UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA E DO AMBIENTE

INATIVAÇÃO MICROBIANA EM MEDALHÃO DE FILÉ MIGNON BOVINO GRELHADO EM DIFERENTES PONTOS DE COZIMENTO

CLARISSA RECH PEIXOTO

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Cesar Tondo

Porto Alegre Março/2018 UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA E DO
AMBIENTE

INATIVAÇÃO MICROBIANA EM MEDALHÃO DE FILÉ MIGNON BOVINO GRELHADO EM DIFERENTES PONTOS DE COZIMENTO

Clarissa Rech Peixoto Engenheira Química e Nutricionista

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Microbiologia Agrícola e do Ambiente.

Área de concentração: Microbiologia Agrícola

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Cesar Tondo

Porto Alegre, Rio Grande do Sul - Brasil Março/2018

ii

```
Peixoto, Clarissa Rech
INATIVAÇÃO MICROBIANA EM MEDALHÃO DE FILÉ MIGNON
BOVINO GRELHADO EM DIFERENTES PONTOS DE COZIMENTO /
Clarissa Rech Peixoto. -- 2018.
104 f.
Orientador: Eduardo Cesar Tondo.
```

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Porto Alegre, BR-RS, 2018.

 Microbiologia na Gastronomia. 2. Inativação de E. coli. 3. Preferência de consumo do ponto de cozimento de filé grelhado. I. Tondo, Eduardo Cesar, orient. II. Titulo.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Dedico este trabalho a minha filha Valentinne (5 anos). As mudanças promovidas após o teu nascimento me permitiram ver que sou mais forte do que eu pensava e muito mais feliz do que imaginei um dia ser. Obrigada, filha, pela plenitude que me proporcionaste. TE AMO!
iv

AGRADECIMENTOS

Agradeço a meus pais, Nilda e Batista, pela colaboração e apoio nos cuidados com a minha filha. Foram muitas vezes que necessitei apoio para buscar na escola, atende-la quando febril, dar atenção a ela aos finais de semana, levar para praia, enquanto fiquei no laboratório ou em frente ao computador por horas.

Agradecimento especial a minha mãe: "Mãe: não tenho palavras para te agradecer por tudo que és e fazes pra mim! Muito obrigada".

Agradeço a minha irmã, Nina, pelo apoio, pelas conversas e por "assumir" a Valentinne por uns dias, agora na reta final.

Agradeço à colega Elis Regina Alfama, por me ensinar a elaborar parágrafos e alinhar meus pensamentos. Sem tua ajuda, provavelmente, não estaria finalizando mais esta etapa.

Ao meu orientador, Eduardo Tondo, e colegas do laboratório de Microbiologia do ICTA agradeço por tudo. Fabiani Walker, Fabiana Perini e Ana Carolina Batista meu "muito obrigada". Um agradecimento muito especial à Vera Masoti, por todo apoio, colaboração e presteza.

Agradeço a todos que participaram, compartilharam, sofreram e se alegraram junto comigo nesta jornada. Obrigada!

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa.

INATIVAÇÃO MICROBIANA EM MEDALHÃO DE FILÉ MIGNON BOVINO GRELHADO EM DIFERENTES PONTOS DE COZIMENTO¹

Autor: Clarissa Rech Peixoto

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Cesar Tondo

RESUMO

A gastronomia vem ganhando destaque atualmente. Muitos restaurantes adotam preparações diferenciadas, com técnicas de preparo que primam pela exaltação sensorial. No entanto, algumas destas práticas estão desalinhadas com os parâmetros de segurança dos alimentos estabelecidos pela legislação brasileira e de outros países. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a inativação microbiana em medalhões de filé mignon bovino grelhado em diferentes pontos de cozimento e a relação com a preferência do consumidor por esta preparação, bem como comparar a inativação microbiana utilizando duas técnicas de preparo descritas em livros de culinária especializados, avaliar a microbiota inicial e sobrevivente, assim como modelar os parâmetros cinéticos de inativação de Escherichia coli. As técnicas de preparo utilizadas foram selecionadas dos livros Le Cordon Bleu (Técnica 1) e IGA (Técnica 2) e os pontos de cozimento avaliados foram mal passado (MALPA), ao ponto para mal passado (APMAL), ao ponto (AOPO), ao ponto para bem passado (APBEM) e bem passado (BEMPA). Os medalhões foram previamente inoculados com E. coli e após preparo, amostras foram coletadas para semeadura em meios VRBA + MUG e BHI, sendo que, neste último as colônias sem sobreposição foram analisadas por MALDI TOF/MS. Uma pesquisa de preferência pelo ponto de cozimento do medalhão foi conduzida em alguns estados do Brasil. Os resultados apontaram que houve inativação completa de E. coli, somente no ponto BEMPA para ambas as técnicas, quando a temperatura central atingiu 70 °C. Até o ponto de cozimento APBEM, a concentração de E.coli sobrevivente foi de 3,76±0,15 e 1,74±0,38 log UFC/g, para Técnica 1 e Técnica 2, respectivamente. Os resultados da microbiota inicial apontaram a presença de gêneros como Acinetobacter, Aeromonas, Alcaligenes, Carnobacterium, Lactobacillus, Micrococcus e Pseudomonas, mas não foram encontrados patógenos como Salmonella e Listeria monocytogenes. A pesquisa de preferência indicou que 86% dos entrevistados relataram consumir o medalhão de filé mignon bovino grelhado abaixo do ponto de cozimento APBEM e ao relacionar aos resultados de inativação microbiana indicam que a grande maioria dos consumidores podem estar vulneráveis a apresentarem DTA. Salienta-se que atendendo às expectativas e preferências dos consumidores, Chefs, nutricionistas e responsáveis técnicos devem estar cientes que podem estar assumindo riscos em benefícios do prazer sensorial.

Palavras-chave: gastronomia, segurança dos alimentos; microbiota de carne, MALDI-TOF/MS

¹ Dissertação de Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente – Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (105 p.) março, 2018.

MICROBIAL INACTIVATION ON FILET MIGNON BEEF MEDALLION GRILLED WITH DIFFERENT DEGREES OF DONENESS²

Author: Clarissa Rech Peixoto

Advisor: Prof. Dr. Eduardo Cesar Tondo

ABSTRACT

The gastronomy is gaining prominence today. Many restaurants adopt differentiated preparations, with techniques of preparation that excel by sensorial exaltation. However, some of the practices are disagreement with the food safety parameter defined by legislation Brazilian and from other countries. In this way, the objective of this work is to evaluate the microbial inactivation in medallions of grilled beef tenderloin at different degrees of doneness and relation with a consumer preference for this preparation, as well as to compare the microbial inactivation using two techniques of preparation in cooking books specialized, to evaluate an initial and surviving microbiota, and also to model the kinetic parameters of inactivation of Escherichia coli. The techniques for preparing and selecting cookbooks, point for the rare (MALPA), medium-rare (APMAL), medium (AOPO), medium done (APBEM) and well done (BEMPA). The medallions were previously inoculated with E. coli and after preparation, samples were collected for sowing in VRBA + MUG and BHI media, and in the latter as non-overlapping colonies were analyzed by MALDI TOF / MS. A preference survey for the degree doneness of the medallion was conducted in some states of Brazil. The results indicated that there was complete inactivation of E. coli, only at the BEMPA point for both techniques, when the central temperature was of the 70 ° C. Until the degree doneness APBEM, a surviving E. coli concentration of 3.76 ± 0.15 and 1.74 ± 0.38 log CFU / g, for Technique 1 and Technique 2, respectively. The results of the initial microbiota indicated the presence of genus such as Acinetobacter, Aeromonas, Alcaligenes, Carnobacterium, Lactobacillus, Micrococcus and Pseudomonas, but were not found as pathogens such as Salmonella and Listeria monocytogenes. The preference survey indicated that 86% of the respondents reported consuming the medley of grilled beef tenderloin below the degree doneness APBEM and when relating to the results of microbial inactivation indicated that the vast majority of consumers may be vulnerable to foodborne diseases. It should be noted that given the expectations and preferences of consumers, Chefs, nutritionists and technical managers should be aware that they may be taking risks in benefits of sensory pleasure.

KEY WORDS: gastronomy, food safety; beef microbiota; MALDI-TOF/MS

² Master of Science Thesis in Agricultural and Environmental Microbiology – Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil (105p.), march, 2018.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇAO	1
2.	OBJETIVOS	3
2.1	Objetivo Geral	3
2.2	Objetivos Específicos	3
3.	REVISÃO DA LITERATURA	4
3.1	A evolução da Gastronomia	4
3.2	Novos hábitos de consumo	5
3.3	Carne bovina	6
3.4	Preferências do Consumidor	8
3.5	Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA)	10
3.6	Legislação	14
3.7	Análises Proteômicas	15
3.8	Microbiologia Preditiva	17
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	19
4.1	Preparo dos cortes de medalhões	19
4.2	Análises de parâmetros intrínsecos	19
4.3	Preparação do inóculo e contaminação artificial de Escherichia	a coli. 20
4.4	Processamento térmico	20
4.5	Análises microbiológicas	23
4.6	Avaliação da microbiota acompanhante da carne	24
4.7	Questionário de preferência do consumidor	27
4.8	Análise de dados	27
4.9	Conflitos de interesse	28
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1	Comparação entre as técnicas	29
5.2	Parâmetros intrínsecos e Características da Matéria Prima	29
5.3	Inóculo	31
5.4	Processamento térmico	31
5.5	Inativação Térmica de Escherichia coli e Modelagem dos Par	âmetros
	Cinéticos de Inativação	38
5.6	Avaliação da microbiota acompanhante da carne	45

5.7	Preferência do consumidor	48
6.	CONCLUSÃO	62
REFEI	RÊNCIAS	64
APÊN	DICE	77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Parâmetros de duas técnicas de preparo de medalhões de filé	21
Tabela 2:	mignon descritas por Wright & Treuille (2016) e Zicarelli (2017) Parâmetros intrínsecos (aw, pH e contagem total de mesófilos) em peças de filé mignon bovino utilizados para avaliação da inativação microbiana por tratamento térmicos preconizados na	
Tabela 3:	gastronomia	29
Tabela 4:	= medalhão bem passado. DP=desvio padrão. Temperaturas em °C. Resultados de tempo de processo e temperatura central máxima para cada ponto de cozimento dos medalhões bovinos tratados termicamente por duas técnicas gastronômicas. MALPA = medalhão mal passado, APMAL = medalhão ao ponto para mal	32
Tabela 5:	passado; AOPO = medalhão ao ponto; APBEM = medalhão ao ponto para bem passado e BEMPA = medalhão bem passado. T. máx. = temperatura máxima; Proc. Completo = processo completo descrito na Técnica 1(grelhar + assar)	33
Tabela 6:	Presença ou ausência de <i>E, coli</i> viável nas superfícies e laterais dos medalhões de filés mignon bovino submetidos a tratamento térmico, em diferentes pontos de cozimento, sob aplicação da Técnica 2. Superfície 1= lado superior do filé (não exposto ao	39

	azeite	pré-aq	uecido),	imediata	amente	após	ser	inserido	na	
	frigideir	a; Supe	erfície 2 =	= lado infe	rior do f	ilé (exp	osto a	ao azeite	pré-	
	aquecio	do), apó	s o pont	o de virad	da (quar	ndo a te	empe	ratura ce	ntral	
	atinge i	metade	da temp	oeratura f	inal)					44
Tabela 7:	Caracte	erização	da amo	stra (N=1	054)					52
Tabela 8	: Asso	ciação	entre p	referência	a pelo	ponto	de	coziment	о е	
	caracte	rísticas	sócio de	emográfic	as e de	consun	no de	carne bo	vina	
	(N=104	8). a:	Teste Q	ui-quadra	ado de	Pearso	n; b	Associa	ıção	
	linear p	ara o C	ui-quadı	rado. Not	a: Os da	ados fa	Itante	s foram:	dois	
	para q	uantida	de de c	onsumo (de carn	e; 9 p	ara fr	equência	ı de	
	consun	no de	carne	bovina;	sete	para r	efeiçã	ăo na	qual	
	habitua	lmente	conson	ne carne	bovina	; e trê	s pa	ra locais	de	
	consun	no de ca	arne bov	ina						57

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Contribuição de diferentes produtos alimentares (categorias)	
	implicados em doenças e mortes nos EUA, entre 1998-2008.	
	"Produce" é uma combinação de seis categorias de alimentos	
	vegetais (nozes, fungos comestíveis, vegetais frutíferos, raízes	
	vegetais, brotos vegetais e talos de legumes). Fonte: CDC (2016)	
		12
Figura 2: I	Esquematização das análises via MALDI-TOF MS. Fonte: Pavlovic	
	et al (2013), adaptado	16
Figura 3: F	Representação do medalhão sendo submetido ao processo térmico	
	do tipo grelha, com os termopares inseridos na base, centro e	
	superfície do filé e um termopar no azeite	22
Figura 4:	Placa de transporte das colônias a serem identificadas no	
	equipamento MALDI-TOF / MS, no LANAGRO. Neste exemplo a	
	Placa seria a de número 6	25
Figura 5:	Resultados dos tempos e temperaturas de processamento de	
	grelha para cada ponto de cozimento, sob aplicação de duas	
	técnicas de preparo de medalhão de filé mignon bovino. MALPA=	
	filé mal passado; APMAL = filé ao ponto para mal passado; AOPO	
	= filé ao ponto; APBEM = filé ao ponto para bem passado; BEMPA	
	= filé bem passado.	34
Figura 6: I	Representação do processo completo para obtenção de medalhão	
	de filé mignon bovino descrito na Técnica 1 (<i>Le Cordon Bleu</i>) para	
	obtenção do ponto de cozimento bem passado (BEMPA): inclui	
	processo de grelha durante 6 min seguido pelo processo de assar	
	durante mais 9 minutos, totalizando 15 minutos de processamento	
	térmico. A: intervalo de tempo para transferência do medalhão	
	bovino da frigideira para o forno	37
Figura 7:	Redução do pool de Escherichia coli, após medalhões de filé	
	mignon serem submetidos ao processo térmico, de acordo com o	
	ponto de cozimento, aplicando-se a Técnica 1, de controle de	
	tempo de processamento. CRU = carne crua. MALPA = medalhão	

	mal passado, APMAL = medalhão ao ponto para mal passado;	
	AOPO = medalhão ao ponto; APBEM = medalhão ao ponto para	
	bem passado e BEMPA = medalhão bem passado. Para todos os	
	tempos de processo, os desvios-padrão foram menores que 0,15	
	log UFC/g	40
Figura 8:	Inativação de <i>E. coli</i> em medalhão de filé mignon, submetido ao	
	processo de grelhar, com acompanhamento do ponto de	
	cozimento pela temperatura central. Os pontos representam as	
	médias dos resultados experimentais e a linha, o modelo predito.	
	R^2 = 0,9888 e RMSE = 0,2229. Para todos os tempos de processo,	
	os desvios-padrão foram menores que 0,45 log UFC/g. Os	
	números indicam os pontos de cozimento 1= MALPA; 2 = APMAL;	
	3 = AOPO; 4 = APBEM e 5 = BEMPA	42
Figura 9:	Microbiota de medalhões de filé mignon cru e processados	
	termicamente, sob processo de grelhar, em diferentes pontos de	
	cocção	46
Figura 10	: Distribuição dos participantes, por região brasileira. (N=1054)	50
Figura 11:	: Preferência do consumidor pelo ponto de cozimento de medalhão	
	de filé mignon bovino grelhado. MALPA = medalhão mal passado,	
	APMAL = medalhão ao ponto para mal passado; AOPO =	
	medalhão ao ponto; APBEM = medalhão ao ponto para bem	
	passado e BEMPA = medalhão bem passado	53
Figura 12	2: Razão da escolha pelo ponto de cozimento de medalhão filé	
	mignon grelhado. MALPA = medalhão mal passado, APMAL =	
	medalhão ao ponto para mal passado; AOPO = medalhão ao	
	ponto; APBEM = medalhão ao ponto para bem passado e BEMPA	
	= medalhão bem passado	54
Figura 13	: Preferência do ponto de cozimento em relação ao sexo. MALPA	
	= medalhão mal passado, APMAL = medalhão ao ponto para mal	
	passado; AOPO = medalhão ao ponto; APBEM = medalhão ao	
	ponto para bem passado e BEMPA = medalhão bem passado	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIA Associação Brasileira das Indústrias de Alimentação

ABRASEL Associação Brasileira de Bares e Restaurantes

ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AOPO Medalhão grelhado ao ponto

APBEM Medalhão grelhado ao ponto para bem passado

APMAL Medalhão grelhado ao ponto para mal passado

BEMPA Medalhão grelhado bem passado

BHI Brain Hearth Infusion

CDC Center for Disease Control and Prevention

CFIA Canadian Food Inspection Agency

D Tempo de redução decimal necessário para reduzir 90% dos

micro-organismos

DP Desvio padrão

DTA Doenças Transmitidas por Alimentos

E. coli Escherichia coli

EP Erro padrão

FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations

ICMSF International Commission on Microbiological Specifications for

Foods

IGA Instituto Gastronômico das Américas

log UFC/g Logaritmo de unidades formadoras de colônia por grama

MALPA Medalhão grelhado mal passado

Min Minutos

MUG 4-metilumbeliferil-β-D-glicuronídeo

OECD Organization for Economic Co-operation and Development

PCR Polymerase Chain Reaction

R² Coeficiente de determinação

RDC Resolução da Diretoria Colegiada

RMSE Erro quadrático médio

rRNA Ribossomal RNA (ácido ribonucleico)

Seg Segundos

 $T_{m\acute{a}x}$ Temperatura máxima $T_{m\acute{i}n}$ Temperatura mínima

USDA United States Department of Agriculture

VRBA Violet Red Bile Agar

WHO World Health Organization

ΔT Gradiente de temperatura. Diferença de Temperatura mínima e

máxima $(T_{m\acute{a}x} - T_{m\acute{i}n})$ em um dado ponto

1. INTRODUÇÃO

"Dis-moi ce que tu manges, je te dirai ce que tu es"

Anthelme Brillat-Savarin (1755-1826)

A cada dia, a gastronomia torna-se mais presente e difundida no mundo todo, inclusive no Brasil. A gastronomia de alto padrão vem ganhando destague, por proporcionar experiências ímpares a seus apreciadores. Ela faz parte de inúmeros programas televisivos, cursos técnicos, revistas especializadas, turismo entre outros canais de divulgação. Em vista disso, muitos restaurantes adotam constantemente preparações diferenciadas e exclusivas, que lhes proporcionam elogios do público e de críticos e, até mesmo, oportunizam o recebimento de prêmios de reconhecimento mundial, como o caso do Guia Michelin. Nestes restaurantes sofisticados percebe-se a aplicação de técnicas de preparo dos alimentos que primam pela exaltação sensorial, porém algumas destas práticas estão desalinhadas com os parâmetros de segurança dos alimentos estabelecidos pela legislação brasileira e de outros países. Dentre os parâmetros que frequentemente estão fora da legislação, encontram-se o uso de matérias-primas sem procedência, uso de utensílios e uniformes inadequados, uso de adornos e barba por parte dos Chefs e cozinheiros, assim como não atingimento de temperaturas preconizadas (ABDULLAH SANI; SIOW, 2014; FORSYTHE, 2013; SERAFIM et al., 2015; SPINELLI; COELHO; FREITAS SACCOL, DE, 2014; YU et al., 2016).

Dentre as preparações mais tradicionais da gastronomia, tanto em restaurantes de alto padrão como naqueles mais acessíveis, estão os medalhões de filé mignon. O filé mignon (denominação muscular: *psoas maior*) é obtido de um grupo muscular localizado abaixo das vértebras lombares do animal, sendo um dos cortes de carne bovina mais nobre, por suas características de maciez e de sabor tênue, ainda com baixo teor de gordura (ROSELAND *et al.*, 2013) e apetitosa, que harmoniza muito bem com diversos tipos de molhos, desde os mais picantes (steak *au poivre*, *filet au sauce moutarde*, *steak avec sauce au vin*) até simplesmente ser somente grelhado no azeite de oliva ou na manteiga e servido com acompanhamentos.

Os medalhões de filé mignon podem ser preparados sob diversos pontos de cozimento como ao ponto, bem passado, mal passado, ficando os seus modos de preparo ao encargo dos *Chef*s e cozinheiros, objetivando sempre atender às expectativas do consumidor. Sendo assim, a fim de serem atingidas as qualidades

sensoriais desejadas, algumas escolas de gastronomia descrevem os procedimentos que preconizam ou o controle do ponto de cozimento através do tempo de grelha ou através da temperatura central dos filés.

. Contudo, a legislação brasileira, RDC 216 de 2004 da ANVISA, que estabelece o Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação (BRASIL, 2004), determina, conforme item 4.8.8, que o "tratamento térmico deve garantir que todas as partes do alimento atinjam a temperatura de, no mínimo, 70°C, sendo que temperaturas inferiores podem ser utilizadas no tratamento térmico desde que as combinações de tempo e temperatura sejam suficientes para assegurar a qualidade higiênico-sanitária dos alimentos".

Nesse sentido, fica a dúvida quanto à segurança microbiológica dos medalhões, uma vez que a microbiota das carnes pode ser variada e conter patógenos (BECKER; KIEL, 2016; ELBEHIRY *et al.*, 2017; GREIG; RAVEL, 2009; SILVA, D. C. Da *et al.*, 2016; ZWIETERING *et al.*, 2016), os quais devem ser eliminados pelo tratamento térmico. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a inativação microbiana em medalhões de filé mignon submetidos a diferentes pontos de cozimento, aplicando-se duas técnicas de preparo reconhecidas e difundidas internacionalmente na gastronomia.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a inativação microbiana em medalhões de filé mignon bovino grelhado em diferentes pontos de cozimento.

2.2 Objetivos Específicos

- 2.2.1 Comparar a inativação microbiana utilizando duas técnicas de preparo.
- 2.2.2 Determinar a microbiota inicial e sobrevivente após o processamento térmico, em diferentes pontos de cozimento de medalhões de filé mignon bovino grelhado.
- 2.2.3 Modelar os parâmetros cinéticos de inativação de *Escherichia coli* em medalhões de filé mignon grelhado.
- 2.2.4 Identificar a preferência do consumidor em relação ao ponto de cozimento de medalhão de filé mignon bovino grelhado e relacionar com os resultados da inativação microbiana.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 A evolução da Gastronomia

A gastronomia é a ciência que associa as transformações químicas e físicas dos alimentos à arte do preparo culinário, adicionada da história dos povos e a economia política. Diferentemente do que ocorreu no século XIX, quando a gastronomia era empregada muito mais com o objetivo de satisfazer a necessidade de alimentação em grandes banquetes, atualmente ela enfatiza a valorização das características sensoriais e emocionais proporcionadas pelos alimentos e seu entorno, criando experiências únicas aos apreciadores (FREIXA; CHAVES, 2015).

A gastronomia foi e ainda é amplamente influenciada pelos movimentos sociais. No pós-guerra, na década de 1950, a reconfiguração dos países como nações independentes, a tendência por uma alimentação mais saudável e valorização das cozinhas regionais, abriram caminhos para a reconstrução da gastronomia. Outros fatores como a emergência dos países asiáticos amplificando a valorização da alimentação como parte integrante do ser, o desenvolvimento da industrialização e das tecnologias, o crescimento vertiginoso do turismo e o crescente intercâmbio entre culturas distintas também contribuíram para o que hoje conhecemos como gastronomia (MCGEE, 2014).

