de crescimento absoluto foi máxima (hora);  $\mu_{max}$  = taxa de crescimento específico (hora<sup>-1</sup>);  $\lambda$  = fase de adaptação do crescimento (hora); RMSE = raiz quadrada do erro médio quadrático;  $R^2$  = coeficiente de determinação.

As curvas de crescimento para a temperatura de incubação de 15°C apresentaram o melhor ajuste (Tabela 9), com um coeficiente de regressão ( $R^2$ ) maior que 0,99, seguidas das curvas de crescimento para a temperatura de incubação de 37°C, com  $R^2$  maior que 0,98, e das

curvas cujo meio foi incubado a 10°C, com  $R^2$  maior que 0,97. O RMSE foi menor para os meios de cultura incubados a 15°C e 37°C, e pelos incubados a 10°C para os modelos Logístico e de Gompertz. Para o modelo Logístico Modificado, o RMSE foi menor para os meios de cultura incubados a 10°C, seguidos pelos incubados a 15°C e 37°C. O melhor ajuste, analisando os valores de  $R^2$  e RMSE, foi obtido no modelo Logístico Modificado.

A taxa de crescimento específico ( $\mu_{\max}$ ) aumentou com o aumento da temperatura de incubação, o que era esperado. A taxa de crescimento relativo (B) aumentou com o aumento da temperatura de incubação.



Tabela 10 – Parâmetros do modelo de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura com presença de inibidores (meio de cultura D).

Modelo	Parâmetros dos modelos	Com Inibidores (D)		
		10°C	15°C	37°C
<b>Logístico</b>	$N_0$	0.009	-0.003	0.113
	$N_{max}$	0.528	0.635	0.255
	$\ln(N_{max}/N_0)$	4.071	5.355	0.813
	B (hora <sup>-1</sup> )	0.169	0.208	0.259
	M (hora)	95.907	49.963	11.693
	$\mu_{max}$ (hora <sup>-1</sup> )	0.032	0.049	0.123
	$\lambda$ (hora)	89.687	45.113	10.973
	RMSE	0.036	0.025	0.031
	$R^2$	0.966	0.990	0.978
<b>Gompertz</b>	$N_0$	0.017	0.010	-0.004
	$N_{max}$	0.557	0.670	0.388
	$\ln(N_{max}/N_0)$	3.489	4.204	4.574
	B (hora <sup>-1</sup> )	0.110	0.129	0.555
	M (hora)	92.850	47.720	10.923
	$\mu_{max}$ (hora <sup>-1</sup> )	0.015	0.021	0.055
	$\lambda$ (hora)	72.213	32.025	6.545
	RMSE	0.039	0.026	0.027
	$R^2$	0.962	0.989	0.982
<b>Logístico Modificado</b>	$N_0$	0.010	-0.003	-0.011
	$N_{max}$	0.193	-0.227	0.100
	$\ln(N_{max}/N_0)$	2.960	4.326	2.207
	B (hora <sup>-1</sup> )	0.061	-0.053	0.006
	M (hora)	96.120	49.963	11.690
	$\mu_{max}$ (hora <sup>-1</sup> )	0.032	0.049	0.123
	$\lambda$ (hora)	94.041	51.951	10.735
	RMSE	0.035	0.025	0.031
	$R^2$	0.970	0.990	0.978

Meio de cultura D = meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>;  $N_0$  = densidade de população microbiana inicial;  $N_{max}$  = densidade de população microbiana máxima; B = crescimento relativo máximo (hora<sup>-1</sup>) em t = M; M = tempo em que a taxa de crescimento absoluto foi máxima (hora);  $\mu_{max}$  = taxa de crescimento específico (hora<sup>-1</sup>);  $\lambda$  = fase de adaptação do crescimento (hora); RMSE = raiz quadrada do erro médio quadrático;  $R^2$  = coeficiente de determinação.

As curvas de crescimento para a temperatura de incubação de 15°C apresentaram o melhor ajuste (Tabela 10), com um coeficiente de regressão ( $R^2$ ) maior que 0,98, seguidas das curvas de crescimento para a temperatura de incubação de 37°C, com  $R^2$  maior que 0,97. Os

modelos cujo meio foi incubado a 10°C, apresentaram  $R^2$  maior que 0,96. O RMSE foi menor para os meios de cultura incubados a 15°C, seguidos pelos incubados a 37°C, e pelos incubados a 10°C. O melhor ajuste, analisando os valores de  $R^2$  e RMSE, foi obtido nos modelos Logístico e Logístico Modificado.

Como esperado, a taxa de crescimento específico ( $\mu_{\max}$ ) a taxa de crescimento relativo (B) aumentaram com o aumento da temperatura de incubação. Porém no modelo Logístico Modificado, o valor de B apresentou valor negativo a 15°C, e com menor valor a 37°C.

Tabela 11 – Parâmetros do modelo de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura com presença de inibidores (meio de cultura E).

Modelo	Parâmetros dos modelos	Com Inibidores (E)		
		10°C	15°C	37°C
<b>Logístico</b>	$N_0$	0.002	-0.003	0.138
	$N_{max}$	0.501	0.698	0.265
	$\ln(N_{max}/N_0)$	5.523	5.449	0.652
	B (hora <sup>-1</sup> )	0.155	0.190	0.100
	M (hora)	98.020	50.683	11.117
	$\mu_{max}$ (hora <sup>-1</sup> )	0.028	0.048	0.153
	$\lambda$ (hora)	91.297	45.348	10.486
	RMSE	0.031	0.027	0.022
	$R^2$	0.968	0.988	0.990
<b>Gompertz</b>	$N_0$	0.006	0.014	-0.002
	$N_{max}$	0.571	0.747	0.415
	$\ln(N_{max}/N_0)$	4.555	3.977	5.335
	B (hora <sup>-1</sup> )	0.079	0.121	0.671
	M (hora)	95.457	48.410	10.434
	$\mu_{max}$ (hora <sup>-1</sup> )	0.011	0.022	0.071
	$\lambda$ (hora)	68.015	31.599	7.176
	RMSE	0.032	0.024	0.020
	$R^2$	0.969	0.991	0.992
<b>Logístico Modificado</b>	$N_0$	0.003	-0.003	-0.008
	$N_{max}$	0.504	0.698	0.412
	$\ln(N_{max}/N_0)$	5.123	5.449	3.941
	B (hora <sup>-1</sup> )	0.149	0.190	0.980
	M (hora)	98.253	50.687	11.117
	$\mu_{max}$ (hora <sup>-1</sup> )	0.027	0.048	0.153
	$\lambda$ (hora)	91.353	45.349	9.980
	RMSE	0.029	0.027	0.022
	$R^2$	0.975	0.988	0.990

Meio de cultura E = meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>;  $N_0$  = densidade de população microbiana inicial;  $N_{max}$  = densidade de população microbiana máxima; B = crescimento relativo máximo (hora<sup>-1</sup>) em t = M; M = tempo em que a taxa de crescimento absoluto foi máxima (hora);  $\mu_{max}$  = taxa de crescimento específico (hora<sup>-1</sup>);  $\lambda$  = fase de adaptação do crescimento (hora); RMSE = raiz quadrada do erro médio quadrático;  $R^2$  = coeficiente de determinação.

O melhor ajuste das curvas de crescimento foi obtido ao se utilizar a temperatura de incubação de 37°C, apresentando  $R^2$  maior que 0,99, seguidas das curvas de crescimento para a temperatura de incubação de 15°C, com  $R^2$  maior que 0,98, e das curvas cujo meio foi

incubado a 10°C, com  $R^2$  maior que 0,96. O RMSE foi menor para os meios de cultura incubados a 37°C, seguidos pelos incubados a 15°C, e pelos incubados a 10°C. O melhor ajuste, analisando os valores de  $R^2$  e RMSE, foi obtido no modelo de Gompertz.

Como se aguardava, a taxa de crescimento específico ( $\mu_{\max}$ ) e a taxa de crescimento relativo (B) aumentaram com a temperatura. Porém no modelo Logístico, B apresentou menor valor a 37°C, depois a 10°C e maior a 15°C.

Tabela 12 – Parâmetros do modelo de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura com presença de inibidores (meio de cultura F).

Modelo	Parâmetros dos modelos	Com Inibidores (F)		
		10°C	15°C	37°C
<b>Logístico</b>	$N_0$	-0.004	-0.006	0.127
	$N_{max}$	0.598	0.691	0.261
	$\ln(N_{max}/N_0)$	5.007	4.746	0.720
	B (hora <sup>-1</sup> )	0.144	0.187	0.156
	M (hora)	91.680	51.367	11.153
	$\mu_{max}$ (hora <sup>-1</sup> )	0.032	0.048	0.146
	$\lambda$ (hora)	84.523	45.951	10.623
	RMSE	0.039	0.038	0.020
	$R^2$	0.974	0.979	0.991
<b>Gompertz</b>	$N_0$	0.001	0.009	0.004
	$N_{max}$	0.626	0.762	0.392
	$\ln(N_{max}/N_0)$	6.439	4.438	4.584
	B (hora <sup>-1</sup> )	0.083	0.102	0.746
	M (hora)	86.417	49.153	10.530
	$\mu_{max}$ (hora <sup>-1</sup> )	0.013	0.019	0.071
	$\lambda$ (hora)	61.843	28.765	7.601
	RMSE	0.043	0.038	0.019
	$R^2$	0.969	0.977	0.992
<b>Logístico Modificado</b>	$N_0$	-0.002	-0.006	-0.001
	$N_{max}$	0.596	0.691	0.389
	$\ln(N_{max}/N_0)$	5.697	4.746	5.963
	B (hora <sup>-1</sup> )	0.146	0.187	1.035
	M (hora)	91.673	51.363	11.153
	$\mu_{max}$ (hora <sup>-1</sup> )	0.032	0.048	0.146
	$\lambda$ (hora)	84.655	45.951	10.118
	RMSE	0.039	0.038	0.020
	$R^2$	0.974	0.979	0.991

Meio de cultura F = meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>;  $N_0$  = densidade de população microbiana inicial;  $N_{max}$  = densidade de população microbiana máxima; B = crescimento relativo máximo (hora<sup>-1</sup>) em t = M; M = tempo em que a taxa de crescimento absoluto foi máxima (hora);  $\mu_{max}$  = taxa de crescimento específico (hora<sup>-1</sup>);  $\lambda$  = fase de adaptação do crescimento (hora); RMSE = raiz quadrada do erro médio quadrático;  $R^2$  = coeficiente de determinação.

Ao se utilizar a temperatura de incubação de 37°C no estudo, as curvas de crescimento expuseram o melhor ajuste (Tabela 12), com  $R^2$  maior que 0,99. As curvas de crescimento para as temperaturas de 15°C apresentaram  $R^2$  maior que 0,97 e obteve-se  $R^2$  maior que 0,96

para 10°C. O RMSE foi menor para os meios de cultura incubados a 37°C, seguido pelos incubados a 10°C e 10°C. O melhor ajuste, analisando os valores de  $R^2$  e RMSE, foi obtido nos modelos Logístico e Logístico Modificado.

A taxa de crescimento específico ( $\mu_{\max}$ ) e a taxa de crescimento relativo (B) aumentaram com o aumento da temperatura de incubação. Porém, para o modelo Logístico B foi menor para a temperatura de 37°C, seguido pela incubação a 10°C e a 15°C.

Tabela 13 – Parâmetros do modelo de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura com presença de inibidores (meio de cultura G).

Modelo	Parâmetros dos modelos	Com Inibidores (G)		
		10°C	15°C	37°C
<b>Logístico</b>	$N_0$	0.002	-0.001	0.138
	$N_{max}$	0.517	0.611	0.267
	$\ln(N_{max}/N_0)$	5.554	6.415	0.659
	B (hora <sup>-1</sup> )	0.146	0.238	0.578
	M (hora)	93.983	48.797	10.800
	$\mu_{max}$ (hora <sup>-1</sup> )	0.027	0.054	0.152
	$\lambda$ (hora)	86.438	44.570	10.778
	RMSE	0.039	0.034	0.021
	$R^2$	0.961	0.982	0.990
<b>Gompertz</b>	$N_0$	-0.005	0.011	-0.002
	$N_{max}$	4.389	0.640	0.418
	$\ln(N_{max}/N_0)$	6.777	4.063	5.342
	B (hora <sup>-1</sup> )	0.047	0.155	0.700
	M (hora)	114.743	46.743	10.164
	$\mu_{max}$ (hora <sup>-1</sup> )	0.025	0.024	0.073
	$\lambda$ (hora)	57.071	33.844	7.053
	RMSE	0.035	0.031	0.018
	$R^2$	0.969	0.985	0.993
<b>Logístico Modificado</b>	$N_0$	-0.009	-0.001	-0.010
	$N_{max}$	0.806	0.611	0.119
	$\ln(N_{max}/N_0)$	4.494	6.415	2.476
	B (hora <sup>-1</sup> )	0.105	0.238	0.578
	M (hora)	99.403	48.797	10.800
	$\mu_{max}$ (hora <sup>-1</sup> )	0.030	0.054	0.152
	$\lambda$ (hora)	89.774	44.572	10.779
	RMSE	0.033	0.034	0.021
	$R^2$	0.972	0.982	0.990

Meio de cultura G = meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>;  $N_0$  = densidade de população microbiana inicial;  $N_{max}$  = densidade de população microbiana máxima; B = crescimento relativo máximo (hora<sup>-1</sup>) em t = M; M = tempo em que a taxa de crescimento absoluto foi máxima (hora);  $\mu_{max}$  = taxa de crescimento específico (hora<sup>-1</sup>);  $\lambda$  = fase de adaptação do crescimento (hora); RMSE = raiz quadrada do erro médio quadrático;  $R^2$  = coeficiente de determinação.

As três curvas de crescimento apresentaram melhor ajuste de dados ao se usar a temperatura de incubação de 37°C, com  $R^2$  maior que 0,99 (Tabela 13). As curvas de crescimento para a temperatura de 15°C apresentaram  $R^2$  maior que 0,98 e obteve-se  $R^2$  maior

que 0,96 para 10°C. O RMSE aumentou com a diminuição da temperatura de incubação nos três modelos de crescimento. A curva que foi mais bem ajustada analisando os valores de  $R^2$  e RMSE foi obtido no modelo de Gompertz.

Como esperado, a taxa de crescimento específico ( $\mu_{\max}$ ) e a taxa de crescimento relativo (B) aumentaram com o aumento da temperatura de incubação.



Tabela 14 – Parâmetros do modelo de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura com presença de inibidores (meio de cultura H).

Modelo	Parâmetros dos modelos	Com Inibidores (H)		
		10°C	15°C	37°C
<b>Logístico</b>	$N_0$	-0.001	-0.007	0.136
	$N_{max}$	0.451	0.646	0.249
	$\ln(N_{max}/N_0)$	6.111	4.524	0.604
	B (hora <sup>-1</sup> )	0.147	0.197	0.509
	M (hora)	92.690	51.433	11.047
	$\mu_{max}$ (hora <sup>-1</sup> )	0.024	0.047	0.182
	$\lambda$ (hora)	85.512	46.218	10.775
	RMSE	0.042	0.029	0.018
	$R^2$	0.945	0.986	0.993
<b>Gompertz</b>	$N_0$	-0.006	0.007	0.123
	$N_{max}$	5.929	0.698	0.267
	$\ln(N_{max}/N_0)$	6.895	4.602	0.775
	B (hora <sup>-1</sup> )	0.052	0.123	0.015
	M (hora)	118.193	49.250	10.773
	$\mu_{max}$ (hora <sup>-1</sup> )	0.030	0.021	0.093
	$\lambda$ (hora)	59.885	32.383	9.377
	RMSE	0.039	0.023	0.017
	$R^2$	0.954	0.990	0.993
<b>Logístico Modificado</b>	$N_0$	-0.010	-0.007	-0.005
	$N_{max}$	0.725	0.646	0.390
	$\ln(N_{max}/N_0)$	4.283	4.524	4.356
	B (hora <sup>-1</sup> )	0.111	0.196	1.262
	M (hora)	98.540	51.433	11.047
	$\mu_{max}$ (hora <sup>-1</sup> )	0.028	0.047	0.182
	$\lambda$ (hora)	89.376	46.218	10.185
	RMSE	0.037	0.029	0.018
	$R^2$	0.957	0.986	0.993

Meio de cultura H = meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>;  $N_0$  = densidade de população microbiana inicial;  $N_{max}$  = densidade de população microbiana máxima; B = crescimento relativo máximo (hora<sup>-1</sup>) em t = M; M = tempo em que a taxa de crescimento absoluto foi máxima (hora);  $\mu_{max}$  = taxa de crescimento específico (hora<sup>-1</sup>);  $\lambda$  = fase de adaptação do crescimento (hora); RMSE = raiz quadrada do erro médio quadrático;  $R^2$  = coeficiente de determinação.

O melhor ajustamento aos dados foi observado na temperatura de incubação de 37°C,  $R^2$  maior que 0,99 (Tabela 14). As curvas de crescimento para as temperaturas de 15°C apresentaram  $R^2$  maior que 0,98 e obteve-se  $R^2$  maior que 0,94 para 10°C. O RMSE foi menor

para os meios de cultura incubados a 37°C, seguidos pelos incubados a 15°C, e pelos incubados a 10°C. A curva melhor ajustada pelos valores de  $R^2$  e RMSE foi a de Gompertz.

A taxa de crescimento específico ( $\mu_{\max}$ ) aumentou com o aumento da temperatura de incubação nos modelos Logístico e Logístico Modificado. Já no modelo de Gompertz,  $\mu_{\max}$  foi menor a 15°C, depois a 10°C e maior a 37°C, porém se esperava que essa taxa fosse menor na temperatura de incubação de 10°C. A taxa de crescimento relativo (B) aumentou com o aumento da temperatura de incubação nos modelos Logístico e Logístico Modificado. Já no modelo de Gompertz, B foi menor a 37°C, depois a 10°C e maior a 15°C.

O modelo de Gompertz apresentou mais inconstâncias ao analisar o valor de  $\mu_{\max}$  e B, já que de maneira geral os valores destes parâmetros diminuíram quando a temperatura de incubação foi aumentada em alguns meios de cultura estudados (Tabelas 6 a 14).

Comparando os valores de  $\lambda$  em cada temperatura de incubação, a 10°C, seu maior valor foi obtido no meio de cultura B no modelo Logístico Modificado; a 15°C, seu maior valor foi obtido no meio de cultura D também no modelo Logístico Modificado; e a 37°C, seu maior valor foi obtido no meio de cultura B no modelo Logístico Modificado, sendo que o modelo de Gompertz apresentou os menores valores de  $\lambda$ .

Analisando o modelo Logístico Modificado para incubação a 10°C, pôde-se observar maiores valores de  $\lambda$  no meio de crescimento B, seguido pelos meios sem inibidores, C, A, D, E, G, H e F, respectivamente. Já na temperatura de incubação a 15°C, pôde-se observar maiores valores de  $\lambda$  no meio de crescimento D, seguido pelos meios H, F, B, E, C, sem inibidores, G, A, respectivamente. Por fim, na temperatura de incubação a 37°C, pôde-se observar maiores valores de  $\lambda$  no meio de crescimento B, seguido pelos meios G, D, H, F, A, C, E, sem inibidores, respectivamente. O fato de B e D apresentarem uma maior fase de adaptação observando as três temperaturas de incubação, pode ser justificado pela maior concentração de sal no meio B e pelas maiores concentrações de nitrito no meio D.

Sendo assim, o modelo Logístico Modificado apresentou maiores valores de um modo geral, indicando que este modelo foi o melhor.

Perni; Andrew e Shama (2005) usaram  $\mu_{\max}$  para comparar modelos preditivos. Comparando os valores de  $\mu_{\max}$  em cada temperatura de incubação, a 10°C, seu menor valor foi obtido no meio de cultura E no modelo de Gompertz; a 15°C, seu menor valor foi obtido no meio de cultura sem inibidores, também no modelo de Gompertz; e a 37°C, seu menor valor foi obtido nos meios de cultura B e sem inibidores também no modelo de Gompertz, sendo que o modelo Logístico Modificado apresentou os maiores valores de  $\mu_{\max}$ .

Analisando o modelo de Gompertz para incubação a 10°C, pôde-se observar menores valores de  $\mu_{\max}$  no meio de crescimento E, seguido pelos meios B e F, C e D, G, A e H, e sem inibidores, respectivamente. Já na temperatura de incubação a 15°C, pôde-se observar menores valores de  $\mu_{\max}$  no meio de crescimento sem inibidores, seguido pelos meios F, D e H, E, B e C, G, e A, respectivamente. Por fim, na temperatura de incubação a 37°C, pôde-se observar menores valores de  $\mu_{\max}$  nos meios de crescimento B e sem inibidores, seguido pelos meios C, D, E e F, A, G, e H, respectivamente. O fato do meio B, E e F apresentarem uma menor taxa de crescimento específico observando as três temperaturas de incubação, pode ser justificado pelo pH mais baixo ou pela maior concentração de sal, porém o meio de cultura sem inibidores também apresentou baixos valores de  $\mu_{\max}$ , o que não se esperava, visto que não havia nenhum inibidor neste meio que fizesse com o crescimento da *L. monocytogenes* não fosse tão acelerado.

Com algumas exceções, em todos os modelos observa-se que há influência e sinergia dos fatores inibidores que aumentam a fase de adaptação e diminuem a população máxima de *L. monocytogenes*. Analisando a taxa de crescimento específico ( $\mu_{\max}$ ), o modelo de Gompertz apresentou menores valores de um modo geral, indicando ser o melhor modelo para descrever o crescimento de *L. monocytogenes*.

No estudo realizado por Tiwari e colaboradores (2014), dentre os três modelos de crescimento adotados por eles, os valores do  $\mu_{\max}$  obtidos utilizando os modelos modificados de Gompertz e Logístico mostraram uma taxa de crescimento ligeiramente maior em comparação com o modelo de crescimento de Baranyi. Por outro lado, o tempo de atraso exibido pelos 3 modelos variou significativamente. Porém o modelo Baranyi, que se mostrou melhor que o modelo de Gompertz ao se analisar  $\mu_{\max}$ , não foi estudado no presente trabalho.

Ao analisar os parâmetros  $\lambda$  e  $\mu_{\max}$  para a temperatura de incubação de 10°C (Tabelas 15 e 16), que é a temperatura recomendada para armazenamento de salsicha, o modelo de Gompertz foi o que exibiu menor taxa de crescimento específico para a maior parte dos meios estudados, o que indica que este é o melhor modelo a ser adotado. Ao mesmo tempo, o modelo que apresentou maior fase lag em todos os meios de cultura estudados foi o Logístico Modificado.

Tabela 15 – Parâmetro  $\lambda$  (hora) na temperatura de incubação de 10°C

Modelo	SEM	Meios de Cultura							
		A	B	C	D	E	F	G	H
<b>Log</b>	110.723	90.506	91.770	92.935	89.687	91.297	84.523	86.438	85.512
<b>Gom</b>	62.023	80.181	73.755	74.133	72.213	68.015	61.843	57.071	59.885
<b>Mod</b>	103.865	94.481	116.274	96.347	94.041	91.353	84.655	89.774	89.376

$\lambda$  = Fase de adaptação; Log = modelo Logístico; Gom = modelo de Gompertz; Mod = modelo Logístico Modificado; SEM = meio sem inibidores; A = meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; B = meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; C = meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; D = meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; E = meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; F = meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; G = meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; H = meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>.

Tabela 16 - Parâmetro  $\mu_{\max}$  (hora<sup>-1</sup>) na temperatura de incubação de 10°C

Modelo	SEM	Meios de Cultura							
		A	B	C	D	E	F	G	H
<b>Log</b>	0.072	0.039	0.031	0.034	0.032	0.028	0.032	0.027	0.024
<b>Gom</b>	0.177	0.030	0.013	0.015	0.015	0.011	0.013	0.025	0.030
<b>Mod</b>	0.101	0.042	0.088	0.038	0.032	0.027	0.032	0.030	0.028

$\mu_{\max}$  = taxa de crescimento específico; Log = modelo Logístico; Gom = modelo de Gompertz; Mod = modelo Logístico Modificado; SEM = meio sem inibidores; A = meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; B = meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; C = meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; D = meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; E = meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; F = meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; G = meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; H = meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>.

Buchanan, Stahl e Whiting (1989) identificaram a interação entre as cinco variáveis estudadas por eles: temperatura, pH, atmosfera, cloreto de sódio e nitrito de sódio no crescimento de *L. monocytogenes*. A influência destes fatores foi vista pelas mudanças na fase de adaptação e/ou na taxa de crescimento máxima. A taxa de crescimento máxima diminuiu com o aumento do teor de cloreto de sódio e de nitrito de sódio e com a diminuição do pH e a fase de adaptação aumentou nestes casos. A atividade bacteriostática do NaNO<sub>2</sub> foi dependente do pH inicial do meio, sendo verificada em um pH inicial de 6,0, e em um pH de 7,5 não verificaram atividade evidente. A atividade do NaNO<sub>2</sub> foi mais eficaz contra *L. monocytogenes* na menor temperatura de incubação: 5°C, e quando o teor de NaCl aumentou de 0,5 a 4,5.

Neste estudo, não se percebeu grande influência do teor de NaNO<sub>2</sub> no crescimento de *L. monocytogenes*, o que pode ter ocorrido pelo tratamento térmico dado ao meio de cultura adicionado dos inibidores, que foi autoclavado a 121°C por 15 minutos. McClure; Kelly e Roberts (1991) perceberam que a inibição de *L. monocytogenes* por NaNO<sub>2</sub> autoclavado foi menor quando comparado com o NaNO<sub>2</sub> esterilizado com filtro, no qual a adição de 50

$\mu\text{g/mL}$  a pH 5,0 impediu o crescimento visível desta bactéria em 48 h e a adição de até 200  $\mu\text{g/mL}$  de  $\text{NaNO}_2$  autoclavado não retardou seu crescimento. No presente estudo o  $\text{NaNO}_2$  foi autoclavado juntamente com o meio de cultura.

Para Fakruddin et al. (2011), há algumas limitações na microbiologia preditiva, como o fato dos modelos não poderem serem extrapolados para fora dos intervalos estudados e dos modelos terem o costume de prever taxas de crescimento mais rápidas do que o observado. Além disso, limitações no modelo de Gompertz foram discutidos por Baty e Delignette-Muller (2004), principalmente pela superestimação de  $\mu_{\text{max}}$  e  $\lambda$ .

Como houve uma diminuição no crescimento de *L. monocytogenes* comparando as leituras feitas em meio de cultura sem inibidores e com inibidores, comparando o meio que obteve um crescimento desta bactéria mais intenso com o menos intenso, e ainda comparando os parâmetros  $\lambda$  e  $\mu_{\text{max}}$  dos modelos preditivos, pôde-se concluir que aumentando o teor de sal do meio de cultura para 2%, o teor de nitrito poderia ser diminuído pela metade e ainda assim obter um menor crescimento de *L. monocytogenes*. A importância da diminuição do pH pôde ser percebida no decréscimo do crescimento da *L. monocytogenes*.

Os modelos preditivos podem ajudar as indústrias alimentícias a encontrar a melhor forma de unir fatores inibitórios à formulação dos produtos, como o pH, teor de sal e nitrito no caso de salsichas, de modo a minimizar o uso de conservantes que podem causar mal à saúde do consumidor, e ao mesmo tempo reduzir o crescimento de patógenos como a *L. monocytogenes*, fornecendo assim alimentos mais seguros e saudáveis. Os modelos de Gompertz, Modificado de Gompertz, Baranyi e Logístico são os modelos mais encontrados em pesquisas científicas (BUCHANAN; STAHL; WHITING, 1989; LEE et al., 2014; TIWARI et al., 2014; LIANOU et al., 2017).

### 5.3 ANÁLISES DE DESEMPENHO DOS MODELOS

#### 5.3.1 ANÁLISE DE DESEMPENHO UTILIZANDO FATOR DE INFLUÊNCIA E FATOR DE PRECISÃO

Somente a análise dos valores de  $R^2$  e RMSE não permite decidir por um dos modelos, principalmente pela proximidade em muitos desses valores. Com isso, torna-se necessário uma análise mais completa.

Uma das análises de desempenho dos três modelos de crescimento usados foi feita pelo Fator de Influência (FI) e o Fator de Precisão (FP), que são fatores multiplicativos

simples que identificam a disseminação dos resultados em relação à predição (ROSS, 1996). Os valores calculados para as três repetições constam nas Tabelas 17, 18, e 19.

Segundo Ross (1996), um Fator de Influência igual a 1,0 indica um acordo perfeito entre previsões e observações. Valores acima de 1,1 indicam que o modelo é falho pelas previsões excederem as observações, em média, em 10%. Valores inferiores a 1 também indicam que o modelo é falho pelas previsões serem menores do que observado, sendo que um Fator de Influência de 0,5 indica um modelo pobre.

Assim como para o FI, um Fator de Precisão igual a 1 indica um acordo perfeito entre previsões e observações, já um FP = 2 indica que a predição é metade ou duas vezes maior que o valor observado (ROSS, 1996).

Tabela 17 – Fator Influência (FI) e fator de precisão (FP) para os modelos de crescimento de *L. monocytogenes*. Repetição 1.

		Logístico		Gompertz		Logístico Modificado	
		FI	FP	FI	FP	FI	FP
<b>Sem Inibidores</b>	<b>10°C</b>	4.440	7.779	3.932	6.867	4.468	7.798
	<b>15°C</b>	0.711	1.798	0.746	1.854	0.711	1.799
	<b>37°C</b>	1.700	1.950	1.419	1.567	1.696	1.950
<b>Com Inibidores (A)</b>	<b>10°C</b>	0.422	4.126	0.382	3.762	0.804	2.086
	<b>15°C</b>	1.865	3.055	2.976	8.059	1.865	3.055
	<b>37°C</b>	1.778	1.915	1.627	1.751	1.777	1.914
<b>Com Inibidores (B)</b>	<b>10°C</b>	3.198	4.628	1.300	2.623	3.222	5.650
	<b>15°C</b>	0.627	4.916	0.259	6.252	0.608	5.098
	<b>37°C</b>	1.071	1.144	1.004	1.177	1.070	1.144
<b>Com Inibidores (C)</b>	<b>10°C</b>	0.731	3.574	0.332	4.046	0.407	3.134
	<b>15°C</b>	1.792	3.147	2.649	7.156	1.788	3.142
	<b>37°C</b>	0.974	1.284	0.914	1.383	0.975	1.283
<b>Com Inibidores (D)</b>	<b>10°C</b>	0.931	5.801	1.112	8.907	1.165	5.405
	<b>15°C</b>	1.468	2.175	1.156	2.787	1.468	2.175
	<b>37°C</b>	1.078	1.184	1.067	1.181	1.079	1.185
<b>Com Inibidores (E)</b>	<b>10°C</b>	0.530	2.858	0.466	3.118	0.630	2.249
	<b>15°C</b>	0.851	2.119	0.661	1.884	0.848	2.121
	<b>37°C</b>	1.112	1.317	1.082	1.305	1.108	1.322
<b>Com Inibidores (F)</b>	<b>10°C</b>	0.681	2.472	0.780	1.895	0.681	2.473
	<b>15°C</b>	0.690	3.471	0.623	2.342	0.687	3.471
	<b>37°C</b>	0.915	1.292	0.803	1.424	0.915	1.292
<b>Com Inibidores (G)</b>	<b>10°C</b>	2.294	5.660	2.751	3.187	3.036	5.366
	<b>15°C</b>	0.757	2.691	0.716	2.145	0.758	2.693
	<b>37°C</b>	1.054	1.087	1.057	1.075	1.054	1.087
<b>Com Inibidores (H)</b>	<b>10°C</b>	4.800	10.473	2.859	5.520	3.063	6.256
	<b>15°C</b>	1.070	4.554	0.360	7.315	1.068	4.558
	<b>37°C</b>	1.077	1.102	1.083	1.104	1.077	1.102

A = meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; B = meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; C = meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; D = meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; E = meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; F = meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; G = meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; H = meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>.

