



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

**AVALIAÇÃO DA SOBREVIVÊNCIA MICROBIANA EM UMA RECEITA
PADRONIZADA DE HAMBÚRGUER *GOURMET* TERMICAMENTE PROCESSADA
SOB DIFERENTES PARÂMETROS DE COCÇÃO**

ADRIANA DENISIUK BARBOSA

Porto Alegre

2021

ADRIANA DENISIUK BARBOSA

AVALIAÇÃO DA SOBREVIVÊNCIA MICROBIANA EM UMA RECEITA
PADRONIZADA DE HAMBÚRGUER *GOURMET* TERMICAMENTE PROCESSADA
SOB DIFERENTES PARÂMETROS DE COCÇÃO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos na Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como um dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof^a. Dra. Patrícia da Silva Malheiros
Co-orientador: Prof. Dr. Eduardo César Tondo

Porto Alegre

2021

CIP - Catalogação na Publicação

Denisiuk Barbosa, Adriana
Avaliação da sobrevivência microbiana em uma
receita padronizada de hambúrguer gourmet termicamente
processada sob diferentes pontos de cocção / Adriana
Denisiuk Barbosa. -- 2021.
82 f.
Orientadora: Patrícia da Silva Malheiros.

Coorientador: Eduardo César Tondo.

Dissertação (Mestrado) -- 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, 2021.

1. hambúrgueres. 2. gastronomia . 3. carne moída.
4. segurança dos alimentos . 5. Escherichia coli. . I.
da Silva Malheiros, Patrícia, orient. II. César
Tondo, Eduardo, coorient. III. Título.

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

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS PROGRAMA DE
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Autora: Adriana Denisiuk Barbosa

(Nutricionista/Universidade do Vale do Rio dos Sinos - UNISINOS).

Título da dissertação: Avaliação da sobrevivência microbiana em uma receita padronizada de hambúrguer gourmet termicamente processada sob diferentes parâmetros de cocção

Submetida como parte dos requisitos para obtenção do grau de
MESTRE EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Aprovada em: 18/06/2021

Comissão Examinadora

Prof^a. Dra. Roberta Cruz Silveira Thys
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof^a. Dra. Katia Rezzadori
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof^a. Dra. Cheila Mineia Daniel de Paula
Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

Dedico aos meus pais e marido por todo o amor e compreensão.

RESUMO

O hambúrguer *gourmet* é uma preparação versátil e personalizada. No entanto, algumas práticas de cocção estão em desacordo com parâmetros de temperaturas seguras estabelecidos por legislações brasileiras e internacionais para produtos à base de carne moída. Esse estudo propôs a padronização de uma receita de hambúrguer *gourmet* e a avaliação da segurança da preparação através da redução, após uso de diferentes parâmetros de cocção, de um *pool* de *Escherichia coli* (8 log UFC/g) artificialmente inoculada nos hambúrgueres crus. As contagens finais foram modeladas pelo *software* GInaFIT e o modelo Weibull apresentou melhor ajuste. Mesófilos totais foram quantificados e os gêneros sobreviventes identificados por Espectrometria de Massa Associada a Dessorção/Ionização de Matriz Assistida por Laser e Tempo de voo (MALDI-TOF/MS). Além disso, foram determinados os parâmetros intrínsecos, físico-químico e textura dos hambúrgueres crus e após os diferentes pontos de tratamento térmico foram determinados. Os resultados das características físico-químicas apresentaram conformidade com o recomendado para carne bovina, demonstrando que a matéria prima era de boa qualidade. Expondo os hambúrgueres a 77 °C por 14 minutos (ponto bem passado), a contagem inicial de mesófilos totais foi significativamente ($p < 0,05$) reduzida para 4,34 log UFC/g e a análise por MALDI-TOF/MS encontrou espécies do gênero *Citrobacter*, *Lactobacillus*, *Hafnia* e *Pseudomonas*, indicando resistência destes microrganismos ao tratamento térmico testado. O modelo cinético apresentou uma correlação alta com os resultados de contagem, validando os dados experimentais. A menor contagem de *E. coli* foi alcançada no hambúrguer bem-passado, equivalendo a uma redução de 4,83 log UFC/g, ou seja, não atingindo a recomendação internacional de redução de *E. coli* (5 log UFC/g) para produtos cárneos. Apenas a exposição do hambúrguer a mais um ponto de tratamento térmico, denominado como muito bem passado (81 °C na parte central por 16 minutos), resultou em uma quantificação de *E. coli* abaixo do limite de detecção da técnica. Contudo, a exposição prolongada ao calor neste ponto afetou negativamente a cor, textura e suculência dos hambúrgueres, e pode ser indesejável para consumidores e de difícil reprodução pelos restaurantes. Assim, é recomendada a adoção de procedimentos de higiene adequados em toda a produção, além da validação da ação de tempo e temperatura considerando a realidade específica de

cada estabelecimento, como os equipamentos térmicos utilizados, o uso adequado de termômetro durante todo o preparo, além de definir a formulação dos hambúrgueres, através de matéria prima de qualidade, o corte bovino e o peso das carnes para proporcionar hambúrgueres *gourmet* com qualidade e sem riscos à saúde dos consumidores.

Palavras-Chave: *carne bovina; gastronomia; hambúrguer; tratamento térmico.*

ABSTRACT

The *gourmet* hamburger is a versatile and customized preparation. However, some cooking practices are not in accordance with safe temperature parameters established by national and international legislation for ground meat products. The aim of this study was to standardize a *gourmet* hamburger recipe and evaluated its safety through the reduction, after different degrees of doneness, of a pool of *Escherichia coli* (6-7 log CFU/g) artificially inoculated into the raw hamburgers. The final counts were modeled by GlnaFiT *software*, and the Weibull model showed the best fit. Total mesophiles were quantified and surviving genera identified by Matrix-Assisted Laser and Time-Of-Flight desorption/ionization mass spectrometry (MALDI-TOF/MS). In addition, intrinsic parameters of raw hamburger and color and texture analyses after different degrees of doneness were determined. The results of physicochemical characteristics showed compliance with what is recommended for beef, demonstrating the raw material was of high-quality. Exposing the burgers to 77 °C for 14 minutes (well-done degree), initial total mesophilic count was significantly ($p < 0.05$) reduced to 4.34 log CFU/g and MALDI-TOF/MS analysis found species of genera *Citrobacter*, *Lactobacillus*, *Hafnia* and *Pseudomonas*, indicating they were resistant to the heat treatment tested. The kinetic model showed a high correlation with count results, validating the experimental data. The lowest *E. coli* count was achieved in at well-done hamburger, equivalent to a reduction of 4.83 log CFU/g, i.e., not reaching the minimum international recommendation of *E. coli* reduction (5 log CFU/g) for meat products. Only by exposing the hamburger to one more heat treatment degree named as very well-done (81 °C - 16 minutes) resulted in an *E. coli* quantification below the detection limit of technique. However, prolonged heat exposure at this degree affected negatively on color, texture, and juiciness of the hamburgers, and may be undesirable for consumers and difficult for restaurants to replicate. Thus, it is recommended adoption hygiene practices throughout all production, in addition to the validation of time and temperature considering the particular reality of each restaurant, such the proper use of thermometer during the entire preparation, and define the formulation of hamburgers, with high-quality raw meat, the bovine cut and the weight of the meats to provide *gourmet* hamburgers with quality and without risks to the health of consumers.

Keywords: *beef; gastronomy; hamburger; heat treatment.*

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

- Fig. 1- Visual internal color of *gourmet* hamburger grilled to different degrees of doneness. 1) Rare 2) Medium-rare 3) Medium 4) Medium-well 5) Well-done. 55
- Fig. 2- Natural microbiota in raw and thermally processed hamburger samples at different degrees of doneness..... 56
- Fig. 3- Visual characteristics of *gourmet* hamburger grilled to a very well-done degree.
..... 57
- Fig. 4-Inactivation curve of *Escherichia coli* obtained by Weibull model. ▫: observed curve. -: estimated curve by the inactivation model..... 58

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Table 1 – Parameters for grilling hamburger preparation based on the technique described by Le Cordon Bleu (Wright & Treuille, 2016), Gayler (2016) and Husbands et al. (2018). 59

Table 2: Thermal processing and objective color analysis at the center of *gourmet* hamburger grilled to different degrees of doneness..... 60

Table 3: Texture parameters of thermally processed *gourmet* hamburgers. Note: (1) does not have a unit of measure, as it is dimensionless. 61

Table 4: Log *E. coli* and mesophilic total counts/g after thermal processing of *gourmet* hamburgers subjected to different degrees of doneness. TMax = maximum temperature. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$); ND: not detected (*E. coli* counts < 1.0 log CFU/g)..... 62

LISTA DE SIGLAS

APHA	<i>American Public Health Association</i>
Aw	Atividade de Água
CDC	<i>Center of Diseases Control and Prevention</i>
DTA	Doenças Transmitidas pelos Alimentos
EUA	Estados Unidos da América
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
GLP	Gás Liquefeito de Petróleo
ICMSF	<i>International Commission on Microbiological Specifications for Foods</i>
MALDI-TOF/MS	<i>Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight</i>
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RIISPOA	Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
RTIQ	Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade
STEC	Toxina shiga
TPA	<i>Texture Profile Analysis</i>

