



## **AVALIAÇÃO *IN SILICO* DA EFICÁCIA DE BIOCONSERVANTE NO CONTROLE DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* E PROLONGAMENTO DA VIDA ÚTIL DE LINGUIÇAS COZIDAS EMBALADAS A VÁCUO**

ALOIZIO LEMOS DE LIMA; ANDRÉ FIORAVANTE GUERRA; AMANDA FELIX SILVA DE OLIVEIRA; ROBERTO LAUREANO MELO; ROSA HELENA LUCHESE

### **RESUMO**

Os produtos à base de carne são altamente suscetíveis à ação microbiana e necessitam de medidas de controle para prevenir a deterioração prematura e riscos ao consumidor. *Listeria monocytogenes* (*Lm*) é o agente patogênico causador de listeriose, uma doença grave com altas taxas de hospitalização e mortalidade. Neste estudo, linguiças cozidas embaladas a vácuo (LCEV) foram intencionalmente contaminadas com um pool de cepas de *Lm* para simular uma contaminação pós processamento térmico extrema. As LCEV contaminadas foram submetidas a tratamentos de imersão de curta duração (1 minuto) com um bioconservante contendo pós-bióticos potenciais (BCPP\_YE) e controles. A eficácia dos tratamentos foi avaliada em relação a *Lm*, bactérias ácido láticas (BAL) e contagem total de bactérias (CTB). A vida de prateleira das LCEV foi estimada em diferentes perfis de temperatura com auxílio do software de modelagem preditiva MicroLab\_Shelf-Life. Os tratamentos por imersão em BCPP\_YE apresentaram efeito bactericida, sendo capazes de reduzir a carga microbiana inicial das LCEV. Todavia, não foram capazes de impedir o crescimento de *Lm*, BAL e CTB em temperaturas mais elevadas. Os resultados preditivos revelaram que a manutenção da temperatura de refrigeração a 7°C foi um fator de barreira eficiente para controlar a população de *Lm* por mais de 180 dias e estender a vida de prateleira das LCEV por até 135 dias. Bioconservantes como o BCPP\_YE podem ajudar a reduzir o crescimento microbiano em produtos cárneos prontos para o consumo quando associados a outras medidas de controle. Este trabalho corrobora os resultados apresentados em pesquisas anteriores e reforça o potencial do BCPP\_YE como conservante para produtos cárneos.

**Palavras-chave:** Listeriose; deterioração; pós-bióticos, microbiologia preditiva; durabilidade.

### **1 INTRODUÇÃO**

As doenças transmitidas por alimentos são uma preocupação constante para as indústrias de processamento e agências de saúde pública em todo o mundo. Entre os patógenos mais preocupantes está a *Lm*, a bactéria responsável pela listeriose. A listeriose é uma infecção grave que apresenta altas taxas de hospitalização e mortalidade. Os casos mais severos da doença podem resultar em septicemia, meningite e outras complicações que podem levar à morte, representando um perigo particular para mulheres grávidas, recém-nascidos, idosos e indivíduos com sistemas imunológicos comprometidos (EFSA e ECDC, 2022).

Os alimentos prontos para o consumo (APC) à base de carne têm sido frequentemente associados a casos de listeriose. Além disso, uma alta porcentagem de amostras da indústria ou coletadas no varejo por agências reguladoras vem apresentando resultado positivo para *Lm* (EFSA e ECDC, 2022). Esses dados soam um alarme e demonstram que, apesar dos constantes investimentos e avanços tecnológicos na indústria de carne, o cumprimento dos padrões de qualidade e segurança microbiológica ao longo da vida útil do produto muitas vezes não é alcançado.

Essa situação pode ser exacerbada quando os APC à base de carne são sujeitos a fracionamento inadequado no varejo e/ou abuso de temperatura durante o transporte e armazenamento (Lima *et al.*, 2022). Tais ocorrências não são incomuns. Por exemplo, em algumas regiões do Brasil, produtos como linguiças cozidas embaladas a vácuo (LCEV) e bacon são tradicionalmente vendidos à temperatura ambiente, expostos em balcões ou prateleiras sem refrigeração. Portanto, medidas adicionais devem ser pesquisadas para contribuir para a mitigação dos riscos à saúde do consumidor em uma estratégia de múltiplas barreiras.