Os FI e FP indicam o grau de adequação entre os dados previstos e observados (TIWARI et al., 2014). Na primeira repetição (Tabela 17), os valores FI e FP se mantiveram mais próximos de 1 na temperatura de incubação de 37°C. De maneira geral, maiores valores de FI e FP foram observados para o meio de cultura que não havia presença de inibidores e principalmente na temperatura de incubação de 10°C. Nenhum modelo apresentou resultados satisfatórios em todas as temperaturas de incubação, nos diferentes meio de cultura.

Tabela 18 – Fator de Influência (FI) e fator de precisão (FP) para os modelos de crescimento de *L. monocytogenes*. Repetição 2.

		Logístico		Gompertz		Logístico Modificado	
		FI	FP	FI	FP	FI	FP
<b>Sem Inibidores</b>	<b>10°C</b>	1.338	1.974	0.781	2.376	0.621	2.332
	<b>15°C</b>	0.914	2.602	0.888	2.050	0.914	2.602
	<b>37°C</b>	0.951	1.456	0.931	1.797	0.951	1.456
<b>Com Inibidores (A)</b>	<b>10°C</b>	1.574	4.832	0.962	7.600	0.994	7.481
	<b>15°C</b>	1.043	1.952	1.355	3.854	1.041	1.950
	<b>37°C</b>	1.251	1.295	1.187	1.232	1.250	1.293
<b>Com Inibidores (B)</b>	<b>10°C</b>	1.259	3.059	1.698	2.115	1.106	2.262
	<b>15°C</b>	1.711	2.070	0.845	1.940	1.711	2.070
	<b>37°C</b>	1.000	1.836	0.999	1.694	1.000	1.836
<b>Com Inibidores (C)</b>	<b>10°C</b>	0.926	3.323	1.022	2.778	0.931	3.306
	<b>15°C</b>	1.389	1.622	0.713	2.050	1.397	1.627
	<b>37°C</b>	2.437	3.010	1.892	2.337	2.438	3.011
<b>Com Inibidores (D)</b>	<b>10°C</b>	2.771	8.928	1.664	6.510	2.773	8.874
	<b>15°C</b>	1.630	2.744	1.032	3.402	1.631	2.743
	<b>37°C</b>	1.450	1.577	1.326	1.414	1.361	1.507
<b>Com Inibidores (E)</b>	<b>10°C</b>	5.994	18.996	3.806	9.765	5.979	18.975
	<b>15°C</b>	1.027	1.747	0.967	2.610	1.028	1.748
	<b>37°C</b>	1.035	1.078	1.014	1.089	1.035	1.078
<b>Com Inibidores (F)</b>	<b>10°C</b>	1.547	2.362	0.845	1.591	1.551	2.362
	<b>15°C</b>	0.927	3.077	0.571	3.249	0.935	3.058
	<b>37°C</b>	2.065	2.258	2.116	2.660	2.058	2.257
<b>Com Inibidores (G)</b>	<b>10°C</b>	0.976	2.226	0.936	2.026	0.976	2.226
	<b>15°C</b>	1.201	1.820	0.761	2.455	1.200	1.820
	<b>37°C</b>	1.267	1.431	1.219	1.430	1.267	1.431
<b>Com Inibidores (H)</b>	<b>10°C</b>	2.383	4.832	1.374	2.505	2.375	4.840
	<b>15°C</b>	1.391	2.058	0.567	3.133	1.392	2.056
	<b>37°C</b>	1.200	1.215	1.169	1.186	1.200	1.215

A = meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; B = meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; C = meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; D = meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; E = meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; F = meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; G = meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; H = meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>.

No geral, o modelo de Gompertz apresentou FI e FP mais próximos de 1, na segunda repetição (Tabela 18).



Tabela 19 – Fator Influência (FI) e fator de precisão (FP) para os modelos de crescimento de *L. monocytogenes*. Repetição 3.

		Logístico		Gompertz		Logístico Modificado	
		FI	FP	FI	FP	FI	FP
<b>Sem Inibidores</b>	<b>10°C</b>	1.283	1.812	1.192	1.613	1.285	1.811
	<b>15°C</b>	0.915	1.940	1.394	3.959	0.915	1.940
	<b>37°C</b>	1.190	1.377	1.320	1.464	1.191	1.377
<b>Com Inibidores (A)</b>	<b>10°C</b>	1.324	3.832	1.077	2.304	1.326	3.841
	<b>15°C</b>	2.093	6.477	2.234	6.771	2.091	6.478
	<b>37°C</b>	0.973	1.168	0.980	1.147	0.974	1.167
<b>Com Inibidores (B)</b>	<b>10°C</b>	1.789	12.331	0.577	8.981	2.244	16.864
	<b>15°C</b>	0.991	5.241	0.952	3.807	0.992	5.243
	<b>37°C</b>	2.576	3.038	1.811	2.094	2.576	3.038
<b>Com Inibidores (C)</b>	<b>10°C</b>	0.883	6.397	0.649	8.146	0.883	6.397
	<b>15°C</b>	0.794	2.668	0.711	2.346	0.794	2.668
	<b>37°C</b>	1.335	1.452	0.928	1.820	1.490	1.661
<b>Com Inibidores (D)</b>	<b>10°C</b>	4.029	23.518	4.935	50.232	4.021	23.497
	<b>15°C</b>	0.941	2.956	1.661	5.642	1.498	4.708
	<b>37°C</b>	0.903	1.150	0.905	1.144	0.902	1.159
<b>Com Inibidores (E)</b>	<b>10°C</b>	0.817	3.238	0.900	6.518	0.816	3.238
	<b>15°C</b>	1.564	6.912	2.494	9.612	1.563	6.907
	<b>37°C</b>	1.607	2.041	1.530	1.966	1.656	2.073
<b>Com Inibidores (F)</b>	<b>10°C</b>	0.637	2.212	0.719	2.081	0.597	2.354
	<b>15°C</b>	1.369	4.801	3.024	7.234	1.373	4.810
	<b>37°C</b>	1.547	1.668	1.295	1.415	1.783	1.948
<b>Com Inibidores (G)</b>	<b>10°C</b>	1.087	2.259	1.132	2.082	1.086	2.260
	<b>15°C</b>	0.896	3.857	0.822	3.213	0.893	3.852
	<b>37°C</b>	1.460	1.746	1.423	1.662	1.467	1.757
<b>Com Inibidores (H)</b>	<b>10°C</b>	0.841	2.530	0.936	2.278	0.843	2.526
	<b>15°C</b>	1.245	4.351	1.443	4.114	1.245	4.351
	<b>37°C</b>	2.256	2.415	1.762	1.845	2.614	2.736

A = meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; B = meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; C = meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; D = meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; E = meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; F = meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; G = meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; H = meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>.

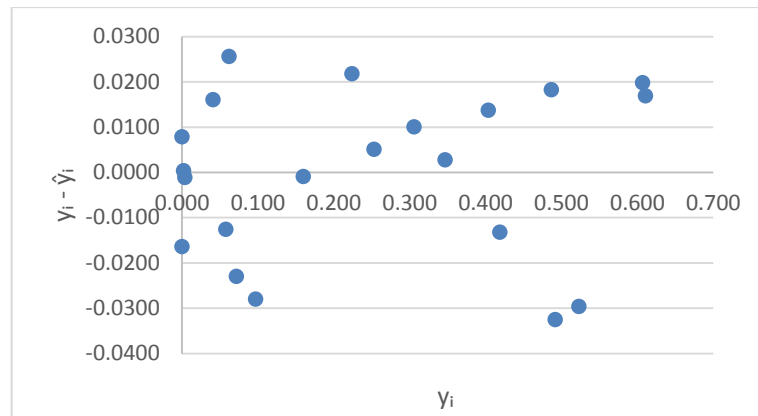
Para Mellefont, McMeekin, e Ross (2003); Lianou et al. (2017), quando o FI avalia o desempenho de modelos envolvendo microrganismos patogênicos, valores na faixa de 0,90 a 1,05 e na faixa de 0,70 a 0,90 ou 1,06 a 1,15 podem ainda serem considerados bons e aceitáveis, respectivamente, e valores menores que 0,70 ou maiores que 1,15 devem ser considerados inaceitáveis. De maneira geral, o modelo de Gompertz apresentou valores de FI e FP mais próximos de 1, na terceira repetição (Tabela 19), indicando um melhor ajuste em relação aos outros modelos preditivos.

### 5.3.2 ANÁLISE DE DESEMPENHO USANDO ANÁLISE DE RESÍDUO

Outra análise de desempenho dos três modelos de crescimento foi feita pela análise do resíduo. De acordo com Ellis e Duggleby (1978), a forma apresentada no gráfico de resíduos indica quando os dados são ajustados a uma equação errada. Sendo o resíduo calculado pela subtração do valor observado pelo valor predito ( $y_i - \hat{y}_i$ ).

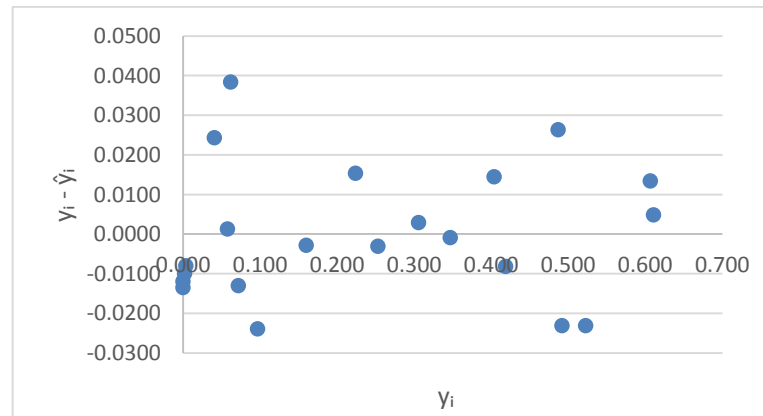
Os meios de cultura sem inibidores incubados a 10°C e 15°C apresentaram um bom ajuste nas três repetições e nos três modelos, já que os valores de resíduo apresentaram boa distribuição em torno dos valores de absorvância lidos. Já os meios de cultura sem inibidores incubados a 37°C apresentaram bons ajustes em 2 repetições. Exemplos de bons ajustes são apresentados nos Gráficos 1, 2, e 3.

Gráfico 1 – Resíduo do experimento realizado a 15°C para o modelo Logístico, na terceira repetição.



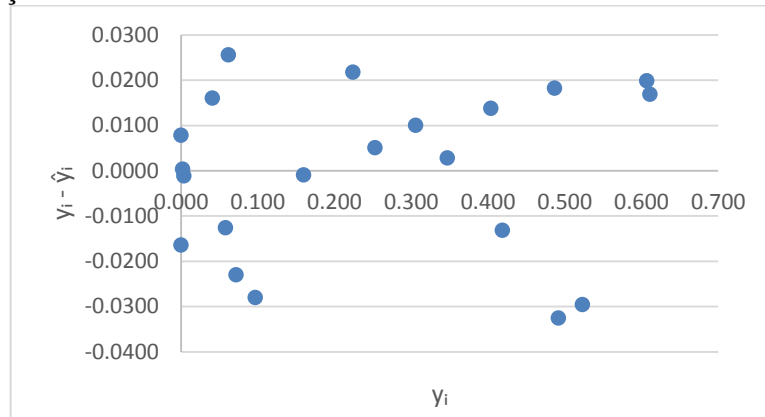
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 2 – Resíduo do experimento realizado a 15°C para o modelo de Gompertz, na terceira repetição.



$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

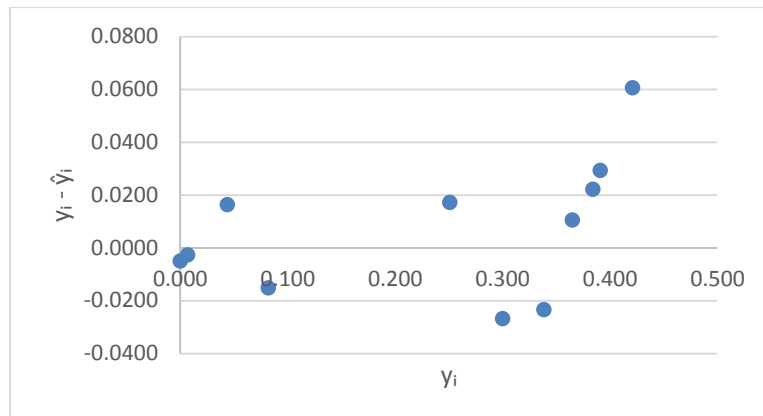
Gráfico 3 – Resíduo do experimento realizado a 15°C para o modelo Logístico Modificado, na terceira repetição.



$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

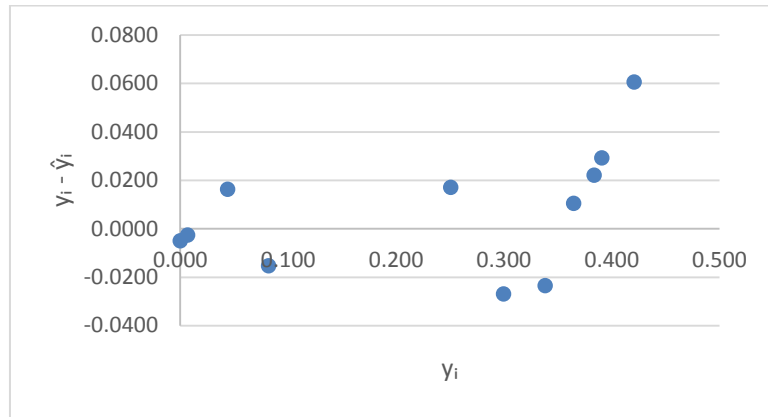
Em uma das repetições usando meio de cultura sem inibidores incubados a 37°C, o gráfico de resíduos não obteve um bom ajuste, já que os valores de resíduo não apresentaram boa distribuição em torno dos valores de absorvância lidos. Observando os Gráficos 4, 5, e 6, percebe-se que a distribuição dos valores de resíduos passa a não ter uma boa distribuição a partir da leitura de absorvância de 0,300, o que sugere que o modelo não se ajusta bem quando a população bacteriana aumenta muito.

Gráfico 4 – Resíduo do experimento realizado a 37°C para o modelo Logístico, na segunda repetição.



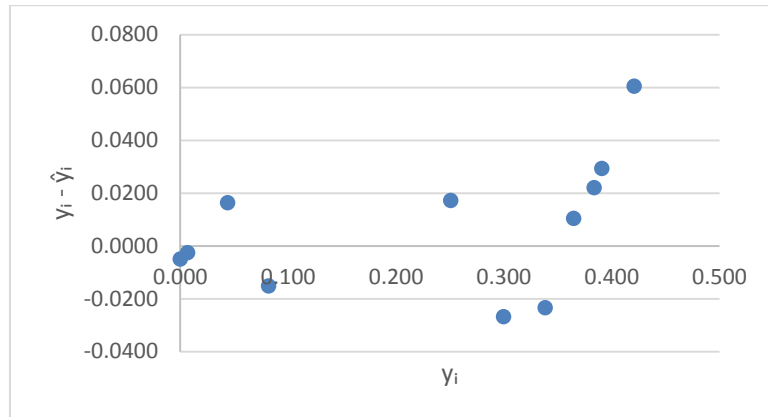
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 5 – Resíduo do experimento realizado a 37°C para o modelo Gompertz, na segunda repetição.



$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

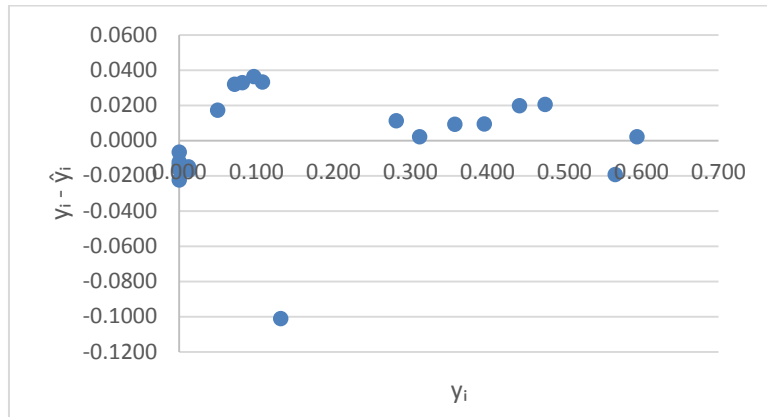
Gráfico 6 – Resíduo do experimento realizado a 37°C para o modelo Logístico Modificado, na segunda repetição.



$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Os meios de cultura com presença de inibidores na temperatura de incubação de 15°C apresentaram um bom ajuste nas 3 repetições e nos 3 modelos. Na temperatura de 37°C não se obteve um bom ajuste nos meios de cultura F, G e H na primeira repetição; A, E, F, G e H, na segunda repetição; F e H, na terceira repetição. Na temperatura de 10°C, também não houve um bom ajuste, sendo que em alguns casos foram apresentados mais valores no eixo positivo, como mostra o Gráfico 7. Somente os meios de cultura B (primeira repetição); F (segunda repetição); C, D, e E (terceira repetição) tiveram um bom ajuste na temperatura de 10°C.

Gráfico 7 – Resíduo do experimento realizado a 10°C para o modelo Logístico Modificado, na segunda repetição.



$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Ao observar os gráficos de resíduos, pôde-se perceber que quase não houve variação entre os gráficos dos 3 modelos preditivos. Comparando minuciosamente tais gráficos, foi visto que apresentaram melhor ajuste: modelo Logístico modificado para a temperatura de 10°C com meio de cultura sem presença de inibidores; modelos Logístico e Logístico modificado para a temperatura de 15°C com meio de cultura sem presença de inibidores; modelo Logístico modificado para a temperatura de 10°C com meio de cultura com presença de inibidores; modelo de Gompertz para a temperatura de 15°C com meio de cultura com presença de inibidores. Na temperatura de incubação de 37°C não foi possível verificar diferença entre os 3 modelos.

Averiguando todos os gráficos de resíduos, de um modo geral, o modelo Logístico Modificado apresentou melhor ajuste.

## 6 CONCLUSÕES

Gompertz foi o modelo que apresentou melhor ajuste pelos valores de Fatores de Influência (FI) e Fatores de Precisão (FP) mais próximos de 1 e menores valores da taxa de crescimento específico ( $\mu_{\max}$ ). Porém obteve maiores inconstâncias nos valores de  $\mu_{\max}$  e da taxa de crescimento relativo (B).

O modelo Logístico Modificado foi mais bem ajustado pelos gráficos de resíduos e apresentou maiores valores de fase de adaptação ( $\lambda$ ). Por isso foi o escolhido como melhor modelo preditivo para descrever o crescimento de *Listeria monocytogenes*.

No modelo escolhido: modelo Logístico Modificado, a fase de adaptação ( $\lambda$ ) diminuiu conforme a temperatura de incubação aumentava e  $\mu_{\max}$  e B aumentaram com o aumento da temperatura de incubação na maioria dos meios de cultura estudados, o que indica ser um bom modelo na descrição do crescimento da bactéria estudada.

Pelas comparações feitas entre os meios de cultura estudados, conclui-se que aumentando o teor de sal do meio para 2,0, o teor de nitrito de sódio poderia ser diminuído pela metade e ainda obter um menor crescimento de *L. monocytogenes*. Sendo assim, as indústrias poderiam minimizar o uso destes conservantes que podem causar mal à saúde do consumidor. O uso de um menor, pH = 5,5, também poderia colaborar para esse menor crescimento uma vez que a fase de adaptação se torna maior nessa condição.

Sugestões de estudo futuro são a realização deste experimento em salsichas com as formulações especificadas nos meios A a H e o teste dos modelos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDOLGHAFOUR, B; SAGHIR, A. **Development in sausage production and practices – A review.** Journal Of Meat Science And Technology. Departemnt of Post Harvest Engineering and Technology, Faculty of Agricultural Science, Aligarh Muslim University, Aigarh , India. 2014. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/publication/266375147\\_Development\\_in\\_sausage\\_production\\_and\\_practices-A\\_review](https://www.researchgate.net/publication/266375147_Development_in_sausage_production_and_practices-A_review)>. Acesso em 20 abr. 2016.

ADZITEY, F; HUDA, N. **Listeria monocytogenes in foods: Incidences and possible control measures.** African Journal of Microbiology Research Vol. 4(25), p. 2848-2855. 2010. Disponível em: <<http://www.academicjournals.org/journal/AJMR/article-full-text-pdf/7A1422817340>>. Acesso em 05 jun. 2017.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a47bab8047458b909541d53fbc4c6735/RDC\\_12\\_2001.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a47bab8047458b909541d53fbc4c6735/RDC_12_2001.pdf?MOD=AJPERES)>. Acesso em 18 abr. 2016.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução RDC Nº 216, de 15 de setembro de 2004. Aprova o Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/388704/RESOLU%25C3%2587%25C3%2583O-RDC%2BN%2B216%2BDE%2B15%2BDE%2BSETEMBRO%2BDE%2B2004.pdf/23701496-925d-4d4d-99aa-9d479b316c4b>>. Acesso em 07 mar. 2018.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução RDC Nº 218, de 29 de julho de 2005. Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos Higiênico-Sanitários para Manipulação de Alimentos e Bebidas Preparados com Vegetais. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/388704/RDC\\_218.pdf/6c20c864-b7b1-46e8-8380-e035f9f5d62c](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/388704/RDC_218.pdf/6c20c864-b7b1-46e8-8380-e035f9f5d62c)>. Acesso em 07 mar. 2018.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). RDC Nº 43, de 1 de setembro de 2015. Disponível em: <<https://natal.rn.gov.br/sms/covisa/nucleos/alimentos/RDC%2043%20-%20Regulamenta%20a%20%20presta%C3%A7%C3%A3o%20de%20servi%C3%A7os%20de%20alimenta%C3%A7%C3%A3o%20em%20eventos%20de%20massa.PDF>>. Acesso em 07 mar. 2018.

ALAHAKOON, A. U.; JAYASENA, D. D.; RAMACHANDRA, S.; JO, C. **Alternatives to nitrite in processed meat: Up to date.** Trends in Food Science and Technology, 2015.

Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224415001429?via%3Dihub>>.

Acesso em 25 jan. 2018.

ALLEN, K. J.; WALECKA-ZACHARSKA, E.; CHEN, J. C.; KOSEKPASZKOWSKA, K.; DEVLIEGHIERE, F.; MEERVENNE, E. V.; OSEK, J.; WIECZOREK, K.; BANIA, J. ***Listeria monocytogenes*** - An examination of food chain factors potentially contributing to antimicrobial resistance. *Food Microbiology* 54 (2016) 178 e 189.

ANDERSSON, C. **Regulatory pathways and virulence inhibition in *Listeria monocytogenes***. Department of Molecular Biology, Umeå, 2016. Disponível em: <<http://umu.diva-portal.org/smash/get/diva2:893603/FULLTEXT01.pdf>>. Acesso em: 05 jun. 2017.

ANDRADE, R. R.; SILVA, P. H. C.; SOUZA, N. R.; MURATA, L. S.; GONÇALVES, V. S. P.; SANTANA, A. P. **Ocorrência e diferenciação de espécies de *Listeria* spp. em salsichas tipo hot dog a granel e em amostras de carne moída bovina comercializadas no Distrito Federal**. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.44, n.1, p.147-152, 2014. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v44n1/a2714cr2012-0308.pdf>>. Acesso em: 01 jun. 2017.

ASIOLI, D.; ASCHEMANN-WITZEL, J.; CAPUTO, V.; VECCHIO, R.; ANNUNZIATA, A.; NÆS, T.; VARELA, P. **Making sense of the “clean label” trends: A review of consumer food choice behavior and discussion of industry implications**. *Food Research International*, 99, 2017, 58–71. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996917303435?via%3Dihub>>. Acesso em: 24 jan. 2018.

BAKA, M.; NORIEGA, E.; TSAKALI, E.; VAN IMPE, J. F. M. **Influence of composition and processing of Frankfurter sausages on the growth dynamics of *Listeria monocytogenes* under vacuum**. *Food Research International* 70 (2015) 94–100.

BARANYI, J.; ROBERTS, T. A. **Mathematics of predictive food microbiology**. *Int. J. Food Microbiology* 26 (1995) 199-218.

BARANYI, J.; ROBERTS, T. A. **Predictive Microbiology - Quantitative Microbial Ecology Culture**. 2004. Disponível em: <[http://www.ifr.ac.uk/safety/comicro/Culture\\_25.pdf](http://www.ifr.ac.uk/safety/comicro/Culture_25.pdf)>. Acesso em 28 jun. 2017.

BATY, F.; DELIGNETTE-MULLER, M-L. **Estimating the bacterial lag time: which model, which precision?** *International Journal of Food Microbiology*, 91 (2004) 261 – 277. 2004. Disponível em:



<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016816050300429X>>. Acesso em 20 jun. 2017.

BOLZAN, M. E; SILVA, J. **Avaliação dos parâmetros físico-químicos e qualidade microbiológica de salsichas acondicionadas em diferentes embalagens.** 2012. Trabalho de Conclusão de Curso do Curso Superior de Tecnologia de Alimentos apresentado a Universidade Tecnológica Federal do Paraná - campus de Francisco Beltrão. 2012. Disponível em: <[repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/1161/1/FB\\_COALM\\_2012\\_1\\_07.pdf](http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/1161/1/FB_COALM_2012_1_07.pdf)>. Acesso em 03 maio 2017.

BONAZZI, M.; LECUIT, M.; COSSART, P. (2009). **Listeria monocytogenes internalin and ecadherin: From bench to bedside.** Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 1 (2009), a003087. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20066101>>. Acesso em 28 jan. 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 4, de 31 de março de 2000. Regulamento técnico de identidade e qualidade de salsicha. Disponível em: <[http://www.engetecno.com.br/port/legislacao/carnes\\_salsicha.htm](http://www.engetecno.com.br/port/legislacao/carnes_salsicha.htm)>. Acesso em 18 abr. 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 9, de 8 de abril de 2009. Procedimentos de controle da listeria monocytogenes em produtos de origem animal prontos para o consumo. Disponível em: <[http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-animais/controle-de-patogenos/arquivos-controle-de-patogenos/in\\_09-\\_de\\_8\\_de\\_abril\\_de\\_2009.pdf](http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-animais/controle-de-patogenos/arquivos-controle-de-patogenos/in_09-_de_8_de_abril_de_2009.pdf)>. Acesso em 06 jun. 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51, de 29 de dezembro de 2006. Regulamento Técnico de Atribuição de Aditivos, e seus Limites das seguintes Categorias de Alimentos 8: Carne e Produtos Cárneos. 2006. Disponível em: <<http://cexgan.magrama.es/MODULOS05/Documentos/IN51.pdf>>. Acesso em 20 abr. 2016.

BRIGIDO, B. M.; FREITAS, V. P. S.; MAZON, E. M. A.; PISANI, B.; PRANDI, M. A. G.; PASSOS, M. H. C. R. **Queijo minas frescal: avaliação da qualidade e conformidade com a legislação.** Rev. Inst. Adolfo Lutz, v. 63, n. 2, p. 177-185, 2004. Disponível em: <[ses.sp.bvs.br/lilddbi/docsonline/get.php?id=402](http://ses.sp.bvs.br/lilddbi/docsonline/get.php?id=402)>. Acesso em 03 maio 2017.

BRUNNER, T. A.; VAN DER HORST, K.; SIEGRIST, M. **Convenience food products. Drivers for consumption.** Appetite, 55 (2010), 498–506. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195666310004940?via%3Dihub>>. Acesso em: 24 Jan. 2018.

BUCHANAN, R. L.; GORRIS, L. G. M.; HAYMAN, M. M.; JACKSON, T. C.; WHITING, R. C. **A review of *Listeria monocytogenes*: An update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments.** Food Control, 75 (2017), 1–13. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713516306892?via%3Dihub>>. Acesso em: 25 jan. 2018.

BUCHANAN, R. L.; STAHL, H. G.; WHITING, R. C. **Effects and Interactions of Temperature, pH, Atmosphere, Sodium Chloride, and Sodium Nitrite on the Growth of *Listeria monocytogenes*.** Journal of Food Protection, 1989, Vol. 52, No. 12, pages 844-851. Disponível em: <<http://www.jfoodprotection.org/doi/pdf/10.4315/0362-028X-52.12.844>>. Acesso em: 12 mar. 2018.

CASTRO, J. G. **Análises microbiológicas de salsichas bovinas em embalagens a vácuo e a granel em supermercados de Foz do Iguaçu – Paraná, Brasil.** 2011. Trabalho de conclusão de curso do curso superior em Tecnologia em Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Medianeira, PR. 2011. Disponível em: <<http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/354>>. Acesso em 03 maio 2017.

CASTRO, M. M. M.V.; IARIA, S.T. ***Staphylococcus aureus* enterotoxigênico no vestíbulo nasal de manipuladores de alimentos em cozinhas de hospitais do município de João Pessoa, PB.** Revista de Saúde Pública, v. 18, p. 235-245, 1984. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-89101984000300005&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89101984000300005&lng=en)>. Acesso em 10 maio 2017.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). ***Listeria* Outbreaks.** 2017. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/index.html>>. Acesso em 06 jun. 2017.

CORRADINI, M.G.; PELEG, M. **Estimating non-isothermal bacterial growth in foods from isothermal experiments data.** Journal of Applied Microbiology, v. 99, p. 187-200, 2005. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2672.2005.02570.x/full>>. Acesso em 06 jun. 2017.

CRUZ, C.D.; MARTINEZ, M.B.; DESTRO, M.T. ***Listeria monocytogenes*: UM AGENTE INFECCIOSO AINDA POUCO CONHECIDO NO BRASIL.** Alim.Nutr., v. 19, n. 2, p. 195-206, 2008. Disponível em: <<http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/247/241>>. Acesso em 06 jun. 2017.

DANNENHAUER, C. E. **Desenvolvimento de um Aplicativo Computacional para Microbiologia Preditiva.** Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2010. Disponível em:

<<https://repositorio.ufsc.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/93671/279602.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em 03 maio 2017.

DE BOER, M.; MCCARTHY, M.; COWAN, C.; RYAN, I. **The influence of lifestyle characteristics and beliefs about convenience food on the demand for convenience foods in the Irish market.** *Food Quality and Preference*, 15 (2004), 155–165. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0950329303000545>>. Acesso em 24 jan. 2018.

D'OSTUNI, V.; TRISTEZZA, M.; DE GIORGI, M. G.; RAMPINO, P.; GRIECO, F.; PERROTTA, C. **Occurrence of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in meat processed products from industrial plants in Southern Italy.** *Food Control*, 62 (2016), 104–109. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713515302474?via%3Dihub>>. Acesso em: 25 jan. 2018.

DUARTE, M. T. **Avaliação do teor de nitrito de sódio em linguiças do tipo frescal e cozida comercializadas no estado do Rio de Janeiro, Brasil.** 2010, Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ. 2010. Disponível em: <[http://www.uff.br/higiene\\_veterinaria/teses/marjore.pdf](http://www.uff.br/higiene_veterinaria/teses/marjore.pdf)>. Acesso em: Acesso em 08 jun. 2017.

DUFFY, L.L.; VANDERLINDE, P.B.; GRAU, F.H. **Growth of *Listeria monocytogenes* on vacuum-packed cooked meats: effects of pH, aw, nitrite and ascorbate.** *International Journal of Food Microbiology* 23 (1994) 377-390. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0168160594901643>>. Acesso em 13 mar. 2018.

ELLIS, K, J. DUGGLEBY, R. G. **What happens when data are fitted to the wrong equation?** *Biochem. J.* (1978), vol. 171, 513-517.

FAKRUDDIN, M.; MAZUMDER, R. M.; MANNAN, K. S. B. **Predictive microbiology: Modeling microbial responses in food.** *Ceylon Journal of Science (Bio. Sci.)* 40 (2): 121-131, 2011. Disponível em: <<https://cjsbs.sljol.info/articles/abstract/10.4038/cjsbs.v40i2.3928/>>. Acesso em 29 jun. 2017.