SUMÁRIO

1. CAPÍTULO 1	12
1.1 INTRODUÇÃO	12
1.2 OBJETIVOS	14
1.2.1 Objetivo geral	14
1.2.2 Objetivos específicos	14
1.3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
1.3.1 Gastronomia e os hábitos de consumo	15
1.3.2 Mercado de carne bovina	16
1.3.3 Hambúrgueres	17
1.3.4 Doenças transmitidas por alimentos (DTA)	19
1.3.5 Legislação	22
1.3.6 Análises Proteômicas	23
1.3.7 Microbiologia Preditiva	24
2. CAPÍTULO 2	27
Microbial survival in gourmet hamburger thermally processed by different degrees of doneness	27
3. CAPÍTULO 3	64
3.1 DISCUSSÃO GERAL	64
3.2 CONCLUSÃO	70
4. REFERÊNCIAS	72

1. CAPÍTULO 1

1.1 INTRODUÇÃO

A indústria de carnes vem apresentando importantes modificações que surgem como consequência de inovações tecnológicas e novas tendências de consumo (ABIEC, 2019). Nessa perspectiva, os produtos cárneos, como a preparação hambúrguer, vêm apresentando significativa expansão de consumo na última década, por ser um alimento bastante apreciado pela população de diversas faixas etárias (COSTA, 2018; FERNANDES., 2019)

Assim, os estabelecimentos alimentícios, como as hamburguerias, entenderam este movimento e adequaram uma série de práticas em função de melhores experiência para seus clientes. Novas versões denominadas de hambúrgueres *gourmets*, estão ganhando cada vez mais espaço dentro da gastronomia por meio de formas criativas e até sofisticadas de preparação, como o uso de misturas de cortes, chamado de *blend*, ou bifes com tamanhos variados (GAYLER, 2004; HULÁNKOVÁ et al., 2018).

Outro aspecto peculiar dos hambúrgueres *gourmets* é o modo de cocção, onde alguns restaurantes permitem que o cliente escolha o ponto da carne que deseja consumir, tornando-o ainda mais versátil. Os pontos variam de malpassado, ao ponto e bem passada. A opção malpassada, com temperatura central próxima a 55 °C, é uma das mais consumidas entre os apreciadores de hambúrgueres, que justificam que o sabor e a suculência são mantidos neste ponto (COSTA, 2018; ROSSVOLL et al., 2014).

Todavia, conforme orientação de legislações nacionais e internacionais, para garantir a segurança de preparações a base de carne moída, é aconselhável aplicar tratamento térmico que atinja uma temperatura de 70 °C ou mais no centro geométrico e em todo o alimento ou outros tratamentos de tempo e temperatura seguros (BRASIL, 2002, 2004, 2019b; FDA, 2009, 2017; USDA, 2020).

Além disso, é importante destacar que, dentre os produtos cárneos moldados, o hambúrguer cru apresenta maior risco de multiplicação de microrganismos durante seu processamento, em decorrência da carne moída possuir uma maior área superficial exposta, e, mesmo sendo mantida sob refrigeração, os microrganismos

podem continuar a multiplicar-se no alimento (DAMER, 2014; JAY, 2005). E, considerando que alguns consumidores têm a preferência por consumi-lo com o ponto malpassado da carne, essa preparação pode veicular microrganismos patogênicos, os quais podem não ser inativados pelo tratamento térmico (DAMER, 2014; KOSMIDER et al., 2010; MELO et al., 2013; RAWDKUEN; PUNBUSAYAKUL; LEE, 2016).

A *Escherichia coli* é considerada um indicador de contaminação fecal e pode estar associada à presença de outros agentes patogênicos entéricos, além de estar associada a contaminação de carnes e produtos cárneos como os hambúrgueres (JAJA; GREEN; MUCHENJE, 2018). Sua inativação pode ser considerada como um bom indicador para investigar a eficácia dos tratamentos térmicos (FERIGOLO et al., 2021).

Dessa maneira, este trabalho teve por objetivo padronizar uma receita de hambúrguer *gourmet* e avaliar a redução de microrganismos naturalmente presentes na carne moída, bem como *Escherichia coli* artificialmente inoculada nos hambúrgueres crus, após a aplicação de diferentes intensidades de tratamento térmico (tempo e temperatura) por calor. Além disso, determinou-se os parâmetros intrínsecos do hambúrguer cru e realizou-se análises de cor e textura nos hambúrgueres crus e após o processamento térmico sob as diferentes condições de preparo.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Padronizar uma receita de hambúrguer *gourmet* e avaliar a sobrevivência microbiana após a aplicação de diferentes tempos e temperaturas de cocção.

1.2.2 Objetivos específicos

- Identificar e padronizar uma receita de hambúrguer *gourmet*, a partir de referenciais de grandes escolas de gastronomia, especialistas, restaurantes especializados e legislações;
- Determinar os parâmetros intrínsecos dos hambúrgueres crus, como proteínas, lipídeos, cinzas, umidade, atividade de água e pH.
- Validar a recomendação dos especialistas em relação ao binômio tempo X temperatura para o processamento térmico dos diferentes pontos de cocção da preparação hambúrguer;
- Caracterizar os parâmetros de cor e textura dos diferentes pontos de processamento térmico os hambúrgueres *gourmet*
- Determinar a microbiota inicial nos hambúrgueres crus e a microbiota sobrevivente, após o processo térmico dos hambúrgueres;
- Analisar a sobrevivência de *Escherichia coli* artificialmente inoculada nos hambúrgueres crus após os diferentes parâmetros de cocção aplicados;
- Comparar os resultados microbiológicos experimentais com parâmetros de modelos matemáticos;
- Se necessário, propor recomendações que garantam a segurança microbiológica da preparação.

1.3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.3.1 Gastronomia e os hábitos de consumo

A gastronomia, através das práticas culinárias, é a parte mais duradoura de uma cultura e tradição. Embora definida como a arte de comer e beber, a gastronomia é a ciência que associa as transformações químicas e físicas dos alimentos com a arte do preparo culinário. Todavia, a organização da sociedade vem passando por mudanças nos últimos anos que interferiram diretamente na alimentação da população, com influências na maneira de produzir, comercializar, preparar e consumir os alimentos (COSTA et al., 2018; SORMAZ et al., 2016; VICENTINI, 2018).

A escolha pela alimentação fora do lar, por exemplo, é atribuída por uma série de fatores que vão desde uma opção de lazer de um grupo social, familiar ou profissional, até propriamente o ato de alimentar-se (SORMAZ et al., 2016).

Nessa perspectiva, os serviços de alimentação, como qualquer organização, devem objetivar a busca constante pela qualidade na prestação de serviços e na produção de produtos que atendam as necessidades dos consumidores cada vez mais exigente nas suas escolhas, sendo elas agradáveis, seguras e confiáveis (RIBEIRO; MARQUES; FILHO, 2016). O conceito de qualidade remete à característica de genuinidade, de diferenciação e de propriedade que, em seu nível mais elevado, conduz à práticas de excelência (DE VASCONCELLOS, 2012).

Assim, muitos estabelecimentos alimentícios, como as hamburguerias, entenderam este conceito e adequaram uma série de práticas em função da experiência satisfatória de seus clientes, alinhadas com o movimento do mercado e as novas tendências.

Com o uso do termo *gourmet*, a preparação hambúrguer recebeu versões diferenciadas, tornando-as referências de qualidade e versatilidade. Este termo, originalmente francês, é utilizado para denotar uma culinária mais requintada, sofisticada, elaborada e que atende às exigências do consumidor que tenha gosto mais apurado (SCHÖSLER; DE BOER, 2018; SMITH, 2012).

Dessa forma, ofertar refeições seguras, com qualidade e que atendam as elevadas expectativas e exigências dos consumidores é primordial para a manutenção de um bom estabelecimento alimentício que prepare refeições do tipo *gourmet*.

1.3.2 Mercado de carne bovina

A carne é um dos alimentos mais consumidos em todo o mundo, devido à grande variedade de técnicas de preparo a que pode ser submetida, ao seu valor nutricional e ao seu sabor. Ela é caracterizada como todas as partes de um animal que foram julgadas como seguras e adequadas para consumo humano ou destinadas a esse fim (FAO, 2019).

As propriedades sensoriais são imprescindíveis e estão relacionadas a satisfação e escolha pelos consumidores, que consideram atributos como suculência, cor, textura, odor e sabor como os mais importantes (PAULA; PIRES, 2016).

Estima-se que a produção mundial de carne bovina deve dobrar até 2050 na maioria dos países em desenvolvimento. E, este crescente mercado, oferece oportunidades significativas para a produção pecuária e o processamento da carne. Contudo, a comercialização segura e higiênica da carne e dos produtos cárneos representam ainda um grande desafio para o setor (ABIEC, 2019; FAO, 2019).

A carne *in natura* constitui um potencial veículo de contaminantes, e por este motivo, a legislação brasileira com o propósito de melhorar a qualidade e reduzir e/ou sanar as doenças que reduzem a produção, exerce a fiscalização do produto, desde a criação e, principalmente, nas etapas de abate e posterior beneficiamento, contemplando um rigoroso controle de qualidade e medidas sanitárias em todas as fases da cadeia produtiva deste alimento (ABIEC, 2019; EMBRAPA, 2019; JAY, 2005).