Bioconservantes contendo potenciais pós-bióticos, produzidos a partir da fermentação de caldos por bactérias ácido lácticas, tratados termicamente e sem isolamento ou purificação de substâncias antimicrobianas foram relatados como uma alternativa promissora e de baixo custo para prevenir microrganismos indesejáveis em produtos de carne (Lima *et al.*, 2022). No entanto, avaliações testando o método de aplicação mais eficaz nesses produtos são escassas.

Tratamentos antimicrobianos por imersão de curta duração foram apresentados em outros trabalhos (Bodie *et al.*, 2022; Geornaras *et al.*, 2006) como uma alternativa para a aplicação de conservantes em salsichas antes da etapa de embalagem. Essa abordagem foi pensada para aproveitar a etapa de resfriamento em banho de gelo que ocorre após o cozimento das salsichas.

O bioconservante BCPP\_YE é produzido a partir da fermentação de um meio de caldo por uma cultura propagada de *Lactocaseibacillus paracasei* DTA 83. Essa cepa, isolada de fezes de recém-nascidos, foi identificada por sequenciamento de rDNA 16S usando RAPD-PCR (Guerra *et al.*, 2018) e integrada à coleção de culturas do laboratório de microbiologia de alimentos-DTA-UFRRJ. *L. paracasei* DTA 83 foi classificada com status GRAS (geralmente reconhecida como segura), caracterizada como potencialmente probiótica (Lemos-Junior *et al.*, 2019), relatada como tendo potencial para liberar compostos pós-bióticos (Oliveira *et al.*, 2021), capaz de biocontrolar o crescimento de *L. innocua*, *Salmonella Typhimurium*, *Candida albicans* e *Escherichia coli* mesmo após a redução parcial da viabilidade celular devido ao estresse no trânsito gastrointestinal (Tarrah *et al.*, 2019) e demonstrou bons resultados no controle da microbiota natural de LCEV quando confrontado com lactato de sódio (Lima *et al.*, 2022).

Este estudo teve como objetivo verificar, por meio de testes *in situ* e predições *in silico*, se o BCPP\_YE seria eficaz na extensão da vida útil e no controle da *Lm* quando aplicado por imersão de curta duração em LCEV.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Produção de BCPP\_YE

A produção de BCPP\_YE foi conduzida em escala industrial piloto na unidade industrial da BRC Ingredientes Ltda. em Rio Claro, SP, Brasil, conforme descrito por Lima *et al.* (2022). Resumidamente, uma formulação preparada com ingredientes de grau alimentício, mimetizando os nutrientes encontrados no caldo MRS, mas sem a adição de polissorbato 80 (Tween 80), foi usada como base do meio de fermentação. O caldo nutritivo foi tratado termicamente em um biorreator de tanque agitado com controle automático de temperatura e um medidor de pH. Uma cultura propagada de *L. paracasei* DTA 83 foi adicionada para a fermentação. O processo, conduzido a 36°C por aproximadamente 72 horas, foi acompanhado por uma queda de pH para cerca de 3,5. A fermentação foi interrompida com tratamento térmico a 95°C por 5 minutos. A presença de células viáveis de *L. paracasei* DTA 83 e/ou contaminantes foi investigada por contagens em placas de ágar MRS, ágar para contagem de placas (PCA) e ágar dextrose de batata acidificado para pH 3,5 com ácido tartárico.

### 2.2 Cepas de *Listeria monocytogenes* e preparação do inóculo

O inóculo de *Lm* foi preparado combinando alíquotas iguais de seis cepas de *Lm*,

cultivadas individualmente e padronizadas em *ca* 10<sup>8</sup> UFC/mL. Cinco cepas foram isoladas de produtos cárneos processados (CLIST 4165 - sorotipo 1/2a, CLIST 4396 - sorotipo 1/2b, CLIST 4405 - sorotipo 1/2a, CLIST 4642 - sorotipo 1/2b, e CLIST 4645 - sorotipo 1/2c), e uma cepa de referência (CLIST 3436 (Scott A) - sorotipo 4b), todas provenientes da Coleção de *Listeria* (CLIST) do Laboratório de Zoonoses Bacterianas (LABZOO) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

2.3 Preparação das amostras

Pacotes intactos e refrigerado, com 2,5 kg de linguiças tipo Calabresa, cozidas e embaladas a vácuo (LCEV), foram obtidos no comércio local e mantidos a 6°C±2°C até o momento do teste *in situ*. Todas as amostras eram do mesmo lote de produção.

