

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

Stefani Machado Lopes

**Microbiologia na gastronomia: sobrevivência de patógenos em preparações
gastronômicas de origem animal**

PORTO ALEGRE

2023

Stefani Machado Lopes

**Microbiologia na gastronomia: sobrevivência de patógenos em preparações
gastronômicas de origem animal**

Tese de doutorado apresentado ao
Instituto de Ciência e Tecnologia de
Alimentos, como parte dos requisitos para
obtenção do título de Doutora em Ciência
e Tecnologia de Alimentos

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Cesar Tondo

PORTO ALEGRE

2023

CIP - Catalogação na Publicação

Lopes, Stefani Machado
Microbiologia na gastronomia: sobrevivência de
patógenos em preparações gastronômicas de origem
animal / Stefani Machado Lopes. -- 2023.
135 f.
Orientador: Eduardo Cesar Tondo.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Instituto de Ciência e Tecnologia de
Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre, BR-RS, 2023.

1. Microbiologia. 2. Gastronomia. 3. Patógenos. 4.
Alimentos. 5. Segurança. I. Tondo, Eduardo Cesar,
orient. II. Título.

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

ATA DE DEFESA

**Ata relativa à DEFESA DE DOUTORADO do(a) discente Stefani Machado Lopes,
orientado(a) pelo(a) Prof.(a) Dr.(a) Eduardo César Tondo.**

Às **9:00 horas** do dia **10 de outubro de 2023**, na sala virtual Mconf do PPGCTA, reuniu-se a **Comissão examinadora** constituída pela **Dr.ª. Patrícia da Silva Malheiros (UFRGS)**, **Dr.ª. Rochele de Quadros Rodrigues (PUCRS)** e **Dr. Carlos Brandão (ESHTE)**. Em sessão pública, o discente apresentou oralmente seu trabalho intitulado: **"Microbiologia na gastronomia: sobrevivência de patógenos em preparações gastronômicas de origem animal"**, e, na sequência, foi arguido pelos membros da Comissão. Após a arguição, a Comissão Julgadora reuniu-se em sessão virtual e expressou seu julgamento, considerando o(a) candidato(a) aprovado(a) ou Não aprovado(a):

Comissão Julgadora

Dr.ª Patrícia da Silva Malheiros (UFRGS)

Dr.ª Rochele de Quadros Rodrigues (PUCRS)

Dr. Carlos Brandão (ESHTE)

Parecer:

Em face dos resultados obtidos, a Comissão Julgadora considerou o(a) Candidato(a):

APROVADO(a) () **Não APROVADO(a)**

Assinaturas:

DocuSigned by:

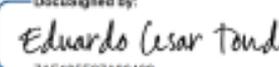
5D6919D9A8348E

Dr.ª Patrícia da Silva Malheiros (UFRGS)

DocuSigned by:

8C8654EDD8D48B

Dr.ª Rochele de Quadros Rodrigues (PUCRS)

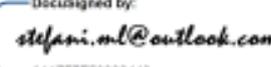
DocuSigned by:

7AF195E97A96402...

Orientador(a): Dr.(a) Eduardo César Tondo

DocuSigned by:

1AD1E8B1FE9041D...

Dr. Carlos Brandão (ESHTE)

DocuSigned by:

A117F7F5932443...

Discente: Stefani Machado Lopes

RESUMO

Produtos de origem animal são amplamente utilizados em muitas preparações da gastronomia. Entretanto, preocupações quanto à segurança dessas preparações ocorrem com frequência, uma vez que produtos de origem animal podem estar contaminados por patógenos como *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Campylobacter*, *Vibrio* e outros patógenos, principalmente, se servidos sem tratamento térmico adequado, como ocorre em algumas preparações da gastronomia. Com o objetivo de aumentar a segurança de muitas preparações, diferentes órgãos reguladores exigem o processamento térmico de todas as partes do alimento a 70 °C ou mais. Contudo, nem sempre isso ocorre em preparações de origem animal, as quais são servidas cruas ou com insuficiente tratamento térmico, com o intuito de obter ou preservar diferentes sabores e texturas. Nesse contexto, o presente estudo foi realizado para analisar a sobrevivência de *Salmonella* e *Listeria monocytogenes*, em três diferentes preparações à base de produtos de origem animal: gemas curadas, gemas marinadas e salmão *Gravlax*. Além desses estudos, foi realizada uma revisão de literatura do efeito de marinadas em carnes, e a publicação de um capítulo de livro sobre segurança de ovos. No estudo de gemas curadas e marinadas, um *pool* de *Salmonella* foi inoculado nos ovos, os quais foram incubados a 37 °C, atingindo aproximadamente 8 log₁₀ UFC/g. Os ovos contaminados foram utilizados nas preparações culinárias e amostras foram coletadas para investigar a sobrevivência de *Salmonella* spp., durante e após seus preparos. Na avaliação dos ovos curados, os resultados indicaram que reduções máximas de 5,6 log₁₀ UFC/g foram obtidas quando as gemas foram curadas por 2 horas e posteriormente tratadas em termocirculador a 62 °C. Nos ovos curados sem posterior tratamento térmico não houve a redução da contaminação de *Salmonella*. No estudo de ovos marinados, os resultados indicaram reduções máximas de 1,5 log₁₀ CFU/g quando a marinada foi composta por molho de soja e *brandy* na proporção de 1:1 e armazenamento a 5 °C. O método de preparo da gema marinada demonstrou ser mais eficaz na redução de *Salmonella* que o método de gema curada sem tratamento térmico. Na avaliação da preparação de salmão *Gravlax*, um *pool* de *Listeria monocytogenes* foi inoculado no salmão, atingindo aproximadamente 5,5 log₁₀ UFC/g e então foram realizadas a análise de duas receitas: com e sem bebida alcoólica. Amostras foram coletadas para investigar a sobrevivência de *Listeria monocytogenes*, durante e após seus preparos. Os

resultados indicaram que reduções máximas de 1,0 log₁₀ UFC/g foram obtidas em ambas receitas testadas, indicando que o álcool não gerou efeito bactericida. Na revisão de literatura do efeito de marinadas em carnes, diferentes tipos de marinadas foram avaliadas, identificando ingredientes, concentrações, temperatura, tempo de marinadas e seu efeito frente aos patógenos *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Campylobacter* e *Vibrio*. Os resultados demonstraram que o uso de marinadas pode prevenir a multiplicação e inativar patógenos, sendo que a maioria das marinadas estudadas propiciaram reduções de até 3 log CFU/g. O capítulo de livro sobre ovos, apresentou a história e a importância do uso dos ovos na gastronomia, abordou a contaminação de ovos inclusive por *Salmonella*, e descreveu dicas práticas com base em artigos científicos para a compra, armazenamento, preparo, serviço e transporte de ovos na gastronomia. Em síntese, os resultados deste estudo evidenciaram a relevância da aplicação de tratamento térmico adequado e do uso de marinadas na mitigação da contaminação por *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Campylobacter* e *Vibrio* em preparações culinárias que envolvem produtos de origem animal. Tais intervenções contribuem para a segurança dos alimentos, propiciando a adoção de práticas mais seguras no contexto gastronômico.

Palavras-chave: Culinária; Inativação; Alimentos; Bactérias.

ABSTRACT

Products of animal origin are widely used in many gastronomic preparations. However, concerns about the safety of these preparations are frequently, since products of animal origin may be contaminated by *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Campylobacter*, *Vibrio* and other microorganisms, especially if served without adequate heat treatment, as occurs in some gastronomic preparations. In order to increase the safety of many preparations, different regulatory agencies require the thermal processing of all parts of the food at 70 °C or more. However, preparations of animal origin are frequently served raw or with insufficient heat treatment, in order to obtain different flavors and textures. In this context, the present study is being performed to analyze the survival of *Salmonella* and *Listeria monocytogenes*, in three different preparations of products of animal origin: cured egg yolks, marinated egg yolks and *Gravlax* salmon. In addition to these studies, a literature review of the effect of marinades in meats, and a book chapter about egg safety was carried out. In the study of cured and marinated yolks, a *Salmonella* pool was inoculated into the eggs, which were incubated at 37 °C, reaching approximately 8 log₁₀ CFU/g. Contaminated eggs were used in the gastronomy preparations and samples were collected to investigate the survival of *Salmonella* spp., during and after preparation. In the cured eggs study, the results indicated that maximum reductions of 5.6 log₁₀ CFU/g are obtained when the yolks are cured for 2 hours and subsequently treated with a thermal circulator at 62°C. Cured eggs without further heat treatment do not reduce *Salmonella* contamination. In the study of marinated egg yolks, the results indicated maximum reductions of 1.5 log₁₀ CFU/g when the marinade is composed of soy sauce and brandy in a 1:1 ratio and stored at 5 °C. The marinated egg yolk preparation method proved to be more efficient in reducing *Salmonella* than the cured yolk method without heat treatment. In the evaluation of the *Gravlax* Salmon preparation, a pool of *Listeria monocytogenes* was inoculated into the salmon, reaching approximately 5.5 log₁₀ CFU/g and then two recipes were analyzed: with and without alcoholic beverage. Samples were collected to investigate the survival of *Listeria monocytogenes*, during and after their preparations. The results indicated that maximum reductions of 1.0 log₁₀ CFU/g are obtained in both recipes tested, indicating that alcohol has no bactericidal effect in this recipe. In the literature review of the effect of marinades on meat, different

types of marinades were evaluated, identifying ingredients, concentrations, temperature, marinating time and their effect against *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* e *Vibrio*. The results demonstrated that the use of marinades can prevent growth and inactivate pathogens, with most marinades achieving reductions of up to 3 log CFU/g. The book chapter about eggs, presents the history and importance of the use of eggs in gastronomy, reports the contamination of eggs, and describes practical tips based on scientific articles for buying, storing, preparing, serving and transporting of eggs. In summary, the results of this study have highlighted the importance of appropriate heat treatment and the use of marinades in mitigating the contamination by *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* in culinary preparations involving animal-derived products. Such interventions contribute to food safety, enabling the adoption of safer practices in the gastronomic context.

Keywords: Cooking; Inactivation; Food; Bacteria.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 2

Figure 1. Color changes of cured egg yolk submitted to different treatments (control; temperature-controlled water circulator; oven) and to different curing times.....	35
Figure 2 Temperature profile of the center of yolk in cured egg yolks processed for different curing times and placed in temperature-controlled water circulator at 62 °C.	36
Figure 3 Temperature profile of the center of yolk in cured egg yolks processed for different curing times and placed in oven at 80 °C.....	37
Figure 4 Texture profile of cured egg yolk submitted to different treatments (control; temperature-controlled water circulator; oven) and different curing times.....	38
Figure 5 <i>Salmonella</i> survival in cured egg yolks submitted to different treatments (control; temperature-controlled water circulator; oven) and to different curing times. Bar designated by different letters are significantly different ($p \leq 0.05$).	40

Capítulo 3

Figure 1. A flow chart of the exclusion process for the literature review.....	48
Figure 2 A scheme of the effect of marinades on meat products.	60

Capítulo 4

Figure 1 Color changes of cured egg yolk submitted to different marinades and to different curing times.....	75
Figure 2 <i>Salmonella</i> survival in cured egg yolks submitted to different marinades with a ratio 1:0.5 (control; soy sauce, soy sauce + mirin; soy sauce + wine; soy sauce + brandy) and to different curing times at 5°C. Bar designated by different letters are significantly different ($p \leq 0.05$).	78
Figure 3 <i>Salmonella</i> survival in cured egg yolks submitted to different marinades with a ratio 1:0.5 (control; soy sauce, soy sauce + mirin; soy sauce + wine; soy sauce + brandy) and to different curing times at 20°C. Bar designated by different letters are significantly different ($p \leq 0.05$).	79
Figure 4 <i>Salmonella</i> survival in cured egg yolks submitted to different marinades with a ratio 1:1 (control; soy sauce, soy sauce + mirin; soy sauce + wine; soy sauce + brandy) and to different curing times at 5°C. Bar designated by different letters are significantly different ($p \leq 0.05$).	79

Figure 5 *Salmonella* survival in cured egg yolks submitted to different marinades with a ratio 1:1 (control; soy sauce, soy sauce + mirin; soy sauce + wine; soy sauce + brandy) and to different curing times at 20°C. Bar designated by different letters are significantly different ($p \leq 0.05$). 80

Capítulo 5

Figure 1 Color changes of *Gravlax* Salmon submitted to scenario A -non-alcoholic recipe and scenario B – alcoholic recipe), and to different curing times. 91

Figure 2 *L. monocytogenes* survival in *Gravlax* Salmon submitted to different treatments (control; scenario A – non-alcoholic recipe; scenario B – alcoholic recipe) and to different curing times. Bar designated by different letters are significantly different ($p \leq 0.05$)..... 91

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2

Table 1 Effect of treatment on water activity (a_w) and color (L^* , a^* , b^* , ΔE^*) of cured egg yolks. Mean value \pm standard deviation of three replicates.....	34
---	----

Capítulo 3

Table 1: The main pathogens in meat products.....	47
---	----

Capítulo 4

Table 1. Ingredients, proportion, and temperatures of different marinated cured yolk treatments.....	71
Table 2. pH and alcohol content values of ingredients and marinades.....	72
Table 3. Effect of marinades treatments on water activity (A_w) of cured egg yolk.....	74

Capítulo 5

Table 1. Effect of the cure on water activity (A_w) and color (L^* , a^* , b^*) of <i>Gravlax</i> Salmon preparation. Mean value \pm standard deviation of three replicates.....	91
--	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
1.1	Objetivo Geral	15
1.2	Objetivos Específicos.....	15
2	CAPÍTULO 1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1	Gastronomia.....	16
2.2	<i>Salmonella</i>	18
2.3	<i>Listeria monocytogenes</i>	19
2.4	<i>Escherichia Coli</i>	20
2.5	<i>Campylobacter</i>	21
2.6	Vibrio	22
2.7	Marinadas.....	23
2.8	Gemas curadas	25
2.9	Salmão <i>Gravlax</i>	26
2.10	Legislação	26
2.11	Capítulos.....	27
3	CAPÍTULO 2 – ARTIGO 1	28
4	CAPÍTULO 3 – ARTIGO 2	44
5	CAPÍTULO 4 – ARTIGO 3	67
6	CAPÍTULO 5 – ARTIGO 4	84
7	CAPÍTULO 6 – CAPÍTULO DE LIVRO.....	98
8	CAPÍTULO 7 – DISCUSSÃO GERAL.....	115
9	CAPÍTULO 8 – CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	126
	REFERÊNCIAS.....	129

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, os avanços nos estudos gastronômicos e a aplicação de princípios científicos na culinária impulsionaram inovações que exploram novas técnicas de preparo, ingredientes inovadores e abordagens criativas, que proporcionam experiências gastronômicas únicas e surpreendentes. Técnicas tais como, aquecimento com temperatura controlada em banho de água, cozimento a vácuo (*sous vide*), processos de cura, congelamento com uso de nitrogênio líquido e filmes comestíveis, tornaram-se comuns em muitas cozinhas (CASSI, 2011; RODGERS, 2007). Entretanto, com o objetivo de criar ou preservar diferentes texturas e sabores, muitas vezes, preparações são servidas sem tratamento térmico suficiente necessário para inativar eventuais contaminações microbiológicas.

Mundialmente, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Campylobacter* e *Vibrio* estão entre os principais patógenos causadores de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) e têm sido associados ao consumo de diversos produtos de origem animal. Enquanto *Salmonella* tem sido associada ao consumo de ovos, *Escherichia coli* tem sido associada ao consumo de carnes, *Campylobacter* principalmente ao consumo de produtos à base de frango, e *L. monocytogenes* e *Vibrio* tem sido isoladas de preparações à base de peixes crus ou com insuficiente tratamento térmico (EFSA, 2022). Na União Europeia (UE) e nos Estados Unidos da América (EUA), *Campylobacter*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Listeria* e *Vibrio* estão entre os principais agentes causadores de surtos alimentares em humanos. No Brasil, na última década, 29,6% e 11,2% dos agentes etiológicos de surtos alimentares notificados foram identificados como *Escherichia coli* e *Salmonella*, respectivamente (BRASIL, 2022). *Vibrio*, *Campylobacter* e *Listeria monocytogenes* não foram identificados entre os 12 principais agentes causadores de surtos alimentares, na última década, no Brasil; os serviços de alimentação, como restaurantes e padarias, foram os locais de maior ocorrência de surtos alimentares, só ficando atrás das residências (BRASIL, 2022).

O processamento térmico ainda é um dos métodos mais comuns e eficazes para inativar microrganismos vegetativos em alimentos e, portanto, mundialmente, diferentes órgãos reguladores recomendam ou exigem que ovos e produtos cárneos

preparados e servidos devam ser cozidos a uma temperatura interna de pelo menos 70 °C (BRASIL, 2004; FDA, 2022). No Brasil, temperaturas inferiores podem ser utilizadas nessas preparações, desde que as combinações de tempo e temperatura sejam suficientes para assegurar a qualidade higiênico-sanitária dos alimentos, através de estudos científicos ou análises laboratoriais (BRASIL, 2004). Além disso, o modo de produção de algumas preparações causa modificações de características físico-químicas, como por exemplo, na atividade de água, que podem dificultar a inativação desses patógenos mesmo quando submetidos a temperaturas elevadas. Se esses parâmetros forem considerados, algumas preparações gastronômicas, como gemas curadas, gemas marinadas e salmão *Gravlax* não atendem a diversas legislações vigentes, e, portanto, dúvidas quanto à sua segurança são geradas.

OBJETIVOS

1.1 Objetivo Geral

Avaliar o comportamento de patógenos de interesse em preparações gastronômicas de origem animal, as quais geram dúvidas quanto à segurança microbiológica.

1.2 Objetivos Específicos

- Identificar modos de preparo de ovos curados, ovos marinados e salmão *Gravlax* em restaurantes e na literatura;
- Analisar o comportamento de *Salmonella*, durante e após as preparações de ovos curados e marinados;
- Analisar o comportamento de *Listeria monocytogenes*, durante e após a preparação de salmão *Gravlax*;
- Identificar na literatura o comportamento de patógenos em preparações de carne marinadas;
- Examinar os principais perigos dos ovos e os principais cuidados necessários ao adquiri-los, manipulá-los e prepará-los com segurança na gastronomia.
- Avaliar o pH, peso, atividade de água, cor, textura e padrões de tempo e temperatura durante e após o preparo das preparações e relacioná-los com o comportamento microbiológico;
- Propor alterações nas receitas, as quais garantam a segurança microbiológica das preparações, se necessário;

2 CAPÍTULO 1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Gastronomia

No início do século XIX, na França, a gastronomia começou a ser vista como um fenômeno social, além da visão consolidada de fonte nutricional. Esse fato esteve relacionado principalmente às mudanças nas condições sociais e culturais, a origem de restaurantes como locais específicos para a produção e o consumo de alimentos, e a criação de instituições que legitimaram a atuação dos profissionais dessa área, contribuindo para o aumento gradativo do consumo de alimentos fora do lar (FERGUSON, 1998; FREIXA; CHAVES, 2017). No Brasil, do total das despesas com a alimentação, aproximadamente 31 % são destinadas ao consumo fora do lar, sendo os maiores dispêndios com as refeições de almoço e jantar (62,7%) seguido de bebidas (12,5%) (IBGE, 2009). O mesmo comportamento é observado em outros países, como na China e nos Estados Unidos da América (EUA), onde o crescimento nas despesas com o consumo de alimentos fora do lar apresenta um papel importante na economia (LIU *et al.*, 2015; USDA-ERS, 2018b).

Em relação à origem de instituições específicas para a formação dos profissionais de gastronomia, essa demanda surgiu depois do estabelecimento dos primeiros restaurantes, com a valorização do profissional pelas classes urbanas, uma vez que, anteriormente, as atividades referentes à cozinha eram deixadas para as mulheres no ambiente doméstico e para os homens, normalmente aqueles menos preparados, para realizar outras atividades no ambiente profissional. Nessas circunstâncias, em Paris, em 1895, surgiu uma das mais famosas escolas de gastronomia do mundo, a *Le Cordon Bleu* (LE CORDON BLEU, 2019). Nos EUA, em 1946, foi fundada outra escola de referência no campo da gastronomia, a CIA – *Culinary Institute of America* (CIA, 2019). No Brasil, o SENAC foi a primeira instituição a lançar cursos relacionados à essa área, em 1951, com o curso de especialização para Garçom e, em 1964, os cursos de cozinheiro e *Barman* (SENAC, 2019). Entretanto, somente em 1999, surgiram os primeiros cursos superiores de Gastronomia no Brasil, nos estados Santa Catarina e São Paulo (Universidade do Sul de Santa Catarina, Universidade do Vale do Itajaí e Universidade Anhembi-Morumbi) (MIYAZAKI, 2006).

Atualmente, no país, há uma ascensão nos aspectos que envolvem a gastronomia: a formação de grandes profissionais em escolas renomadas, a propagação de restaurantes comandados por *Chefs*, e a vasta reprodução de conteúdo, através de livros de culinária, mídias sociais e televisivas, sobre o tema. Com isso, nas últimas décadas, evidenciou-se o cenário da gastronomia, e os consumidores passaram a valorizar cada vez mais a preparação de refeições de qualidade, executadas por *Chefs*, que ofereçam experiências únicas, não só através do sabor da comida, como também através do atendimento e do ambiente (SUNDQVIST, 2023; ZANONI, 2012). Esses fatores foram confirmados por uma pesquisa que abordou as tendências em alimentos no Brasil, e sugeriu que um dos principais aspectos que seriam valorizados, nos últimos anos, no setor de sensorialidade e prazer seria a sofisticação. No cardápio, a tendência seria a utilização de receitas exclusivas, menus degustação e o resgate de ingredientes tradicionais no desenvolvimento de novas receitas, e ademais, os sistemas de gestão exaltarão a valorização dos *Chefs* de cozinha (ITAL, 2010).

Simultaneamente à expansão da gastronomia no Brasil, a segurança de alimentos nessa área também ganhou importância, nos últimos anos. Na gastronomia, a segurança de alimentos teve início no espaço hoteleiro, através do desenvolvimento do setor de alimentos e bebidas, que anteriormente eram vistos como uma área que gerava muitos custos e com poucos resultados para esses estabelecimentos. Entretanto, com a execução de preparações mais complexas, atração de um público mais exigente e, conseqüentemente, um maior valor agregado às refeições, tornou-se essencial uma maior preocupação com a distribuição de refeições seguras, além de sensorialmente prazerosas.

Nas últimas décadas, iniciou-se a fusão da ciência e da culinária e, conseqüentemente, as colaborações entre cientistas e *Chefs*. Essas colaborações geraram avanços nos estudos referentes à gastronomia e estimularam as inovações culinárias com a finalidade de proporcionar o prazer durante a alimentação, principalmente associado ao aspecto sensorial. Com isso, pesquisadores transformaram a cozinha em local de estudo, detalhando as transformações físico-químicas envolvidas na culinária e promovendo inovações tecnológicas (HUMPHRIES, 2012). Com a aplicação dos princípios científicos na culinária, tornou-se possível explorar novas áreas na gastronomia, como por exemplo, o uso de técnicas que fornecem texturas e sabores inéditos (AGUILERA, 2017; BARHAM *et al.*,

2010). Técnicas tais como, aquecimento com temperatura controlada em banho de água, cozimento a vácuo (*sous vide*), processos de cura, congelamento com uso de nitrogênio líquido, gelificação, formação de espumas e filmes comestíveis, são amplamente realizadas em algumas cozinhas (AGUILERA, 2017; DOMINGUEZ-HERNANDEZ; SALASEVICIENE; ERTBJERG, 2018; JEONG *et al.*, 2018). Entretanto, muitas vezes, pratos com produtos de origem animal são servidos sem tratamento térmico suficiente para inativar eventuais contaminações microbiológicas, principalmente com o intuito de manter ou modificar as texturas dos componentes e/ou proporcionar novos sabores. E, portanto, preocupações quanto à segurança dessas preparações ocorrem com frequência, uma vez que produtos de origem animal podem estar contaminados com microrganismos patogênicos, como *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Campylobacter* e *Vibrio*.

2.2 *Salmonella*

Salmonella pertence à família Enterobacteriaceae, sendo Gram-negativa, anaeróbia facultativa e com formato de bastonetes curtos (1 a 2 µm). A maioria das espécies é móvel, com flagelos peritríquios, exceto *S. Gallinarum* e *S. Pullorum*, que não possuem movimento. A *Salmonella* fermenta a glicose, produzindo ácido e gás, mas não é capaz de metabolizar lactose e sacarose. Sua temperatura ideal de multiplicação é de aproximadamente 38 °C, enquanto a temperatura mínima é em torno de 5 °C. Por não formar endósporos, a *Salmonella* é relativamente termossensível e pode ser destruída a 60 °C em 15 a 20 minutos (FORSYTHE, 2013).

O gênero *Salmonella* está dividido em duas espécies (*S. enterica* e *S. bongori*), sendo os membros da espécie *S. enterica* os responsáveis pelas infecções em humanos. *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* são os dois principais sorovares relacionados com essas infecções alimentares, dentre aproximadamente 2600 existentes (FORSYTHE, 2013). A infecção causada pelas bactérias *S. enterica* é denominada salmonelose e geralmente associada à ingestão de alimentos e água contaminados com esses micro-organismos (CDC, 2022). Os sintomas relacionados à salmonelose surgem entre seis a 72 horas, após a ingestão dos alimentos contaminados, sendo para maioria das pessoas saudáveis: dores abdominais, diarreia, vômitos, dor de cabeça e às vezes febre (HOFFMANN; MACULLOCH; BATZ, 2015). Entretanto, infecções mais severas podem ocorrer em imunodeprimidos, onde

a penetração da bactéria na corrente sanguínea pode ocasionar até a morte (FORSYTHE, 2013). Embora se considere uma dose infectante típica para humanos em torno de 10^6 a 10^8 Unidades Formadoras de Colônia (UFC), há relatos de surtos com doses infectantes menores (Humphrey, 2004).

Mundialmente, *Salmonella* é uma das principais causas de DTA. A incidência global de salmonelose é estimada em 80,3 milhões de casos, anualmente, e, entre as DTA, a salmonelose gera alguns dos maiores custos ao ano, causando um grande impacto econômico. Estima-se que cerca de 4,14 bilhões de dólares são gastos com atendimentos, hospitalizações e mortes, podendo chegar a 10,69 bilhões de dólares em anos com maior incidência de casos (MAJOWICZ *et al.*, 2010; USDA-ERS, 2018a). Nos EUA, em 2021, 14,2% dos casos identificados foram ocasionados por *Salmonella* (CDC, 2022). Na União Europeia (EU), *Salmonella* foi a principal responsável nos surtos alimentares, contando com 19,3%. *Salmonella* também foi associada ao maior número de casos (6.755 representando 20,8% do total de casos) e hospitalizações (1.123 representando 45% do total de surtos associados a hospitalizações) (EFSA, 2022). No Brasil, na última década, 11,2% dos agentes etiológicos de surtos alimentares notificados foram identificados como *Salmonella*, e os ovos e produtos à base de ovos foram identificados entre os quatro principais alimentos envolvidos nos surtos, contabilizando 3,2% (BRASIL, 2022). Nas últimas décadas, diferentes preparações culinárias que contem ovos com insuficiente tratamento térmico estiveram relacionadas em surtos alimentares, como preparações de massa carbonara e a sobremesa tiramissu (GODOY *et al.*, 2000; REYNOLDS *et al.*, 2010).

2.3 *Listeria monocytogenes*

O gênero *Listeria* é atualmente composto por 26 espécies, sendo a *L. monocytogenes* a principal causadora de doença transmitida por alimentos (DTA) em humanos (EFSA, 2018; LI *et al.*, 2022). *L. monocytogenes* é uma bactéria Gram-positiva e catalase-positiva não formadora de esporos. Pode se multiplicar em condições anaeróbias ou de microaerofilia e sob uma ampla faixa de temperaturas (0 - 45 °C), sendo a faixa ótima de 30 - 37 °C. É considerado um microrganismo psicotrófico devido à capacidade de se multiplicar em temperaturas de refrigeração sendo esse um dos principais fatores que os tornam presentes nos produtos refrigerados não estéreis, como carnes e peixes (FORSYTHE, 2013).

A listeriose, doença causada por esse patógeno, apresenta uma ocorrência relativamente baixa (2-15 casos por milhão de pessoas por ano), principalmente em pessoas saudáveis, causando geralmente sintomas gastrintestinais leves. Entretanto, em pessoas idosas ou imunodeprimidas pode causar meningite ou septicemia, e pode afetar mulheres grávidas, causando aborto ou doença no recém-nascido. Nesses casos, a taxa de mortalidade atinge até 30 % (AUVOLAT; BESSE, 2016; SLEATOR; CLIFFORD; HILL, 2007). A ocorrência de casos de listeriose está relacionada a vários fatores, como nível de contaminação dos produtos alimentícios, tipo de alimento, imunidade do hospedeiro e potencial de virulência das cepas (HANDA-MIYA *et al.*, 2007; WERBROUCK *et al.*, 2008).