Ademais, a carne bovina é um produto versátil, podendo ser encontrada em diferentes cortes e apresentações, incluindo em inúmeros derivados cárneos, como os hambúrgueres, que passam de alimento coadjuvante para uma preparação popular, devido à sua praticidade para o consumidor. Além disso, essa preparação possui atributos de nutrir e saciar, destacando-se como uma excelente fonte de proteínas de boa qualidade, além de uma interessante alternativa para o aproveitamento total das partes de uma carne (PHANG; BRUHN, 2011; PINHEIRO, 2008).

1.3.3 Hambúrgueres

Durante o século XIX surgiu um prato muito requisitado na Europa, conhecido como carne de Hamburgo. Proveniente desta cidade alemã, a preparação era servida de diversas maneiras, porém, no formato de bolinhos, onde era degustado na forma crua e com vários temperos, semelhante à preparação *steak tartare*, era o mais popular. Em meados de 1889, o sanduíche de hambúrguer apareceu nos Estados Unidos e era vendido como comida de rua e de pouca importância. Todavia, na década de 20 ganhou força de tal forma que hoje não se pensa no estilo de vida norte-americano sem ele, através de restaurantes estilo *fast-food*. Estima-se que os americanos consumam cerca de pelo menos 50 bilhões de hambúrgueres por ano (Prayson et al., 2008; Unruh et al., 2016).

No Brasil, o hambúrguer chegou nos anos 50 e ficou conhecido depois que uma famosa rede de *fast-food* começou a produzi-lo em larga escala (NASCIMENTO, 2014; SMITH, 2012). Neste país, o setor de hamburguerias vem crescendo com grande expressão, tanto em número de restaurantes de grandes franquias, como de pequenos estabelecimentos em bairros de cidades. Nesses estabelecimentos, a venda ocorre tanto de lanches tradicionais, como de lanches mais elaborados. Dados da Associação Brasileira de *Franchising* (ABF) mostram que só nas redes de franquias, o setor cresceu 30% em 3 anos (MARQUES; MAIA; HORTA, 2016; SEBRAE, 2019).

A definição de hambúrguer varia entre os diferentes países. Nos Estados Unidos, o Código de Regulamentação Federal (CRF, 1970) define hambúrguer como “bife de carne moída, fresco ou congelado, com ou sem adição de gordura e/ou condimentos, que não deve apresentar mais de 30% de gordura e não deve conter adição de água”. Na Argentina, outro grande consumidor de carne, a preparação hambúrguer ou bife de hambúrguer, é definida como um produto de forma plana, feito exclusivamente com carne picada com um teor médio de gordura no lote de até 20% (SENASA, 2017).

No Brasil, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) de hambúrguer define a preparação como um produto cárneo industrializado, obtido de carne moída de animais de açougue, adicionado ou não de tecido adiposo e ingredientes, moldado e submetido a processo tecnológico adequado de acordo com

sua classificação. Para as concentrações físico-químicas são permitidas no máximo 23% para gordura, no mínimo 15% de proteína, 3% de carboidratos totais e o teor máximo de cálcio de 0,1% em hambúrguer cru e 0,45% em hambúrguer cozido (BRASIL, 2000).

A preparação hambúrguer é versátil e muito diversificada, por isso, acaba não possuindo uma receita única. No mercado consumidor atual, novas versões dessa preparação estão ganhando cada vez mais espaço e são denominadas de hambúrgueres *gourmet*, pois apresentam um preparo diferenciado das fabricações industriais. Muitos consumidores confundem hambúrguer *gourmet* com o artesanal, porém, a grande diferença entre eles, é que no primeiro são usados ingredientes especiais e de qualidade. Já no artesanal, os ingredientes são preparados manualmente, independente dos produtos serem nobres. Dessa forma, os hambúrgueres *gourmet* são revolucionários dentro da gastronomia, com preparo de carnes mais volumosas e elaboradas, com uma seleção diferenciada de ingredientes e sabores únicos (COSTA, 2018; GAYLER, 2004).

A preparação dos hambúrgueres inicia-se pela seleção das carnes, que pode variar muito entre os estabelecimentos. Além disso, para um hambúrguer saboroso é importante o uso do “blend” de carnes, que é a mistura entre diferentes cortes com gordura de carne para que o hambúrguer tenha um sabor diferenciado. Portanto, na formulação de um hambúrguer *gourmet*, os ingredientes mais importantes são carne e gordura. A quantidade ideal de gordura em um hambúrguer é, em média, de 15% a 20% do total do peso do “blend”. Dessa forma, cortes como o acém bovino apresentam naturalmente uma concentração ideal de gordura para a preparação de hambúrgueres e almôndegas (HUSBANDS; HART; PYENSON, 2018; WRIGHT, J.; TREUILLE, 2019).

Outro aspecto peculiar aos hambúrgueres *gourmet* é o modo de cocção, onde o cliente pode escolher o ponto da carne que deseja consumir, tornando-o ainda mais versátil. Os pontos variam de malpassado, passando por ao ponto, bem passado e muito bem passado. A opção malpassada é uma das mais consumidas entre os apreciadores de hambúrgueres, que justificam que o sabor e a suculência são mantidos neste ponto (COSTA, 2018; JÚNIOR, 2016).

Conforme estudo de Røssvoll et al. (2014), para caracterizar os pontos da carne de hambúrguer, é preciso a aplicação de diferentes temperaturas de cozimento do núcleo geométrico, que variam de 50 °C para hambúrgueres malpassados, 65 °C

para hambúrgueres ao ponto, 73 °C para hambúrgueres bem passado e 80 °C para hambúrgueres muito bem passado.

Além disso, as características visuais demonstram que as carnes malpassadas possuem uma superfície bem grelhada e o miolo preserva o suco e o vermelho vivo. Já as carnes ao ponto ficam macias ao toque, especialmente no centro e as bem passadas, o interior encontra-se ressecado e sem sucos (RØSSVOLL et al., 2014; UNRUH, D. A. et al., 2016).

Ademais, é importante destacar que, dentre os produtos cárneos moldados, o hambúrguer cru apresenta maior risco de contaminação de microrganismos (DAMER, 2014). A contaminação da carne moída pode ocorrer nas diferentes etapas do processamento, como durante a moagem, onde, na maioria das vezes, os cortes utilizados são excessivamente manipulados e processados com tecidos gordurosos, os quais podem conter nódulos linfáticos com microrganismos em seu interior. Depois da moagem, a carne possui maior área superficial exposta, e, mesmo sendo mantida sob refrigeração, microrganismos podem continuar a multiplicar-se no alimento (JAY, 2005).

Falhas durante o transporte da matéria-prima ou em etapas posteriores, como refrigeração, inadequação nas divisões das peças, processos sucessivos de congelamento e descongelamento, exposição ambiental, condições inadequadas de higiene, embalagens e armazenamento não-conformes, podem também contribuir para contaminações deste alimento. Além disso, considerando que alguns consumidores têm a preferência por consumi-lo com o ponto malpassado da carne, essa preparação pode ser considerada uma possível causadora de doenças transmitidas por alimentos (DTA)(DAMER, 2014; KOSMIDER et al., 2010).

Com o mercado de hamburguerias aquecido e o aumento do público-alvo, é necessário ter atenção redobrada com a segurança dos alimentos e conhecer cada etapa do processo de produção do hambúrguer para garantir a saúde do consumidor e fidelizar clientes.

1.3.4 Doenças transmitidas por alimentos (DTA)

De acordo com o Ministério da Saúde, as DTA são causadas pela ingestão de alimentos e/ou água contaminados e a maioria ocorre pelas infecções ou intoxicações

causadas por bactérias e suas toxinas, vírus e/ou parasitas. Existem mais de 250 tipos de DTA e a maioria são infecções causadas por bactérias e suas toxinas, vírus e parasitas (BRASIL, 2019b).

Devido ao seu impacto social, as DTA geram crescente preocupação nos setores de saúde pública além de gastos no tratamento de doentes. Em geral, os sintomas característicos das DTA são diarreia, náuseas, vômitos, dores de cabeça, febre, entre outros (FORSYTHE, 2013; TONDO; BARTZ, 2011).

Um surto de DTA é um episódio em que duas ou mais pessoas apresentam os mesmos sinais/sintomas, após ingestão de alimentos ou água de mesma origem. Porém, para as síndromes causadas pelas bactérias *Clostridium botulinum*, *E. coli* O157:H7 e *Listeria monocytogenes*, apenas um caso já é considerado um surto (BRASIL, 2010, 2019b).

No Brasil, entre 2009 a 2018 foram notificados 2.431 surtos de DTA, com destaque para o ano de 2018, foram registados 503 surtos com 6.803 doentes, 731 hospitalizados e 9 óbitos relacionados. Nessa década relatada, os agentes etiológicos de maior prevalência identificados como únicos responsáveis pelos surtos confirmados laboratorialmente foram a *Escherichia coli* (23,4% dos surtos) sendo a mais comum, seguida por *Salmonella* spp (11,3% dos surtos) (Brasil, 2019b).

Apesar do conjunto de doenças transmitidas pela carne com impacto sobre a saúde pública ter mudado com a alteração dos sistemas de produção e de processamento da carne, a permanência do problema tem sido bem ilustrada nos últimos anos por estudos de vigilância humana sobre os agentes patogênicos especificamente transmitidos pela carne, pois esse alimento possui uma elevada atividade de água, pH favorável ao crescimento de microrganismos e elevado percentual de proteínas, minerais e vitaminas, tornando-as excelentes meios de cultura para o desenvolvimento de patógenos e deteriorantes (EMBRAPA, 2019).