Esta arte culinária, que principia a sublimação dos sentidos, ofereceu espaço para elaboração de molhos mais leves e tamanhos menores de porções, apresentações preparadas em um tempo reduzido e exibidas de maneira elegante e decorativa, transformadas em verdadeiras obras de arte, mudando o cenário gastronômico (BRAUNE; FRANCO, S. C., 2012).

O panorama atual da gastronomia, de *Chefs* e restaurantes estrelados, vêm alimentando um mercado crescente mundial. Fila de espera de meses para apreciar uma refeição em restaurantes estrelados no Guia *Michelin*³, a vasta ênfase

_

³ O Guia Michelin (ou o "Red Guide") é um guia de viagens elaborado pela fabricante de pneus francesa, Michelin com o objetivo de auxiliar os motoristas viajantes desde 1900. Originalmente ele incluía referências de oficinas e médicos, mas a partir de 1933 evoluiu para começar a incluir dicas sobre hotéis e restaurantes em diversos locais. Desde então, aumentou sua abrangência geográfica. Com o passar dos anos, desenvolveu credibilidade em torno no sistema de pontuação (as estrelas) devido, sobretudo aos seus critérios rígidos e praticamente imutáveis desde a sua origem. Seus inspetores, anônimos (como clientes comuns, sempre pagam sua conta), avaliam cada prato, baseando-se em cinco critérios: a qualidade dos produtos utilizados, a personalidade da cozinha, a técnica de cozimento e a harmonização dos sabores, a relação preço e qualidade e, também, a

de canais de comunicação especializados no assunto gastronômico, como revistas, livros e programas de televisão, a abertura de cursos técnicos e universitários, estão sendo responsáveis por boa parte do turismo e negócios em muitos países (LEVINE; CHAIFETZ; CHAPMAN, 2017)

Esta disseminação pelo interesse em culinária de qualidade, aliado a chegada de equipamentos de cozinha de alta tecnologia e acessíveis alavancou também o interesse por cozinhar em casa, o que possibilita o acesso a pratos com qualidade profissional, recorrendo-se a receitas em livros de culinária e aperfeiçoamento em escolas de gastronomia reconhecidas.

3.2 Novos hábitos de consumo

A tendência de consumo de alimentos fora do lar é crescente em todo o mundo. Fatores como urbanização, globalização, trabalho feminino, viagens turísticas ou profissionais são elementos que contribuem para a alteração dos hábitos de consumo alimentar dos indivíduos (WHO, 2017).

No Brasil, o número de refeições fora de casa e o mercado hoteleiro e de viagens turísticas encontram-se em expansão. Em 2013, 32,9% do consumo alimentício da população brasileira foi realizado fora de casa, existindo uma disparidade de consumo entre as classes sociais. De um lado a classe A, que dedicou 51,2% de seus gastos com alimentação fora do lar, enquanto que a classe B, apenas 18%. Comparando-se com outros países, este hábito tende a aumentar no país, visto que os gastos com alimentação fora do lar na Europa e Estados Unidos são significativamente maiores que os nacionais, alcançando patamares de 50 a 60%, respectivamente (ABRASEL, 2012; BRASIL, 2014a).

Segundo Andrade (2014), um dos canais de distribuição de serviços de alimentação fora do domicílio com grande potencial de desenvolvimento é o setor hoteleiro. Considerando que o mercado hoteleiro brasileiro está em expansão, principalmente devido aos grandes eventos mundiais sediados no Brasil (entre eles Copa do Mundo/2014 e Jogos Olímpicos/2016), e considerando que, o setor de alimentos e bebidas das redes hoteleiras representa uma categoria de destaque em

regularidade. Os restaurantes podem receber até 3 estrelas, mas somente 5% dos analisados é consagrado com uma estrela. O respeito e a reputação do guia fazem com que seja o máximo da legitimação da qualidade que um restaurante pode obter (SURLEMONT; JOHNSON, 2005).

rentabilidade, é necessário ofertar refeições seguras, com qualidade e que atendam as expectativas dos consumidores, tendo em vista a elevação da exigência deste público.

3.3 Carne bovina

O Codex Alimentarius define a carne como "todas as partes de um animal que foram julgadas como seguras e adequadas para consumo humano ou destinadas a esse fim". Do ponto de vista nutricional, a importância da carne deriva de suas proteínas de alta qualidade, que contêm todos os aminoácidos essenciais, bem como seus minerais e vitaminas altamente biodisponíveis. Ainda cita-se como atributos mais positivos da carne a capacidade de suprir ferro ao organismo, como também aumentar a absorção do ferro de fontes não cárneas quando consumidas concomitantemente (FAO, 2014).

De acordo com a *Organization for Economic Co-operation and Development* (OECD) a perspectiva global da carne está caracterizada pelo aumento das tendências de produção e consumo dos países em desenvolvimento e de um caminho mais estável e consolidado para mercados dos países desenvolvidos. Ainda assim, os surtos de doenças animais nos últimos anos afetaram os padrões comerciais estabelecidos para produtos à base de carne, levaram a perturbações de curto prazo à oferta e à demanda em grandes países de comércio e ao aumento da participação de mercado dos países exportadores isentos de doenças (OECD-FAO, 2017).

Atualmente, o Brasil possui o segundo maior rebanho bovino do mundo, com mais de 226 milhões de cabeças, atrás somente da Índia (303 milhões). Destacase que os cinco maiores rebanhos mundiais (Índia, Brasil, China, Estados Unidos e União Europeia) detém mais de 70% dos animais ao redor do mundo, onde o rebanho brasileiro representa 22,6% do total de animais do planeta , expressando a representatividade deste setor para a economia nacional (FORMIGONI, 2017a).

Em termos de produção de carne bovina, dos 60,48 milhões de toneladas produzidas mundialmente, os Estados Unidos é o líder de produção, com o equivalente a 11,6 milhões de toneladas/ano, seguido pelo Brasil (9,28 milhões de toneladas), União Européia, China e Índia (FORMIGONI, 2017a).

Segundo Ministério da Agricultura (2010), do total da carne produzida pelo Brasil, cerca de 80% é destinado para mercado interno e o restante 20% para exportações, representando o setor de maior expressividade em faturamento líquido (26,8%) do agronegócio brasileiro (ABIA, 2016). Estes dados evidenciam a importância da qualidade da carne em um país onde a bovinocultura gera mais de 7,5 milhões de empregos e um faturamento superior a R\$ 133 bilhões/ano.

O consumo per capta de carne bovina no Brasil está entre os cinco maiores do mundo com 35,8kg/ano, ficando atrás do Uruguai, Argentina, Hong Kong e Estados Unidos. Desta forma, a legislação brasileira com o propósito de melhorar a qualidade e reduzir e/ou sanar as doenças que reduzem a produção, exerce a fiscalização do produto, desde a criação e, principalmente, nas etapas de abate e posterior beneficiamento (FORMIGONI, 2017b).

Segundo Huffman (2002) o abate do gado e o subsequente processamento de produtos de carne crua bovina é um processo que produzirá produtos de carne seguros para o público consumidor desde que a carne seja manuseada com segurança e seja devidamente preparada antes do consumo. No entanto, alguns pesquisadores ressaltam que a história mostrou que patógenos bacterianos podem sobreviver aos melhores esforços da indústria, do governo e de consumidores para eliminá-los. Alguns destes micro-organismos sobrevieventes podem levar a DTA em certas pessoas que venham consumir esses produtos sem um tratamento térmico adequado antes do consumo (BA et al., 2018; CHOPYK et al., 2016; GONZALES-BARRÓN et al., 2014; KUMAR et al., 2014; MESQUITA et al., 2014; PINHEIRO; SARTORI; RIBEIRO, A. B., 2006; YANG et al., 2017).

Historicamente, animais saudáveis possuem músculo esquelético estéril antes do abate, com exceção dos gânglios linfáticos (ROMANS *et al.*, 2000). Segundo Hufmann (2002), os fatores extrínsecos são, de longe, o maior contribuinte para a contaminação da carcaça e da carne. As bactérias podem entrar em contato com a carcaça de carne durante os estágios do abate e beneficiamento, em que as superfícies externas da carcaça ficam expostas a potenciais fontes de contaminação, como material fecal, a pele e o couro.

Segundo Franco et al (2015) em *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* 8 (ICMSF), existem fontes adicionais de contaminação cruzada no processo de abate, tais como ferramentas e equipamentos de processamento, componentes estruturais da instalação, contato humano e contato

de carcaça-carcaça. Assim, a condição de elevada densidade nutritiva da carne fornece condições ideais para que os micro-organismos se multipliquem, definindo a sua natureza perecível (SAUCIER, 2016).

Neste estudo, utilizou-se o corte denominado filé mignon (em inglês, tenderloin; em francês, filet mignon; em espanhol, lomo) por ser mundialmente utilizado em alta gastronomia. O filé mignon (denominação muscular: psoas maior) é obtido de um grupo muscular localizado abaixo das vértebras lombares do animal. Pelo fato do bovino ser um quadrúpede, este músculo praticamente não é movimentado em sua locomoção, justificando ser um dos cortes de carne bovina mais nobre, por suas características de maciez e de sabor tênue (ZICARELLI, 2017).

Antes do uso, esta peça deve ser limpa, através da retirada de toda a gordura externa e da lâmina proteica que envolve esta formação muscular, obtendose uma carne pura, com baixo teor de gordura (em torno de 5 - 9,%) e apetitosa, que harmoniza muito bem com diversos tipos de molhos, desde os mais picantes (steak au poivre, filet au sauce moutarde, steak avec sauce au vin) até simplesmente ser somente grelhado no azeite de oliva ou na manteiga e servido com acompanhamentos (NEPA-UNICAMP, 2011; ROSELAND et al., 2013).

Uma peça de filé mignon é dividida em 4 partes: cabeça (utilizada para *goulash*, estrogonofe, entre outros), corpo ou coração (parte mais nobre, empregada para *tournedos* e medalhões), ponta (usada para *pailard* e *tartare*) e cordão (menos nobre, destinado para refogados) (ZICARELLI, 2017). Os medalhões de filé mignon podem ser preparados sob diversos pontos de cozimento como ao ponto, ao ponto para mal passado, bem passado, ao ponto para bem passado e mal passado, ficando os seus modos de preparo ao encargo dos *Chefs* e cozinheiros, que sempre priorizam o atendimento às preferências do consumidor.

3.4 Preferências do Consumidor

Desde o surgimento do homem, a busca pela satisfação das suas necessidades e desejos tem sido um dos principais instrumentos impulsionadores do seu desenvolvimento. Passando pelas primitivas relações de troca e formas de comercialização, a sociedade humana foi evoluindo, tornando-se cada vez mais complexa, gerando novos valores, que despertaram novos desejos, diferentes dos que originalmente impulsionaram a grande maioria dos homens (SOUZA, 2000).

Segundo Pedraza (2004), alterações constantes nos hábitos alimentares obedecem a um padrão histórico semelhante nas várias regiões do mundo que se relacionam ao seu desenvolvimento econômico, cultural e demográfico. Também mencionado na tese de Barcellos (2007) na qual enfatiza que do caçador ao "cuisine gourmet" existe uma continuidade no relacionamento entre o homem e o alimento, que envolve, sem dúvida, muitas questões ligadas à tradição, cultura e aprendizado, economia, marketing, religião, sociedade e afeto.

Segundo Noronha, Deliza e Silva (2005) o estudo do comportamento do consumidor em relação a alimentos e bebidas tem caráter multidisciplinar, pois envolve várias áreas tais como ciência e tecnologia de alimentos, nutrição, psicologia e marketing. A percepção das características de um produto pelo consumidor pode ser influenciada por diversos fatores individuais que afetam a percepção dos atributos sensoriais, os quais interagem com fatores fisiológicos, comportamentais e cognitivos.

Desta forma, Brisola e Gomes de Castro (2005), afirmam que conhecer as preferências e comportamentos dos consumidores de alimentos tem sido uma importante área de estudos. Através do conhecimento dos atributos que influenciam a preferência dos consumidores, empresas têm desenvolvido estratégias, buscando garantir a competitividade e sustentabilidade das cadeias de produção a que pertencem.

De acordo com Souki et al (2003), a simples melhoria dos processos produtivos de carne bovina não é mais suficiente para manter a competitividade das organizações que atuam no agronegócio da carne bovina. Em contribuição, Barcellos & Callegaro (2002) definem que um dos atributos-chave para o sucesso neste mercado altamente competitivo é a habilidade de fornecer respostas rápidas às demandas do consumidor, além da flexibilidade frente às mudanças impostas pelo ambiente.

A definição de padrões adequados ao interesse dos consumidores, para cada alimento, no entanto, carece ainda de maiores estudos (GARBER JR.; HYATT; STARR JR., 2003). Garcia & Bliska (2000) afirmam que no Brasil, os estudos sobre as características e preferências do consumidor de carnes ainda são incipientes. Bliska (1996) menciona que pouco ou nada se fez para detectar os gostos e preferências dos consumidores de carne bovina, visando o estabelecimento de segmentos de mercado e mercados-alvo.

Para Cox et al (1997), a capacidade de entregar um produto que possa maximizar a satisfação do cliente e aumentar a possibilidade de manter a fidelidade do cliente é uma questão muito complexa que o setor de serviços de alimentação enfrenta no século XXI. Os mesmos autores, afirmam que, os produtos de carne, em específico, que são oferecidos nos menus, demandam muitos esforços de *Chefs* de restaurantes para melhorar a satisfação do cliente, através do desenvolvimento de novos pratos de carne bovina, pontos de cozimento atrativos, técnicas com temperaturas de cozimento relativamente baixas, entre outros meios. Todos empregados no intuito de melhorar a maciez, o sabor e/ou o aroma da carne bovina. Além destes esforços, os fazem valer especificações de compras objetivas e programas de garantia de qualidade que tentam melhorar esses atributos e entregar um produto consistente, que atenda às expectativas do consumidor.

Assim, para a carne bovina, a qualidade é considerada essencial para garantir a satisfação do consumidor (BORGOGNO *et al.*, 2017). Nesse sentido, conhecer as percepções dos consumidores sobre o que é qualidade, qual o ponto de cozimento preferido e sua relação com o tema 'segurança dos alimentos' torna-se extremamente relevante. Em estudo realizado por Andrade et al (2013), as carnes foram apontadas entre os pesquisados, em participações do tipo *focus group*, como os principais alimentos relacionados com DTA, havendo menções relacionadas a riscos à saúde como: intoxicação alimentar, botulismo e salmonelose.

Estes fatores mencionados anteriormente associados podem influenciar, junto com outras variáveis socioeconômicas e demográficas, a escolha do alimento a ser consumido e contribuir para a efetividade das legislações a serem implantadas (ANDRADE, J. C. De *et al.*, 2013).

3.5 Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA)

De acordo com o Ministério da Saúde, as Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), são causadas pela ingestão de alimentos e/ou água contaminados. Existem mais de 250 tipos de DTA e a maioria são infecções causadas por bactérias e suas toxinas, vírus e parasitas (BRASIL, 2014a).

Os sintomas normalmente relatados são anorexia, náuseas, vômitos e/ou diarreia, acompanhada ou não de febre, atribuída a ingestão de alimentos ou água contaminados. Sintomas digestivos, no entanto, não são as únicas manifestações

dessas doenças, podem ocorrer ainda afecções extra intestinais, em diferentes órgãos e sistemas como: meninges, rins, fígado, sistema nervoso central, terminações nervosas periféricas e outros, podendo inclusive levar a pessoa infectada a óbito, de acordo com o agente envolvido (BRASIL, 2010).

Mesmo apresentando outros possíveis sintomas, as doenças diarréicas são responsáveis por mais da metade dos surtos global das doenças transmitidas por alimentos, causando doença em mais de 550 milhões de pessoas e 230 000 mortes por ano. A diarréia é muitas vezes causada por comer carne crua ou pouco cozida, ovos, produtos frescos e produtos lácteos contaminados por norovírus, Campylobacter, *Salmonella* não tifóide e E*scherichia coli* patogênica (WHO, 2015a).

Em termos epidemiológicos, a ocorrência de DTA vem aumentando de modo significativo em nível mundial. Vários são os fatores que contribuem para a emergência dessas doenças, entre os quais destacam-se: o crescente aumento das populações; a existência de grupos populacionais vulneráveis ou mais expostos; o processo de urbanização desordenado e a necessidade de produção de alimentos em grande escala (WHO, 2017).

Os setores de saúde pública demonstram preocupação relacionada a estas infecções, pois as DTA podem levar à hospitalização, podendo ocorrer sintomas que não permitam o paciente ter sua funcionalidade restaurada ou haver o risco de morte, de modo especial em pacientes idosos e imunodeprimidos (FORSYTHE, 2013; JAY, 2005). O tratamento das DTA depende da sintomatologia, mas em geral, trata-se de doença autolimitada, com o tratamento baseado em medidas de suporte para evitar a desidratação e o óbito (BRASIL, 2014a; FORSYTHE, 2013; TONDO *et al.*, 2015).

A Organização Mundial da Saúde (WHO, 2015b), em trabalho envolvendo opinião de especialistas, publicações científicas e pesquisas em diversas partes do transmitidas mundo estimou que doenças por alimentos. acometem. aproximadamente, 600 milhões de pessoas no mundo, com trinta e um patógenos envolvidos, em 2010. Já o Centro para Controle e Prevenção de Doenças (CDC, 2016), avalia que 48 milhões de pessoas (1 em cada 6) ficam doentes com alimentos consumidos nos Estados Unidos e, ainda, considera que os principais agentes patogênicos conhecidos representam mais de 9 milhões dessas doenças. No entanto, a ligação de doenças individuais a um determinado alimento raramente é possível, exceto durante um surto. Nessa linha, Painter, et al (2013), definem os alimentos mais identificados em surtos, conforme mostrado na figura 1.

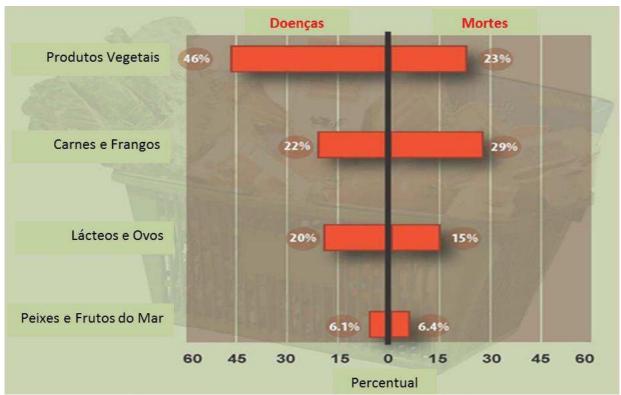


Figura 1: Contribuição de diferentes produtos alimentares (categorias) implicados em doenças e mortes nos EUA, entre 1998-2008. Gráfico não mostra 5% das doenças e 2% de mortes atribuídas a outros produtos. Fonte: CDC (2016)

No Brasil, em termos gerais, no período de 2007-2017 (dados parciais para os dois últimos anos), foram notificados 7.170 surtos de doenças transmitidas por alimentos, com 126.512 indivíduos expostos. Dentre estes surtos, dos locais produtores/manipuladores de refeições identificados, as residências apontaram com maior prevalência, seguidas de restaurantes e padarias (BRASIL, 2017).

Conforme dados da Vigilância em Saúde sobre a epidemiologia dos surtos, no Brasil, não foi identificado o agente etiológico em 70,6% dos surtos notificados. Diferindo de anos anteriores, onde os três micro-organismos caracterizados com maior prevalência foram a *Salmonella* sp., como o principal agente causador de doenças transmitidas por alimentos, seguida por *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, no ano de 2017 o agente etiológico, dos casos identificados está caracterizado por uma prevalência de *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. e *Staphylococcus aureus*, além de outros micro-organismos (BRASIL, 2017).

Neste mesmo período, os alimentos identificados mais envolvidos em surtos foram os alimentos mistos (8,3%), água (6,2%), ovos e produtos à base de ovos (3,7%), leite e derivados (2,8%), carne bovina in natura, processados e miúdos (2,1%),

doces e sobremesas (2,0%), cereais, farináceos e produtos à base de cereais (1,9%), entre outros (6,3%) (BRASIL, 2017).

A partir destes subsídios, salienta-se que apenas uma parte dos casos de DTA está notificada nos bancos de dados oficiais dos sistemas de Vigilância em Saúde, evidenciando um problema mundial de subnotificação. Em geral, o registro de surtos abrange aqueles com maior número de pessoas envolvidas ou que os sintomas são mais severos ou prolongados, conforme Forsythe (2013), Jay (2005) e Oliveira, *et al* (2010).

Um levantamento realizado por Welker et al (2010), no período de 2006 a 2007, referente a alimentos envolvidos em surtos de DTA no estado do Rio Grande do Sul, constataram que os principais micro-organismos identificados nas amostras analisadas foram *Escherichia coli* (41% das contaminações), *Salmonella* spp. (25%) e *Estafilococos coagulase positiva* (21%). Do total de 223 amostras analisadas, 80 amostras eram de produtos cárneos, 45 amostras de pratos preparados (pratos pontos para consumo, como arroz, feijão, salada de batata com maionese, massas e similares) e 33 amostras foram de saladas, correspondente a 36%, 20% e 15%, respectivamente, das amostras analisadas. Com relação aos surtos, dos 186 notificados nesse período, 33 deles ocorreram em estabelecimentos comerciais, correspondendo a 15% das notificações.

Os alimentos são um dos veículos causadores de doenças, principalmente quando o processamento inadequado pode ser insuficiente para inativar microrganismos patogênicos. Condições de manipulação inadequadas, associadas às condições de armazenamento não seguras também podem contribuir para a multiplicação de micro-organismos. Em vista disso, o controle da qualidade dos alimentos necessita de monitoramento em todo o processo produtivo, desde a seleção da matéria-prima, durante o preparo até o consumo, garantindo a segurança e a inocuidade dos alimentos (TONDO; BARTZ, 2014).

3.6 Legislação

Um dos principais fatores para evitar multiplicação e a sobrevivência de micro-organismos é o controle do tempo e da temperatura. Esse binômio deve ser adotado nos serviços de alimentação, a fim de garantir a inocuidade dos alimentos prontos para o consumo e também prevenir surtos alimentares (WHO, 2006). Aspectos econômicos e de segurança de alimentos são dimensões que estão vinculadas a serviços de alimentação, em restaurantes de alta gastronomia e também de hotéis, visto a expressividade deste segmento na economia do turismo (KO, 2013; WU, 2012).

Nestas questões, uma efetiva aplicação de calor (tratamento térmico) auxilia e pode garantir a segurança de alimentos a serem consumidos, principalmente os altamente perecíveis, como as carnes. Para *Food Safety and Inspection Service*, em documento de Temperatura Interna Mínima Segura (USDA, 2015), alimentos como bifes, costeletas e assados de carne bovina devem ser cozidos a uma temperatura interna mínima, medida através de termômetro, de 62,8 °C (145 °F) e deixado em repouso por, no mínimo, 3 minutos antes de servir. No Canadá, as indicações para pontos de cozimento apresentam pequenas diferenças em relação à americana. A *Canadian Food Inspection Agency* (CFIA) (GOVERNMENT OF CANADIAN, 2015) define as temperaturas interna mínima para bifes bovinos, em 63°C (145 °F), para o ponto de cozimento APMAL; de, no mínimo, 71°C (160 °F) para AOPO e de 77°C (170 °F), a temperatura interna mínima para BEMPA.