Em 2021, na EU, a taxa de notificação de listeriose humana apresentou um aumento em relação aos anos anteriores, com 2183 casos notificados (0,49 casos por 100.000 habitantes). A listeriose foi a zoonose mais grave, com maior taxa de hospitalização e mortalidade, sendo principalmente relatada na população idosa na faixa etária acima de 64 anos. No geral, a maioria dos casos confirmados de listeriose evoluíram para hospitalização e 13,7% dos casos foram fatais. Os principais alimentos relacionados foram produtos prontos para o consumo e produtos cárneos (EFSA, 2022). Nos Estados Unidos, os dados referentes ao ano de 2021 identificaram 148 casos de listeriose, com uma taxa de hospitalização de 95 % e taxa de fatalidade de 25 % (CDC, 2022). No Brasil, não há registros de surtos de listeriose por alimentos, possivelmente devido à complexidade epidemiológica da doença, além do longo período de incubação (de 3 a 70 dias) da listeriose, o que dificulta a identificação do patógeno e o rastreamento do alimento contaminado (BRASIL, 2022; GANDHI; CHIKINDAS, 2007).

As investigações sobre surtos e casos esporádicos de listeriose têm claramente indicado que o consumo de alimentos contaminados é a maneira mais comum de transmissão de *L. monocytogenes*. Dentre os alimentos citados estão os prontos para consumo, mantidos sob refrigeração e ingeridos sem o adequado processamento térmico (70 °C ou mais), tais como, peixes, carnes e derivados (ZHANG *et al.*, 2021).

2.4 *Escherichia Coli*

Escherichia é um gênero que engloba micro-organismos em forma de bastonetes, Gram-negativos, que existem isoladamente ou em pares e são anaeróbios facultativos (MADAPPA; U GO, 2019). A *Escherichia coli* é a principal espécie no grupo dos coliformes fecais. As *E. coli* são classificadas de acordo com os seus fatores de virulência específicos, que lhe conferem uma maior resistência a novos ambientes. Grupos patogênicos incluem *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), enteropatogênica (EPEC), enterohemorrágica (EHEC), enteroinvasiva (EIEC), enteroagregativa (EAEC), produtora de toxina Shiga (STEC), difusamente aderente (DAEC), entre outros que ainda não foram bem caracterizadas (FENG; WEAGANT; JINNEMAN, 2018). É uma bactéria não formadora de esporos encontrada normalmente nos intestinos dos animais e do homem. Representa 80% da microbiota intestinal aeróbia, sendo eliminada nas fezes, o que propicia a contaminação do solo e das águas (FORSYTHE, 2013).

Em 2021, na EU, foram notificados 6.084 casos de infecções por STEC. A taxa de notificação foi de 2,1 casos por 100.000 habitantes, o que representou um aumento de 9,9% em comparação com 2017-2019 (EFSA, 2022). Nos EUA, no ano de 2021, STEC foi a terceira maior causa de surtos alimentares envolvendo bactérias, com 2542 infecções relatadas, 600 hospitalizações (24%) e 10 mortes (0,4%) (CDC, 2022). No Brasil, na última década, *E. coli* foi a maior causadora de DTA com 29,6 % dos casos (BRASIL, 2022).

Uma das principais vias de transmissão são os alimentos de origem animal, principalmente quando consumidos crus ou insuficientemente cozidos. Produtos cárneos podem estar contaminados com diferentes patógenos se houver práticas de higiene e de manipulação inadequadas, processamento inadequado e/ou cuidados de conservação inapropriados.

2.5 *Campylobacter*

Os *Campylobacter* são bastonetes finos Gram-negativos, medindo entre 0,2 e 0,9 µm de largura por 0,2 a 5,0 µm de comprimento. Eles são microaerófilos, o que significa que requerem de 3 a 5% de oxigênio e 2 a 10% de dióxido de carbono para se multiplicar. No entanto, a tolerância ao oxigênio varia dependendo da espécie e

da cepa. Essas bactérias se multiplicam melhor em temperaturas entre 42 e 46 °C e não conseguem se reproduzir em temperaturas abaixo de 30 °C. Portanto, não ocorre multiplicação desses microrganismos em temperaturas ambiente ou de refrigeração. Os reservatórios dos *Campylobacter* incluem diversos animais selvagens, bem como aves domésticas, bovinos, suínos e animais de estimação. As aves representam um risco primário devido ao seu alto consumo, manuseio inadequado ou preparo insuficiente (cozimento inadequado). As características das enterites causadas por *Campylobacter* incluem: sintomas semelhantes aos da gripe, dores abdominais, febre e diarreia (FORSYTHE, 2013).

Campilobacteriose é a infecção gastrointestinal transmitida por alimentos mais comumente relatada em humanos na União Europeia e tem sido assim desde 2007. Em 2021, o número de casos confirmados de campilobacteriose em humanos foi de 127.840, correspondendo a uma taxa de notificação na EU de 41,1 por 100.000 habitantes. Isso representou um aumento de 2,1% em relação a 2020 (EFSA, 2022). Nos EUA, no ano de 2021, *Campylobacter* foi a primeira maior causa de surtos alimentares envolvendo bactérias, com 8.974 infecções relatadas, 1.822 hospitalizações (20%) e 33 mortes (0,4%) (CDC, 2022). No Brasil, na última década, *Campylobacter* não esteve entre os 12 principais patógenos causadores de DTA. (BRASIL, 2022).

Uma das principais formas de transmissão da campilobacteriose ocorre através do consumo de alimentos que incluem produtos lácteos (32%), frango (17%) e produtos frescos (6%). Os surtos relacionados a vegetais e produtos de frango são mais comuns durante o verão, enquanto os surtos relacionados ao leite são mais frequentes no inverno. Restaurantes (39%) e residências particulares (17%) são frequentemente associados a surtos de *Campylobacter* em alimentos (SHER et al., 2021).

2.6 Vibrio

As espécies de *Vibrio* são comumente encontradas em águas de estuários e, portanto, estão associadas a peixes e vários frutos do mar. Embora haja 12 espécies

de *Vibrio* patogênicas para os seres humanos, apenas o *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus* são as mais preocupantes em relação à infecção humana. O *V. cholerae* é responsável pela cólera, que é a infecção por *Vibrio* mais conhecida. Os seres humanos infectados podem se tornar portadores do *V. cholerae*, o que é um fator importante na transmissão da doença, uma vez que a água usada para beber ou lavar alimentos pode ficar contaminada com material fecal. O *V. parahaemolyticus* é atualmente reconhecido como o maior causador de gastroenterites de origem alimentar no Japão. Isso porque a bactéria é associada ao consumo de frutos do mar, os quais são parte significativa da dieta no Japão. Os sintomas típicos de doença alimentar causada por *V. parahaemolyticus* são: diarreias, dores abdominais, náuseas, vômitos e dores de cabeça. O *V. vulnificus* é comumente encontrado em moluscos e águas costeiras, mas raramente em águas do mar com temperaturas abaixo de 10 a 15 °C. No entanto, os números aumentam quando a temperatura da água é superior a 21 °C. A principal forma de infecção é através da ingestão, seguida de infecção por ferimentos e septicemia. Não é uma causa significativa de doenças transmitidas por alimentos em adultos saudáveis. Portanto, a principal medida preventiva é evitar o consumo de moluscos crus, especialmente ostras, por indivíduos imunocomprometidos (FORSYTHE, 2013).

Em 2021, na EU, foram notificados 57 casos de infecções humanas por *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*.(EFSA, 2022). Nos EUA, no ano de 2021, *Vibrio* foi a sexta maior causa de surtos alimentares envolvendo bactérias, com 461 infecções relatadas, com 117 hospitalizações (25%) e 9 mortes (2 %) (CDC, 2022). No Brasil, na última década, *Vibrio* não foi identificado entre os 12 principais agentes causadores de surtos alimentares (BRASIL, 2022).

Uma das principais causas de surtos relacionados ao *Vibrio* ocorre através do consumo de frutos do mar e vegetais. Um estudo avaliou 750 amostras de crustáceos, peixes, moluscos bivalves vivos e vegetais folhosos para verificar a presença de *Vibrio*. *Vibrio cholerae* foi detectado em 21 amostras, enquanto *Vibrio parahaemolyticus* foi detectado em 45 amostras, totalizando 66 (8,8%) positivas (EFSA, 2022).

2.7 Marinadas

Marinadas são líquidos temperados usados para melhorar a palatabilidade, sabor, cor e/ou textura de diferentes tipos de carnes (bovina, suína, aves, peixes e frutos do mar). O processo de marinar consiste em incorporar ou imergir carnes na marinada, que pode ser um líquido temperado cozido ou não cozido (LUNDE *et al.*, 2008). Originalmente, as marinadas eram apenas uma mistura de água e sal, muitas vezes sendo utilizada a água do mar, que contribuía na preservação das carnes e também no sabor (AITKEN, 2013). Aparentemente, foi a água do mar que levou à expressão “marinada”, que se origina da palavra latina "*mare*", que significa mar.

Ao longo dos anos, mais ingredientes foram adicionados nas marinadas e, gradualmente, o processo que antes era utilizado para a conservação foi alterado para um processo de aromatização e amaciamento (AITKEN, 2013; MOZURIENE *et al.*, 2016). Atualmente, as marinadas contêm água, sal, temperos, especiarias, ervas, açúcar, agentes antimicrobianos, melhoradores de aroma e ácidos como vinagre, vinho, limão ou suco de limão (INCILI *et al.*, 2020; YUSOP *et al.*, 2010). Em geral, o uso desses ingredientes na formulação de marinadas é importante para alcançar as características sensoriais desejadas (textura e sabor) (BIRK *et al.*, 2010; MOZURIENE *et al.*, 2016). Por exemplo, o uso de ácido ajuda a quebrar o tecido conjuntivo das carnes, contribuindo para o amaciamento, enquanto o uso de temperos e especiarias contribuem para o sabor.

Além da melhoria nas características sensoriais, alguns ácidos, especiarias e temperos também podem ter um impacto significativo nas enzimas e nos microrganismos patogênicos presentes nas carnes, inibindo ou até mesmo inativando. Esses efeitos podem ser atribuídos aos compostos presentes na marinada como etanol, ácidos orgânicos, polifenóis e agentes antimicrobianos (LUNDE *et al.*, 2008; THANISSERY; SMITH, 2014). Entretanto, o comportamento das bactérias nas marinadas dependerá de vários fatores como o tipo de ácido, concentração de ácido, temperatura e tempo de armazenamento, concentração inicial de patógenos, evolução da microbiota indígena, matriz alimentar etc. (LYTOU *et al.*, 2019). Estudos indicam a eficácia das marinadas na inativação de patógenos, com reduções menores que 3 log₁₀ UFC/g. Esses estudos demonstram que o pH é o parâmetro que mais afeta a inativação dos patógenos em carnes marinadas, entretanto, alguns efeitos dos ingredientes e da temperatura de armazenamento também contribuem com a inativação (LOPES; DA SILVA; TONDO, 2021).

2.8 Gemas curadas

O uso de sal e açúcar para conservar alimentos remonta aos tempos antigos. Este processo tem sido tradicionalmente usado para desidratar vários alimentos como carne, peixe e vegetais, o que colabora com a inibição da multiplicação microbiana, além de desempenhar um papel protetor nas reações oxidativas de lipídios e proteínas que contribuem para os sabores dos alimentos (PITTIA; ANTONELLO, 2015). Recentemente, *Chefs* aplicaram essa técnica em gemas de ovos de galinha, servindo esse preparo em restaurantes de diversos países. Durante a preparação, a mistura de sal e açúcar difunde-se gradualmente na gema do ovo, o que provoca a migração da umidade e, como resultado, a gema se solidifica do exterior para o interior e concentra bastante a gordura e o sabor. Após a solidificação, a gema pode ser processada termicamente no forno de cozinha. Esse processo de preparação é conhecido como cura da gema. As gemas curadas são utilizadas para trazer sabor para preparação uma vez que podem adicionar rapidamente profundidade e complexidade a uma ampla variedade de alimentos, como saladas, sopas, massas e até mesmo carnes (ADAMANT, 2019; PRYLES, 2020). Como uma nova preparação gastronômica, os parâmetros do processo ainda não são completamente padronizados. Por exemplo, a proporção de gemas e da mistura de sal-açúcar, o tempo de cura sob refrigeração e o tratamento térmico pós-cura variam de acordo com as receitas.

No geral, gemas curadas podem ser obtidas através de duas técnicas, a seca e a úmida. Na seca, as gemas ficam envoltas em uma cama de sal e açúcar, entretanto, também podem ser utilizadas outras especiarias. Já a técnica molhada, consiste em mergulhar as gemas em proporções iguais de molho de soja e uma bebida alcoólica, geralmente, saquê mirim. O tempo de cura varia entre algumas horas e dias, dependendo da textura que se deseja obter. Tempos menores de cura produzem gemas moles e suaves, já tempos maiores apresentam uma consistência mais firme que permite ser fatiada ou ralada.

Na literatura diferentes estudos mostraram que a incorporação de sal ou açúcar na gema de ovo durante a cura seca, tende a aumentar a resistência ao calor de *Salmonella* (COTTERILL; GLAUERT, 1971; DOYLE; MAZZOTTA, 2000;

PALUMBO *et al.*, 1995). Além disso, estudos demonstram que as células bacterianas são mais difíceis de inativar em alimentos ricos em gordura, como gemas de ovo, o que pode indicar a sobrevivência desse patógeno na preparação mesmo após a utilização de tratamento térmico (JIN; TANG; SABLANI, 2019; JUNEJA; EBLEN; MARKS, 2000; SMITH *et al.*, 2008; VERMA *et al.*, 2018). Por outro lado, a cura úmida, através da adição de bebida alcoólica pode promover a redução do patógeno presente, e conseqüentemente, a segurança dessa preparação.

2.9 Salmão *Gravlax*

O salmão *Gravlax* é um prato nórdico preparado com salmão cru. O salmão é curado a partir de uma mistura a base de sal, açúcar, pimenta e dill, podendo ser acrescido de outros ingredientes. Geralmente, o processo consiste em cobrir pedaços de filé de salmão com pele por uma mistura de sal, açúcar, pimenta e dill, e então armazená-los em geladeira por períodos superiores a dois dias. Após o processo de cura, as peças são lavadas com água potável para remoção dos ingredientes, fatiadas e consumidas, sem tratamento térmico prévio (NAMIQ; MILNE, 2017; PEIRIS *et al.*, 2009). O uso do sal restringe a multiplicação de algumas espécies bacterianas, reduz a A_w por osmose, cria uma textura mais densa e amacia o salmão ao promover quebras da estrutura da proteína (NAMIQ; MILNE, 2017). Entretanto, conforme reportado em um estudo realizado por Namiq and Milne (2017), embora a alta concentração de sal e baixa A_w do salmão *Gravlax* contribuam para inibir o crescimento de muitas bactérias, esses parâmetros são insuficientes para o controle de *L. monocytogenes*, uma vez que não promovem a sua inativação completa. Somado a isso, juntamente com a falta de tratamento térmico, o salmão *Gravlax* é apontado como uma fonte potencial de listeriose, já tendo sido associado a surtos de listeriose na Suécia e na Finlândia (ERICSSON; STILHANDSKE, 1997; LONCAREVIC; THAM; DANIELSSON, 1996; PEIRIS *et al.*, 2009).

2.10 Legislação

A Organização Mundial da Saúde sugere que os alimentos em geral, e principalmente os produtos de origem animal, atinjam, no mínimo, 70 °C durante o

cozimento (WHO, 2006). O *Codex Alimentarius* recomenda que o tempo e a temperatura dos alimentos cozidos oferecidos em serviços de alimentação, devem ser suficientes para garantir a destruição de microrganismos patogênicos não produtores de esporos (CODEX ALIMENTARIUS, 2020). No Brasil, os alimentos devem ser submetidos ao tratamento térmico que garanta que todas as partes do alimento atinjam, no mínimo, 70 °C. Entretanto, temperaturas inferiores podem ser utilizadas, desde que as combinações de tempo e temperatura sejam suficientes para assegurar a qualidade higiênico-sanitária dos alimentos (BRASIL, 2004).

Portanto, algumas preparações gastronômicas, embora realizadas em diferentes países há um longo tempo e nem sempre tenham sido relatadas como causadoras de surtos alimentares, estão em desacordo com os parâmetros estabelecidos pela legislação para a segurança de alimentos.

2.11 Capítulos

Os materiais e métodos, resultados e discussão desta tese serão apresentados a seguir na forma de capítulos. O capítulo 2 descreve em forma de artigo o estudo do efeito da cura e tratamentos térmicos em gemas de ovos de galinha na sobrevivência de *Salmonella* e nas propriedades físico-químicas dos ovos. O capítulo 3 descreve em forma de artigo uma revisão bibliográfica sobre o efeito bactericida de marinadas em carnes frente a diferentes patógenos. O capítulo 4 descreve em forma de artigo o estudo do efeito de diferentes marinadas alcoólicas na sobrevivência de *Salmonella* em gemas de ovo de galinhas. O capítulo 5 descreve em forma de artigo o estudo da sobrevivência de *Listeria monocytogenes* durante o preparo da receita salmão *Gravlax*. O capítulo 6 descreve em forma de capítulo de livro o estado atual do conhecimento da utilização e segurança de ovos e preparações com ovos na gastronomia. Ao final dos artigos há uma discussão geral sobre os trabalhos realizados nesta tese de doutorado.

3 CAPÍTULO 2 – ARTIGO 1

Effect of curing and heat treatments on the *Salmonella* survival and physicochemical properties of chicken egg yolk

Stefani Machado Lopes, Danielle Carmo da Silva, Eduardo César Tondo

Article published in the journal Food Research International

Food Research International 137 (2020) 109680



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Food Research International

journal homepage: www.elsevier.com/locate/foodres



Effect of curing and heat treatments on the *Salmonella* survival and physicochemical properties of chicken egg yolk



Stefani Machado Lopes^{*}, Danielle Carmo da Silva, Eduardo César Tondo

Laboratório de Microbiologia e Controle de Alimentos, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (ICTA/UFRGS), Av. Bento Gonçalves 9.500, prédio 43212, Campus do Vale, Agronomia, CEP: 91501-970 Porto Alegre, RS, Brazil

Effect of curing and heat treatments on the *Salmonella* survival and physicochemical properties of chicken egg yolk

Abstract

Cured egg yolk is a novel gastronomic preparation, which a salt and sugar mixture gradually diffuses into the egg yolk, promoting its solidification from the exterior to the inner parts and greatly concentrates fat and flavor. This study was undertaken to analyze the effect of curing and its association with heat treatments on the *Salmonella* survival and physicochemical properties of chicken egg yolks. Contaminated egg yolks ($8.4 \log_{10}$ CFU/g) were covered by a mixture of sugar and salt and stored at 4.5 °C for curing, for 2, 24, 72 and 144 hours. The cured yolks were subjected to the heat treatments: 62 °C for 30 min in temperature-controlled water circulator or at 80 °C for 3 hours in oven. None of the treatments promoted the complete inactivation of *Salmonella* (detection limit of 100 CFU/g). However, *Salmonella* populations were significantly reduced ($p \leq 0.05$) when heat processes were applied, reaching a maximum reduction of $5.6 \log_{10}$ CFU/g when the yolks were cured for 2 hours and subsequently treated in temperature-controlled water circulator (62 °C for 30 min). This treatment kept the physicochemical properties similar to the ones without heat treatment, while the oven treatment showed considerable changes on texture, water activity and visual color. In conclusion, the use of curing time of 2 hours followed by temperature-controlled water circulator process can improve the safety of cured egg yolks made from high quality eggs. However, other methods should be considered and analyzed to promote a complete inactivation of *Salmonella*.

Keywords: gastronomy; food processing; cooking; cured.

1 Introduction

The use of salt and sugar to preserve foods dates back to ancient times. This process has been traditionally used to dehydrate various foods such as meat, fish and vegetables which eventually helps in inhibiting microbial multiplication. It also shows a protective role in oxidative reactions of lipids and proteins which contributes to the food

flavors (Pittia & Antonello, 2015). Recently, *Chefs* have applied this technique in chicken egg yolks, serving this preparation in restaurants of different countries. During the preparation, salt and sugar mixture gradually diffuses into the egg yolk, which causes migration of the moisture and, as a result, the egg yolk solidifies from the exterior to the inner part and greatly concentrates fat and flavor. Post-solidification, the egg yolk is thermally processed in the kitchen oven and this process of preparation is known as egg yolk curing. Cured yolks can quickly add savory depth and complexity to a wide range of foods, like salads, soups, pastas and even meats (Adamant, 2019; Pryles, 2020). As a new gastronomic preparation, the process parameters are not yet completely standardized. For example, the ratio of yolks and the salt-sugar mixture, the curing time under refrigeration and the post-curing heat treatment varies depending the recipes. Based on the fact that eggs are frequently associated with salmonellosis (Brazil, 2019; CDC, 2017; EFSA, 2017; Marder et al., 2018), new egg preparations commonly raise concerns about the food safety of the servings. Although contaminated eggs generally present a low number of *Salmonella* (2000; Palumbo, Beers, Bhaduri, & Palumbo, 1995). A recent research indicated exponentially increased thermal resistance of *Salmonella* at reduced *a_w* (Liu, Tang, Tadapaneni, Yang, & Zhu, 2018; Xu et al., 2019). In addition, bacterial cells are more difficult to inactivate in high-fat foods, like egg yolks (Jin, Tang, & Sablani, 2019; Juneja, Eblen, & Marks, 2000; Smith, Maurer, Orta-Ramirez, Ryser, & Smith, 2008; Verma et al., 2018). Thus, this study aimed to evaluate the effect of curing and heat treatments on *Salmonella* survival and on physicochemical properties of cured chicken egg yolks.

2. Material and methods

2.1. Bacterial strains and inoculum preparation

Five strains of *Salmonella* were used to compose a pool: *Salmonella* ser. Enteritidis SE86, *S. ser. Enteritidis* 55507, *S. ser. Typhimurium* L12031 *S. ser. Minnesota* and *S. ser. Heidelberg*. The bacterial cultures and inoculum preparations were conducted according to the method reported by Lopes et al. (2018). The inoculum was used to contaminate the egg yolks as described below.

2.2. Growth of *Salmonella* in eggs

Eggs (Naturivos, Brazil) weighing 62–71 g were chosen and the yolks were inoculated according to the method reported by Lopes et al. (2018). The yolks were inoculated with 100 CFU of *Salmonella* pool using a sterile needle (Descarpack, Jiangsu Jichun Medical Devices Co., China) attached to a syringe (Plastipak TM Becton Dickinson). A hole was punched through the shell and the needle was inserted until reached the yolk, and a drop of quick-drying glue (Scotch, 3 M, Brazil) was used to close the hole of the shell egg. After inoculation, eggs were incubated at 37 °C for 24 h. *Salmonella* final population in the artificially contaminated egg yolks was around 8.4 log₁₀ CFU/g.

2.3. Cured egg yolk preparation

Artificially contaminated eggs were stored for 30 min at room temperature, and then the yolks were aseptically separated from the egg whites by hands wearing sterilized gloves inside of a laminar flow cabinet. Twenty-four yolks were carefully placed in a plastic box (18 × 10.5 × 7.5 cm) lined with a mixture of sugar and salt (1.5 kg) presenting the ratio of 1.5:1 (according online recipes). After, the yolks were completely covered by 1.5 kg of the mixture and then the box was covered by a plastic film, without touching the egg preparation. The box was stored at 4.5 °C in a biochemical oxygen demand incubator model SL-200 (Solab, Piracicaba, Brazil). For each replicate two plastic boxes containing 24 contaminated egg yolks were used. The experiment was repeated three times.

2.4. Heat treatments

Three cured egg yolks were sampled from random positions inside plastic boxes and, at each set time points (2, 24, 72 and 144 h), the mixture of sugar and salt attached to the yolk was gently removed, using a brush. These time points were chosen due to the time take to prepare cured yolks mentioned in online recipes. Thereafter, cured yolks were processed by two different heat treatments. 1) Cured egg yolks were disposed in sterile plastic bags and immersed in a temperature-controlled water circulator (TermoHobby, H2heater, Brazil) at 62 °C for 30 min or 2) cured egg yolks were placed in a baking pan and baked inside an electric oven (model 1323-10775, Fischer Master, Brazil) at 80 ± 5 °C for 3 h. The first heat treatment was considered mild and was used in order to avoid significant changes in the physical

properties of the yolks. This treatment has been investigated in a previous study and demonstrated to be efficient for *Salmonella* inactivation, 62 °C for 30 min eliminate 7.7 log of *Salmonella* in eggs (Lopes et al., 2018). The second treatment was chosen because it is frequently mentioned in cured egg yolk online recipes (America's Test Kitchen, 2018; Baumer, 2018; Kostow, 2015; Pryles, 2020), with the maximum time found being 3 h and an average temperature of 80 °C, which is a safe temperature for cooking according to legislation (Brazil, 2004; FDA, 2017). Post-treated cured egg yolks were placed in sterile plastic bags and immediately immersed into ice-water bath to stop the cooking process. Inoculated, cured and non-heat treated egg yolks were used as controls. Each heat treatment was performed three times in order to quantify *Salmonella* inactivation and possible physicochemical changes. Uninoculated egg yolks were used in the physicochemical analysis.

2.5. Measure of internal temperature of eggs

The temperature of the center of cured egg yolks subjected to heat treatments was monitored in all time points and both treatments using K-type thermocouples (accuracy 1.5) inserted through sous vide foam tape in the bags immersed in the temperature-controlled water circulator and directly inserted in the cured egg yolks processed by oven. The temperature was recorded using a data logger (Tenmars, Taiwan).

2.6. Microbiological analysis

To obtain the 10^{-1} dilution, each cured egg yolk was placed inside a sterile plastic bag, being weighed and blended with sterile 0.1% peptone water (w/w) in a 1:9 ratio. The egg yolks and 0.1% peptone water (w/w) were homogenized for two minutes using a stomacher (Stomacher® 400, Seward, England). Subsequent decimal dilutions were obtained by mixing 1 ml aliquots with 9 ml of 0.1% peptone water (w/w), and 100 µl of each dilution were spread on agar plates of Xylose Lysine Desoxycholate (XLD, Merck, Darmstadt, Germany). Samples processed by heat treatments were spread on XLD added of a thin layer of Tryptic Soy Agar (TSA, KASVI, Italy) according to the one-step TAL method reported by Kang & Fung (2000). The plates were incubated at 37 °C for 24 h and typical *Salmonella* colonies were counted. The detection limit of plate counts was 100 CFU/g.

2.7. Water activity (aw) and color measurement

The aw of control samples and samples after heat treatment was measured by direct reading in electronic meter (Aqualab 3TE-Decagon, Pullman, USA). The colors of all samples were determined by Chroma Meter (CR-400, Konica Minolt, Japan). The color was expressed as L*, a* and b* value. L* described the whiteness from black (0) to white (100); a* described red-green color with positive values representing redness and negative values representing greenness; b* described yellow-blue color with positive values representing yellowness and negative values representing blueness. The degree of color change was described by the total color difference according the equation below (Eq. (1)).

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (\text{Eq. 1})$$

2.8. Texture profile analysis (TPA)

The texture analyzer TA.XT Plus (Stable Micro Systems Ltd, Surrey, UK) was used to determine the textural parameter of cured egg yolk samples after the heat treatments. Textural profile analysis was performed using the 75 mm – 5 kg cylinder probe to measure hardness. For the tests, distance and time were 55 mm with 90% compression and 1 mm/s.

2.9. Statistical analysis

The results were expressed as mean \pm S.D. of three replicates. The data were subjected to ANOVA and mean comparison of different treatments was carried out using Tukey's test with $p \leq 0.05$ significance level on SAS software (SAS Institute Inc., Cary, USA).

3. Results and discussion

3.1. Water activity and color change of cured egg yolks

The aw results and color change of cured egg yolks subjected to different treatments are shown in Table 1. As expected, there was a negative correlation

between curing time and a_w . The longer the curing time the shorter the a_w (Table 1). Water activity results demonstrated no significant variation ($p > 0.05$) in non-treated (controls) and in yolks processed by the mild treatment in temperature-controlled water circulator. This result can be explained because cured yolks were involved by plastic bags before being immersed into the water circulator. Which may have prevented water loss during the process. Moreover, results demonstrated that egg yolks subjected to the same curing times without heat treatment and with mild treatment displayed higher a_w values compared to the yolks treated at higher temperature by oven. This result may be explained by the circulation of hot air during the heat treatment by oven which promotes water loss.

The impact of treatment conditions on color of cured egg yolk was assessed and the results are reported in Table 1. In general, results showed no significant variation ($p > \leq 0.05$) for yolks subjected to the same curing times without heat treatment and processed by temperature-controlled water circulator for the L^* , a^* , b^* and ΔE^* coordinates. Corroborating with our results, Ayub and Ahmad (2019) mentioned that meats cooked in heat stable vacuumed containers under controlled temperature (0.05) for the ΔE^* coordinate in all cured yolks, which can be explained to the high variation coefficient of ΔE^* , visually oven treated eggs presented remarkable changes in the color as it can be observed in Fig. 1.

Table 1 Effect of treatment on water activity (a_w) and color (L^* , a^* , b^* , ΔE^*) of cured egg yolks. Mean value \pm standard deviation of three replicates.