Em 2012, o governo belga analisou 2.401 amostras de carne e 3.028 amostras de produtos preparados a base de carne e, a partir destas análises, concluiu-se que nas amostras de carne, a bactéria *Campylobacter* spp. estava presente em 6,3% e a bactéria *Salmonella* spp. em 4,1%. Além disso, *Salmonella* spp. também estava presente em 0,5% das amostras de produtos preparados a base de carne, enquanto *L. monocytogenes* e *E. coli* O157:H7 estavam presentes em 0,2% das amostras dos produtos cárneos (FASFC, 2013; LAHOU et al., 2015).

Normalmente a bactéria mais envolvida na contaminação de carne moída é a *Escherichia coli* que, embora seja um grande e diversificado grupo de bactérias com cepas de maioria inofensivas, algumas podem causar doenças nos seres humanos, como a *E. coli* O157:H7, que pode levar a colites hemorrágicas, devido a produção da toxina Shiga (STEC) (BRASIL, 2010, 2019b; FAO, 2005).

Segundo dados do *Center of Diseases Control and Prevention* (CDC; 2016), estima-se que anualmente ocorram 265.000 infecções por STEC, com 3.600 hospitalizações e 30 mortes nos EUA, e cerca de 36% é proveniente da *E. coli* O157:H7. Dentre os alimentos que podem veicular esse patógeno, a preparação hambúrguer é particularmente preocupante, uma vez que a carne bovina é um conhecido reservatório desse microrganismo. O cozimento insuficiente da preparação pode levar a uma sobrevivência e ingestão de STEC, causando infecção alimentar esporádica, mas frequentemente grave aos consumidores (HWANG; HUANG, 2018).

De fato, o primeiro surto documentado de *E. coli* O157:H7 está relacionado a preparação hambúrguer, proveniente de uma cadeia de restaurantes *fast-food* em Washington (EUA), em 1993. No total, foram notificados 501 casos, incluindo 151 internações, 45 casos de síndrome hemolítica urêmica e três óbitos. As análises demonstraram que as cepas de *E. coli* O157:H7 isoladas de todos os lotes de hambúrguer de uma única data de produção eram idênticas às cepas isoladas dos pacientes. Além disso, algumas das amostras de hambúrgueres apresentavam processamento térmico em desacordo com as políticas internas da empresa, a qual exigia ponto de cocção com temperatura superior a 70 °C (BELL et al., 1994).

Entretanto, no Brasil não houve relatos de surtos confirmados com hambúrgueres envolvendo STEC e a taxa global estimada neste país é de apenas 1%, o que é considerado baixo para esse microrganismo (CASTRO et al., 2019; DE ASSIS et al., 2021; PEREIRA et al., 2018).

Por outro lado, a quantificação de *E. coli* em produtos cárneos crus à base de carne moída, como hambúrgueres, é de fundamental importância. Altas contagens de *E. coli* podem indicar contaminação de origem fecal na produção, processamento, armazenamento inadequado ou falta de higiene durante a manipulação (FRANCO; MANTILLA; LEITE, 2008). A Instrução Normativa nº 60, de 26 de abril de 2019, que estabelece os padrões microbiológicos para alimentos destinados ao consumo humano, determina que a quantidade máxima de *E. coli* permitida em hambúrguer de

carne bovina é de 5×10^2 UFC/g (BRASIL, 2019a).

Nessa perspectiva, o consumo de produtos malcozidos de origem bovina, em especial a preparação hambúrguer, pode apresentar problemas microbiológicos por sofrer uma maior manipulação, o que pode permitir a veiculação de microrganismos causadores de DTA (BORBA, 2013, 2010; FAO, 2005; MELO et al., 2013; MILILLO et al., 2012; RAWDKUEN; PUNBUSAYAKUL; LEE, 2016; TAKHAR et al., 2009).

1.3.5 Legislação

O controle dos parâmetros tempo e temperatura é um dos principais fatores para evitar multiplicação e a sobrevivência de microrganismos. E, nos serviços de alimentação, é recomendado práticas de processamento a fim de garantir a inocuidade dos alimentos prontos para o consumo e na prevenção de surtos alimentares. Assim, o uso de tratamento térmico com uma efetiva aplicação de calor auxilia e pode garantir a segurança de alimentos a serem consumidos, principalmente os altamente perecíveis, como as carnes (WHO, 2006).

Nas últimas décadas foram publicadas legislações e normas técnicas, cujas determinações e critérios tem sido referência para a garantia da segurança dos alimentos produzidos no Brasil. E, para o processamento da preparação hambúrguer, as práticas devem estar de acordo com o estabelecido nas legislações, em especial a Instrução Normativa nº 20, de 31 de julho 2000, que aprova o RTIQ de hambúrguer, almôndega e fiambre (BRASIL, 2000), com o Código Internacional Recomendado de Práticas de Higiene para os Produtos Cárneos Elaborados (FAO, 2005), com parâmetros adequados em relação as análises microbiológicas e físico química (BRASIL, 1999; 2019a). Além do mais, toda a carne usada para elaboração da preparação hambúrguer deve ser submetida aos processos de inspeção prescritos no Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA)(BRASIL, 2017).

Em relação ao preparo, a legislação brasileira estabelece e determina em Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação, que o “tratamento térmico deve garantir que todas as partes do alimento atinjam a temperatura de, no mínimo 70 °C, sendo que temperaturas inferiores podem ser utilizadas no tratamento térmico, desde que as combinações de tempo e temperatura

sejam suficientes para assegurar a qualidade higiênico-sanitária dos alimentos” (BRASIL 2002; 2004).

Conforme as orientações de legislações internacionais, para garantir a segurança de preparações a base de carne moída, como o hambúrguer, nos EUA (FDA, 2009, 2017) é aconselhável aplicar um tratamento térmico, com uso de calor, que atinja uma temperatura de 70 °C no centro geométrico e em todo o alimento.

Já no Canadá, as recomendações para evitar a contaminação de carne moída crua por *E. coli*, são a lavagem prévia das mãos ao manipular esse alimento e, para garantir a segurança de consumo de produtos à base de carne moída, como hambúrguer, almondega e salsicha, é necessária a aplicação de tratamento térmico por calor que atinja a temperatura de 71 °C em todo o alimento (CANADA, 2015).

Na Argentina, para o consumo seguro dos alimentos é fundamental a aplicação de calor por no mínimo 1 minuto à uma temperatura central de 70 °C (SENASA, 2017).

1.3.6 Análises Proteômicas

Os métodos para identificação e quantificação de microrganismos são muito importantes na microbiologia de alimentos. Os métodos tradicionais são amplamente utilizados até hoje, sendo considerados precisos e sensíveis. Todavia, demandam longo período para demonstrar os resultados, o que em alguns casos, pode ser prejudicial às pesquisas, indústrias de alimentos e órgãos públicos (ÁLVAREZ-BUYLLA; CULEBRAS; PICAZO, 2012; PASTERNAK, 2012).

A detecção rápida e consistente de patógenos veiculados por alimentos é altamente importante para confirmar a segurança e a qualidade de produtos alimentares. Entre as técnicas desenvolvidas recentemente, a Espectrometria de Massa Associada a Dessorção/Ionização de Matriz Assistida por Laser e Tempo de voo (MALDI-TOF/MS) proporcionou um aumento do número de biomarcadores observados nos espectros de massa, o que contribuiu para ser considerada uma excelente ferramenta para detecção e discriminação de vários tipos de microrganismos (HOLLAND et al., 2014; JIMÉNEZ-BARBERO et al., 2006; PASTERNAK, 2012).

O espectrômetro MALDI-TOF/MS consiste em um sistema no qual o material biológico, que pode ser amostra da colônia pura ou a amostra previamente tratada, é

introduzido em uma placa metálica e adicionada de uma matriz polimérica. O produto da reação entre amostra-matriz (analito) é bombardeado com um laser que vaporiza a amostra e promove sua ionização. Essa reação é realizada em um tubo de vácuo que aspira estes analitos até um detector. Conforme a massa deste composto, o tempo de chegada ao detector gera picos diferentes para cada amostra. A identificação dos microrganismos ocorre através da geração de impressões digitais destas proteínas altamente abundantes, seguido de correlação com os espectros de referência em um banco de dados. A leitura e interpretação dos picos encontrados ocorrem com muita rapidez, sendo apresentados em conjunto com o *score*, que permite avaliar o quanto similar foi o espectro gerado em relação ao banco de dados. Os resultados acima de 2,300 são indicativos de elevada probabilidade de identificação a nível de espécie (verde), entre 2,000 – 2,299, identificação segura do gênero e provável da espécie (verde), entre 1,700 e 1,999 significa que houve uma provável identificação do gênero (amarelo) e abaixo deste *score*, sem identificação confiável (vermelho) (PASTERNAK, 2012; PEIXOTO et al., 2019).

A utilização de espectrometria por MALDI-TOF/MS é confiável, rápida e econômica e seu uso corrobora nas práticas gastronômicas com carne bovina, uma vez que, em estudos conduzidos após a aplicação de diferentes técnicas de preparo de medallhões de filés mignon, como o uso de fogo alto em grelha (PEIXOTO et al., 2019) e tratamento térmico prologando com equipamento *sous vide* (FERIGOLO et al., 2021) foi possível identificar microrganismos sobreviventes e avaliar recomendações seguras de preparação à base de carnes.