FONTANA, L.; PARTRIDGE, L. **Promoting health and longevity through diet: From model organisms to humans.** *Cell*, 161, 2015, 106–118. Disponível em: <[http://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674\(15\)00186-5](http://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674(15)00186-5)>. Acesso em 24 jan. 2018.

FONTOURA, R. Instituto Oswaldo Cruz (IOC). **Estudo iniciado em 1969 traça panorama da listeriose no Brasil.** 2006. Disponível em: <[http://www.ioc.fiocruz.br/pages/informerede/corpo/noticia/2006/marco/20\\_03\\_06\\_01.htm](http://www.ioc.fiocruz.br/pages/informerede/corpo/noticia/2006/marco/20_03_06_01.htm)>. Acesso em 06 jun. 2017.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS/ WORLD HEALTH ORGANIZATION (FAO/WHO). **Assuring food safety and quality: Guidelines for strengthening national food control systems.** Rome, Italy. 2003. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/a-y8705e.pdf>>. Acesso em 01 abr. 2016.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). **Bad bug book, foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins.** 2.ed. Silver Spring: U.S. Food and Drug Administration. 2012. p.99-103. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/CausesOfIllnessBadBugBook/>>. Acesso em 25 maio 2017.

FRANCO, B. D. G. M; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos.** São Paulo: Atheneu, 1996. 182 p.

GIBSON, A. M.; BRATCHELL, N.; ROBERTS, T, A. **The effect of sodium chloride and temperature on the rate and extent of growth of Clostridium botulinum type A in pasteurized pork slurry.** Journal of Applied Microbiology. 1987, 62 (6), 479-490. Disponível em: <<http://www.sbrt.ibict.br/dossie-tecnico/downloadsDT/MzA=>>>. Acesso em 20 maio 2017.

GUILLIER, L. **Predictive microbiology models and operational readiness.** Procedia Food Science 7 ( 2016 ) 133 – 136.

JIMENEZ-COLMENERO, F.; SALCEDO-SANDOVAL, L.; BOU, R.; COFRADES, S.; HERRERO, A. M.; RUIZ-CAPILLAS, C. **Novel applications of oil-structuring methods as a strategy to improve the fat content of meat products.** Trends in Food Science and Technology, 2015, 44 (2), 177–188. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224415001181>>. Acesso em: 07 mar. 2018.

HASHEM, K. M.; HE, F. J.; MACGREGOR, G. A. **Systematic review of the literature on the effectiveness of product reformulation measures to reduce the sugar content of food and drink on the population's sugar consumption and health: A study protocol.** BMJ Open, 1–5. 2016. Disponível em: <<http://bmjopen.bmj.com/content/6/6/e011052>>. Acesso em: 24 jan. 2018.

HORITA, C. N.; BAPTISTA, R. C.; CATURLA, M. Y. R.; LORENZO, J. M.; BARBA, F. J.; SANT'ANA, A. S. **Combining reformulation, active packaging and non-thermal post-packaging decontamination technologies to increase the microbiological quality and safety of cooked ready-to-eat meat products.** Trends in Food Science & Technology 72 (2018) 45–61.

IARIA, S.T; FURLANETTO, S. M. P.; CAMPOS, M. L. C. **Pesquisa de *Staphylococcus aureus* enterotoxigênico nas fossas nasais de manipuladores de alimentos em hospitais, São Paulo, 1976.** Revista de Saúde Pública, v. 14, p. 93-100, 1980. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-89101980000100008&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89101980000100008&lng=en)>. Acesso em 10 maio 2017.

JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. **Modern Food Microbiology.** 7. ed. New York: Springer, 2005. 790 p.

KOUTSOUMANIS, K. P.; LIANOU, A.; GOUGOULI, M. **Latest developments in foodborne pathogens modeling.** Food Science 2016, 8:89–98.

KRAMARENKO, T.; ROASTO, M.; KETO-TIMONEN, R.; MÄESAAR, M.; MEREMÄE, K.; KUNINGAS, M.; HÖRMAN, A.; KORKEALA, H. **Listeria monocytogenes in ready-to-eat vacuum and modified atmosphere packaged meat and fish products of Estonian origin at retail level.** Food Control, 67 (2016), 48–52. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713516300809?via%3Dihub>>. Acesso em: 25 jan. 2018.

LEE, Y.J.; JUNG, B. S.; YOON, H. J.; KIM, K-T.; PAIK, H-D.; LEE, J-Y. **Predictive model for the growth kinetics of *Listeria monocytogenes* in raw pork meat as a function of temperature.** Food Control 44 (2014) 16-21.

LIANOU, A.; MOSCHONAS, G.; NYCHAS, G-J. E.; PANAGOU, E. Z. **Growth of *Listeria monocytogenes* in pasteurized vanilla cream pudding as affected by storage temperature and the presence of cinnamon extract.** Food Research International (2017). Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.027>>. Acesso em: 28 jan. 2018.

MANTILLA, S. P. S.; FRANCO, R. M.; OLIVEIRA, L. A. T.; SANTOS, E. B.; GOUVÊA, R. **Importância da *Listeria monocytogenes* em alimentos de origem animal.** Revista da FZVA. Uruguaiana, v.14, n.1, p. 180-192. 2007. Disponível em: <<http://revistaseletronicas.pucrs.br/ojs/index.php/fzva/article/view/2487/1946>>. Acesso em 13 mar. 2018.

MARTINS, L. L. **Avaliação do perfil bacteriológico de salsichas tipo “hot dog” tradicional e de frango comercializadas nos municípios do Rio de Janeiro e Niterói – RJ com determinação de atividade de água e pH.** 2006. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, 2006. Disponível em: <[www.uff.br/higiene\\_veterinaria/teses/lucimar\\_martins\\_mestrado.pdf](http://www.uff.br/higiene_veterinaria/teses/lucimar_martins_mestrado.pdf)>. Acesso em 03 maio 2017.

MARTINS, L. L.; SANTOS, I. F.; FRANCO, R. M.; OLIVEIRA, L. A. T.; BEZZ, J. **Avaliação do perfil bacteriológico de salsichas tipo "hot dog" comercializadas em embalagens a vácuo e a granel em supermercados dos municípios Rio de Janeiro e Niterói, RJ/Brasil.** Rev. Inst. Adolfo Lutz (Impr.) v.67 n.3 São Paulo dez. 2008. Disponível em: <[http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0073-98552008000300009&lng=pt](http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0073-98552008000300009&lng=pt)>. Acesso em 11 maio 2017.

MYERS, K.; MONTOYA, D.; CANNON, J.; DICKSON, J.; SEBRANEK, J. **The effect of high hydrostatic pressure, sodium nitrite and salt concentration on the growth of *Listeria monocytogenes* on RTE ham and turkey.** Meat Science 93 (2013) 263–268. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0309174012003142>>. Acesso em: 13 mar. 2018.

MCCLURE, P.J.; KELLY, T.M.; ROBERTS, T.A. **The effects of temperature, pH, sodium chloride and sodium nitrite on the growth of *Listeria monocytogenes*.** International Journal of Food Microbiology, 14 (1991) 77-92. Disponível em: <<https://sci-hub.tw/https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/016816059190039R>>. Acesso em 08 mar. 2018.

MCDONALD, K; SUN, D-W. **Predictive food microbiology for the meat industry: a review.** International Journal of Food Microbiology 52 (1999) 1–27.

MELLEFONT, L. A.; MCMEEKIN, T. A.; ROSS, T. **Performance evaluation of a model describing the effects of temperature, water activity, pH and lactic acid concentration on the growth of *Escherichia coli*.** International Journal of Food Microbiology, 82 (2003), 45–58. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12505459>>. Acesso em: 29 jan. 2018.

MENDONÇA, K. S.; MICHAEL, G. B.; LAER, A. E. V.; MENEZES, D. B.; CARDOSO, M. R; I.; SILVA, W. P. **Genetic relatedness among *Listeria monocytogenes* isolated in foods and food production chain in southern Rio Grande do Sul, Brazil.** Food Control, 28, p. 171e177, 2012. Disponível em: <[http://ac.els-cdn.com/S0956713512001764/1-s2.0-S0956713512001764-main.pdf?\\_tid=5dd52a56-4596-11e7-a790-00000aacb35d&acdnat=1496189958\\_3100350c8b911db773bc1804eda01980](http://ac.els-cdn.com/S0956713512001764/1-s2.0-S0956713512001764-main.pdf?_tid=5dd52a56-4596-11e7-a790-00000aacb35d&acdnat=1496189958_3100350c8b911db773bc1804eda01980)>. Acesso em: 30 maio 2017.

MESQUITA, M, O.; DANIEL, A. P.; SACCOL, A. L. F.; MILANI, L. I. G.; FRIES, L. L. **M. Qualidade microbiológica no processamento do frango assado em unidade de alimentação e nutrição.** Ciênc. Tecnol. Aliment. vol.26 no.1 Campinas Jan./Mar. 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v26n1/28870.pdf>>. Acesso em 11 maio 2017.

MORAIS, M. F. **Inibição de *Listeria monocytogenes* em salsicha por *Leuconostoc mesenteroides* isolada de grãos de kefir.** Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015. Disponível em: <[http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/BUBD-AC3HAT/disserta\\_\\_o\\_murielle\\_ferreira\\_de\\_morais.pdf?sequence=1](http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/BUBD-AC3HAT/disserta__o_murielle_ferreira_de_morais.pdf?sequence=1)>. Acesso em 16 maio 2017.

NETO, A. C.; SILVA, C. G. M.; STAMFORD, T. L. M. ***Staphylococcus enterotoxigênico* em alimentos in natura e processados no estado de Pernambuco, Brasil.** Cienc. Tecnol. Aliment., Campinas, v. 22, n. 3, p. 263-271, set./dez. 2002. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612002000300012](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612002000300012)>. Acesso em 10 maio 2017.

NEW ZEALAND FOOD SAFETY AUTHORITY (NZFSA). **A Guide to Calculating the Shelf Life of Foods:** Information Booklet for the Food Industry. Wellington, New Zealand. 2005. Disponível em: <<https://www.forma-te.com/mediateca/finish/64-higiene-e-seguranca-alimentar-haccp/25417-a-guide-to-calculating-the-shelf-life-of-foods>>. Acesso em 10 ago. 2016.

OHLHORST, S. D.; RUSSELL, R.; BIER, D.; KLURFELD, D. M.; LI, Z.; MEIN, J. R.; MILNER, J.; ROSS, A. C.; STOVER, P.; KONOPKA, E. **Nutrition research to affect food and a healthy life span.** The American Journal for Clinical Nutrition, 98(2), 2013, 579-584. Disponível em: <<http://advances.nutrition.org/content/4/5/579.full>>. Acesso em 24 jan. 2018.

OKPO, E.; LEITH, J.; SMITH-PALMER, A.; BELL, J.; PARKS, D.; BROWNING, F.; BYERS, L.; CORRIGAN, H.; WEBSTER, D.; KARCHER, A. M.; MURRAY, A.; STOREY, T. **An outbreak of an unusual strain of *Listeria monocytogenes* infection in North-East Scotland.** Journal of Infection and Public Health, 8 (2015), 612–618. Disponível em: <[http://www.jiph.org/article/S1876-0341\(15\)00106-9/pdf](http://www.jiph.org/article/S1876-0341(15)00106-9/pdf)>. Acesso em: 25 jan. 2018.

PEREIRA, M.L. GASTELOIS, M.C.A.; BASTOS, E.M.A.F.; CAIAFFA, W.T.; FALEIRO, E.S.C. **Enumeração de coliformes fecais e presença de *Salmonella* sp. em queijo Minas.** Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. vol.51 no.5. Belo Horizonte, MG. 1999. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-09351999000500005](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09351999000500005)>. Acesso em 03 maio 2017.

PERNI, S.; ANDREW, P. W.; SHAMA, G. **Estimating the maximum growth rate from microbial growth curves: definition is everything.** Food Microbiology 22 (2005) 491–495.

PETRACCI, M.; BIANCHI, M.; MUDALAL, S.; CAVANI, C. **Functional ingredients for poultry meat products.** Trends in Food Science and Technology, 33 (2013), 27–39. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224413001179?via%3Dihub>>. Acesso em 25 jan. 2018.

RODRIGUES, C, S.; SÁ, C. V. G. C.; MELO, C. B. **An overview of *Listeria monocytogenes* contamination in ready to eat meat, dairy and fishery foods.** *Ciência Rural*, v.47, n. 2, Santa Maria, 2017. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v47n2/1678-4596-cr-47-02-20160721.pdf>>. Acesso em 25 maio 2017.

ROSS, T. **Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology.** *Journal of Applied Bacteriology* 1996, 81, 501-508. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2672.1996.tb03539.x/abstract>>. Acesso em 04 nov. 2017.

SOUSA, C. P. **Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos:** utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos. *Revista APS*, v.9, n.1, p. 83-88, jan./jun. 2006. Disponível em: <<http://www.ufjf.br/nates/files/2009/12/Seguranca.pdf>>. Acesso em 04 maio 2017.

TILNEY, L. G.; PORTNOY, D. A. **Actin filaments and the growth, movement, and spread of the intracellular bacterial parasite, *Listeria monocytogenes*.** *The Journal of Cell Biology*, Volume 109, 1989. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2115783/pdf/jc10941597.pdf>>. Acesso em 06 jun. 2017.

TIGRE, D. M., BORELLY, M. A. N. **Pesquisa de Estafilococos coagulase-positiva em amostras de "queijo coalho" comercializadas por ambulantes na praia de Itapuã (SALVADOR-BA).** *Rev. Ci. med. biol.*, Salvador, v.10, n.2, p.162-166, mai./ago. 2011. Disponível em: <<https://portalseer.ufba.br/index.php/cmbio/article/viewFile/4593/4170>>. Acesso em 04 maio 2017.

TIWARI, U.; WALSH, D.; RIVAS, L.; JORDAN, K.; DUFFY, G. **Modelling the interaction of storage temperature, pH, and water activity on the growth behaviour of *Listeria monocytogenes* in raw and pasteurised semi-soft rind washed milk cheese during storage following ripening.** *Food Control* 42 (2014) 248 e 256.

YANG, S.; PEI, X.; WANG, G.; YAN, L.; HU, J.; LI, Y.; LI, N.; YANG, D. **Prevalence of foodborne pathogens in ready-to-eat meat products in seven different Chinese regions.** *Food Control*, 65 (2016) 92–98. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095671351630010X?via%3Dihub>>. Acesso em: 25 jan. 2018.



ZWIETERING, M. H.; DEN BESTEN, H. M. W. **Modelling:** One word for many activities and uses. *Food Microbiology* 28 (2011) 818-822. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002010000894?via%3Dihub>>. Acesso em: 24 Jan. 2018.

## APÊNDICE A - Absorvâncias lidas em leitor de placas de microtitulação das amostras

Tabela 20 – Valores da leitura de absorvância do crescimento de *Listeria monocytogenes*, sem inibidores à temperatura de a 10 °C.

t	ABS		
	1 Rep	2 Rep	3 Rep
0	0,000	0,000	0,000
62	0,002	0,000	0,000
64	0,000	0,000	0,000
66	0,002	0,035	0,015
68	0,004	0,014	0,026
70	0,000	0,000	0,000
72	0,055	0,050	0,033
74	0,076	0,075	0,072
76	0,024	0,106	0,091
78	0,061	0,106	0,108
80	0,157	0,187	0,150
82	0,180	0,134	0,165
86	0,261	0,044	0,063
88	0,200	0,111	0,020
90	0,177	0,085	0,028
92	0,167	0,085	0,057
94	0,291	0,120	0,125
96	0,324	0,298	0,283
98	0,375	0,412	0,379
100	0,442	0,456	0,414
102	0,549	0,505	0,449
104	0,609	0,503	0,487
106	0,657	0,551	0,521

t = tempo; Rep = repetição.

Tabela 21 – Valores da leitura de absorvância do crescimento de *Listeria monocytogenes*, sem inibidores à temperatura de a 15 °C.

t	ABS		
	1 Rep	2 Rep	3 Rep
0	0,000	0,000	0,000
24	0,000	0,059	0,002
26	0,006	0,057	0,004
30	0,000	0,039	0,000
32	0,018	0,089	0,041
34	0,035	0,030	0,062
38	0,049	0,053	0,058
40	0,064	0,062	0,072
42	0,096	0,093	0,097
44	0,142	0,151	0,160
46	0,207	0,201	0,224
48	0,232	0,208	0,253
50	0,290	0,300	0,306
52	0,331	0,342	0,347
54	0,391	0,351	0,404
56	0,435	0,356	0,419
58	0,476	0,465	0,487
62	0,501	0,515	0,492
65	0,528	0,541	0,523
72	0,581	0,544	0,607
75	0,578	0,550	0,611

t = tempo; Rep = repetição.

Tabela 22 – Valores da leitura de absorvância do crescimento de *Listeria monocytogenes*, sem inibidores à temperatura de a 37 °C.

t	ABS		
	1 Rep	2 Rep	3 Rep
0	0,002	0,000	0,001
6	0,008	0,007	0,047
8	0,058	0,044	0,106
10	0,160	0,082	0,201
12	0,252	0,251	0,240
14	0,320	0,300	0,340
16	0,356	0,365	0,372
18	0,404	0,421	0,397
20	0,388	0,391	0,380
22	0,405	0,384	0,390
24	0,441	0,339	0,476
26	0,546	0,281	0,615
28	0,548	0,309	0,621
30	0,534	0,312	0,636
32	0,523	0,318	0,586
34	0,523	0,366	0,596
37	0,425	0,371	0,417
39	0,498	0,456	0,486
46	0,449	0,425	0,429
48	0,490	0,338	0,546

t = tempo; Rep = repetição.

Tabela 23 – Valores da leitura de absorvância do crescimento de *Listeria monocytogenes*, com inibidores à temperatura de a 10 °C.

t	ABS																								
	A			B			C			D			E			F			G			H			
	1 Rep	2 Rep	3 Rep	1 Rep	2 Rep	3 Rep	1 Rep	2 Rep	3 Rep	1 Rep	2 Rep	3 Rep	1 Rep	2 Rep	3 Rep	1 Rep	2 Rep	3 Rep	1 Rep	2 Rep	3 Rep	1 Rep	2 Rep	3 Rep	
0	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
62	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,017	0,003	0,003	0,000	0,000	0,002	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000
64	0,000	0,000	0,001	0,001	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,004	0,000	0,002	0,002	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000
66	0,000	0,051	0,000	0,001	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,004	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,012	0,000	0,001	0,000
68	0,000	0,001	0,000	0,000	0,017	0,007	0,000	0,014	0,000	0,014	0,008	0,003	0,000	0,002	0,014	0,000	0,023	0,000	0,000	0,044	0,000	0,000	0,002	0,000	0,000
70	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
72	0,000	0,087	0,000	0,004	0,001	0,010	0,000	0,012	0,001	0,000	0,001	0,008	0,000	0,020	0,000	0,000	0,052	0,000	0,001	0,060	0,000	0,001	0,037	0,000	0,000
73	0,023	0,000	0,007	0,000	0,000	0,000	0,000	0,013	0,000	0,000	0,011	0,017	0,000	0,001	0,000	0,019	0,039	0,045	0,034	0,013	0,007	0,015	0,001	0,013	0,000
74	0,060	0,032	0,037	0,003	0,000	0,000	0,026	0,050	0,022	0,025	0,048	0,049	0,034	0,036	0,014	0,048	0,082	0,071	0,056	0,052	0,037	0,052	0,041	0,053	0,000
76	0,066	0,054	0,053	0,003	0,000	0,001	0,017	0,072	0,035	0,032	0,071	0,065	0,016	0,059	0,025	0,056	0,107	0,089	0,046	0,079	0,055	0,043	0,062	0,071	0,000
78	0,081	0,066	0,059	0,003	0,000	0,000	0,021	0,082	0,037	0,046	0,082	0,068	0,037	0,058	0,024	0,071	0,127	0,093	0,067	0,098	0,063	0,062	0,077	0,075	0,000
80	0,106	0,079	0,071	0,010	0,000	0,005	0,031	0,097	0,041	0,067	0,103	0,080	0,042	0,078	0,027	0,123	0,139	0,111	0,082	0,107	0,132	0,066	0,102	0,096	0,000
82	0,130	0,180	0,098	0,025	0,000	0,010	0,051	0,108	0,057	0,083	0,118	0,107	0,078	0,092	0,047	0,155	0,183	0,148	0,115	0,159	0,113	0,097	0,158	0,141	0,000
86	0,039	0,085	0,039	0,088	0,032	0,100	0,032	0,038	0,044	0,048	0,041	0,083	0,033	0,039	0,050	0,020	0,039	0,015	0,068	0,069	0,052	0,056	0,056	0,056	0,000
88	0,051	0,009	0,046	0,103	0,044	0,101	0,041	0,046	0,049	0,050	0,052	0,088	0,045	0,044	0,047	0,028	0,020	0,010	0,078	0,045	0,052	0,070	0,040	0,055	0,000
90	0,095	0,014	0,062	0,155	0,062	0,130	0,081	0,061	0,067	0,172	0,065	0,105	0,177	0,061	0,095	0,113	0,028	0,028	0,192	0,064	0,065	0,172	0,055	0,077	0,000
92	0,116	0,038	0,077	0,182	0,083	0,173	0,102	0,084	0,081	0,183	0,085	0,115	0,204	0,087	0,149	0,115	0,043	0,069	0,212	0,091	0,083	0,185	0,085	0,142	0,000
94	0,336	0,074	0,219	0,384	0,118	0,286	0,294	0,132	0,200	0,334	0,127	0,242	0,363	0,126	0,289	0,211	0,089	0,177	0,386	0,137	0,213	0,369	0,137	0,285	0,000
96	0,185	0,256	0,208	0,246	0,246	0,219	0,123	0,282	0,193	0,215	0,307	0,230	0,213	0,218	0,139	0,137	0,359	0,331	0,262	0,261	0,275	0,180	0,287	0,229	0,000
98	0,388	0,300	0,269	0,120	0,179	0,270	0,217	0,312	0,227	0,317	0,322	0,274	0,287	0,250	0,179	0,460	0,424	0,388	0,336	0,300	0,305	0,289	0,305	0,285	0,000
100	0,423	0,342	0,306	0,143	0,143	0,320	0,255	0,358	0,267	0,358	0,361	0,304	0,322	0,278	0,211	0,495	0,462	0,432	0,370	0,339	0,337	0,315	0,335	0,311	0,000
102	0,458	0,376	0,359	0,177	0,260	0,379	0,305	0,396	0,327	0,403	0,389	0,350	0,355	0,313	0,256	0,527	0,492	0,485	0,418	0,372	0,385	0,353	0,360	0,350	0,000
104	0,603	0,456	0,409	0,371	0,266	0,369	0,467	0,442	0,389	0,583	0,427	0,399	0,574	0,360	0,304	0,632	0,525	0,521	0,616	0,411	0,427	0,555	0,412	0,391	0,000
106	0,523	0,467	0,459	0,274	0,340	0,454	0,406	0,475	0,452	0,524	0,455	0,450	0,471	0,394	0,355	0,603	0,546	0,561	0,507	0,435	0,472	0,416	0,435	0,434	0,000
121	0,497	0,497	0,497	0,490	0,490	0,490	0,512	0,566	0,566	0,483	0,483	0,483	0,450	0,450	0,450	0,540	0,540	0,540	0,480	0,480	0,480	0,403	0,403	0,403	0,000
123	0,528	0,528	0,528	0,527	0,527	0,527	0,509	0,594	0,594	0,520	0,520	0,520	0,493	0,493	0,493	0,577	0,577	0,577	0,478	0,478	0,478	0,433	0,433	0,433	0,000

t = tempo; Rep = repetição; A = meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; B = meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; C = meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; D = meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; E = meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; F = meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; G = meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; H = meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>.

Tabela 24 – Valores da leitura de absorvância do crescimento de *Listeria monocytogenes*, com inibidores à temperatura de a 15 °C.

t	ABS																								
	A			B			C			D			E			F			G			H			
	1 Rep	2 Rep	3 Rep	1 Rep	2 Rep	3 Rep	1 Rep	2 Rep	3 Rep	1 Rep	2 Rep	3 Rep	1 Rep	2 Rep	3 Rep	1 Rep	2 Rep	3 Rep	1 Rep	2 Rep	3 Rep	1 Rep	2 Rep	3 Rep	
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
24	0,001	0,000	0,003	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,002	0,000	0,000	0,004	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,005
26	0,001	0,001	0,003	0,000	0,000	0,000	0,001	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,002	0,000	0,000	0,004	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,005
30	0,004	0,005	0,027	0,000	0,000	0,002	0,012	0,004	0,010	0,001	0,001	0,006	0,017	0,012	0,012	0,008	0,005	0,024	0,007	0,003	0,000	0,001	0,001	0,022	0,000
32	0,019	0,017	0,071	0,003	0,003	0,035	0,025	0,012	0,043	0,009	0,013	0,040	0,036	0,029	0,038	0,023	0,014	0,061	0,019	0,012	0,036	0,010	0,007	0,047	0,000
34	0,046	0,037	0,096	0,014	0,010	0,051	0,051	0,024	0,065	0,027	0,030	0,064	0,066	0,048	0,067	0,034	0,028	0,081	0,047	0,029	0,066	0,021	0,017	0,062	0,000
38	0,049	0,039	0,041	0,016	0,021	0,014	0,050	0,035	0,030	0,036	0,034	0,032	0,043	0,047	0,019	0,022	0,022	0,040	0,020	0,040	0,023	0,011	0,016	0,028	0,000
40	0,066	0,053	0,056	0,022	0,030	0,025	0,066	0,045	0,045	0,041	0,041	0,044	0,055	0,058	0,028	0,032	0,032	0,054	0,037	0,053	0,032	0,018	0,025	0,035	0,000
42	0,115	0,102	0,097	0,059	0,075	0,048	0,116	0,091	0,083	0,081	0,086	0,084	0,102	0,104	0,066	0,065	0,073	0,086	0,078	0,105	0,070	0,054	0,070	0,074	0,000
44	0,160	0,159	0,160	0,119	0,135	0,083	0,182	0,149	0,138	0,136	0,156	0,140	0,152	0,170	0,118	0,109	0,121	0,141	0,126	0,174	0,120	0,093	0,125	0,128	0,000
46	0,228	0,232	0,233	0,194	0,210	0,132	0,260	0,192	0,219	0,203	0,235	0,203	0,195	0,239	0,164	0,152	0,175	0,187	0,178	0,270	0,162	0,132	0,170	0,165	0,000
48	0,304	0,310	0,358	0,295	0,274	0,259	0,327	0,252	0,326	0,281	0,287	0,294	0,292	0,309	0,274	0,243	0,245	0,298	0,289	0,318	0,289	0,217	0,236	0,266	0,000
50	0,324	0,343	0,412	0,325	0,299	0,338	0,342	0,303	0,374	0,299	0,310	0,336	0,350	0,348	0,354	0,313	0,298	0,378	0,376	0,313	0,385	0,276	0,284	0,347	0,000
52	0,373	0,390	0,449	0,385	0,342	0,358	0,394	0,352	0,392	0,355	0,350	0,354	0,404	0,390	0,359	0,367	0,348	0,374	0,432	0,354	0,399	0,330	0,333	0,349	0,000
54	0,453	0,447	0,521	0,437	0,396	0,425	0,461	0,413	0,498	0,402	0,407	0,460	0,473	0,440	0,439	0,437	0,408	0,456	0,513	0,414	0,459	0,392	0,387	0,440	0,000
56	0,479	0,490	0,577	0,477	0,441	0,492	0,519	0,478	0,504	0,445	0,475	0,548	0,548	0,504	0,486	0,482	0,488	0,532	0,561	0,451	0,543	0,458	0,448	0,485	0,000
58	0,524	0,533	0,605	0,535	0,496	0,556	0,602	0,517	0,588	0,531	0,563	0,597	0,563	0,552	0,496	0,529	0,532	0,588	0,586	0,484					

150 ppm NO<sub>2</sub>; E = meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; F = meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; G = meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; H = meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>.

Tabela 25 – Valores da leitura de absorvância do crescimento de *Listeria monocytogenes*, com inibidores à temperatura de a 37 °C.

t	ABS																							
	A			B			C			D			E			F			G			H		
	1 Rep	2 Rep	3 Rep	1 Rep	2 Rep	3 Rep	1 Rep	2 Rep	3 Rep	1 Rep	2 Rep	3 Rep	1 Rep	2 Rep	3 Rep	1 Rep	2 Rep	3 Rep	1 Rep	2 Rep	3 Rep	1 Rep	2 Rep	3 Rep
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
6	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,004	0,000	0,003	0,015	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,002	0,004	0,000	0,000	0,000	0,000
8	0,006	0,000	0,000	0,042	0,000	0,007	0,062	0,004	0,021	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,010	0,031	0,003	0,016	0,000	0,000	0,017	0,000	0,000	0,001
10	0,172	0,015	0,115	0,100	0,042	0,115	0,099	0,042	0,142	0,085	0,017	0,122	0,091	0,059	0,175	0,089	0,064	0,133	0,162	0,059	0,215	0,131	0,027	0,115
12	0,333	0,287	0,193	0,249	0,136	0,179	0,293	0,215	0,240	0,255	0,236	0,176	0,287	0,300	0,248	0,314	0,235	0,274	0,375	0,252	0,272	0,331	0,271	0,264
14	0,422	0,388	0,289	0,334	0,226	0,266	0,368	0,269	0,335	0,316	0,372	0,245	0,378	0,420	0,332	0,390	0,314	0,381	0,432	0,355	0,377	0,413	0,371	0,353
16	0,414	0,430	0,326	0,372	0,308	0,319	0,415	0,319	0,386	0,341	0,389	0,278	0,394	0,453	0,364	0,389	0,353	0,409	0,449	0,368	0,398	0,423	0,380	0,373
18	0,429	0,407	0,347	0,398	0,346	0,374	0,408	0,349	0,398	0,368	0,471	0,311	0,399	0,470	0,366	0,389	0,346	0,406	0,448	0,388	0,396	0,423	0,378	0,364
20	0,432	0,406	0,365	0,386	0,343	0,371	0,409	0,347	0,394	0,354	0,442	0,321	0,393	0,428	0,389	0,362	0,329	0,434	0,423	0,344	0,432	0,391	0,362	0,382
22	0,487	0,453	0,400	0,436	0,425	0,408	0,477	0,400	0,442	0,405	0,463	0,370	0,446	0,440	0,421	0,414	0,377	0,482	0,473	0,372	0,457	0,425	0,404	0,423
24	0,474	0,366	0,404	0,349	0,316	0,418	0,366	0,354	0,408	0,323	0,331	0,369	0,343	0,392	0,389	0,339	0,313	0,421	0,454	0,393	0,420	0,350	0,335	0,355
26	0,469	0,322	0,451	0,225	0,244	0,442	0,204	0,339	0,381	0,217	0,171	0,351	0,243	0,319	0,394	0,271	0,297	0,385	0,449	0,414	0,425	0,275	0,280	0,349
28	0,497	0,392	0,498	0,234	0,332	0,479	0,213	0,395	0,401	0,232	0,235	0,408	0,257	0,393	0,358	0,308	0,380	0,426	0,479	0,492	0,466	0,288	0,368	0,326
30	0,487	0,413	0,489	0,233	0,362	0,481	0,216	0,409	0,415	0,234	0,237	0,412	0,254	0,419	0,380	0,305	0,406	0,427	0,462	0,522	0,455	0,289	0,391	0,343
32	0,508	0,454	0,483	0,263	0,403	0,489	0,253	0,438	0,445	0,269	0,265	0,412	0,281	0,455	0,389	0,338	0,433	0,437	0,483	0,541	0,455	0,327	0,409	0,347
34	0,504	0,468	0,483	0,267	0,425	0,498	0,261	0,462	0,475	0,283	0,292	0,436	0,283	0,476	0,425	0,334	0,459	0,477	0,483	0,574	0,476	0,344	0,433	0,374
37	0,394	0,487	0,351	0,366	0,477	0,452	0,376	0,472	0,422	0,390	0,473	0,310	0,480	0,440	0,431	0,342	0,393	0,502	0,433	0,370	0,411	0,445	0,460	0,386
39	0,518	0,536	0,395	0,456	0,530	0,497	0,479	0,526	0,459	0,460	0,508	0,315	0,585	0,483	0,459	0,458	0,444	0,529	0,537	0,420	0,418	0,525	0,499	0,405
46	0,504	0,552	0,444	0,459	0,563	0,489	0,395	0,478	0,492	0,472	0,527	0,390	0,554	0,612	0,514	0,468	0,535	0,541	0,505	0,553	0,520	0,523	0,566	0,466
48	0,492	0,400	0,490	0,289	0,467	0,475	0,290	0,357	0,440	0,279	0,374	0,450	0,299	0,449	0,461	0,282	0,485	0,475	0,453	0,350	0,489	0,374	0,421	0,387
50	0,518		0,520	0,313		0,513	0,314		0,474	0,297		0,482	0,320		0,497	0,392		0,504	0,475		0,531	0,410		0,431
52	0,508		0,522	0,312		0,541	0,316		0,517	0,286		0,487	0,310		0,523	0,400		0,508	0,468		0,521	0,416		0,454
54	0,509		0,520	0,322		0,534	0,318		0,507	0,288		0,480	0,313		0,517	0,406		0,509	0,474		0,520	0,433		0,455
56	0,532		0,518	0,328		0,498	0,326		0,486	0,312		0,483	0,340		0,517	0,417		0,535	0,505		0,538	0,456		0,460
58	0,532		0,531	0,331		0,505	0,325		0,494	0,318		0,491	0,342		0,522	0,421		0,531	0,504		0,534	0,458		0,462
72	0,490		0,484	0,272		0,461	0,297		0,402	0,271		0,418	0,296		0,467	0,395		0,468	0,443		0,474	0,374		0,405

t = tempo; Rep = repetição; A = meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; B = meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; C = meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; D = meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; E = meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; F = meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; G = meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; H = meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>.