Em setembro de 2004, no Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, no uso de suas atribuições, aprovou a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº. 216/2004, que dispõe sobre o Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação e que tem como objetivo adotar procedimentos adequados de Boas Práticas que garantem adequadas condições higiênico-sanitárias dos alimentos preparados pelos serviços de alimentação (BRASIL, 2004).

Em âmbito estadual, no Rio Grande do Sul, a Portaria 78/2009, aprovou a Lista de Verificação em Boas Práticas para Serviços de Alimentação, estabelecendo procedimentos necessários no formato de um *check-list* (RIO GRANDE DO SUL, 2009).

Em ambas as legislações, quando o alimento é levado à cocção, o tratamento térmico deve atingir 70 °C em todas as partes do alimento para garantir um alimento seguro (BRASIL, 2004; RIO GRANDE DO SUL, 2009).

De um modo geral, os restaurantes recebem muitos alimentos perecíveis que necessitam de controle mais eficiente de tempo e temperatura no recebimento, na manipulação e preparo, na exposição, no armazenamento e na distribuição, porém nem sempre o controle em todas as etapas são eficazes (CÔNSOLI, 2009; CUNHA, DA; STEDEFELDT; ROSSO, DE, 2014).

3.7 Análises Proteômicas

Vários estudos foram realizados na última década para diminuir o tempo e a quantidade de mão-de-obra empregada em laboratórios de análises, objetivando aplicar técnicas alternativas para identificação precisa em diagnóstico e presença de patógenos transmitidos por alimentos (JASSON et al., 2010). Além destes, também a identificação rápida de bactérias de deterioração de alimentos, culturas starters e probióticos devem estar, entre outros requisitos, identificados com precisão por meios avançados de espectrometria (PAVLOVIC et al., 2013).

Entre as técnicas pesquisadas recentemente, a Espectrometria de Massa Associada a Dessorção/Ionização de Matriz Assistida por *Laser* e Tempo de vôo (MALDI-TOF/MS) foi considerada como uma excelente ferramenta em diferentes laboratórios de pesquisa para detecção e discriminação de vários tipos de microorganismos como bactérias e fungos (ELBEHIRY *et al.*, 2017).

O espectrômetro MALDI-TOF MS consiste em um sistema no qual o material biológico (amostra da colônia pura ou a amostra previamente tratada) é introduzido em uma placa metálica com 384 poços (*spots*) e posterior adição de uma matriz polimérica. O produto da reação entre amostra-matriz (analito) é bombardeado com um laser que vaporiza a amostra e promove sua ionização. Tudo ocorre em um tubo de vácuo que aspira estes analitos até um detector. Conforme a massa deste composto, o tempo de chegada ao detector (*time of flight*) é diferente, gerando picos diferentes para cada amostra. A identificação dos micro-organismos ocorre através da geração de impressões digitais destas proteínas altamente abundantes, seguido de correlação com os espectros de referência em um banco de dados (PASTERNAK, 2012).

A leitura e interpretação dos picos encontrados ocorrem com muita rapidez, sendo apresentados em conjunto com o *score*, que permite avaliar o quanto similar foi o espectro gerado em relação ao banco de dados. Os resultados acima de 2,300 são indicativos de elevada probabilidade de identificação a nível de espécie (verde), entre 2,000 – 2,299, identificação segura do gênero e provável da espécie (verde), entre 1,700 e 1,999 significa que houve uma provável identificação do gênero (amarelo) e abaixo deste *score*, sem identificação confiável (vermelho). A visualização esquemática do equipamento e a geração dos resultados é visualizada na Figura 2.

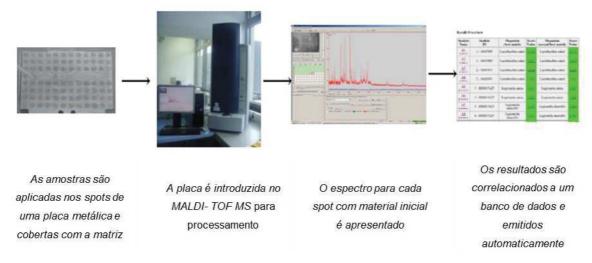


Figura 2: Esquematização das análises via MALDI-TOF MS. Fonte: Pavlovic et al (2013), adaptado

Em estudo conduzido por Thouvenot et al (2018), com objetivo de validar o uso do MALDI TOF/MS, marca Brucker, de forma prospectiva, nos achados de *Listeria* (80% em alimentos e 20% em achados clínicos) em rotinas de vigilância na França, encontraram 100% de precisão para esta técnica na identificação de *L. monocytogenes, L. innocua, L.ivanovii, L. fleischmannii, L. Grayi, L. seeligeri, L. weihenstephanensis* e *L. welshimeri*, sendo os resultados confirmados por sequenciamento de todo o genoma. A confirmação positiva do emprego do MALDI TOF/MS, no contexto da vigilância de *Listeria*, foi fundamental por ter demonstrado ser um método preciso, simples, rápido e econômico para distinção entre essas espécies. As ferramentas de identificação usuais, como API-*Listeria*, sorogrupo de PCR e sequenciamento genético 16S rRNA possuem custos e tempo de resposta elevados.

Outro estudo que aplicou o MALDI TOF/MS para identificação de bactérias foi o realizado por Shell et al (2017). O objetivo foi de avaliar e comparar o desempenho, sensibilidade e confiabilidade de métodos bacteriológicos e fenotípicos tradicionais com os resultados de espectrometria por MALDI TOF/MS, em isolados obtidos de frangos. Como resposta os autores conseguiram uma reprodutibilidade de 93,9% para a pesquisa de *E. coli* e, de 92,3% para *Salmonella*, demonstrando que a utilização de MALDI TOF/MS é uma ferramenta confiável, rápida e econômica para a identificação de bactérias Gram-negativas, especialmente *E. coli* e *Salmonella*.

3.8 Microbiologia Preditiva

A crescente exigência do consumidor por carnes de qualidade e a abordagem da produção de um alimento seguro são tendências internacionais e, cada vez mais, são realizados estudos quanto à microbiologia preditiva, objetivando a revisão do processamento do alimento como um todo e a verificação dos níveis de micro-organismos presentes nos produtos até o final de sua vida de prateleira e assim, garantir um produto seguro para o consumo humano (SILVA, D. C. Da *et al.*, 2016).

A microbiologia preditiva é bastante utilizada pela comunidade científica e estuda de forma quantitativa os efeitos dos fatores intrínsecos frente as variações de temperaturas, umidade, pH e condições de armazenamento, que podem influenciar na multiplicação ou inativação de micro-organismos presentes nos alimentos. Através destes fatores, se constrói os modelos matemáticos dos estudos quantitativos, gerando as curvas de multiplicação ou inativação microbiológica (PEDROSA DE OLIVEIRA et al., 2013). Considerada um item importante no que se refere ao estudo da microbiologia, essa ferramenta permite analisar os riscos, vida útil de prateleira, qualidade e segurança dos alimentos (ALVES; OLIVEIRA, M. I. C. De; MORAES, 2013), podendo entender melhor o comportamento dos micro-organismos presente nos alimentos, em função dos vários fatores associados (MCMEEKIN, T. et al., 2008).

Segundo Whiting & Buchanan (1994), os modelos matemáticos preditivos foram divididos em primários, secundários. Os modelos primários descrevem, as respostas da multiplicação microbiana em relação ao tempo sob determinadas condições ambientes. Já os modelos secundários, são obtidos a partir dos modelos primários terem sido gerados (KAJAK; KRAJAWESKA, 2006; MCMEEKIN, T. *et al.*, 2008).

Para realizar as curvas de inativação e multiplicação microbiana sob diferentes condições, podemos contar com alguns programas que auxiliam na modelagem destas curvas, como: *Pathogen Modeling Program, ComBase Predictive Models e GlnaFiT.* Esses programas são de fácil utilização e tem acesso livre (MCMEEKIN, T. A.; ROSS, T, 2002).

O programa *GInaFiT* é um complemento gratuito do *Microsoft*® *Excel*, com o objetivo de superar a lacuna entre os pesquisadores que desenvolvem abordagens de modelagem preditiva e usuários finais na indústria de alimentos ou grupos de pesquisa que não descartam ferramentas avançadas de análise de regressão não linear (GEERAERD, A. H.; VALDRAMIDIS; IMPE, VAN, 2005).

Esta ferramenta é útil para testar nove tipos deferentes de modelos de inativação microbiana: Regressão Log-Linear; Modelo Log-Linear + Ombro; Modelo Log-Linear + Cauda; Modelo Log-Linear + Ombro + Cauda; Modelo de Weibull; Modelo de Weibull corrigindo parâmetro p; Modelo de Weibull + Cauda; Modelo Bifásico; Modelo Bifásico + Ombro.

A qualidade dos modelos gerados pelo programa GlnaFiT é avaliada pelo coeficiente de determinação (R², Equação 1) que calcula a medida geral da predição do modelo desenvolvido e a raiz do erro quadrático médio (RMSE, Equação 2), que é uma medida padrão da adequação do modelo aos dados utilizados.

$$R^2=1-rac{\Sigma_{i=1}^{\widetilde{N}}(\gamma_i-\widehat{\gamma_i})}{\Sigma_{i=1}^{\widetilde{N}}\gamma_i^2}$$
 (Equação 1)

onde, \widetilde{N} é o número de pontos no conjunto de dados; γ_i é o valor observado; \hat{y}_i é o valor predito.

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum(\mu - \hat{\mu})}{n}}$$
 (Equação 2)

Onde, n é o número de observações; μ é o valor observado e $\hat{\mu}$ é o valor predito.

A estrutura do programa possui nove diferentes modelos matemáticos que serão escolhidos pelo usuário de acordo com os resultados obtidos nesta pesquisa, em que o critério de adequação é R^2 mais próximo de 1,0000. Neste estudo foi utilizado modelos matemáticos para predizer a inativação microbiana em medalhões de filé mignon contaminados artificialmente com um *pool* de *E. coli*.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

No período de março de 2016 a dezembro de 2017 foram realizados experimentos de inativação microbiológica em medalhões de filé mignon bovino, no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Rio grande Sul (ICTA/UFRGS), com a cooperação do Laboratório Nacional Agropecuário do Rio Grande do Sul (LANAGRO/RS).

4.1 Preparo dos cortes de medalhões

Peças de filé mignon resfriado foram adquiridas em açougues da cidade de Porto Alegre/RS, Brasil. Após a compra, as peças foram transportadas em caixas térmicas, e conduzidas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos. Foram armazenadas sob refrigeração (4 ± 2 °C), para serem processadas e analisadas.

Inicialmente foi realizada a limpeza da peça para a retirada do cordão (lâmina proteica que recobre a superfície do filé) e também toda a gordura externa. Neste procedimento foram utilizadas faca e prancha de corte estéreis. As peças de filé mignon foram cortadas em medalhões de $70.7 \pm 10 \text{ cm}^3$ (diâmetro de $6.0 \pm 0.2 \text{ cm}$ e altura de $2.5 \pm 0.3 \text{ cm}$), com peso de $100.0 \pm 5.0 \text{ g}$, para posterior análise microbiológica, segundo as técnicas de preparo. Foram avaliadas as inativações da microbiota natural das carnes assim como de *Escherichia coli* artificialmente inoculada, conforme descrito a seguir, em itens específicos.

4.2 Análises de parâmetros intrínsecos

Para cada peça de filé mignon foram medidos parâmetros intrínsecos como pH e atividade de água (aw). A técnica empregada para medição de pH foi por potenciometria descrita em Brasil (2014b) em equipamento Kasvi – mod. K39-1014B, enquanto que a aw foi realizada conforme técnica descrita por Brasil (2014c), em equipamento Aqualab 3TE – Decagon.

4.3 Preparação do inóculo e contaminação artificial de Escherichia coli

Segundo Forsythe (2013) e Silva (2017) a *Escherichia coli* é um microorganismo que pode ser utilizado como indicador para avaliação do processo de
inativação térmica microbiana. Em vista disso, esse micro-organismo foi utilizado para
avaliar o efeito do processamento térmico na inativação microbiana em filés mignons.
Para tanto, cepas de *Escherichia coli* armazenadas a -18°C, em meio *Brain Heart Infusion* (BHI, HIMEDIA, Mumbai, Índia) adicionado de 20% de glicerol (Nuclear,
Diadema, Brasil), foram utilizadas na composição de um *pool* para inoculação. As
cepas utilizadas foram *E. coli* CQ (isolada de cachorro-quente vendido nas ruas de
Porto Alegre, Brasil), *E. coli* DH5-α (cepa laboratorial) e *E. coli* ATCC 25922 e ATCC
8739, as quais pertencem a coleção de culturas bacterianas do Laboratório de
Microbiologia e Controle de Alimentos do Instituto de Ciência e Tecnologia de
Alimentos (ICTA/UFRGS).

Cada cepa de *E. coli* foi ativada, inoculando-se uma alçada de cultura pura em dois tubos de 10mL de caldo BHI, sendo então incubadas a 37 °C, por 18 – 24 h. Em seguida, cada tubo de cada cultura foi centrifugado (centrífuga Hettich Mikro 120) em temperatura ambiente, por 5 minutos, a 14.000 rpm, sendo o sobrenadante descartado e o *pellet* lavado com 2mL de água peptonada 0,1% estéril (Oxoid, Hampshire, Inglaterra). Esse procedimento foi repetido por duas vezes, sendo que na segunda vez, as células de cada tubo foram ressuspendidas em 10 mL de água peptonada 0,1%. O conteúdo dos dois tubos de 10mL de cada cepa foram adicionados em um copo de Becker de 1000mL. Neste mesmo copo, foram adicionados 820mL de água peptonada 0,1% estéril, perfazendo um total de 900mL. Cada medalhão de filé foi mergulhado durante dois minutos nessa suspensão, com objetivo de atingir um inóculo inicial de 6 a 8 log UFC/g, conforme preconizado pela International Comitission on Microbiological Specifications for foods - ICMSF 8 (FRANCO, B. *et al.*, 2015).

4.4 Processamento térmico

O processamento térmico de medalhões sob a técnica de preparo de grelhar consistiu basicamente em aquecer uma frigideira com uma pequena quantidade de gordura (azeite de oliva) e, em seguida, colocar o pedaço de carne para grelhar.

Para preparação dos medalhões foi utilizada frigideira doméstica, antiaderente, com diâmetro de 22cm, fogão a gás (gás liquefeito de petróleo – GLP) e 10 mL de azeite de oliva, para cada medalhão.

Foram aplicadas duas técnicas distintas de preparo. A Técnica 1 de preparo segue o descrito no livro da Escola de Gastronomia *Le Cordon Bleu* (Wright & Treuille, 2016), escola de renomado conceito mundial. A descrição da Técnica 2 consta no livro da Escola de Gastronomia das Américas (IGA) (Zicarelli, 2017), escola de gastronomia amplamente divulgada na América do Sul. A diferença entre s duas técnicas baseia-se no controle do ponto de cozimento final. A Técnica 1 define cada ponto de cozimento pelo controle de tempo de cocção em processo de grelha, sendo que para o ponto BEMPA as instruções de preparo incluem o tratamento térmico em forno para finalizar o cozimento. A Técnica 2 instrui o controle do ponto de cozimento pelo acompanhamento da temperatura central do medalhão, aplicando-se somente o processo de grelhar, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1: Parâmetros de duas técnicas de preparo de medalhões de filé mignon descritas por Wright & Treuille (2016) e Zicarelli (2017).

	Técnica 1:	Técnica 2:	
PONTOS DE COZIMENTO	Le Cordon Bleu	IGA	
	Controle: Tempo de Grelha	Controle: Temperatura Central*	
Mal Passado (MALPA)	1 minuto	52 − 55 °C	
Mai Fassado (MALFA)	(0,5 min de cada lado)	52 – 55 °C	
Ao ponto para mal passado	2 minutos	55 – 60 °C	
(APMAL)	(1 minuto de cada lado)	55 – 60 - 6	
Ao ponto (AOPO)	3 minutos	60 − 65 °C	
Ao ponto (AOPO)	(1,5 minutos de cada lado)	00 – 03 -C	
Ao ponto para bem passado	4 minutos	65 − 69 °C	
(APBEM)	(2 minutos de cada lado)	03 – 09 -C	
	6 minutos		
Bem passado (BEMPA)	(3minutos de cada lado) e mais		
Delli passauu (DEMPA)	6-10 min em forno temperatura	71 – 100 °C	
	baixa		

^{*}Ao atingir, aproximadamente, 50% da temperatura final, o medalhão é virado.

Para cada técnica, cinco medalhões foram submetidos ao processamento térmico para atingir o ponto final de cozimento desejado. Em ambas as técnicas foram controlados o tempo de tratamento térmico, a temperatura central de cada medalhão, a temperatura da base de contato com o azeite, a da superfície em contato com o ar

e a temperatura do azeite. As temperaturas do azeite na frigideira e de diferentes partes dos medalhões foram avaliadas por termopares do tipo K em contato com o azeite, introduzidos na parte central, base e superfície dos medalhões. Os termopares foram conectados em equipamento Datalogger TENMARS, modelo TM-747 DU, calibrado, com quatro canais de medição simultâneos. As leituras de temperaturas foram realizadas a cada 1 segundo, assim como os dados de tempo. A imagem do experimento está representada na Figura 3.



Figura 3: Representação do medalhão sendo submetido ao processo térmico do tipo grelha, com os termopares inseridos na base, centro e superfície do filé e um termopar no azeite.

Na Técnica 1, para o ponto BEMPA as instruções de preparo incluem o tratamento térmico em forno para finalizar o cozimento. Assim, ao finalizar o tempo prescrito em frigideira, o medalhão foi introduzido em forno pré-aquecido a 180 °C, e assado por 9 minutos, juntamente com os termopares previamente inseridos desde o início do processo de cocção, nos pontos anteriormente descritos (base, meio e superfície).

4.5 Análises microbiológicas

Após contaminação artificial com o pool de E. coli, os medalhões foram submetidos a processamento térmico, de acordo com cada ponto de cozimento, preconizados pelas duas técnicas acima descritas, separadamente. Em cada ponto de cozimento, amostras de 25 g foram coletadas e diluídas em 225 mL de água peptonada 0,1%, formando a diluição 10⁻¹, a qual foi homogeneizada em equipamento, do tipo Stomacher (Stomacher 400, Seward London Clinical), por 5 minutos. Em seguida, diluições decimais seriadas foram realizadas, conforme a contaminação esperada para cada tempo/temperatura de tratamento térmico. Alíquotas de 1mL das últimas três diluições de cada amostra foram semeadas, pela técnica de pour plate, no meio seletivo Violet Red Bile Agar - VRBA (Merck, Darmstadt, Alemanha) adicionado de 4-metilumbeliferil-β-D-glicuronídeo - MUG (Oxoid, Hampshire, Inglaterra). Alíquotas de 0,1 mL foram semeadas, paralelamente, em meio enriquecido não seletivo Brain Hearth Infusion Agar -BHI (Himedia, Mumbai, Índia), pela técnica de espalhamento em superfície. As placas de Petri contendo o meio VRBA+MUG e as placas contendo BHI foram incubadas a 37 °C / 18/24 horas, e os números de unidades formadoras de colônias (UFC) foram contados, após a incubação (SILVA, N. Da et al., 2017).

Todas as contagens bacterianas foram realizadas em triplicata e os experimentos foram repetidos, no mínimo, três vezes, para cada técnica de preparo. Os resultados foram expressos em logaritmo de unidades formadoras de colônias por grama de amostra (log UFC/g).

Além destas análises, também foram realizadas análises de presença/ausência de *E. coli*, através de esfregaço por *swabs*, na superfície dos medalhões, no ponto de viragem. *Swabs* estéreis foram utilizados para proceder o esfregaço em uma área de 4 cm² (2 x 2 cm), delimitado por um molde em papel filtro estéril. Os esfregaços ocorreram em cada lado do medalhão e na lateral. O primeiro ponto foi na superfície superior do medalhão, quando este foi colocado na frigideira. No ponto de viragem (no tempo em que, a temperatura central atingiu, aproximadamente, 50% da temperatura final estabelecida pela metodologia), o esfregaço foi realizado imediatamente após a virada, na superfície que havia entrado em contato direto com o calor. A lateral foi avaliada após o medalhão estar grelhado, para cada ponto de cozimento. Os *Swabs* foram esfregados, girando-se sua haste e arrastando-a, em

placa de Petri, contendo meio seletivo VRBA+MUG. Após, as placas foram incubadas a 37 °C / 18/24 horas para posterior leitura do resultado de Presença ou Ausência / 4 cm².

As contagens bacterianas foram realizadas para ambos tratamentos térmicos avaliados, enquanto que a avaliação da presença/ausência foi realizada apenas na Técnica 2 para avaliar o processo de grelhar especificamente, visto que na Técnica 1 foi empregado processo de grelha e forno.

4.6 Avaliação da microbiota acompanhante da carne

A microbiota da carne resfriada foi avaliada antes e após o tratamento térmico através de análises proteômicas realizadas por Espectrometria de Massa Associada a Dessorção/Ionização de Matriz Assistida por Laser e Tempo de voo (MALDITOF/MS), modelo Autoflex Speed (Bruker Corporation, Bremen, Alemanha) no Laboratório Nacional Agropecuário do Rio Grande do Sul (LANAGRO/RS).

Todas as colônias aparentes, obtidas da técnica de contagem total de mesófilos (SILVA, N. Da *et al.*, 2017), em meio de enriquecimento, não seletivo, BHI, que expressaram crescimento e não apresentaram sobreposição de colônias, foram coletadas das placas originais e semeadas para pequenos quadrantes identificados em placas de Petri também com meio de cultura não seletivo, BHI. Estas placas foram incubadas a 37 °C / 24/36 horas. A seguir, estas placas foram vedadas com parafilme e transportadas, por aproximadamente 30 min, em recipiente isotérmico, até o LANAGRO. A figura de uma das placas de transporte está apresentada na Figura 4.

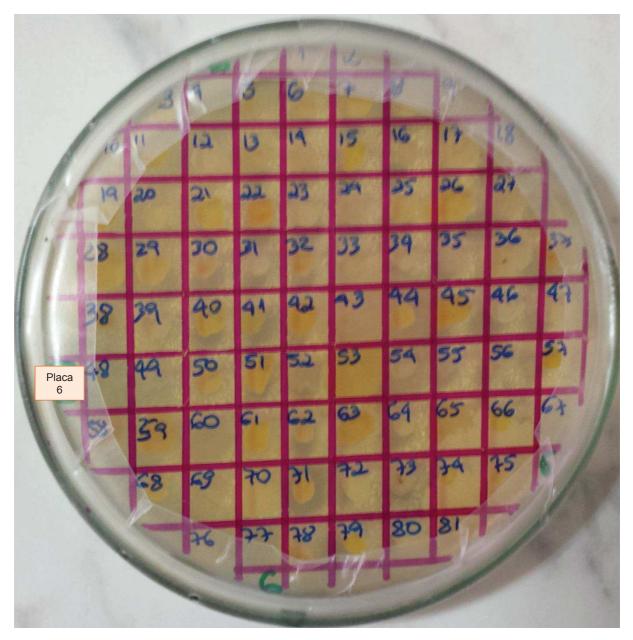


Figura 4: Placa de transporte das colônias a serem identificadas no equipamento MALDI-TOF / MS, no LANAGRO.