Portanto, o MALDI-TOF/MS-pode ser considerado uma ferramenta interessante para avaliar a redução microbiana na gastronomia, onde fator tempo e segurança das preparações representam questões importantes para a satisfação e saúde dos consumidores.

1.3.7 Microbiologia Preditiva

A microbiologia preditiva é uma área da microbiologia que utiliza modelos matemáticos baseados em dados experimentais para modelar curvas e descrever o comportamento de microrganismos em diferentes condições físico-químicas, avaliar as consequências microbiológicas na estocagem de alimentos, na eficiência da

higiene do processamento e distribuição, determinar o efeito de falhas durante processamento, prever a segurança microbiológica de um produto, auxiliar na análise de perigos e pontos críticos de controle, no desenvolvimento de novos produtos, auxiliar na tomada de decisões e na análise de risco (LOPES; FÖSCH BATISTA; TONDO, 2018; SCHLEI et al., 2018).

A microbiologia preditiva pode proporcionar benefícios econômicos em longo prazo, visto que a aplicação dos modelos pode ser feita em uma ampla quantidade de alimentos, gerando assim, uma redução na quantidade de testes microbiológicos necessários para o desenvolvimento de novos produtos. Por esta razão, a microbiologia preditiva tem sido estudada e utilizada no sentido de favorecer e garantir a segurança microbiológica dos alimentos (KRONBERGER; BACHINGER; MICHAEL, 2020).

Os modelos matemáticos podem ser classificados como primários, que reproduzem a dinâmica da população microbiana em função do tempo, sob determinadas condições ambientais e de cultivo, modelos secundários, que descrevem a variação dos parâmetros cinéticos em função da variação de uma condição ambiental, como, por exemplo, a temperatura, que é um dos fatores predominantes para a determinação da fase lag de micro-organismo. Fatores como pH e atividade de água também devem ser pontuados. Por fim, os terciários, que utilizam um ou mais modelos secundários e primários, possibilitando gerar um programa computacional (*software*). Esses programas são de fácil utilização e acesso gratuito, contribuindo na modelagem das curvas, possibilitando calcular e comparar as respostas microbianas em diferentes condições (LOPES; TONDO, 2020; MCDONALD; SUN, 1999; SCHLEI et al., 2018).

O *software* GInaFit versão 1.6, é uma ferramenta gratuita utilizada como uma extensão do Microsoft®Excel e é muito utilizado para modelar e avaliar a cinética de inativação de micro-organismos através de ferramentas avançadas de regressão não linear (LAHOU et al., 2015). O *software* apresenta diferentes modelos de inativação microbiana, que são: Regressão Log-Linear; Modelo Log-Linear + Ombro; Modelo Log-Linear + Cauda; Modelo Log-Linear + Ombro + Cauda; Modelo de Weibull; Modelo de Weibull corrigindo parâmetro p; Modelo de Weibull + Cauda; Modelo Bifásico; Modelo Bifásico + Ombro diferentes. Esses modelos permitem testar qual será o mais adequado para ser utilizado conforme os dados coletados, através dos

parâmetros gerados, como: soma das médias da raiz dos erros quadráticos (RMSE), soma das médias dos erros ao quadrado, coeficiente de determinação (R^2) e coeficiente de determinação ajustado (R^2 adj) (GEERAERD; VALDRAMIDIS; VAN IMPE, 2005).

A microbiologia preditiva foi aplicada para analisar diferentes cenários e processamento da preparação hambúrguer (LAHOU et al., 2015; OU; MITTAL, 2006; PAN; SINGH; RUMSEY, 2000).

Estudos como o de Pan (2000), possibilitaram validar um modelo previsto para as variações de temperatura do centro de hambúrgueres que concordaram bem com os dados experimentais. Ademais, assim como mostrou Lahou et al. (2015), a aplicação da ferramenta GInaFit pode auxiliar na avaliação do efeito do tratamento térmico por frigideira doméstica em carne crua e preparados de carne de diferentes espécies sobre a inativação térmica de agentes patogênicos e a resistência ao calor (valor D).

Contudo, as amostras avaliadas nesses estudos apresentavam proporções menores de carne do que é utilizado nas versões *gourmet* e com isso, a realidade atual do preparo dos hambúrgueres e opção de escolha de parâmetros de cocção tornou-se um desafio sanitário. Assim, nesse estudo foram utilizados modelos matemáticos gerados pelo *software* GInaFit para prever a inativação microbiana na preparação de hambúrguer *gourmet* contaminados artificialmente com um pool de *E. coli*.

A seguir, são apresentados os materiais e métodos, resultados e discussão dessa dissertação na forma de artigo científico, o qual está formatado e será submetido na revista LWT-Food Science and Technology.

2. CAPÍTULO 2

Microbial survival in gourmet hamburger thermally processed by different degrees of doneness

Adriana Denisiuk Barbosa^a, Bibiana Alexandre^a, Eduardo Cesar Tondo^a, Patrícia da Silva Malheiros^a

^a Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Food Science and Food Technology Institute, Food Microbiology and Food Control Laboratory – ICTA/UFRGS, Av. Bento Gonçalves, 9500, Porto Alegre, RS, 91501-970, Brazil.

Highlights

- *Gourmet* burgers safety reduced *E.coli* at a very well-done degree (81°C -16 min);
- Thermal inactivation of *E. coli* was well-fitted by the Weibull model;
- MALDI-TOF/MS showed a low diversity of survivors at the end of the process;
- Visual color e texture were negatively altered in very well-done burgers;
- Restaurants need to validate the thermal process to have safe and quality burgers.

Abstract

Consumption of *gourmet* hamburgers expressively increased worldwide. However, some core temperatures used in its preparation do not reach the cooking limits recommended by regulatory agencies. This study aimed to assess the microbial reduction in a standardized *gourmet* hamburger submitted to different degrees of doneness. Raw patties were artificially contaminated with a pool of *Escherichia coli* (8 log CFU/g) and were quantified after thermally processed in different degrees. Counts were modeled by GInaFiT software using the Weibull model. Mesophilic microorganisms were analyzed and MALDI-TOF/MS identified the survivors. Color and texture were analyzed after each thermal process. Maximum reductions of mesophilic counts (4.3 log CFU/g) and *E. coli* (4.83 log CFU/g) were obtained at 77 °C after 14 min (well-done degree). Recommendation of 5 log-*E. coli* reduction was not reached by any degree and only was reached when the patties had 81 °C after 16 min (very well-done degree), but color and texture were negatively altered. Kinetic parameters showed a strong correlation between experimental data. MALDI-TOF/MS showed low diversity of survivors in hamburgers. Thus, the safety and quality of *gourmet* hamburgers depend on the microbiological quality of ground meat used and validate thermal process considering specific conditions of each food service.

Keywords: *hamburger; gastronomy; ground beef; food safety; Escherichia coli.*

1. Introduction

The hamburger is a tasty and versatile preparation known worldwide as a *fast-food* icon. The hamburger's popularity is impressive, and it is estimated that Americans eat about 50 billion hamburgers per year (Prayson et al., 2008; Unruh et al., 2016). Brazil, another expressive consumer of hamburgers, showed a 30% increase in

restaurants specializing in this preparation in the last years (Marques et al., 2016; Sebrae, 2019).

Recently, new versions of hamburgers were created in gastronomy, using innovative techniques and more sophisticated ingredients. These new versions were called *gourmet* hamburgers. The term *gourmet* is used to denote a more refined, sophisticated, and elaborate cuisine that meets the requirements of consumers (Sormaz et al., 2016).

Gourmet hamburgers are different from industrial hamburgers because they generally have diverse blends of meat, different weights, and thicknesses, and the customer can choose the degree of doneness before eating. The degrees may range from medium-rare, medium to well-done (Røssvoll et al., 2014).

Medium-rare hamburger, which has internal temperatures close to 55 °C, is one of the most chosen degrees of doneness required by meat enjoyers because they claim that flavor and juiciness are better maintained at this degree (Taylor, 2014; Veflen et al., 2020). However, inadequate thermal processing of ground beef can be insufficient to kill all food pathogens, highlighting the importance of controlling the binomial time and temperature.

Therefore, according to guidelines from international regulatory agencies, such as the Minimum Safe Internal Temperature Table (USDA, 2020) and the Canadian Food Inspection Agency - CFIA - (Canada, 2015), ground beef products must be prepared at an internal temperature of at least 71 °C to be considered safe.

In Brazil, federal legislation states that all portions of a product must reach at least 70 °C or be processed using other time and temperature parameters considered safe (Brasil, 2004; 2010).

Escherichia coli is commonly found in red meat and ground beef. Although most *E. coli* are not pathogenic, some serotypes, such as *E. coli* 0157:H7, can cause severe human diseases due to Shiga toxin production (STEC) (FAO, 2005). In Brazil, foodborne illnesses involving STEC and hamburgers were not registered yet (Castro et al., 2019; de Assis et al., 2021). On the other hand, the Brazilian meat segment has used *E. coli* as a predictor to investigate the efficacy of the heat treatments applied to products and assess safety during processing (Brasil, 2019b; Castro et al., 2019; Ferigolo et al., 2021).