APÊNDICE B – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura com inibidores, incubado à temperatura de 10°C, na primeira repetição

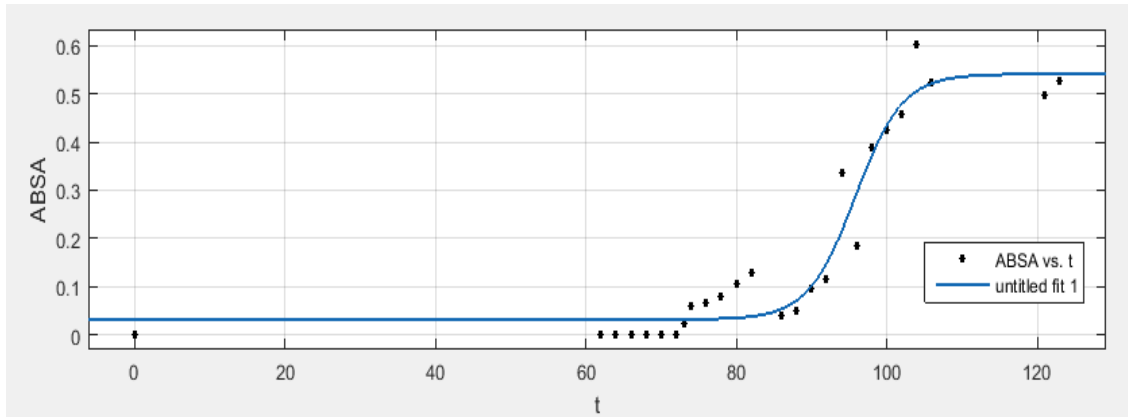


Figura 36 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura A, incubado à temperatura de 10°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico.

ABSA = absorvância lida no meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

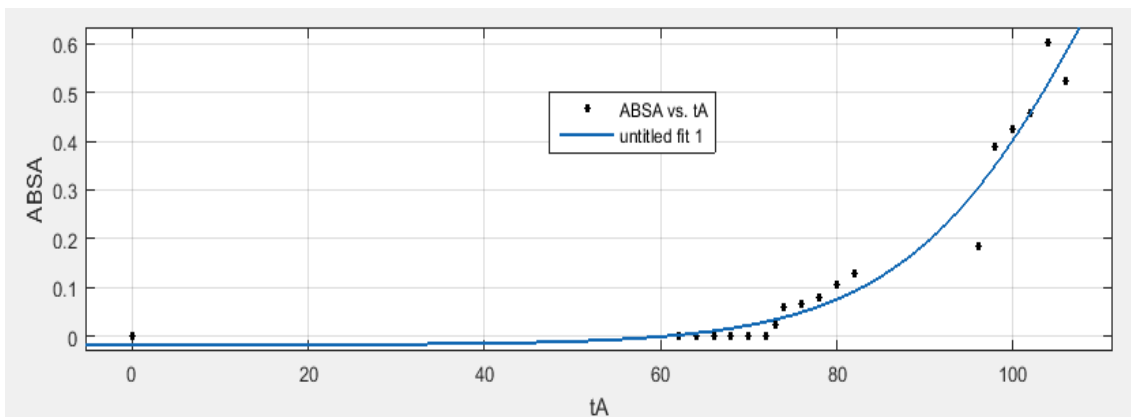


Figura 37 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura A, incubado à temperatura de 10°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico Modificado.

A = absorvância lida no meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; tA = tempo de incubação (horas).

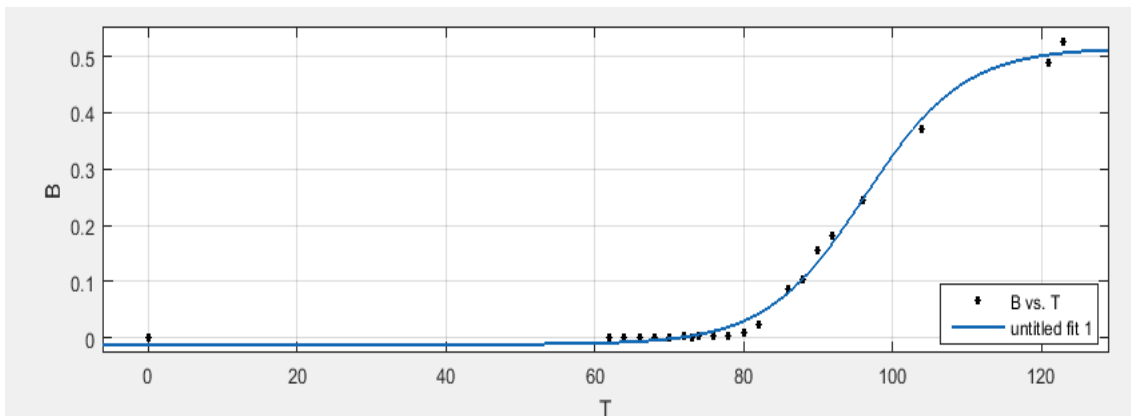


Figura 38 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura B, incubado à temperatura de 10°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico.

B = absorvância lida no meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; T = tempo de incubação (horas).

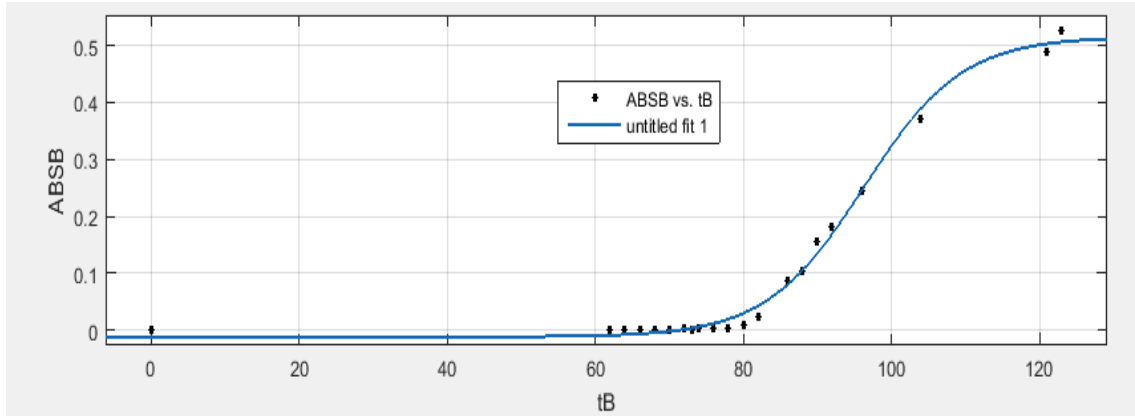


Figura 39 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura B, incubado à temperatura de 10°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico Modificado. ABSB = absorvância lida no meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; TB = tempo de incubação (horas).

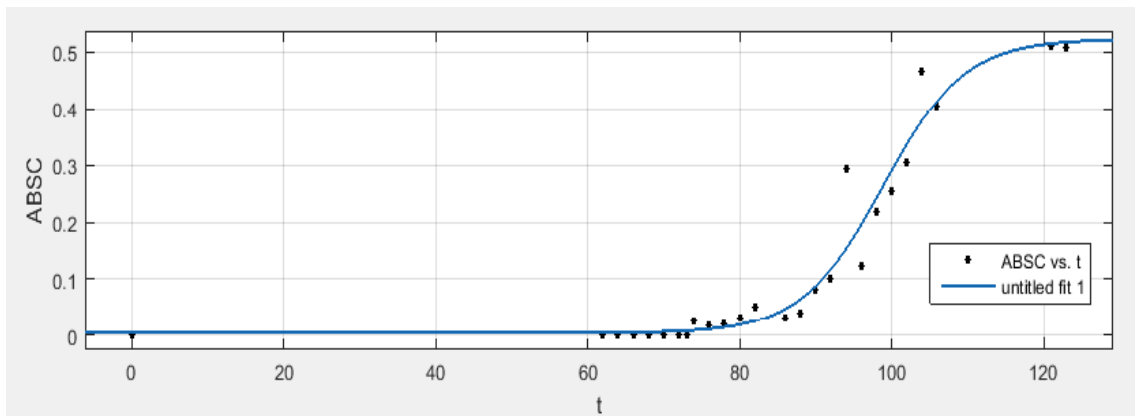


Figura 40 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura C, incubado à temperatura de 10°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico. ABSC = absorvância lida no meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

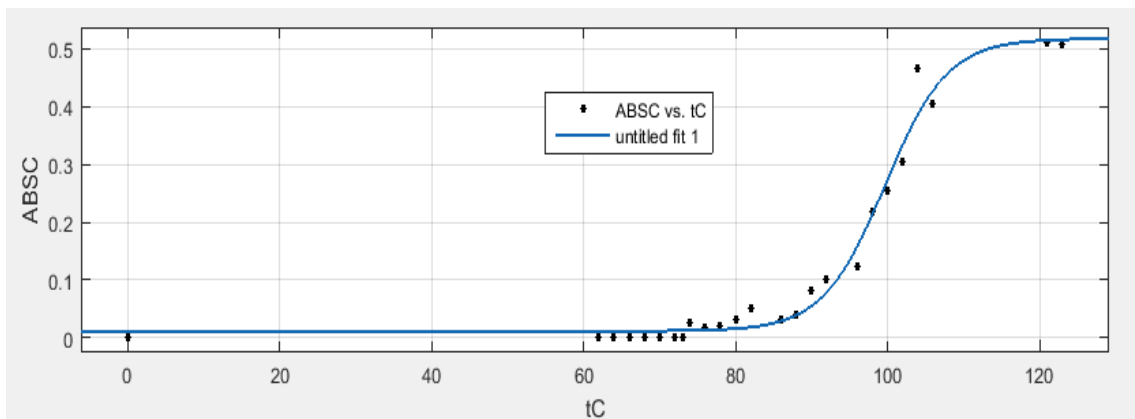


Figura 41 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura C, incubado à temperatura de 10°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico Modificado. ABSC = absorvância lida no meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; tC = tempo de incubação (horas).



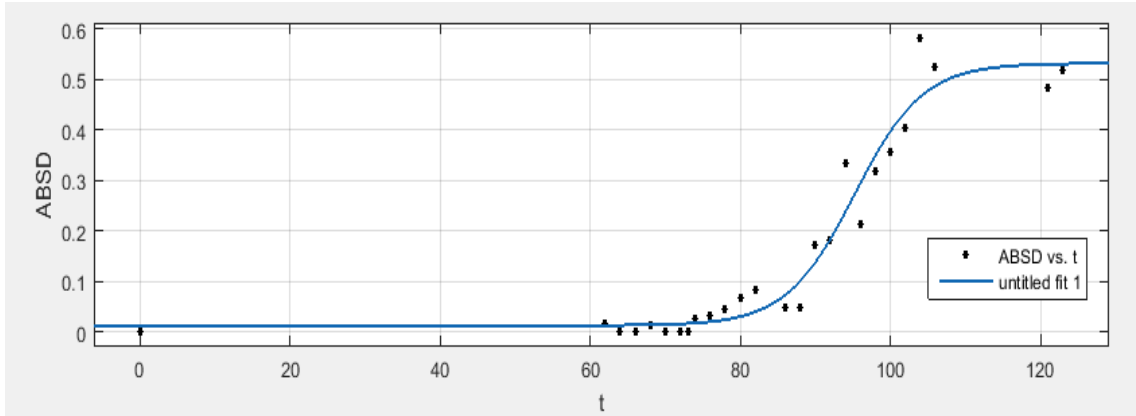


Figura 42 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura D, incubado à temperatura de 10°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico. ABSD = absorvância lida no meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

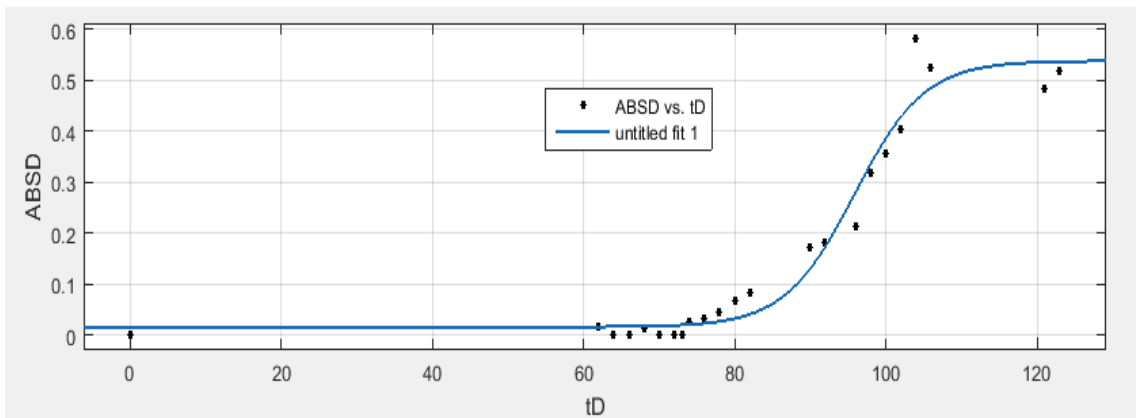


Figura 43 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura D, incubado à temperatura de 10°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico Modificado. ABSD = absorvância lida no meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; tD = tempo de incubação (horas).

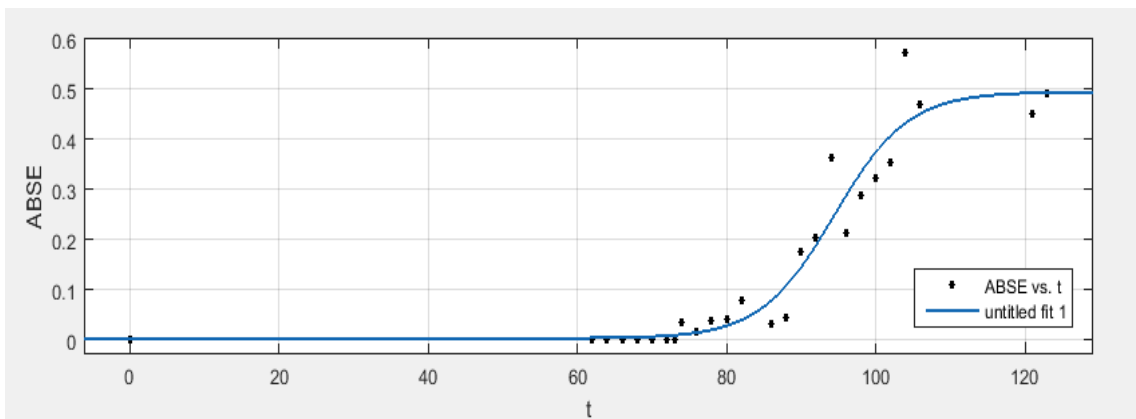


Figura 44 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura E, incubado à temperatura de 10°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico. ABSE = absorvância lida no meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

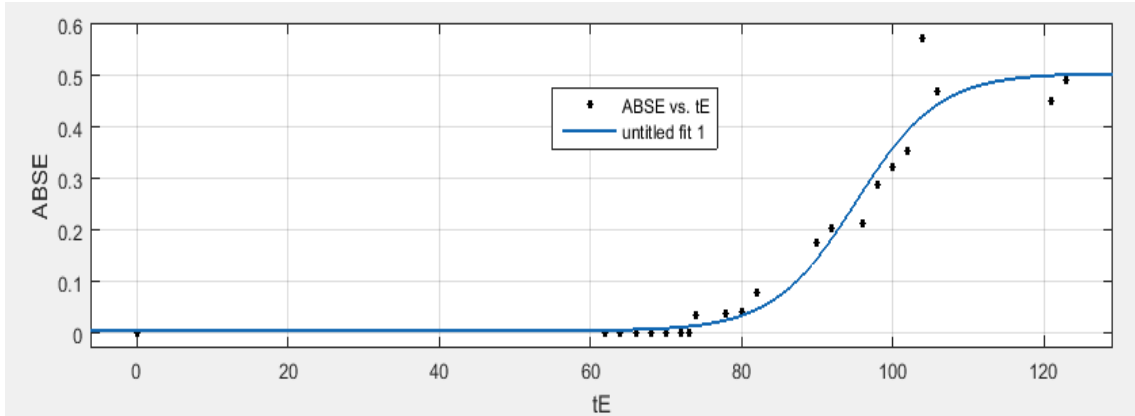


Figura 45 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura E, incubado à temperatura de 10°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico Modificado. ABSE = absorvância lida no meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; tE = tempo de incubação (horas).

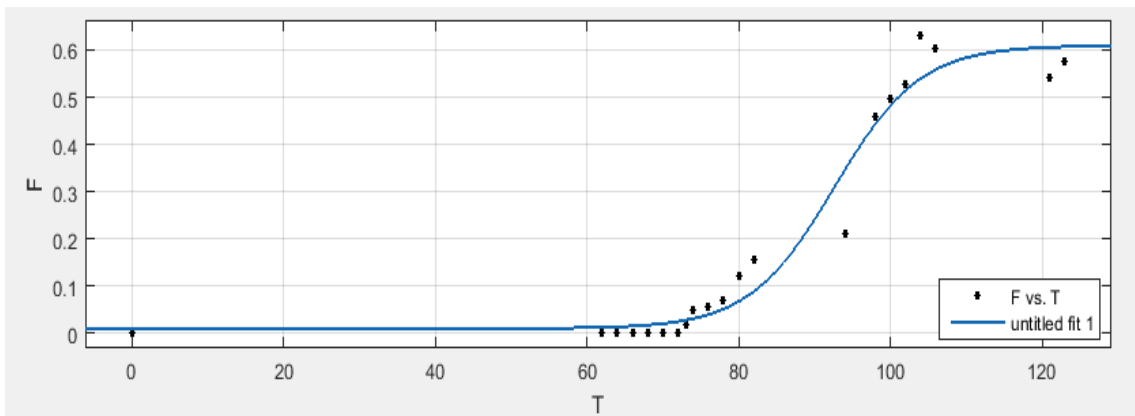


Figura 46 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura F, incubado à temperatura de 10°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico. F = absorvância lida no meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; T = tempo de incubação (horas).

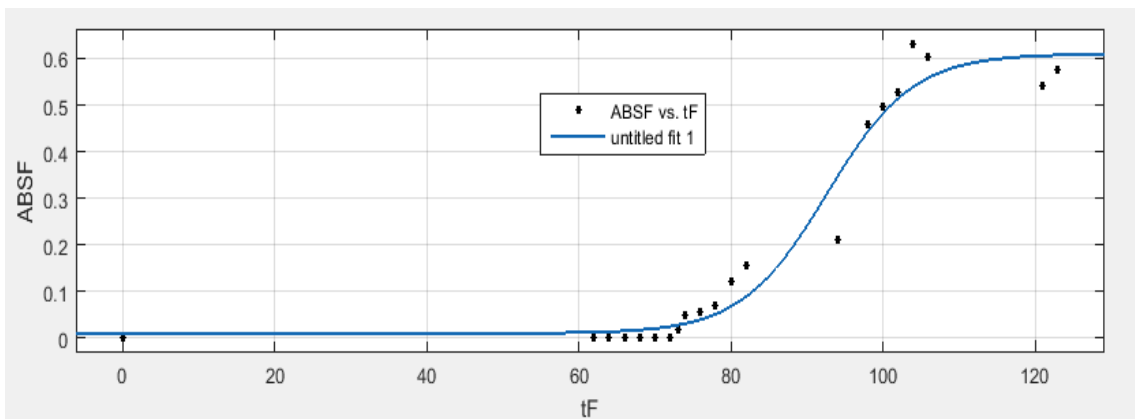


Figura 47 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura F, incubado à temperatura de 10°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico Modificado. ABSF = absorvância lida no meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; tF = tempo de incubação (horas).

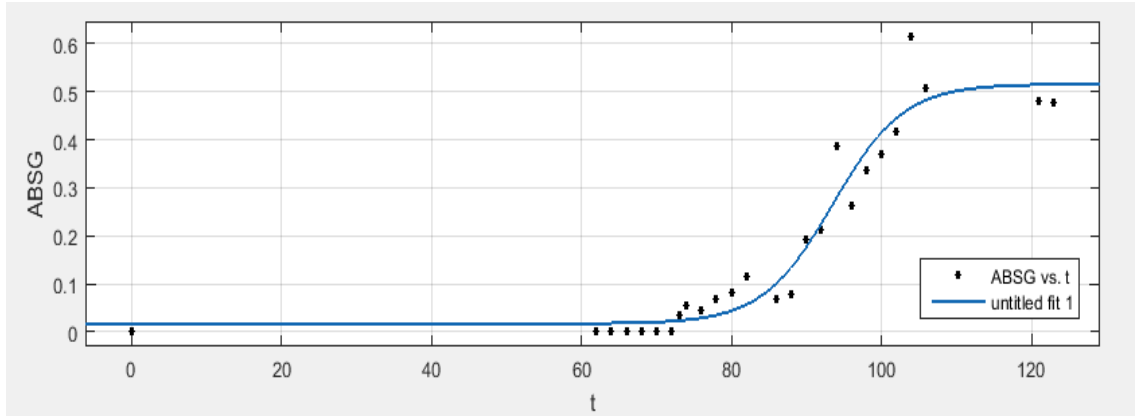


Figura 48 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura G, incubado à temperatura de 10°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico.  
ABSG = absorvância lida no meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

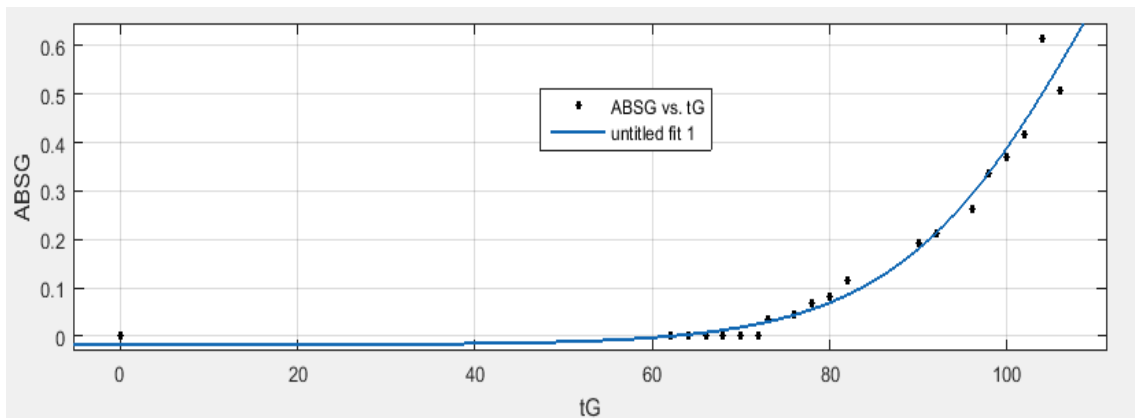


Figura 49 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura G, incubado à temperatura de 10°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico Modificado.  
ABSG = absorvância lida no meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; tG = tempo de incubação (horas).

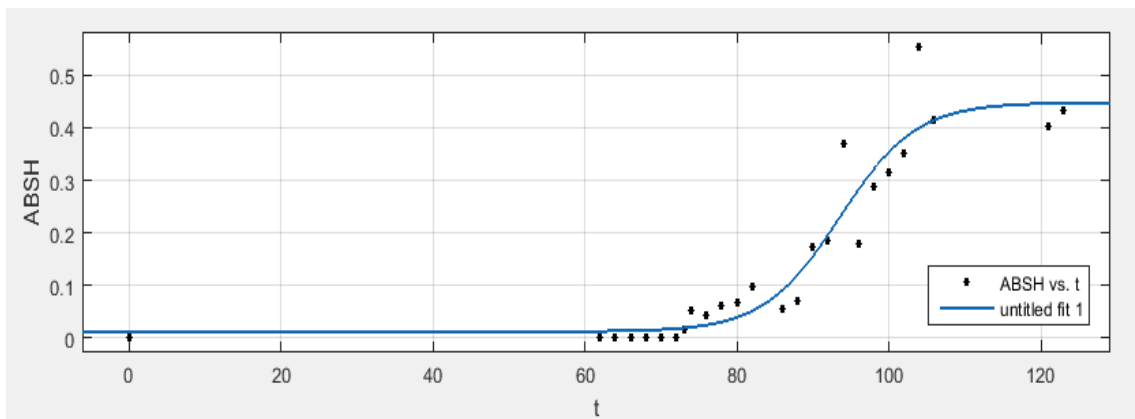


Figura 50 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura H, incubado à temperatura de 10°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico.  
ABSH = absorvância lida no meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

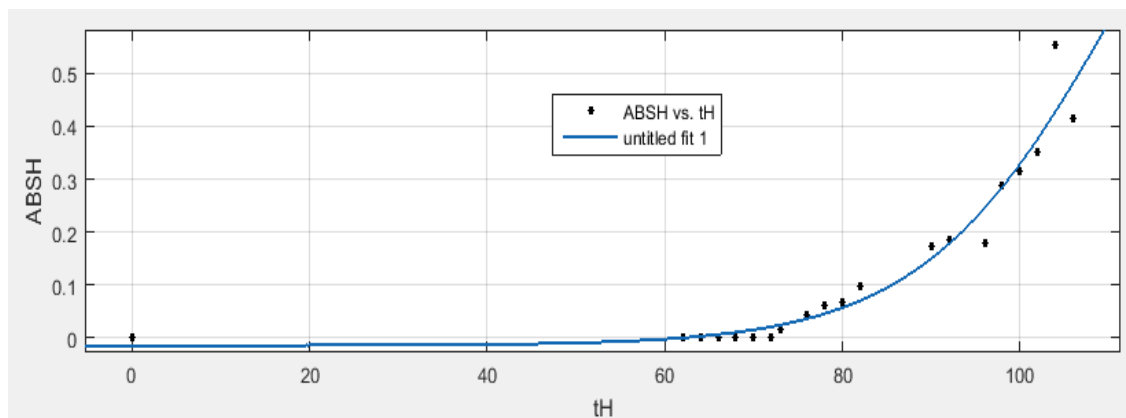


Figura 51 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura H, incubado à temperatura de 10°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico Modificado. ABSH = absorvância lida no meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; tH = tempo de incubação (horas).