Estas amostras foram preparadas através de dois protocolos, caracterizados como fixação direta das colônias nos sítios (*spots*) da placa do aparelho MALDI–TOF/MS (Protocolo 1) ou por indução do rompimento das paredes celulares (Protocolo 2), conforme orientações do fabricante do equipamento.

Para realização das análises em MALDI TOF / MS, sob Protocolo 1, cada colônia foi transferida diretamente, para os sítios (*spots*) da placa metálica de leitura do equipamento. Após as análises, aqueles micro-organismos com *scores* de identificação abaixo de 1,700, foram então submetidos ao Protocolo 2. Neste caso,

cada colônia, foi transferida para tubos *Ependorff* com 300µL de água deionizada. Em seguida, cada amostra foi homogeneizada por pipetagem e adicionada de 900µL de etanol absoluto. Após a mistura, a amostra foi centrifugada à velocidade ≥ 13.000 rpm, durante 2min. Foi realizada a secagem do complexo etanol-*pellet* resultante em temperatura ambiente, durante dois a três minutos. Logo após, ácido fórmico 70% (25µL) (Labsynth, São Paulo, Brasil) foi adicionado ao sedimento e misturado por pipeta. Acetonitrila pura (J. T. Baker, USA) (25µL) foi adicionada a este *pellet*, misturada e centrifugada, durante 2 minutos à velocidade ≥ 13.000 rpm, permitindo o rompimento celular. Ao fim desse procedimento, foi adicionado 1µL do sobrenadante nos sítios (*spots*) da placa de metal do equipamento e deixado secar em cabine de fluxo laminar.

Para ambos os casos (Protocolo 1 ou 2), em sobreposição ao material já seco sobre os *spots* da placa metálica, foi adicionado 1μL da solução da matriz (10 mg / 1.000 μL de solução), para que ocorresse a co-cristalização entre o analito e a matriz, no sítio. A solução da matriz foi composta por 10 mg de ácido hidroxixinâmico α-cyano-4 (Sigma-Aldrich, Darmastadt, Alemanha) em uma solução composta por 475 μL de água deionizada purificada, 500 μL de acetonitrila e 25 μL de ácido trifluoracético (Sigma-Aldrich, Darmastadt, Alemanha) e misturada em agitador Vortex (marca Warmnest), até completa homogeneização.

A secagem do material nos *spots* ocorreu em cabine de fluxo laminar. Após, a placa foi introduzida no equipamento, que, sob vácuo, foi submetida a pequenos pulsos de laser, ocorrendo a ionização da amostra. De acordo com o tempo de voo (TOF) do analito até o detector, no final do tubo a vácuo, as características do espectro foram geradas (única para cada espécie), permitindo a identificação do microorganismo até o nível de espécie, ou, em alguns casos, em gênero. Cada amostra foi fixada, sempre em triplicata nos sítios da placa, para confirmação dos resultados.

Em cada placa metálica, três *spots* foram adicionados de solução calibrante (*Protein Standart* 1, Bruker Daltonics), como forma de validar a corrida analítica. O espectro foi analisado utilizando controle de automação MALDI *Biotyper Realtime Classification Wizard* juntamente com o banco de dados *Bruker Taxonomy Software MALDI Biotyper 3.1* (Bruker Daltonics)

4.7 Questionário de preferência do consumidor

Para identificação da preferência do consumo do ponto de cozimento de filé mignon bovino e relacionar os dados com os resultados da inativação microbiana, foi desenvolvido um questionário *on line*, através de uma ferramenta para aplicação de pesquisa, denominada Typeform®. A pesquisa pôde ser acessada via e-mail, redes sociais (WhatsApp®, FaceBook®, Instagram®, entre outras possíveis) através de um *link* (https://clarissa41.typeform.com/to/uTVvNJ), enviados diretamente pela pesquisadora ou através do reenvio dos próprios participantes.

Por amostragem de conveniência (OLIVEIRA, T. M. V. De, 2001), os participantes foram selecionados aleatoriamente, através dos próprios contatos da pesquisadora e por meio da divulgação dos participantes às suas redes de contato. Além disso, foi feito contato com instituições de ensino de todo o país, que apresentavam Gastronomia em sua matriz de cursos, através de ligações telefônicas a secretaria das escolas e/ou e-mail aos coordenadores do referido curso, quando disponibilizado, pedindo a cooperação em divulgar o *link* de acesso ao questionário entre os estudantes.

Antes de responder o questionário o participante foi informado a ler o Termo de Consentimento Livre Esclarecido para a aceitação em participar da pesquisa, como condição decisória ao prosseguimento do questionário. As questões abordadas foram referentes aos itens de: idade; sexo; escolaridade; renda; quanto ao consumo, qual o tipo e ponto de cozimento preferido; frequência de consumo; quantidade consumida; horário e local de consumo. As questões foram elaboradas segundo o critério de múltipla escolha (respostas fechadas).

Para questões de preferência do ponto de cozimento e quantidades, foram inseridas fotografias para uma visualização e auxílio na escolha da alternativa que melhor refletia o produto habitualmente consumido (APÊNDICE 1). O questionário foi veiculado no período de janeiro – maio/2017.

4.8 Análise de dados

Para as análises microbiológicas, os dados foram armazenados em banco de dados Excel 2010 (Microsoft, EUA) e analisados por meio do pacote estatístico SPSS, versão 21.0 (IBM, EUA). Para a comparação entre os pontos de cozimento e

as técnicas, foram utilizados os testes de Equações de Estimativa Generalizadas, Teste de Friedmann e Post Hoc de Bonferroni. Foi considerado um intervalo de significância de 95% (P<0,05).

Para obter os parâmetros de cinética de inativação foi utilizado a ferramenta GlnaFIT *Software*. Este programa gera modelos preditivos através de regressão linear e não linear com base nos resultados experimentais encontrados.

No quesito preferência do consumidor, os dados foram armazenados na própria ferramenta de pesquisa Typeform® e transferidos para banco de dados Excel (Microsoft, EUA). Após, estes resultados foram analisados por meio do pacote estatístico SPSS versão 21.0 (IBM, EUA). As variáveis foram descritas por meio de média e desvio padrão e frequência absoluta e relativa. A associação entre as variáveis foi verificada por meio do Teste Qui-quadrado de Pearson e Teste de tendência linear para o Qui-quadrado. Foi considerado estatisticamente significativo um P<0,05.

4.9 Conflitos de interesse

Os resultados obtidos neste trabalho não geraram conflitos de interesse entre as entidades colaboradoras, LANAGRO e UFRGS. O questionário foi avaliado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), e foi aprovado sob número 80431017.6.0000.5347.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Comparação entre as técnicas

Na presente pesquisa, o livro que apresentou técnica de preparo indicando controles para identificação mais precisa do ponto de cozimento, como a utilização de termômetro, foi o descrito pelo IGA (Técnica 2), sendo este um livro utilizado em aulas para formação de Cozinheiros Profissionais e Especialistas em Gastronomia e Alta Gastronomia, disseminando o conhecimento entre futuros profissionais da área. Já na Técnica 1 (*Le Cordon Bleu*), estas recomendações de controle não foram mencionadas e este livro é amplamente utilizado por consumidores, para preparo doméstico de receitas.

Ao encontro do verificado, Levine et al (2017), avaliaram a comunicação sobre a orientação de segurança dos alimentos, em mais de 1.400 receitas que empregavam matéria prima de origem animal em 29 livros de receitas. Os resultados demonstraram que somente 8,2% das receitas apresentaram a indicação de temperatura do ponto final de cozimento, especificamente temperaturas de ponto final seguro e 5,1% comentaram sobre práticas positivas de redução de risco de contaminação cruzada.

5.2 Parâmetros intrínsecos e Características da Matéria Prima

Os parâmetros iniciais, como atividade de água (a_w) e pH e contagem total de mesófilos (para avaliação da microbiota acompanhante) dos medalhões de filé mignon cru estão listados na Tabela 2.

Tabela 2: Parâmetros intrínsecos (a_w, pH) e contagem total de mesófilos em peças de filé mignon bovino utilizados para avaliação da inativação microbiana por tratamento térmicos preconizados na gastronomia.

Parâmetros	Filé mignon			
Atividade de água (aw)	0,995 ± 0,004 (23,6 °C)			
рН	6,47 ± 0,02 (24,0 °C)			
Contagem Total de Mesófilos, log UFC/g	$5,38 \pm 0,34$			

Segundo Forsythe (2013) a atividade de água de alimentos altamente perecíveis, como a carne está entre 0,95–1,00, o que demonstra adequação da matéria prima utilizada nos experimentos.

Os resultados encontrados para pH estão de acordo com descrito por ICMSF 8 (FRANCO, B. *et al.*, 2015), na qual o pH do músculo bovino pós morte está em uma faixa entre 5,4 - 6,5, para uma manutenção adequada da vida de prateleira de carnes cruas refrigeradas.

No quesito contaminação microbiológica inicial, Ba et al (2018) encontraram, por contagem padrão em placa, a carga de 3,86±0,0 log UFC/10cm² em carcaças bovinas e para *E. coli* , 1,95±0,0 log UFC/10cm². A metodologia dos pesquisadores, para a amostragem, foi coletar as amostras das carcaças após as etapas usuais de abate, com início no atordoamento, sangria, retirada da cabeça e patas, retirada do couro, evisceração, lavagem da carcaça e resfriamento, sendo a coleta realizada em seis pontos distintos das carcaças (n = 8), 24 h após o armazenamento em sala fria. Resultados indicam que foi percebida a presença de *E. coli* em carcaças o que não foi identificado no presente estudo.

Os achados verificados por Becker e Kiel (2016) em carne bovina (corte: patinho) comercializadas em cinco supermercados diferentes no município de Cascavel/PR (BR), coletadas em três datas diferentes e analisadas em triplicata apresentaram contagem total de mesófilos variando entre 1,43x10² UFC/g como achado mínimo e o máximo de 2,97x106 UFC/g. Estes resultados demonstraram similaridade com a média de contagem inicial do filé mignon empregado neste trabalho, apesar de ser outro tipo de corte.

Segundo Silva et al (2016), em estudo que avaliaram 600 amostras de cortes de carnes variados de um frigorífico sob Inspeção Federal, dentre os cortes, 4 amostras foram de filé mignon. Neste corte, a contagem total de mesófilos foi de 2,93 x 10² UFC/g, e no mesmo estudo o cordão do filé apresentou contagem de 1,73 x 10² UFC/g. Cabe salientar que as amostras foram coletadas no próprio frigorífico, a qual não sofreram as operações de transporte e distribuição, etapas usualmente necessárias para comercialização dos cortes bovinos. Estes resultados foram expressivamente menores que os achados na presente pesquisa.

5.3 Inóculo

Em relação à suspensão bacteriana do inóculo, utilizada para contaminação artificial dos medalhões, foi identificada a concentração média do *pool* de *E. coli* de 8,81±0,80 log UFC/g, conforme planejamento do experimento. Desta forma, após a imersão dos medalhões nesta suspensão, a concentração inicial dos medalhões de filé mignon foi de 6,03 a 6,29 log UFC/g, estando de acordo com o preconizado pela *International Comitission on Microbiological Specifications for foods* - ICMSF 8 (FRANCO, B. *et al.*, 2015).

5.4 Processamento térmico

A avaliação dos resultados obtidos em relação à temperatura do azeite, indicou que ao comparar as temperaturas médias aplicadas entre a Técnica 1 e 2, para cada ponto desejado, foi encontrado diferença significativa (p<0,05) entre as médias, conforme apresentado na Tabela 3.

Tabela 3: Médias de temperaturas, desvio padrão, mediana e temperaturas mínimas e máximas do azeite, para ambas técnicas analisadas, em cada ponto de cozimento. MALPA = medalhão mal passado, APMAL = medalhão ao ponto para mal passado; AOPO = medalhão ao ponto; APBEM = medalhão ao ponto para bem passado e BEMPA = medalhão bem passado. DP=desvio padrão. Temperaturas em °C.

	_		_	_					Diferença			
Ponto de cozimento Média±Di		Técnica 1			Técnica 2			Média±EP	Intervalo de Confiança		Р	
	Média±DP	Mediana	Mínimo	Máximo	Média±DP	Mediana	Mínimo	Máximo		Inferior	Superior	
MALPA	238,6±10,8	237,8	215,8	268,4	175,9±10,1	176,3	150,6	197,8	62,3±1,9	58,5	66,0	<0,001
APMAL	230,1±14,0	230,4	203,7	266,6	178,6±8,4	179,1	154,1	192,3	58,0±1,4	55,3	60,7	<0,001
AOPO	238,4±11,7	240,8	202,5	264,7	160,9±7,1	159,4	150,1	179,0	71,7±0,9	69,9	73,4	<0,001
APBEM	244,1±11,7	246,5	218,7	265,3	168,0±8,8	167,7	150,4	189,1	77,7±1,0	75,8	79,6	<0,001
BEMPA	256,3±9,7	256,6	233,3	272,9	171,7±8,8	170,5	150,4	190,8	80,4±0,5	79,5	81,4	<0,001

Os resultados desse estudo permitiram identificar as temperaturas centrais máximas ao final de cada ponto de cozimento, quando foi utilizada a Técnica 1. Também se identificou os tempos de processo para cada ponto de cozimento, quando o controle do cozimento ocorreu pelo acompanhamento da temperatura central dos medalhões, descrito na Técnica 2, conforme demonstrado na Tabela 4.

Tabela 4: Resultados de tempo de processo e temperatura central máxima para cada ponto de cozimento dos medalhões bovinos tratados termicamente por duas técnicas gastronômicas. MALPA = medalhão mal passado, APMAL = medalhão ao ponto para mal passado; AOPO = medalhão ao ponto; APBEM = medalhão ao ponto para bem passado e BEMPA = medalhão bem passado. T. máx. = temperatura máxima; Proc. Completo = processo completo descrito na Técnica 1(grelhar + assar).

Parâmetros	Pontos de Cozimento							
de tempo e temperatura	MALPA	APMAL	AOPO	APBEM	BEMPA - Grelha	BEMPA - (Proc. Completo)		
Técnica 1 - Le Cordon Bleu								
Tempo de processo máx.	1 min	2 min	3 min	4 min	6 min	15 min		
T. máx. central	11,5 °C	19,3 °C	30,7 °C	35,8 °C	65,5 °C	78,6 °C		
Técnica 2 - IGA								
Tempo de processo máx.	5 min e 49 seg	6 min e 5 seg	7 min e 45 seg	8 min e 17 seg	11min e 35 seg			
T. máx. central	52,1 °C	56,2 °C	63,6 °C	68,2 °C	75,2 °C			

O resultados encontrados por Lahou et al (2015) quando avaliaram filés bovinos, preparados em frigideira elétrica com manteiga, dotada de escala de controle de temperatura entre 1 a 7, previamente aquecida em seu maior estágio de temperatura, apontaram resultados semelhantes aos encontrados neste estudo, em relação a temperatura central das peças versus o tempo de exposição ao tratamento térmico. Para estes autores a temperatura central atingiu 70 °C após 13 min de processo do tipo grelha.

Os gradientes de temperatura observados para obter os medalhões em diferentes pontos de cozimento, após aplicação do processo de grelhar, nas Técnicas 1 e 2, estão representados na Figura 5.

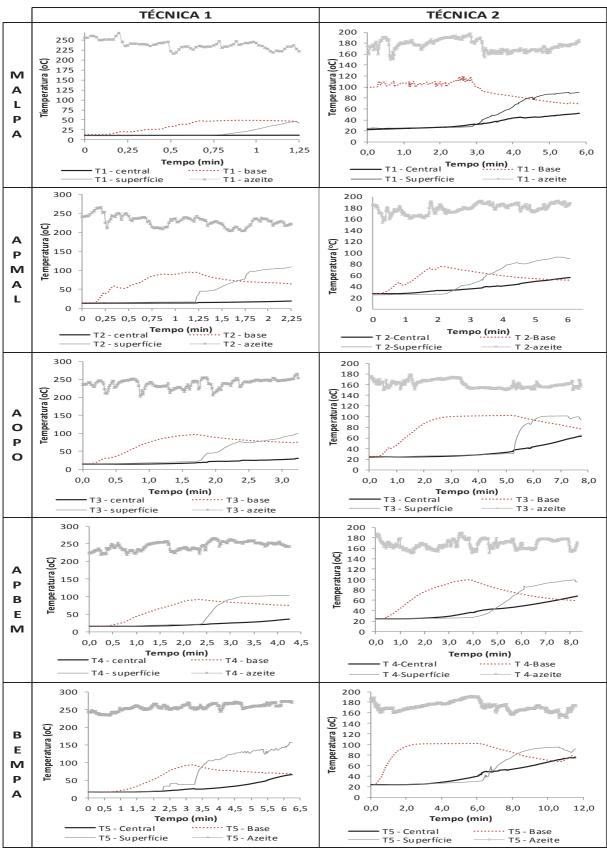


Figura 5: Resultados dos tempos e temperaturas de processamento de grelha para cada ponto de cozimento, sob aplicação de duas técnicas de preparo de medalhão de filé mignon bovino. MALPA= filé mal passado; APMAL = filé ao ponto para mal passado; AOPO = filé ao ponto; APBEM = filé ao ponto para bem passado; BEMPA = filé bem passado.

Os resultados da Técnica 1 demonstraram que, para o medalhão mal passado (MALPA), durante 1 minuto de exposição ao processamento térmico, a temperatura do ponto central atingiu o máximo de 11,5 °C, que representou um aumento 0,6 °C. Nesta técnica, a temperatura máxima observada no medalhão foi de 49,1 °C, na base do filé, aos 54 segundos de processo, visualizado na Figura 5 quadrante MALPA.

Na mesma Figura 5 (MALPA), quando aplicada a Técnica 2 para obter o mesmo ponto de cozimento, percebeu-se uma elevação de 30,1 °C na temperatura central, em razão do maior tempo de processamento, quando comparada com a Técnica 1. O tempo de processamento total atingiu 5 min e 49 seg, para obtenção de 52 °C no centro do medalhão, conforme descrito na referida técnica.

O resultado de ΔT de 30,1 °C obtido na aplicação da Técnica 2, para o ponto MALPA apresentou um maior gradiente de temperatura em relação a Técnica 1, no entanto a temperatura central ainda está abaixo do preconizado pela RDC 216/2004.

Para o medalhão ao ponto para mal passado (APMAL), na Técnica 1 o tempo máximo de processamento térmico identificado foi de 2 min. Já para a Técnica 2 foi observado o tempo de 6 minutos e 5 segundos para o mesmo ponto de cozimento.

Ambas técnicas alcançaram temperaturas maiores que 70 °C, para o ponto de cozimento APMAL. Na Técnica 2, foi atingida a temperatura de 92,6 °C na superfície do medalhão após o ponto de viragem, aos 5min e 42seg, sendo que na Técnica 1 a temperatura de 109,4 °C foi atingida na superfície do medalhão, aos 2 min, após virar a peça de filé e a superfície entrar em contato com o azeite. Mesmo atingidas temperaturas superficiais superiores a 70 °C, o cerne do medalhão APMAL apresentou temperaturas máximas de 19,3 °C e 56,2 °C, para Técnica 1 e 2, respectivamente, ficando ainda abaixo da temperatura indicada como segura pela legislação. Os resultados estão mostrados na Figura 5 quadrante APMAL.

Em situação semelhante ao ponto de cozimento anterior, o filé grelhado ao ponto (AOPO) apresentou temperaturas máximas superficiais de 99,7 °C e 102,3 °C, para Técnica 1 e 2, respectivamente. A temperatura central máxima alcançada foi de 63,6 °C, na Técnica 2. Já na Técnica 1 que preconiza tempo de processamento, a maior temperatura no centro foi de 30,7 °C, conforme apresentado na Figura 5 quadrante AOPO. Estes resultados indicam que, dependendo da preferência do

consumidor pelo ponto de cozimento do medalhão, em restaurantes e em domícilio as preparações podem não estar atendendo aos pré-requisitos recomendados por órgãos nacionais e internacionais para a produção de um alimento seguro.

No medalhão ao ponto para bem passado (APBEM), ao comparar os resultados de ΔT , foram verificados valores de 86,7 °C, na superfície da peça, no preparo conforme a Técnica 1 e de 75,3 °C de acordo com a Técnica 2, como os maiores gradientes neste ponto de cozimento. Estes resultados demonstram que devido a temperatura do azeite ser maior na Técnica 1 em relação a Técnica 2 (244,1 \pm 11,7 °C e 168,0 \pm 8,8 °C, respectivamente) o tempo maior de processamento em relação aos pontos de cozimento anteriores é um fator controlável. Mesmo o ΔT na superfície sendo maior que 70 °C, neste ponto de cozimento, a temperatura central máxima foi de 35,8 °C na Técnica 1 e 68,2 °C, na Técnica 2, conforme verificado na Figura 5 quadrante (APBEM).

Estas observações obtidas na presente pesquisa vão ao encontro à indicação de Forsythe (2013) na qual a associação da temperatura de processo e o tempo de permanência em tratamento térmico são fatores determinantes para que se alcance a oferta de um alimento seguro. Estes fatores devem estar aliados à escolha do consumidor pelo ponto de cozimento da carne.

Para o medalhão bem passado (BEMPA), a Figura 5 apresenta os dados referentes somente ao processo de grelha, para as duas Técnicas (1 e 2). Na Técnica 1, a metodologia adiciona o processo de assar para completar o ponto de cozimento. Devido estes dois processos térmicos (grelhar e assar) apresentarem diferenças na transferência de calor, o processo de assar complementar associado à grelha está apresentado a diante, já que seria inviável uma comparação direta.

Para constar, segundo Fellows (2006), no processo de grelhar ocorre basicamente a transferência de calor por condução, já no processo de assar há envolvimento de transferência de massa e de calor simultaneamente, sendo uma combinação de radiação infravermelha, convecção e também condução, sendo de maior complexidade.

No ponto de cozimento bem passado (BEMPA), em frigideira, a temperatura central máxima atingida no processo de grelha foi de 65,5 °C na Técnica 1 e 75,2 °C, ao aplicar a Técnica 2. Os tempos de processamento foram de 6 min de grelha para a Técnica 1 e 11 min e 36 seg de grelha, na Técnica 2. Assim, estes resultados sugerem que, ao utilizar somente o processo de cozimento do tipo grelhar,

a Técnica 2 atingiu a temperatura mínima de 70 °C no centro da peça, o que não foi observado na Técnica 1, possivelmente justificado pelo tempo de processo ser aproximadamente a metade daquele empregado na Técnica 2.

Mesmo a temperatura do azeite ser maior na Técnica 1 (Tabela 3) em relação a Técnica 2, verifica-se que na Técnica 2 foram atendidas as recomendações de combinação de tempo e temperatura estabelecida na RDC 216/2004, com mínimo de 70 °C no centro da peça.

Na associação de dois tipos de tratamento térmico, conforme indicado na Técnica 1, com objetivo de se obter um medalhão bem passado (BEMPA) foi empregado 6 minutos de grelha e imediatamente após, o medalhão foi submetido ao forno pré-aquecido a 180 °C, e assado por 9 minutos, totalizando 15 minutos de processamento térmico. Neste caso, os gradientes de temperatura estão apresentados na Figura 6.