Treatment	Total cure process (hours)	a_w	Color			
			L^*	a^*	b^*	ΔE^*
Raw egg yolk	0	0.989 \pm 0.002 ^a	61.09 \pm 0.82 ^a	-4.93 \pm 0.60 ^d	24.79 \pm 0.95 ^a	5.97 \pm 6.79 ^a
Control ¹	2	0.938 \pm 0.004 ^b	34.15 \pm 2.05 ^c	0.08 \pm 0.13 ^{ab}	14.75 \pm 1.29 ^{bc}	6.36 \pm 4.57 ^a
	24	0.763 \pm 0.002 ^d	26.95 \pm 2.76 ^{cd}	0.09 \pm 0.48 ^{ab}	7.78 \pm 3.01 ^{cd}	1.18 \pm 0.54 ^a
	72	0.737 \pm 0.003 ^e	25.85 \pm 0.07 ^d	-0.02 \pm 0.39 ^{ab}	7.17 \pm 0.53 ^{cd}	1.69 \pm 0.98 ^a
	144	0.715 \pm 0.003 ^f	27.00 \pm 0.99 ^{cd}	0.58 \pm 1.15 ^a	8.83 \pm 1.04 ^{cd}	1.81 \pm 0.38 ^a
Temperature-controlled water circulator (62 °C – 30 min)	2	0.944 \pm 0.004 ^b	31.02 \pm 4.29 ^{cd}	-1.21 \pm 1.75 ^{abc}	11.87 \pm 4.14 ^{cd}	6.22 \pm 3.26 ^a
	24	0.760 \pm 0.004 ^d	26.49 \pm 1.83 ^{cd}	0.03 \pm 0.25 ^{ab}	7.87 \pm 1.80 ^{cd}	4.32 \pm 3.97 ^a
	72	0.743 \pm 0.004 ^e	27.06 \pm 0.51 ^{cd}	0.14 \pm 0.21 ^{ab}	7.77 \pm 1.29 ^{cd}	3.74 \pm 0.53 ^a
	144	0.727 \pm 0.001 ^{ef}	27.90 \pm 0.33 ^{cd}	-0.02 \pm 0.08 ^{ab}	9.40 \pm 0.23 ^{cd}	2.68 \pm 2.68 ^a
Oven (80 °C – 3 h)	2	0.849 \pm 0.001 ^c	46.15 \pm 1.88 ^b	-3.22 \pm 0.60 ^{cd}	21.36 \pm 2.38 ^{ab}	5.94 \pm 4.35 ^a
	24	0.740 \pm 0.002 ^e	47.75 \pm 0.51 ^b	-2.99 \pm 0.35 ^{cd}	6.34 \pm 0.36 ^d	2.51 \pm 0.69 ^a

72	0.732 ± 0.001^e	45.47 ± 2.79^b	-3.90 ± 0.45^{cd}	19.64 ± 1.99^{ab}	7.73 ± 2.78^a
144	0.680 ± 0.012^g	42.10 ± 1.98^b	-2.42 ± 0.10^{bcd}	20.28 ± 2.04^{ab}	6.31 ± 2.61^a

¹Control: no thermal treatment.

^{a,b,c,d,e,f,g} Mean in the same column with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

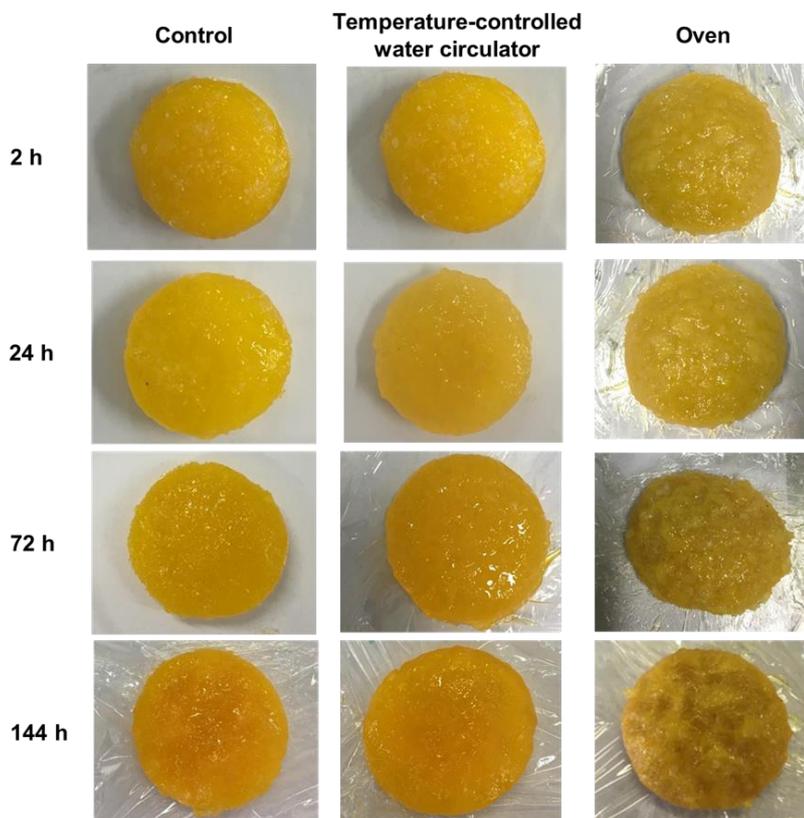


Figure 3-1. Color changes of cured egg yolk submitted to different treatments (control; temperature-controlled water circulator; oven) and to different curing times.

3.2. Temperature profile during heat treatment processes

The temperature profiles of the center of cured chicken egg yolks during cooking in temperature-controlled water circulator at 62 °C and in oven at 80 °C are presented in Fig. 2 and Fig. 3, respectively. In general, in the heat treatment using temperature-controlled water circulator, the heating profile did not show differences in samples submitted to different curing times. However, when yolks submitted to this heat treatment were cured for 2 h, higher temperatures were reached faster than those cured longer (Fig. 2). The come-up time (time that the center of an egg yolk reaches within 1 °C of the final temperature) for all curing time conditions in temperature-controlled water circulator treatment was 20 ± 2 min. This result is in agreement with others studies that used circulating hot water bath for the heat treatment (Geveke, Gurtler, Jones, & Bigley, 2016; Lopes et al., 2018).

The heating profile of cured yolks processed inside an electric oven presented differences according to the curing times (Fig. 3). Yolks cured for 2 and 24 h showed similar profiles and presented a come-up time of 8 ± 1 min. The come-up time for yolks curing for 72 and 144 h were 17 ± 2 min and 27 ± 3 min, respectively. The differences in the come-up times observed in the oven heat treatment were probably related to the efficiency of hot air in transferring properly heat to the center of yolks. Longer curing times caused an increase on the hardness of the yolks and decreases aw, as demonstrated in session 3.3. In general terms, the thermal conductivities of fat and protein are about three times lower than the water, hindering heat transfer to the center of yolks (Carson, Wang, North, & Cleland, 2016). In addition, hot air hitting directly on the surface of longer time cured yolks, led to a higher surface dehydration, making difficult the heat transfer (Thorvaldsson & Skjolde-brand, 1998).

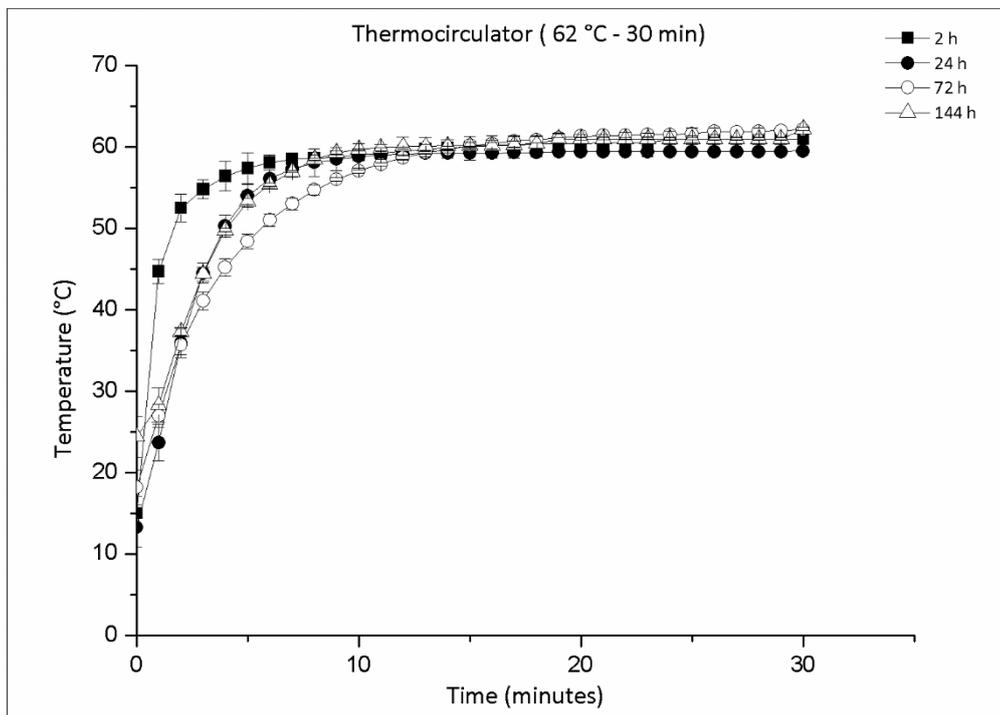


Figure 3-2 Temperature profile of the center of yolk in cured egg yolks processed for different curing times and placed in temperature-controlled water circulator at 62 °C.

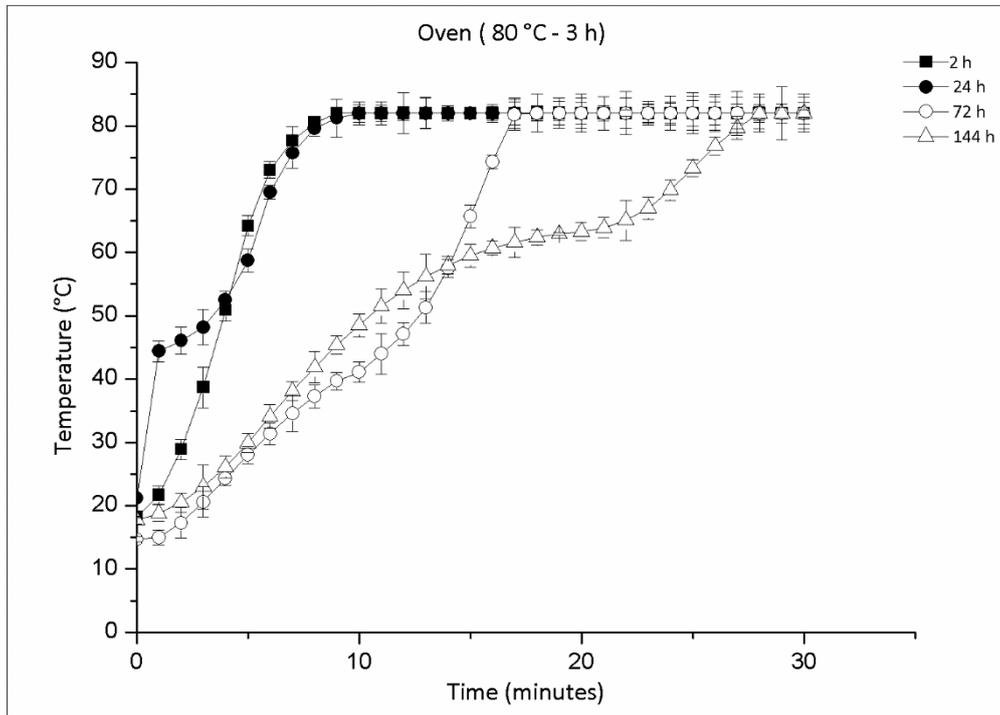


Figure 3-3 Temperature profile of the center of yolk in cured egg yolks processed for different curing times and placed in oven at 80 °C.

3.3. Texture profile analysis

The changes on the texture profile analysis of cured chicken egg yolks are presented in Fig. 4. Due to the characteristics of the cured yolks, only a single compression was performed during the analysis. Therefore it was not possible to obtain parameters of cohesiveness and springiness. As expected, the graphics indicated that hardness increased during the later stage of curing, demonstrating that the changes occurred in the structure of the egg yolk including the solidification of egg yolk, which was caused by the increase on dehydration. In general, yolks subjected to the same curing times without heat treatment and processed by temperature-controlled water circulator presented no variation on the texture profile. For 2 h, 24 h, 72 h and 144 h both of them presented a hardness of approximately 120 N, 400 N, 590 N and > 600 N, respectively. However, for all curing times, cured yolks processed by oven presented a high hardness, exceeding the equipment's detection limit (600 N). No studies concerning dehydration followed by oven or temperature-controlled water circulator treatment in foods were found to compare the texture results found in the

present research. However, similar with our result, Bai et al. (2013) found that sea cucumber has maximum hardness when was dried in oven at 80 °C when compared with others treatments. The main reason for this phenomenon is that oven drying can lead to fast water evaporation of surface and results in surface hardening of the sea cucumber.

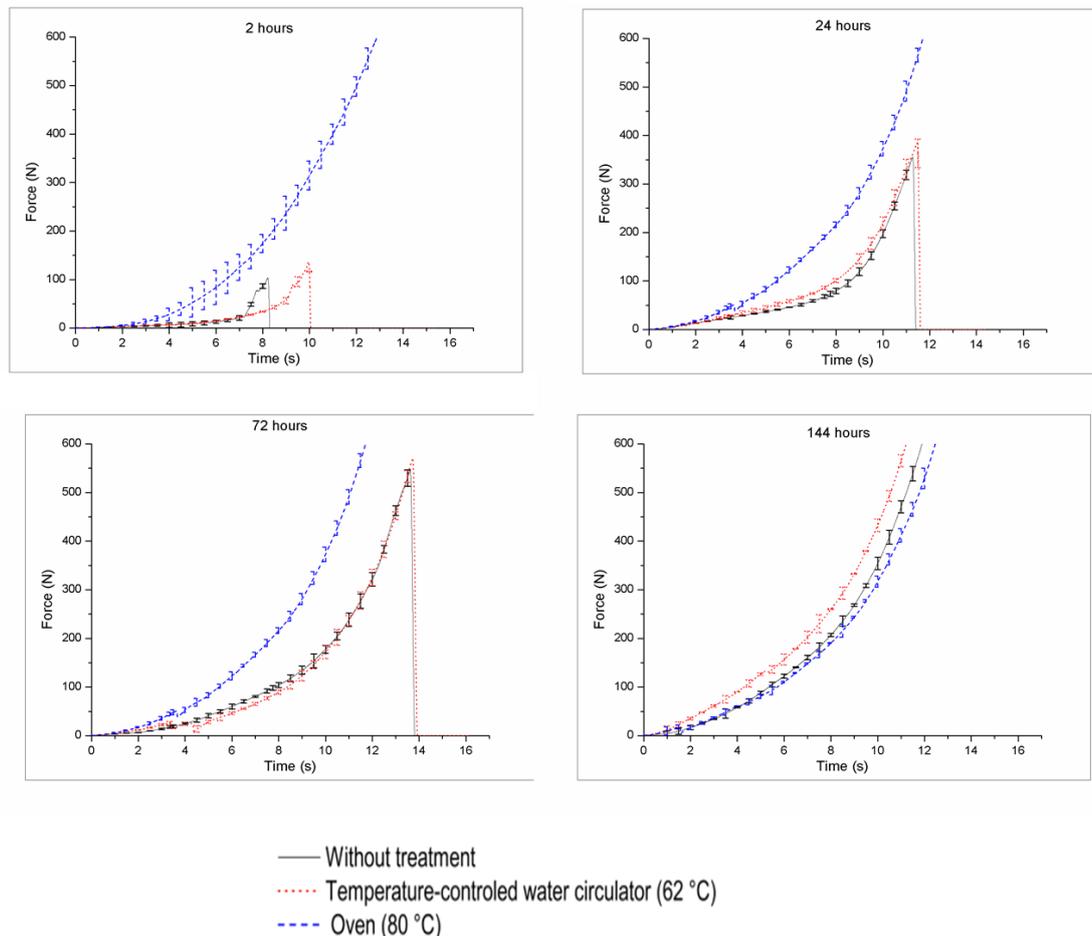


Figure 3-4 Texture profile of cured egg yolk submitted to different treatments (control; temperature-controlled water circulator; oven) and different curing times.

3.4. Inactivation of *Salmonella* in cured egg yolks

The mean initial concentration of *Salmonella* spp. in the raw egg yolks was $8.4 \pm 0.2 \log_{10}$ CFU/g. The microbiological inactivation results (Fig. 5) indicated that *Salmonella* populations were reduced significantly ($p \leq 0.05$) by both heat treatments (approximately 3 \log_{10} reduction). Regardless of curing time, the use of sugar and salt

without subsequent heat treatment do not promote a significant ($p > 0.05$) *Salmonella* reduction (Fig. 5).

Although cured yolks processed by electric oven reaches high temperatures (80 °C), which is considered sufficient to kill *Salmonella* (>70 °C), it was not enough to promote complete inactivation of *Salmonella* population. In general (except curing for 2 h), there are no significant differences ($p > 0.05$) between the heat treatments (temperature-controlled water circulator at 62 °C and oven at 80 °C) in *Salmonella* counts. Viable counts can be explained due to low water activity that increases the heat resistance of bacteria as shown in different studies (Cotterill & Glauert, 1971; Doyle & Mazzotta, 2000; Liu et al., 2018; Palumbo et al., 1995; Xu et al., 2019). Moreover, studies have indicated that heat resistance can occur, since bacterial cells can quickly equilibrate to their surrounding conditions. In this sense, the increase in thermal resistance of bacteria in low-water-activity environments may be related to the reduced molecular mobility and the creation of stable ribosomal units against irreversible damage caused by thermal treatment (Syamaladevi et al., 2016).

In the present study, higher inactivation of *Salmonella* (5.6 log₁₀ reduction), occurs when yolk was cured for 2 h followed by a mild heat treatment through water circulator (Fig. 5). At this process conditions, the yolks remained soft and surrounded by a thin solid layer. This result can be due to the significant high water activity of the yolk (aw 0.944) during the heat treatment when compared to the yolk also cured for 2 h but submitted to the oven (aw 0,849) and to others curing times.

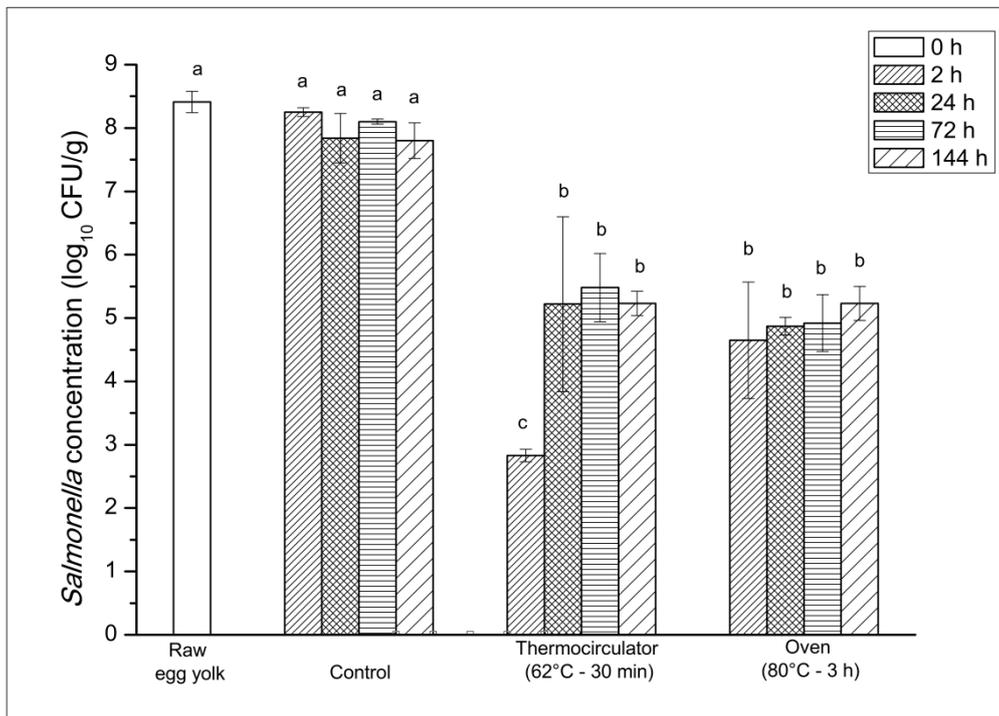


Figure 3-5 *Salmonella* survival in cured egg yolks submitted to different treatments (control; temperature-controlled water circulator; oven) and to different curing times. Bar designated by different letters are significantly different ($p \leq 0.05$).

4 Conclusion

This study demonstrates that cured egg yolks without heat treatment do not promote a significant *Salmonella* reduction regardless of the curing time. However, *Salmonella* populations are reduced significantly when heat processes are applied (temperature-controlled water circulator at 62 °C for 30 min and oven at 80 °C for 3 h), with maximum reductions of 5.6 log₁₀ CFU/g when the yolks are cured by 2 hours and subsequently treated by temperature-controlled water circulator.

Our findings demonstrate that the cured egg yolks processed by temperature-controlled water circulator keep the physicochemical properties similar to them without heat treatment, while the oven treatment shows considerable changes on texture, water activity and visual color. The low a_w of cured yolk preparations results in lower reduction of *Salmonella* concentration. Based on these results, if cured egg yolks are prepared with highly *Salmonella* contaminated egg yolks even if associated with heat treatments may not be safe to the consumers. However, if it is prepared using eggs with low numbers of *Salmonella*, i.e., 1 to 3 log₁₀ CFU/g, which is a more realistic

situation when eggs came from good quality industries and are maintained in cold chain, the reduction demonstrated in this study can be sufficient to completely eliminate *Salmonella* and promote the safety of cured egg yolk. Therefore, it is advisable the curing time of 2 hours followed by temperature-controlled water circulator process to improve the safety of cured egg yolks made from high quality eggs. However, other methods should be considered and analyzed to promote a complete inactivation of *Salmonella*.

Acknowledgments

The authors would like to thank the Brazilian Federal Agency for Support and Evaluation of Graduate Education (CAPES) for funding and fellowship.

References

- Adamant, A. (2019). Salt Cured Egg Yolks. Retrieved August 12, 2020, from <https://practicalselfreliance.com/salt-cured-egg-yolks/>
- America's Test Kitchen. (2018). Salted egg yolks recipe | BBC Good Food. Retrieved August 12, 2020, from <https://www.bbcgoodfood.com/recipes/salted-egg-yolks>
- Ayub, H., & Ahmad, A. (2019). Physiochemical changes in sous-vide and conventionally cooked meat. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 17(December 2018), 100145. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2019.100145>
- Bai, Y., Qu, M., Luan, Z., Li, X., & Yang, Y. (2013). Electrohydrodynamic drying of sea cucumber (*Stichopus japonicus*). *LWT - Food Science and Technology*, 54(2), 570–576. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.06.026>
- Baumer, O. (2018). Gema Curada - Um Upload no Ovo |. Retrieved August 12, 2020, from <https://obagastronomia.com.br/gema-curada-um-upload-no-ovo/>
- Brazil. Resolution- RDC N° 216, 15 september 2004, Union Official Diary § (2004). Retrieved from <http://portal.anvisa.gov.br/>
- Brazil. (2019). Epidemiological Analysis of Foodborne Disease Outbreaks in Brazil.
- Canada. (2013). Egg safety. Retrieved April 9, 2018, from <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/meat-poultry-fish-seafood-safety/eggs.html>
- Carson, J. K., Wang, J., North, M. F., & Cleland, D. J. (2016). Effective thermal conductivity prediction of foods using composition and temperature data. *Journal of Food Engineering*, 175, 65–73. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.12.006>

- CDC. (2011). How Restaurants Prepare Eggs. Retrieved July 16, 2017, from https://www.cdc.gov/nceh/ehs/ehsnet/plain_language/how-restaurants-prepare-eggs.pdf
- CDC. (2017). Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks United States, 2015: Annual Report. Atlanta, Georgia.
- Cotterill, O. J., & Glauert, J. (1971). Thermal resistance of *Salmonellae* in egg yolk containing 10 percent sugar or salt after storage at various temperatures. *Poultry Science*, 50(1), 109–115. <https://doi.org/10.3382/ps.0500109>
- Doyle, M. E., & Mazzotta, A. S. (2000). Review of Studies on the Thermal Resistance of *Salmonellae*, 63(6), 779–795.
- EFSA. (2017). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. *EFSA Journal*, 15(12). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.5077>
- FDA. (2016). Egg Safety: What You Need to Know. Retrieved July 12, 2017, from www.fda.gov/educationresource/library
- FDA. (2017). 2017 Food Code. USA.
- Gevecke, D. J., Gurtler, J. B., Jones, D. R., & Bigley, A. B. W. (2016). Inactivation of *Salmonella* in Shell Eggs by Hot Water Immersion and Its Effect on Quality. *Journal of Food Science*, 81(3), M709–M714. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13233>
- Gumudavelli, V., Subbiah, J., Thippareddi, H., Velugoti, P. R., & Froning, G. (2007). Dynamic Predictive Model for Growth of *Salmonella* Enteritidis in Egg Yolk. *Journal of Food Science*, 72(7), 254–262. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00444.x>
- Humphrey, T. J., Whitehead, A., Gawler, A. H., Henley, A., & Rowe, B. (1991). Numbers of *Salmonella* enteritidis in the contents of naturally contaminated hens' eggs. *Epidemiology and Infection*, 106(3), 489–496. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2050203>
- Jin, Y., Tang, J., & Sablani, S. S. (2019). Food component influence on water activity of low-moisture powders at elevated temperatures in connection with pathogen control. *Lwt*, 112(April), 108257. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108257>
- Juneja, V. K., Eblen, B. S., & Marks, H. M. (2000). Thermal inactivation of *Salmonella* serotypes in red meat as affected by fat content. *Quantitative Microbiology*, 2(3), 189–225. <https://doi.org/10.1023/A:1013995111581>
- Kang, D. H., & Fung, D. Y. C. (2000). Application of thin agar layer method for recovery of injured *Salmonella* typhimurium. *International Journal of Food Microbiology*, 54(1–2), 127–132. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(99\)00174-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(99)00174-9)
- Kostow, C. (2015). Cured Egg Yolks Recipe | Bon Appetit. Retrieved August 12, 2020, from <https://www.bonappetit.com/recipe/cured-egg-yolks>
- Liu, S., Tang, J., Tadapaneni, R. K., Yang, R., & Zhu, M. (2018). Exponentially Increased Thermal Resistance of *Salmonella* spp. and *Enterococcus faecium* at

Reduced Water Activity Shuxiang. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(8), 1–12.

Lopes, S. M., Batista, A. C. F., & Tondo, E. C. (2018). *Salmonella* survival during soft-cooked eggs processing by temperature-controlled water circulator. *Journal Food Control*. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2018.07.028>

Marder, E. P., Griffin, P. M., Cieslak, P. R., Dunn, J., Hurd, S., Jervis, R., ... Geissler, A. L. (2018). Preliminary Incidence and Trends of Infections with Pathogens Transmitted Commonly Through Food — Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. Sites, 2006–2017. *Morbidity and Mortality Weekly Report Cases*, 67(11), 324–328.

Palumbo, M. S., Beers, S. M., Bhaduri, S., & Palumbo, S. A. (1995). Thermal Resistance of *Salmonella* spp . and *Listeria monocytogenes* in Liquid Egg Yolk and Egg Yolk Products t, 58(September 1995), 960–966.

Pittia, P., & Antonello, P. (2015). Safety by Control of Water Activity: Drying, Smoking, and Salt or Sugar Addition. *Regulating Safety of Traditional and Ethnic Foods*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800605-4.00002-5>

Pryles, J. (2020). How to make soft cured egg yolk. Retrieved August 12, 2020, from <https://jesspryles.com/recipe/soft-cured-egg-yolk/>

Smith, S. E., Maurer, J. L., Orta-Ramirez, A., Ryser, E. T., & Smith, D. M. (2008). Thermal Inactivation of *Salmonella* spp., *Salmonella* typhimurium DT104, and *Escherichia coli* 0157:H7 in Ground Beef. *Journal of Food Science*, 66(8), 1164–1168. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb16099.x>

Syamaladevi, R. M., Tang, J., Villa-Rojas, R., Sablani, S., Carter, B., & Campbell, G. (2016). Influence of Water Activity on Thermal Resistance of Microorganisms in Low-Moisture Foods: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(2), 353–370. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12190>

Thorvaldsson, K., & Skjöldebrand, C. (1998). Water diffusion in bread during baking. *LWT - Food Science and Technology*, 31(7–8), 658–663. <https://doi.org/10.1006/fstl.1998.0427>

Verma, T., Wei, X., Kiatlau, S., Bianchini, A., Eskridge, K. M., Stratton, J., ... Subbiah, J. (2018). Response surface methodology for *Salmonella* inactivation during extrusion processing of oat flour. *Journal of Food Protection*, 81(5), 815–826. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-347>

Xu, J., Tang, J., Jin, Y., Song, J., Yang, R., Sablani, S. S., & Zhu, M. J. (2019). High temperature water activity as a key factor influencing survival of *Salmonella* Enteritidis PT30 in thermal processing. *Food Control*, 98(September 2018), 520–528. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.11.054>

4 CAPÍTULO 3 – ARTIGO 2

Bactericidal effect of marinades on meats against different pathogens: A review

Stefani Machado Lopes, Danielle Carmo da Silva, Eduardo César Tondo

Article published in the journal Critical Reviews in Food Science and Nutrition

CRITICAL REVIEWS IN FOOD SCIENCE AND NUTRITION
<https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1916734>



REVIEW



Bactericidal effect of marinades on meats against different pathogens: a review

Stefani Machado Lopes, Danielle Carmo da Silva, and Eduardo César Tondo

Laboratório de Microbiologia e Controle de Alimentos, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (ICTA/UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil

ABSTRACT

Marinades are seasoned liquids used to improve tenderness, palatability, flavor, color and/or texture of different meats. In addition to contribute to the sensory characteristics, marinades can inactivate food microorganism as well. The purpose of this study was to assess the current state of knowledge regarding the effect of marinades on meats and important food pathogens. Using a systematic review of literature, different types of marinades were evaluated, identifying its ingredients, concentrations, temperature, marinating time and their effect on *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* and *Vibrio*. Findings demonstrated that the use of marinades on meats not only prevents the growth of pathogens but also inactivates food pathogens. Most marinades were able to reduce $< 3 \log$ CFU/g of pathogens, and *Vibrio* populations demonstrated the highest reductions ($> 4 \log$ CFU/g). The pH was the most pronounced parameter influencing the pathogens inactivation, however, ingredients and storage temperature also affected pathogen reduction in marinades.