O pool de *Lm* (*ca* de 10<sup>8</sup> UFC/mL) foi diluído em água peptonada até obter um inóculo padronizado contendo cerca de 10<sup>4</sup> UFC/mL.

As LCEV foram cortadas transversalmente com bisturi estéril em unidades de 100±0,5 g. Esse método expôs a massa da linguiça sem o envoltório de celulose no lado cortado. As amostras cortadas foram colocadas em uma bandeja de aço inoxidável e adicionadas de 1 mL do inóculo padronizado, distribuído uniformemente sobre cada amostra usando uma pipeta e espalhador descartável, para alcançar uma concentração final de cerca de 10<sup>2</sup> UFC/g de *Lm*. A bandeja foi coberta com duas camadas de filme de PVC e mantida refrigerada a 6°C±2°C por 1 hora para permitir a adesão do inóculo de *Lm* nas amostras de LCEV.

Após a adesão do inóculo de *Lm*, às amostras de LCEV foram sorteadas aleatoriamente e submetidas a três tratamentos, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Teste *in situ*. Tratamentos, temperaturas e tempos de incubação.

| Amostras Tratamentos |                                                                                                                                                                             | Incubação |        |
|----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|--------|
| A1                   |                                                                                                                                                                             | ---       | ---    |
| A2                   | T1 – <b>Tratamento com BCPP_YE</b> . Imersão das amostras de LCEV, previamente inoculadas com o pool de <i>Lm</i> , em solução de BCPP_YE (x)% por 1 minuto (x = 1% ou 5%). | de30°C    | 3 dias |
| A3                   |                                                                                                                                                                             | de30°C    | 7 dias |
| A4                   |                                                                                                                                                                             | 7°C       | 5 dias |
| A5                   |                                                                                                                                                                             | 7°C       | 9 dias |
| A6                   |                                                                                                                                                                             | ---       | ---    |
| A7                   | T2 – <b>Controle com água</b> . Imersão das amostras de LCEV, previamente inoculadas com o pool de <i>Lm</i> , em água destilada estéril por 1 minuto.                      | 30°C      | 3 dias |
| A8                   |                                                                                                                                                                             | 30°C      | 7 dias |
| A9                   |                                                                                                                                                                             | 7°C       | 5 dias |
| A10                  |                                                                                                                                                                             | 7°C       | 9 dias |
| A11                  |                                                                                                                                                                             | ---       | ---    |
| A12                  | T3 – <b>Controle sem imersão</b> . Apenas amostras LCEV, inoculadas com o pool de <i>Lm</i> e embaladas a vácuo.                                                            | 30°C      | 3 dias |
| A13                  |                                                                                                                                                                             | 30°C      | 7 dias |
| A14                  |                                                                                                                                                                             | 7°C       | 5 dias |
| A15                  |                                                                                                                                                                             | 7°C       | 9 dias |

\* Todas as amostras foram embaladas individualmente a vácuo após os tratamentos.

2.4 Desenho experimental

A metodologia do modelo preditivo MicroLab\_Shelf-Life (Guerra *et al.*, 2023) foi utilizada no delineamento do teste *in situ*. Resumidamente, uma unidade amostral (n=1) de cada tratamento foi analisada para *Lm*, BAL e CTB no tempo zero (dia da inoculação). Duas unidades (n=2) foram incubadas a 7°C e analisadas nos tempos t = 5 dias e t = 9 dias; e duas unidades (n=2) foram incubadas a 30°C e analisadas nos tempos t = 3 dias e t = 7 dias, para os

mesmos grupos de microrganismos (Tabela 1).

## 2.5 Análises microbiológicas

As contagens de *Lm*, BAL e CTB foram realizadas, respectivamente, de acordo com os seguintes padrões: ABNT NBR ISO 11290-2:2020 (ABNT, 2020), ISO 15214:1998 (ISO, 1998) e ABNT NBR ISO 4833-2:2015 (ABNT, 2015).

## 2.6 Estudo de Eficácia dos tratamentos, durabilidade e análises estatísticas

O software de modelagem preditiva, MicroLab\_Shelf-Life, foi utilizado para avaliar a eficácia dos tratamentos (Tabela 1), o efeito da temperatura associado aos tratamentos e estimar a vida útil (durabilidade) das amostras de LCEV sob diferentes perfis de temperatura. Os perfis foram: 7°C, 12°C, 22°C e 30°C.