This study aimed to evaluate mesophilic and *E. coli* reductions in a standardized *gourmet* hamburger recipe submitted to different degrees of doneness. In addition, microbial survivors were identified, and the color and texture of hamburgers were evaluated after the different heat treatments.

2. Materials and methods

2.1 Characterization of hamburger recipe

A broad study was carried out using gastronomic references and specialized bibliographies to identify a *gourmet* hamburger recipe often used in food services (Gayler, 2004; Husbands et al., 2013; Wright & Treuille, 2019). In addition, menus of 22 restaurants specializing in *gourmet* hamburgers in Porto Alegre city, Southern Brazil, were investigated. As a result, it was possible to identify the bovine cut and weight most used to prepare *gourmet* hamburgers at most restaurants. Therefore, the beef chucks weighing 180 g were selected to make the hamburgers.

The chuck cuts were purchased chilled and vacuum-packed, always from the same slaughterhouse and the same supermarket. Then, the meat pieces were transported in thermal boxes to the Food Microbiology and Food Control Laboratory

(ICTA/UFRGS), where they were stored under refrigeration (4 ± 2 °C) until processing and analysis.

First, the meat pieces were cleaned, and the external fat was separated. Then, the meat was processed in a 4-mm-diameter blade grinder. After that, the hamburgers were shaped inside an aluminum ring 9.0 ± 0.2 cm diameter, 2.0 ± 0.4 cm thickness, and a weight of 180.0 ± 2.0 g.

2.2 Intrinsic characteristics

Raw hamburger samples prepared in the laboratory were evaluated for their physicochemical characteristics. pH was measured by the potentiometric method (Kasvi – model K39–1014B), and water activity (a_w) was measured using an Aqualab 3 TE – Decagon equipment. Lipid quantification was performed by the Soxhlet method, which is based on the solubility of lipids in petroleum ether (IAL, 2008). Protein, ash, and moisture analysis were performed according to AOAC methods (AOAC, 1997; IAL, 2008). All analyses were performed in triplicates and repeated three times on different workdays.

2.3 Thermal processing

Thermal processing was assessed according to the techniques described by Le Cordon Bleu School of Gastronomy (Wright & Treuille, 2019) and two books of hamburger preparation techniques (Gayler, 2004; Husbands et al., 2013). Preparation techniques recommended the controlling the time and temperature of the central part of hamburger patties, which were evaluated. The thermal processing in the laboratory was carried out using the grilling technique to heat 10 mL soybean oil for each hamburger in a cast-iron skillet to 200 ± 10 °C on an electric stove (LE COOK, 1800W

model LC1710). This procedure was performed to simulate the hamburger preparation inside a specialized restaurant.

According to the expert recommendations, it is essential to preheat the griddle before submitting the hamburgers under heat to ensure uniformity of the whole process. Then, raw hamburger patties (10 ± 2.0 °C) were thermally processed and evaluated according to the cooking time and heat transfer to the geometric center of each piece, following guidelines described in references (Table 1). Finally, the hamburgers were submitted to five degrees of doneness pre-established by expert recommendation: rare, medium-rare, medium, medium-well, and well-done.

However, during the microbiological experiments, it was necessary to perform one more degree in addition to the pre-established degrees already established by the researched recommendations. The very well-done degree, with an internal temperature above 81°C, was done to achieve a further reduction of microbiological counts and provide a safety thermal treatment to the *gourmet* hamburgers.

Temperatures were measured at the center of the hamburgers and the base in contact with the oil by using K thermocouples (TENMARS model TM-747 DU) with two measurement channels. The equipment was calibrated, and temperature data was recorded every second. When approximately half of the final temperature was reached in the center of each hamburger, they were flipped. Hamburgers were cooked by the preconized time until reaching the temperature recommended for each degree of doneness. The entire thermal process was recorded.

2.4 Color and texture of hamburgers

The color and texture analyses were carried out to investigate possible changes in the appearance of thermally processed hamburger patties. Raw samples and

samples that achieved different degrees of doneness were cut in the center (diameter 2.0 ± 0.2 cm and height 2.0 ± 0.3 cm), and analysis of color, texture, and shear force were conducted. The color analysis was performed using the Konica Minolta® Chroma Meter CR-400 portable colorimeter (Osaka, Japan) and evaluation measures of the CIELAB system (CIE, 1976). The L^* value gives luminosity, ranging from white ($L^*=100$) to black ($L^*=0$), the a^* value features intensity of coloration from red (+) to green (-), and the b^* value indicates coloration in the range of yellow (+) to blue (-).

The Texture Profile Analysis (TPA) was carried out using a texture meter TAXT-Plus (Stable Micro Systems Inc., Godalming, United Kingdom). A 25-mm-diameter acrylic cylindrical probe was used for TPA, and meat pieces were subjected to a compression load of 50 kg and a distance of 100 mm (Claudino; Bertoloni, 2013). Shear force analysis was performed using a standard Warner-Bratzler shear blade attached to the texture meter, where it was cut in the transverse direction of the hamburger samples, with a cutting speed of 2 mm/s and return speed of 5 mm/s in Newton (N) (Claudino; Bertoloni, 2013; Fernandes, 2019).

2.5 Microbiological analyses

After reaching the time and temperature of each degree of doneness, hamburger patties were put inside an ice bath to interrupt the thermal process immediately. Samples weighing 25 g were collected from hamburgers submitted to each thermal process. They were diluted into 225 mL of 0.1% peptone water, generating a 10^{-1} dilution, homogenized in Stomacher equipment (Stomacher 400, Seward London Clinical) for 1 min. Subsequently, decimal serial dilutions were carried out according to the expected contamination for each degree of doneness.

2.6 Mesophilic counts and microbiological identification

The natural microbiota of hamburger samples was assessed before and after each thermal processing. Total mesophilic counts were carried out on Plate Count Agar (PCA, Merck, Darmstadt, Germany) (Silva et al., 2017). The microbiological identification of each colony presenting different morphological aspects was carried out using proteomic analysis through Matrix-Assisted Laser and Time-Of-Flight desorption/ionization mass spectrometry (MALDI-TOF/MS), model Autoflex Speed (Bruker Corporation, Bremen, Germany), according to Peixoto *et al.* (2019). Briefly, each colony collected on PCA was transferred to a microcentrifuge tube with 300 μ L of milli-Q water. The suspension was homogenized until cloudy using vortex equipment, and then 900 μ L of absolute ethanol was added and homogenized.

The microcentrifuge tube was sealed with parafilm, identified, and transported inside an isothermal container at the Institute of Basic Health Sciences (ICBS/UFRGS) to be analyzed. Identification was performed using the MALDI Biotyper Real-time Classification Wizard automation control, together with the Bruker Taxonomy Software MALDI Biotyper 3.1 (Bruker Daltonik, 2015) database, following the protocols described by Bier et al. (2017).

2.7 *Escherichia coli* strains and artificial contamination of hamburgers

E. coli was chosen for this experiment as a Gram-negative indicator commonly found in ground meat and hamburgers (Grispoldi et al., 2020; Jaja et al., 2018). An *E. coli* pool was used to artificially contaminate hamburgers and evaluate the bactericidal effect of each thermal process. The pool consisted of *E. coli* CQ (isolated from a hot-dog sold by a food truck by Kothe et al. (2016)), *E. coli* DH5- α , and *E. coli* ATCC

25922. All strains belonged to the Food Microbiology and Food Control Laboratory (ICTA/UFRGS).

The strains were grown individually in 9 mL of Brain Heart Infusion broth (BHI; Merck, Darmstadt, Germany) at 37 °C, for 18–24 h. After incubation, 3 mL of BHI broth containing each strain was collected and they were added together, composing a 9-mL suspension of *E. coli* pool. Next, the pool was centrifuged (3500 RPM, 10 min, 4 °C) (CIENEC CT-5000 R, Brazil), the supernatant was discarded, and the pellet was washed three times with 0.1% peptone water (w/w) (Merck, Darmstadt, Germany). Finally, cells were resuspended in 0.1% peptone water (w/w), and the final cell concentration was adjusted through optical density (DO630nm) to reach an initial inoculum of approximately 6.0-8.0 log CFU/g. These concentrations were adopted following the recommendations of the International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF, 2011) for inactivation assays.

Samples of 180 g of ground meat were put inside sterile plastic bags and were contaminated with 9 mL of the *E. coli* pool. The ground meat and the bacterial pool were homogenized by hand for 1 min, and hamburgers were shaped using an aluminum ring and held for 10 min before the thermal process.

2.8 *Escherchia coli* counts

For *E. coli* counts, the hamburgers were prepared according to item 2.5.

Afterward, 1-mL aliquots from the last three dilutions from each sample were plated on Violet Red Bile Agar (VRBA, Merck, Darmstadt, Germany) added of 4-Methylumbelliferyl- β -D-glucuronide (MUG, Oxoid, Hampshire, England). Petri dishes containing VRBA + MUG were incubated at 37 °C for 18-24 h. *E. coli* colonies on VRBA + MUG plates were counted inside a 365 nm wavelength light chamber after incubation

(Davidson *et al.*, 2004; Peixoto *et al.*, 2019). All bacterial counts were done at least three times and in three replicas per variable. Results were expressed in CFU per gram of sample logarithms ($\log \text{CFU/g} \pm \text{Standard Deviation}$).