APÊNDICE C – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura com inibidores, incubado à temperatura de 15°C, na primeira repetição

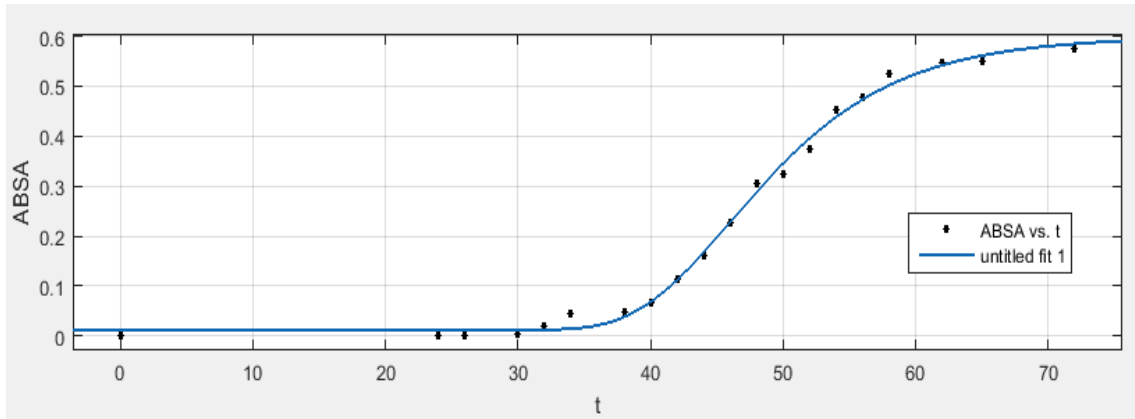


Figura 52 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura A, incubado à temperatura de 15°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo de Gompertz. ABSA = absorvância lida no meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

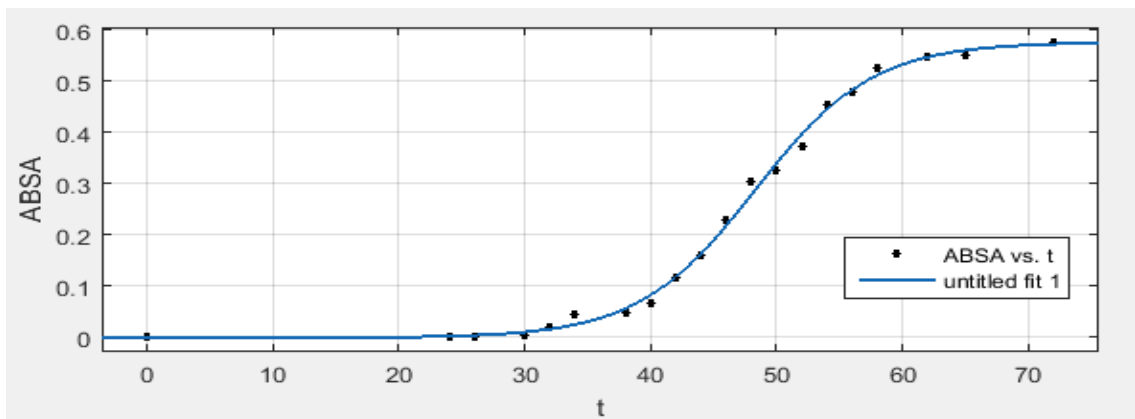


Figura 53 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura A, incubado à temperatura de 15°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico Modificado. ABSA = absorvância lida no meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

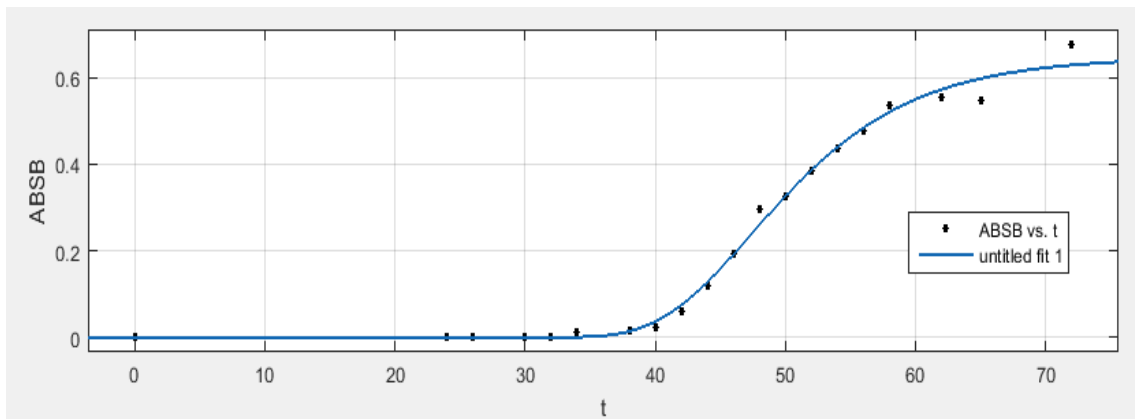


Figura 54 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura B, incubado à temperatura de 15°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo de Gompertz. ABSB = absorvância lida no meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

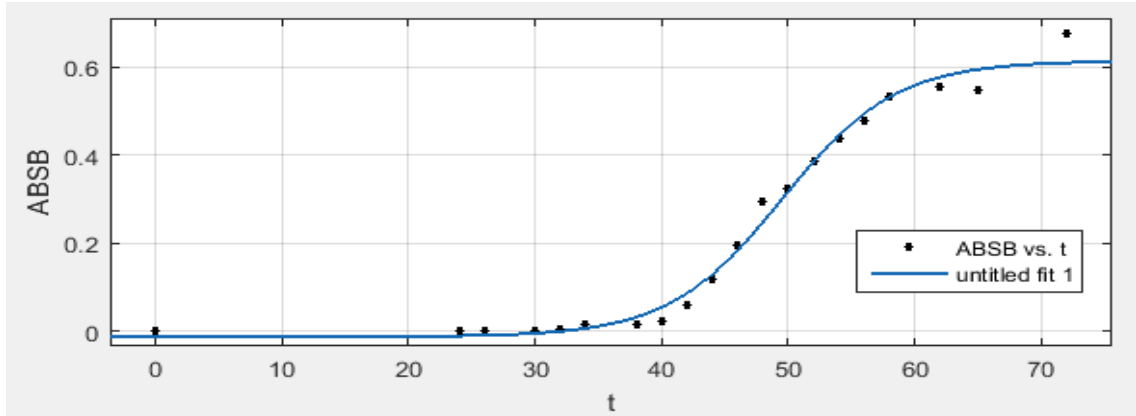


Figura 55 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura B, incubado à temperatura de 15°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico Modificado. ABSB = absorvância lida no meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

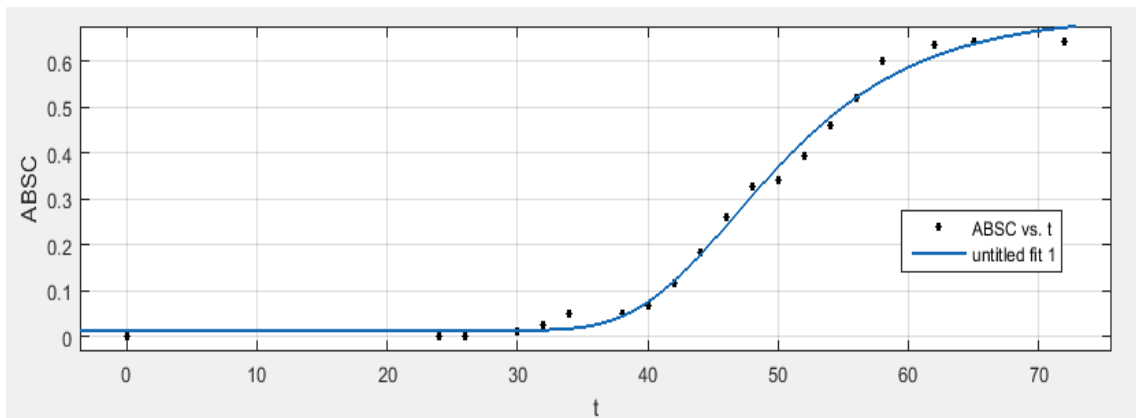


Figura 56 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura C, incubado à temperatura de 15°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo de Gompertz. ABSC = absorvância lida no meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

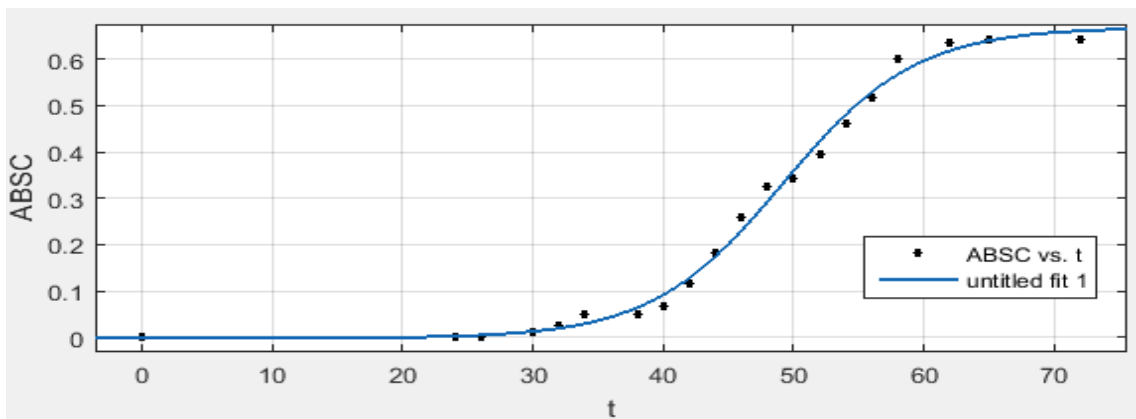


Figura 57 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura C, incubado à temperatura de 15°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico Modificado. ABSC = absorvância lida no meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

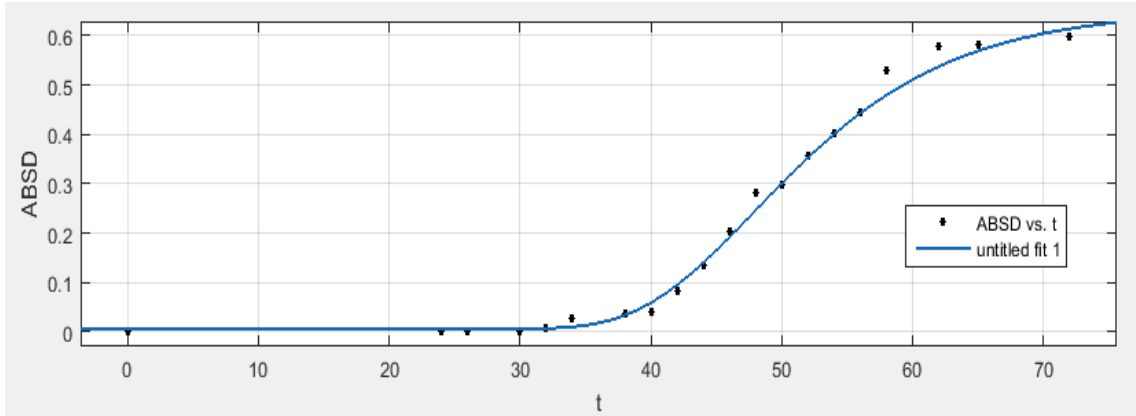


Figura 58 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura D, incubado à temperatura de 15°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo de Gompertz. ABSD = absorvância lida no meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

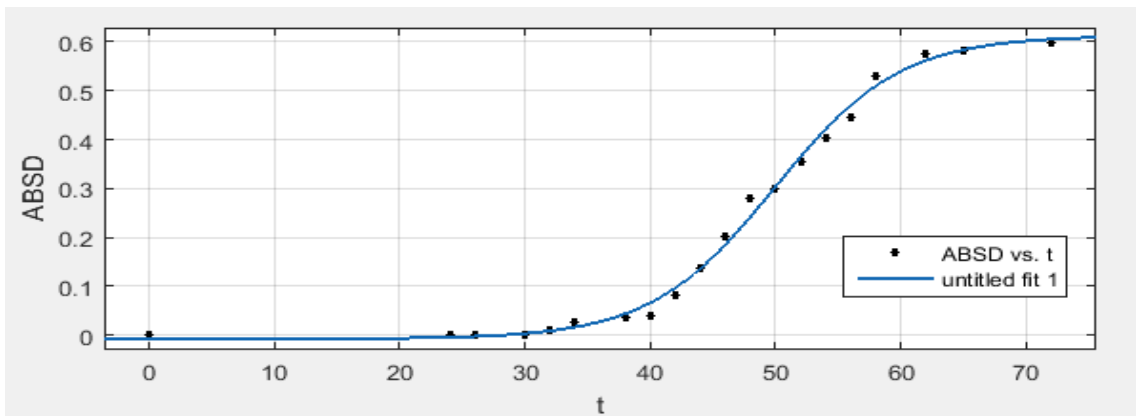


Figura 59 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura D, incubado à temperatura de 15°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico Modificado. ABSD = absorvância lida no meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

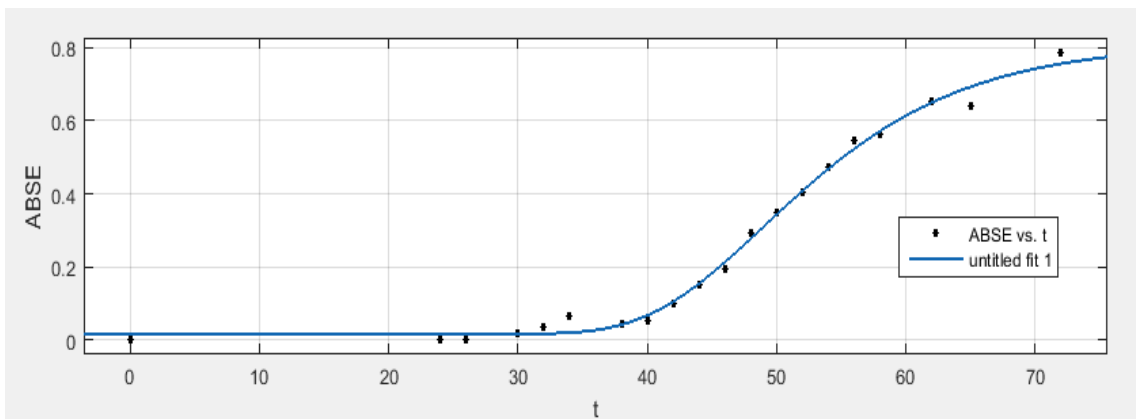


Figura 60 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura E, incubado à temperatura de 15°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo de Gompertz. ABSE = absorvância lida no meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

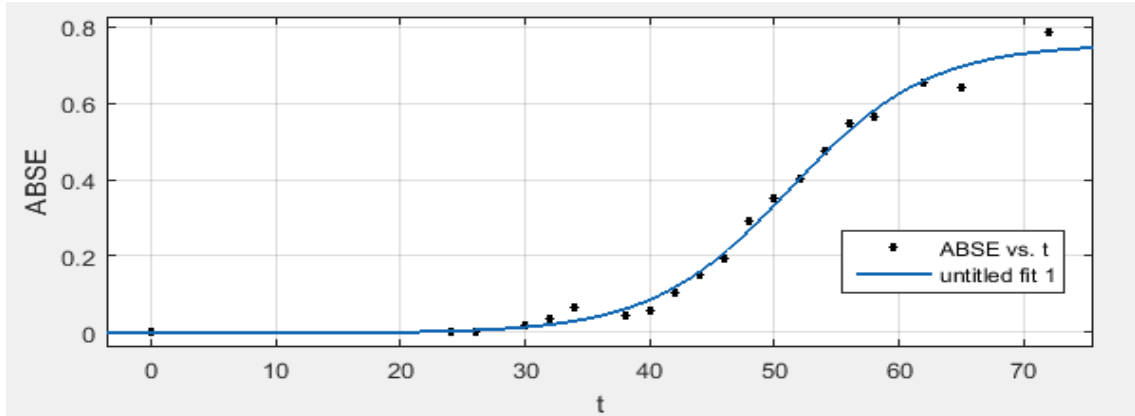


Figura 61 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura E, incubado à temperatura de 15°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico Modificado. ABSE = absorvância lida no meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

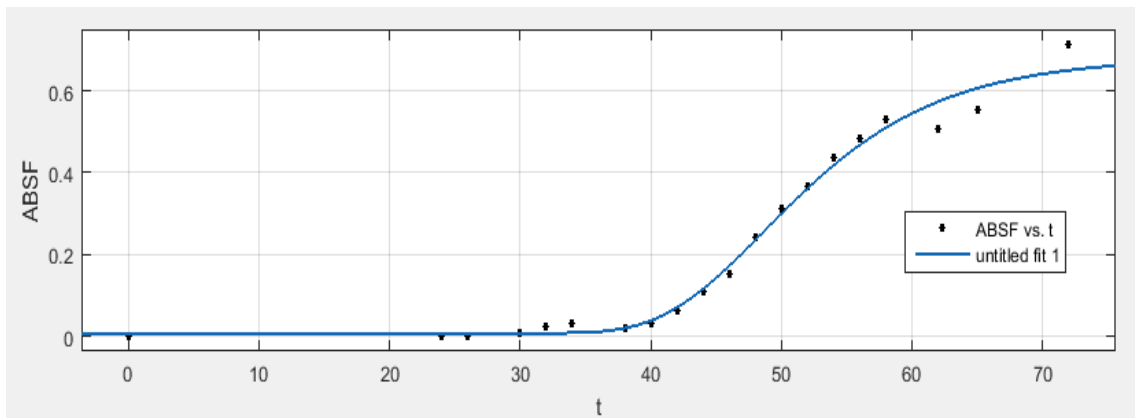


Figura 62 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura F, incubado à temperatura de 15°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo de Gompertz. ABSF = absorvância lida no meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

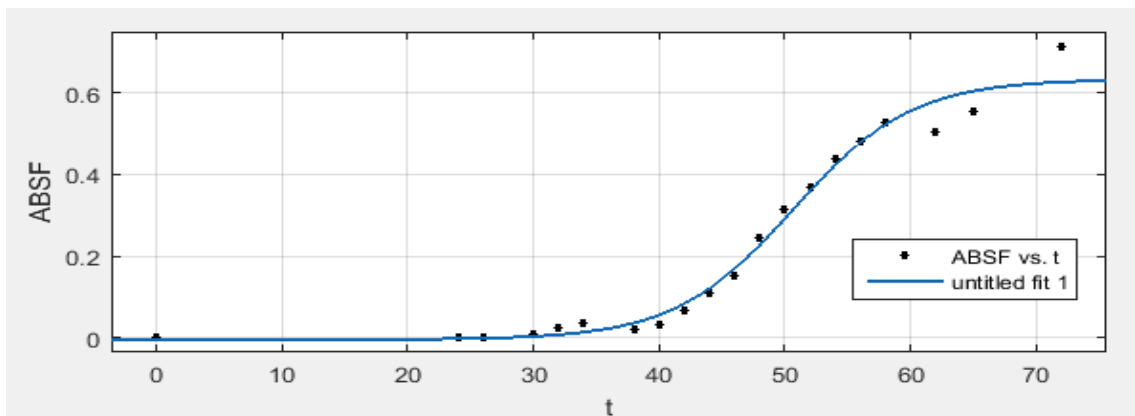


Figura 63 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura F, incubado à temperatura de 15°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico Modificado. ABSF = absorvância lida no meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).



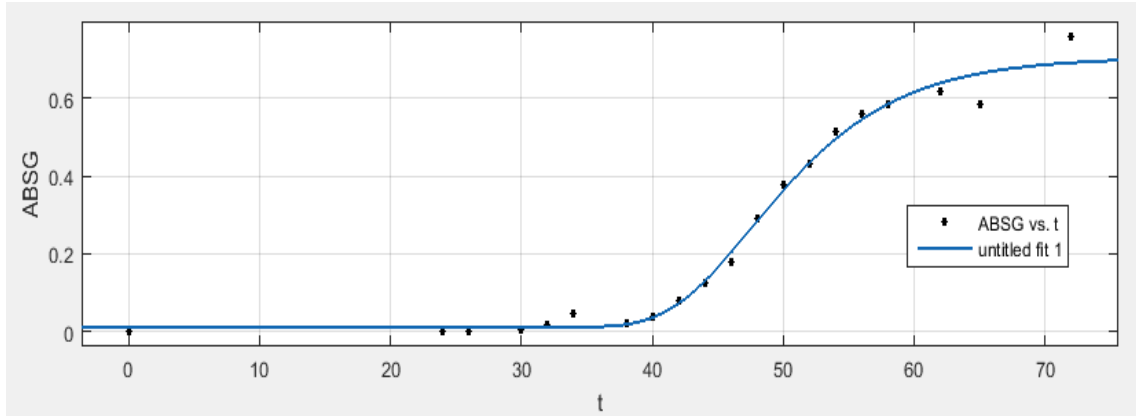


Figura 64 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura G, incubado à temperatura de 15°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo de Gompertz.  
ABSG = absorvância lida no meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

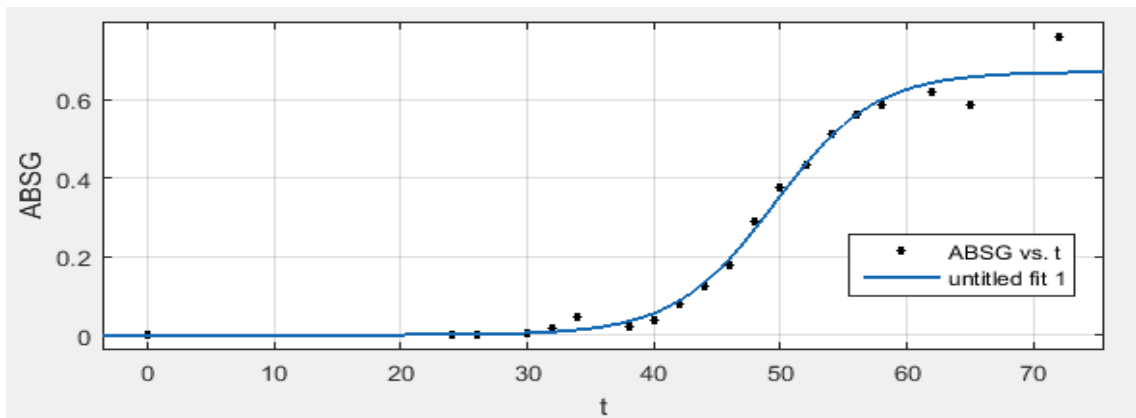


Figura 65 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura G, incubado à temperatura de 15°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico Modificado.  
ABSG = absorvância lida no meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

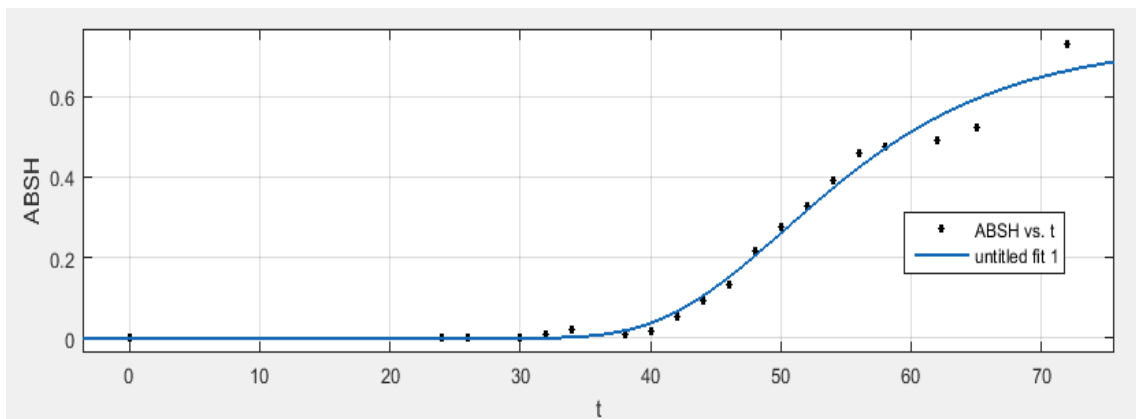


Figura 66 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura H, incubado à temperatura de 15°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo de Gompertz.  
ABSH = absorvância lida no meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

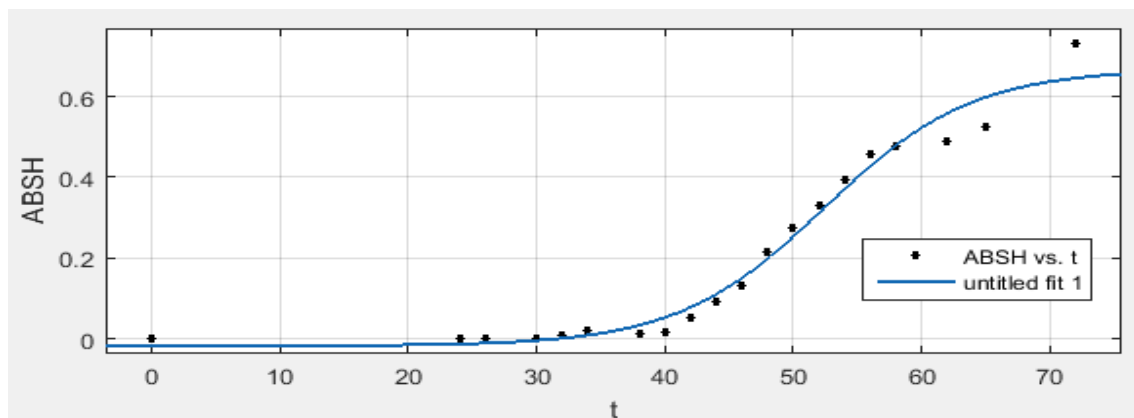


Figura 67 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura H, incubado à temperatura de 15°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico Modificado. ABSH = absorvância lida no meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

APÊNDICE D – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura com inibidores, incubado à temperatura de 37°C, na primeira repetição

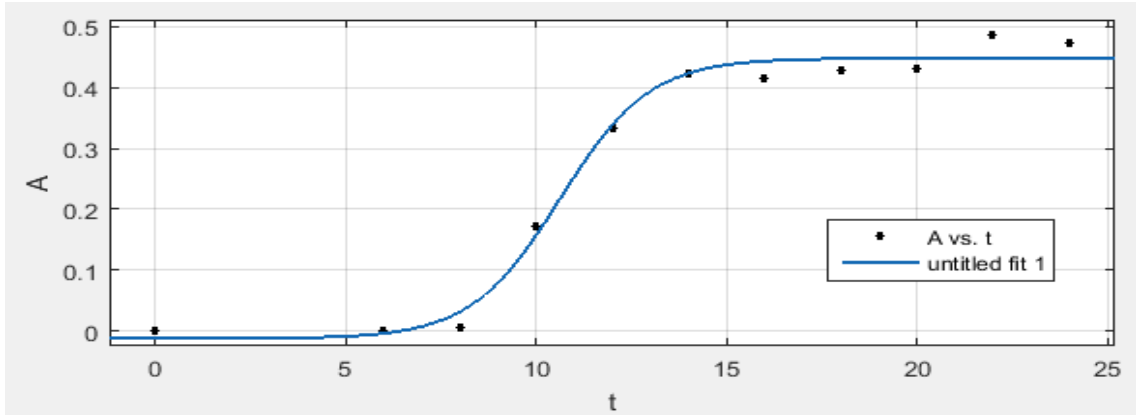


Figura 68 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura A, incubado à temperatura de 37°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico.

A = absorbância lida no meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

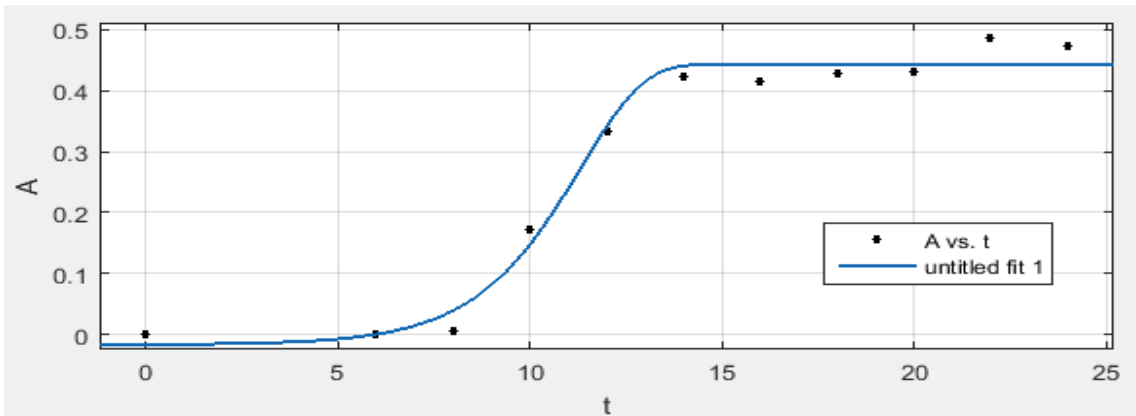


Figura 69 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura A, incubado à temperatura de 37°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo de Gompertz.

A = absorbância lida no meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

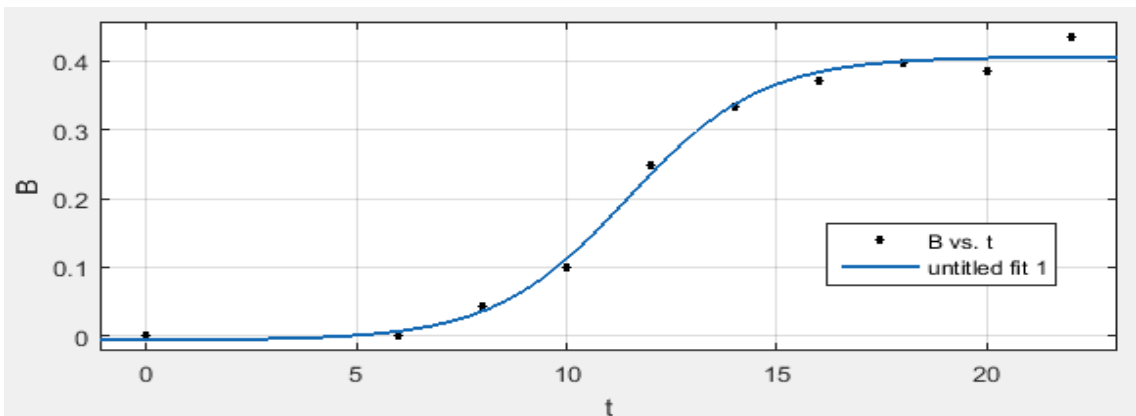


Figura 70 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura B, incubado à temperatura de 37°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico.

B = absorbância lida no meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

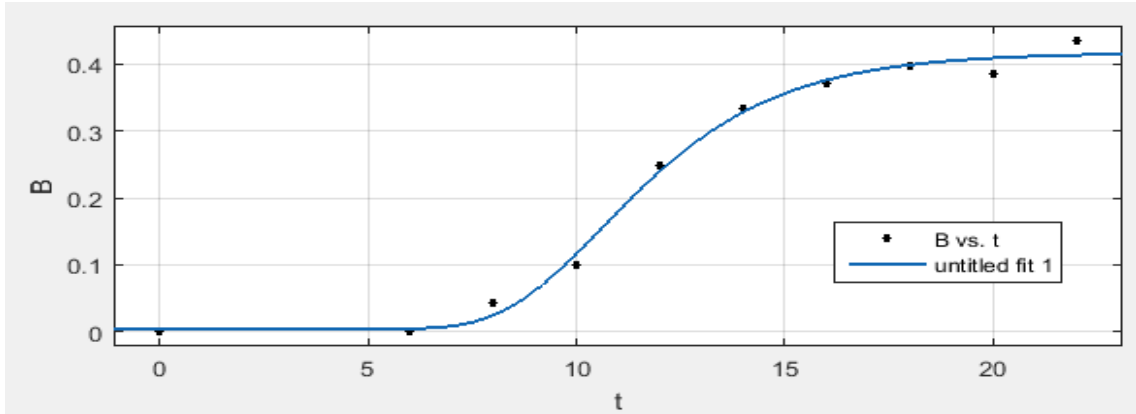


Figura 71 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura B, incubado à temperatura de 37°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo de Gompertz.  
B = absorbância lida no meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

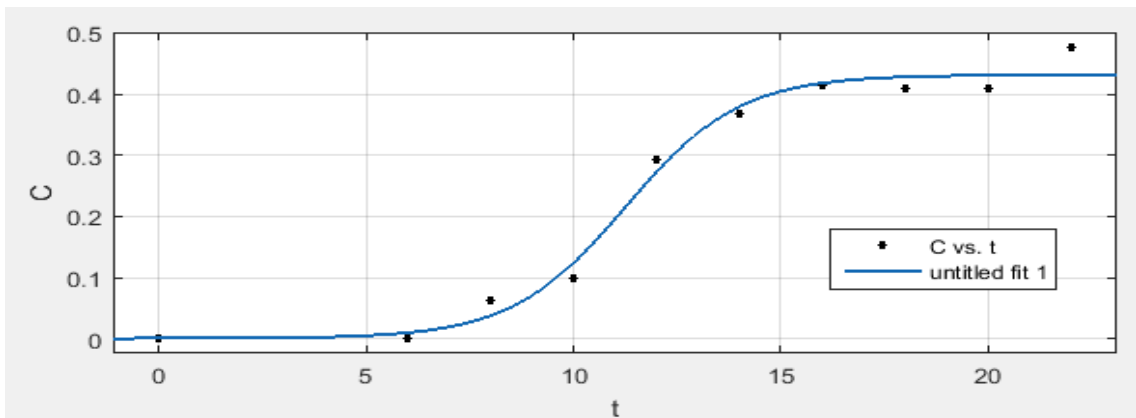


Figura 72 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura C, incubado à temperatura de 37°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico.  
C = absorbância lida no meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

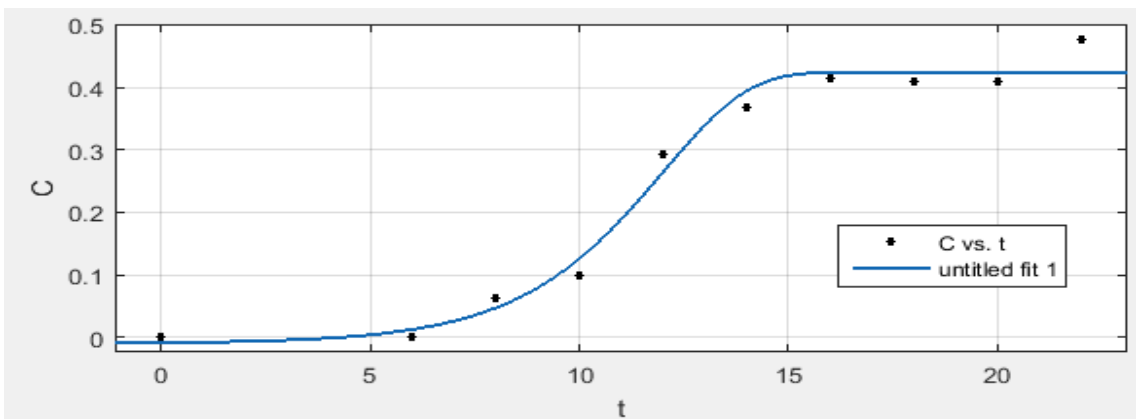


Figura 73 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura C, incubado à temperatura de 37°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo de Gompertz.  
C = absorbância lida no meio com pH 6,8; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