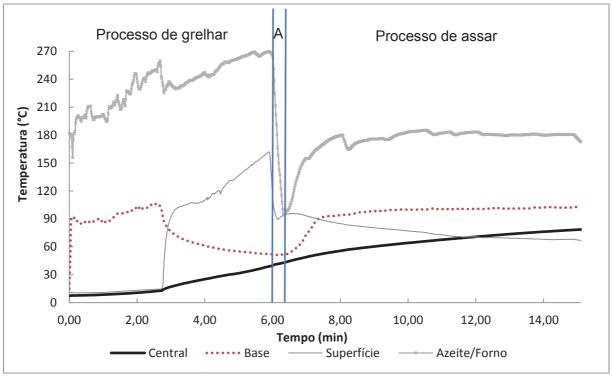


Figura 6: Representação do processo completo para obtenção de medalhão de filé mignon bovino descrito na Técnica 1 (*Le Cordon Bleu*) para obtenção do ponto de cozimento bem passado (BEMPA): inclui processo de grelha durante 6 min seguido pelo processo de assar durante mais 9 minutos, totalizando 15 minutos de processamento térmico. A: intervalo de tempo para transferência do medalhão bovino da frigideira para o forno.

A análise da Figura 6 permite identificar que o processo de assar apresenta maior uniformidade de temperatura, mantendo uma estabilidade térmica maior na

base e na superfície do medalhão quando comparada ao processo de grelhar. Mesmo a temperatura do forno atingindo uma média de 173,9 \pm 16,9 °C, significativamente (p<0,05) menor que a temperatura do azeite (235,4 \pm 24,5 °C), a temperatura interna do medalhão atingiu 78,6 °C.

5.5 Inativação Térmica de *Escherichia coli* e Modelagem dos Parâmetros Cinéticos de Inativação

Os resultados das médias de contagens de *E. coli*, artificialmente inoculadas nos medalhões após os pontos de cozimento analisados nos experimentos estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5: Médias de concentração de *E. coli* inoculada artificialmente, após redução pelo processamento térmico. CRU= filé cru; MALPA= filé mal passado; APMAL = filé ao ponto para mal passado; AOPO = filé ao ponto; APBEM = filé ao ponto para bem passado; BEMPA = filé bem passado. BEMPA Proc. Completo = medalhão bem passado submetido a grelha e ao forno. Resultados em log UFC/g. DP=desvio padrão

	Pontos de cozimento							
Técnicas Aplicadas	CRU	MALPA	APMAL	АОРО	APBEM	BEMPA	BEMPA (Proc. Completo)	Р
	Média±DP	Média±DP	Média±DP	Média±DP	Média±DP	Média±DP	Média±DP	
Técnica 1	6,21 ^a ±0,09	5,39 ^{ab} ±0,04	5,02 ^{abc} ±0,10	4,53 ^{abc} ±0,14	3,76 ^{bc} ±0,15	2,49 ^c ±0,12	0,00 ^d ±0,00	<0,001
Técnica 2	5,56°±0,50	3,59 ^{ab} ±0,14	2,99 ^{ab} ±0,40	2,17 ^{ab} ±0,13	1,74 ^{ab} ±0,38	0,00 ^b ±0,00		0,011
Р	0,002	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001		

Os resultados obtidos demonstraram que a inativação de *E. coli* somente ocorreu ao aplicar a Técnica 1, sob o ponto BEMPA, após finalizar o processo de cozimento do filé em forno. Na Técnica 2, a inativação ocorreu o ponto BEMPA, ao submeter os medalhões por 11min e 35 seg em processo de grelha.

Conforme demonstrado na Figura 7, na Técnica 1, a concentração inicial de *E. coli* artificialmente inoculada nos medalhões de filé mignon foi de 6,21±0,09 log UFC/g, sendo reduzida para 2,49 ± 0,11 log UFC/g, quando o tempo de processo foi de 6 minutos em grelha. A redução máxima obtida, somente em grelha foi de, aproximadamente, 3,7 log UFC/g (ou 3,7D; sendo D o tempo de redução decimal necessário para reduzir 90% dos micro-organismos). A inativação total de *E. coli* ocorreu ao aplicar processamento térmico de 15 min com associação de grelha e forno, de acordo com o descrito na Técnica 1.

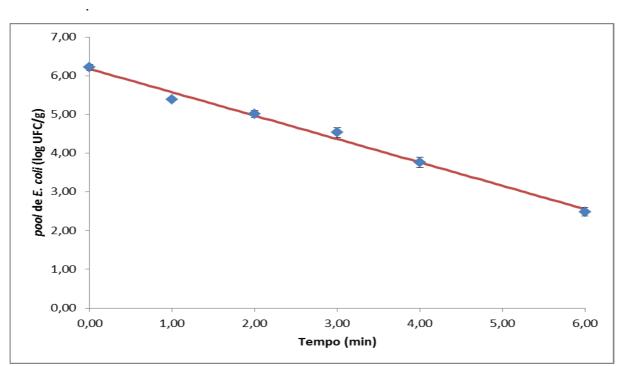


Figura 7: Inativação de *Escherichia coli*, após medalhões de filé mignon serem submetidos ao processo térmico, de acordo com o ponto de cozimento, aplicando-se a Técnica 1, de controle de tempo de processamento. Os pontos representam as médias dos resultados experimentais e a linha, o modelo predito. R2 = 0,9899 e RMSE = 0,1318. Os pontos de tempo (min) são identificados como: 0,00, CRU = carne crua; 1,00, MALPA = medalhão mal passado; 2,00, APMAL = medalhão ao ponto para mal passado; 3,00, AOPO = medalhão ao ponto; 4,00, APBEM = medalhão ao ponto para bem passado e 6,00, BEMPA = medalhão bem passado. Para todos os tempos de processo, os desvios-padrão foram menores que 0,15 log UFC/g

Luchanski et al (2011), avaliaram a inativação de *E. coli* O157:H7 (ECOH) e O157:H7 (STEC) produtora de shigatoxina. Cinco peças de carne bovina foram

contaminadas na superfície com 6 log UFC/g das bactérias, e deixadas em refrigeração por 30 min. Após este período foi injetado solução de salmoura e armazenada sob refrigeração a < 4 °C. Posteriormente essas peças foram fracionadas em 42 unidades (n = 42), de 2,54 cm de altura e grelhadas em fogo direto. Segundo os autores os resultados apontaram contagem inicial de 6,40 \pm 0,22 UFC/g (carne crua) para a peça inoculada com ECOH. Posterior a cocção em grelha a fogo aberto os resultados obtidos foram de: 5,19 \pm 0,03 UFC/g após a temperatura central (TC) atingir 37,8 °C; 4,94 \pm 0,28 UFC/g (TC = 48,9 °C); 4,26 \pm 0,42 UFC/g (TC = 60°C) e 2,25 \pm 0,59 UFC/g quando a temperatura central atingiu 71,1 °C. Para STEC a contagem inicial foi de 5,77 \pm 0,19 UFC/g, e após à cocção: 4,99 \pm 0,32 UFC/g (TC = 37,8 °C); 4,48 \pm 0,43 UFC/g (TC = 48,9 °C); 4,09 \pm 0,50 UFC/g (TC = 60°C) e 2,81 \pm 1,26 UFC/g para temperatura central de 71,1°C. Os autores concluíram que o comportamento de ECOH e STEC foram semelhantes e que a sobrevivência destas bactérias a temperaturas maiores que 70 °C foi devido a não uniformidade do aquecimento, já que houve pontos de zona fria nos pedaços avaliados.

Estes resultados corroboram com o presente estudo, visto que a sobrevivência de *E. coli*, nas temperaturas avaliadas, foi similar. Já na técnica onde a temperatura central foi maior que 70 °C, a diferença encontrada entre esta pesquisa e Luchanski et al (2011) pode estar relacionada com a não uniformidade do processo térmico empregado pelos mesmos, já que quando relacionada aos achados do esfregaço, confirma-se a importância na uniformidade do aquecimento em todo o alimento para inativação bacteriana. Ainda corrobora com os resultados, a uniformidade de aquecimento gerado pelo processo de assar em forno, que inativou a população de *E. coli* sobreviventes ao processo de grelha.

Os dados das concentrações de *E. coli* obtidos em cada ponto de cozimento, pelo processo de grelhar, foram introduzidos no GlnaFIT *software*, com o objetivo de simular a redução microbiana do processo. Através do modelo de regressão linear desse *software*, proposto por Bigelow e Esty (1920), foi possível avaliar a adequação dos dados experimentais, por meio do cálculo de R² (coeficiente de determinação) e pelo RMSE (raiz do erro quadrático médio).

Esta simulação permitiu obter a equação (Equação 3) e os parâmetros cinéticos do modelo, sendo o $k_{m\acute{a}x}$ = 1,39 ± 0,06 min⁻¹, N₀ = 6,18 ± 0,09, com R² = 0,9899 e RMSE = 0,1318.

$$\log N = \log N0 - \frac{km\acute{a}x \times t}{\ln 10}$$
 (Equação 3)

Ao empregar os coeficientes obtidos, a equação é expressa por:

$$\log N = 6.18 - 0.60 \times t$$
 (Equação 4)

Ao aplicar a técnica descrita pelo IGA (Técnica 2), com os dados microbiológicos obtidos, observou-se que o inóculo inicial foi de 5,56±0,50 log UFC/g de *E. coli*, e a inativação deste indicador ocorreu em sua totalidade no maior tempo de processo (11 min e 35 seg), conforme apresentado na Figura 8.

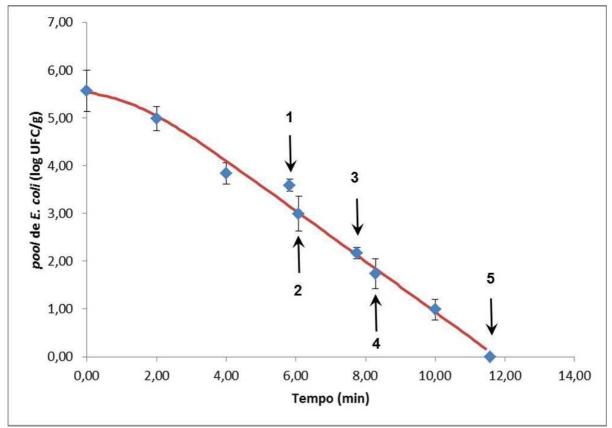


Figura 8: Inativação de *E. coli* em medalhão de filé mignon, submetido ao processo de grelhar, com acompanhamento do ponto de cozimento pela temperatura central (Técnica 2 – IGA). Os pontos representam as médias dos resultados experimentais e a linha, o modelo predito. R² = 0,9888 e RMSE = 0,2229. Para todos os tempos de processo, os desvios-padrão foram menores que 0,45 log UFC/g. Os pontos de tempo (min) são identificados como: 0,00 = CRU (carne crua); 1,00 = MALPA (medalhão mal passado); 2,00 = APMAL (medalhão ao ponto para mal passado); 3,00 = AOPO (medalhão ao ponto); 4,00 = APBEM (medalhão ao ponto para bem passado) e 6,00 = BEMPA (medalhão bem passado)

Os resultados da Técnica 2 foram modelados no GlnaFIT, a fim de predizer os parâmetros cinéticos para descrição do comportamento da inativação de *E. coli* em função do processamento. Assim, o melhor modelo (avaliado estatisticamente pelo R² e RMSE) que se ajustou aos dados foi o proposto por Geerard, Herremans e VanImpe (2000), modelo que prevê a associação de uma regressão linear com um "ombro" ou curvatura no início do processo de declínio bacteriano. Como resposta do modelo a linha apresentada na Figura 8, na página seguinte, refere-se à estimativa de redução de *E. coli*.

Os parâmetros cinéticos demonstrados pelo GlnaFIT foram $K_{m\acute{a}x}$ = 1,22 ± 0,07 min⁻¹, N₀ = 5,53 ± 0,22 log UFC/g e SI (tempo de redução não linear) = 1,31 min, com R² = 0,9888 e RMSE = 0,2229, corroborando a adequação do modelo aos dados.

A Equação 5 descreve o modelo matemático da curva de inativação para o experimento, e a Equação 6 é o modelo com o emprego dos coeficientes gerados pelo *software*. Desta forma, os dados experimentais foram confirmados pelo modelo.

$$\log N = \log N0 - \frac{km\acute{a}x \times t}{\ln 10} + \frac{\log e^{(km\acute{a}x \times SI)}}{(1 + e^{km\acute{a}x \times SI} - 1) \times e^{km\acute{a}x \times t}}$$
 (Equação 5)

$$\log N = 5.53 - 0.53 \times t + \frac{0.14}{e^{1.22 \times t}}$$
 (Equação 6)

Analisando-se as equações 4 e 6, obteve-se o valor da taxa de morte, D = 1,67 min ao aplicar a Técnica 1 e D = 3,81, ao aplicar a Técnica 2, provavelmente pela diferença na temperatura do azeite, que na Técnica 2 a temperatura foi significativamente menor que na Técnica 1 (Tabela 3).

Shen et al (2010), realizaram um estudo que comparou a inativação *E. coli* O157:H7, inoculada artificialmente, a uma concentração inicial de 6 - 7 log UCF/g, em bifes bovinos de carne reconstruída, com várias espessuras, até atingir a temperatura central de 65 °C, em diferentes equipamentos domésticos: frigideira, *grill* e forno. Os resultados encontrados apontaram que a maior redução ocorreu no processo de assar, com emprego de forno, alcançando até 4,2 log UFC/g. Além disso, os autores concluíram que os bifes de maior espessura foram os que sofreram maior redução do patógeno, devido ao maior tempo de exposição ao tratamento térmico, que alcançou 63 min em forno doméstico. Estes dados mostraram similiaridade com os achados neste trabalho, em relação à redução de *E. coli* em função da temperatura central e

aos equipamentos utilizados (frigideira e forno) porém referente ao tempo de exposição ao tratamento térmico os autores empregaram maior tempo.

Os resultados microbiológicos, após a utilização dos *Swabs*, são apresentados na Tabela 6. Os dados indicam que, a superfície do medalhão que entrou em contato direto com o calor apresentou ausência de *E. coli /* 4 cm², enquanto que nas laterais, onde o contato com o calor não foi direto, ainda havia *E. coli* viáveis, em alguns pontos de cozimento. Já a superfície superior, que foi analisada imediatamente após o medalhão ser colocado na frigideira apresentou 100% de presença de *E. coli /* 4 cm², uma vez que essa superfície não havia sido exposta ao calor do azeite.

Tabela 6: Presença ou ausência de *E, coli* viável nas superfícies e laterais dos medalhões de filés mignon bovino submetidos a tratamento térmico, em diferentes pontos de cozimento, sob aplicação da Técnica 2. Superfície 1= lado superior do filé (não exposto ao azeite pré-aquecido), imediatamente após ser inserido na frigideira; Superfície 2 = lado inferior do filé (exposto ao azeite pré-aquecido), após o ponto de virada (quando a temperatura central atinge metade da temperatura final).

Ponto	Esfregaço (Swab), resultado / 4 cm²							
Cozimento	Superfície 1 Superfície 2		Laterais					
MALPA	Presença	Ausência	Presença					
APMAL	Presença	Ausência	Ausência					
AOPO	Presença	Ausência	Presença					
APBEM	Presença	Ausência	Ausência					
ВЕМРА	Presença	Ausência	Ausência					

Estes resultados sugerem que a presença de *E. coli* ainda viáveis nos medalhões, mesmo após serem submetidos a temperaturas de contato com o azeite aquecido ao redor 200 °C, na frigideira, por aproximadamente 10 min., pode ser devido à inoculação artificial inicial. Como o medalhão foi submetido a um banho de imersão na suspensão de *E. coli*, este líquido permeou entre os feixes de fibras musculares do

filé mignon, que por ser uma carne de elevada maciez, possui uma malha fibrosa de menor densidade, de acordo com Zicarelli (2017).

Rhee et al (2003), simularam condições de preparo domestico para investigar a inativação térmica de *Escherichia coli* O157:H7 em carne moída prensada (100g; n = 9), inoculada artificialmente com 10⁷ UFC/g. Os resultados foram comparados, após a temperatura interna das peças alcançar, no mínimo, 71,1, °C (160 °F). Dois equipamentos, um *grill* elétrico de duas chapas (DSG) e um *grill* simples (SSG), foram utilizados. Para este último equipamento, dois modos de preparo foram empregados: com uma única viragem, quando a temperatura central alcançou 40 °C (OT-SSG) e quando a peça foi virada a cada 30 seg de processo térmico (MT-SSG). Os resultados apontaram maiores níveis de redução em DSG (6,9 UFC/g), seguido de MT-SSG (5,6 UFC/g) e OT-SSG 4,7 UFC/g). Os autores concluíram que os consumidores devem ser avisados para preparar a carne em equipamento com grelha dupla ou em grelha simples, mas com viragem a cada 30 seg.

Os resultados mencionados anteriormente intensificam a importância do contato de todas as partes do alimento com o calor direto, também observado neste estudo. Os autores mencionados encontraram a presença de *E. coli* O157:H7 no tratamento térmico de maior taxa de redução da contaminação, diferindo deste estudo, para a mesma temperatura do centro geométrico da peça.

5.6 Avaliação da microbiota acompanhante da carne

Com objetivo de também avaliar a microbiota acompanhante do filé antes, durante e após os processamentos térmicos, amostras de filés mignon foram analisadas por MALDI-TOF e os resultados estão apresentados na Figura 9.

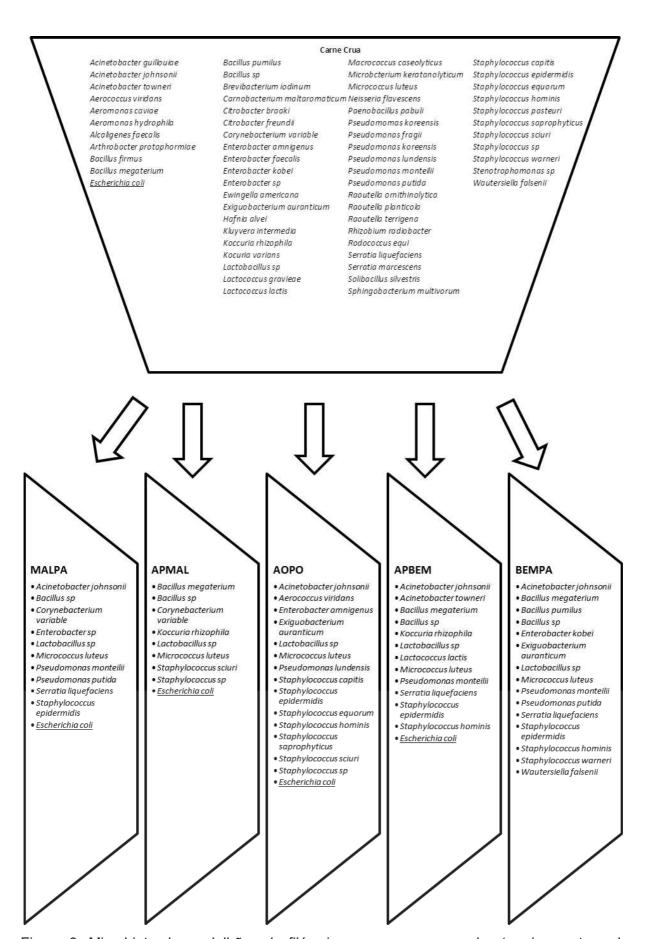


Figura 9: Microbiota de medalhões de filé mignon cru e processados termicamente, sob processo de grelhar, em diferentes pontos de cocção.

De acordo com os resultados, foi verificada a grande diversidade da microbiota acompanhante viável da carne crua. Entre os principais gêneros identificados foram encontrados *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Carnobacterium*, *Lactobacillus*, *Micrococcus* e *Pseudomonas*. Todos mencionados são micro-organismos associados à deterioração de carnes resfriadas (FELIPE, 2008). Observou-se que, a presença destes deteriorantes não implicou em alterações organolépticas das peças de filé mignon utilizadas nos experimentos, sem indicativos visuais e olfativos para descarte da matéria prima antes dos testes.

Somado a estes dados, foram identificados micro-organismos indicadores de contaminação fecal, pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, como a identificação dos gêneros *Citrobacter, Enterobacter, Hafnia, Serratia, Raoultella*. Em geral, estes micro-organismos causam a deterioração em carnes refrigeradas, sendo considerados não patogênicos, mas podem eventualmente atuar como patógenos oportunistas (BARBOSA, 2016), o que corrobora a necessidade de um bom processamento térmico antes do consumo da carne.

Ainda na carne crua, foram identificados os gêneros *Bacillus* e *Staphylococcus*, sendo que as espécies identificadas, apresentadas na Figura 9, não são patogênicas, porém podem sugerir que houve contaminação da matéria prima, por falhas nos processos de acondicionamento, refrigeração, manutenção do frio e/ou na manipulação da carne.

Os resultados das análises por MALDI-TOF dos medalhões apontaram a presença de *Acinetobacter jonhsonii* em todos os pontos de cozimento testados. Além desta espécie, bactérias do gênero *Bacillus, Lactobacillus, Micrococcus, Pseudomonas, Serratia, Staphylococcus* também foram encontradas após o processamento térmico, nos diferentes pontos de cozimento, inclusive no de maior tempo de processo (BEMPA). Ainda que a análise por MALDI-TOF/MS não tenha identificado cepas bacterianas específicas, estes resultados indicam que tais gêneros e espécies foram resistentes aos tratamentos térmicos empregados.

No presente estudo não foram identificadas bactérias patogênicas do gênero *Salmonella* ou *Listeria monocytogenes*, indicando boa procedência das carnes analisadas. No entanto, no trabalho conduzido por Palma et al (2016) onde foram analisados um total de 125 cortes cárneos bovinos, foi encontrado, 13 cepas de *Listeria monocytogenes*, sendo 11 em cortes cárneos bovinos e 2 cepas obtidas, por *swabs*, de ambiente em um abatedouro frigorifico.

Em pesquisa realizada por Ferreira et al (2017), em que foi avaliada a ocorrência de sorogrupos do gênero *Salmonella* em 150 amostras de carne bovina moída comercializada em açougues da cidade do Rio de Janeiro e adjacências, o resultado mostrou que 52% das amostras estavam contaminadas por *Salmonella*.

Como comparação aos resultados da microbiota acompanhante encontrados nesta pesquisa, o estudo de Hilgarth et al (2017) também utilizou análise de espectrometria por MALDI — TOF MS para monitorar o crescimento de microorganismos deteriorantes e diferenciação de psicrófilos e psicotróficos em carne bovina embalada sob atmosfera modificada. As espécies encontradas com maior incidência no período de acompanhamento do *shelf life* do produto (21 dias, em 4 — 10 °C) foram *Hafnia alvei, Acinetobacter jonhsonii, Lactococcus* sp., *Serratia liquefaciens, Pseudomonas spp*, resultados que reforçam os dados aqui encontrados.