KEYWORDS

Food processing;
gastronomy; marinading;
marination

Bactericidal effect of marinades on meats against different pathogens: A review

Abstract

Marinades are seasoned liquids used to improve tenderness, palatability, flavor, colour and/or texture of different meats. In addition to contribute to the sensory characteristics, marinades can inactivate food microorganism as well. The purpose of this study was to assess the current state of knowledge regarding the effect of marinades on meats and important food pathogens. Using a systematic review of literature, different types of marinades were evaluated, identifying its ingredients, concentrations, temperature, marinating time and their effect on *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* and *Vibrio*. Findings demonstrated that the use of marinades on meats not only prevents the growth of pathogens but also inactivates food pathogens. Most marinades were able to reduce $< 3 \log$ CFU/g of pathogens, and *Vibrio* populations demonstrated the highest reductions ($> 4 \log$ CFU/g). The pH was the most pronounced parameter influencing the pathogens inactivation, however, ingredients and storage temperature also affected pathogen reduction in marinades.

Keywords: gastronomy; food processing; marinating; marination;

Contents

1 Introduction

2 Methodology

3 Results

3.1 *Salmonella*

3.2 *Escherichia coli*

3.3 *Listeria monocytogenes*

3.4 *Campylobacter*

3.5 *Vibrio*

4 Results

5 Discussion

6 Conclusion

References

1 Introduction

Marinade is a seasoned liquid used to improve tenderness, palatability, flavor, color and/or texture of different meats, like beef, chicken, pork, fish and seafood. Marination or marinating is the process of incorporating or immersing meats in the marinade which can be a cooked or uncooked seasoned liquid (Lunde et al. 2008).

Originally, marinades were just water added of salt, sometimes sea water was used, which collaborate to preserve the meats and imparted flavor through the salt (Aitken 2013). Apparently, was sea water which led to the expression marinade, which originates from the Latin word “mare”, meaning sea. However, some *sources* contest that the word may not have derived directly from the sea water association but via the Italian word marinare or the French word mariner. The mariner means “to pickle,” and the marinare means “to marinate”. Both these words refer to correspondent practices, whose purpose was to preserve or pickle food (Aitken 2013).

Over the years more ingredients have been added into marinades, and gradually, the picking or preserving process was changed to a flavoring and tenderizing process (Aitken 2013). Currently, the marinades usually contain water, salt, seasoning, spices, plant-derived additives, sugar, antimicrobial agents, aroma enhancers and acids such as vinegar, wine, lemon or lime juice, (Yusop et al. 2010). In general, the use of these ingredients in marinade formulation is important to achieve the sensory characteristics (texture and flavor) resulting in desirable final products (Birk et al. 2010). For example, the use of acid helps to break down the connective tissue of meats, contributing to tendering, while the use of seasoning and spices contribute to the flavor.

Beyond its contribution to the sensory characteristics, some acids, spices and seasoning can also have a significant impact on enzymes, growth, inhibition or even inactivation of spoilage and pathogenic microorganisms of meats. These effects can be attributed to compounds such as ethanol, organic acids, polyphenols and antimicrobial agents (Lunde et al. 2008; Vaquero et al. 2007). However, the bacteria behavior in marinades will depend on several factors such as the type of the acid, acid concentration in undissociated form, temperature, marinating and storage time, initial

pathogen population, evolution of indigenous microbiota, food matrix etc. (Lytou et al. 2019).

Meat and meat products have traditionally been associated with foodborne diseases. In the United States, in 2017, the most outbreak associated illnesses were from turkey (609 illnesses), chicken (487) and pork (376), and the categories most commonly implicated were mollusks (41 outbreaks, 19%), fish (37, 17%), chicken (23, 11%), and beef (19, 9%) (CDC 2017). In Europe Union, *Salmonella* in meat and meat products was one the highest risk agent/food pairs, and *Campylobacteriosis* was the commonest reported zoonosis representing almost 70% of all the reported cases and with occurrence in fresh meats ranging from 37.4% to 31.5% in broilers and turkeys, respectively (EFSA 2018). In Brazil, beef, poultry, fish and pork represent 5.3%, 3.5%, 2.1% and 2.0% respectively, totaling 12.9% of DTA outbreaks in the country (Brazil 2019). Currently, due to the proprieties conferred to meats, marinades are not used only in homes but in industries and foodservices, as well. In homemade use, meats are simply immersed in marinades, allowing the passive penetration of components. In food industries and food services other marination techniques such as injection and vacuum tumbling, have been used (Birk and Knøchel 2009). After marination, meats can be packaged and stored, middle or wellcooked and even ready-to-eat with no heat treatment, which represents a high-value gastronomy product (Fuentes et al. 2010). The present review investigates scientific literature regarding different meats submitted to marinades. The review also evaluates the different types of marinades, including ingredients, concentration, temperature and marinating time, as well as the effect on bacterial reduction of some of the most important food pathogens.

Table 1: The main pathogens in meat products.

Chicken	Beef	Pork	Seafood
<i>Salmonella</i> <i>Campylobacter</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Campylobacter</i> <i>Salmonella</i>	<i>Vibrio</i> <i>Listeria monocytogenes</i>

2 Methodology

The systematic literature review approach has been adopted to explore the literature on behavior of the main food pathogens in meat marinades (Table 1). The sites used are PubMed and Web of Science and no date restrictions were applied. A search was carried out in April 2020 and used the terms “marinade” OR “marination” OR “marinated” OR “marinating” AND “*Salmonella*” OR “*Escherichia coli*” OR “*Listeria*” OR “*Campylobacter*” OR “*Vibrio*”. All articles found were checked for duplicates using the software Mendeley. The search focused on the inactivation of *Salmonella*, *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* and *Vibrio* on artificially contaminated food matrices exposed to marinades. Articles were collected and included when they were published in English, Spanish or Portuguese, and relevant search terms appeared in the title, abstract, or key words. Publications were excluded if they were review or book chapters; had incomplete information on the content of marinade; did not use a food matrix or used natural contamination (Figure 1).

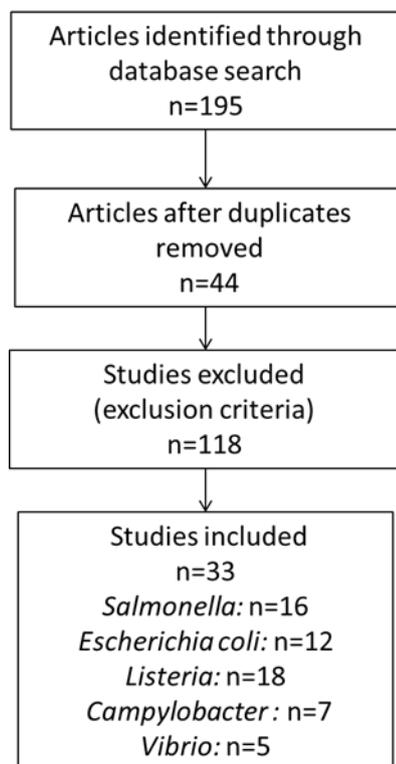


Fig. 1. A flow chart of the exclusion process for the literature review.

3 Results

3.1 *Salmonella*

The effect of marinades in food contaminated with *Salmonella* spp. was investigated in 16 studies. The majority of studies have used the beef as food matrix (62.5%), followed by chicken (25%) and seafood (12.5%). The studies demonstrated results ranging from no reduction to 4.4 log CFU/g reductions of *Salmonella*. Approximately half of the studies presented reductions lower than 3 log CFU/g and two of them presented no significant *Salmonella* reduction. Jofre et al. (2009) investigated the effect of sodium chloride, sodium tri-polyphosphate, sodium ascorbate and sodium nitrite marinating on beef loin inoculated with 3 log CFU/g of *Salmonella enterica* for 24 h at 4 °C. Marinated beefs presented a pH 6.3 and no significant reduction was observed ($p > 0.05$). Similarly, Moon et al. (2017) studied the bactericidal effect of teriyaki sauce marinade (soy sauce, wine, high fructose corn sirup, water, vinegar, salt, spices, onion powder, and garlic powder) on beef slices (1:1 w/v) inoculated with 3.5 log CFU/g of *S. Typhimurium*. The marinade occurred during 7 days at 4 °C and presented a pH 5.1. Teriyaki sauce did not significantly reduce *Salmonella* ($\alpha = 0.05$). However, in the study of (Pathania et al. (2010), teriyaki marinade (pH 4) was able to reduce 1.5 log CFU/g of *Salmonella* inoculated on chicken skin processed for 32 h at 4 °C or 25 °C.

Lower reductions (< 0.5 log CFU/strip) were obtained when marination was used in beef jerky process. Marinade containing spice blend (Lazy Jims Jerky Spice; York Springs, PA) with sterile water in contact with beef (proportion 1:0.65 – pH 6.6) for 24 h at 4 °C reduced only 0.28 log CFU/strip (Scheinberg, Svoboda, and Cutter 2014). Spice marinade (pH 5.3) used at 15% (w/w: 9.7% water and 5.3% dry ingredients) for 24 h at 5 °C resulted in approximately 0.4 log CFU/strip *Salmonella* reduction (Buege, Searls, and Ingham 2006). Similarly, marinade containing soy sauce, worcestershire sauce, pepper, garlic powder, onion powder and hickory-smoked salt (1:0.1 w/v beef-marinade, pH 4.5) in contact for 24 h at 4 °C reduced 0.51 log CFU/strip (Harrison et al. 2001). The use of spice marination was also investigated by Pathania et al. (2010), who demonstrated a *Salmonella* reduction of 0.9 log CFU/g after the chicken skin (8 log CFU/g) was immersed in marinade at 4 °C or 25 °C for 16 hours.

Reductions of approximately 2 log CFU/g were obtained when fruit juices were added in marinades. Mathur and Schaffner (2013) demonstrated this reduction when lime juice marination (pH 2.5) on Tilapia fillet pieces inoculated with 7 log CFU/g of *Salmonella* was maintained for 120 min at 25 °C and 4 °C. Ozturk and Sengun (2019)

also demonstrated approximately 2 log CFU/g reduction when marinade was prepared with koruk juice (50% koruk juice plus 50% water, pH 3.2) and used on meat samples inoculated with 6 log CFU/g of *S. Typhimurium* and marinated at 4 °C for 48 h.

The effect of marinades containing soy sauce and wine on *Salmonella* reduction were also evaluated. Rhoades et al. (2013) tested different marinades: soy sauce base marinade without or with lactic acid and red wine base marinade without or with 0.5% v/v oregano essential oil on beef pieces inoculated with 6.5 log CFU/cm². After 18 h at 5 °C soy sauce marinade base without lactic acid (pH 5.0) and red wine marinade without oregano essential oil (pH 5.0) were able to reduce 0.6 log CFU/cm², while soy sauce marinade base with lactic acid (pH 4.5) and red wine marinade with oregano essential oil (pH 5.0) reduced 2 log CFU/cm². However, in others studies pure red wine marinade (12.5% vol. alcohol, pH 4.8) was able to reduced 2 log CFU/g of *S. Typhimurium* in fresh beef after 96 h of marination (Nisiotou et al. 2013), and pure soy sauce marinade reduced 2.8 log CFU/g of *Salmonella* in raw crab after 28 days at 5 °C (Cho et al. 2016).

Largest reductions ranging from 3.5 log CFU/g to 4.4 log CFU/g were demonstrated by other authors. For example, Moon et al. (2017) tested teriyaki sauce marinade (soy sauce, wine, high fructose corn sirup, water, vinegar, salt, spices, onion powder, and garlic powder) in combination with carvacrol or thymol (0.5%) with pH 5.1 on meat for 7 days at 4 °C and reduced 3.5 log CFU/g of *Salmonella*. Fisher et al. (2016) tested a solution made with chitosan (5%), lauric arginate ester (4%) and organic acids (2% acetic, lactic and levulinic acid) on raw beef (1:0.8 v/w – pH 3.0) for 6 hours and reduced 3.5 log CFU/cm² of *Salmonella*. Sengun, Goztepe, and Ozturk (2019) tested pure koruk juice for 18 h at 4 °C on poultry meat and Nisiotou et al. (2013) tested red wine (12.5% vol. alcohol) supplemented with 0.3% thyme essential oil (pH 4.8) on beef after 96 h resulting in reductions of approximately 3.5 log CFU/g of *Salmonella*. Reductions above 4 log CFU/g were demonstrated by Yang et al. (2013) who investigated the efficacy of lemon juice or citric acid in reducing numbers of *S. Enteritidis* in the preparation kelaguen (beef) during marination process. Beef inoculated with 6 log CFU/g was marinated with lemon juice at 4 °C or citric acid (7.2%, pH 2.6) at 24 °C. Marinating beef at 4 °C and a ratio of lemon juice to beef of 5:1 (pH 2.75) required 6.8 h to achieve a 4 log reduction while citric acid required 3.6 h. Similarly, Cho et al. (2016) examined the survival of *S. Typhimurium* in raw crab

marinated in soy (salinity 15.6% and pH 4.6). After 14 days at 22 °C reductions of 4.4 log CFU/g were observed.

3.2 *Escherichia coli*

A total of twelve studies were focused on the effect of marinades on food contaminated with *Escherichia coli*. The majority of studies have used the beef as the food matrix (83.4%). Works demonstrated results ranging from no reduction to 4 log CFU/g reduction of *E. coli*.

Most of the researches (58%) presented reductions lower than 1.5 log CFU/g. Yoon et al. (2011) evaluated the effect of different marinades containing acetic acid, NaCl, calcium chloride, potassium lactate, flavoring agent and sodium tri-polyphosphate (pH ~5.5) on the inactivation of *E. coli* O157:H7 in a lean ground beef. The results showed that overnight acidified marination at 4 °C did not lead to significant reductions ($p > 0.05$) of *E. coli* O157:H7 populations in raw ground beef. Jofré et al. (2009) got the same reductions when investigated the effect of marinating for 24 h at 4 °C containing water, sodium chloride, sodium tri-polyphosphate, sodium ascorbate and sodium nitrite on beef loin inoculated with 3.8 log CFU/g of *E. coli*. Marinated beefs presented a pH of 6.3. Similar reductions were demonstrated by Buege, Searls, and Ingham (2006) who studied the survival of *E. coli* O157:H7 on beef strips marinated with spice marinade (pH 5.3) applied at 15% (w/w: 9.7% water and 5.3% dry ingredients) for 24 h at 5 °C. The researchers concluded that this marination step contributed little to lethality, resulting in approximately 0.3 log CFU/ strip reductions.

Other four studies tested a typical marinade in the production of beef jerky. Yoon et al. (2005) evaluated beefs contaminated with *E. coli* (4 log CFU/cm² and 7 log CFU/cm²) exposed to a traditional marinade (soy sauce, Worcestershire sauce, black pepper, garlic powder, onion powder and old hickory- smoked salt) for 24 h at 4 °C, or exposed to a 5% acetic acid solution (pH 2.5 for 10 min) followed by traditional marinating for 24 h at 4 °C. After the marination, counts of *E. coli* were reduced approximately 0.2 log CFU/ cm² when submitted to a traditional marinade (beefs presented a pH of 5.3) and reduced approximately 1.5 log cfu/cm² when acetic acid solution p traditional marinade was used (beefs presented a pH of 4.2), regardless the initial contamination. Harrison et al. (2001) examined the survival of *E. coli* O157:H7 in beef loin marinated in a solution containing soy sauce, worcestershire sauce, pepper,

garlic powder, onion powder and hickory-smoked salt (1:0.1 w/v beef-marinade, pH 4.5). After marinating for 24 h at 4 °C, *E. coli* counts reduce only 0.5 log CFU/strip. Similar results were obtained by Scheinberg, Svoboda, and Cutter (2014) who evaluated the reduction of *E. coli* O157:H7 in beef jerky after marination. Marinade was prepared with sterile water and a spice blend (Lazy Jims Jerky Spice; York Springs, PA), in contact with beef (1:0.65 – pH 6.60) for 24 h at 4 °C and results demonstrated reduction of only 0.82 log CFU/strip. The reduction of *E. coli* O157:H7 after the marination process during beef jerky processing also was studied by Calicioglu et al. (2002). Acid-adapted and non-acid-adapted *E. coli* O157:H7 were used. Different marinades were tested: (i) traditional marinade (soy sauce, Worcestershire sauce, black pepper, garlic powder, onion powder, hickory-smoked salt, sodium-L-lactate and acetic acid (pH 4.3); (ii) double-strength traditional marinade and modified (pH 3); (iii) dipping into 5% acetic acid for 10 min followed by application of traditional marinade (pH 2.5); and (iv) dipping into 1% Tween 20 (pH 6.6) for 15 min and then into 5% acetic acid for 10 min followed by traditional marinade. Beefs were inoculated with 6.5 log CFU/cm² and marinated for 24 h at 4 °C. Results indicated that bacterial populations decreased approximately 0.1, 0.5, 1 and 1.1 log CFU/cm², regardless it was acid-adapted or non-acid-adapted.

Reductions ranging from 3 to 4 log CFU/g were found by other researchers. Two of them with soy sauce marinade. Cho et al. (2016) investigated the survival of *E. coli* O157:H7 in raw crab marinated in soy sauce (salinity 15.6% and pH 4.6). Inoculated crabs (4.4 log CFU/g) were immersed in soy sauce and then stored at refrigeration (5 °C) or room temperature (22 °C) for up to 28 days. At 5 °C, after 28 days, *E. coli* reduced 3 log CFU/g, while at 22 °C *E. coli* was completely reduced in 14 days. Moon et al. (2017) verified the bactericidal effect of teriyaki sauce marinade (soy sauce, wine, high fructose corn sirup, water, vinegar, salt, spices, onion powder, and garlic powder) alone or in combination with carvacrol or thymol (0.3-0.5%). Beef slices inoculated with *E. coli* O157:H7 (3.5 log CFU/g) were marinated (1:1 w/v) for 7 days at 4 °C and presented a pH 5.1. Teriyaki sauce alone did not reduce *E. coli*, while marinade with 0.5% of carvacrol or thymol containing teriyaki sauce inactivated all bacteria without recovery within 7 days.

Greater reductions were also verified when fruit juices and acids were used in marinade. Yang et al. (2013) investigated the efficacy of lemon juice or citric acid in reducing numbers of *E. coli* O157:H7 in the preparation kelaguen (beef) during

marination. Beef inoculated with 6 log CFU/g was marinated with lemon juice at 4 °C or citric acid (7.2%, pH 2.6) at 24 °C. Marinating beef at 4 °C and a ratio of lemon juice to beef of 5:1 (pH 2.7) required 22 hours to achieve a 4 log CFU/g reduction while citric acid required 4 h. Similar results were found by Ozturk and Sengun (2019) who studied the effects of marination prepared with koruk juice in reducing *E. coli* O157:H7 on meat samples. Meat was inoculated with two different levels (\cong 3 log CFU/ g and \cong 6 log CFU/g) of *E. coli* O157:H7 and marinating at 4 °C for different times (2 h, 24 h and 48 h) in liquids containing koruk juice (25% and 50%) or dried koruk pomace (1% and 2%) with or without ingredients (1% salt and 0.1% thyme). The most effective treatment in reducing the counts of *E. coli* O157:H7 was achieved by marination with 50% koruk juice plus 50% water for 48 h (pH 4.1), reaching 3.4 log CFU/g of reduction. Fisher et al. (2016) evaluated the efficacy of a solution made with chitosan (5%), lauric arginate ester (4%) and organic acids (2% acetic, lactic and levulinic acid) on *E. coli* O157:H7 to be used as a marinade for raw beef (1:0.8 v/w – pH 3.0). Fresh beef top round steaks were inoculated with 4.5 log CFU/cm². After 6 h, the marination reduced *E. coli* to levels below the limit of detection (< 1 log CFU/cm²), resulting in a 3.5 log CFU/ cm² reduction.

3.3 *Listeria monocytogenes*

Eighteen studies were found which investigated the effect of marinades on food contaminated with *Listeria monocytogenes*. The majority of studies have used the beef as food matrix (55.6%), followed by seafood (27.8%), chicken (11.1%) and pork (5.5%). Works demonstrated results ranging from no reduction to 6 log CFU/g reduction of *L. monocytogenes*.

Most of the studies (61%) presented reductions lower than 3 log UFC/g and three of them presented no significant inhibition of *L. monocytogenes* ($p > 0.05$). Carlos and Harrison (1999) studied the inhibition of *L. monocytogenes* in marinated chicken by pimento leaf oil and clove oleoresin. The marinade contained 5.0% sodium tripolyphosphate, 2.5% sodium chloride in water, clove oleoresin and pimento leaf (0%, 0.2%, and 0.5% levels) (pH 6.0). Chicken was marinated for 1 h and no reduction was detected. In addition, bacteria presented growth during the storage at 4 °C and 12 °C. No bacterial reduction was also found in marinated seafood studied by Jemmi and Keusch (1992) who inoculated *L. monocytogenes* in trout and submitted to salt marinade containing 10% NaCl and 0.7% spices (pH 6.4) for 12 h and Mejlholm, Devitt,

and Dalgaard (2012) inoculated *L. monocytogenes* in shrimp (*Pandalus borealis*) marinated with benzoic, citric and sorbic acids (pH 6) for 4 h at 3 °C, both presented no significant changes in the concentration of *L. monocytogenes* was observed.

Low *L. monocytogenes* reductions were demonstrated by Scheinberg, Svoboda, and Cutter (2014) and Jofré et al. (2009). The first study evaluated the reduction of *L. monocytogenes* after the marination process containing spice blend with sterile water in contact with beef (1:0.65 – pH 6.6) for 24 h at 4 °C and found reduction of 0.2 log CFU/strip. The second study investigated the effect of marinating during the same time and temperature conditions but in marinade containing water, sodium chloride, sodium tri-polyphosphate, sodium ascorbate and sodium nitrite on beef loin (pH 6.3) and found reduction of 0.2 log CFU/g.

Reductions ranging from 1 to 3 log CFU/g were observed in six studies. Among them, two studies tested red wine marinades. Vasilijevic et al. (2019) evaluated the activity of essential oils (*Juniperus communis* and *Satureja Montana*) in the red wine (13.5% vol. alcohol) marinated beef against *L. monocytogenes*. Beef was inoculated with 5 log CFU/g and marinated in red wine, salt, pepper, garlic powder in combination or not with 0.25% of *J. communis* and 0.125% of *S. montana* for 24 h at 4 °C. Results demonstrated a reduction of 1.5 log CFU/g for all marinades tested. Similar results were found by Birk and Knøchel (2009) who tested red wine and yogurt marination in pork medallions (*Longissimus thoracis*). The immersion of the pork meat in 42 °C red wine (pH 3.7) for 15 min and subsequent storage at 4 °C, still submerged in red wine, promoted approximately 2 log CFU/piece reduction of *L. monocytogenes*, after 3 days. When pork meat was immersed in 4 °C red wine during the entire experiment or in natural yogurt (pH 4.4) at 4 °C the reduction after 3 days was approximately 1 log. Other two studies investigated marinades containing soy sauce. Inoculated raw crabs (4.4 log CFU/g) were immersed in soy sauce (salinity 15.6% and pH 4.6) and then stored at 5 °C or 22 °C, for up to 28 days. At 5 °C, after 28 days, *L. monocytogenes* populations were reduced 1.1 log CFU/g, while at 22 °C the reduction was higher, i.e. 2.6 log CFU/g (Cho et al. 2016). Harrison et al. (2001) examined beef loin marinated in a solution containing soy sauce, worcestershire sauce, pepper, garlic powder, onion powder and hickory-smoked salt (1:0.1 w/v beef-marinade, pH 4.5). After marinating for 24 h at 4 °C, *L. monocytogenes* counts were reduced 1.8 log CFU/strip. Reductions around 2 log CFU/g were also found by Naidoo and Lindsay

(2010) and Ozturk and Sengun (2019) who tested apple cider vinegar and koruk juice plus 0.1% thyme, respectively, in marinating process at 4 °C for 24 h.

Largest reductions ranging from 3 to 6 log UFC/g were cited by other authors in 7 studies. Most of them (5) used acids in the marinades. Vergara et al. (2003) evaluated the behavior of *L. monocytogenes* in anchovies during marination. Anchovies were inoculated with 1.2×10^7 CFU/g. The marinade solution (pH 3.1) was prepared by mixing water and vinegar (6% alcohol) and adding 8.06% NaCl (w/v) for 24 h at 20 °C. At the end of marinating process, a marked decrease of the inoculum was observed resulting in a reduction of 4.6 log CFU/g. Similar, Bremer and Osborne (1995) showed that the concentration of *L. monocytogenes* was reduced by approx. 3 log CFU/g in green shell mussels (*Perna canaliculus*) following marination in 3% (w/v) acetic acid or 1.5% (w/v) acetic acid þ 1.5% (w/v) lactic acid for 10 to 15 days at 5 °C (pH 4.0). Rhoades et al. (2013) investigated the effect of marination for 18 h at 5 °C on beef pieces inoculated with 6,5 log CFU/cm². Soy sauce base marinade added with lactic acid (pH 4.5) presented the higher reduction, decreasing 3.4 log CFU/cm². Similar decrease was observed (3.5 log CFU/cm²) when acids were used was also found by Fisher et al. (2016) in marinade made with chitosan (5%), lauric arginate ester (4%) and organic acids (2% acetic, lactic and levulinic acid) (pH 3.0) after 6 h of marination and by Moon et al. (2017) in teriyaki sauce marinade (soy sauce, wine, high fructose corn sirup, water, vinegar, salt, spices, onion powder, and garlic powder) in combination with carvacrol or thymol (0.5%) on beef slices for 7 days at 4 °C and (pH 5.1).

Yang et al. (2013) investigated the efficacy of lemon juice or citric acid in the reduction of *L. monocytogenes* during the preparation of kelaguen (beef). Beef inoculated at 6 log CFU/g was marinated with lemon juice at 4 °C or citric acid (7.2%, pH 2.6) at 24 C. Marinated beef at 4 °C and a ratio of lemon juice to beef of 5:1 (pH 2.7) required 16 hours to achieve a 4 log UFC/g reduction while citric acid required 2.6 h. Higher reductions were observed by Shukla et al. (2017) who investigated the inhibitory effects of *Adhatoda vasica* ethanolic leaf extract (AVELE) against *L. monocytogenes* on raw chicken breast meat inoculated with 6.0 log CFU/g. The solution was used at concentrations of 5%, 10%, and 20% (pH 6.0). The solution was maintained in contact with chicken for 5, 10, 15, 30, 60, and 90 min. AVELE at 200 mg/mL for 90 min completely inactivated *L. monocytogenes*.

3.4 *Campylobacter*

The *Campylobacter* species inoculated into food matrices of identified studies were *C. jejuni* and *C. coli*, which are associated with poultry meat (Kaakoush et al. 2015; Berthenet et al. 2019; García-Sánchez et al. 2018).

Among the included studies, 71.4% were related to chicken meat followed by pork (14.3%) and beef (14.3%). Studies demonstrated *Campylobacter* reductions ranging from 0.5 to 6 log CFU/g. The studies investigated the use of many types of marinades in different chicken cuts (chicken breast, chicken breast fillets and chicken wings). The highest reduction for chicken meat was obtained by Thanissery and Smith (2014), who evaluates the effect of salt-phosphate marinade solution containing 0.5% of thyme orange essential oil on breast fillets and whole wings inoculated with approximately 6 log CFU/mL of *Campylobacter coli*. In this study, meats were marinated for 20 min in vacuum with 10% (vol/wt) of a prechilled (4 °C) marination solution reducing numbers of viable *C. coli* by approximately 3.0 log CFU/mL on breast fillets and whole wings.

Except for the study cited above, in general, the reductions of *Campylobacter* in marinated chicken meat were low. Park, Hong, and Yoon (2014) investigated the effects of 3% cultured sugar/vinegar blended with 0.6% polish rub seasoning containing 32% of herbs, refined salt, garlic flake, brown sugar, a-corn, crust breading, soybean oil and oleoresin paprika on chicken breasts inoculated with *C. jejuni* and obtained approximately 1.8 log CFU/g reduction. In this study the breasts were vacuum-packaged and stored at 4 °C and 10 °C for 30 days that is a longer period when compared to others included studies. In shorter marinade times, regardless of chicken cuts and the ingredients used in the marinades (wines, vinegar, pomegranate sirup, lemon juice) the reductions varying between 0.5 and 1.3 log CFU/g (Birk et al. 2010; Zakariene et al. 2015; Isohanni et al. 2010).

Birk and Knøchel (2009) tested the effect on *C. jejuni* of a marinade containing red wine and yogurt marination in pork medallions (*Longissimus thoracis*). The most effective antimicrobial procedure was the immersion of the pork meat in 42 °C red wine (pH 3.7) for 15 min and subsequent storage at 4 °C, still submerged in red wine. After 3 days, approximately 6 log CFU/g of *C. jejuni* were reduced. When pork meat was submerged in 4 °C red wine during the entire experiment or in natural yogurt (pH 4.4) at 4 °C the reduction was 3.5 log and 2 log, respectively, after 3 days.