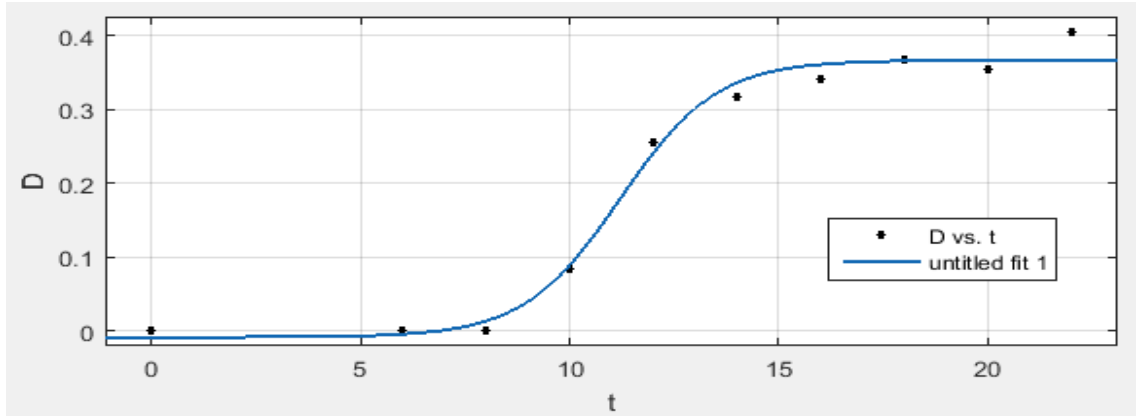


Figura 74 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura D, incubado à temperatura de 37°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico.  
D = absorvância lida no meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

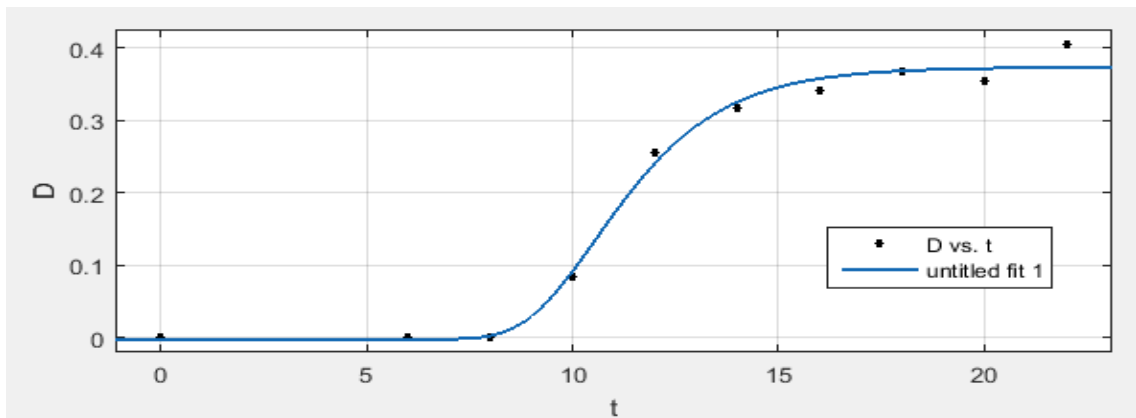


Figura 75 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura D, incubado à temperatura de 37°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo de Gompertz.  
D = absorvância lida no meio com pH 6,8; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

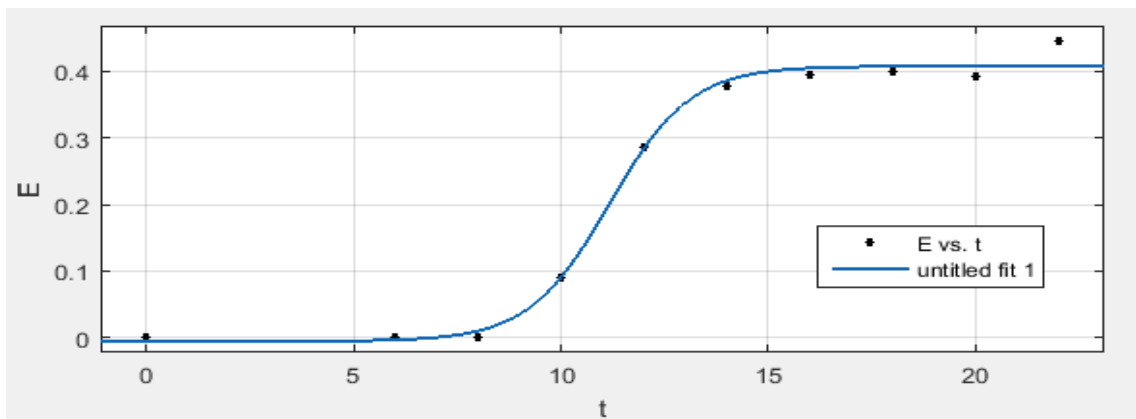


Figura 76 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura E, incubado à temperatura de 37°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico.  
E = absorvância lida no meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

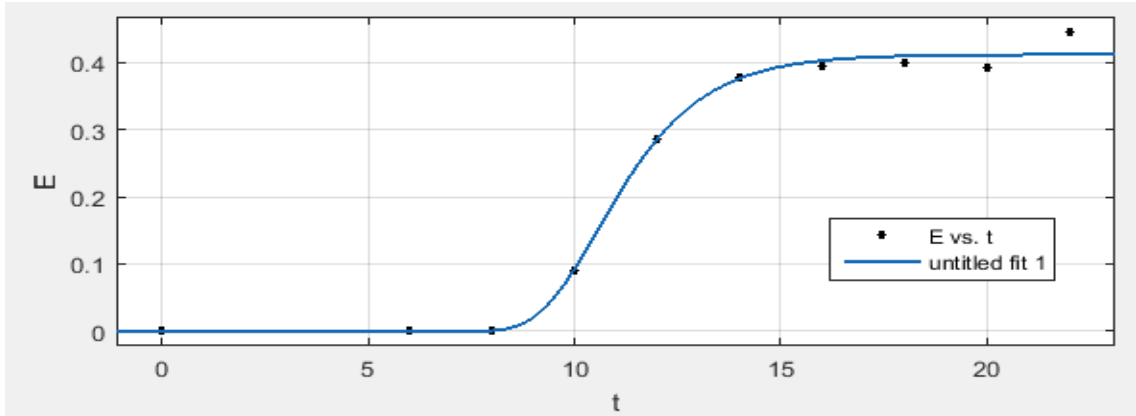


Figura 77 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura E, incubado à temperatura de 37°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo de Gompertz.  
E = absorvância lida no meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

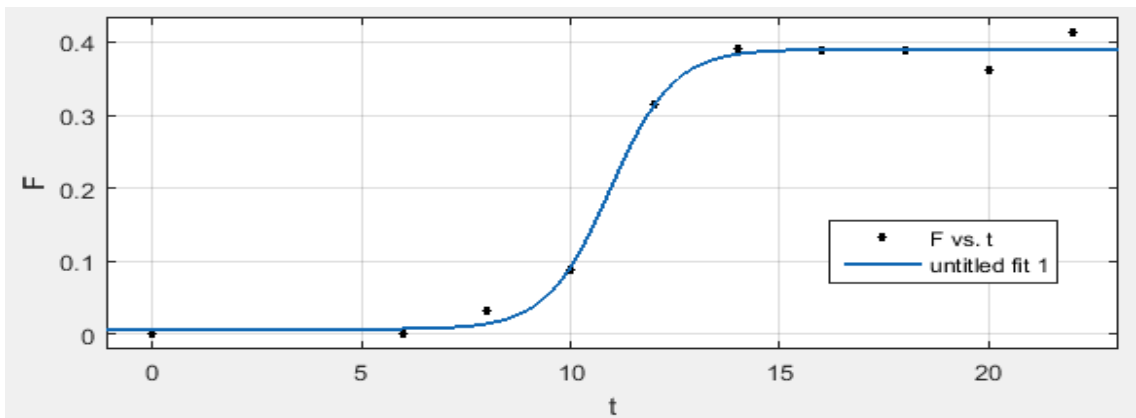


Figura 78 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura F, incubado à temperatura de 37°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico.  
F = absorvância lida no meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

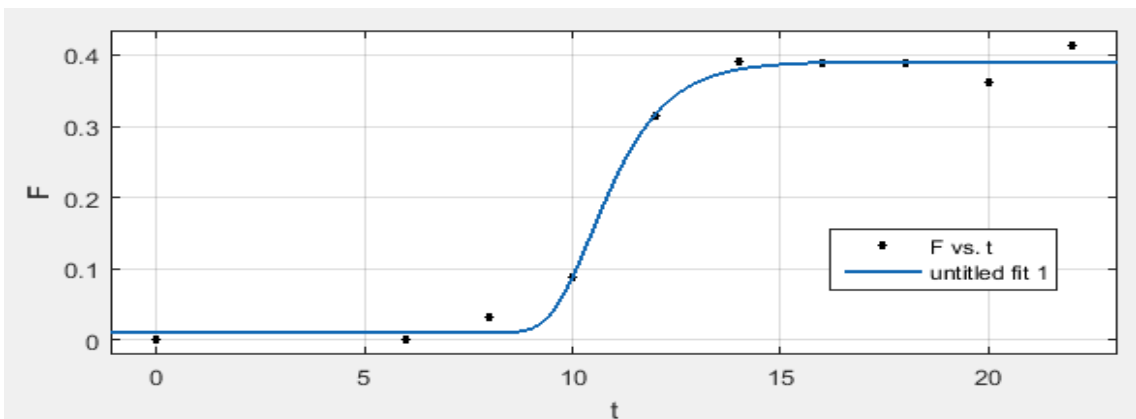


Figura 79 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura F, incubado à temperatura de 37°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo de Gompertz.  
F = absorvância lida no meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 75 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

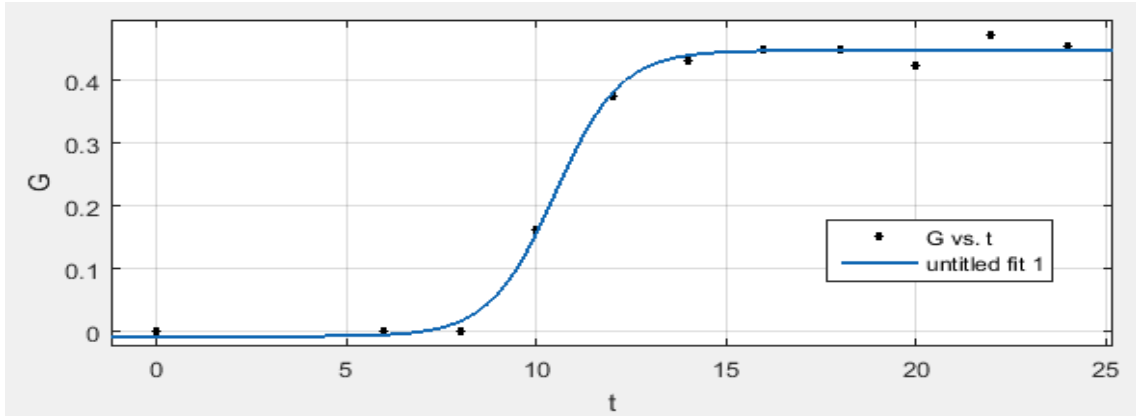


Figura 80 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura G, incubado à temperatura de 37°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico.  
G = absorvância lida no meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

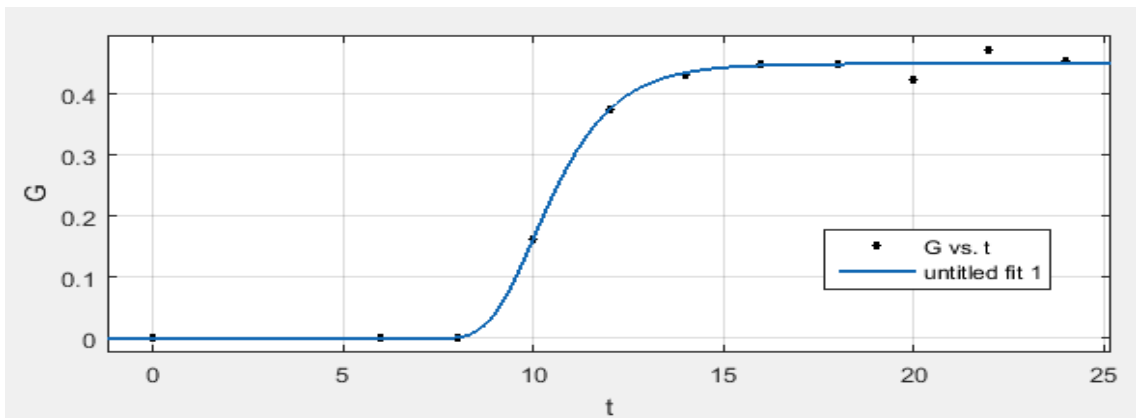


Figura 81 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura G, incubado à temperatura de 37°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo de Gompertz.  
G = absorvância lida no meio com pH 5,5; 1,5% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

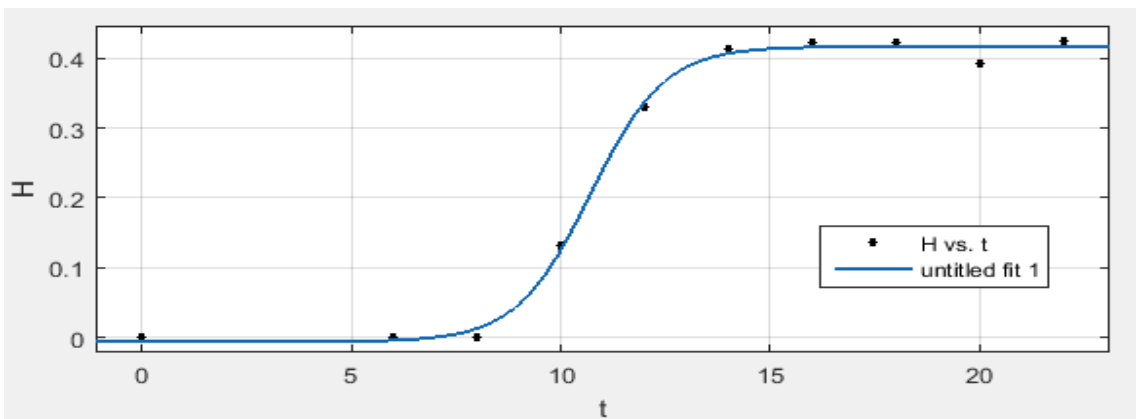


Figura 82 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura H, incubado à temperatura de 37°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo Logístico.  
H = absorvância lida no meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).

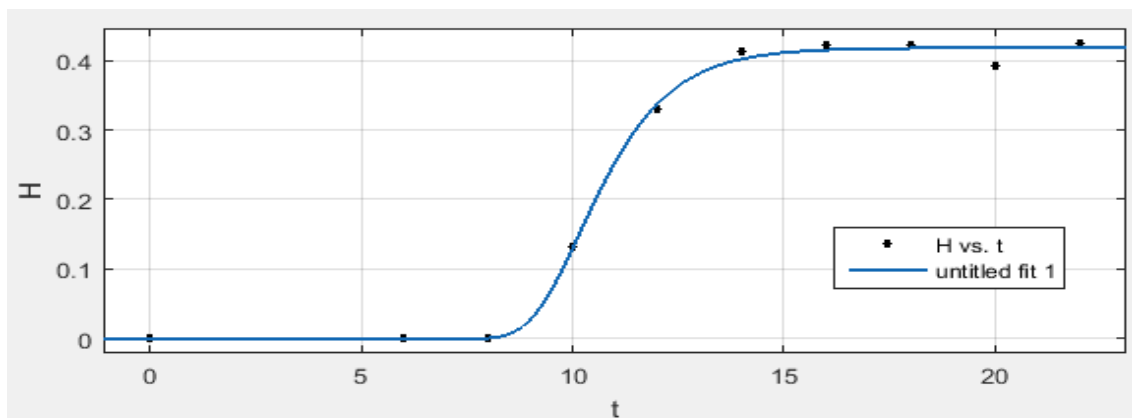
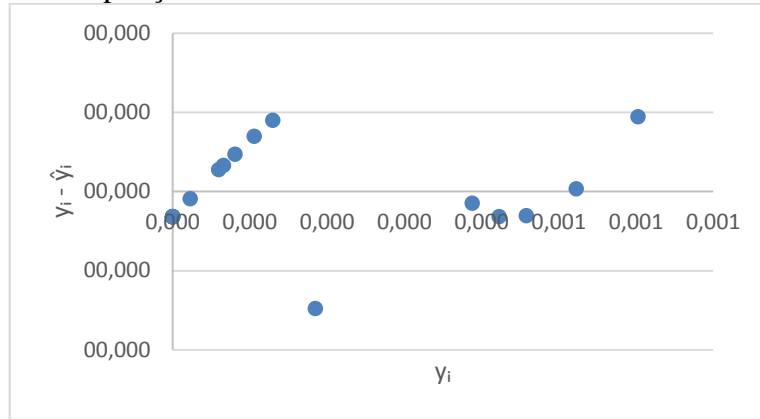


Figura 83 – Curva de crescimento de *L. monocytogenes* em meio de cultura H, incubado à temperatura de 37°C, na primeira repetição, obtida pelo modelo de Gompertz.  
H = absorvância lida no meio com pH 5,5; 2,0% NaCl; 150 ppm NO<sub>2</sub>; t = tempo de incubação (horas).



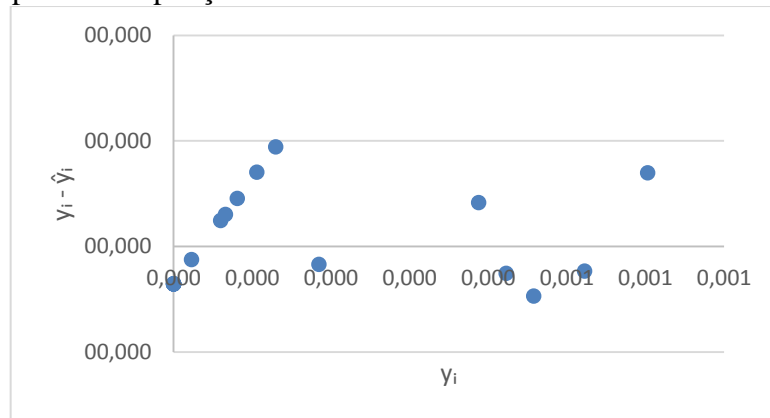
APÊNDICE E – Resíduo dos experimentos realizados para meio de cultura com inibidores a 10°C, na primeira repetição

Gráfico 8 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura A a 10°C para o modelo Logístico, na primeira repetição.



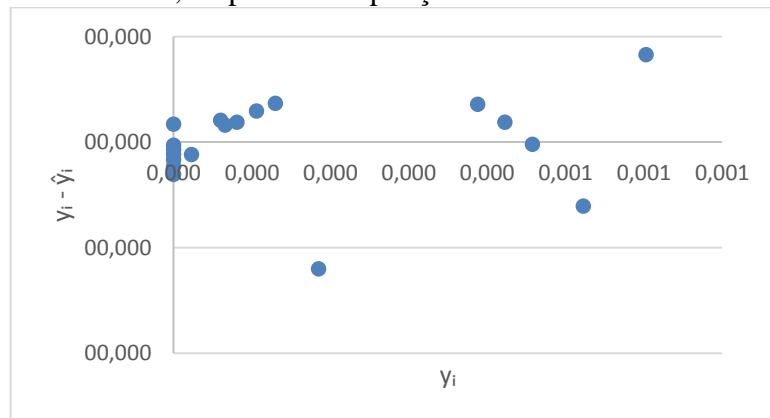
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 9 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura A a 10°C para o modelo de Gompertz, na primeira repetição.



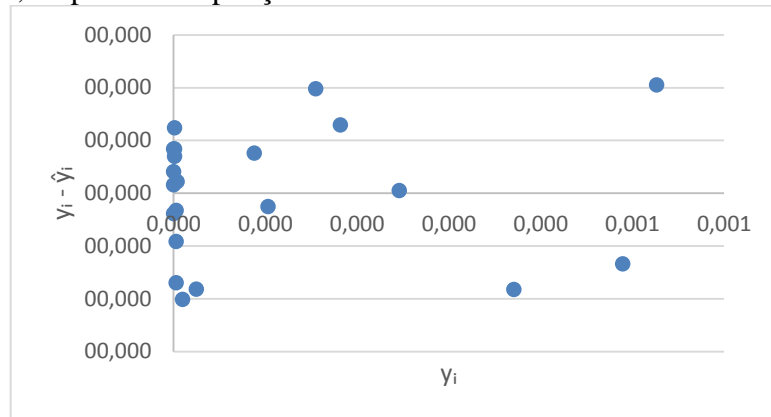
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 10 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura A a 10°C para o modelo Logístico Modificado, na primeira repetição.



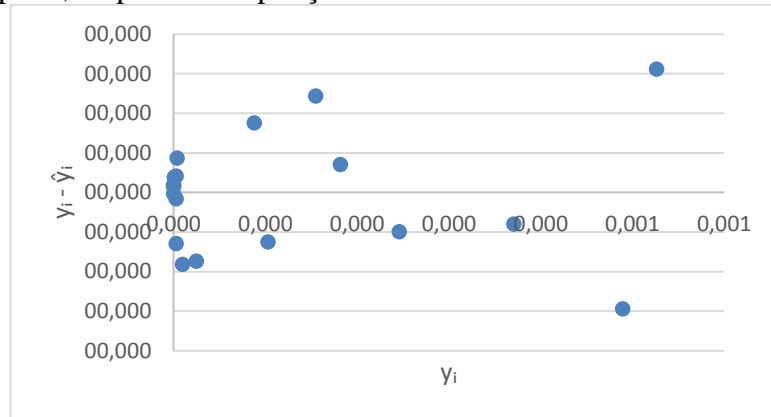
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 11 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura B a 10°C para o modelo Logístico, na primeira repetição.



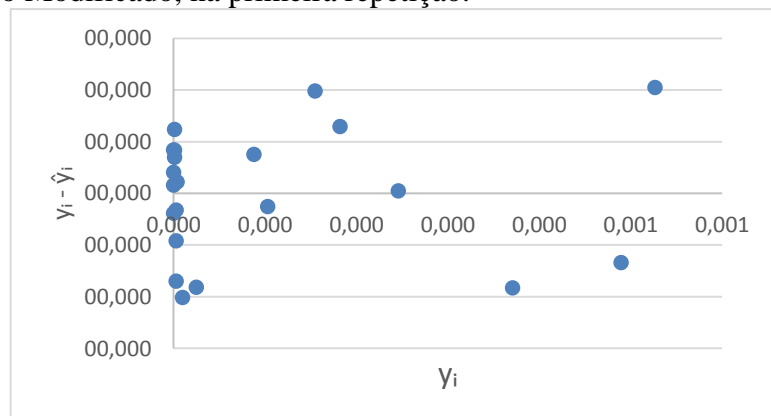
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 12 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura B a 10°C para o modelo de Gompertz, na primeira repetição.



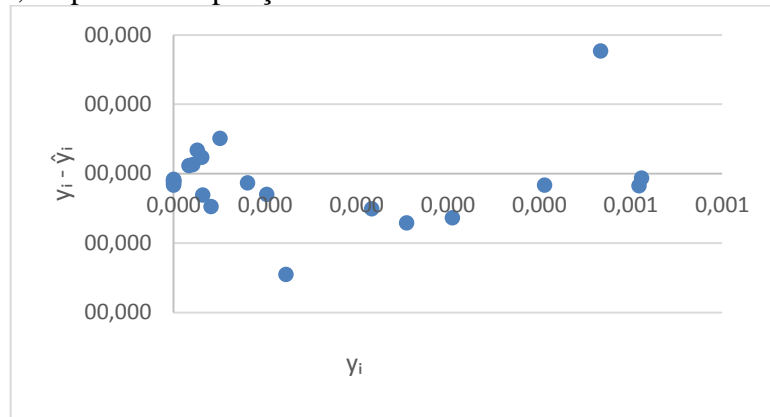
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 13 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura B a 10°C para o modelo Logístico Modificado, na primeira repetição.



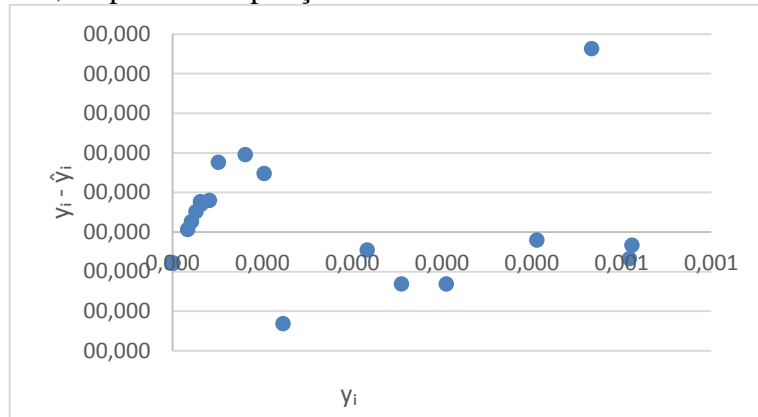
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 14 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura C a 10°C para o modelo Logístico, na primeira repetição.



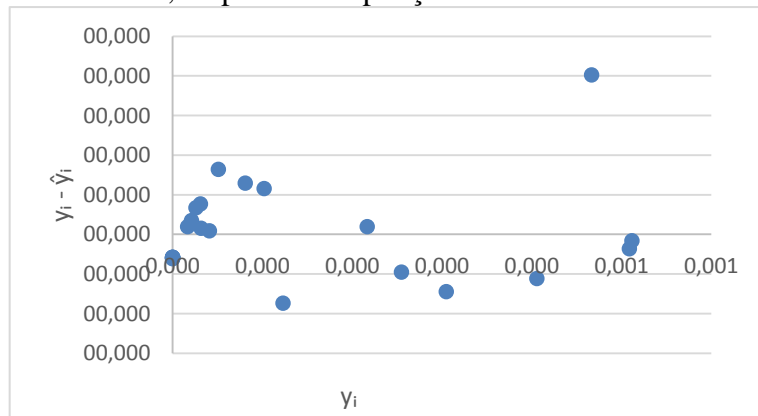
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 15 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura C a 10°C para o modelo de Gompertz, na primeira repetição.



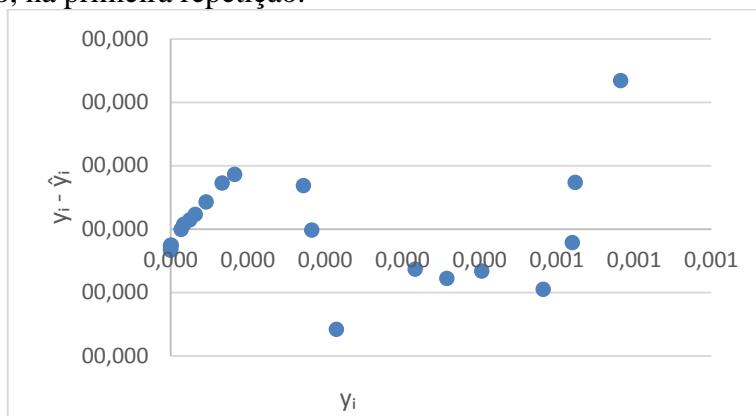
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 16 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura C a 10°C para o modelo Logístico Modificado, na primeira repetição.



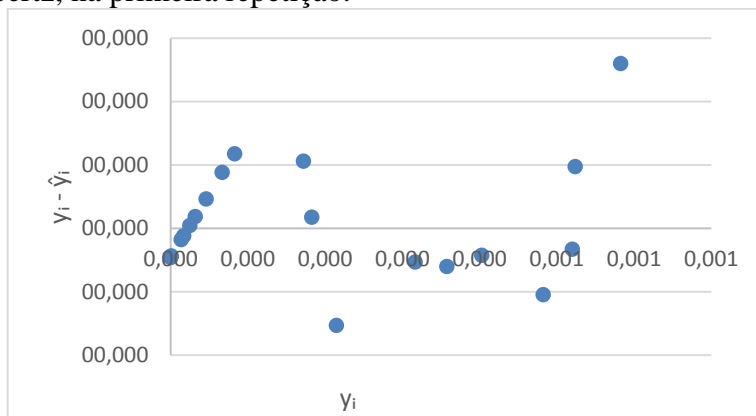
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 17 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura D a 10°C para o modelo Logístico, na primeira repetição.



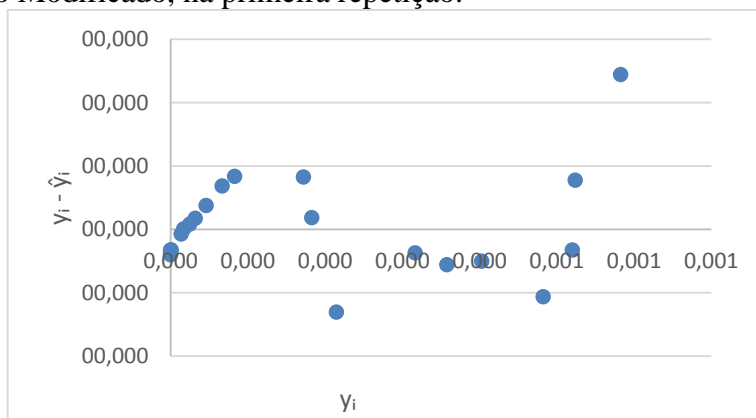
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 18 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura D a 10°C para o modelo de Gompertz, na primeira repetição.



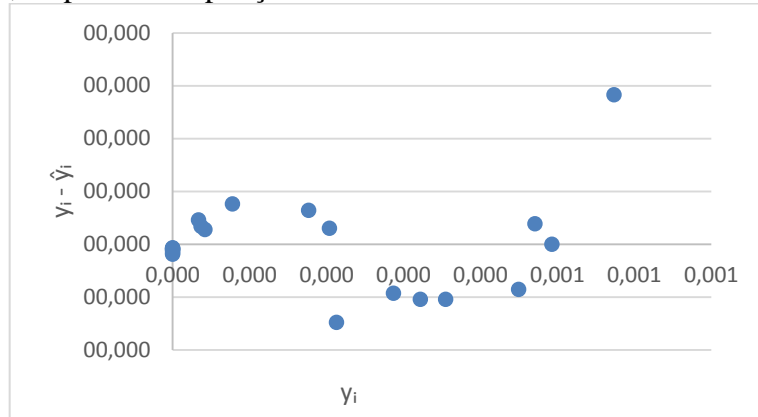
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 19 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura D a 10°C para o modelo Logístico Modificado, na primeira repetição.



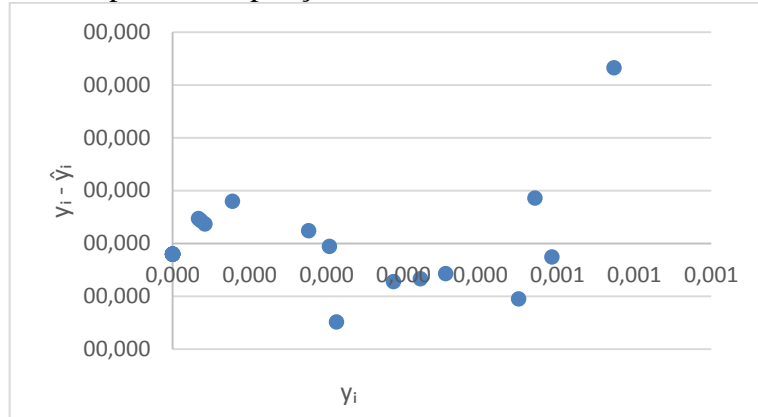
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 20 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura E a 10°C para o modelo Logístico, na primeira repetição.



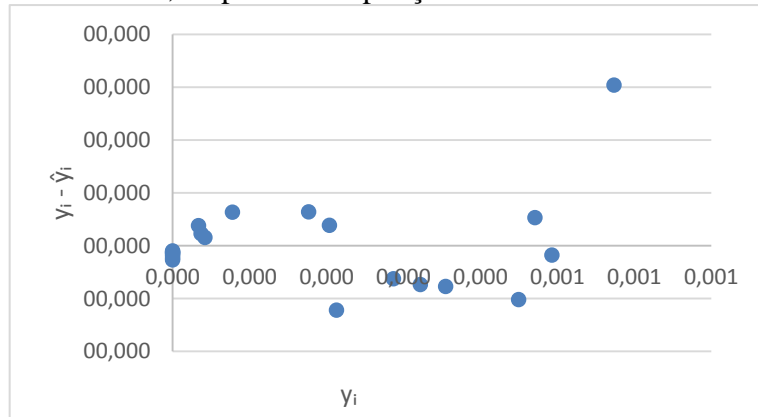
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 21 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura E a 10°C para o modelo de Gompertz, na primeira repetição.