O fim da vida útil para *Lm* foi estabelecido quando a população atingiu 3,3 log UFC/g (WHO, 2022), para BAL quando a população atingiu 6,0 log UFC/g, e para CTB quando a contagem microbiana total atingiu 9,33 log UFC/g (Guerra *et al.*, 2023).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As contagens de *Lm*, BAL e CTB, expressas em log UFC/g, bem como o percentual de redução dos tratamentos por imersão em BCPP\_YE 1% ou BCPP\_YE 5% em relação aos respectivos controles (tratamentos por imersão em água destilada estéril e controle sem imersão), são apresentadas na tabela 2.

A Tabela 3 apresenta os resultados da avaliação preditiva para os tratamentos envolvendo imersão em BCPP\_YE 1% e BCPP\_YE 5%, com seus respectivos controles.

O tratamento de imersão em BCPP\_YE 5% apresentou forte efeito bactericida. No tempo zero, houve redução de 81,82% na população *Lm* e 84,85% na CTB, em comparação ao controle sem imersão. A redução no tratamento a 1% foi de 10,53% para *Lm* e 41,18% para CTB. No tempo zero, a imersão em água destilada e o controle sem imersão apresentaram contagens semelhantes, indicando que a redução microbiana foi devido a ação do BCPP\_YE. A menor contagem de microrganismos observada no tempo zero em relação aos controles também foi verificada nas amostras incubadas a 7°C por 5 e 9 dias e 30°C por 3 e 7 dias.

Resultados satisfatórios quanto à extensão da vida útil de produtos cárneos podem ser alcançados através da redução da carga microbiana inicial. Nesse sentido, a imersão de LCEV em BCPP\_YE antes da embalagem a vácuo poderia contribuir como um fator de barreira adicional.

Outros estudos também relataram diminuição da carga microbiana inicial em salsichas submetidas a tratamentos de imersão em solução de ácido acético 2,5%, ácido láctico 2,5%, benzoato de potássio 5%, nisina 0,5% e combinações dos antimicrobianos. A imersão foi realizada por 2 minutos e a redução inicial variou de 1 a 1,8 log UFC/cm<sup>2</sup>, chegando a 3,8 log UFC/cm<sup>2</sup> nos tratamentos combinados com nisina, dependendo da origem do inóculo. Entretanto, foi observado crescimento significativo em todos os tratamentos durante o armazenamento a 10°C (Geornaras *et al.*, 2006).

Apesar dos tratamentos por imersão das LCEV em solução de BCPP\_YE 1% e BCPP\_YE 5% terem apresentado redução de carga microbiana quando comparados com os respectivos controles, não foram eficazes no controle das populações microbianas nas temperaturas mais elevadas (atingindo o limite máximo estipulado bem antes do prazo de validade – conforme verificado na Tabela 2 e nas análises preditivas apresentadas na tabela 3). Desta forma, a manutenção da temperatura fria é essencial para evitar o crescimento de grupos microbianos que, favorecidos pelas temperaturas elevadas, poderiam apresentar riscos à saúde do consumidor e/ou antecipar o aparecimento de atributos de deterioração antes do prazo de validade estipulado pelo fabricante (Guerra *et al.*, 2023).

Melhores resultados foram obtidos adicionando bioconservante dentro da embalagem na proporção de 1% do peso de LCEV (Lima *et al.*, 2022). Nesta abordagem, o bioconservante fica em contato com as LCEV até o momento da abertura do pacote. Como o BCPP\_YE não apresentou ação antimicrobiana residual quando aplicado por imersão, a adição dentro da embalagem durante a vida útil de LCEV demonstrou ser uma alternativa mais promissora. De qualquer forma, a manutenção da temperatura de refrigeração não deve ser negligenciada, sendo o fator preponderante para o êxito nas duas abordagens.