3.5 *Vibrio* spp

Vibrio parahaemolyticus and *Vibrio cholerae* were the most investigated microorganisms in studies concerning the bactericidal effect of marinades on seafood. Therefore, in general the foodborne illnesses associated with this bacterium are the consumption of raw or undercooked contaminated seafood (Scallan et al. 2011; Nishibuchi and DePaola 2005; Elbashir et al. 2018). Works demonstrated of *Vibrio* reductions ranging from 0.1 to 9 log CFU/g.

From five relevant studies identified, three investigated ceviche marinade in lime/lemon juice. Ceviche is a food with marinated raw fish, and is a typical meal in Peru and other Latin American countries. Studies demonstrated *Vibrio* reductions ranging from 4 log CFU/g to 9 log CFU/g. Mathur and Schaffner (2013) evaluated the effects of lime juice marination (pH 2.5) on Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillet pieces (ratio 1.5:1 (w/w) with a final pH 3.6) inoculated with *V. parahaemolyticus* (7.0 log CFU/g). The marination occurred at 25 °C and 4 °C for 30 or 120 min resulting in *Vibrio* inactivation of 5 log CFU/g in all conditions studied. Similar result was found by Mata, Vives, and Vicente (1994) when fish (*Coryphaena hippurus*) inoculated with *V. cholerae* (10⁹ CFU/g) was marinated in lime and lemon juice mixture (pH 3) at room temperature and resulted in elimination of *Vibrios* after 30 min of exposure. Significant reduction ($p < 0.05$) was also obtained in a study with other seafood. Crab (*Portunus trituberculatus*) inoculated with approximately 4 log CFU/g of *V. parahaemolyticus*. The preparation was marinated with soy sauce (alcohol 2%, salinity 15.6% and pH 4.6) in the ratio 1:5 (w/w) presented a completely inactivation in one day of marination conducted at 5 °C and 22 °C (Cho et al. 2016).

However, contradictory with these studies, Herrera et al. (2010) found a reduction of approximately 0.1 log of *V. parahaemolyticus* when fish was marinated with lime juice, cilantro, garlic, hot peppers, sweet potatoes and corn (pH 5.2) for 30 min. Similar, shrimp (*Pandalus borealis*) marinated with benzoic, citric and sorbic acids (pH 4.9) reduce 0.9 log CFU/g of *V. parahaemolyticus* reduction, after 24 hours of marination, at 3 °C (Mejlholm, Devitt, and Dalgaard 2012).

4. Discussion

The use of marinades on meats not only prevents the growth of bacterial pathogens but also promotes their inactivation (Figure 2). Only one of the thirty-three studies identified in the presented review demonstrated the growth of a pathogen in their most advantageous marinade formulation. The highest reductions found in all identified studies were 4.4 log CFU/g for *Salmonella*, 4 log CFU/g for *E. coli*, 6 log CFU/g for *L. monocytogenes*, 6 log CFU/g for *Campylobacter* and 9 log CFU/g for *Vibrio*. However, in general, the marinade promotes lower pathogen reductions with approximately 3 log CFU/g or less, except for *Vibrio* (reductions > 4 log CFU/g). Considering that these reductions may not be sufficient to completely eliminate all pathogens present in meats, the use of high-quality meats, coming from industries with Good Hygiene Practices, is very important. Furthermore, aiming at food safety purposes, when possible, it is also recommended the use of an effective heat treatment before the consumption of marinated meats.

Regarding the influence of marinades temperatures on the bacterial effect, it was possible to observe that studies which evaluated the same scenario at different marinade temperatures showed different results. In general, the comparison was between refrigerate (4 °C - 5 °C) and room temperature (20 °C - 25 °C). The studies of Cho et al. (2016), Mathur and Schaffner (2013), Pathania et al. (2010) and Yang et al. (2013) demonstrated the same or greater reductions when marinades were carried out at room temperature. In the literature many studies have reported this same bacteria behavior on different foods and this can be explained because bacterial metabolism is more active at higher temperatures, facilitating the entry of toxic compounds into cells, resulting in bactericidal effect (Eklund et al. 2004; Grounta et al. 2013; Kim, Kim, et al. 2014; Kim, Park, et al. 2014; Rhee et al. 2003; Tsegaye, Ephraim, and Ashenafi 2004).

The exposure times of meats in marinades ranged from 20 min to 30 days. The most common time used was 24 h. In general, marinating times lower than 12 h presented no significant changes in the bacteria concentration. However, some studies demonstrated that a few minutes can promote significant reductions (3 log CFU/cm², 3 log CFU/mL; $p < 0.05$) (Fisher et al. 2016; Thanissery and Smith 2014). Thus, apparently the time of exposure is not one of the main factors that influence the

inactivation of bacterial pathogens and this factor seems that have to be associated to other parameters of the marinade such as pH and ingredients.

Marination pH was one of the most important parameters responsible for bacterial inactivation, considering all pathogens studied. In general, greater reductions were observed when marinades presented pH < 4.5 were used, regardless of the other ingredients containing in the marinade and the food matrix (Birk and Knøchel 2009; Fisher et al. 2016; Rhoades et al. 2013; Vergara et al. 2003; Yoon et al. 2005). These results can indicate that decreasing pH values can also increase the sensitivity of pathogens to others ingredients of marinade. For example, low pH is important to keep acids in an undissociated form, and organic acids exhibit their maximum antimicrobial effect in this form. This pH influence was also observed in non-marinade studies when inactivation of pathogens by chemical compounds were evaluated (Periago and Moezelaar 2001; Saliari, Jalal, and Goharshadi 2015).

However, even at higher pH, high reductions can be obtained when natural and antibacterial extracts were used in the marinade (Moon et al. 2017; Shukla et al. 2017; Ozturk and Sengun 2019). These reductions can be attributed to phenolic, flavonoid and alkaloid contents of these extracts (Shukla et al. 2017). In these cases, the concentration of the extracts and the synergy of combinations were important parameters and its effectiveness varies according to the pathogen tested. This fact was observed, for example, in the study of Ozturk and Sengun (2019) which evaluated koruk juice. When 50% koruk juice plus 50% water (pH 3.2) were used in marinade, the most efficient reduction of *S. Typhimurium* and *E. coli* O157:H7 were obtained, while when koruk juice plus 0.1% thyme was used, the most efficient reduction for *L. monocytogenes* was observed.

The use of wine in marinades is very common and the included studies demonstrated different results in bacterial reduction. Wine associated with essential oils demonstrated major reductions when compared with pure wine (Moon et al. 2017; Rhoades et al. 2013). Moreover, the efficacies of pure wine varied according to the inoculated pathogen and the wine type used, which may be associated with the content of phenolic compounds specific to each wine. Moreover, food matrix played an important role in the different reductions obtained by pure wine marinades (Birk and Knøchel 2009).

According to the literature not related with marinades, alcohol content in the beverages can improve the inactivation of pathogens and there is a correlation between alcohol and pH in the survival of bacteria (Marimon et al. 1998; Gaglio et al. 2017; Lopes and Tondo 2020). In the studies included for this review the only alcohol beverage used was wine which had approximately 13% of alcohol content. For further marinade studies, the use of beverages with higher alcohol content associated with a low pH must be taken into consideration to try to improve the pathogen reductions.

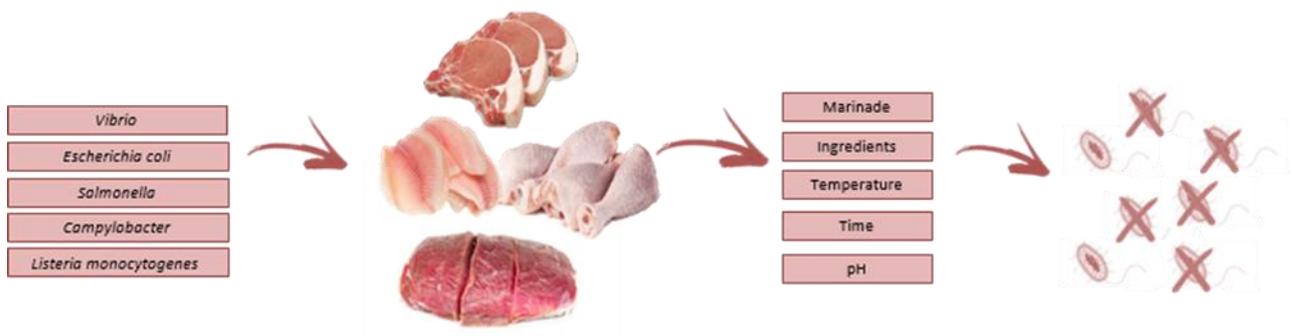


Fig. 2. A scheme of the effect of marinades on meat products

5 Conclusion

The present review was able to find many researches concerning meat marinades and their effectiveness against pathogens. The information found in these investigations demonstrated that the use of marinades can prevent the pathogen growth and promotes their inactivation as well. Most of marinade studies promoted lower pathogen reductions of $< 3 \log \text{CFU/g}$, which demonstrates the importance of using quality meats and adopt heat treatment in marinated meats, when possible. The low pH was identified as the most pronounced parameter, affecting the inactivation of pathogens in marinades, however, some effects of the ingredients and storage temperature cannot be excluded. These factors must be taken into consideration in future studies, as well as the performance of sensorial analysis in order to assess the consumer perception and acceptance.

Acknowledgments

The authors would like to thank the Brazilian Federal Agency for Support and Evaluation of Graduate Education (CAPES) for funding and fellowship.

Declarations of interest

The authors confirm that there are no conflicts-of-interest in the review.

References

- Aitken, Peter. 2013. Kitchen Myths - Facts and Fiction About Food and Cooking. Piedmont Medical Writers LLC.
- Berthenet, Elvire, Amandine Thépault, Marianne Chemaly, Katell Rivoal, Astrid Ducournau, Alice Buissonnière, Lucie Bénéjat, et al. 2019. "Source Attribution of *Campylobacter Jejuni* Shows Variable Importance of Chicken and Ruminants Reservoirs in Non-Invasive and Invasive French Clinical Isolates." *Scientific Reports* 9 (1). Nature Publishing Group: 1–8. doi:10.1038/s41598-019-44454-2.
- Birk, Tina, Anne Christine Grønlund, Bjarke Bak Christensen, Susanne Knøchel, Kristin Lohse, and Hanne Rosenquist. 2010. "Effect of Organic Acids and Marination Ingredients on the Survival of *Campylobacter Jejuni* on Meat." *Journal of Food Protection* 73 (2). United States: 258–265. doi:10.4315/0362-028x-73.2.258.
- Birk, Tina, and Susanne Knøchel. 2009. "Fate of Food-Associated Bacteria in Pork as Affected by Marinade, Temperature, and Ultrasound." *Journal of Food Protection* 72 (3). United States: 549–555. doi:10.4315/0362-028x-72.3.549.
- Brazil. 2019. Epidemiological Analysis of Foodborne Disease Outbreaks in Brazil.
- Bremer, P J, and C M Osborne. 1995. "Efficacy of Marinades against *Listeria monocytogenes* Cells in Suspension or Associated with Green Shell Mussels (*Perna Canaliculus*)." *Applied and Environmental Microbiology* 61 (4): 1514–1519.
- Buege, Dennis R, Gina Searls, and Steven C Ingham. 2006. Lethality of Commercial Whole-Muscle Beef Jerky Manufacturing Processes against *Salmonella* Serovars and *Escherichia coli* O157:H7. *Journal of Food Protection*. Vol. 69.
- Calicioglu, Mehmet, John N Sofos, John Samelis, Patricia A Kendall, and Gary C Smith. 2002. Inactivation of Acid-Adapted and Nonadapted *Escherichia coli* O157:H7 during Drying and Storage of Beef Jerky Treated with Different Marinades. *Journal of Food Protection*. Vol. 65.
- Carlos, Angella Melissa A., and Mark A. Harrison. 1999. "Inhibition of Selected Microorganisms in Marinated Chicken by Pimento Leaf Oil and Clove Oleoresin." *Journal of Applied Poultry Research* 8 (1). Applied Poultry Science, Inc.: 100–109. doi:10.1093/japr/8.1.100.

CDC. 2017. Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks United States, 2015: Annual Report. Atlanta, Georgia.

Cho, T J, N H Kim, S A Kim, J H Song, and M S Rhee. 2016. "Survival of Foodborne Pathogens (*Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus Aureus*, *Listeria monocytogenes*, and *Vibrio Parahaemolyticus*) in Raw Ready-to-Eat Crab Marinated in Soy Sauce." *International Journal of Food Microbiology* 238 (December). Netherlands: 50–55. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2016.08.041.

EFSA. 2018. "The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2017." *EFSA Journal* 16 (12). John Wiley & Sons, Ltd. doi:10.2903/J.EFSA.2018.5500.

Eklund, M. W., M. E. Peterson, F. T. Poysky, R. N. Paranjpye, and G. A. Pelroy. 2004. "Control of Bacterial Pathogens during Processing of Cold-Smoked and Dried Salmon Strips." *Journal of Food Protection* 67 (2). IAMFES: 347–351. doi:10.4315/0362-028X-67.2.347.

Elbashir, S., S. Parveen, J. Schwarz, T. Rippen, M. Jahncke, and A. DePaola. 2018. "Seafood Pathogens and Information on Antimicrobial Resistance: A Review." *Food Microbiology*. Academic Press. doi:10.1016/j.fm.2017.09.011.

Fisher, Kimberly D., Christy L. Bratcher, Tony Z. Jin, Sacit F. Bilgili, Walter F. Owsley, and Luxin Wang. 2016. "Evaluation of a Novel Antimicrobial Solution and Its Potential for Control *Escherichia coli* O157: H7, Non-O157: H7 Shiga Toxin-Producing *E. coli*, *Salmonella* Spp., and *Listeria monocytogenes* on Beef." *Food Control* 64 (June). Elsevier Ltd: 196–201. doi:10.1016/j.foodcont.2015.12.007.

Fuentes, A., I. Fernández-Segovia, J.M. Barat, and J.A. Serra. 2010. "Physicochemical Characterization of Some Smoked and Marinated Fish Products." *Journal of Food Processing and Preservation* 34 (1). John Wiley & Sons, Ltd: 83–103. doi:10.1111/j.1745-4549.2008.00350.x.

Gaglio, Raimondo, Nicola Francesca, Rosalia Di Gerlando, Jennifer Mahony, Simone De Martino, Carlo Stucchi, Giancarlo Moschetti, and Luca Settanni. 2017. "Enteric Bacteria of Food Ice and Their Survival in Alcoholic Beverages and Soft Drinks." *Food Microbiology* 67 (October). Academic Press: 17–22. doi:10.1016/J.FM.2017.04.020.

García-Sánchez, Lourdes, Beatriz Melero, Ana Ma Diez, Isabel Jaime, and Jordi Rovira. 2018. "Characterization of *Campylobacter* Species in Spanish Retail from Different Fresh Chicken Products and Their Antimicrobial Resistance." *Food Microbiology* 76 (December). England: 457–465. doi:10.1016/j.fm.2018.07.004.

Grounta, Athena, George John E. Nychas, and Efstathios Z. Panagou. 2013. "Survival of Food-Borne Pathogens on Natural Black Table Olives after Post-Processing Contamination." *International Journal of Food Microbiology* 161 (3). Elsevier B.V.: 197–202. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2012.12.017.

Harrison, J. A., M. A. Harrison, R. A. Rose-Morrow, and R. L. Shewfelt. 2001. "Home-Style Beef Jerky: Effect of Four Preparation Methods on Consumer Acceptability and

Pathogen Inactivation.” *Journal of Food Protection* 64 (8): 1194–1198. doi:10.4315/0362-028X-64.8.1194.

Herrera, Andrés, Benjamin J Espinosa, Gladys Nuñez, Nereyda Espinoza, Ryan C Maves, and Gregory J Martin. 2010. “The Effect of Preparation of Cebiche on the Survival of Enterotoxigenic *Escherichia Coli*, *Aeromonas Hydrophila*, and *Vibrio Parahaemolyticus*.” *Journal of Travel Medicine* 17 (6). England: 395–399. doi:10.1111/j.1708-8305.2010.00465.x.

Isohanni, P., T. Alter, P. Saris, and U. Lyhs. 2010. “Wines as Possible Meat Marinade Ingredients Possess Antimicrobial Potential against *Campylobacter*.” *Poultry Science* 89 (12). Elsevier: 2704–2710. doi:10.3382/ps.2009-00521.

Jemmi, Thomas, and Andreas Keusch. 1992. “Behavior of *Listeria monocytogenes* during Processing and Storage of Experimentally Contaminated Hot-Smoked Trout.” *International Journal of Food Microbiology* 15 (3–4): 339–346. doi:10.1016/0168-1605(92)90067-D.

Jofré, Anna, Teresa Aymerich, Narcís Grèbol, and Margarita Garriga. 2009. “Efficiency of High Hydrostatic Pressure at 600 MPa against Food-Borne Microorganisms by Challenge Tests on Convenience Meat Products.” *LWT - Food Science and Technology* 42 (5): 924–928. doi:10.1016/j.lwt.2008.12.001.

Kaakoush, Nadeem O., Natalia Castaño-Rodríguez, Hazel M. Mitchell, and Si Ming Man. 2015. “Global Epidemiology of *Campylobacter* Infection.” *Clinical Microbiology Reviews* 28 (3). American Society for Microbiology: 687–720. doi:10.1128/CMR.00006-15.

Kim, S. A., N. H. Kim, S. H. Lee, I. G. Hwang, and M. S. Rhee. 2014. “Survival of Foodborne Pathogenic Bacteria (*Bacillus Cereus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Enterica Serovar Typhimurium, *Staphylococcus Aureus*, and *Listeria monocytogenes*) and *Bacillus Cereus* Spores in Fermented Alcoholic Beverages (Beer and Refined Rice Wine).” *Journal of Food Protection* 77 (3): 419–426. doi:10.4315/0362-028X.JFP-13-234.

Kim, S. A., H. J. Park, S. H. Lee, I. G. Hwang, and M. S. Rhee. 2014. “Short Communication: Fate of Major Foodborne Pathogens and *Bacillus Cereus* Spores in Sterilized and Non-Sterilized Korean Turbid Rice Wine (Makgeolli).” *Food Control* 39 (1). Elsevier: 139–145. doi:10.1016/j.foodcont.2013.11.010.

Lopes, Stefani Machado, and Eduardo César Tondo. 2020. “Survival of *Salmonella* in Peruvian Pisco Sour Drink.” *Lwt* 117 (September 2019). Elsevier: 108608. doi:10.1016/j.lwt.2019.108608.

Lunde, K., B. Egelanddal, J. Choinski, M. Mielnik, A. Flåtten, and E. Kubberød. 2008. “Marinating as a Technology to Shift Sensory Thresholds in Ready-to-Eat Entire Male Pork Meat.” *Meat Science* 80 (4). Elsevier: 1264–1272. doi:10.1016/j.meatsci.2008.05.035.

Lytou, Anastasia E., Konstantinos Tzortzinis, Panagiotis N. Skandamis, George John E. Nychas, and Efstathios Z. Panagou. 2019. “Investigating the Influence of Organic

Acid Marinades, Storage Temperature and Time on the Survival/Inactivation Interface of *Salmonella* on Chicken Breast Fillets.” *International Journal of Food Microbiology* 299 (June). Elsevier B.V.: 47–57. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2019.03.019.

Marimón, J. M., L. Bujanda, M. A. Gutierrez-Stampa, A. Cosme, and J. I. Arenas. 1998. “Antibacterial Activity of Wine against *Salmonella* Enteritidis PH or Alcohol? [2].” *Journal of Clinical Gastroenterology* 27 (2): 179–180. doi:10.1097/00004836-199809000-00021.

Mata, L, M Vives, and G Vicente. 1994. “Extinction of *Vibrio Cholerae* in Acidic Substrata: Contaminated Fish Marinated with Lime Juice (Ceviche).” *Revista de Biología Tropical* 42 (3). Costa Rica: 479–485.

Mathur, Prateek, and Donald W. Schaffner. 2013. “Effect of Lime Juice on *Vibrio* Parahaemolyticus and *Salmonella* Enterica Inactivation during the Preparation of the Raw Fish Dish Ceviche.” *Journal of Food Protection* 76 (6): 1027–1030. doi:10.4315/0362-028X.JFP-12-526.

Mejlholm, Ole, Tina D. Devitt, and Paw Dalgaard. 2012. “Effect of Brine Marination on Survival and Growth of Spoilage and Pathogenic Bacteria during Processing and Subsequent Storage of Ready-to-Eat Shrimp (*Pandalus Borealis*).” *International Journal of Food Microbiology* 157 (1): 16–27. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2012.04.006.

Moon, Hyeree, Nam Hee Kim, Soon Han Kim, Younghoon Kim, Jee Hoon Ryu, and Min Suk Rhee. 2017. “Teriyaki Sauce with Carvacrol or Thymol Effectively Controls *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium, and Indigenous Flora in Marinated Beef and Marinade.” *Meat Science* 129 (July). Elsevier Ltd: 147–152. doi:10.1016/j.meatsci.2017.03.001.

Naidoo, Keshia, and Denise Lindsay. 2010. “Survival of *Listeria monocytogenes*, and Enterotoxin-Producing *Staphylococcus Aureus* and *Staphylococcus Pasteuri*, during Two Types of Biltong-Manufacturing Processes.” *Food Control* 21 (7). Elsevier Ltd: 1042–1050. doi:10.1016/j.foodcont.2009.12.025.

Nishibuchi, M., and A. DePaola. 2005. *Vibrio* Species - Foodborne Pathogens Microbiology and Molecular Biology. Edited by P.M. Fratamico, A.K. Bhunia, and J.L. Smith. Norfolk, UK.: Caister Academic Press.

Nisiotou, A., N. G. Chorianopoulos, A. Gounadaki, E. Z. Panagou, and G. J.E. Nychas. 2013. “Effect of Wine-Based Marinades on the Behavior of *Salmonella* Typhimurium and Background Flora in Beef Fillets.” *International Journal of Food Microbiology* 164 (2–3). Elsevier B.V.: 119–127. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2013.04.008.

Ozturk, Berna, and Ilkin Yucel Sengun. 2019. “Inactivation Effect of Marination Liquids Prepared with Koruk Juice and Dried Koruk Pomace on *Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* Inoculated on Meat.” *International Journal of Food Microbiology* 304 (September). Elsevier B.V.: 32–38. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2019.05.013.

Park, Na Yoon, Soo Hyeon Hong, and Ki Sun Yoon. 2014. “Effects of Commercial Marinade Seasoning and a Natural Blend of Cultured Sugar and Vinegar on

Campylobacter Jejuni and *Salmonella* Typhimurium and the Texture of Chicken Breasts.” Poultry Science 93 (3). Poultry Science Association Inc.: 719–727. doi:10.3382/ps.2013-03595.

Pathania, A, S R McKee, S F Bilgili, and M Singh. 2010. “Inhibition of Nalidixic Acid-Resistant *Salmonella* on Marinated Chicken Skin.” Journal of Food Protection 73 (11). United States: 2072–2078. doi:10.4315/0362-028x-73.11.2072.

Periago, Paula M., and Roy Moezelaar. 2001. “Combined Effect of Nisin and Carvacrol at Different PH and Temperature Levels on the Viability of Different Strains of *Bacillus Cereus*.” International Journal of Food Microbiology 68 (1–2). Elsevier: 141–148. doi:10.1016/S0168-1605(01)00461-5.

Rhee, Min Suk, Sun Young Lee, Richard H. Dougherty, and Dong Hyun Kang. 2003. “Antimicrobial Effects of Mustard Flour and Acetic Acid against *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella* Enterica Serovar Typhimurium.” Applied and Environmental Microbiology 69 (5): 2959–2963. doi:10.1128/AEM.69.5.2959-2963.2003.

Rhoades, J, C Kargiotou, E Katsanidis, and K P Koutsoumanis. 2013. “Use of Marination for Controlling *Salmonella* Enterica and *Listeria monocytogenes* in Raw Beef.” Food Microbiology 36 (2). England: 248–253. doi:10.1016/j.fm.2013.06.010.

Saliani, Mahsa, Razieh Jalal, and Elaheh Goharshadi. 2015. “Effects of PH and Temperature on Antibacterial Activity of Zinc Oxide Nanofluid Against *E. coli*O157:H7 and *Staphylococcus Aureus*.” Jundishapur Journal of Microbiology 8 (2). Kowsar Medical Institute. doi:10.5812/jjm.17115.

Scallan, Elaine, Robert M. Hoekstra, Frederick J. Angulo, Robert V. Tauxe, Marc Alain Widdowson, Sharon L. Roy, Jeffery L. Jones, and Patricia M. Griffin. 2011. “Foodborne Illness Acquired in the United States-Major Pathogens.” Emerging Infectious Diseases 17 (1). Emerg Infect Dis: 7–15. doi:10.3201/eid1701.P11101.

Scheinberg, Joshua A., Amanda L. Svoboda, and Catherine N. Cutter. 2014. “High-Pressure Processing and Boiling Water Treatments for Reducing *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella* Spp., and *Staphylococcus Aureus* during Beef Jerky Processing.” Food Control 39 (1): 105–110. doi:10.1016/j.foodcont.2013.11.002.

Sengun, Ilkin Yucel, Ezgi Goztepe, and Berna Ozturk. 2019. “Efficiency of Marination Liquids Prepared with Koruk (*Vitis Vinifera* L.) on Safety and Some Quality Attributes of Poultry Meat.” LWT 113 (October). Academic Press. doi:10.1016/j.lwt.2019.108317.

Shukla, Shruti, Laxmi Ahirwal, Vivek K Bajpai, Yun Suk Huh, and Young-Kyu Han. 2017. “Growth Inhibitory Effects of *Adhatoda Vasica* and Its Potential at Reducing *Listeria Monocytogenes* in Chicken Meat.” Frontiers in Microbiology 8: 1260. doi:10.3389/fmicb.2017.01260.

Thanissery, R., and D. P. Smith. 2014. “Marinade with Thyme and Orange Oils Reduces *Salmonella* Enteritidis and *Campylobacter Coli* on Inoculated Broiler Breast

Fillets and Whole Wings.” Poultry Science 93 (5). Poultry Science Association: 1258–1262. doi:10.3382/ps.2013-03697.

Tsegaye, Mekonnen, Eden Ephraim, and Mogessie Ashenafi. 2004. “Behaviour of *Escherichia coli* O157:H7 during the Fermentation of Datta and Awaze, Traditional Ethiopian Fermented Condiments, and during Product Storage at Ambient and Refrigeration Temperatures.” Food Microbiology 21 (6). Academic Press: 743–751. doi:10.1016/j.fm.2004.02.003.

Vaquero, M. J. Rodríguez, M. R. Alberto, and M. C. Manca de Nadra. 2007. “Antibacterial Effect of Phenolic Compounds from Different Wines.” Food Control 18 (2). Elsevier: 93–101. doi:10.1016/j.foodcont.2005.08.010.

Vasilijević, Bojana, Dragana Mitić-Ćulafić, Ilija Djekic, Tatjana Marković, Jelena Knežević-Vukčević, Igor Tomasevic, Branko Velebit, and Biljana Nikolić. 2019. “Antibacterial Effect of *Juniperus Communis* and *Satureja Montana* Essential Oils against *Listeria monocytogenes* in Vitro and in Wine Marinated Beef.” Food Control 100 (June). Elsevier Ltd: 247–256. doi:10.1016/j.foodcont.2019.01.025.

Vergara, A, A Ianieri, G Colavita, and A Paparella. 2003. “Behaviour of *Listeria monocytogenes* in Anchovies during Marination.” Veterinary Research Communications 27 Suppl 1 (September). Netherlands: 319–321. doi:10.1023/b:verc.0000014170.03343.9c.

Yang, Jian, Delores Lee, Shayna Afaisen, and Rama Gadi. 2013. “Inactivation by Lemon Juice of *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella* Enteritidis, and *Listeria monocytogenes* in Beef Marinating for the Ethnic Food Kelaguen.” International Journal of Food Microbiology 160 (3). Elsevier B.V.: 353–359. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2012.11.009.

Yoon, Yohan, Mehmet Calicioglu, Patricia A. Kendall, Gary C. Smith, and John N. Sofos. 2005. “Influence of Inoculum Level and Acidic Marination on Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 during Drying and Storage of Beef Jerky.” Food Microbiology 22 (5): 423–431. doi:10.1016/j.fm.2004.09.012.

Yoon, Yohan, Avik Mukherjee, Ifigenia Geornaras, Keith E. Belk, John A. Scanga, Gary C. Smith, and John N. Sofos. 2011. “Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 during Cooking of Non-Intact Beef Treated with Tenderization/Marination and Flavoring Ingredients.” Food Control 22 (12): 1859–1864. doi:10.1016/j.foodcont.2011.04.027.

Yusop, Salma M., Maurice G. O’Sullivan, John F. Kerry, and Joseph P. Kerry. 2010. “Effect of Marinating Time and Low PH on Marinade Performance and Sensory Acceptability of Poultry Meat.” Meat Science 85 (4). Elsevier: 657–663. doi:10.1016/j.meatsci.2010.03.020.