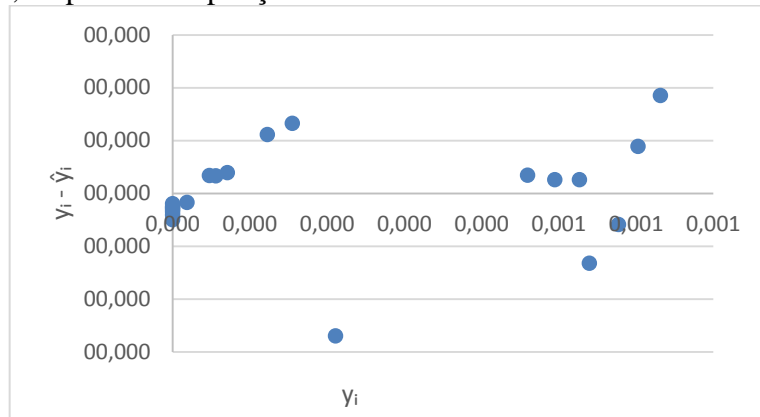
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 22 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura E a 10°C para o modelo Logístico Modificado, na primeira repetição.



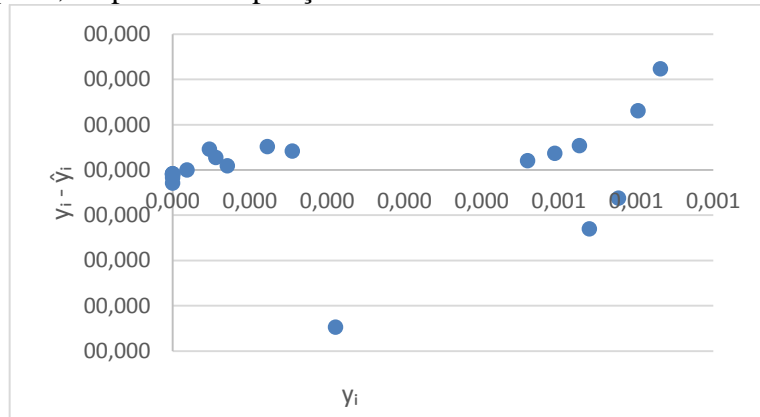
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 23 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura F a 10°C para o modelo Logístico, na primeira repetição.



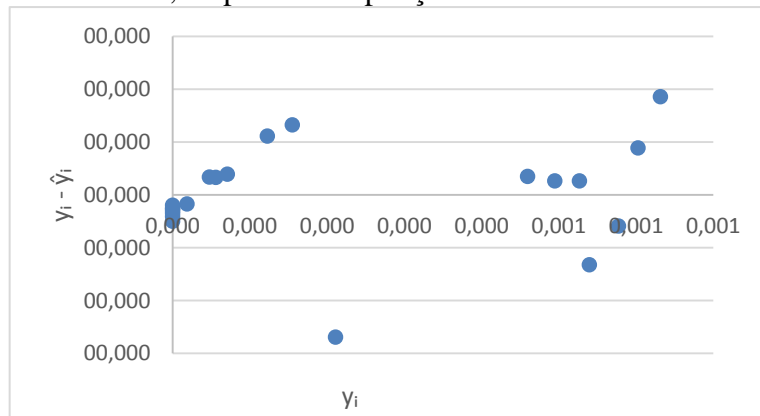
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 24 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura F a 10°C para o modelo de Gompertz, na primeira repetição.



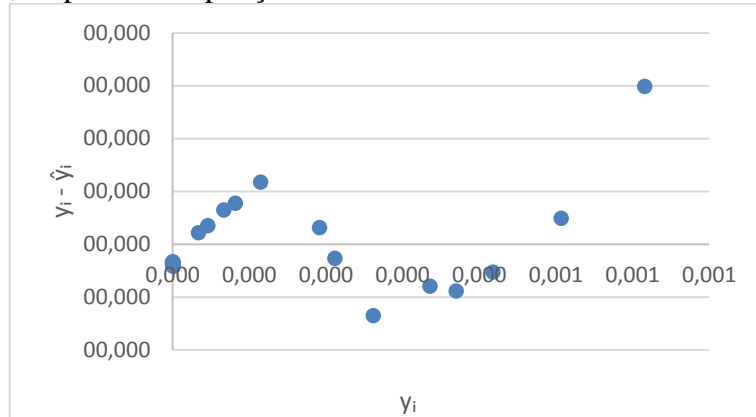
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 25 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura F a 10°C para o modelo Logístico Modificado, na primeira repetição.



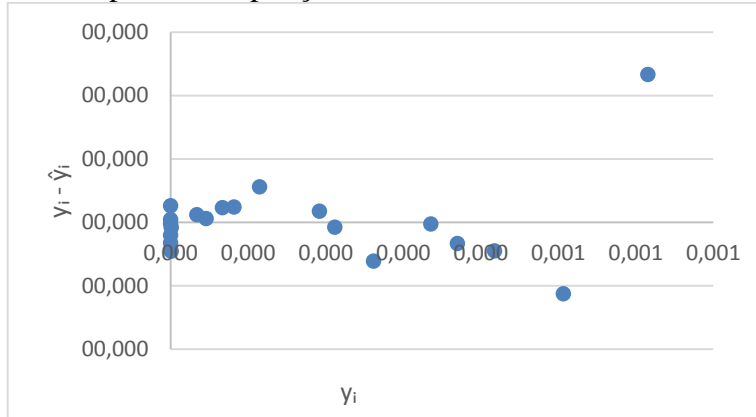
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 26 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura G a 10°C para o modelo Logístico, na primeira repetição.



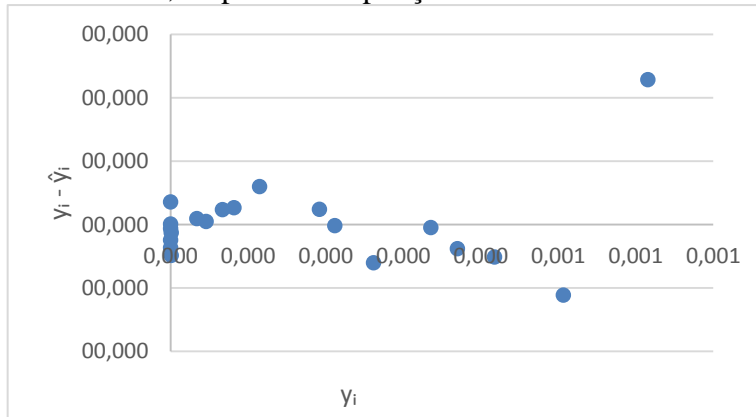
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 27 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura G a 10°C para o modelo de Gompertz, na primeira repetição.



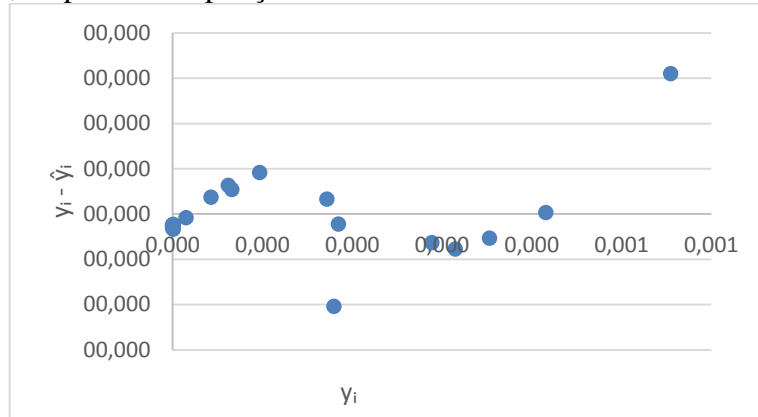
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 28 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura G a 10°C para o modelo Logístico Modificado, na primeira repetição.



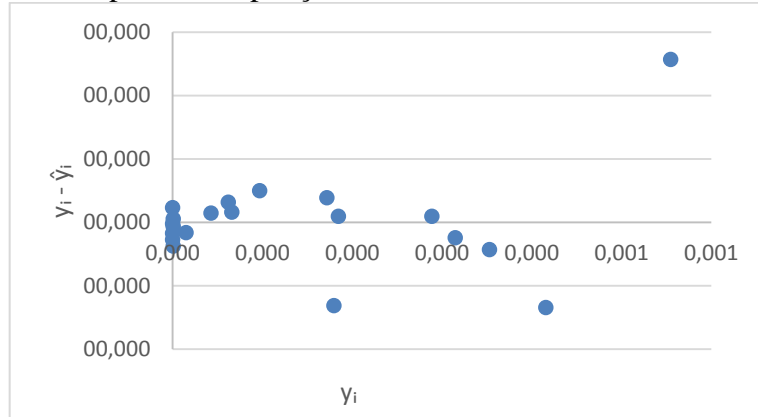
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 29 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura H a 10°C para o modelo Logístico, na primeira repetição.



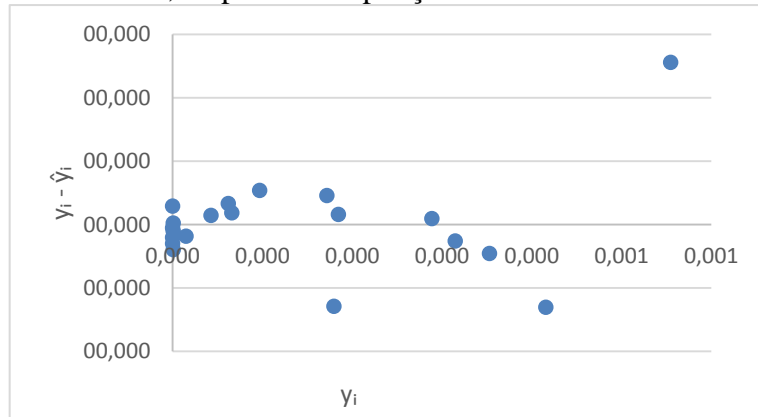
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 30 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura H a 10°C para o modelo de Gompertz, na primeira repetição.



$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 31 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura H a 10°C para o modelo Logístico Modificado, na primeira repetição.

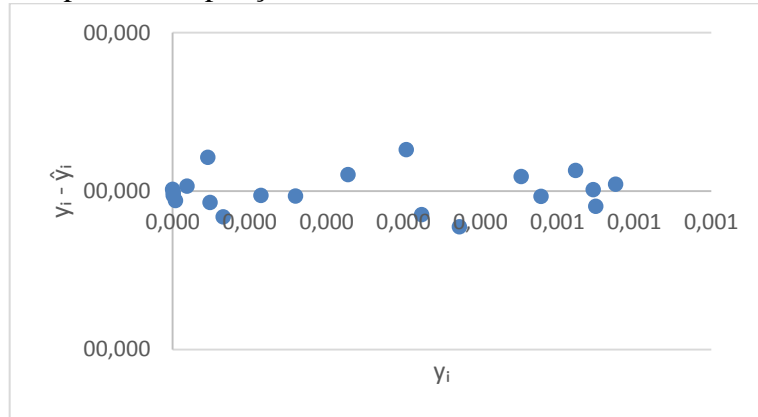


$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.



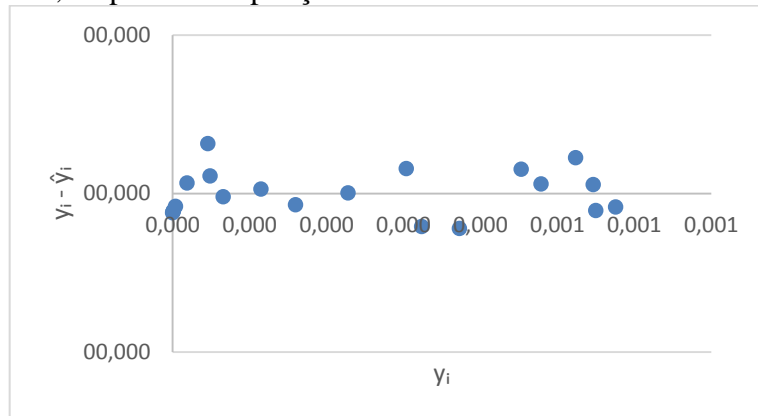
APÊNDICE F – Resíduo dos experimentos realizados para meio de cultura com inibidores a 15°C, na primeira repetição

Gráfico 32 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura A a 15°C para o modelo Logístico, na primeira repetição.



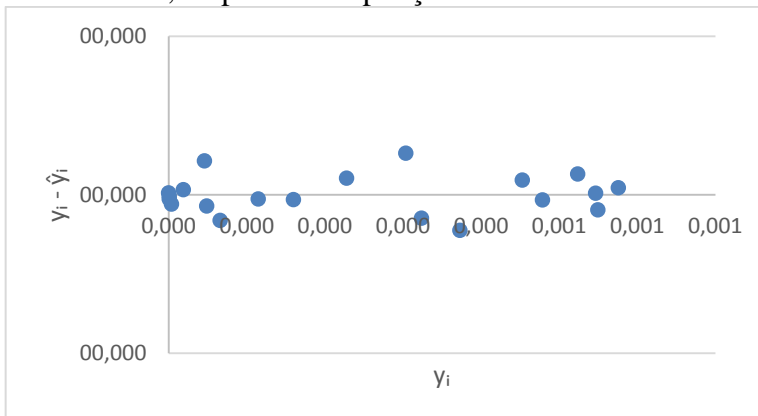
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 33 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura A a 15°C para o modelo de Gompertz, na primeira repetição.



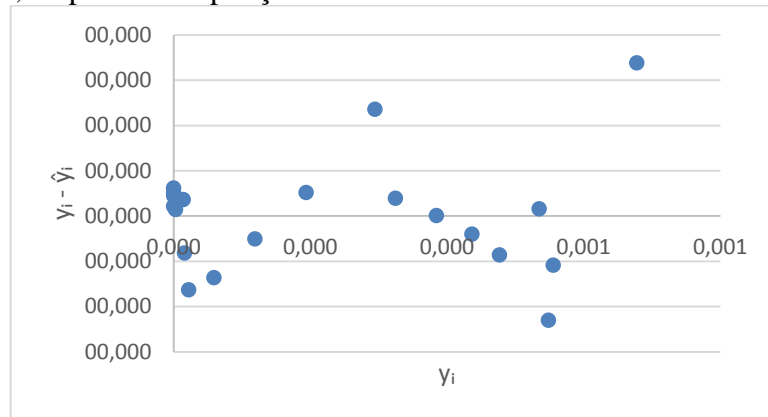
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 34 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura A a 15°C para o modelo Logístico Modificado, na primeira repetição.



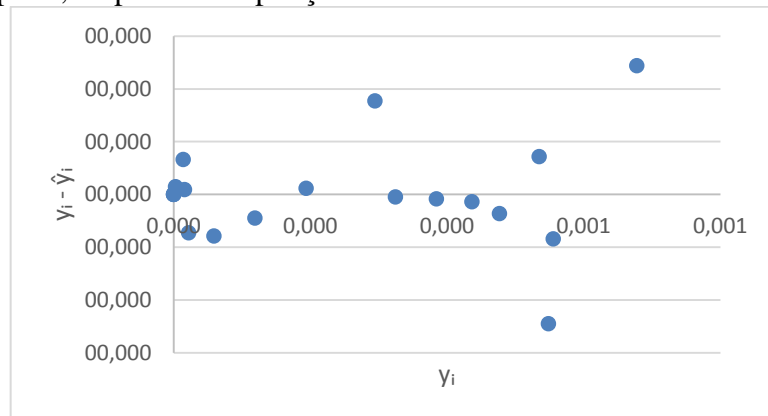
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 35 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura B a 15°C para o modelo Logístico, na primeira repetição.



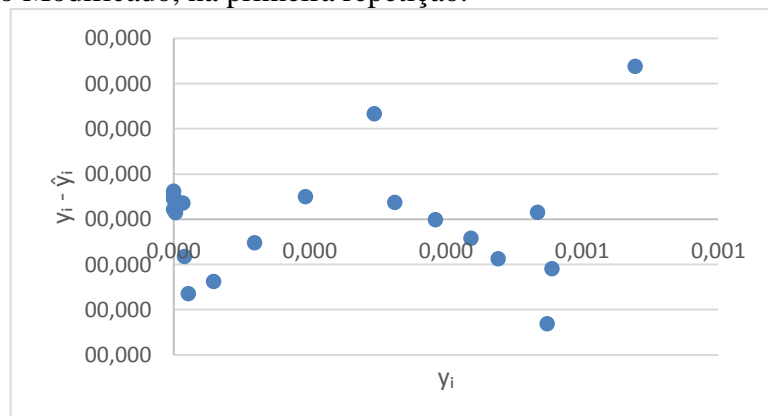
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 36 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura B a 15°C para o modelo de Gompertz, na primeira repetição.



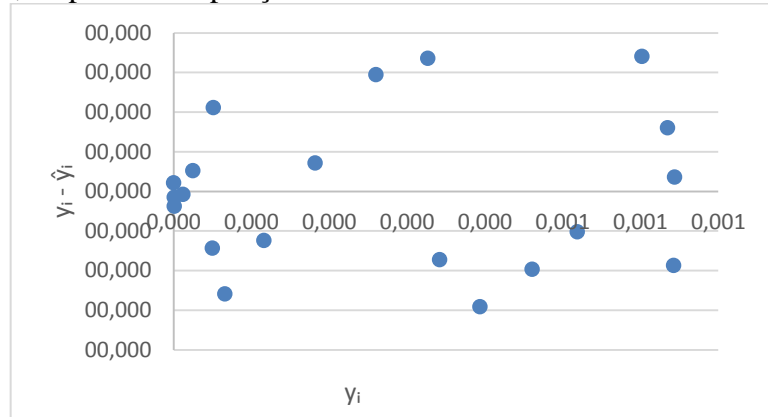
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 37 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura B a 15°C para o modelo Logístico Modificado, na primeira repetição.



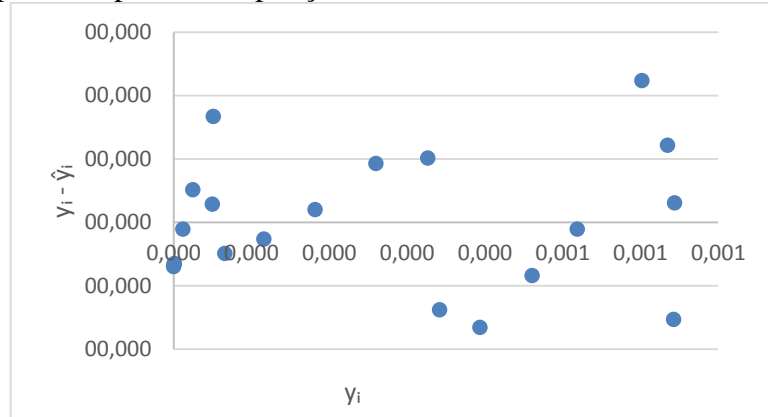
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 38 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura C a 15°C para o modelo Logístico, na primeira repetição.



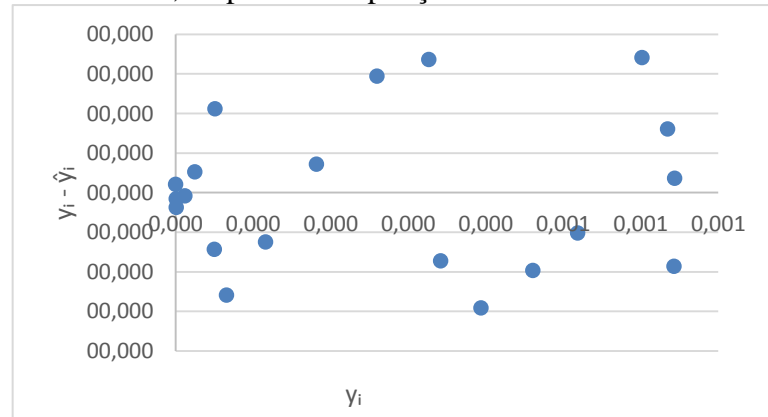
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 39 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura C a 15°C para o modelo de Gompertz, na primeira repetição.



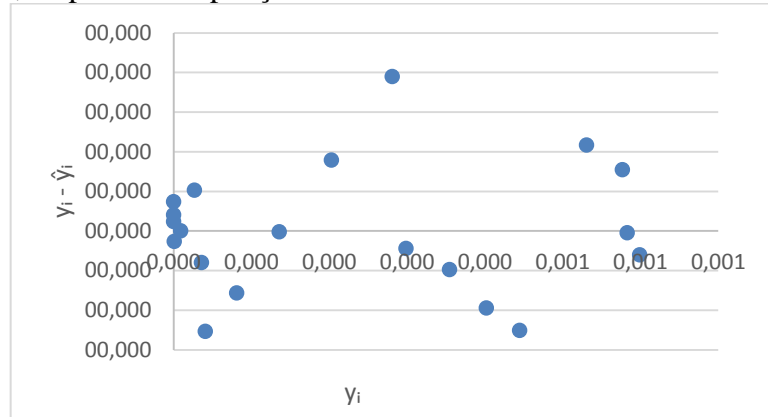
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 40 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura C a 15°C para o modelo Logístico Modificado, na primeira repetição.



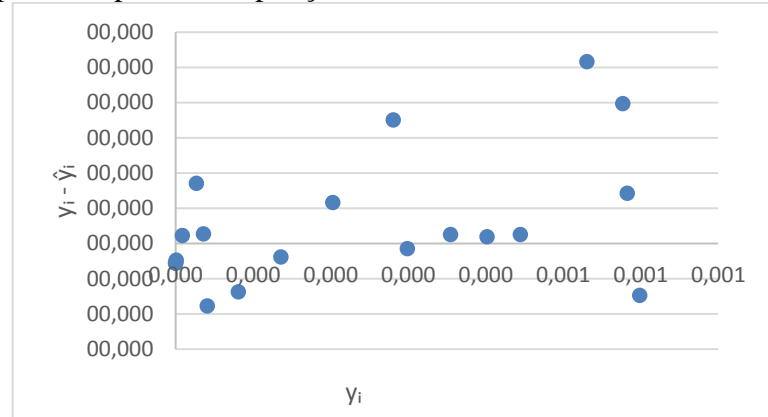
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 41 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura D a 15°C para o modelo Logístico, na primeira repetição.



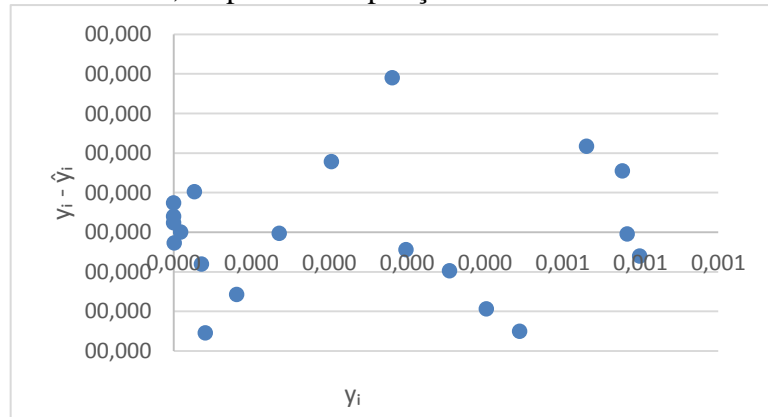
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 42 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura D a 15°C para o modelo de Gompertz, na primeira repetição.



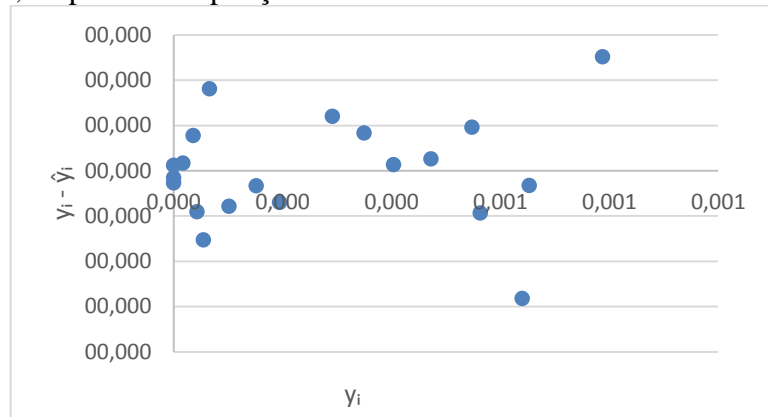
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 43 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura D a 15°C para o modelo Logístico Modificado, na primeira repetição.



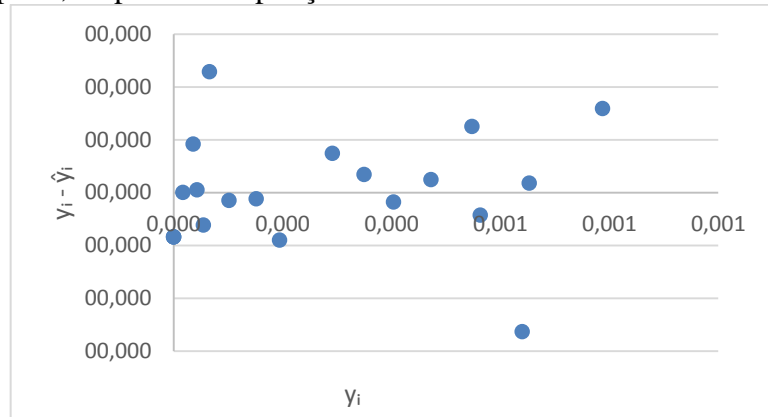
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 44 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura E a 15°C para o modelo Logístico, na primeira repetição.



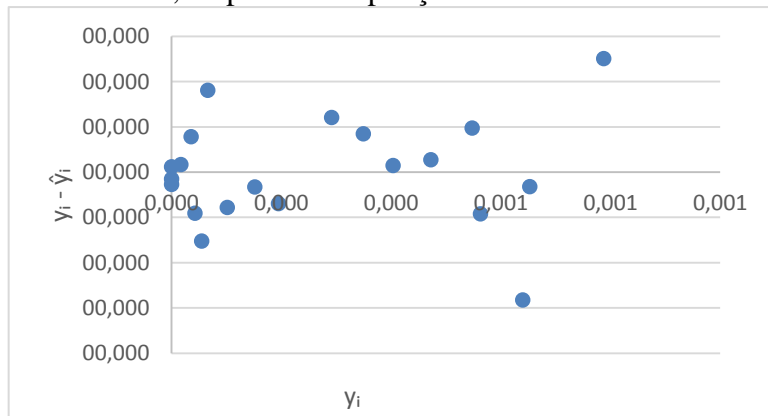
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 45 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura E a 15°C para o modelo de Gompertz, na primeira repetição.



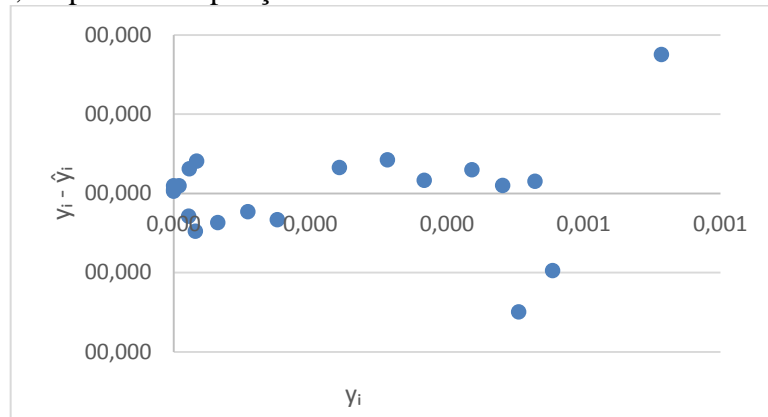
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 46 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura E a 15°C para o modelo Logístico Modificado, na primeira repetição.



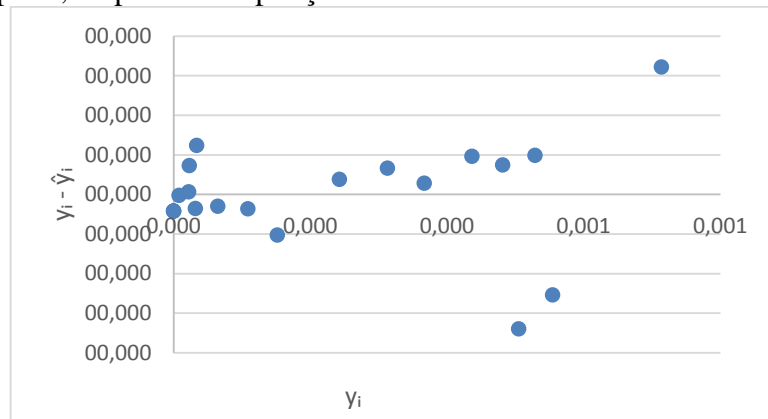
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 47 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura F a 15°C para o modelo Logístico, na primeira repetição.



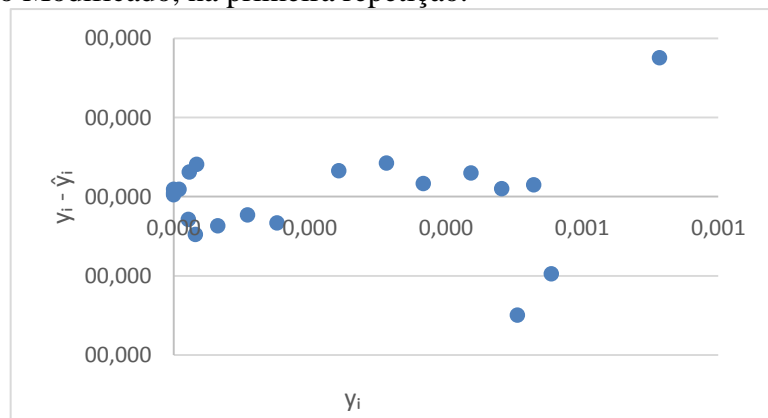
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 48 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura F a 15°C para o modelo de Gompertz, na primeira repetição.



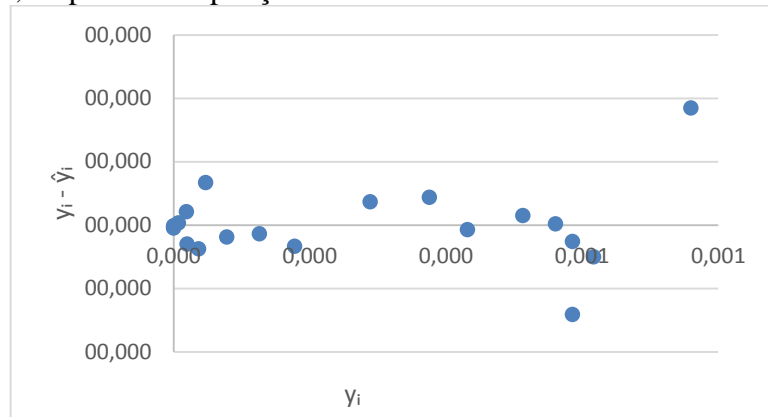
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 49 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura F a 15°C para o modelo Logístico Modificado, na primeira repetição.