Os resultados de identificação de *E. coli* obtidos por MALDI-TOF/MS corroboram com aqueles encontrados nas análises microbiológicas convencionais dos experimentos, uma vez que a inativação completa da *E. coli* ocorreu somente no ponto BEMPA, e que não houve a identificação desse micro-organismo pela análise de espectrometria de massa. Os achados *E. coli* estão sublinhados por serem provenientes da inoculação artificial, objeto destes experimentos

Na avaliação da microbiota remanescente após vários tempos de processamento térmico, Bell (1983) investigou a microbiota sobrevivente em linguiças (n=3) cozidas em banho maria, por diversos tempos. Como resultado foram encontrados os gêneros *Brochothrix*, *Lactobacillus* e *Micrococcus* em temperatura de processamento de 70 °C por 40min (P_{70} = 40) e a partir da alteração para P_{70} = 150 (150 min a 70 °C), foi percebido a troca da microbiota dominante para microorganismos termodúricos *Micrococcus* e *Bacillus*, achados que implicam na redução do prazo de validade do produto. Apesar de ser outro produto, este estudo corrobora aos resultados de microbiota encontrados no maior tempo de processo do medalhão grelhado.

5.7 Preferência do consumidor

Após os resultados obtidos e na tentativa de associá-los ao comportamento sobre o consumo de carne, foi elaborada uma pesquisa de preferência do consumidor em relação ao ponto de cozimento de medalhão de filé mignon grelhado. Segundo

Souki et al (2003), nos dias de hoje, o atendimento pleno às necessidades e desejos dos consumidores de carnes passou a ser condição básica para a sobrevivência e o crescimento das organizações que fazem parte de tal cadeia produtiva.

O questionário foi composto de fotografias da seção transversal de cada medalhão bovino, em cada ponto de cozimento. De acordo com pesquisa validada por Chan et al (2013), em que foram usados métodos de cozimento padrão para produzir bifes bovinos em cinco pontos de cozimento diferentes para estudar a percepção do consumidor, tanto da superfície externa como da interna do bife que sofreu a cocção e também das fotografias correspondentes de cada amostra. Os consumidores avaliaram as fotografias em relação à aceitação do ponto de cozimento e a percepção sobre qual o grau de cozimento. Os resultados indicaram que não houve diferença significativa (p<0,05) entre os dados obtidos. O resultado indica que as fotografias podem ser usadas como uma abordagem válida para avaliar a preferência pelo ponto de cozimento da carne.

.Na seleção dos participantes, para contribuir com a resposta ao questionário, foram identificadas 150 escolas de Gastronomia no Brasil. Posterior às tentativas de contato com coordenadores de curso ou responsáveis que pudessem disseminar a pesquisa entre os alunos, foi finalizado em 51 instituições que receberem o contato por *e-mail*. Destas instituições, vinte e três coordenadores ou docentes se propuseram a encaminhar o questionário aos alunos, sem comprometimento que houvesse a disponibilidade e interesse em participação por parte dos discentes.

O questionário foi acessado por 1.552 pessoas, em que 1054 participantes chegaram até o final das perguntas, apresentado na Figura 10, apresentado por regiões do Brasil.

. O maior acesso verificado foi por meio de telefone celular (N= 615; 58,4%), seguido por *desktop* (N= 425; 40,3%) e por *tablet* (N= 14; 1,3%) e o tempo médio para responder à pesquisa ficou em 3 min e 18 seg.

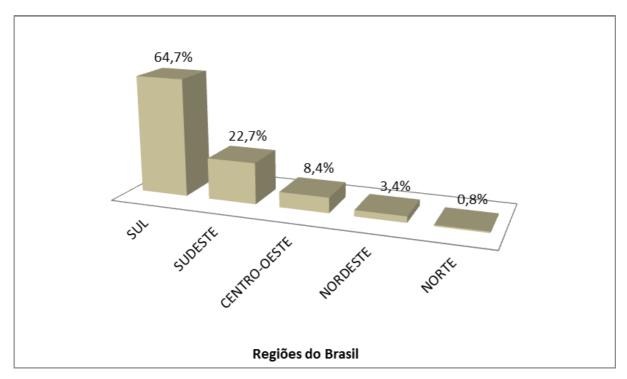


Figura 10: Distribuição dos participantes, por região brasileira. (N=1054)

No trabalho de Jenkinson & Cuskelly (2016), foi utilizado o telefone celular para comparar a preferência pelo ponto de cozimento de carnes e os relatos de consumidores em inquéritos alimentares para aprofundar a compreensão da relação entre câncer humano e exposição a aminas hetrocíclicas. Foram selecionados 30 participantes que relataram o consumo habitual de carne bovina e sua preferência pelo ponto de cozimento. Usando seus telefones celulares, os participantes fotografaram o bife preparado antes de consumi-lo em três ocasiões distintas. As fotos foram da superfície exterior e uma fotografia da seção transversal interna do bife. Os resultados dos autores indicaram que houve concordância de 60% entre as auto declarações dos participantes referente à preferência pelo ponto de cozimento e suas fotos enviadas pelo telefone celular (fotografias da porção interna). A concordância para a descrição preferida da superfície e a correspondente fotografia da superfície externa foi de 30%. De acordo com a pesquisa aplicada neste trabalho, as fotos para identificação do ponto de preferência foram da seção transversal dos medalhões, para uma melhor identificação pelo participante, verificado também pelo estudo de Jenkinson & Cuskelly (2016).

A maioria dos participantes foi do gênero feminino (67,9%), com curso superior ou mais (79,0%), mais frequentemente com salário familiar entre R\$ 4.427,36 e 8.695,87 (26,3%) e com média de idade de 36,8±12,8 anos (intervalo de 14 a 77 anos). Destes, 97,8% afirmaram consumir carne bovina. Ao consumir medalhão de filé mignon grelhado, a preferência pelo ponto de cozimento escolhido é justificada, mais frequentemente, por mais sabor (58,6%). O consumo mais frequente foi três vezes na semana (38,2%), durante o almoço (69,4%), na quantidade de 90 a 110g (39,8%) e a maioria apontou que faz este consumo em casa (63,9%), conforme Tabela 7.

Tabela 7: Caracterização da amostra (N=1054)	
Características	N (%)
Gênero feminino	716 (67,9)
Escolaridade	
Ensino fundamental	9 (0,9)
Ensino médio	212 (20,1)
Ensino superior	465 (44,1)
Pós-graduação	368 (34,9)
Renda familiar (R\$)	
≤ 1.446,23	59 (5,6)
1.446,24 a 2.409,00	160 (15,2)
2.409,01 a 4.427,35	245 (23,2)
4.427,36 a 8.695,87	277 (26,3)
8.695,88 a 20.272,55	258 (24,5)
≥ 20.272,55	55 (5,2)
Frequência de consumo de carne bovina	
Diariamente	254 (24,1)
5 vezes por semana	224 (21,2)
3 vezes por semana	401 (38,0)
1 vez por semana	123 (11,7)
1 vez ao mês ou menos	43 (4,1)
Não consome	9 (0,9)
Refeição na qual consome carne bovina	
Almoço	736 (69,8)
Jantar	68 (6,4)
Em ambas refeições	241 (22,9)
Não consome	9 (0,9)
Quantidade aproximada de consumo de carne bovina	
60 a 80g	332 (31,5)
90 a 110g	419 (39,7)
≥120g	294 (27,9)
Não consome	9 (0,9)
Locais de consumo mais frequente	
Em casa	673 (63,8)
No refeitório da empresa	76 (7,2)
Em restaurante tipo buffet	206 (19,5)
Em restaurante à la carte	61 (5,8)
Leva comida para o trabalho	29 (2,8)
Não consome	9 (0,9)

Os resultados em relação ao ponto de cozimento indicaram que 808 (77,4%) participantes preferem medalhões de filé mignon grelhados entre ao ponto para mal passado (APMAL) e ao ponto para bem passado (APBEM), sendo o medalhão ao ponto (AOPO) o de maior preferência (341; 32,5%), apresentado na figura 11.

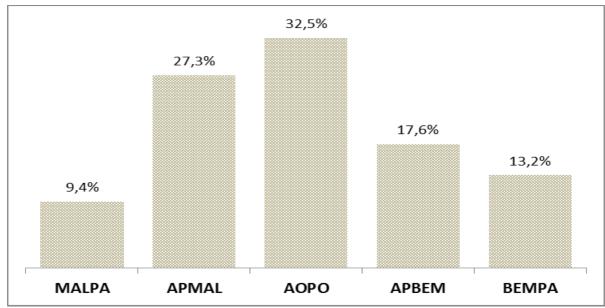


Figura 11: Preferência do consumidor pelo ponto de cozimento de medalhão de filé mignon bovino grelhado. MALPA = medalhão mal passado, APMAL = medalhão ao ponto para mal passado; AOPO = medalhão ao ponto; APBEM = medalhão ao ponto para bem passado e BEMPA = medalhão bem passado.

Para entender a preferência pelo ponto de cozimento, uma das perguntas do questionário foi em relação a razão da escolha pelo ponto de cozimento, em que o entrevistado poderia dar respostas múltiplas para opções de maior suculência, maior maciez, mais sabor, menor contaminação por micro-organismos, mais saudável, além da opção "outros". Nesta última, o participante poderia sugestionar o motivo da preferência, e as justificativas descritas relacionaram ausência de gosto de sangue, menor cheiro de carne e mais crocância, sendo que estes comentários foram mencionados para pontos de cozimento maiores que AOPO, demonstrados na Figura 12.

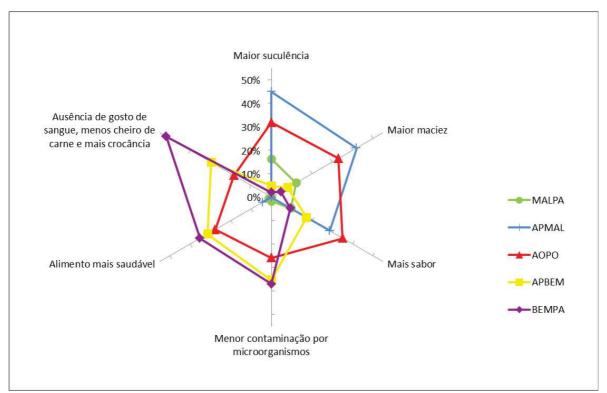


Figura 12: Razão da escolha pelo ponto de cozimento de medalhão filé mignon grelhado. MALPA = medalhão mal passado, APMAL = medalhão ao ponto para mal passado; AOPO = medalhão ao ponto; APBEM = medalhão ao ponto para bem passado e BEMPA = medalhão bem passado.

Verificando-se a Figura 12, infere-se que o medalhão ao ponto tem uma melhor distribuição nos parâmetros que justificam a preferência e o consumo, abordados neste trabalho, o que indica ser um alimento mais balanceado sensorialmente, com melhor palatabilidade, quando comparado aos demais.

Os consumidores de medalhão mal passado e ao ponto para mal passado declararam buscar maior suculência em relação aos que consomem o filé ao ponto para bem passado e bem passado (P<0,001). Os consumidores de medalhão mal passado e ao ponto para mal passado buscam maior maciez em relação aos que consomem carne ao ponto para bem passada e bem passada (P<0,001). Os consumidores de carne ao ponto buscam mais sabor que os consumidores de carne bem passada (P<0,001), verificado na Figura 12.

Os consumidores de medalhão bovino ao ponto para bem passado e bem passado apontaram buscar menor contaminação com micro-organismos que aqueles consumidores de carne mal passada e ao ponto para mal passada (P<0,001). Os consumidores de filé ao ponto para bem passado e bem passado buscam um alimento mais saudável que aqueles consumidores de carne mal passada e ao ponto para mal passada (P<0,001). Os consumidores de carne bem passada buscam maior crocância

e não sentir gosto de sangue ou cheiro de carne que aqueles consumidores de carne ao ponto para mal passada (P<0,001).

Os resultados encontrados nesta pesquisa estão alinhados com o estudo de Cox et al (1997), no qual os autores avaliaram a satisfação geral de 3.554 consumidores que selecionaram *steaks* (bifes) bovino no menu de nove restaurantes de uma rede de franquias presentes em hotéis de padrão internacional. No questionário dos autores, os participantes descreveram a sua percepção quanto ao tamanho do *steak* e se o bife foi entregue no ponto de cozimento que foi ordenado ao atendente, dentre uma escala de cinco pontos, idêntica a este trabalho. Desta forma, os consumidores classificaram a refeição quanto à maciez, sabor, satisfação geral, valor pago e intenção de recompra.

Após análise das respostas, os autores identificaram que a maior preferência solicitada foi pelo *steak* ao ponto (33,6%) seguido pelo bem passado (27,2%). Um total de 30% dos consumidores considerou que não receberam seus bifes preparados no ponto de cozimento pedido, sendo que a interação entre o ponto de cozimento ordenado e entregue apresentou um efeito altamente significativo (P <0,001) sobre os escores dos consumidores para maciez, sabor, satisfação geral, valor pago e intenção de recompra. Os escores máximos foram obtidos quando os *steaks* foram cozidos com o ponto de cozimento ordenado. Quando a percepção do consumidor diferiu entre o ponto que foi pedido e o que foi entregue houve queda em todas as pontuações (inclusive valor pago e intenção de recompra), ocorrendo uma penalidade ainda maior para quando o *steak* havia excedido do ponto pedido, quando comparada ao produto ser entregue abaixo do ponto de cozimento solicitado (P <0,001). Este estudo mostrou a pena severa na satisfação do consumidor para um *Chef* quando não entrega um *steak* no ponto de cozimento solicitado.

No estudo de Savell et al (1995) foi questionado a consumidores qual a razão da escolha pelo ponto de cozimento de carne de sua preferência. A justificativa relatada pelos consumidores que preferem o ponto bem passado foram frequentemente razões emotivas, citando aversão a sangue e princípios de segurança dos alimentos. Já aqueles consumidores que preferiam a carne sob cocção menor que ao ponto para mal passado focaram no aumento dos atributos sensoriais de maciez, suculência e sabor como razões para sua escolha. Esta pesquisa vem ao encontro aos achados no presente trabalho, em que foi escrito pelos consumidores que preferiam carne acima de ao ponto, exatamente o mesmo relatado pelos autores.

Na relação preferência pelo ponto de cozimento e sexo, medalhões de filé mignon ao ponto para bem passado (APBEM) e bem passado (BEMPA) são consumidos, mais frequentemente, pelas mulheres, enquanto que medalhão bovino mal passado e ao ponto para mal passado é preferido pelos homens (P<0,001), demonstrado na Figura 13.

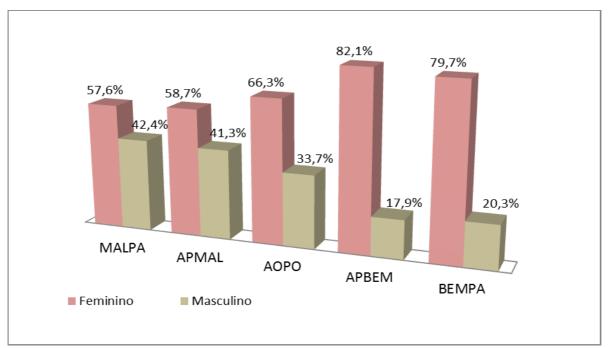


Figura 13: Preferência do ponto de cozimento em relação ao sexo. MALPA = medalhão mal passado, APMAL = medalhão ao ponto para mal passado; AOPO = medalhão ao ponto; APBEM = medalhão ao ponto para bem passado e BEMPA = medalhão bem passado.

No estudo de Barcellos (2007), que testou um modelo teórico para relacionar os *constructos* de atitude, norma subjetiva, hábito e intenção de comportamento no consumo de carne bovina, também obteve maior número de respostas do público feminino em relação ao masculino, para os locais objetos da pesquisa: Porto Alegre (54%), São Paulo (51%), Austrália (55,2%) e Holanda (71,8%), atribuída a população feminina ser maior que a masculina nas cidades pesquisadas e, no caso específico da Holanda, as mulheres apresentaram maior predisposição para participar, após terem sido informadas que o questionário iria ser realizado via correios. Estes dados corroboram com resultados do estudo em questão.

Dosman et al (2001), avaliaram características instintivas entre gêneros, e identificaram que o gênero é um dos melhores preditores da percepção de risco dos indivíduos em relação a uma série de questões de saúde e segurança e, também

verificaram que as mulheres demonstram tipicamente percepções de risco mais acuradas que o gênero masculino. Este resultado pode contribuir para entender a preferência feminina por pontos de cozimento de maior cocção.

Como resultados da associação entre preferência pelo ponto de cozimento de medalhão bovino, características sócio demográficas e de consumo de carne bovina identificou-se que o consumo sob o ponto bem passado é mais frequente em pessoas com baixa renda (menor que R\$ 1.446,23), enquanto que o consumo de medalhão mal passado ou ao ponto para mal passado é mais frequente em pessoas com maior renda (> R\$20.272,56) (P=0,017), demonstrado na Tabela 8.

Dos resultados apresentados na Tabela 8 verifica-se que o consumidor que prefere a carne bem passada tem uma frequência menor de consumo quando comparada àquele medalhão com cocção por menos tempo. Desta forma, as pessoas de mais baixa renda apresentam uma frequência de consumo menor quando comparadas a de maior renda.

No estudo de Raimundo (2013), realizado com 400 entrevistados para identificação do perfil do consumidor de carnes do Estado de São Paulo, foi identificado que aproximadamente 60% dos participantes que declaram consumir carne uma ou menos vezes no mês têm renda inferior a um salário mínimo, sugerindo um relação direta entre renda e consumo. No entanto, a frequência de consumo maior (3 ou 4 vezes na semana) não aponta como maiores consumidores os indivíduos de maior renda e sim para os pesquisados com renda entre 3-5 salários mínimos mensais. A autora conclui que há um aumento do consumo de carne bovina com o aumento de renda, porém limitado até certo ponto, em que fatores extra-preço influenciam o consumo e podem barra-lo, e menciona a preocupação com a saúde, segurança dos alimentos e a propaganda como elementos condicionantes.

O resultado obtido por Raimundo (2013) difere do encontrado na presente pesquisa, em que foi verificada uma relação direta entre consumo e renda, partindose da avaliação que a faixa de maior renda prefere carne mal passada, e este ponto de cozimento sugere um maior consumo entre os pesquisados.

Tabela 8: Associação entre preferência pelo ponto de cozimento e características sócio demográficas e de consumo de carne bovina (N=1048). a: Teste Qui-quadrado de Pearson; b: Associação linear para o Qui-quadrado. Nota: Os dados faltantes foram: dois para quantidade de consumo de carne; 9 para frequência de consumo de carne bovina; sete para refeição na qual habitualmente consome carne bovina; e três para locais de consumo de carne bovina.

			Ponto de c	ozimento			
Características	Amostra Total	MALPA	APMAL	AOPO	APBEM	BEMPA	- Р
Caracteristicas	N (%)	(N=99)	(N=286)	(N=341)	(N=184)	(N=138)	r
		N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	
Gênero							
Feminino	712 (67,9)	57 (57,6)	168 (58,7)	226 (66,3)	151 (82,1)*	110 (79,7)*	.0.001 ^a
Masculino	336 (32,1)	42 (42,4)*	118 (41,3)*	115 (33,7)	33 (17,9)	28 (20,3)	<0,001 ^a
Escolaridade							
Fundamental	9 (0,9)	2 (2,0)	1 (0,3)	3 (0,9)	0 (0,0)	3 (2,2)	
Médio	211 (20,1)	22 (22,2)	54 (18,9)	73 (21,4)	38 (20,7)	24 (17,4)	
Superior	462 (44,1)	44 (44,4)	133 (46,5)	149 (43,7)	71 (38,6)	65 (47,1)	0,478 ^b
Pós-graduação	366 (34,9)	31 (31,3)	98 (34,3)	116 (34,0)	75 (40,8)	46 (33,3)	
Renda familiar (R\$)							
≤ 1.446,23	58 (5,5)	3 (3,0)	12 (4,2)	21 (6,2)	9 (4,9)	13 (9,4)*	
1.446,24 a 2.409,00	159 (15,2)	13 (13,1)	36 (12,6)	58 (17,0)	33 (17,9)	19 (13,8)	
2.409,01 a 4.427,35	243 (23,2)	25 (25,3)	64 (22,4)	69 (20,2)	43 (23,4)	42 (30,4)*	0,017ª
4.427,36 a 8.695,87	275 (26,2)	29 (29,3)	79 (27,6)	99 (29,0)	41 (22,3)	27 (19,6)	
8.695,88 a 20.272,55	258 (24,6)	19 (19,2)	72 (25,2)	84 (24,6)	52 (28,3)	31 (22,5)	
≥ 20.272,55	55 (5,2)	10 (10,1)*	23 (8,0)*	10 (2,9)	6 (3,3)	6 (4,3)	
Razão da escolha							
Maior suculência							
Não	546 (52,1)	17 (17,2)	60 (21,0)	181 (53,1)	160 (87,0)*	128 (92,8)*	<0,001 ^a
Sim	502 (47,9)	82 (82,8)*	226 (79,0)*	160 (46,9)	24 (13,0)	10 (7,2)	
Maior maciez							
Não	688 (65,6)	55 (55,6)	135 (47,2)	222 (65,1)	155 (84,2)*	121 (87,7)*	<0,001 ^a
Sim	360 (34,4)	44 (44,4)*	151 (52,8)*	119 (34,9)	29 (15,8)	17 (12,3)	
Mais sabor							
Não	430 (41,0)	40 (40,4)	109 (38,1)	124 (36,4)	77 (41,8)	80 (58,0)*	<0,001 ^a
Sim	618 (59,0)	59 (59,6)	177 (61,9)	217 (63,6)*	107 (58,2)	58 (42,0)	
Menor contaminação por	microorganismos						
Não	932 (88,9)	97 (98,0)*	286 (100,0)*	311 (91,2)	143 (77,7)	95 (68,8)	<0,001 ^a
Sim	116 (11,1)	2 (2,0)	0 (0,0)	30 (8,8)	41 (5,3)*	43 (31,2)*	·
Alimento mais saudável							
Não	889 (84,8)	97 (98,0)*	279 (97,6)*	297 (87,1)	134 (72,8)	82 (59,4)	<0,001 ^a
Sim	159 (15,2)	2 (2,0)	7 (2,4)	44 (12,9)	50 (27,2)*	56 (40,6)*	,
Ausência de gosto de san							
Não	1021 (97,4)	99 (100,0)	286 (100,0)*	336 (95,5)	176 (95,7)	124 (89,9)	<0,001 ^a
Sim	27 (2,6)	0 (0,0)	0 (0,0)	5 (1,5)	8 (4,3)	14 (10,1)*	-,

Tabela 8: Continuação

			Ponto de c	ozimento			_
Características	Amostra Total	MALPA	APMAL	АОРО	APBEM	BEMPA	- Р
Caracteristicas	N (%)	(N=99)	(N=286)	(N=341)	(N=184)	(N=138)	P
		N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	
Frequência de consumo de o	carne bovina						
Diariamente	254 (24,4)	36 (36,4)*	64 (22,7)	89 (26,1)	37 (20,1)	28 (20,9)	
5 vezes por semana	224 (21,5)	20 (20,2)	72 (25,5)	61 (17,9)	47 (25,5)	24 (17,9)	
3 vezes por semana	403 (38,8)	30 (30,3)	121 (42,9)	138 (40,5)	62 (33,7)	52 (38,8)	0,001 ^b
1 vez por semana	123 (11,8)	10 (10,1)	20 (7,1)	40 (11,7)	29 (15,8)	24 (17,9)*	
1 vez ao mês ou menos	43 (3,3)	3 (3,0)	5 (1,8)	11 (3,2)	9 (4,9)	6 (4,5)	
Refeição na qual consome ca	arne bovina						
Almoço	732 (70,3)	61 (61,6)	198 (69,7)	243 (71,3)	135 (73,8)	95 (70,9)	
Jantar	63 (6,1)	7 (7,1)	24 (8,5)	19 (5,6)	8 (4,4)	5 (3,7)	0,280ª
Em ambas refeições	246 (23,6)	31 (31,3)	62 (21,8)	79 (23,2)	40 (21,9)	34 (25,4)	
Quantidade aproximada de	consumo de carne bo	vina					
60 a 80g	333 (31,8)	13 (13,1)	68 (23,8)	115 (33,7)	71 (38,6)*	66 (48,5)*	
90 a 110g	419 (40,1)	46 (46,5)	117 (40,9)	141 (41,3)	68 (37,0)	47 (34,6)	<0,001 ^a
≥120g	294 (28,1)	40 (40,4)*	101 (35,3)*	85 (24,9)	45 (24,5)	23 (16,9)	
Locais de consumo mais frec	quente						
Em casa	673 (64,4)	65 (65,7)	189 (66,3)	226 (66,3)	114 (62,0)	79 (58,1)	
Refeitório da empresa	76 (7,3)	4 (4,0)	20 (7,0)	23 (6,7)	17 (9,2)	12 (8,8)	0,580ª
Restaurante tipo buffet	206 (19,7)	19 (19,2)	53 (18,6)	67 (19,6)	38 (20,7)	29 (21,3)	
Restaurante à la carte	61 (5,8)	9 (9,1)	18 (6,3)	15 (4,4)	11 (6,0)	8 (5,9)	
Quentinha/Vianda	29 (2,8)	2 (2,0)	5 (1,8)	10 (2,9)	4 (2,2)	8 (5,9)	

Segundo Vilaboa-Arroniz et al (2009), com objetivo de identificar os padrões de consumo de carne bovina na região de Papaloapan, VeraCruz (México) e conhecer as características de oferta de carne de bovino, as demandas do consumidor local identificou, em sua pesquisa, via entrevista, que o consumo de carne bovina ocorre entre uma e três vezes por semana (uma:31.8%, duas vezes: 39.2% e 20.3% três vezes). Em comparação com resultados do presente estudo, confirma-se que o Brasil tem uma média relativamente alta de consumo de carne, diferindo da região mexicana avaliada pelos autores.