Zakarienė, Gintarė, Anita Rokaitytė, Sigita Ramonaitė, Aleksandr Novoslavskij, Kristina Mulkytė, Gintarė Zaborskienė, and Mindaugas Malakauskas. 2015. “The Antimicrobial Effect of Spice-Based Marinades against *Campylobacter Jejuni* on Contaminated Fresh Broiler Wings.” Journal of Food Science 80 (3). United States: M627-34. doi:10.1111/1750-3841.12788.

5 CAPÍTULO 4 – ARTIGO 3

Effect of alcoholic marinades on the *Salmonella* survival in raw cured chicken egg yolk
Stefani Machado Lopes, Danielle Carmo da Silva, Eduardo César Tondo

Article published in the International Journal of Gastronomy and Food Science

International Journal of Gastronomy and Food Science 32 (2023) 100717



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

International Journal of Gastronomy and Food Science

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijgfs



Effect of alcoholic marinades on the *Salmonella* survival in whole raw cured chicken egg yolk



Stefani Machado Lopes^{*}, Danielle Carmo da Silva, Eduardo César Tondo

Laboratório de Microbiologia e Controle de Alimentos, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (ICTA/UFRGS), Av. Bento Gonçalves 9.500, prédio 43212, Campus do Vale, Agronomia, CEP: 91501-970, Porto Alegre, RS, Brazil

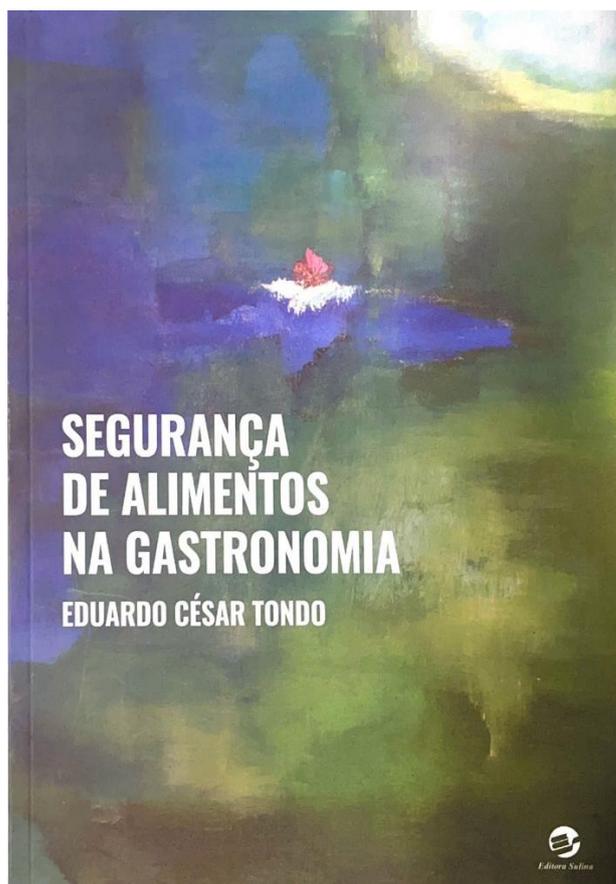
7 CAPÍTULO 6 – CAPÍTULO DE LIVRO

Ovos e Preparações com Ovos

Stefani Machado Lopes

Capítulo publicado no livro Segurança de Alimentos na Gastronomia

O capítulo está formatado de acordo com as especificações do livro.



Ovos e Preparações com Ovos

Os ovos e as suas preparações são amplamente consumidos ao redor do mundo, sendo uma das maravilhas da cozinha e da natureza. Nós, seres humanos, consumimos vários tipos de ovos, dentre eles os mais exóticos como de pinguins, aves silvestres, tartarugas e crocodilos e também os mais comuns como pombos, perus, e os de galinhas, protagonista desse capítulo por ser o mais consumido. Você sabia que atualmente um indivíduo consome em média 235 ovos de galinha ao ano?

O início da domesticação de galinhas ocorreu aproximadamente há 4.000 na Ásia. Acredita-se que foi através de Colombo, em sua segunda viagem, em 1493, que os primeiros galináceos, parentes das atuais galinhas poedeiras, chegaram nas Américas. A domesticação das galinhas contribuiu para o desenvolvimento e sobrevivência de civilizações, ocupando posições de destaque ao longo da história da domesticação de animais para alimentação. Inicialmente, a produção de ovos era feita nos quintais para o consumo próprio, e o excedente era vendido nos mercados locais. Após, alguns fazendeiros começaram a construir galpões para abrigar um maior número de galinhas, e foi a partir dos anos 60, com tecnologia e equipamentos mais avançados que a produção de ovos foi atingindo larga escala e tornando-se industrial. Com o passar dos anos, muitos investimentos foram realizados na produção de ovos, como melhoria na saúde das aves, alimentação balanceada e coleta automatizada, tornando o ovo mais nutritivo, uniforme e com custo baixo, sendo uma das melhores opções para consumo de proteínas.

A versatilidade dos ovos é a sua principal característica e o que o faz imprescindível na gastronomia. Os ovos podem assumir inúmeras formas e gerar diversas estruturas, atuando como emulsionantes, devido seu atributo de unir óleo e água, espumantes, através do seu poder de incorporar o ar, clarificantes em caldos, espessantes em cremes, entre muitas outras. Por essas diversas propriedades eles são muito utilizados como ingredientes juntamente com outros alimentos, entretanto, por si só já são incríveis, podendo ser fritos, cozidos, assados, conservados e fermentados.

Além das propriedades físicas, não menos importante é o sabor e os nutrientes que os ovos agregam às preparações. Um ovo de galinha inteiro cru contém aproximadamente 60 gramas de peso, 7,8 gramas de proteína, 5,4 gramas de lipídios,

0,96 gramas de carboidratos, além de nutrientes como folato, riboflavina, selênio, colina, vitaminas A, D, E, K e B12, e sais minerais, uma composição muito rica. Mesmo com todos esses nutrientes, a quantidade de colesterol presente nos ovos, cerca de 200 mg, preocupou órgãos de saúde e a população por muito tempo, devido a associação com o aumento do colesterol sanguíneo e o risco de cardiopatias. Após estudos, cientistas comprovaram a influência mínima do colesterol do ovo no colesterol sanguíneo, descartando o consumo de ovos como um problema de saúde, para a alegria dos consumidores. Entretanto, atualmente uma outra preocupação em relação a saúde assombra o consumo dos ovos: as doenças transmitidas por alimentos devido a contaminação por *Salmonella*.

Salmonella é um gênero de bactéria pertencente à família Enterobacteriaceae, apresenta forma de bastonetes gram-negativos, anaeróbias facultativas, não formam esporos e não fermentam a lactose. Essa bactéria é a responsável por ocasionar doenças alimentares relacionadas ao consumo de ovos e produtos derivados de ovos. A principal espécie associada aos surtos alimentares é a *S. enterica*, e os sorovares *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* são os mais relevantes. Quando o indivíduo consome os ovos contaminados, a doença que o acomete é denominada salmonelose, cujos sintomas para uma pessoa saudável são diarreia, vômitos, dores abdominais, dor de cabeça e às vezes febre, que costumam surgir entre seis e 72 horas após a ingestão do alimento. Entretanto, imunodeprimidos podem apresentar infecções mais severas devido à penetração da bactéria na corrente sanguínea que pode ocasionar a morte. Uma dose infectante típica para o desencadeamento da salmonelose é de aproximadamente 10^2 UFC.

Salmonella multiplica-se em uma longa faixa de temperatura entre 5,3 °C a 45 °C, mas a sua máxima multiplicação ocorre em temperaturas próximas a 37 °C. O pH ótimo de multiplicação encontra-se próximo a neutralidade (6,6 – 8,2), e a atividade de água (*aw*) mínima necessária está em torno de 0,95. Os humanos e os animais, principalmente as aves, são reservatórios dessa bactéria, e por isso os ovos são uma fonte de transmissão.

As aves acabam se contaminando com *Salmonella*, principalmente através da alimentação, por rações contaminadas, ou o contato com outros animais. A contaminação por *Salmonella* atinge os ovos através de duas rotas de transmissão, chamadas de vertical ou horizontal. A transmissão vertical da *Salmonella* ocorre

durante a formação do ovo, no interior do ovário ou durante a passagem pelos ovidutos das aves infectadas, antes mesmo que o conteúdo dos ovos seja coberto pela casca. A transmissão horizontal ocorre durante a oviposição, quando os ovos entram em contato com um ambiente externo contaminado, geralmente as fezes, e nesse caso a contaminação é na superfície da casca do ovo. Entretanto, as bactérias podem penetrar pela casca, e atingir a clara e a gema, dependendo das condições de armazenamento do ovo. Resumindo, devido as rotas de contaminação, *Salmonella* pode estar presente na gema, na clara, nas membranas da casca e na casca, mesmo que os ovos estejam intactos.

Uma vez dentro do ovo, a multiplicação da bactéria depende da temperatura e da localização que se encontra no interior dos ovos. Por exemplo, na gema e em temperatura ambiente, *Salmonella* pode se multiplicar em uma taxa bem alta atingindo 10^7 UFC/g, em menos de 24 horas. Essa multiplicação considerável ocorre especialmente devido às condições físico-químicas como pH, viscosidade e conteúdo nutricional da gema de ovo. Já, a clara de ovo não é um meio apropriado para a multiplicação. As condições físico-químicas, como deficiências nutricionais e pH alcalino próximo de 9,0, dificultam a multiplicação da bactéria. Além disso, moléculas antimicrobianas, como lisozima e ovotransferrina, podem desempenhar um papel importante na inibição da multiplicação. Embora a multiplicação seja inibida, essas características não são suficientes para inativar a *Salmonella*, que continua presente.

E como eu sei que o ovo que eu estou usando está contaminado com *Salmonella*? A resposta é que infelizmente não temos como saber apenas olhando ou cheirando o ovo, pois a presença de *Salmonella* não deixa vestígios e não altera as características sensoriais, como cor, textura, odor e sabor. Ou seja, a aparência do ovo geralmente não está relacionada a segurança dos alimentos, e sim devido a muitos fatores, entre eles:

- Presença de sangue: ruptura de pequenos vasos sanguíneos na gema no momento da ovulação ou deposição de tecido durante a formação do ovo na galinha;
- Clara de ovo turva: o ovo é extremamente fresco;
- Variação da coloração da gema: influenciada por pigmentos presentes na alimentação da galinha

- Anel verde-acinzentado na gema cozida: resultado do cozimento excessivo do ovo, causado por reações entre os compostos de enxofre e ferro na superfície da gema.

As variações abaixo indicam ovos estragados, esses ovos devem ser descartados:

- Clara de ovo verde: presença da bactéria *Pseudomonas*, que produz um pigmento esverdeado, fluorescente e solúvel em água;
- Manchas pretas ou verdes no interior do ovo: contaminação bacteriana ou fúngica;
- Odor desagradável em ovos crus ou cozidos: deterioração.

Devido a presença de *Salmonella* não causar alterações visuais, os ovos e produtos à base de ovos são os principais alimentos envolvidos nos surtos alimentares, geralmente quando utilizados crus ou pouco cozidos. Porém, para garantir um consumo seguro, podemos tomar algumas precauções e se atentar na elaboração de receitas que levam ovos.

1 COMPRANDO

Vamos iniciar pelo momento da compra. Compre sempre ovos de origem conhecida e inspecionados por serviços oficiais, ou seja, que contenham o selo de inspeção na caixa. Por serem inspecionados, esses ovos apresentam um menor risco de contaminação por *Salmonella*. Verifique o local em que os ovos estão expostos no mercado, que deve ser fresco e arejado. Abra a caixa com cuidado e certifique-se se os ovos estão inteiros, sem rachaduras e sem sujidades, e também a data de validade dos ovos. Para compra de ovos líquidos pasteurizados, verifique se estão expostos sob refrigeração, se a embalagem está intacta, se possui o selo de inspeção e a data de validade.

2 ARMAZENANDO

Após a compra, armazene os ovos imediatamente em uma geladeira limpa a uma temperatura de 5 °C ou menos. O armazenamento de ovos em temperatura refrigerada pode reduzir o risco de penetração e multiplicação de *Salmonella*.

Se possível, mantenha os ovos em sua embalagem original, ou transfira-os para recipientes limpos e higienizados. Fique atento a data de validade e evite manter os ovos na porta da geladeira, pois pode ocorrer rachaduras na casca do ovo, inviabilizando o uso.

Note que no item anterior, verificamos no mercado se os ovos estavam sem sujidades, mas caso ainda seja necessário, lave os ovos apenas imediatamente antes do uso. A lavagem com antecedência, aumenta as chances de penetração da *Salmonella* para o interior dos ovos.

Para os ovos pasteurizados, mantenha-os armazenados sob refrigeração e atente-se a data de validade após a abertura da embalagem, que costuma ser de poucos dias.

3 PREPARANDO

3.1 Molhos

3.1.1 Maionese

A maionese é uma emulsão de gotículas de óleo suspensas numa base de gema de ovo, sumo de limão ou vinagre, água, e às vezes, mostarda. Em regra, é densa e firme, não escorrendo da colher. É muito utilizada em pratos frios, como molho, em temperos, e geralmente depositada em hortaliças. Normalmente, contém 70–80% de gordura, pH entre 3,2-4,2, atividade de água 0,95 e entre 0,8% e 3,0% de ácido.

Enquanto a nível industrial a maionese é elaborada com ovos pasteurizados, o que garante sua segurança quanto a contaminação por *Salmonella*, a maionese elaborada em residências e restaurantes são tradicionalmente elaboradas com gemas de ovos cruas. Esse tipo de preparação aumenta consideravelmente o risco de contaminação por *Salmonella*.

Embora a utilização de ácidos como suco de limão e/ou vinagre sejam comumente associados pela população à redução de bactérias, quando adicionados a essa preparação não são suficientes para garantir a segurança.

Um estudo conduzido por McWhorter et al. (2021) verificou que a acidificação da maionese caseira e o armazenamento a 25 °C por 4 h reduziram significativamente as contagens de *Salmonella* Typhimurium e as bactérias recuperadas da maionese exibiram capacidade de invasão reduzida em células epiteliais intestinais sugerindo uma menor capacidade de causar doença. Entretanto, Malheiros (2008) demonstrou

a capacidade de adaptação de *Salmonella* em ambientes ácidos, tornando as bactérias ácido resistentes e mais virulentas. A variabilidade fenotípica entre as cepas e os sorotipos de *Salmonella* podem afetar a resposta frente a acidificação. O estresse ácido e a tolerância ao ácido variam entre as cepas de diferentes sorovares de *Salmonella* enterica e a adaptação ao ambiente também pode desencadear mudanças na tolerância ao estresse e a virulência.

Portanto, não temos como precisar quando que a *Salmonella* presente no ovo que estamos utilizando, irá perder sua viabilidade ou ficar mais resistente na elaboração da maionese caseira. Para a elaboração segura da maionese caseira é recomendado apenas a utilização de gemas totalmente cozidas ou então o uso de gemas líquidas pasteurizadas, que já são encontradas facilmente no supermercado.

3.1.2 Hollandaise e Béarnaise

Hollandaise e *Béarnaise* são molhos quentes clássicos feitos com manteiga e emulsionado por ovos, e possuem muitos pontos de semelhança com a maionese. A diferença entre o *hollandaise* e *béarnaise* estão principalmente nos temperos: o *hollandaise* é levemente aromatizado com sumo de limão, ao passo que o *béarnaise* é feito a partir de uma redução de vinho, vinagre, estragão e cebolinha. O grande segredo do preparo desses molhos está em aquecer as gemas suficiente para obter a consistência desejada, mas sem coagular as proteínas, o que ocorre a partir de 68 °C. Há ao menos 5 métodos diferentes de preparar os molhos *hollandaise* e *béarnaise*. A partir dos mesmos ingredientes, pode-se começar a emulsão com as gemas frias ou previamente aquecidas, e com a manteiga gelada ou morna. Rognså et al. (2014) avaliou como os métodos de preparação influenciam nas características sensoriais do molho *hollandaise*. Os resultados demonstraram grandes diferenças entre os métodos utilizados, com propriedades de textura e sensação na boca variando significativamente com as diferentes técnicas de preparação. Dentre os métodos testados por Rognså, na maioria, a mistura de gemas atinge aproximadamente 66-67 °C. Embora *Salmonella* possa ser inativada a 66 °C, geralmente é necessário um tempo de permanência nessa temperatura para que ocorra uma inativação completa. Entretanto, ainda não foram realizados estudos referentes à segurança dessa preparação, e, portanto, conforme legislações, recomenda-se a utilização de gemas pasteurizadas na elaboração desses molhos.

3.1.3 Carbonara

Spaghetti *alla carbonara* é um prato tradicional italiano o que inclui a combinação de macarrão com *pancetta*, queijo ralado, pimenta-do-reino e ovos crus batidos. Há muitas variantes desta receita como a quantidade de ovos usados para formar o molho, assim como o uso de ovos inteiros ou apenas gemas. Embora existam diferentes formas de preparar o molho *alla carbonara*, há um consenso em relação a textura perfeita do molho: os ovos misturados com queijo devem formar, por meio de um cozimento suave, um molho cremoso e sedoso e não a textura coagulada de ovos mexidos. Nas receitas mais tradicionais do espaguete *alla carbonara*, apenas as gemas são utilizadas, sendo batidas e misturadas com queijo ralado e pimenta. Esse molho é incorporado à massa recém cozida, escorrida e ainda quente, fora do fogo. Assim, o único processamento térmico recebido pelas gemas nesta receita é a transferência de calor da massa. Muitos acreditam que esse calor proveniente da massa é suficiente para a segurança desse preparo e a inativação da *Salmonella*. Lopes et al. (2020) demonstrou que o espaguete *alla carbonara* preparado dessa maneira e com ovos altamente contaminados, é capaz de reduzir 4,7 log₁₀ UFC/g de *Salmonella*, porém cerca de 4,0 log₁₀ UFC/g de *Salmonella* ainda permanecem viáveis. Com base nesses resultados, essa preparação pode não ser segura para os consumidores, ao menos que os ovos fiquem mais tempo ao fogo e coagulem. Portanto, para a segurança desta preparação, sem que ocorra alterações nas características desejáveis do molho cremoso de gema, é aconselhável a utilização de ovos pasteurizados.

3.2 Ovos cozidos

3.2.1 Ovos cozidos com casca

O tempo de cozimento de ovos com casca é determinado pela textura que se deseja obter. Ovos duros são firmes em todas as partes, tanto na clara quanto na gema. Um ovo duro bem preparado é sólido, mas macio e não borrachento. Em média essa textura se atinge com 10 a 15 minutos de cozimento em água levemente borbulhante. O ovo duro apresenta as proteínas completamente coaguladas e atinge no mínimo 70 °C em todas as partes, inativando completamente a *Salmonella*, e sendo considerada uma preparação segura.

Já os ovos quentes e moles, são cozidos por aproximadamente 3 a 5 minutos ou 5 a 6 minutos, respectivamente. Ovos quentes apresentam a camada exterior da clara quase sólida, a clara interior leitosa e a gema líquida e quente. Ovos moles possuem a gema semilíquida e a clara firme. Davis et al. (2008), investigou a sobrevivência de *Salmonella* Enteritidis e Heidelberg em ovos moles cozidos por 5 minutos, e verificou que quando contaminados com 3,5 log UFC/g, o cozimento por 5 minutos atingiu 63 °C e foi suficiente para inativar a *Salmonella*. Entretanto, De Paula et al. (2004), avaliou a redução de *Salmonella* em ovos moles altamente contaminados (7 log UFC/g) e não obteve reduções significativas. A segurança dos ovos cozidos em casca, depende de fatores como, tamanho, temperatura e tempo de cocção, e contaminação inicial dos ovos. Uma vez que não temos como identificar a contaminação inicial de *Salmonella*, o consumo de ovos quentes e moles preparados pelo método tradicional de cozimento, em água borbulhante, apresentam riscos à saúde, sendo proibida sua comercialização em serviços de alimentação.

Entretanto, ovos quentes e moles podem ser considerados seguros desde que preparados através do método de cocção prolongada em baixas temperaturas. Lopes et al. (2018) verificou a inativação completa de ovos moles altamente contaminados com *Salmonella* (7,7 log UFC/g) quando preparados em termocirculador de água, equipamento utilizado para preparações *sous vide*, a temperatura constante de 62 °C por 1 hora.

3.2.2 Ovos cozidos fora da casca

3.2.2.1 En cocote

Conhecido como *oeufs en cocotte* em francês (ovos na caçarola – tradução livre), este prato consiste em ovos colocados em um recipiente que pode ser ramequins, caçarolas, ou até mesmo em frutas e hortaliças, tradicionalmente cobertos com creme de leite, porém outros caldos e molhos também são utilizados, além da adição de ervas e outros ingredientes, e por fim levados ao cozimento. Os ovos *en cocotte* são preparados em banho-maria, em cocção lenta, geralmente em forno, mas também pode ser feito na boca do fogão. Livros de gastronomia, indicam tampar o recipiente e assar em banho-maria a 180°C por 6-8 minutos, nessas condições a gema apresenta aspecto fluido. Ainda não foram realizados estudos referentes a segurança dessa preparação.

3.2.2.2 Pochê

O ovo pochê é um ovo mole cozido fora de qualquer recipiente, que adquire uma película de proteínas coaguladas nos primeiros instantes de cozimento. É colocado cru em uma panela com água em fervura lenta, - ou de leite, creme de leite, vinho, caldo, sopa, molho ou manteiga -, é cozido por apenas 3 a 5 minutos até endurecer a clara, mas a gema permanece mole. Em seu livro *Comida & Cozinha*, Harold McGee indica que os ovos pochês feito dessa maneira, não recebe calor suficiente para eliminar a *Salmonella*. Um estudo conduzido por Davis et al. (2008) comprovou a insegurança desse método de cozimento. No estudo, os ovos pochês atingiram apenas 48,4 °C após 3 minutos de cozimento, havendo recuperação de *Salmonella* após o cozimento. Uma das alternativas para obter um ovo pochê seguro, de acordo com Harold McGee seria transferir o ovo pronto para outra panela grande e cheia de água a 65 °C por 15 minutos, monitorando para a temperatura da água não reduzir. Embora não foram realizados experimentos com binômio tempo e temperatura, o que Harold indica, pode estar correto uma vez que é similar ao que foi demonstrado em um estudo científico conduzido Lopes et al. (2018), porém realizado com ovos em casca e com a temperatura da água menor (62 °C), com base nesse estudo recomenda-se que o ovo pochê permaneça por pelo menos 30 minutos em água a 65 °C.

3.3 Ovos fritos

O ovo frito é colocado diretamente em uma panela aquecida com gordura. O aquecimento é somente por baixo, de modo que a clara e a gema demoram mais para coagular. Segundo livros de gastronomia, a temperatura ideal para obter um ovo frito macio e sem crosta, é em torno de 120 °C, que deve ser mantido por aproximadamente 1,5 – 2 minutos. Ao utilizar temperaturas mais altas o ovo pode adquirir uma textura mais crocante.

Quando frito apenas de um lado, o ovo geralmente apresenta a gema mole. Segundo estudos, o ovo frito com a gema mole, apresenta riscos à saúde dos consumidores, uma vez que não é possível inativar a contaminação por *Salmonella*. Davis et al. (2008), reproduziram esse método de fritura e verificaram que a parte central da gema atingiu apenas 58,9 °C ao final do processo e ainda havia a presença

de *Salmonella*. Tharrington et al. (2003) também concluíram que os ovos fritos elaborados por esse método não atingem uma temperatura interna segura dentro de um período de tempo aceitável. De Paula et al. (2004) verificaram que em os ovos fritos por 1,5, 2,0 e 2,5 min, permanecem aproximadamente 5,50 log₁₀ UFC/mL de *Salmonella*, quando altamente contaminados. O problema com esse método é que a parte superior do ovo nunca está em contato direto com uma fonte de calor, o que dificulta a redução da contaminação.

Para fritar/cozinhar a parte de cima, pode ser utilizado alguns métodos, dentre eles virar o ovo depois de mais ou menos 1 minuto, ou acrescentar uma colher de chá de água e tampar a frigideira, formando vapor e conseqüentemente coagulando a gema. Segundo o estudo conduzido por Davis et al. (2008), o método de após o cozimento por 1,5 minutos, virar o ovo e cozinhar a gema por 30 segundos, resultou em uma temperatura final de 82,5 °C no centro da gema e uma maior inativação de *Salmonella*. Por outro lado, no estudo conduzido por de Paula et al. (2004) as mesmas concentrações de *Salmonella* foram recuperadas de gemas moles fritas por 1,5 e 2,0 min e de gemas sólidas fritas por 2,5 min. Baker (1990) determinou que um cozimento total de 5 minutos (3 minutos com a gema para cima e após virado e cozido por mais 2 minutos) é capaz de inativar completamente a *Salmonella*. Estudos demonstram que há diferenças na redução de *Salmonella* durante o processamento de fritura de ovos, uma vez que diferentes cepas apresentam habilidades de sobrevivências distintas, assim como a contaminação inicial dos ovos. Para o consumo seguro de ovos fritos, é recomendado servir ovos com a gema sólida.

3.4 Ovos mexidos

Esses ovos são feitos de claras e gemas misturadas e podem incluir outros ingredientes como leite, creme de leite, manteiga e ervas. Para obter uma textura cremosa e úmida é feito lentamente em fogo baixo.

Baker (1990) afirmou que os ovos mexidos devem ser cozidos por 1 minuto para serem seguros. Entretanto no estudo conduzido por Davis et al. (2008), 2 min de cozimento não foram suficientes para inativar totalmente a contaminação por *Salmonella*, uma vez que não foi possível toda a massa de ovos entrar em contato com a fonte de calor por tempo suficiente para ser aquecida uniformemente. Segundo Tharrington et al. (2003) três minutos de cozimento durante a preparação de ovos

mexidos produzem ovos suavemente coagulados sem líquido visível e temperaturas finais de 74 - 80 °C, que podem ser consideradas seguras. Para essa preparação é indicado a utilização de ovos pasteurizados. Também é indicado o uso do termômetro para o acompanhamento da temperatura até atingir no mínimo 70 °C ou então a visualização de ovos totalmente coagulados, sem a presença de partes líquidas.

3.5 Omelete

Esses ovos são feitos de claras e gemas misturadas e frequentemente incluem outros ingredientes como leite, creme de leite, manteiga, ervas, hortaliças, verduras e carnes. Segundo, Harold McGee, uma omelete boa é cozida em menos de 1 minuto. Para outros autores, a omelete perfeita deve ser bastante macia no interior, porém firme e dourada no exterior. No geral, entre dois ou três ovos são suficientes para uma omelete. O procedimento tradicional, é colocar os ovos misturados em uma frigideira previamente aquecida. A mistura deve ser empurrada para o centro delicadamente com uma espátula até que a borda começa a solidificar, e então aguarda-se até que a parte de cima esteja ligeiramente líquida. Após a omelete é dobrada ao meio, juntando a parte superior uma na outra. Embora não haja estudos científicos relacionados à segurança dessa preparação, é indicado a utilização de ovos pasteurizados ou a visualização de ovos totalmente coagulados, sem a presença de partes líquidas, para um consumo seguro.

3.6 Merengues

Merengues são feitos simplesmente de açúcar, clara de ovos e pequenas quantidades de sais e ácidos adicionados como estabilizadores da espuma. São caracterizados por uma fase de ar predominante (> 80%), e essa característica depende da capacidade das proteínas da clara do ovo de formar espumas volumosas e estáveis. Geralmente os merengues são utilizados como decoração de bolos e confeitos, e também para ser incorporado em massas, mousses e cremes. Os merengues podem ser cozidos ou não cozidos. Os merengues não cozidos são os mais simples e comuns, entretanto apresentam grande risco como veículo de transmissão de *Salmonella*. Como citado anteriormente, embora a clara de ovo não seja um meio apropriado para a multiplicação de *Salmonella*, grandes quantidades da bactéria podem estar presentes, devido a uma alta carga de contaminação na gema.

Essa transferência de contaminação, foi observada durante experimentos, separando manualmente a clara da gema, de um ovo altamente contaminado na gema. Nesse caso, para a utilização segura de merengues não cozidos, é recomendado a utilização de claras pasteurizadas.

Os merengues cozidos são em geral mais densos e nem sempre conseguem atingir temperaturas suficientes para reduzir a contaminação por *Salmonella*. O merengue italiano é o merengue cozido em calda de açúcar, essa calda é aquecida até 115 – 120 °C e então derramada em fio nas claras batidas em ponto de pico firme. Ao entrar em contato com a vasilha, o batedor e o ar, o calor é perdido e a massa de espuma não atinge mais que 55-58 °C, que se mantem por pouco tempo e, portanto, é insuficiente para inativar grandes quantidades de *Salmonella*. Outro tipo de merengue cozido é o suíço, e para a sua produção, claras, ácidos e açúcar são aquecidos em banho-maria e batidos até formar uma mistura firme, após a vasilha é retirada do calor e a espuma continua sendo batida até esfriar. Segundo Harold McGee, essa mistura pode ser aquecida a 75-78 °C, sem perder a estabilidade. Schuman et al. (1997), também citou em suas pesquisas, que embora o aquecimento da clara exija um maior tempo de batimento para a formação do merengue, o sabor, textura e aparência são comparáveis aos elaborados com claras de ovos cruas.