2.9 Data analysis

The analysis of variance (ANOVA) and Tukey's test ($p \leq 0.05$) were carried out using SAS software (SAS Institute Inc., Cary, USA).

The inactivation kinetics of artificially contaminated hamburgers were modeled using GInaFiT software (Geeraerd and Van Impe Inactivation Model Fitting Tool) version 1.6, Microsoft®Excel. The Root Mean Sum of Squared Errors (RMSE), Mean Sum of Squared Errors, coefficient of determination (R^2), and adjusted coefficient of determination (R^2_{adj}) were evaluated, and the Weibull model was chosen as the best fit. In addition, the time needed for a 4 log reduction of the initial microbial population (4D) was also automatically estimated (Mafart *et al.*, 2001).

3. Results and Discussion

3.1 Intrinsic characteristics of raw hamburger

The a_w was 0.98 ± 0.00 and pH was 5.78 ± 0.11 , and these values were in conformity with typical characteristics of red meat (Forsythe, 2013; ICMSF, 2015). These characteristics are essential to assess the quality of the meat, as they can influence the color, water holding capacity, tenderness, shelf-life, and other factors (Geesink *et al.*, 2000).

Fat concentration (4.44 ± 0.21), protein (22.26 ± 0.51), ashes (0.98 ± 0.06), and moisture (71.67 ± 0.6) were in agreement with the Brazilian and U.S. Code of

Regulations for Hamburgers (Brasil, 2000; CRF, 1970), which is vital because they contribute to the flavor, juiciness, appearance, and texture of meat (Furlán et al., 2014).

3.2 Thermal processing on hamburgers

Table 2 shows the internal temperatures and final processing times for each degree of doneness recommended to the expert techniques (Gayler, 2016; Husbands et al., 2018; Wright & Treuille, 2019). The core temperatures were in agreement with the expert recommendations for each degree. However, although we followed the recommendation of pre-heating the cast iron skillet to 200 °C, two additional minutes of heat exposure were required to reach the core temperatures for each degree, which may be related to the equipment used.

Results showed that higher core temperatures were reached in the referred well-done degree, at 77.1 ± 2.6 °C after 14 minutes of heat treatment. Moreover, after 12 min of heat exposure, the core temperature of hamburgers reached 67.6 ± 1.5 °C, which is referred to as the medium-well degree. These results might be correlated with that found by Lahou et al. (2015), who assessed 120-g hamburgers (diameter 8 cm, thickness 1.5 cm) cooked in an electric frying pan with butter, pre-heated at the highest temperature level, and reached a core temperature of 70 °C after 12 min in the grilling process.

The medium-rare degree, which is the most required by costumers (Røssvoll et al., 2014; Taylor, 2014; Veflen et al., 2020), was reached after 8 min, when the core temperature was 57.0 ± 2.0 °C. Based on these data, this degree did not reach temperatures considered safe by legislations of different countries (Brasil, 2004, 2010; Canada, 2015; FDA, 2009; USDA, 2020).

At the beginning of the heat treatment standardization, a gas grill was used for cooking hamburgers since this equipment was used in some restaurants. However, this approach presented a very long pre-heating time, taking approximately 20 minutes to reach 200 °C. Further, it also took a long time to reach internal temperatures over 70 °C in hamburgers (results not shown). Using the gas grill, the hamburgers showed a dehydrated outer crust, but with a pink color inside. Therefore, inside appearance could be considered satisfactory to consumers. However, since it takes a long time to grill using this technique, some restaurants may mistakenly judge hamburgers as ready based on the outer appearance.

In some restaurants, only visual assessment is used to judge whether hamburgers are done without properly using a thermometer to control the core temperature during heat treatment. The judgment by color appearance should not be adopted to evaluate the degree of doneness of hamburgers. Røssvoll et al. (2014) demonstrated the most consumers judge only by the color change on the outside of hamburger patties to indicate when the hamburgers are ready done for consumption, without checking the internal temperature safety using a thermometer. As a result, many consumers preferred undercooked hamburgers (≤ 60 °C), and these did not reach a safe reduction of *E. coli* 0157:H7, which was the pathogen studied by these authors.

Therefore, according to the equipment used for cooking, judging only by the change in the visual aspect of the hamburgers may be unsafe and leads to a risk of contamination since the core temperatures may not reach food safety recommendations. Hence, these results emphasize the necessity of each restaurant using thermometers correctly to verify core temperatures and standardize the binomial

time and temperature according to its meat sizes, cooking equipment used, heat properties, and cookware.

3.3 Physicochemical parameters and texture analysis

After the thermal process, texture, shear force and color analysis allowed to explain the modifications of different degrees of doneness in the *gourmet* hamburgers with consumer preferences. In Figure 1, the external and internal appearance showed that rare meats (≤ 57 °C) might have a well-grilled surface and retain their juices and bright red color inside, while well-cooked meats (≥ 61 °C) are dry and juiceless.

The objective color analysis of hamburgers (Table 2) showed that the a^* (red color) results are higher in the rare (45 °C) and medium-rare (57 °C) degrees. This characteristic can correlate with more concentrated levels of water and myoglobin in samples (Pearce et al., 2011; Ribeiro et al., 2020).

Holman & Hopkins (2021) argue that the redder color of meats influences consumers' perceptions of freshness, value, and purchase willingness. This is paramount to a profitable commercial market, which may further confirm consumers' preference for medium-rare degree meats.

The medium (61 °C), medium-well (67 °C), and well-done (77 °C) degrees show a higher luminosity (L^*) and yellow coloration (b^*) in the central part, with no significant differences between them. The results of brightness and coloration may be related to the water content and mobility towards the surface, muscle structure and pH after lengthy thermal processing. Moreover, in cooked meat, the primary pigment found in brown, determined by denaturation of the protein part and can be determined by other factors, such as caramelization of carbohydrates and Maillard reaction (AMSA, 2012; Novello & Pollonio, 2014).

The shear force was the experimental analysis performed to evaluate the energy required to cut meat and the perception of hardness (Ordóñez, 2004). In Table 3, most of the shear force results and hardness showed significant differences, increasing among the different degrees of doneness, especially in medium (61 °C), medium-well (67 °C), and well-done (77 °C). These results were expected because hamburgers submitted to these degrees of doneness are more exposed to heat during more time, so that a greater force is necessary to cut and compress samples.

Prolonged exposure to heat can also result in protein denaturation, collagen solubilization, significant water and fat losses. All these changes can negatively affect the juiciness and tenderness of the meat products (Toldrá, 2010; Unruh et al., 2016).

Changes in the texture of the hamburgers were evaluated by measurements of TPA parameters as well. Lower rates of return to original size and shape were observed from the medium-rare (57 °C) degree for springiness. These results seem to be affected by myosin and α -actinin denaturation, water loss of samples, and stiffening of muscle fibers, which occur in this temperature range (Hulánková et al., 2018; Joo et al., 2013; Palka & Daun, 1999).

In gastronomy, it is necessary to adequately control the thermal process that may influence factors such as the color and texture of the meat and maintain the process according to consumer's preferences to obtain quality products (Ishiwatari et al., 2013).

3.4 Mesophilic counts in *gourmet* hamburgers

The initial total mesophilic counts of raw ground beef were 7.48 ± 0.05 log CFU/g (Table 4). This count was similar than that found in other studies conducted with Brazilian ground beef (Fenelon et al, 2019; Monteiro et al., 2018; Oliveira et al, 2017;)

and this count may be related to the meat grinding process. In addition, Pinho et al. (2013) conducted a review of the microbiological control and hygienic-sanitary conditions of hamburger sandwiches in different countries. They found that ground meat can have a higher mesophilic count due to its more exposed surface.

In a study conducted by Edward et al. (2013), the microbiological quality of cooked hamburgers from *fast food* restaurants in Umuahia, Nigeria was assessed. As the hamburgers evaluated were purchased already cooked, the authors did not inform what processing temperature was used to prepare the hamburgers. The results showed about 4.5 log CFU/g of mesophilic microorganisms counts in the samples. Hence, the authors emphasize that to ensure the safe preparation of hamburgers, one should use adequate cooking temperature (71 °C) and avoiding recontamination after cooking by surfaces previously contaminated with raw meat or other ingredients.

In our results it was observed a reduction of 4.34 log CFU/g after 14 min at the well-done (77 °C) degree and a final count of 2.49 ± 0.12 log CFU/g was achieved after 16 min grilling at an internal temperature of approximately 81 °C (very well-done).

After heat treatment, some viable cells were still found on PCA plates. The surviving genera were identified using MALDI-TOF/MS, an excellent research tool for detecting and discriminating various types of microorganisms (Álvarez-Buylla et al., 2012; Pasternak, 2012; Wieser et al., 2012). Figure 2 has the MALDI-TOF/MS results demonstrating that the main genera identified were *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Lactobacillus*, *Hafnia*, *Pseudomonas*, and *Serratia*. These are microorganisms involved in the deterioration of meats and meat derivatives. However, no apparent visual change was observed in the samples used in the experiments. These results are similar to the data found in the study of Peixoto et al. (2019), who analyzed the microbiota of beef tenderloin medallions before and after grilled points. In addition,

species of the genera *Bacillus*, *Pseudomonas*, and *Staphylococcus* were found at the end of the thermal process in both studies, demonstrating that these genera were resistant to the used heat treatment.