Na presente pesquisa, o filé mal passado foi relatado, mais frequentemente, como sendo consumido diariamente pelos entrevistados, o medalhão ao ponto, 3 vezes por semana e a carne bem passada, 1 vez por semana (P=0,001).

O consumo alimentar de carne bovina encontrado por Barcellos (2007), encontrou padrões de consumo semelhantes ao da pesquisa atual. A autora identificou que a maior frequência de consumo em Porto Alegre é de mais de 6 vezes por semana (32,2%), São Paulo já é um pouco menor, com maior frequência entre 3-4 vezes por semana (31,8%), seguidos da Austrália e Holanda que apresentaram maior frequência de consumo entre 1-2 vezes por semana. Estes resultados

corroboram com o obtido na pesquisa e confirmam o *ranking* do Brasil como um dos países de maior consumo *per capta* de carne bovina no mundo.

Na Tabela 8, os consumidores de carne ao ponto para bem passada e bem passada, ingerem, mais frequentemente, de 60 a 80 g enquanto que consumidores de carne mal passada ou ao ponto para mal passada, ingerem maior quantidade (120 g ou mais) (P<0,001).

Para o horário em que frequentemente consome carne e os locais de consumo usuais, não foi observada associação estatisticamente significativa (P=0,280 e P=0,580, respectivamente), apresentado na Tabela 8.

Em relação ao local de consumo, os resultados obtidos de que 60% da carne bovina é usualmente consumida no lar, reforçam a importância da informação aos manipuladores sobre o adequado preparo, manipulação e armazenamento, visto que, segundo Brasil (2017) as residências apontaram ser os locais de maior prevalência de surtos de DTA. Estes dados reforçam o potencial informativo que livros de gastronomia podem veicular, principalmente os de escolas renomadas, contribuindo para redução de gastos com saúde pública.

Levine et al (2017) corroboram com estas observações no estudo em que avaliaram informações de boas práticas abordadas em livros de culinária e inferiram que é necessário desenvolver intervenções para escrever receitas com melhores orientações referentes à segurança dos alimentos. Como implicações práticas, os autores sugerem incluir orientação correta para produção de um alimento seguro, visto que em seu trabalho foi identificado que os livros de culinária populares são uma forma subutilizada para comunicar práticas seguras de manuseio de alimentos e atualmente autores de livros de receitas são amplificadores de risco.

Ainda, de posse do resultado geral deste trabalho, é perceptível que 86% dos entrevistados relataram consumir o medalhão de filé mignon bovino grelhado abaixo do ponto de cozimento APBEM (ao ponto para bem passado) e ao relacionar aos resultados de inativação microbiana indicam que a grande maioria dos consumidores podem estar vulneráveis a apresentarem DTA ao preferir carne com curto processo de cozimento, se não forem adquiridas de fornecedores de qualidade.

Salienta-se que atendendo às expectativas e preferências dos consumidores, *Chefs*, nutricionistas e responsáveis técnicos estão assumindo riscos em benefícios do prazer sensorial, de tal maneira que o restaurante deixa de estar legalmente correto, podendo colocar em risco a saúde de seus consumidores. Estas

responsabilidades são divididas entre estes profissionais e entre o consumidor, que, por falta de conhecimentos técnicos, este acaba tendo uma responsabilidade mais baixa.

Aqui cabe enfatizar que a matéria prima sendo adquirida de boa qualidade mantendo condições seguras de armazenamento e manipulação os riscos também são diminuídos.

6. CONCLUSÃO

As técnicas de preparo testadas apresentaram diferenças em relação à inativação de *E. coli*, sob o processo de grelhar. Os resultados apontaram que o controle de temperatura central (Técnica 2, recomendada pelo IGA) foi mais eficaz que o controle por tempo de processamento dos filés (Técnica 1, recomendada pela *Le Cordon Bleu*). Sob o processo de grelha, percebeu-se uma redução de *E. coli* maior ao aplicar a Técnica 2, devido ao maior tempo de processamento térmico e assim atingir 70 °C no centro do medalhão. Com o uso do forno para complementar o processo térmico indicado na Técnica 1, houve similaridade nos resultados de inativação desta bactéria e ambas técnicas não reduziram totalmente a contaminação em pontos de cozimentos inferiores ao bem passado.

As comparações entre as técnicas preconizadas nos livros da escola *Le Cordon Bleu* e do Instituto Gastronômico das Américas (IGA) permitiram identificar que houve diferença em relação à abordagem descrita em livros de culinária quanto aos cuidados e controles no preparo de refeições, principalmente as elaboradas com carnes (alta perecibilidade). Desta forma, a metodologia descrita no Livro da escola IGA, introduz o uso de equipamentos de medição (termômetro) para controle de cocção, não identificado no outro livro avaliado. Ambos livros, no descritivo da receita, não fizeram menção em relação a qual temperatura adequada de cocção para redução de micro-organismos, nem aos cuidados ao manusear e armazenar a carne.

Os resultados da microbiota inicial demonstraram a sua diversidade, no entanto não indicaram a presença de patógenos tradicionais como *Listeria monocytogenes* e *Salmonella*, apontando que os cortes de filé mignon analisados apresentaram boa procedência. Contudo, mesmo após todos os pontos analisados, em ambos os tratamentos térmicos, foram observados diferentes gêneros bacterianos, indicando terem sido resistentes aos tratamentos térmicos aplicados.

Os resultados dos parâmetros cinéticos assinalam uma correlação direta entre a sobrevivência de *E. coli* e o tempo de processo para grelhar os medalhões, no tamanho delineado no estudo. Os valores D obtidos indicaram que diferenças, aparentemente, menores nas temperaturas de processamento podem resultar em grandes diferenças na letalidade do processo de cozimento e, portanto, na microbiota sobrevivente.

Além disso, percebeu-se que o controle do binômio tempo e temperatura são fundamentais para obtenção de alimentos adequados para o consumo. Associados a um processo de cocção que promova troca térmica uniforme na superfície do produto, a fim de evitar a sobrevivência de patógenos.

Quanto ao questionário de preferência do consumidor, o fato de que 86% dos pesquisados preferirem medalhão bovino grelhado ao ponto para bem passado ou de menor ponto de cozimento indica que técnicas mais modernas de preparo devem ser avaliadas quanto à segurança microbiológica, na tentativa de associar a preferência do consumidor ao consumo de um alimento seguro.

REFERÊNCIAS

ABDULLAH SANI, N.; SIOW, O. N. Knowledge, attitudes and practices of food handlers on food safety in food service operations at the Universiti Kebangsaan Malaysia. **Food Control**, 2014. v. 37, n. 1, p. 210–217. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.09.036>.

ABIA. Faturamento 2016 - Associação Brasileira da Indústria Alimentícia. [S.I.], 2016. Disponível em: http://www.abia.org.br/vsn/anexos/faturamento2016.pdf>. Acesso em: 21 dez. 2017. ABRASEL. Alimentação concentra mais empresas e lidera em faturamento em serviços. [S.I.], 2012.

ALVES, A. L.; OLIVEIRA, M. I. C. De; MORAES, J. R. De. Iniciativa Unidade Básica Amiga da Amamentação e sua relação com o aleitamento materno exclusivo. **Rev Saúde Pública**, 2013. v. 47, n. 6, p. 1130–40. Disponível em: <www.scielo.br/rsp>. Acesso em: 1º jan. 2018.

ANDRADE, J. C. De *et al.* Consumer perception of risks associated with food, safety and traceability. introduçãopercepção do consumidorcarnes alimentos menos seguros: **Brazilian Journal of Food Technology**, set. 2013. v. 16, n. 3, p. 184–191. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1981-67232013000300003&Ing=pt&tlng=pt. Acesso em: 19 jul. 2017.

ANDRADE, M. L. De. Segurança dos alimentos no setor hoteleiro: caracterização das empresas e avaliação da percepção dos agentes envolvidos - estudo de caso. Piracicaba: Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da Universidade de São Paulo, 2014. Disponível em: http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11141/tde-10112014-134301/. Acesso em: 19 dez. 2017.

BA, H. Van *et al.* The effects of pre-and post-slaughter spray application with organic acids on microbial population reductions on beef carcasses. **Meat Science**, 2018. v. 137, p. 16–23. Disponível em: www.elsevier.com/locate/meatsci. Acesso em: 20 dez. 2017.

BARBOSA, T. A. Epidemiologia da colonização e infecção microbiana em Unidade de Terapia Intensiva Neonatal: abordagem clínica e molecular. [S.I.]: Universidade Estadual Paulista (UNESP), 2016. Disponível em:

https://repositorio.unesp.br/handle/11449/136351. Acesso em: 19 fev. 2018.

BECKER, A. K.; KIEL, G. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE CARNE BOVINA IN NATURA COMERCIALIZADA EM SUPERMERCADOS DE CASCAVEL – PR. **Revista Thêma et Scientia**, 7 dez. 2016. v. 1, n. 2, p. 149–155. Disponível em: http://www.themaetscientia.fag.edu.br/index.php/RTES/article/view/41. Acesso em: 25 ago. 2017.

BELL, R. G. The effect of variation of thermal processing on the microbial spoilage of chub-packed luncheon meat. **The Journal of applied bacteriology**, abr. 1983. v. 54, n. 2, p. 249–55. Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6853398>. Acesso em: 30 dez. 2017.

BIGELOW, W. D.; ESTY, J. R. The thermal death point in relation to typical thermophylic organisms. **Journal of Infectious Diseases**, 1920. v. 27, n. 602.

BLISKA, F. M. De M. Sistema agroindustrial da carne bovina no Brasil: tendências para o próximo século. **CTC - Tecno Carnes**, 1996. v. 6, n. 1, p. 4.

BORGOGNO, M. *et al.* An emotional approach to beef evaluation. England: **Meat science**, maio. 2017. v. 127, p. 1–5.

BRASIL. Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004 - Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação.

D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 16 de setembro de 2004.

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/23 701496-925d-4d4d-99aa-9d479b316c4b>.

_____. Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Série A. N ed. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2010.

_____. Portal da Saúde - Sistema de Vigilância Sanitária - Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA). Brasília: [s.n.], 2014a. Disponível em: http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-

ministerio/principal/secretarias/svs/doencas-transmitidas-por-alimentos-dta>.

_____. Método de Ensaio: Determinação do pH de produtos de origem animal por potenciometria. Porto Alegre - RS: [s.n.], 2014b. Disponível em:

http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/metodos/arquivos-metodos-da-area-poa-iqa/met-poa-slav-24-03-determinacao-do-ph-de-carnes-e-pescados-por-potenciometria.pdf>.

_____. Método de Ensaio: Determinação da atividade de água (Aw) de produtos de origem animal. Porto Alegre - RS: [s.n.], 2014c. Disponível em: <file:///C:/Users/Clarissa/Downloads/MET POA SLAV 37 02 Atividade de água.pdf>.

_____. Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **SUS - MS**, [S.I.], 2017. Disponível em: http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/maio/29/Apresentacao-Surtos-DTA-2017.pdf>. Acesso em: 12 dez. 2017.

BRAUNE, R.; FRANCO, S. C. **O que é Gastronomia?** 1a. ed. São Paulo: Brasiliense, 2012.

BRISOLA, M. V.; GOMES DE CASTRO, A. M. PREFERÊNCIAS DO CONSUMIDOR DE CARNE BOVINA DO DISTRITO FEDERAL PELO PONTO DE COMPRA E PELO PRODUTO ADQUIRIDO. **Caderno de Pesquisas em Administração**, 2005. v. 12, n. 1, p. 81–99. Disponível em: http://www.regeusp.com.br/arquivos/v12n1art7.pdf>. Acesso em: 6 fev. 2018.

CDC. Attribution of Foodborne Illness: Findings | Estimates of Foodborne Illness | Centers for Desease Control and Prevention. **CDC site**, [S.I.], 2016. Disponível em: https://www.cdc.gov/foodborneburden/attribution/attribution-1998-2008.html. Acesso em: 20 dez. 2017.

CHAN, S. H. *et al.* Comparison of consumer perception and acceptability for steaks cooked to different endpoints: Validation of photographic approach. **Food Chemistry**, 2013. v. 136, n. 3–4, p. 1597–1602. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.069.

CHOPYK, J. *et al.* Presence of pathogenic Escherichia coli is correlated with bacterial community diversity and composition on pre-harvest cattle hides. **Microbiome**, 2016. v. 4, n. 9, p. 1–11. Disponível em: https://www-ncbi-nlm-nih-gov.ez45.periodicos.capes.gov.br/pmc/articles/PMC4802634/pdf/40168_2016_Article_155.pdf. Acesso em: 20 dez. 2017.

CÔNSOLI, M. A. **Análise dos aspectos relevantes para integração na cadeia de suprimentos aplicada ao setor de serviços de alimentação**. São Carlos: Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da Universidade de São Paulo, 2009.

Disponível em: http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/18/18156/tde-04022010-095502/. Acesso em: 19 dez. 2017.

COX, R. J. *et al.* The effect of degree of doneness of beef steaks on consumer acceptability of meals in restaurants. **Meat Science**, jan. 1997. v. 45, n. 1, p. 75–85. Disponível em: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174096000800>. Acesso em: 10 ago. 2017.

CUNHA, D. T. DA; STEDEFELDT, E.; ROSSO, V. V. DE. The role of theoretical food safety training on Brazilian food handlers' knowledge, attitude and practice. **Food Control**, 2014. v. 43, p. 167–174. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.03.012.

DOSMAN, D. M.; ADAMOWICZ, W. L.; HRUDEY, S. E. Socioeconomic Determinants of Health- and Food Safety-Related Risk Perceptions. **Risk Analysis**, 1 abr. 2001. v. 21, n. 2, p. 307–318. Disponível em: http://doi.wiley.com/10.1111/0272-4332.212113. Acesso em: 18 fev. 2018.

DUTRA DE BARCELLOS, M. Beef lovers: um estudo cross-cultural sobre o comportamento de consumo de carne bovina. [S.I.]: UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONEGÓCIOS DOUTORADO EM AGRONEGÓCIOS, 2007. Disponível em: <a href="http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/10041/000593934.pdf?sequence="http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/10041/000593934.pdf?sequence="http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/10041/000593934.pdf?sequence="http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/10041/000593934.pdf?sequence="http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/10041/000593934.pdf?sequence="http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/10041/000593934.pdf?sequence="http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/10041/000593934.pdf?sequence="http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/10041/000593934.pdf?sequence="http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/10041/000593934.pdf?sequence="http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/10041/000593934.pdf?sequence="http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/10041/000593934.pdf?sequence="http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/10041/000593934.pdf?sequence="http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/10041/000593934.pdf?sequence="http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/10041/000593934.pdf?sequence="http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/10041/000593934.pdf?sequence="http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/10041/000593934.pdf?sequence="http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/10041/000593934.pdf?sequence="http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/10041/000593934.pdf?sequence="http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/10041/000593934.pdf?sequence="http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/10041/000593934.pdf?sequence="http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/10041/000593934.pdf?sequence="http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/10041/000593934.pdf?sequence="http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/10041/000593934.pdf?se

ELBEHIRY, A. *et al.* Application of MALDI-TOF MS fingerprinting as a quick tool for identification and clustering of foodborne pathogens isolated from food products Ayman. **The new microbiologica**, 21 ago. 2017. v. 40, n. 3. Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28825446. Acesso em: 25 ago. 2017.

FAO. FAO's Animal Production and Health Division: Meat & Meat Products. Food and Agriculture Organization of the United Nations, [S.I.], 2014. Disponível em: http://www.fao.org/ag/againfo/themes/en/meat/home.html. Acesso em: 19 dez. 2017.

FELIPE, L. M. ASSOCIAÇÃO DE BACTÉRIAS DA FAMÍLIA Enterobacteriaceae E Clostridium estertheticum COM A DETERIORAÇÃO "BLOWN PACK" EM CORTES CÁRNEOS EMBALADOS A VÁCUO. [S.I.]: Universidade Estadual Paulista, 2008.

FELLOWS, P. J. Tecnologia do Processamento de Alimentos:

princípios e prática. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

FERREIRA, M. C. *et al.* Perfil Higiênico de Carne Bovina Moída Comercializada na Cidade do Rio de Janeiro e Adjacências, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos UniFOA**, 23 mar. 2017. v. 1, n. 2, p. 83–89. Disponível em: http://revistas.unifoa.edu.br/index.php/cadernos/article/view/887. Acesso em: 19 fev. 2018.

FORMIGONI, I. Maiores rebanhos e produtores de carne bovina no mundo. **Farmnews**, [S.I.], 2017a. Disponível em: http://www.farmnews.com.br/analises-mercado/produtores-de-carne-bovina/>. Acesso em: 21 dez. 2017.

_____. Qual o consumo de carne bovina por país? **Farmnews**, [S.I.], 2017b. Disponível em: http://www.farmnews.com.br/pesquisa-e-desenvolvimento/consumo-de-carne-bovina-4/. Acesso em: 26 dez. 2017.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança dos Alimentos**. 2a. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

FRANCO, B. et al. ICMSF - International Commission on Microbiological Specifications for Foods - Microrganismos em Alimentos 8 - Utilização de Dados para Avaliação do Controle de Processo e Aceitação de Produto. São Paulo: Blucher Food Science Proceedings, 2015.

FREIXA, D.; CHAVES, G. **Gastronomia no Brasil e no Mundo**. 3a. ed. Rio de Janeiro: Senac Editoras, 2015.

GARBER JR., L. L.; HYATT, E. M.; STARR JR., R. G. Measuring consumer response to food products. **Food Quality and Preference**, 1 jan. 2003. v. 14, n. 1, p. 3–15. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0950329302000307>. Acesso em: 12 fev. 2018.

GARCIA, R. F.; BLISKA, F. M. De M. Caracterização do consumo de carnes no Brasil. **Revista Nacional da Carne**, 2000. v. 25, n. 284, p. 108–109.

GEERAERD, A. H.; HERREMANS, C. H.; IMPE, J. F. VAN. Structural model requirements to describe microbial inactivation during a mild heat treatment. **International Journal of Food Microbiology**, 2000. v. 59, n. 3, p. 185–209.

GEERAERD, A. H.; VALDRAMIDIS, V. P.; IMPE, J. F. VAN. GInaFiT, a freeware tool to assess non-log-linear microbial survivor curves. **International Journal of Food Microbiology**, 25 jun. 2005. v. 102, n. 1, p. 95–105. Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15893399>. Acesso em: 2 jan. 2018.

GONZALES-BARRÓN, U. *et al.* An exposure assessment model of the prevalence of Salmonella spp. along the processing stages of Brazilian beef. **Food Science and Technology International**, 2014. v. 22, n. 1, p. 10–20. Disponível em: http://journals.sagepub.com.ez45.periodicos.capes.gov.br/doi/pdf/10.1177/1082013214560446. Acesso em: 20 dez. 2017.

GOVERNMENT OF CANADIAN. **Safe Internal Cooking Temperatures Chart. Health Canada - CFIA - Canadian Food Inspection Agency**. Food safety
General food safety tips. Canadá: [s.n.], 2015. Disponível em: https://www.canada.ca/en/health-canada/services/general-food-safety-tips/safe-internal-cooking-temperatures-chart.html. Acesso em: 3 set. 2017.

GREIG, J. D.; RAVEL, A. Analysis of foodborne outbreak data reported internationally for source attribution. **International Journal of Food Microbiology**, mar. 2009. v. 130, n. 2, p. 77–87. Disponível em: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168160508006855>. Acesso em: 29 ago. 2017.

HILGARTH, M.; BEHR, J.; VOGEL, R. F. Monitoring of spoilage-associated microbiota on modified atmosphere packaged beef and differentiation of psychrophilic and psychrotrophic strains. **Journal of Applied Microbiology**, 2017. Disponível em: http://doi.org/10.1111/jam.13669.

HUFFMAN, R. D. Current and future technologies for the decontamination of carcasses and fresh meat. **Meat science**, nov. 2002. v. 62, n. 3, p. 285–94. Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22061605. Acesso em: 19 dez. 2017.

JASSON, V. *et al.* Alternative microbial methods: An overview and selection criteria. **Food Microbiology**, 1 set. 2010. v. 27, n. 6, p. 710–730. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002010000821?via%3Dihub. Acesso em: 30 dez. 2017.

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

JENKINSON, R.; CUSKELLY, G. J. Use of mobile phone technology to measure beef steak doneness preference. **Proceedings of the Nutrition Society**, 2016. v. 75, n. OCE3, p. E144. Disponível em: http://www.journals.cambridge.org/abstract S0029665116001592>.

KAJAK, K.; KRAJAWESKA, D. K. Construction of preditive models of

growth of microorganisms in salted and cured meat products. **Innovative Food Science e Emerging Technologies**, 2006. v. 7, n. 1–2, p. 152–159.

KO, W.-H. The relationship among food safety knowledge, attitudes and self-reported HACCP practices in restaurant employees. **Food Control**, 1 jan. 2013. v. 29, n. 1, p. 192–197. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713512003118>. Acesso em: 19 dez. 2017.