**Tabela 2.** Percentual de redução da população de *Listeria monocytogenes* (Lm), bactérias ácido lácticas (BAL) e contagem total de bactérias (CTB) dos tratamentos por imersão em BCPP\_YE 1% e BCPP\_YE 5% em relação aos respectivos controles: tratamentos por imersão em água destilada estéril e controle sem imersão.

| Incubação         | Contagem /<br>% redução | <i>Listeria monocytogenes</i> (Lm) |         |          | <i>Listeria monocytogenes</i> (Lm) |        |          |
|-------------------|-------------------------|------------------------------------|---------|----------|------------------------------------|--------|----------|
|                   |                         | BCPP_YE 1%                         | Água    | Controle | BCPP_YE 5%                         | Água   | Controle |
| t0                | log UFC/g               | 2.23                               | 2.28    | 2.28     | 1.30                               | 2.08   | 2.04     |
|                   | % redução*              |                                    | 10.53%  | 10.53%   |                                    | 83.33% | 81.82%   |
| t = 3 dias (30°C) | log UFC/g               | 4.37                               | 5.29    | 4.97     | 3.51                               | 5.51   | 5.07     |
|                   | % redução*              |                                    | 88.09%  | 75.01%   |                                    | 99.02% | 97.26%   |
| t = 7 dias (30°C) | log UFC/g               | 7.28                               | 7.42    | 7.54     | 6.01                               | 7.20   | 7.44     |
|                   | % redução*              |                                    | 28.49%  | 45.07%   |                                    | 93.64% | 96.31%   |
| t = 5 dias (7°C)  | log UFC/g               | 1.00                               | 1.30    | 1.30     | <1.00                              | 1.48   | 1.30     |
|                   | % redução*              |                                    | 50.00%  | 50.00%   |                                    | 66.67% | 50.00%   |
| t = 9 dias (7°C)  | log UFC/g               | 1.30                               | 1.70    | 1.70     | 1.00                               | 1.70   | 1.78     |
|                   | % redução*              |                                    | 60.00%  | 60.00%   |                                    | 80.00% | 83.33%   |
| Incubação         | Contagem /<br>% redução | Bactérias Ácido Lácticas (BAL)     |         |          | Bactérias Ácido Lácticas (BAL)     |        |          |
|                   |                         | BCPP_YE 1%                         | Água    | Controle | BCPP_YE 5%                         | Água   | Controle |
| t0                | log UFC/g               | <2.00                              | <2.00   | <2.00    | <2.00                              | <2.00  | <2.00    |
|                   | % redução*              |                                    | 0.00%   | 0.00%    |                                    | 0.00%  | 0.00%    |
| t = 3 dias (30°C) | log UFC/g               | 6.11                               | 6.15    | 6.19     | 5.47                               | 6.38   | 6.37     |
|                   | % redução*              |                                    | 9.25%   | 16.94%   |                                    | 87.81% | 87.45%   |
| t = 7 dias (30°C) | log UFC/g               | 7.40                               | 7.34    | 7.37     | 5.97                               | 7.41   | 7.43     |
|                   | % redução*              |                                    | -13.64% | -6.38%   |                                    | 96.38% | 96.52%   |
| t = 5 dias (7°C)  | log UFC/g               | 2.30                               | 2.40    | 2.40     | 1.70                               | 2.30   | 2.18     |
|                   | % redução*              |                                    | 20.00%  | 20.00%   |                                    | 75.00% | 66.67%   |
| t = 9 dias (7°C)  | log UFC/g               | 2.30                               | 2.54    | 2.40     | 2.18                               | 2.30   | 2.40     |
|                   | % redução*              |                                    | 42.86%  | 20.00%   |                                    | 25.00% | 40.00%   |
| Incubação         | Contagem /<br>% redução | Contagem Total de Bactérias (CTB)  |         |          | Contagem Total de Bactérias (CTB)  |        |          |
|                   |                         | BCPP_YE 1%                         | Água    | Controle | BCPP_YE 5%                         | Água   | Controle |
| t0                | log UFC/g               | 3.00                               | 3.27    | 3.23     | 2.40                               | 3.20   | 3.22     |
|                   | % redução*              |                                    | 45.95%  | 41.18%   |                                    | 84.38% | 84.85%   |
| t = 3 dias (30°C) | log UFC/g               | 6.48                               | 8.37    | 8.51     | 7.61                               | 8.56   | 8.63     |
|                   | % redução*              |                                    | 98.73%  | 99.06%   |                                    | 88.61% | 90.35%   |
| t = 7 dias (30°C) | log UFC/g               | 9.16                               | 9.14    | 9.10     | 8.43                               | 8.96   | 8.98     |
|                   | % redução*              |                                    | -5.07%  | -14.62%  |                                    | 70.17% | 71.73%   |
| t = 5 dias (7°C)  | log UFC/g               | 2.81                               | 3.08    | 2.98     | 2.30                               | 3.00   | 3.13     |
|                   | % redução*              |                                    | 45.83%  | 31.58%   |                                    | 80.00% | 85.19%   |
| t = 9 dias (7°C)  | log UFC/g               | 2.85                               | 3.54    | 3.51     | 2.30                               | 3.52   | 3.63     |
|                   | % redução*              |                                    | 79.71%  | 78.46%   |                                    | 93.94% | 95.29%   |

\* Percentual de redução do tratamento por imersão em BCPP\_YE 1% ou BCPP\_YE 5% em relação aos respectivos controles: tratamentos por imersão em água destilada estéril e controle sem imersão.