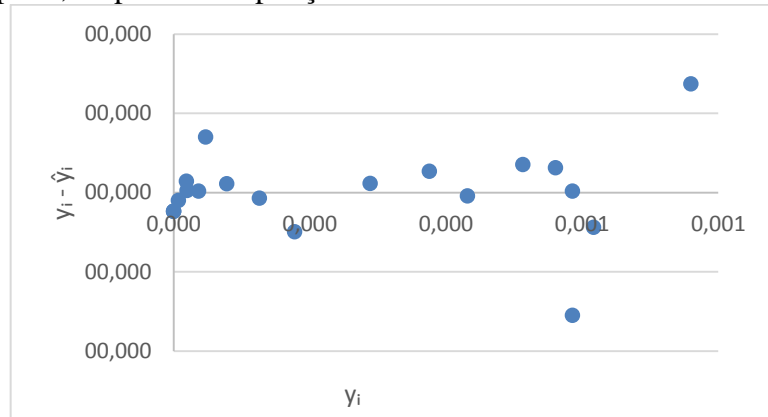
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 50 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura G a 15°C para o modelo Logístico, na primeira repetição.



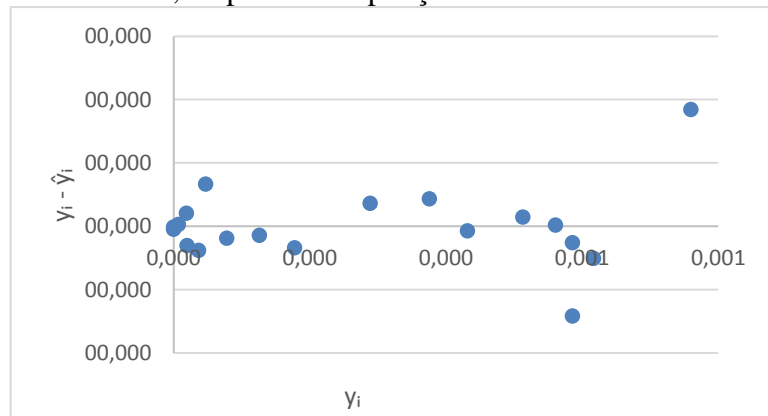
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 51 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura G a 15°C para o modelo de Gompertz, na primeira repetição.



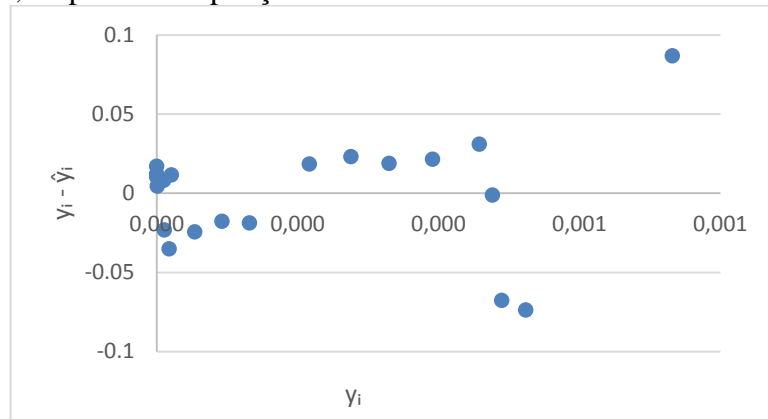
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 52 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura G a 15°C para o modelo Logístico Modificado, na primeira repetição.



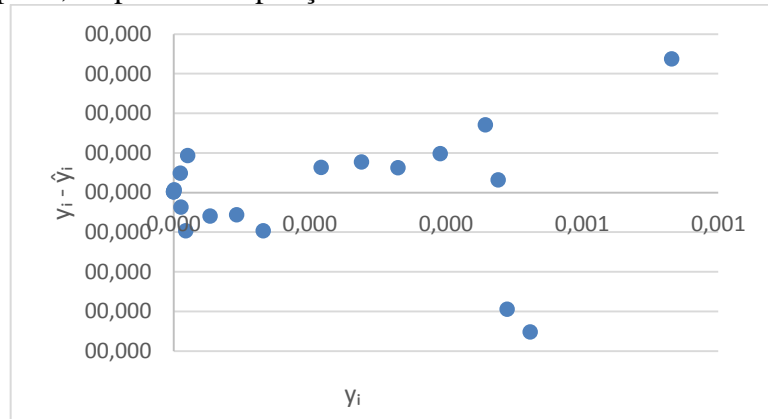
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 53 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura H a 15°C para o modelo Logístico, na primeira repetição.



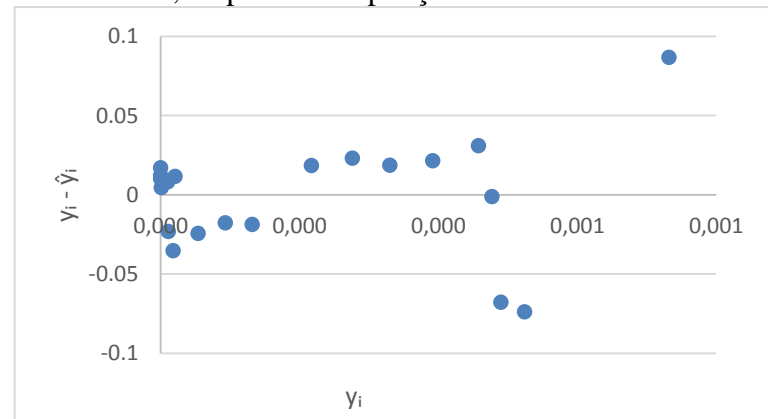
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 54 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura H a 15°C para o modelo de Gompertz, na primeira repetição.



$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 55 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura H a 15°C para o modelo Logístico Modificado, na primeira repetição.

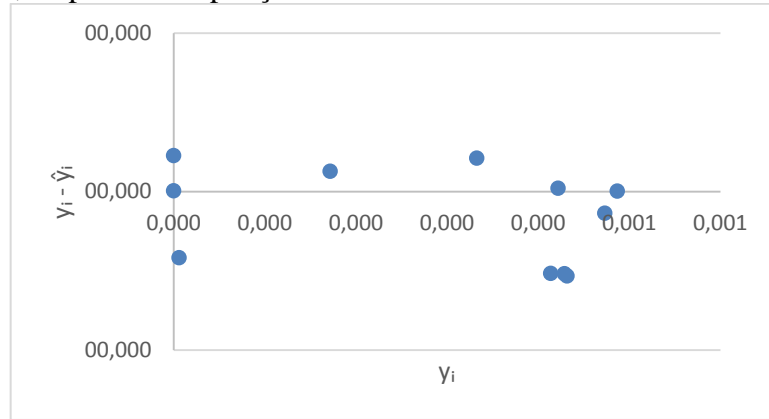


$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.



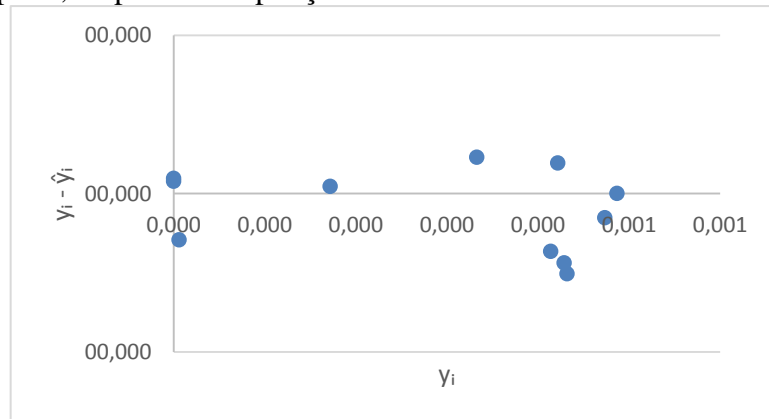
APÊNDICE G – Resíduo dos experimentos realizados para meio de cultura com inibidores a 37°C, na primeira repetição

Gráfico 56 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura A a 37°C para o modelo Logístico, na primeira repetição.



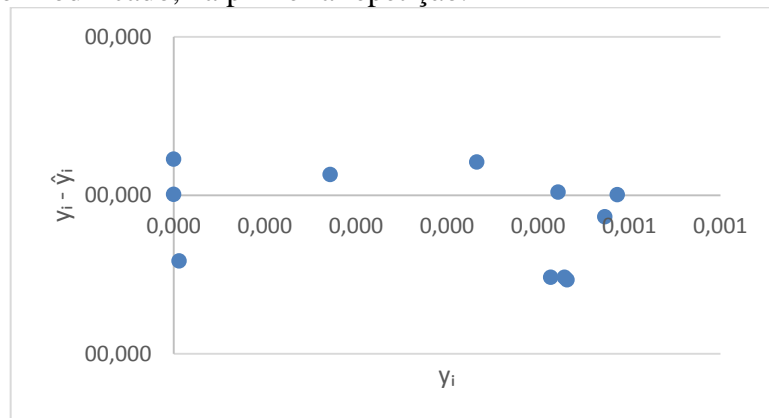
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 57 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura A a 37°C para o modelo de Gompertz, na primeira repetição.



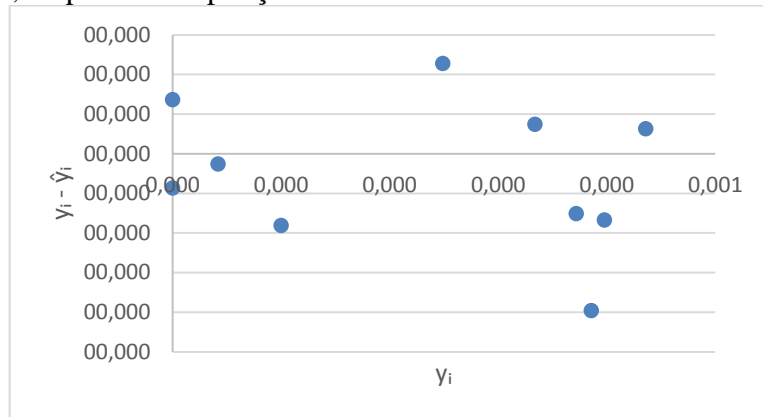
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 58 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura A a 37°C para o modelo Logístico Modificado, na primeira repetição.



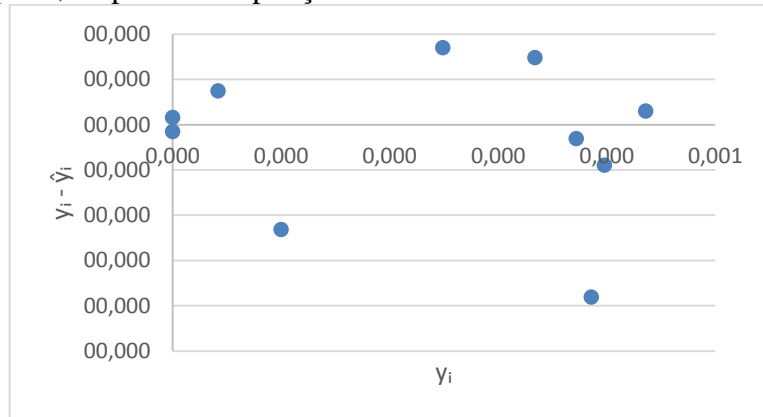
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 59 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura B a 37°C para o modelo Logístico, na primeira repetição.



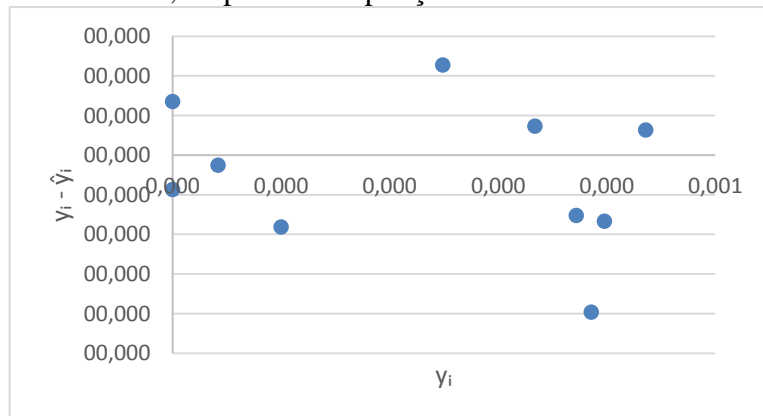
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 60 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura B a 37°C para o modelo de Gompertz, na primeira repetição.



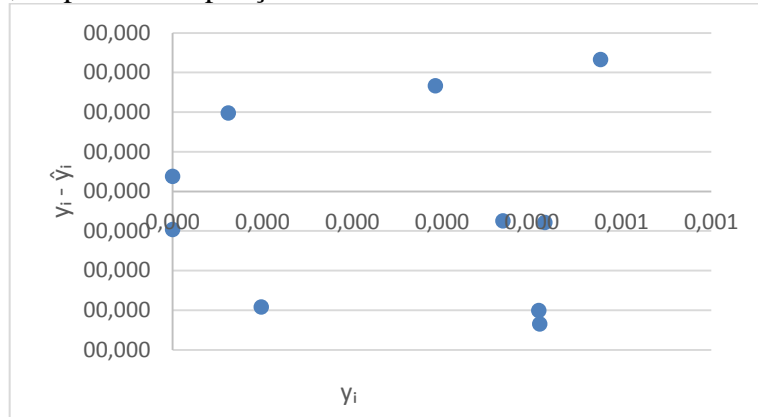
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 61 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura B a 37°C para o modelo Logístico Modificado, na primeira repetição.



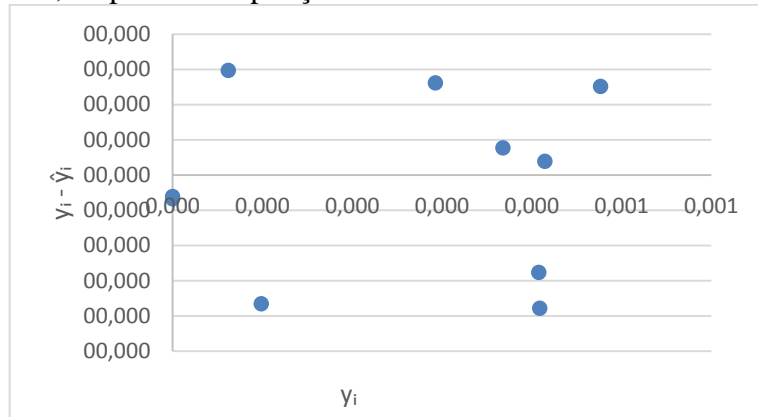
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 62 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura C a 37°C para o modelo Logístico, na primeira repetição.



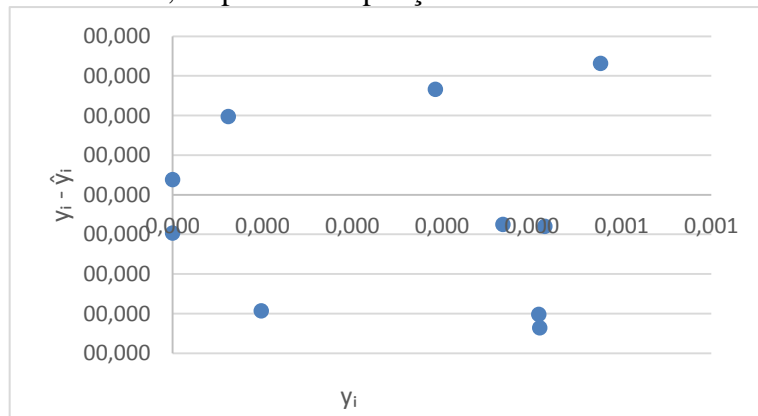
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 63 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura C a 37°C para o modelo de Gompertz, na primeira repetição.



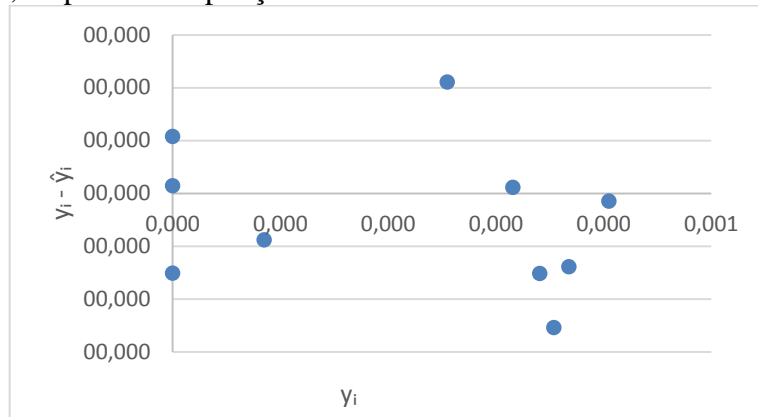
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 64 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura C a 37°C para o modelo Logístico Modificado, na primeira repetição.



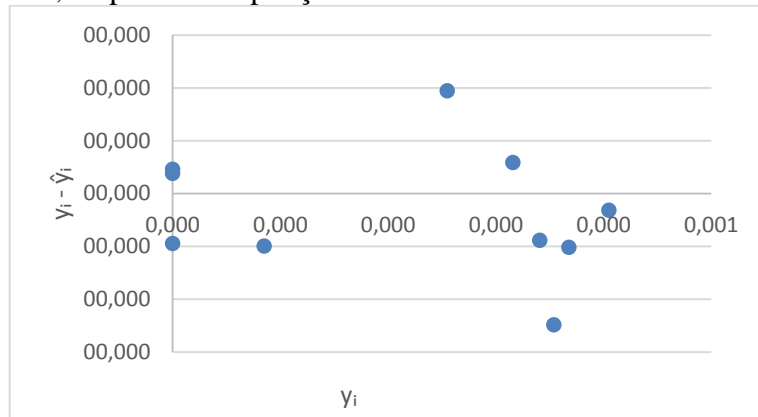
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 65 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura D a 37°C para o modelo Logístico, na primeira repetição.



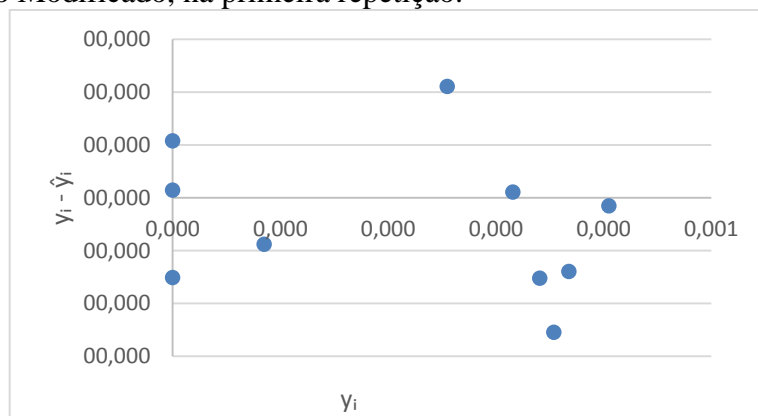
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 66 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura D a 37°C para o modelo de Gompertz, na primeira repetição.



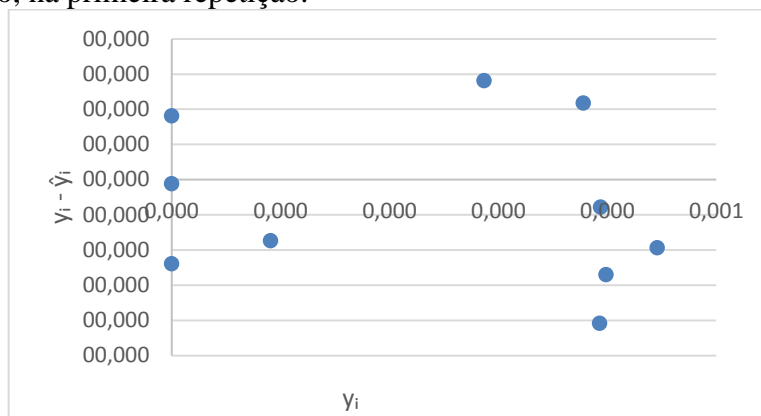
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 67 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura D a 37°C para o modelo Logístico Modificado, na primeira repetição.



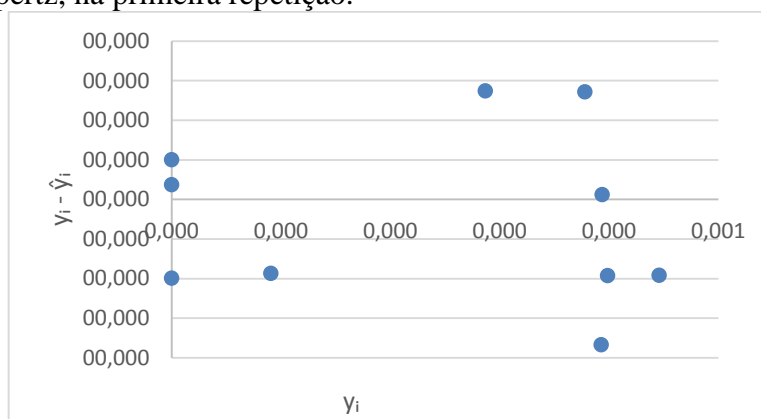
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 68 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura E a 37°C para o modelo Logístico, na primeira repetição.



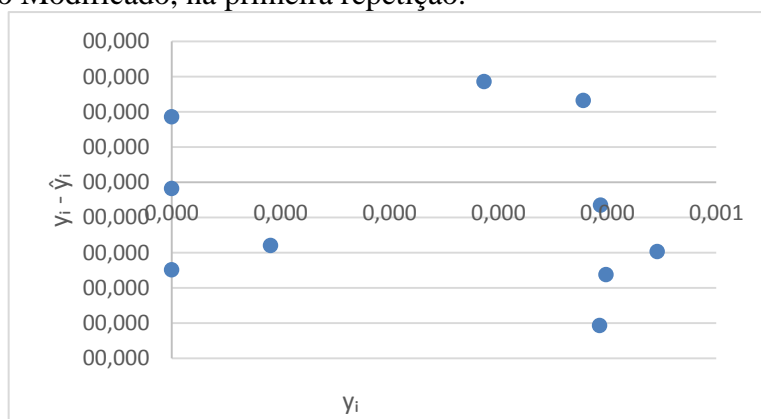
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 69 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura E a 37°C para o modelo de Gompertz, na primeira repetição.



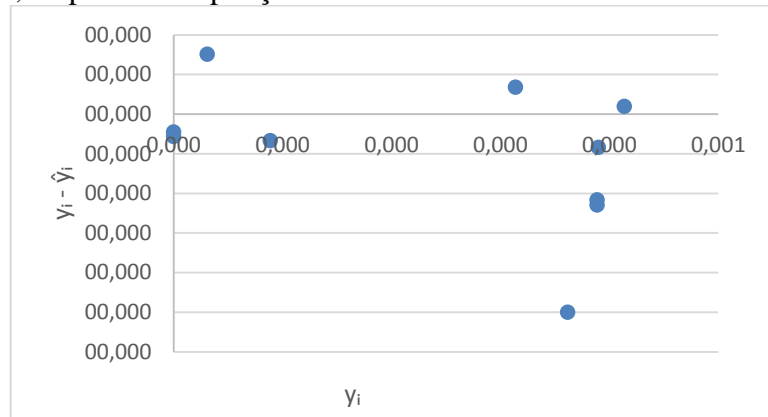
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 70 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura E a 37°C para o modelo Logístico Modificado, na primeira repetição.



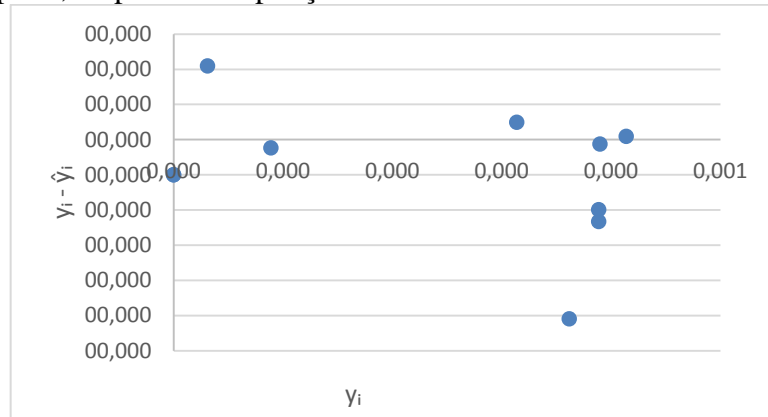
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 71 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura F a 37°C para o modelo Logístico, na primeira repetição.



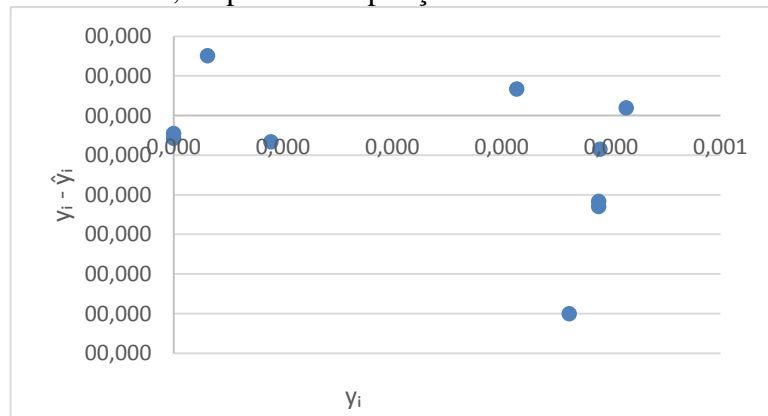
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 72 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura F a 37°C para o modelo de Gompertz, na primeira repetição.



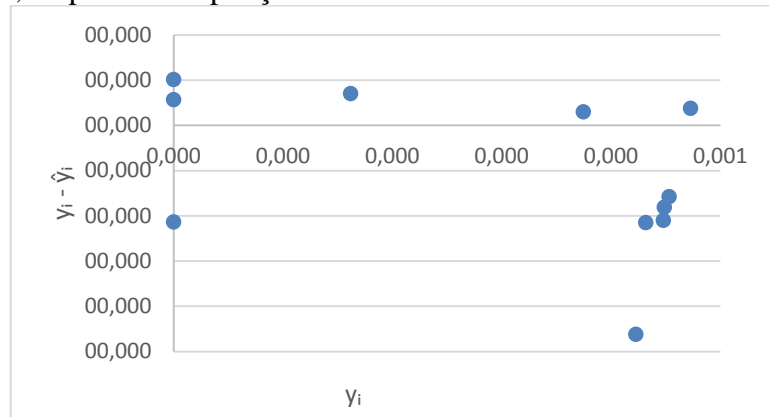
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 73 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura F a 37°C para o modelo Logístico Modificado, na primeira repetição.



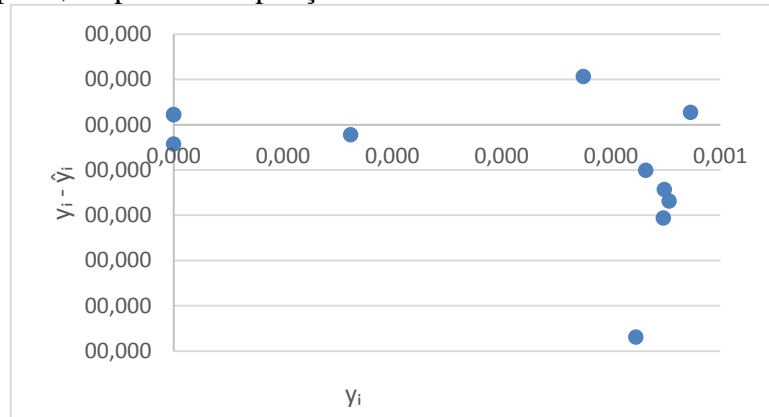
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 74 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura G a 37°C para o modelo Logístico, na primeira repetição.



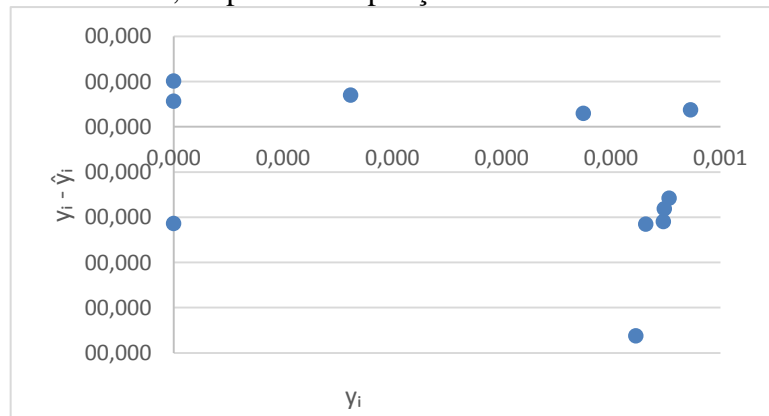
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 75 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura G a 37°C para o modelo de Gompertz, na primeira repetição.



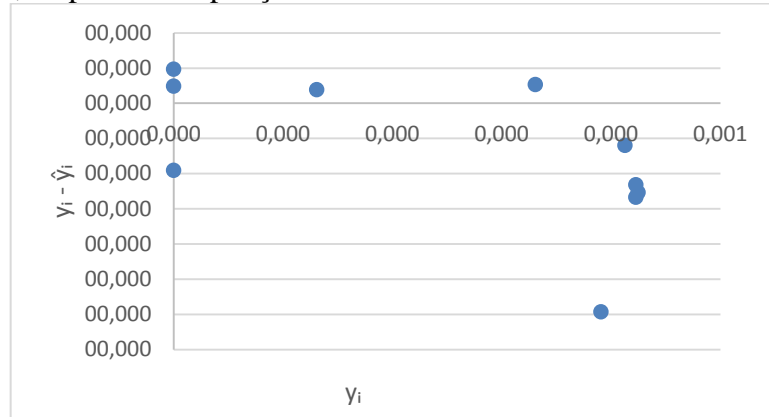
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 76 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura G a 37°C para o modelo Logístico Modificado, na primeira repetição.



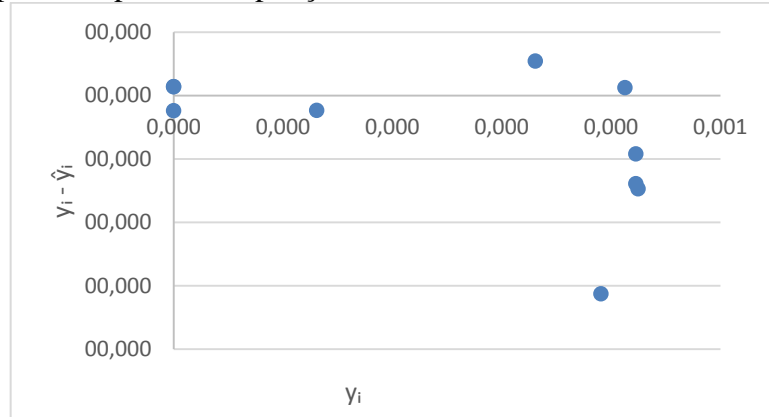
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 77 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura H a 37°C para o modelo Logístico, na primeira repetição.



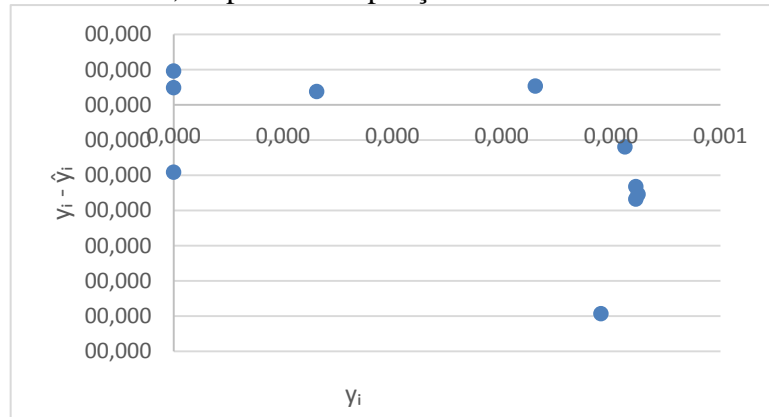
$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 78 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura H a 37°C para o modelo de Gompertz, na primeira repetição.



$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.

Gráfico 79 – Resíduo do experimento realizado para o meio de cultura H a 37°C para o modelo Logístico Modificado, na primeira repetição.



$y_i$  = valor observado: absorvância;  $\hat{y}_i$  = valor predito.