KUMAR, P. *et al.* Microbiological Quality of Meat Collected from Municipal Slaughter Houses and Retail Meat Shops from Hyderabad Karnataka Region, India. **APCBEE Procedia**, 2014. v. 8, p. 364–369. Disponível em: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S221267081400150X. Acesso em: 29 ago. 2017.

LAHOU, E. *et al.* Effectiveness of inactivation of foodborne pathogens during simulated home pan frying of steak, hamburger or meat strips. **International Journal of Food Microbiology**, 2015. v. 206, p. 118–129. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.014>.

LEVINE, K.; CHAIFETZ, A.; CHAPMAN, B. Evaluating food safety risk messages in popular cookbooks. **British Food Journal**, 2017. v. 119, n. 5, p. BFJ-02-2017-0066. Disponível em: http://www.emeraldinsight.com/doi/10.1108/BFJ-02-2017-0066.

LUCHANSKY, J. B. *et al.* Inactivation of Shiga toxin-producing O157:H7 and non-O157:H7 Shiga toxin-producing Escherichia coli in brine-injected, gas-grilled steaks. **Journal of food protection**, jul. 2011. v. 74, n. 7, p. 1054–64. Disponível em: http://jfoodprotection.org/doi/abs/10.4315/0362-028X.JFP-10-579. Acesso em: 30 dez. 2017.

MAPA; ABREU, S. K. O Agronegócio e o Sucesso do Brasil no Mercado de Carnes. Brasília: [s.n.], 2010. p. 15. Disponível em: http://www.famasul.com.br/palestrascongresso/css/images/SenadoraKatiaAbreu.pd f>. Acesso em: 26 dez. 2017.

MCGEE, H. Comida e Cozinha: ciência e cultura da culinária. 2a. ed. São Paulo: WMF Martins Fontes, 2014.

MCMEEKIN, T. *et al.* The future of predictive microbiology: Strategic research, innovative applications and great expectations. **International Journal of Food Microbiology**, 30 nov. 2008. v. 128, n. 1, p. 2–9. Disponível em:

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18703250. Acesso em: 2 jan. 2018.

MCMEEKIN, T. A.; ROSS, T. Predictive microbiology: providing a knowledge-based framework for change management. **International journal of food microbiology**, 15 set. 2002. v. 78, n. 1–2, p. 133–53. Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12222630. Acesso em: 2 jan. 2018.

MESQUITA, M. O. De *et al.* Qualidade físico-química da carne bovina in natura aprovada na recepção de restaurante industrial. **Vigilância Sanitária em Debate**, 2014. v. 2, n. 3, p. 103–108. Disponível em: ">http://www.visaemdebate.incqs.fiocruz.br/index.php/visaemdebate/article/view/147/125>">http://www.visaemdebate.incqs.fiocruz.br/index.php/visaemdebate/article/view/147/125>">http://www.visaemdebate.incqs.fiocruz.br/index.php/visaemdebate/article/view/147/125>">http://www.visaemdebate.incqs.fiocruz.br/index.php/visaemdebate/article/view/147/125>">http://www.visaemdebate.incqs.fiocruz.br/index.php/visaemdebate/article/view/147/125>">http://www.visaemdebate.incqs.fiocruz.br/index.php/visaemdebate/article/view/147/125>">http://www.visaemdebate.incqs.fiocruz.br/index.php/visaemdebate/article/view/147/125>">http://www.visaemdebate/article/view/147/125>">http://

NEPA-UNICAMP. TACO - Tabela Brasileira de Composicao de Alimentos - TACO 4 Edicao Ampliada e Revisada. Campinas: [s.n.], 2011.

Disponível em:
http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada.pdf?
arquivo=taco_4_versao_ampliada_e_revisada.pdf>. Acesso em: 23 ago. 2017.

NORONHA, R. L. F. De; DELIZA, R.; SILVA, M. A. A. P. Da. A EXPECTATIVA DO CONSUMIDOR E SEUS EFEITOS NA AVALIAÇÃO SENSORIAL E ACEITAÇÃO DE PRODUTOS ALIMENTÍCIOS. **Alimentação & Nutrição**, 2005. v. 16, n. 3, p. 299–308. Disponível em: ">https://www.researchgate.net/publication/49599884_A_expectativa_do_consumidor_e_seus_efeitos_na_avaliacao_sensorial_e_aceitacao_de_produtos_alimenticios>">https://www.researchgate.net/publication/49599884_A_expectativa_do_consumidor_e_seus_efeitos_na_avaliacao_sensorial_e_aceitacao_de_produtos_alimenticios>">https://www.researchgate.net/publication/49599884_A_expectativa_do_consumidor_e_seus_efeitos_na_avaliacao_sensorial_e_aceitacao_de_produtos_alimenticios>">https://www.researchgate.net/publication/49599884_A_expectativa_do_consumidor_e_seus_efeitos_na_avaliacao_sensorial_e_aceitacao_de_produtos_alimenticios>">https://www.researchgate.net/publication/49599884_A_expectativa_do_consumidor_e_seus_efeitos_na_avaliacao_sensorial_e_aceitacao_de_produtos_alimenticios>">https://www.researchgate.net/publication/49599884_A_expectativa_do_consumidor_e_seus_efeitos_na_avaliacao_sensorial_e_aceitacao_de_produtos_alimenticios>">https://www.researchgate.net/publication/49599884_aceitacao_de_produtos_alimenticios>">https://www.researchgate.net/publication/49599884_aceitacao_de_produtos_alimenticios>">https://www.researchgate.net/publication/49599884_aceitacao_de_produtos_alimenticios>">https://www.researchgate.net/publication/49599884_aceitacao_de_produtos_alimenticios>">https://www.researchgate.net/publication/49599884_aceitacao_de_produtos_alimenticios>">https://www.researchgate.net/publication/49599884_aceitacao_de_produtos_alimenticios>">https://www.researchgate.net/publication/49599884_aceitacao_de_produtos_aceitacao_de_produtos_aceitacao_de_produtos_aceitacao_de_produtos_aceitacao_de_produtos_aceitacao_de_produtos_aceitacao_de_pr

OECD-FAO. **OECD-FAO Agricultural Outlook 2007-2016 ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT**. Paris: [s.n.], 2017. Disponível em: https://www.oecd.org/tad/agricultural-trade/38893266.pdf>. Acesso em: 26 dez. 2017.

OLIVEIRA, A. B. A. De *et al.* Doenças transmitidas por alimentos, principais agentes etiológicos e aspectos gerais : uma revisão. **Revista HCPA: Porto Alegre**, 2010. v. 30, n. 3, p. 279–285. Disponível em: http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/157808>. Acesso em: 12 dez. 2017.

OLIVEIRA, T. M. V. De. Amostragem não probabilística: adequação de situações para uso e limitações de amostras por conveniência, julgamento e quotas. **Administração on line**, 2001. v. 2, n. 3, p. 1–16.

PAINTER, J. A. et al. Attribution of foodborne illnesses, hospitalizations, and

deaths to food commodities by using outbreak data, United States, 1998-2008. **Emerging Infectious Diseases**, mar. 2013. v. 19, n. 3, p. 407–415. Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23622497>. Acesso em: 25 dez. 2017.

PALMA, J. M. *et al.* Caracterização molecular de Listeria monocytogenes oriundas de cortes cárneos bovinos e de abatedouros frigoríficos de bovinos localizados no Distrito Federal, Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 3 out. 2016. v. 36, n. 10, p. 957–964. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2016001000957&Ing=pt&tlng=pt. Acesso em: 19 fev. 2018.

PASTERNAK, J. New methods of microbiological identification using MALDI-TOF. **Einstein (São Paulo)**, 2012. v. 10, n. 1, p. 118–119. Disponível em: ">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-45082012000100026&Ing=en&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-45082012000100026&Ing=en&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-45082012000100026&Ing=en&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-45082012000100026&Ing=en&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-45082012000100026&Ing=en&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-45082012000100026&Ing=en&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-45082012000100026&Ing=en&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-45082012000100026&Ing=en&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-45082012000100026&Ing=en&nrm=iso&tlng=en>">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-45082012000100026&Ing=en&nrm=iso&tlng

PAVLOVIC, M. *et al.* Application of MALDI-TOF MS for the Identification of Food Borne Bacteria. **The open microbiology journal**, 2013. v. 7, p. 135–41. Disponível em: http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3866695&tool=pmcentrez&rendertype=abstract.

PEDRAZA, D. F. Padrões Alimentares: da teoria à prática – o caso do Brasil. **Mneme – Revista Virtual de Humanidades**, 2004. v. 3, n. 9. Disponível em: http://www.seol.com.br/mneme.

PEDROSA DE OLIVEIRA, A. *et al.* MICROBIOLOGIA PREDITIVA. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, 2013. v. 9, n. 17, p. 1909–1928. Disponível em: http://www.conhecer.org.br/enciclop/2013b/CIENCIAS AGRARIAS/Microbiologia Preditiva.pdf>. Acesso em: 1º jan. 2018.

PINHEIRO, N.; SARTORI, G. V.; RIBEIRO, A. B. Controle de Qualidade Microbiológico na Cadeia de Abate de Bovinos. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, 2006. v. 11, n. 1, p. 1–11. Disponível em: http://revista.grupointegrado.br/revista/index.php/sabios2/article/view/1386.

RAIMUNDO, L. M. B. Comportamento do consumidor de alimentos: uma análise do consumo de carnes em São Paulo. [S.I.]: Universidade Federal de São Carlos, 2013. Disponível em: https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/3730/5234.pdf?sequence=1&is Allowed=y>. Acesso em: 19 fev. 2018.

RHEE, M.-S. *et al.* Evaluation of consumer-style cooking methods for reduction of Escherichia coli O157:H7 in ground beef. **Journal of food protection**, jun. 2003. v. 66, n. 6, p. 1030–4. Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12801005>. Acesso em: 30 dez. 2017.

RIO GRANDE DO SUL. Secretaria da Saúde. Portaria Estadual 78, de 30 de janeiro de 2009. Estabelece os procedimentos de Boas Práticas para Serviços de Alimentação, a fim de garantir as condições higiênico-sanitárias do alimento preparado. Disponível em: <file:///C:/Users/Clarissa/Downloads/26090340-portaria-ses-rs-nu-78-de-2009.pdf>.

ROMANS, J. R. *et al.* **The meat we eat**. 14. ed. Chicago: Prentice Hall, 2000.

ROSELAND, J. M. *et al.* **USDA Nutrient Data Set for Retail Beef Cuts from SR**. Beltsville - Maryland: [s.n.], 2013. Disponível em: http://www.ars.usda.gov/nutrientdata. Acesso em: 23 ago. 2017.

SAUCIER, L. Microbial spoilage, quality and safety within the context of meat sustainability. **Meat Science**, 2016. v. 120, p. 78–84. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.04.027.

SAVELL, J. F. *et al.* 41 st I.C.O.M.S.T. San Antonio - Texas: [s.n.], 1995. p. 5. Disponível em: . Acesso em: 18 fev. 2018.

SERAFIM, A. L. *et al.* Evaluation of the Implementation of Good Handling Practices in Food and Beverage Areas of Hotels. **Journal of Food Protection**, nov. 2015. v. 78, n. 11, p. 2043–2051. Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26555528>. Acesso em: 23 ago. 2017.

SHELL, W. S. *et al.* Matrix-assisted laser desorption-ionization-time-of-flight mass spectrometry as a reliable proteomic method for characterization of Escherichia coli and Salmonella isolates. **Veterinary World**, 2017. v. 10, n. september, p. 1083–1093. Disponível em: www.veterinaryworld.org/Vol.10/September-2017/12.pdf. Acesso em: 1º jan. 2018.

SHEN, C. et al. Inactivation of Escherichia coli O157:H7 in nonintact beefsteaks of different thicknesses cooked by pan broiling, double pan broiling, or

roasting by using five types of cooking appliances. **Journal of food protection**, 2010. v. 73, n. 3.

SILVA, D. C. Da *et al.* PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS EM DIFERENTES CORTES DE CARNE BOVINA RESFRIADA. From Duplicate 2 (PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS EM DIFERENTES CORTES DE CARNE BOVINA RESFRIADA - Silva, Dionice Capistrano da; Faria, Peter Bitencourt; Pereira, Alcilene de Abreu; Duarte, Whasley Ferreira; Nogueira, Tatiane Mendonça)Gráfico de quadrantes: **Higiene Alimentar**, 2016. v. 30, n. 260/261, p. 116–120. Disponível em: http://docs.bvsalud.org/biblioref/2016/11/2789/260-261-sitecompressed-116-120.pdf>. Acesso em: 21 ago. 2017.

SILVA, N. Da *et al.* **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. 5a. ed. São Paulo: Blucher, 2017.

SOUKI, G. Q. *et al.* Atributos que afetam a decisão de compra dos consumidores de carne bovina. **Organizações Rurais & Agroindustriais - Revista de Administração da UFLA**, 2003. v. 5, n. 2, p. 36–51. Disponível em: https://core.ac.uk/download/pdf/7052690.pdf. Acesso em: 6 fev. 2018.

SOUZA, A. A. A. marmorização e a qualidade da carne bovina. **Pecuária de Corte**, 2000. v. 11, n. 100, p. 63–64.

SPINELLI, M. G. N.; COELHO, J. M.; FREITAS SACCOL, A. L. DE. COMPARAÇÃO DAS BOAS PRÁTICAS ENTRE RESTAURANTES COMERCIAIS DA REGIÃO CENTRAL E REGIÃO SUL DA CIDADE DE SÃO PAULO (SP). **Revista UniVap**, 2014. v. 20, n. 35, p. 119–129. Disponível em: https://doaj.org/article/8233ac5e49f54ba89ea9af735690f858.

SURLEMONT, B.; JOHNSON, C. The role of guides in artistic industries.

Managing Service Quality: An International Journal, 16 dez. 2005. v. 15, n. 6, p. 577–590.

Disponível

em: http://www.emeraldinsight.com/doi/10.1108/09604520510634032>. Acesso em: 27 nov. 2017.

THOUVENOT, P. et al. MALDI-TOF mass spectrometry-based identification of Listeria species in surveillance: A prospective study. **Journal of Microbiological Methods**, 2018. v. 144, p. 29–32. Disponível em: https://ac.els-cdn.com/S0167701217302750/1-s2.0-S0167701217302750-main.pdf?_tid=0bd9f200-ef27-11e7-aaa1-00000aab0f6b&acdnat=1514833844 f551a4270049082f1ce435492ef863a8>.

Acesso em: 1º jan. 2018. TONDO, E. C. et al. Avanços da segurança de alimentos no Brasil. Vigilância Sanitária em Debate, 2015. v. 0, n. 0, p. 122-130. Disponível em: http://www.visaemdebate.incqs.fiocruz.br/index.php/visaemdebate/article/view/443/ 220>. ; BARTZ, S. Microbiologia e sistemas de gestão da segurança dos alimentos. 1a. ed. Porto Alegre - RS: Sulina, 2014. USDA. USDA - Safe Minimum Internal Temperature Chart. The Official Website of the Executive Office of Health and Human Services (EOHHS). Massachusetts: 2015. Disponível [s.n.], em: https://www.fsis.usda.gov/wps/portal/fsis/topics/food-safety-education/get- answers/food-safety-fact-sheets/safe-food-handling/safe-minimum-internaltemperature-chart/ct_index>. Acesso em: 23 ago. 2017. VILABOA-ARRONIZ, J. et al. Patrones de consumo de carne bovina en la región del Papaloapan, Veracruz, México. Agricultura, sociedad y desarrollo, 2009. 145-159. 6. n. 2, Disponível ٧. p. em: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci arttext&pid=S1870-54722009000200001>. Acesso em: 18 fev. 2018. WELKER, C. A. D. et al. Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Revista Brasileira de Biociências, 29 mar. 2010. v. 8, n. 1, p. 44-48. Disponível em: http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/1322. Acesso em: 1° jan. 2018. WHITING, R. C.; BUCHANAN, R. L. Microbial Modeling. A scientific status summary by the Institute of Food Technologists. Food Technology, 1994. v. 48, n. 6, p. 113–120. WHO. The Five Keys to Safer Food. Geneva: [s.n.], 2006. Disponível em: http://www.who.int/foodsafety/areas_work/food-hygiene/5keys_2017.pdf?ua=1. Acesso em: 1º jan. 2018. ___. WHO's first ever global estimates of foodborne diseases find

children under 5 account for almost one third of deaths. WHO, 2015a. Disponível em:

http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2015/foodborne-disease-

estimates/en/>. Acesso em: 19 dez. 2017.

WHO estimates of the global burden of foodborne diseases:
foodborne disease burden epidemiology reference group 2007-2015. Geneva:
WHO Press, 2015b.
Food safety - Fact Sheet - World Health Organization. WHO , 2017.
p. 1. Disponível em: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs399/en/ . Acesso
em: 19 dez. 2017.

WRIGHT, J.; TREUILLE, E. Todas as técnicas culinárias - Le Cordon Bleu: Academie D'Art Culinaire de Paris. 4, 12a. re. ed. Barueri - São Paulo: Marco Zero, 2016.

WU, S.-L. Factors influencing the implementation of food safety control systems in Taiwanese international tourist hotels. **Food Control**, 1 dez. 2012. v. 28, n. 2, p. 265–272. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713512002617>. Acesso em: 19 dez. 2017.

YANG, X. *et al.* Microbial efficacy and impact on the population of Escherichia coli of a routine sanitation process for the fabrication facility of a beef packing plant. **Food Control**, jan. 2017. v. 71, p. 353–357. Disponível em: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713516303796. Acesso em: 29 ago. 2017.

YU, Q. *et al.* Survey of five food-borne pathogens in commercial cold food dishes and their detection by multiplex PCR. **Food Control**, 2016. v. 59, p. 862–869. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.06.027.

ZICARELLI, V. B. . Cozinheiro Profissional e Alta Gastronomia - IGA (Instituto de Gastronomia das Américas). 5a edição, ed. Rosário - Argentina: GABA, 2017.

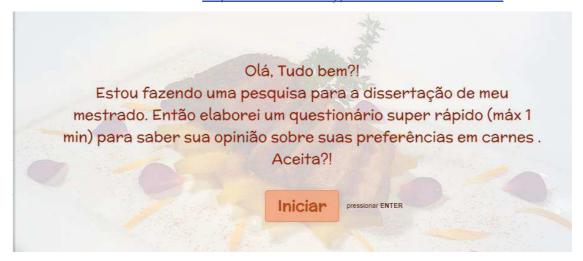
ZWIETERING, M. H. *et al.* Relevance of microbial finished product testing in food safety management. **Food Control**, 2016. v. 60, p. 31–43.

APÊNDICE

PESQUISA DE PREFERÊNCIA DO CONSUMIDOR

A pesquisa está esboçada abaixo. A participação foi via eletrônica (e-mail, redes sociais, celulares, aplicativos ou outros). A ferramenta utilizada para questionamento foi o TYPEFORM®, que foi acessada na íntegra, pelo link:

https://clarissa41.typeform.com/to/uTVvNJ



1→ TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO*

Prezado(a) participante:

Sou estudante do curso de mestrado na Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Estou realizando uma pesquisa cujo objetivo é avaliar a preferência do consumidor em relação ao ponto de cozimento de filé bovino grelhado, sob orientação do Prof. Dr. Eduardo César Tondo. A participação nesse estudo é voluntária, sem necessidade de identificação pessoal e consiste em responder a este questionário. Se você decidir não participar ou quiser desistir de continuar em qualquer momento, tem absoluta liberdade de fazê-lo. Mesmo não tendo benefícios diretos em participar, indiretamente você estará contribuindo para a produção de conhecimento científico. Ao responder a pesquisa você não será beneficiado financeiramente ou de qualquer outra forma e não estará correndo nenhum tipo de risco, visto a inexistência de solicitação de dados de identificação pessoais.

A pesquisa foi submetida à aprovação pelo Cômite de Ética em Pesquisa da UFRGS (CEP UFRGS), que emitiu parecer favorável, sob número XXX. Para veracidade das informações o CEP pode ser contatado através do endereço: Av. Paulo Gama, 110 - Sala 317Prédio Anexo 1 da Reitoria - Campus CentroPorto Alegre/RS - CEP: 90040-060, pelo fone: +55 51 3308 3738 ou e-mail: etica@propesq.ufrgs.br.

Atenciosamente, Clarissa Rech Peixoto F: (51) 99864-0050 e-mail: nut.clarissarp@gmail.com

Aceita participar?

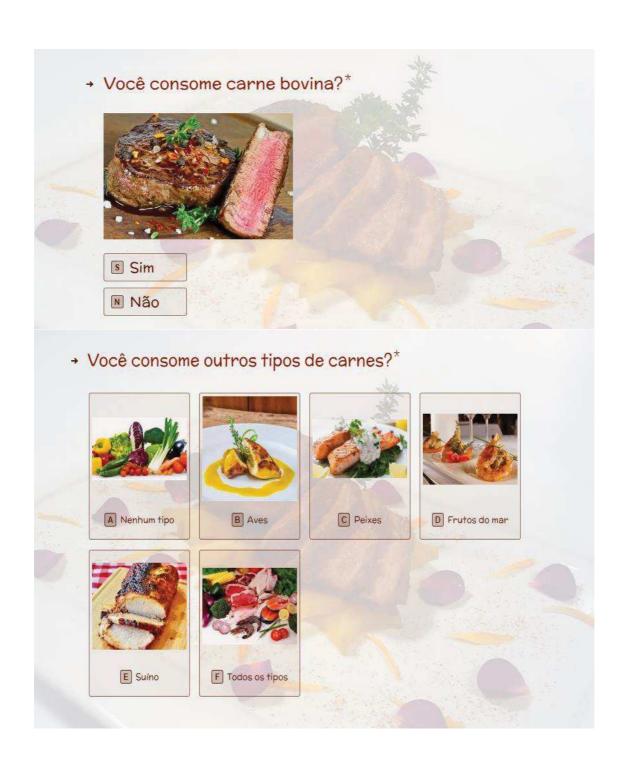
- S Aceito
- N Não aceito
- → Qual sua idade?

Responda aqui

→ Sexo:

A Feminino

B Masculino



→ Ao apreciar um filé mignon grelhado, qual o ponto de cozimento de sua preferência?* A Mal passada B Ao ponto para mal passada C Ao ponto Ao ponto para bem passada E Bem passada

i	Podem ser selecionadas várias opções	
	A Maior suculência	J AKE 1
	B Maior maciez	
	© Mais sabor	
	Menos micro-organismos	
	E Mais saudável	
	E Outro	
	E Outro al a frequência que você conso Diariamente	me carne b
	al a frequência que você conso Diariamente	me carne b
	al a frequência que você conso Diariamente 5 vezes por semana	me carne b
0	al a frequência que você conso	me carne b

	A No almoço, com mais frequência
	B No jantar, com mais frequência
	© Ambas refeições, almoço e janta
	D Outro
	Quando você come carne bovina, qual a quantidade aproximada, por refeição?
	A Aproximadamente B Aproximadamente C Aproximadamente
C	Qual dos locais abaixo você consome carne bovina com
	naior frequência?
	A Em casa
	B No refeitório da empresa
	© Em restaurantes, tipo buffet
	Em restaurantes, tipo à la carte
	E No trabalho, levo na "quentinha/vianda"