3.7 Drinks alcoólicos com claras de ovos

Alguns drinks alcoólicos incluem claras de ovos em suas preparações. O uso da clara crua de ovo forma uma textura cremosa e espumosa obtida a partir da agitação vigorosa da bebida. Alguns exemplos, são os chamados “sours”, como pisco sour, whisky sour, brandy sour, entre outros. A utilização da clara por drink é geralmente baixa, cerca de 10 ml, e acredita-se que o álcool presente na bebida é capaz de inativar a contaminação por *Salmonella*. Lopes et al. (2020) verificou a inativação de *Salmonella* durante a preparação do drink pisco sour peruano quando utilizado claras de ovo altamente contaminadas e encontrou uma redução de ao menos 4,1 log₁₀ UFC/ml de *Salmonella* após 6 min de exposição ao pisco sour peruano, e maiores reduções em 9 min de exposição (6,1 log₁₀ UFC/ml). Foi concluído que quando utilizado claras cruas, a distribuição rápida dessa bebida pode não ser segura para os consumidores. Durante o experimento foi observado que não só o álcool foi o responsável pela inativação de *Salmonella*, como também a associação

ao baixo pH, devido a presença de suco de limão nesse drink, assim como os compostos fenólicos presentes no pisco. Portanto, é provável que cada tipo de drink *sour* tenha um comportamento na sobrevivência de *Salmonella*, não sendo possível generalizar um tempo de segurança, uma vez que ainda são necessários mais estudos que incluam outros tipos de drinks *sours*. Portanto, para promover a segurança dessa preparação, é indicado a utilização de claras pasteurizadas.

Durante todo o processo de preparo das receitas com ovos, atente-se para sempre limpar e higienizar, utensílios, equipamentos e superfícies com água, sabão e sanitizante depois que esses entrarem em contato com ovos crus e alimentos que contenham OVOS CRUS.

4 SERVINDO

Sirva ovos cozidos, fritos e alimentos que contenham ovos imediatamente após a preparação, se necessário mantenha-os aquecidos acima de 60 °C por até 6 horas, ou então mantenha-os refrigerados a temperaturas inferiores à 5 °C para consumo posterior, reaquecendo-os completamente a 70 °C antes de servir, no caso de preparações quentes.

5 TRANSPORTANDO

Para eventos externos dê preferência para a produção no local, caso necessário, armazene os ovos cozidos e os pratos com ovos em caixas térmicas refrigeradas ou com gelo e pacotes de gel congelados suficientes para mantê-los em temperaturas inferiores a 5 °C. Ao chegar ao local, transfira os produtos para um refrigerador, ou mantenha a caixa em um local fresco e à sombra, cuidando a manutenção da temperatura do produto no interior da caixa. Também pode ser feito o transporte dos produtos à quente, em caixas específicas para a manutenção térmica, superior a 60 °C.

6 RESUMO

Preparação	Cuidados
Maionese	

	Ovos inspecionados, íntegros e sem sujidades. Utilização apenas de gemas cozidas ou pasteurizadas.
<i>Hollandaise e Béarnaise</i>	Ovos inspecionados, íntegros e sem sujidades. Utilização de gemas pasteurizadas.
Carbonara	Ovos inspecionados, íntegros e sem sujidades. Utilização de gemas pasteurizadas
Ovo duro	Ovos inspecionados, íntegros e sem sujidades. Cozimento superior a 15 minutos em água fervente.
Ovo mole	Ovos inspecionados, íntegros e sem sujidades. Cozimento em termocirculador de água a temperatura constante acima de 62 °C por no mínimo 1 hora.
Ovo pochê	Ovos inspecionados, íntegros e sem sujidades. Após a elaboração tradicional do ovo pochê, manter o ovo em termocirculador de água a 65 °C por no mínimo 30 minutos.
Ovo frito	Ovos inspecionados, íntegros e sem sujidades. Fritar o ovo até a gema ficar completamente coagulada, virando-o para entrar em contato com a fonte de calor.
Ovo mexido	Ovos inspecionados, íntegros e sem sujidades. Utilização de ovos pasteurizados, ou aquecimento até 70 °C ou até a visualização de ovos totalmente coagulados, sem a presença de partes líquidas.
Omelete	

	Ovos inspecionados, íntegros e sem sujidades. Utilização de ovos pasteurizados, ou aquecimento até 70 °C ou até a visualização de ovos totalmente coagulados, sem a presença de partes líquidas.
Merengue	Ovos inspecionados, íntegros e sem sujidades. Utilização de claras pasteurizadas ou elaboração do merengue pelo método suíço com a mistura aquecida até 75°C.
Drinks alcoólicos com clara de ovo	Ovos inspecionados, íntegros e sem sujidades. Utilização de clara pasteurizada.

REFERÊNCIAS

- Baker R.C. (1990) Survival of *Salmonella* Enteritidis on and in shelled eggs, liquid eggs, and cooked egg products - Dairy Food Environ. Sanit., 10 (1990), pp. 273-275
- Davis A.L., Curtis P.A., Conner D.E., McKee S.R., Kerth L.K. (2008) Validation of Cooking Methods Using Shell Eggs Inoculated with *Salmonella* Serotypes Enteritidis and Heidelberg – Poultry Science (2008), 10.3382/ps.2007-00419
- De Paula C.M.D., Mariot R.F., Tondo E.C. (2005) Thermal Inactivation of *Salmonella* Enteritidis by Boiling and Frying Egg Methods – Journal of Food Safety (2005), <https://doi.org/10.1111/j.0149-6085.2005.25555.x>
- FDA (2016) Egg safety: What you need to know (2016) - www.fda.gov/educationresources/library - Accessed 12 Jul 2017
- FDA (2017) FDA. (2017). 2017 Food Code. USA.
- Lopes S.M., Batista A.C.F., Tondo E.C. (2018) *Salmonella* survival during soft-cooked eggs processing by temperature-controlled water circulator - Journal Food Control (2018), 10.1016/J.FOODCONT.2018.07.028
- Lopes S.M., Tondo E.C. (2020) Survival of *Salmonella* in Peruvian pisco sour drink – LWT (2020), 10.1016/j.lwt.2019.108608

Lopes S.M., Tondo E.C. (2020) Survival of *Salmonella* in spaghetti alla carbonara – LWT (2020), 10.1016/j.lwt.2020.109115

Malheiros P.S., Brandelli A., Noreña C.P.Z.; Tondo E.C. (2009) Acid And Thermal Resistance of a *Salmonella* Enteritidis Strain Involved in Several Foodborne Outbreaks - Journal of Food Safety (2009), 10.1111/J.1745-4565.2009.00158.X

McGee, Harold (2014) Comida e Cozinha: ciência e cultura da culinária – 2ª ed. – São Paulo: Editora WMF Martins Fontes, 2014.

McWhorter A.R, Kahn S., Sexton M., Moyle T.S, Chousalkara K.K. (2021) Acidification and extended storage at room temperature of mayonnaise reduce *Salmonella* Typhimurium virulence and viability – Food Research International (2021), 10.1016/j.foodres.2021.110117

McWhorter A.R, Sexton M., Chousalkara K.K. (2020) The effects of varied food acid ratios and egg components on *Salmonella* Typhimurium culturability from raw egg-based sauces - Food Microbiology (2020), 10.1016/j.fm.2020.103555

Nielsen L., Knøchel S. (2020) Inactivation of *Salmonella* strains in acidified broth and raw egg yolk as a function of pH and acid type - Food Microbiology (2020), 10.1016/j.fm.2020.103574

Rognså G.H., Rathe M., Paulsen M.T., Petersen M.A., Brüggemann D.A., Sivertsvik M., Risbo J. (2014), Preparation methods influence gastronomical outcome of hollandaise sauce - International Journal of Gastronomy and Food Science, 10.1016/j.ijgfs.2014.05.003

8 CAPÍTULO 7 – DISCUSSÃO GERAL

Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a sobrevivência de patógenos em preparações gastronômicas de origem animal, sendo elas: ovos curados, marinadas em carnes, ovos marinados e salmão *Gravlax*, uma vez que ainda restam dúvidas quanto à segurança dessas preparações.

No capítulo 2, foi investigado o comportamento de *Salmonella* spp. em ovos curados pelo método seco com sal e açúcar a 4,5 °C, por até 144 horas. A escolha da preparação de ovos curados para o estudo se deve ao fato de que ovos são ingredientes amplamente utilizados na gastronomia e quando não processados termicamente podem representar um risco potencial de contaminação por *Salmonella*. As gemas de ovos curadas são preparadas através de uma técnica tradicional de preservação de alimentos, na qual as gemas são submetidas a um processo de cura com sal e açúcar (ADAMANT, 2019; PRYLES, 2020). Essa técnica é conhecida por promover a inibição da multiplicação bacteriana e prolongar a vida de prateleira das gemas. A técnica de cura de gemas é tradicionalmente associada a países como Japão, China, Coreia e alguns países do sudeste asiático, entretanto, nos últimos anos, devido à valorização de ingredientes artesanais e técnicas tradicionais na gastronomia, sua popularidade tem se expandido. No contexto brasileiro, é possível observar a presença de gemas curadas em preparações culinárias mais contemporâneas e em restaurantes que exploram técnicas e ingredientes inovadores. A utilização das gemas curadas pode ser encontrada em pratos de alta gastronomia, em estabelecimentos que buscam oferecer uma experiência gastronômica única e também em receitas mais tradicionais, adaptadas com um toque de modernidade (AMERICA'S TEST KITCHEN, 2018; BAUMER, 2018; KOSTOW, 2015; PRYLES, 2020)

Uma das razões para a valorização dessa preparação na gastronomia é o sabor único e complexo que as gemas curadas adquirem. O processo de cura, no qual as gemas são imersas em uma mistura de sal e açúcar resultam em uma transformação sensorial significativa. As gemas curadas desenvolvem uma textura cremosa e firme, enquanto seu sabor se torna salgado e um pouco doce. Essas características tornam as gemas curadas um ingrediente versátil e apreciado em várias preparações culinárias. Além do sabor, as gemas curadas também têm sido valorizadas devido à

sua aparência visual atraente. A cura das gemas pode resultar em uma coloração com um tom amarelado ou marrom dourado, que adiciona um toque estético aos pratos em que são utilizados. Essa característica estética contribui para a valorização das gemas curadas em apresentações gastronômicas requintadas e sofisticadas, e, portanto, estimada por *Chefs* e apreciadores da culinária que buscam experiências gastronômicas e exploram ingredientes tradicionais de forma inovadora (AMERICA'S TEST KITCHEN, 2018; BAUMER, 2018; KOSTOW, 2015; PRYLES, 2020). Dessa forma, foi investigado o comportamento de *Salmonella* em gemas curadas, analisando a sobrevivência desse patógeno durante o processo de cura e a eficácia de diferentes tratamentos térmicos posteriormente aplicados.

Após a cura a 4,5 °C, por até 144 horas, foram testados dois tratamentos térmicos: 62 °C, por 30 minutos, em termocirculador de água com temperatura controlada e 80 °C, por 3 horas, em forno convencional. A utilização dessas diferentes temperaturas e tempos de tratamento visou verificar qual deles seria mais efetivo na redução da população de *Salmonella* nas gemas curadas, uma vez que apenas a utilização de sal e açúcar durante a cura não foi capaz de promover reduções significativas das contagens de *Salmonella*. O tratamento a 62 °C por 30 minutos no termocirculador de água foi escolhido como um processo de baixa temperatura, enquanto o tratamento a 80 °C por 3 horas no forno convencional representou um processo de alta temperatura. O processo a baixa temperatura, realizado em termocirculador de água, é conhecido como cocção *sous vide*. Nesse método, os alimentos são selados a vácuo, em embalagens plásticas impermeáveis, sendo então imersos em água com temperatura controlada, geralmente abaixo de 100 °C. Essa técnica permite cozinhar os alimentos de forma gradual e precisa, mantendo a umidade, a textura e os sabores originais. Além disso, a baixa temperatura prolongada pode contribuir para a inativação de microrganismos indesejáveis, como *Salmonella*, sem prejudicar a qualidade sensorial dos alimentos (BALDWIN, 2012). Por outro lado, o processo a alta temperatura em forno convencional é frequentemente utilizado para assar, grelhar e cozinhar alimentos em temperaturas mais elevadas, geralmente, superiores a 100 °C. Esse método geralmente proporciona um cozimento mais rápido e intenso, resultando em texturas e sabores diferentes dos obtidos com o processo *sous vide*. Nos últimos anos, foi possível observar uma tendência crescente de adoção dos tratamentos térmicos *sous vide* em restaurantes, devido aos benefícios que oferecem em termos de precisão, retenção de sabor e adequação de textura. O uso

do termocirculador de água permite um controle preciso da temperatura, o que é importante na preparação de alimentos sensíveis, como as gemas curadas (BALDWIN, 2012).

Os resultados microbiológicos obtidos no estudo indicaram que nenhum dos tratamentos promoveu a inativação completa de *Salmonella* (aproximadamente $8 \log_{10}$ UFC/g). No entanto, as populações de *Salmonella* foram significativamente reduzidas ($p \leq 0,05$) quando os processos térmicos foram aplicados, atingindo uma redução máxima de $5,6 \log_{10}$ UFC/g quando as gemas foram curadas por 2 horas e, posteriormente, tratadas em termocirculador de água com temperatura controlada (62°C por 30 minutos). Com base nos resultados, caso as gemas curadas forem preparadas com gemas de ovos altamente contaminadas por *Salmonella*, mesmo se associadas a tratamentos térmicos, podem não ser seguras para os consumidores. No entanto, se forem preparadas usando ovos com baixas quantidades de *Salmonella*, ou seja, 1 a $3 \log_{10}$ CFU/g, o que é uma situação mais realista quando os ovos são provenientes de indústrias de boa qualidade e são mantidos na cadeia de frio, a redução demonstrada neste estudo pode ser suficiente para eliminar completamente *Salmonella* e promover a segurança das gemas curadas. Portanto, é aconselhável o tempo de cura de 2 horas, seguido do processo em termocirculador de água com temperatura controlada, para melhorar a segurança das gemas curadas feitas a partir de ovos de alta qualidade.

No aspecto sensorial, as gemas curadas e posteriormente tratadas através do termocirculador mantiveram as propriedades físico-químicas semelhantes as gemas sem tratamento térmico, enquanto o tratamento em forno apresentou mudanças consideráveis na textura, atividade de água e coloração visual. A vantagem da utilização do termocirculador como tratamento térmico, além do ponto de vista microbiológico discutido anteriormente, está em não alterar sensorialmente as gemas, preservando as características desejadas em termos de textura e aparência. Esse processo permite o uso seguro de gemas curadas em diferentes pratos, sem comprometer a experiência sensorial do consumidor. Embora os termocirculadores sejam mais comumente encontrados em restaurantes de alta gastronomia e estabelecimentos especializados, é importante destacar que com a crescente popularidade da gastronomia moderna e o interesse dos *Chefs* por técnicas mais modernas de cocção, é cada vez mais comum encontrar termocirculadores em

restaurantes que buscam oferecer uma experiência culinária diferenciada, valorizando a precisão e o controle na preparação dos alimentos.

No capítulo 3, foi avaliado o estado atual do conhecimento sobre o efeito de marinadas em carnes frente a alguns dos principais patógenos alimentares. A partir de uma revisão sistemática da literatura, diferentes tipos de marinadas foram avaliadas, identificando seus ingredientes, concentrações, temperatura, tempo de marinada e seu efeito sobre cinco patógenos: *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* e *Vibrio*. A revisão bibliográfica sobre marinadas em produtos cárneos foi conduzida com o intuito de investigar os principais fatores que influenciam na eficácia da redução microbiológica, objetivando avaliar a possibilidade de aplicação desses conhecimentos em outras preparações, como gemas marinadas e salmão *Gravlax*, visando promover a segurança dessas preparações.

Os resultados demonstraram que a utilização de marinadas não apenas previne a multiplicação de patógenos bacterianos, mas também promove sua inativação. As maiores reduções encontradas em todos os estudos identificados foram de 4,4 log UFC/g para *Salmonella*, 4 log UFC/g para *E. coli*, 6 log UFC/g para *L. monocytogenes*, 6 log UFC/g para *Campylobacter* e 9 logs UFC/g para *Vibrio*. No entanto, de forma geral, as marinadas promovem reduções menores de patógenos, com aproximadamente 3 log UFC/g ou menos, exceto para *Vibrio* (reduções > 4 log UFC/g). Considerando que essas reduções podem não ser suficientes para eliminar completamente todos os patógenos presentes nas carnes, é muito importante o uso de carnes de alta qualidade provenientes de indústrias de boa qualidade. Além disso, visando à segurança de alimentos, sempre que possível, também é recomendado o uso de um tratamento térmico eficaz, antes do consumo de carnes marinadas. Um dos fatores que influenciam o efeito bacteriano das marinadas é a temperatura em que essa marinada é conduzida. De forma geral, a comparação entre temperatura de refrigeração (4 °C - 5 °C) e temperatura ambiente (20 °C - 25 °C) demonstraram que maiores reduções foram encontradas quando as marinadas foram realizadas em temperatura ambiente. Muitos estudos relataram o mesmo comportamento bacteriano em diferentes alimentos, inclusive o nosso estudo referente a gemas marinadas discutido no capítulo 4. Enquanto a 20 °C, as três marinadas alcoólicas utilizadas nas gemas curadas na proporção de 1:0,5, após 144 horas, apresentam reduções de 0,5 log₁₀ UFC/g, gemas armazenadas a 5 °C demonstraram reduções de 0,5 log₁₀ UFC/g, apenas na marinada alcoólica de brandy. Tanto o vinho quanto o mirim não

demonstraram reduções significativas nas gemas armazenadas a 5 °C. As maiores reduções microbianas obtidas em temperatura ambiente podem ser explicadas devido ao fato de que o metabolismo bacteriano é mais ativo em temperaturas mais altas, facilitando a entrada de compostos orgânicos nas células e resultando em efeito bactericida (EKLUND et al., 2004b; GROUNTA; NYCHAS; PANAGOUE, 2013; KIM et al., 2014b, 2014a; RHEE et al., 2003; TSEGAYE; EPHRAIM; ASHENAFI, 2004b).

O tempo de exposição das carnes às marinadas não foi um dos principais fatores que influenciaram a inativação de patógenos bacterianos, e esse fato parece estar associado a outros parâmetros da marinada, como pH e ingredientes. Nos estudos realizados na presente tese, o tempo avaliado das preparações esteve mais relacionado aos aspectos sensoriais obtidos durante o processo do que à ação frente aos patógenos.

No estudo de revisão, o pH da marinada foi um dos parâmetros mais importantes responsáveis pela inativação bacteriana, considerando todos os patógenos estudados. De forma geral, foram observadas maiores reduções em marinadas com pH < 4,5, independentemente dos ingredientes presentes na mesma e da matriz alimentar (BIRK; KNØCHEL, 2009; FISHER *et al.*, 2016; RHOADES *et al.*, 2013; VERGARA *et al.*, 2003; YOON *et al.*, 2005). O baixo pH é importante para manter os ácidos na forma não dissociada, e os ácidos orgânicos presentes na marinada exercem seu efeito antimicrobiano máximo nessa forma. Entretanto, foi possível observar que mesmo em pH mais elevado, obteve-se reduções expressivas quando foram utilizados extratos naturais e antibacterianos nas marinadas (MOON *et al.*, 2017; SENGUN; GOZTEPE; OZTURK, 2019; SHUKLA *et al.*, 2017). Essas reduções podem ser atribuídas aos teores de compostos fenólicos, flavonoides e alcaloides desses extratos (SHUKLA et al., 2017). Através da revisão foi possível identificar que o uso de vinho em marinadas é muito comum, porém os resultados frente a redução bacteriana variam. A eficácia do vinho variou de acordo com o patógeno inoculado e o tipo de vinho usado, o que pode estar associado ao conteúdo de compostos fenólicos específicos de cada vinho. Além disso, a matriz alimentar desempenhou um papel importante nas diferentes reduções obtidas pelas marinadas de vinho puro (BIRK; KNØCHEL, 2009). Devido a essas variações, foi testada uma marinada de vinho na preparação de gemas marinadas discutida no capítulo 4.

Na revisão bibliográfica sobre marinadas em carnes notou-se a falta de estudos de marinadas com o uso de bebidas com teor alcoólico elevado. De acordo com a literatura, o teor de álcool presente nas bebidas pode promover a inativação de patógenos e há uma correlação entre álcool e pH na sobrevivência das bactérias (GAGLIO et al., 2017; LOPES; TONDO, 2020; MARIMÓN et al., 1998). A partir dessa lacuna, foram testadas três bebidas com diferentes teores alcoólicos na preparação de gemas marinadas discutida no capítulo 4, e uma bebida alcoólica associada a suco de limão na preparação de salmão *Gravlax* discutida no capítulo 5.

No capítulo 4, foi investigado o comportamento de *Salmonella* spp. em gemas marinadas. Existem duas principais formas de preparar gemas curadas. No primeiro método, conforme discutido no capítulo 2, chamado de gema curada seca, a mistura de sal e açúcar gradualmente difunde-se na gema de ovo crua, e posteriormente, a gema pode ser processada termicamente. No segundo método, chamado de gema curada úmida, discutido neste capítulo, molho de soja e uma bebida alcoólica são misturados, e a gema de ovo crua é imersa nesse líquido, sem qualquer tratamento térmico. Esse último método também pode ser chamado de gemas marinadas e assim como as gemas curadas pelo método seco, são frequentemente preparadas em países asiáticos. No entanto, recentemente, devido à valorização de ingredientes artesanais e técnicas tradicionais na gastronomia, assim como a busca por novas experiências e sabores inovadores, outros países fora do continente asiático estão preparando essa receita, e substituindo a tradicional bebida alcoólica utilizada, o mirin, por bebidas alcoólicas regionais. No estudo anterior discutido no capítulo 2, foi avaliada a sobrevivência de *Salmonella* em gemas de ovo curadas a seco e a melhor redução ($5,6 \log_{10}$ UFC/g) foi alcançada quando as gemas foram curadas por 2 horas e posteriormente tratadas com um circulador de água com temperatura controlada (62 °C por 30 minutos), o que não promoveu a inativação completa do patógeno. Ademais, as gemas curadas sem tratamento térmico não demonstraram reduções significativas de *Salmonella*, independentemente do tempo de cura (LOPES; DA SILVA; TONDO, 2020). A partir dos resultados obtidos no estudo de gemas curadas a seco, juntamente com as informações obtidas na revisão de marinadas, foi desenhado o experimento de gemas marinadas, avaliando o efeito de marinadas com diferentes teores alcoólicos, tempos e temperaturas de preparo, na sobrevivência de *Salmonella*. Esse estudo objetivou avaliar a ocorrência de maiores reduções microbianas do que as encontradas pelo método seco sem tratamento térmico.

Foram avaliadas marinadas alcoólicas, preparadas com a base de molho shoyo mais uma das seguintes bebida alcoólicas: vinho, saquê mirin ou cachaça em diferentes proporções (1:0,5 e 1:1), tempos (por 2, 24, 72 e 144 horas) e temperaturas (5 °C e 20 °C). Os resultados demonstram que as marinadas foram capazes de promover pequenas reduções de *Salmonella*. As maiores reduções (1,5 log₁₀ UFC/g) foram observadas quando utilizada a marinada molho de soja + bebida alcoólica na proporção 1:1 e armazenamento a 5 °C (independe da bebida alcoólica utilizada). Os resultados obtidos neste estudo demonstraram que para obter uma redução significativa de *Salmonella* na produção de gemas marinadas, é importante uma marinada com alto teor alcoólico (>5,3% vol. de álcool). Neste estudo, a combinação de molho de soja + brandy promoveu reduções em determinados tempos de marinada em todos os cenários de proporção e temperatura avaliados. Ao comparar as receitas de gemas de ovo curadas pelos métodos úmido e seco, sem tratamento térmico, pôde-se observar que o método úmido promoveu reduções significativas de *Salmonella*, enquanto o método seco não (LOPES; DA SILVA; TONDO, 2020). No entanto, as reduções obtidas não foram suficientes para promover uma inativação completa da população de *Salmonella*. As células viáveis remanescentes podem ser explicadas devido à dificuldade de penetração e difusão homogêneas das marinadas por toda a gema do ovo, o que limita a ação dos compostos da marinada sobre as bactérias. No aspecto sensorial, a diferença visual e sensorial entre gemas curadas pelo método seco e as gemas curadas pelo método úmido, foi notável. No método seco, o processo resulta em gemas com uma textura mais firme e uma coloração amarelada intensa. As gemas curadas pelo método seco tenderam a ter um sabor mais concentrado e salgado, com um leve toque adocicado proveniente do açúcar utilizado na cura. Já no método úmido, resultaram em uma gema com textura mais cremosa e macia. Além disso, a marinada conferiu um sabor característico, com notas salgadas, umami e um toque sutil do álcool utilizado. Em termos de aparência, as gemas curadas pelo método seco tiveram uma superfície seca e firme, enquanto as gemas curadas pelo método úmido apresentaram uma aparência mais brilhante e suave devido à absorção da marinada líquida. A cor das gemas curadas pelo método úmido pode variar dependendo da marinada utilizada, podendo apresentar tons mais escuros ou acobreados. No que diz respeito à experiência sensorial, as gemas curadas pelo método seco ofereceram uma textura mais sólida, adequadas para serem raladas ou desintegradas sobre os pratos. Por outro lado, as gemas curadas pelo método úmido

demonstraram textura mais cremosa, sendo mais adequada como complemento em diferentes pratos. Com base nesses apontamentos, foi possível identificar que apenas os resultados microbiológicos não foram suficientes para determinar qual o método mais adequado para ser seguido pelos *Chefs*, uma vez que existem diferenças significativas nos aspectos sensoriais de cada uma das preparações. Gemas marinadas preparadas com gemas de ovos contaminadas por *Salmonella*, mesmo em baixas quantidades (1 a 3 log₁₀ UFC/g) podem não ser seguras para o consumo. Portanto, é recomendável o uso de ovos inteiros pasteurizados para melhorar a segurança das gemas de ovo curadas pelo método úmido.

No capítulo 5, foi investigado o comportamento de *L. monocytogenes* na preparação de salmão *Gravlax*, a qual é uma preparação tradicional nos países escandinavos, como Suécia, Noruega e Dinamarca. No Brasil, é possível encontrar o Salmão *Gravlax* em diversos restaurantes especializados em culinária internacional ou contemporânea, principalmente em áreas urbanas e regiões com maior diversidade gastronômica. O Salmão *Gravlax* geralmente é preparado através do processo de cura de peixe cru com uma mistura de sal, açúcar, pimenta preta e endro, em refrigeração, por 3 dias. O processo pode ser utilizado com diferentes tipos de peixe, sendo o salmão um dos mais tradicionais. O uso de sal e açúcar reduz a atividade de água, inibindo a multiplicação microbiológica e protegendo contra reações oxidativas de lipídios e proteínas. Isso, por sua vez, contribui para o sabor do alimento, cria uma textura mais densa e desestrutura a proteína do salmão. O salmão pode ser contaminado por diversos microrganismos patogênicos provenientes do ambiente, sendo *L. monocytogenes* provavelmente o mais significativo, devido à gravidade das infecções e à alta proporção de casos fatais (15-30%) (CDC, 2022). Embora os níveis de contaminação de *L. monocytogenes* em preparações de salmão cru sejam geralmente baixos (<100 UFC/g), níveis mais elevados de contaminação podem ser atingidos durante o armazenamento devido à capacidade das bactérias de sobreviver e se multiplicar em condições desfavoráveis, incluindo uma ampla faixa de temperaturas, pH e atividade de água. Para reduzir o risco de infecção por *L. monocytogenes*, o uso de tratamento térmico geralmente é indicado, no entanto, esse processo não é utilizado na preparação de salmão *Gravlax*. Com base nos resultados obtidos no artigo de revisão de marinadas discutida no capítulo 3, identificou-se que a preparação salmão *Gravlax* poderia promover reduções na contaminação de *L. monocytogenes*, devido a presença da bebida alcoólica além da presença de ervas e

especiarias que contêm óleos essenciais e compostos fenólicos que podem apresentar potencial de inibição e redução de patógenos. Portanto, foram analisadas duas versões de receita: sem e com bebida alcoólica (conhaque), armazenados a 4,5 °C por 3 dias de cura e 5 dias de armazenamento, após o preparo. O processo foi realizado de acordo com o descrito no conceituado livro de culinária do Instituto Americano de Culinária (2017).

Os resultados desse estudo demonstraram que a população de *L. monocytogenes* foi reduzida em aproximadamente 1 log₁₀ UFC/g em ambas receitas, indicando que o uso de álcool não promoveu maior redução bacteriana. A redução de 1 log₁₀ UFC/g aparentou estar relacionada à etapa de lavagem do salmão, após o tempo de cura. Essa etapa é essencial para a elaboração do preparo, uma vez que retira o açúcar e o sal utilizados em excesso durante a preparação. Estudos têm mostrado reduções semelhantes, após a etapa de lavagem de outros alimentos (HAN *et al.*, 2001; KUAN *et al.*, 2020; PEIRIS *et al.*, 2009). Após 5 dias de armazenamento a 4,5 °C, as contagens de *L. monocytogenes* permaneceram inalteradas, provavelmente devido a A_w reduzida (0,93) atrelada aos possíveis compostos orgânicos transferidos pelos ingredientes durante a preparação. Embora os níveis de contaminação no salmão cru sejam geralmente baixos (<100 UFC/g) (BEAUFORT *et al.*, 2007), especialmente quando o salmão provém de indústrias de boa qualidade e é mantido numa cadeia de frio ininterrupta, a redução demonstrada neste estudo é insuficiente para garantir a eliminação de *L. monocytogenes* e promover a segurança do *Salmão Gravlox*. Além disso, esses baixos níveis podem exceder 100 UFC/g durante o armazenamento ou processamento, aumentando o risco de contaminação (MIDELET-BOURDIN; LELEU; MALLE, 2007). Portanto, os resultados deste estudo indicam que a preparação de *Salmão Gravlox* usando receitas tradicionais apresenta um risco aos consumidores.