Quando comparado aos seus respectivos controles, o tratamento com BCPP\_YE a 5%

apresentou melhores resultados que a 1% em termos de redução percentual da carga microbiana inicial. Essa maior diferença foi mantida nos tempos de amostragem subsequentes, provavelmente devido à maior redução inicial observada no tempo zero. Porém, essa diferença não impactou a resiliência em dias, conforme verificado no modelo preditivo (Tabela 3). A resiliência em dias indica o número estimado de dias até que a população microbiana atinja o limite estipulado.

**Tabela 3.** Avaliação preditiva. Durabilidade (em dias - resiliência) simulada em diferentes perfis de temperatura. Tratamentos: imersão em BCPP\_YE (1% e 5%), imersão em água e controle sem imersão.

| <i>Listeria monocytogenes</i> |                     |       |       | Bactérias Ácido Láticas |    |    | Contagem Total Bactérias |     |     |       |
|-------------------------------|---------------------|-------|-------|-------------------------|----|----|--------------------------|-----|-----|-------|
|                               | Água Control BCPP_Y |       |       | Água Control BCPP_Y     |    |    | Água Control BCPP_Y      |     |     |       |
|                               | e                   | E     |       | e                       | E  |    | e                        | E   |     |       |
| BCPP_YE 1%                    | 7°C                 | > 180 | > 180 | > 180                   | 29 | 23 | 38                       | 147 | 135 | > 180 |
|                               | 12°C                | 8     | 7     | 9                       | 8  | 8  | 9                        | 14  | 14  | 20    |
|                               | 22°C                | 2     | 2     | 2                       | 4  | 4  | 4                        | 5   | 5   | 6     |
|                               | 30°C                | 1     | 1     | 1                       | 3  | 3  | 3                        | 3   | 3   | 5     |
| BCPP_YE 5%                    | 7°C                 | > 180 | > 180 | > 180                   | 35 | 38 | > 180                    | 71  | 115 | > 180 |
|                               | 12°C                | 6     | 6     | 10                      | 8  | 8  | 13                       | 12  | 14  | 18    |
|                               | 22°C                | 2     | 2     | 3                       | 4  | 4  | 5                        | 5   | 5   | 5     |
|                               | 30°C                | 1     | 1     | 2                       | 3  | 3  | 3                        | 3   | 3   | 4     |

Os resultados preditivos (Tabela 3) revelaram que a manutenção da temperatura de refrigeração a 7°C foi um fator de barreira eficaz para controlar a população *Lm* por mais de 180 dias e para prolongar a vida útil das LCEV em até 135 dias (grupo controle). Em relação a *Lm* houve, inclusive, redução da população entre o tempo zero (dia da inoculação) e os tempos 5 e 9 dias (Tabela 2).

*Lm* são bactérias psicrotróficas, com temperatura ótima de crescimento entre 30 e 37°C (EFSA e ECDC, 2022). Assim, outros efeitos de barreira podem ter contribuído para a manutenção do limite de 3,3 log UFC/g para o período refrigerado de 180 dias. Fatores de estresse, como a mudança abrupta de ambiente/temperatura (do caldo BHI a 37°C para LCEV a 7°C), combinados com a competição com a microbiota autóctone da LCEV, podem explicar a diminuição populacional de *Lm*.

Na verdade, a população de BAL cresceu nas mesmas condições de incubação. As BAL são reconhecidas como potenciais produtoras de bacteriocinas com atividade antilisterial (Guerra *et al.*, 2018). Além disso, a microbiota autóctone remanescente também pode ter tido um efeito competitivo com *Lm*. Esses dados demonstram que os resultados de crescimento observados no ambiente laboratorial controlado podem ser afetados pelas complexas interações ecológicas presentes nos ambientes alimentares *in situ* (Geornaras *et al.*, 2006).

Bioconservantes como o BCPP\_YE podem ajudar a reduzir o crescimento microbiano em produtos cárneos prontos para consumo, como LCEV, minimizando os riscos associados a patógenos e prolongando o prazo de validade. Contudo, a estratégia de adição deve ser cuidadosamente desenhada (Lima *et al.*, 2022).

#### 4 CONCLUSÃO

As temperaturas de armazenamento tiveram um impacto direto no controle de *Lm* e na vida útil de LCEV. Embora os tratamentos envolvendo imersão em BCPP\_YE a 1% e 5% tenham reduzido a população inicial de *Lm* e a CTB, eles não foram capazes de manter baixos níveis em temperaturas mais altas.

A adoção de boas práticas de fabricação, a implementação de controles de matéria-prima e de processos e a gestão da cadeia de frio durante toda a vida útil de um produto alimentício é essencial para alcançar a vida útil desejada e evitar riscos à saúde dos consumidores.

Bioconservantes como o BCPP\_YE são alternativas promissoras para uso em produtos cárneos prontos para consumo e sua utilização em uma estratégia de múltiplos obstáculos pode contribuir para melhorar a robustez dos programas de segurança e qualidade na indústria da carne.

## REFERÊNCIAS

ABNT. **ABNT NBR ISO 4833-2:2015. Microbiologia da cadeia produtiva de alimentos - Método horizontal para a enumeração de microrganismos - Parte 2: Contagem de colônias a 30 °C pela técnica de plaqueamento em superfície.** 1. ed. Rio de Janeiro: [s.n.].

\_\_\_\_\_. **ABNT NBR ISO 11290-2:2020. Microbiologia da cadeia produtiva de alimentos. Método horizontal para a detecção e enumeração de *Listeria monocytogenes* e de *Listeria spp.* Parte 2: Método de enumeração.** 1. ed. Rio de Janeiro: [s.n.].

BODIE, A. R. *et al.* Comparison of ready-to-eat “organic” antimicrobials, sodium bisulfate, and sodium lactate, on *Listeria monocytogenes* and the indigenous microbiome of organic uncured beef frankfurters stored under refrigeration for three weeks. **PLOS ONE**, v. 17, n. 1, p. e0262167, 1 jan. 2022.

EFSA; ECDC. The European Union One Health 2021 Zoonoses Report. **EFSA Journal**, v. 20, n. 12, p. e07666, 1 dez. 2022.

GEORNARAS, I. *et al.* Postprocess Control of *Listeria monocytogenes* on Commercial Frankfurters Formulated with and without Antimicrobials and Stored at 10°C. **Journal of Food Protection**, v. 69, n. 1, p. 53–61, 1 jan. 2006.

GUERRA, A. F. *et al.* *Lactobacillus paracasei* probiotic properties and survivability under stress-induced by processing and storage of ice cream bar or ice-lolly. **Ciência Rural**, v. 48, n. 9, 27 ago. 2018.

GUERRA, C. A. *et al.* Correlation between natural microbial load and formation of ropy slime affecting the superficial color of vacuum-packaged cooked sausage. **Meat Science**, v. 201, p. 109197, 1 jul. 2023.

ISO. **ISO 15214:1998 - Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria — Colony-count technique at 30 degrees C.** [s.l: s.n.].

LEMO-JUNIOR, W. J. F. *et al.* Safety and Stability of Two Potentially Probiotic *Lactobacillus* Strains After In Vitro Gastrointestinal Transit. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 12, n. 2, p. 657–666, 1 jun. 2019.

LIMA, A. L. DE *et al.* A Natural Technology for Vacuum-Packaged Cooked Sausage Preservation with Potentially Postbiotic-Containing Preservative. **Fermentation**, v. 8, n. 3, p. 106, 28 fev. 2022.



OLIVEIRA, W. A. *et al.* Potentially probiotic or postbiotic pre-converted nitrite from celery produced by an axenic culture system with probiotic lacticaseibacilli strain. **Meat Science**, v. 174, p. 108408, 1 abr. 2021.

TARRAH, A. *et al.* Probiotic potential and biofilm inhibitory activity of *Lactobacillus casei* group strains isolated from infant feces. **Journal of Functional Foods**, v. 54, p. 489–497, 1 mar. 2019.

WHO. **Listeria monocytogenes in ready-to-eat (RTE) food: attribution, characterization and monitoring: meeting report.** [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/i/item/9789240034969>>. Acesso em: 8 jun. 2024.