Em relação aos aspectos sensoriais, a utilização do álcool na preparação não promoveu alterações significativas na A_w e na cor do salmão *Gravlox*, provavelmente devido à pequena proporção de bebida alcoólica que foi utilizada na receita. A adição de quantidades maiores de conhaque ao processo de cura do salmão pode influenciar no desequilíbrio sensorial da preparação. O conhaque possui uma variedade de compostos voláteis que podem contribuir com aromas frutados, amadeirados, caramelos, entre outros, trazendo notas sutis e complexas ao sabor final do *Gravlox* (YUAN *et al.*, 2023). Esses aromas se mesclam harmoniosamente aos outros

ingredientes, adicionando camadas de sabor e um toque sofisticado ao *Gravlax* nas proporções usualmente descritas nas receitas culinárias.

No capítulo 6, foi avaliado e descrito o estado atual do conhecimento da utilização e segurança de ovos e preparações com ovos na gastronomia. Foram abordadas informações referentes ao amplo consumo de ovos e suas preparações, destacando dentre os diferentes tipos de ovos consumidos, os de galinha. O capítulo enfatizou a versatilidade dos ovos na gastronomia, descrevendo suas propriedades físicas e químicas, bem como diversas formas de preparo, com foco para a preocupação atual em relação à contaminação dos ovos por *Salmonella*. O capítulo descreveu as características do microrganismo, as condições ideais para a multiplicação da bactéria, tanto dentro como na superfície dos ovos, abordando as rotas de contaminação dos ovos, vertical e horizontal, e destacando que a presença de *Salmonella* não pode ser identificada apenas pela aparência ou odor dos ovos. Após uma revisão sobre a bactéria, o capítulo abordou, com base em artigos científicos, as precauções e cuidados na compra, manipulação e preparo de receitas com ovos, a fim de garantir a segurança dos alimentos. No momento da compra, o capítulo recomendou a adquirir ovos de origem conhecida e inspecionados por serviços oficiais, verificando se possuem o selo de inspeção na caixa e se os ovos estão inteiros, sem rachaduras ou sujidades, assim como se estão armazenados refrigerados ou em lugar fresco e ventilado. No caso da compra de ovos líquidos pasteurizados, o capítulo indicou que é necessário garantir que estejam refrigerados, com embalagem intacta, selo de inspeção e data de validade adequada. Após a compra, o capítulo sugeriu que os ovos devam ser armazenados imediatamente em uma geladeira limpa, a uma temperatura de 5°C ou menos, sendo recomendado mantê-los na embalagem original ou transferi-los para recipientes limpos. Como discutido nos capítulos anteriores, ovos provenientes de indústrias de boa qualidade e mantidos em cadeia de frio possuem menores probabilidades de estarem contaminados com altas contagens de *Salmonella*, o que pode contribuir para uma possível inativação completa do microrganismo em preparações submetidas a tratamentos térmicos menores que 70 °C.

Na sequência, o capítulo abordou diferentes preparações com ovos com ênfase na preocupação com a contaminação por *Salmonella* ao utilizar ovos crus ou mal cozidos. Foram mencionados os molhos maionese, *hollandaise*, *béarnaise* e *carbonara*, os métodos de preparo de ovos cozidos, fritos, mexidos e omeletes, além

de merengues e os *drinks* alcoólicos que utilizam claras de ovos. Em resumo, dependendo da receita, o capítulo recomendou a utilização de temperaturas acima de 62 °C por 1 hora, ou 70 °C por alguns segundos, ou a visualização de ovos totalmente coagulados, ou o uso de ovos pasteurizados, para que seja garantida a segurança de alimentos nas receitas. Por fim, o capítulo destacou a importância de higienizar utensílios e superfícies que entrem em contato com ovos crus e a importância da manutenção da temperatura adequada ao servir e transportar ovos, com o intuito de evitar a contaminação e multiplicação de *Salmonella*.

9 CAPÍTULO 8 – CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os modos de preparo para o processo de cura de gemas de ovos crus, utilizando o método seco foram encontrados por meio da busca por receitas em *sites* de gastronomia na *internet*. Foram identificadas algumas variações nas proporções de sal e açúcar, no entanto, a proporção mais comumente mencionada foi de 1,5 parte de açúcar para 1 parte de sal. Além das diferenças nas proporções de sal e açúcar, as receitas apresentaram variações nos tempos de cura, que variaram de 2 a 144 horas, dependendo da característica sensorial desejada. Algumas receitas mencionaram a utilização de tratamento térmico, sendo o método mais comumente citado aquele que recomenda o uso do forno em baixa temperatura. Os métodos de preparo para o processo de cura de gemas de ovos crus, utilizando o método úmido também foram identificados em *sites* de gastronomia na *internet*. Foram encontradas variações nos ingredientes e proporções utilizados na receita, no entanto, a proporção mais comumente mencionada foi de 1 parte de molho de soja para 0,5 parte de bebida alcoólica, geralmente combinando molho de soja com saquê mirim. Assim como no método de cura seca, as receitas apresentaram diferenças nos tempos de cura, dependendo da característica sensorial desejada. No entanto, nenhuma das receitas encontradas mencionou o uso de tratamento térmico. O método de preparo para a elaboração do salmão *Gravlax* foi encontrado no livro de receitas do renomado Instituto Americano de Culinária. A receita menciona a adição de ingredientes como suco de limão, conhaque, sal, açúcar mascavo, pimenta-preta e endro ao salmão, que posteriormente é envolto em um pedaço de musselina, pressionado e armazenado a 4,5 °C, por 2 a 3 dias.

O processo de cura de gemas de ovos cruas, através do método seco mencionado em receitas *online*, com utilização de apenas sal e açúcar sem posterior tratamento térmico não promoveu redução de *Salmonella*. Gemas curadas por 2 horas e tratadas termicamente em termocirculador de água, a temperatura constante de 62 °C, por 30 minutos, apresentaram redução máxima de 5,6 log₁₀ UFC/g. Por outro lado, o processo de cura de gemas de ovos cruas, através do método úmido mencionado em receitas *online*, com utilização de marinadas, apresentou reduções de 1,5 log₁₀ UFC/g, quando as gemas foram imersas em marinada de molho de soja

+ bebida alcoólica, na proporção 1:1 e armazenamento a 5 °C, sem posterior tratamento térmico.

O processo de elaboração do salmão *Gravlax*, executado conforme descrito no livro do Instituto Americano de Culinária, reduziu aproximadamente 1 log₁₀ UFC/g de *L. monocytogenes*. A revisão da literatura sobre o efeito de marinadas em carnes frente aos principais patógenos alimentares demonstrou que geralmente o uso de marinadas é capaz de reduzir até 3 log CFU/g de patógenos.

O capítulo sobre a segurança de ovos, destacou que o principal perigo relacionado aos ovos é *Salmonella*, que exige cuidados na aquisição, manipulação e preparação dos ovos. Durante a compra, é importante escolher ovos inspecionados, verificando a presença de selo de inspeção e a integridade dos ovos. O armazenamento refrigerado e adequado também é importante para evitar a multiplicação de *Salmonella*. Preparações que geralmente envolvem ovos crus ou mal cozidos requerem cuidados maiores. Para garantir uma preparação segura, recomenda-se atingir temperaturas de 62 °C, por 1 hora, ou 70 °C por alguns segundos ou coagulação completa. Ovos pasteurizados também são uma opção segura para prevenir a contaminação por *Salmonella*.

As três preparações testadas apresentaram mudanças significativas na A_w , cor e textura frente aos produtos *in natura*. A diminuição da A_w conferiu a textura desejada nas três receitas testadas e influenciou no comportamento microbiológico avaliado. A eficácia do tratamento térmico realizado, após o método seco na obtenção das gemas curadas, foi dificultada pela baixa A_w das gemas curadas, por mais de 24 horas. A redução da atividade de água obtida após a produção do salmão *Gravlax* impediu a multiplicação de *L. monocytogenes*, durante o armazenamento por até 5 dias em temperatura de refrigeração.

Das três preparações avaliadas em laboratório, nenhuma pôde ser considerada segura quando utilizado produtos de origem animal altamente contaminados. Para promover a segurança das gemas curadas é aconselhável o uso de ovos termoprocessados. Na preparação de gema curada marinada, a alteração testada através do aumento na proporção de bebida alcoólica não foi capaz de promover a inativação completa de *Salmonella*. Na preparação e salmão *Gravlax*, considerando que *L. monocytogenes* é um patógeno de alto risco com uma significativa taxa de

mortalidade, e a completa ausência no salmão não pode ser garantida, os resultados deste estudo sugerem fortemente que medidas preventivas adicionais durante essa preparação são feitas para controlar *L. monocytogenes*. Os resultados deste estudo podem ser utilizados por serviços de alimentação que trabalham com gastronomia, a fim de promover modos seguros de preparação de receitas envolvendo produtos de origem animal.

REFERÊNCIAS

- ADAMANT, A. **Salt Cured Egg Yolks**. [S. l.], 2019. Available at: <https://practicalselfreliance.com/salt-cured-egg-yolks/>. Acesso em: 12 ago. 2020.
- AGUILERA, J. M. The emergence of gastronomic engineering. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [s. l.], v. 41, p. 277–283, 2017. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.03.017>
- AITKEN, P. **Kitchen Myths - Facts and Fiction About Food and Cooking**. [S. l.]: Piedmont Medical Writers LLC, 2013.
- AMERICA'S TEST KITCHEN. **Salted egg yolks recipe | BBC Good Food**. [S. l.], 2018. Available at: <https://www.bbcgoodfood.com/recipes/salted-egg-yolks>. Acesso em: 12 ago. 2020.
- AUVOLAT, A.; BESSE, N. G. The challenge of enumerating *Listeria monocytogenes* in food. **Food Microbiology**, [s. l.], v. 53, n. Pt B, p. 135–149, 2016. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.09.003>. Acesso em: 29 abr. 2019.
- BALDWIN, D. E. Sous vide cooking: A review. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, [s. l.], v. 1, n. 1, p. 15–30, 2012. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2011.11.002>
- BARHAM, P. *et al.* Molecular gastronomy: a new emerging scientific discipline. **Chemical reviews**, [s. l.], v. 110, n. 4, p. 2313–2365, 2010. Available at: <https://doi.org/10.1021/cr900105w>. Acesso em: 30 maio 2017.
- BAUMER, O. **Gema Curada - Um Upload no Ovo** |. [S. l.], 2018. Available at: <https://obagastronomia.com.br/gema-curada-um-upload-no-ovo/>. Acesso em: 12 ago. 2020.
- BEAUFORT, A. *et al.* Prevalence and growth of *Listeria monocytogenes* in naturally contaminated cold-smoked salmon. **Letters in Applied Microbiology**, [s. l.], v. 44, n. 4, p. 406–411, 2007. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2006.02096.x>
- BIRK, T. *et al.* Effect of organic acids and marination ingredients on the survival of *Campylobacter jejuni* on meat. **Journal of food protection**, United States, v. 73, n. 2, p. 258–265, 2010. Available at: <https://doi.org/10.4315/0362-028x-73.2.258>
- BIRK, T.; KNØCHEL, S. Fate of food-associated bacteria in pork as affected by marinade, temperature, and ultrasound. **Journal of food protection**, United States, v. 72, n. 3, p. 549–555, 2009. Available at: <https://doi.org/10.4315/0362-028x-72.3.549>
- BRASIL. **Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação**. Brasil: [s. n.], 2004.
- BRASIL. **Surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar no Brasil**. [S. l.: s. n.], 2022.

- CASSI, D. Science and cooking: the era of molecular cuisine. **EMBO reports**, [s. l.], v. 12, n. 3, p. 191–196, 2011. Available at: <https://doi.org/10.1038/embor.2011.18>
- CDC. Preliminary Incidence and Trends of Infections Caused by Pathogens Transmitted Commonly Through Food — Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. Sites, 2016–2021. **MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report**, [s. l.], v. 71, n. 40, p. 1260–1264, 2022. Available at: <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm7140a2>
- CIA. **Our Story**. [S. l.], 2019. Available at: <https://www.ciachef.edu/our-story/>. Acesso em: 10 jan. 2019.
- CODEX ALIMENTARIUS. **GENERAL PRINCIPLES OF FOOD HYGIENE CXC 1-1969**. [S. l.: s. n.], 2020.
- COTTERILL, O. J.; GLAUERT, J. Thermal resistance of salmonellae in egg yolk containing 10 percent sugar or salt after storage at various temperatures. **Poultry science**, [s. l.], v. 50, n. 1, p. 109–115, 1971. Available at: <https://doi.org/10.3382/ps.0500109>
- DOMINGUEZ-HERNANDEZ, E.; SALASEVICIENE, A.; ERTBJERG, P. Low-temperature long-time cooking of meat: Eating quality and underlying mechanisms. **Meat Science**, [s. l.], v. 143, p. 104–113, 2018. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.04.032>
- DOYLE, M. E.; MAZZOTTA, A. S. Review of Studies on the Thermal Resistance of Salmonellae. [s. l.], v. 63, n. 6, p. 779–795, 2000.
- EFSA. **Story map on foodborne outbreaks**. [S. l.: s. n.], 2022. Available at: <https://storymaps.arcgis.com/stories/ca42d02e580441b79fd46a427abaab> Title.
- EFSA. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. **EFSA Journal**, [s. l.], v. 16, n. 12, 2018. Available at: <https://doi.org/10.2903/J.EFSA.2018.5500>. Acesso em: 25 abr. 2019.
- ERICSSON, H.; STILHANDSKE, P. Short communication PCR detection of *Listeria monocytogenes* trout in 'gravad' rainbow. **International Journal of Food Microbiology**, [s. l.], v. 35, p. 281–285, 1997.
- FDA, 2022. FDA, 2022. **FDA, 2022. Food Code, US Public health service.**, [s. l.], v. 5, n. 3, p. 248–253, 2022. Available at: <https://www.fda.gov/food/fda-food-code/food-code-2022>
- FENG, P.; WEAGANT, D. S.; JINNEMAN, K. **BAM: Diarrheagenic Escherichia coli**. [S. l.], 2018. Available at: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-diarrheagenic-escherichia-coli>. Acesso em: 29 abr. 2019.
- FERGUSON, P. P. ferguson.pdf. **American Journal of Sociology**, [s. l.], v. 104, n. 3, p. 597–641, 1998.
- FISHER, K. D. *et al.* Evaluation of a novel antimicrobial solution and its potential for control *Escherichia coli* O157: H7, non-O157: H7 shiga toxin-producing *E. coli*, *Salmonella* spp., and *Listeria monocytogenes* on beef. **Food Control**, [s. l.], v. 64, p. 196–201, 2016. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.12.007>

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2a.ed. Porto Alegre: ArtMed, 2013.

FREIXA, D.; CHAVES, G. **Gastronomia no Brasil e no Mundo**. Senac Sãoed. São Paulo: [s. n.], 2017.

GANDHI, M.; CHIKINDAS, M. L. Listeria: A foodborne pathogen that knows how to survive. **International Journal of Food Microbiology**, [s. l.], v. 113, n. 1, p. 1–15, 2007. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2006.07.008>. Acesso em: 29 abr. 2019.

GODOY, P. *et al.* Food poisoning outbreak due to the consumption of spaghetti a la carbonara caused by Salmonella enteritidis. **Enfermedades Infecciosas y Microbiologia Clínica**, [s. l.], v. 18, n. 6, p. 257–261, 2000. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11075480>. Acesso em: 1 nov. 2018.

HAN, Y. *et al.* Reduction of Listeria monocytogenes on green peppers (*Capsicum annuum* L.) by gaseous and aqueous chlorine dioxide and water washing and its growth at 7°C. **Journal of Food Protection**, [s. l.], v. 64, n. 11, p. 1730–1738, 2001. Available at: <https://doi.org/10.4315/0362-028X-64.11.1730>

HANDA-MIYA, S. *et al.* Nonsense-mutated *inlA* and *prfA* not widely distributed in Listeria monocytogenes isolates from ready-to-eat seafood products in Japan. **International Journal of Food Microbiology**, [s. l.], v. 117, n. 3, p. 312–318, 2007. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.05.003>. Acesso em: 29 abr. 2019.

HOFFMANN, S.; MACULLOCH, B.; BATZ, M. Economic Burden of Major Foodborne Illnesses Acquired in the United States. **Economic Research Service**, [s. l.], n. 140, p. 59, 2015.

HUMPHREY, T. Salmonella, stress responses and food safety. **Nature Reviews Microbiology**, [s. l.], v. 2, n. 6, p. 504–509, 2004. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrmicro907>. Acesso em: 10 abr. 2018.

HUMPHRIES, C. Delicious science. **Nature**, [s. l.], v. 486, 2012. Available at: <https://doi.org/10.1038/srep00196>. Acesso em: 8 nov. 2018.

IBGE. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008 - 2009; Análise do Consumo Alimentar Pessoal no Brasil**. [S. l.: s. n.], 2009. Available at: <http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv50063.pdf>. Acesso em: 12 jul. 2017.

INCILI, G. K. *et al.* Fate of Listeria monocytogenes and Salmonella Typhimurium in homemade marinade and on marinated chicken drumsticks, wings and breast meat. **Lwt**, [s. l.], v. 134, n. September, 2020. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110231>

INSTITUTO AMERICANO DE CULINÁRIA. **Chef profissional**. 9. ed. São Paulo: [s. n.], 2017.

ITAL. Brasil food trends 2020. **Instituto de Tecnologia de Alimentos**, [s. l.], p. 171, 2010.

JEONG, K. *et al.* Effects of sous-vide method at different temperatures, times and vacuum degrees on the quality, structural, and microbiological properties of pork ham. **Meat Science**, [s. l.], v. 143, p. 1–7, 2018. Available at:

<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.04.010>

JIN, Y.; TANG, J.; SABLANI, S. S. Food component influence on water activity of low-moisture powders at elevated temperatures in connection with pathogen control. **Lwt**, [s. l.], v. 112, n. April, p. 108257, 2019. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108257>

JONES, T. F. *et al.* Salmonellosis Outcomes Differ Substantially by Serotype. **The Journal of Infectious Diseases**, [s. l.], v. 198, n. 1, p. 109–114, 2008. Available at: <https://doi.org/10.1086/588823>. Acesso em: 12 jul. 2017.

JUNEJA, V. K.; EBLEN, B. S.; MARKS, H. M. Thermal inactivation of Salmonella serotypes in red meat as affected by fat content. **Quantitative Microbiology**, [s. l.], v. 2, n. 3, p. 189–225, 2000. Available at: <https://doi.org/10.1023/A:1013995111581>. Acesso em: 12 ago. 2020.

KOSTOW, C. **Cured Egg Yolks Recipe | Bon Appetit**. [S. l.], 2015. Available at: <https://www.bonappetit.com/recipe/cured-egg-yolks>. Acesso em: 12 ago. 2020.

KUAN, C. H. *et al.* Efficacy of household washing pre-treatments and cooking methods for reduction of listeria monocytogenes in artificially contaminated chicken offal. **Food Research**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 166–174, 2020. Available at: [https://doi.org/10.26656/fr.2017.4\(1\).268](https://doi.org/10.26656/fr.2017.4(1).268)

LE CORDON BLEU. **Nossa História**. [S. l.], 2019. Available at: <https://www.cordonbleu.edu/nossa-historia/pt-br>. Acesso em: 10 jan. 2019.

LI, Y. *et al.* Accurate classification of Listeria species by MALDI-TOF mass spectrometry incorporating denoising autoencoder and machine learning. **Journal of Microbiological Methods**, [s. l.], v. 192, n. November 2021, p. 106378, 2022. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2021.106378>

LIU, H. *et al.* Household composition, income, and food-away-from-home expenditure in urban China. **Food Policy**, [s. l.], v. 51, p. 97–103, 2015. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2014.12.011>. Acesso em: 21 jul. 2017.

LONCAREVIC, S.; THAM, W.; DANIELSSON, T. M. L. Prevalence of Listeria monocytogenes and other Listeria spp. in smoked and “Gravad” fish. **Acta Veterinaria Scandinavica**, [s. l.], v. 37, n. 1, p. 13–18, 1996.

LOPES, S. M.; DA SILVA, D. C.; TONDO, E. C. Bactericidal effect of marinades on meats against different pathogens: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [s. l.], n. Efsa 2018, p. 1–9, 2021. Available at: <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1916734>

LUNDE, K. *et al.* Marinating as a technology to shift sensory thresholds in ready-to-eat entire male pork meat. **Meat Science**, [s. l.], v. 80, n. 4, p. 1264–1272, 2008. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.05.035>

LYTOU, A. E. *et al.* Investigating the influence of organic acid marinades, storage temperature and time on the survival/inactivation interface of Salmonella on chicken breast fillets. **International Journal of Food Microbiology**, [s. l.], v. 299, p. 47–57, 2019. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.03.019>

MADAPPA, T.; U GO, H. C. **Escherichia coli (E coli) Infections Differential Diagnoses**. [S. l.], 2019. Available at:

<https://emedicine.medscape.com/article/217485-differential>. Acesso em: 29 abr. 2019.

MAJOWICZ, S. E. *et al.* The Global Burden of Nontyphoidal *Salmonella* Gastroenteritis. **Clinical Infectious Diseases**, [s. l.], v. 50, n. 6, p. 882–889, 2010. Available at: <https://doi.org/10.1086/650733>

MIDELET-BOURDIN, G.; LELEU, G.; MALLE, P. Evaluation of the international reference methods NF EN ISO 11290-1 and 11290-2 and an in-house method for the isolation of *Listeria monocytogenes* from retail seafood products in France. **Journal of Food Protection**, [s. l.], v. 70, n. 4, p. 891–900, 2007. Available at: <https://doi.org/10.4315/0362-028X-70.4.891>

MIYAZAKI, M. H. Ensinando e Aprendendo Gastronomia: Percursos de Formação de Professores. [s. l.], p. 115, 2006.

MOON, H. *et al.* Teriyaki sauce with carvacrol or thymol effectively controls *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium, and indigenous flora in marinated beef and marinade. **Meat Science**, [s. l.], v. 129, p. 147–152, 2017. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.03.001>

MOZURIENE, E. *et al.* Effect of natural marinade based on lactic acid bacteria on pork meat quality parameters and biogenic amine contents. **Lwt**, [s. l.], v. 69, p. 319–326, 2016. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.01.061>

NAMIQ, K. F.; MILNE, D. Effect of Fillet Thickness on Quality and Shelf Life of Gravlox Salmon. **Journal of Aquaculture & Marine Biology**, [s. l.], v. 6, n. 2, 2017. Available at: <https://doi.org/10.15406/jamb.2017.06.00149>. Acesso em: 23 abr. 2019.

PALUMBO, M. S. *et al.* Thermal Resistance of *Salmonella* spp . and *Listeria monocytogenes* in Liquid Egg Yolk and Egg Yolk Products t. [s. l.], v. 58, n. September 1995, p. 960–966, 1995.

PEIRIS, I. P. *et al.* Gravad (Gravlax) and cold-smoked salmon, still a potential source of listeriosis. **Journal of Foodservice**, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 15–20, 2009. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1748-0159.2008.00118.x>. Acesso em: 23 abr. 2019.

PITTIA, P.; ANTONELLO, P. **Safety by Control of Water Activity: Drying, Smoking, and Salt or Sugar Addition**. [S. l.]: Elsevier Inc., 2015. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800605-4.00002-5>

PRYLES, J. **How to make soft cured egg yolk**. [S. l.], 2020. Available at: <https://jesspryles.com/recipe/soft-cured-egg-yolk/>. Acesso em: 12 ago. 2020.

REYNOLDS, A. *et al.* An outbreak of gastroenteritis due to *Salmonella* Typhimurium phage type 170 associated with consumption of a dessert containing raw egg. **Communicable diseases intelligence**, [s. l.], v. 34, n. 3, p. 329–333, 2010.

RHOADES, J. *et al.* Use of marination for controlling *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in raw beef. **Food Microbiology**, [s. l.], v. 36, n. 2, p. 248–253, 2013. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.06.010>

RODGERS, S. Innovation in food service technology and its strategic role. **International Journal of Hospitality Management**, [s. l.], v. 26, n. 4, p. 899–912, 2007. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijhm.2006.10.001>

- SENAC. **Histórico das Décadas**. [S. l.], 2019. Available at: <https://www.sp.senac.br/jsp/default.jsp?newsID=a718.htm&testeira=457>.
- SENGUN, I. Y.; GOZTEPE, E.; OZTURK, B. Efficiency of marination liquids prepared with koruk (*Vitis vinifera* L.) on safety and some quality attributes of poultry meat. **Lwt**, [s. l.], v. 113, n. June, p. 108317, 2019. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108317>
- SHER, A. A. *et al.* Epidemiological trends of foodborne *Campylobacter* outbreaks in the United States of America, 1998–2016. **Food Microbiology**, [s. l.], v. 97, n. December 2020, p. 103751, 2021. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103751>
- SHUKLA, S. *et al.* Growth Inhibitory Effects of *Adhatoda vasica* and Its Potential at Reducing *Listeria monocytogenes* in Chicken Meat. **Frontiers in microbiology**, [s. l.], v. 8, p. 1260, 2017. Available at: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01260>
- SLEATOR, R. D.; CLIFFORD, T.; HILL, C. Gut osmolarity: A key environmental cue initiating the gastrointestinal phase of *Listeria monocytogenes* infection? **Medical Hypotheses**, [s. l.], v. 69, n. 5, p. 1090–1092, 2007. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2007.02.028>. Acesso em: 29 abr. 2019.
- SMITH, S. E. *et al.* Thermal Inactivation of *Salmonella* spp., *Salmonella typhimurium* DT104, and *Escherichia coli* 0157:H7 in Ground Beef. **Journal of Food Science**, [s. l.], v. 66, n. 8, p. 1164–1168, 2008. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb16099.x>. Acesso em: 12 ago. 2020.
- SUNDQVIST, J. Gastronomic experiences: Motives, activities, and teleology. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, [s. l.], v. 31, n. November 2022, p. 100645, 2023. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2022.100645>
- THANISSERY, R.; SMITH, D. P. Marinade with thyme and orange oils reduces *Salmonella* Enteritidis and *Campylobacter coli* on inoculated broiler breast fillets and whole wings. **Poultry science**, England, v. 93, n. 5, p. 1258–1262, 2014. Available at: <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03697>
- USDA-ERS. **Cost Estimates of Foodborne Illnesses**. [S. l.], 2018a. Available at: <https://www.ers.usda.gov/data-products/cost-estimates-of-foodborne-illnesses/>. Acesso em: 12 jul. 2017.
- USDA-ERS. **Food-Away-from-Home**. [S. l.], 2018b. Available at: <https://www.ers.usda.gov/topics/food-choices-health/food-consumption-demand/food-away-from-home.aspx>. Acesso em: 25 maio 2023.
- VERGARA, A. *et al.* Behaviour of *Listeria monocytogenes* in anchovies during marination. **Veterinary research communications**, Netherlands, v. 27 Suppl 1, p. 319–321, 2003. Available at: <https://doi.org/10.1023/b:verc.0000014170.03343.9c>
- VERMA, T. *et al.* Response surface methodology for salmonella inactivation during extrusion processing of oat flour. **Journal of Food Protection**, [s. l.], v. 81, n. 5, p. 815–826, 2018. Available at: <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-347>
- WERBROUCK, H. *et al.* Characterization of Virulence Properties of *Listeria monocytogenes* Serotype 4b Strains of Different Origins. **Zoonoses and Public Health**, [s. l.], v. 55, n. 5, p. 242–248, 2008. Available at:

<https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2008.01127.x>. Acesso em: 29 abr. 2019.

WHO. **FIVE KEYS TO SAFER FOOD MANUAL**. [S. l.: s. n.], 2006. Available at: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/43546/1/9789241594639_eng.pdf. Acesso em: 18 jul. 2017.

YOON, Y. *et al.* Influence of inoculum level and acidic marination on inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 during drying and storage of beef jerky. **Food Microbiology**, [s. l.], v. 22, n. 5, p. 423–431, 2005. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2004.09.012>

YUAN, X. *et al.* Identification, quantitation and organoleptic contributions of furan compounds in brandy. **Food chemistry**, [s. l.], v. 412, n. November 2022, p. 135543, 2023. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135543>

YUSOP, S. M. *et al.* Effect of marinating time and low pH on marinade performance and sensory acceptability of poultry meat. **Meat Science**, [s. l.], v. 85, n. 4, p. 657–663, 2010. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.03.020>

ZANONI, C. R. **O mercado de gastronomia de São Paulo: Maximização de valor na gastronomia: O caso de restaurantes de alto padrão em São Paulo**. 62 f. 2012. - Fundação Getúlio Vargas, [s. l.], 2012. Available at: <http://bibliotecadigital.fgv.br/dspace/bitstream/handle/10438/10450/Estratégia-Zanoni-Dissertação-Final-Jan 2013.pdf?sequence=1>. Acesso em: 19 jul. 2017.

ZHANG, X. *et al.* Review controlling *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meat and poultry products: An overview of outbreaks, current legislations, challenges, and future prospects. **Trends in Food Science and Technology**, [s. l.], v. 116, n. February, p. 24–35, 2021. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.07.014>