In one sample submitted to a well-done degree, the persistence of *Hafnia alvei* was observed. This species is often found in vacuum-packed meat samples and can grow at a wide temperature range (Ridell, 1999; Vivas, 2020). In the study performed by Ferigolo et al. (2021), samples of refrigerated and vacuum-packed beef tenderloin pieces were evaluated before and after the process of the *sous vide* treatment. The authors also identified *H. alvei* in the samples during thermal processing. In our study, the presence of this microorganism can be justified because we have used vacuum-packaged raw material. *H. alvei* is considered a relevant bacterium in the food industry since it is crucial in the deterioration of meat products and hospital infections, which include gastroenteritis (Li et al., 2019; Ridell, 1999; Tan et al., 2019; Vivas, 2020).

Non-inoculated *E. coli* was also identified in the ground beef samples. However, in samples submitted to the medium degree (61 °C), it was not identified anymore. Contamination of meat with *E. coli* usually occurs during the slaughter process, when carcasses can be contaminated by soiled hides or intestinal leakage content during dressing and evisceration (Grispoldi et al., 2020). For the Brazilian meat industry, this is a critical indicator microorganism used to evaluate sanitary conditions of processing and meat products. Therefore, generic *E. coli* limits 5×10^2 CFU/g were established by Normative Instruction N°. 60 of 23 December 2019 (Brasil, 2019b) for raw ground beef products, such as hamburgers.

This study did not identify pathogenic bacteria as *Salmonella*, *Shigella*, or *Clostridium perfringens* in ground beef, indicating that the analyzed meat pieces came from adequate suppliers, which is crucial for the production of safe hamburgers.

3.6 *Escherichia coli* thermal inactivation

It is well known that *E. coli* O157:H7 can be found in hamburgers of different countries (Signorini & Tarabla, 2009; USDA, 2016). However, in Brazil, *E. coli* O157:H7 is not commonly found in foods. On the other hand, generic *E. coli* was one of the main microorganisms isolated from foods involved in foodborne outbreaks from 2009 to 2018 in Brazil (Brasil, 2019a), and the control of this microorganism is considered relevant to the Brazilian industry (Ribeiro et al., 2020). Based on that, in the present study, the inactivation of generic *E. coli* was chosen to evaluate whether the thermal processes used in restaurants for *gourmet* hamburgers are safe.

Results of *E. coli* inactivation in the *gourmet* hamburgers after each degree of doneness are shown in Table 4. The initial concentration of *E. coli* in the raw hamburgers was 6.59 ± 0.15 log CFU/g. The maximum reduction achieved by thermal processing after 14 min was 4.83 log CFU/g at the well-done degree (77.1 ± 2.6 °C), which did not exceed the minimum 5 log CFU/g reduction in meat products required by Food Safety and Inspection Service in the United States (USDA- FSIS; 2017).

Moreover, in the well-done hamburgers a count of 5.8×10^1 CFU/g of *E. coli* remained in the samples, and the Brazilian legislation (Brazil, 2019b) establishes a limit of 2.0×10^1 CFU/g for *E. coli* in ready-to-eat foods prepared with heat, and these results of count for *E. coli* are also in disagreement with the safe consumption parameters of hamburgers for this country.

Our results show a need for more time on the grill than the study of Peixoto et al. (2019). The latter investigated the thermal inactivation of generic *E. coli* in tenderloin beef medallions (100 g) using two different grilling techniques. The study demonstrated that 8 minutes at 68.2 °C were required to achieve the maximum reduction of approximately 1.74 log CFU/g and complete inactivation was achieved after 11 min at a core temperature of 75 °C just using the grilling technique without the oven at the end. Due to larger meat portions and higher fat concentration, *gourmet* hamburgers showed higher time and heat requirements for a safe heat treatment than tenderloin beef medallions.

Since the degrees evaluated in the present study did not reach the safe 5 log-reduction of *E. coli*, hamburgers were submitted to one more degree of doneness to assess a higher reduction of *E. coli* in the samples.

The very well-done degree reached a core temperature of 81.3 ± 1.4 °C after 16 min on the grill. This degree was the only one that resulted in an *E. coli* quantification below the detection limit of the technique and exceeded the 5 log-*E. coli* reduction (USDA-FSIS, 2017). However, the visual evaluation of patties submitted to a well-done degree showed a burnt crust and an extremely dry interior (Figure 3), which would probably not be accepted by customers. Further, it would be difficult to reproduce in restaurants, due to the extended heat process time and the non-satisfactory appearance in texture, juiciness, and color in hamburgers to the meat consumers' preference (Røssvoll et al., 2014).

The necessity of more time and temperature for a safe reduction of *E. coli* may be related to the thickness and volume of meats used in the *gourmet* versions of hamburgers because other studies of microbial inactivation in hamburgers used

smaller meat sizes and had better results (Boqvist et al., 2015; Gurman et al., 2016; Røssvoll et al., 2014).

The experimental data on *E. coli* concentration obtained at each degree of doneness through the grilling process were fitted to GInaFiT software, which simulated microbial reductions. The Weibull model was selected and used to represent the inactivation curve. The fit was good with $R^2 = 0.99$, $R^2 \text{ adj} = 0.99$, $\text{RMSE} = 0.15$, and Mean Sum of Squared Errors = 0.02.

As presented in Figure 4, the survival curve was non-log-linear and indicated that *E. coli* inactivation followed first-order kinetics, confirming the adequacy of the model to our experimental data.

The 4D reduction automatically provided by the Weibull model was 12 minutes. The 4D is a value generated in non-linear curves and represents four times the D value, which is the time to reduce 1 log CFU/g of *E. coli* (Mafart et al., 2001). According to the kinetic results, 1 log CFU/g of *E. coli* will be achieved every 3 min in hamburgers exposed to the heat treatment. Furthermore, with the model, it is possible to predict that the safe reduction can be reached after 15 min with a core temperature of approximately 80 °C.

The results shown in the present study may be useful to evaluate the inactivation of enteropathogenic *E. coli* in *gourmet* hamburgers since generic *E. coli* may behave similarly to pathogenic serovars.

In previous studies (Juneja et al., 1997) with smaller hamburgers (100 g meat) fried until the core temperature reached 68.3 °C, after 4 min, the results of inactivation of *E. coli* 0157:H7 (10^8 log CFU/g) were not safe, since the reduction did not exceed more than 4 log CFU/g. In addition, the authors reported that the lethality of *E. coli* 0157:H7 may be influenced by factors such as meat composition and cooking rate

through the time and temperature required for inactivation, which are factors established in our study and may support further analyses on *gourmet* version hamburgers and this microorganism.

Therefore, controlling time and temperature is crucial for the safety and quality of *gourmet* hamburgers and thermal processes must be validated in each food service.

4. Conclusions

It is possible to conclude that, considering the standardized *gourmet* hamburger recipe and in conditions studied in the laboratory, the different degrees of doneness did not inactivate 5 log CFU/g of *E. coli* recommended for safe meat products. This reduction was achieved in the degree named very well-done, in which the hamburger core temperature reached over 81 °C after 16 min of processing. However, this time and temperature treatment negatively affected the color and texture of patties, and the appearance was considered unsatisfactory.

The kinetic parameters indicated a strong correlation between *E. coli* survival and processing time to grilling the hamburgers and the Weibull model validated the data obtained experimentally in the laboratory.

Some bacterial genera could survive the different degrees of doneness in hamburgers, demonstrating that even well-done hamburgers still contain viable bacterial cells. The survivor bacteria were considered non-pathogenic but may act as opportunistic pathogens. Therefore, the microbiological quality of the raw ground meat used to make hamburgers is critical to its safety. Furthermore, to ensure the safety of *gourmet* hamburgers and provide an attractive product for consumers, it is necessary to follow proper hygiene practices throughout the process.

Finally, it is essential to highlight that the time and temperature combination of the thermal process of *gourmet* hamburgers should be validated inside each food service, considering specific realities. Characteristics as the recipe, type of meat, fat and moisture content, size and dimensions of hamburger patties, the equipment used for cooking, and the correct use of thermometers to control the heat treatment should be considered to serve safe *gourmet* hamburgers.

Acknowledgments

This work received financial support from Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes).

Conflict of interests

No conflict of interests is declared.

5. References

- Álvarez-Buylla, A., Culebras, E., & Picazo, J. J. (2012). Identification of Acinetobacter species: Is Bruker biotyper MALDI-TOF mass spectrometry a good alternative to molecular techniques? *Infection, Genetics and Evolution*, 12(2), 345–349. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.01.002>
- AMSA, A. M. S. A. (2012). American Meat Science Association – International [AMSA]. In *Meat color measurement guidelines*. (Revised De, Vol. 12, Issue 2). <https://doi.org/10.1007/s11786-018-0341-9>
- AOAC, A. of O. A. C. (1997). *Official methods of analysis (16a ed)*.
- Bier, D., Tutija, J. F., Pasquatti, T. N., Oliveira, T. L., Araújo, F. R., & Verbisck, N. V. (2017). Identificação por espectrometria de massa MALDI-TOF de *Salmonella spp.* e *Escherichia coli* isolados de carcaças bovinas. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 37(12), 1373–1379. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2017001200003>
- Boqvist, S., Fernström, L. L., Alsanus, B. W., & Lindqvist, R. (2015). *Escherichia coli* O157:H7 reduction in hamburgers with regard to premature browning of minced beef, colour score and method for determining doneness. *International Journal of Food Microbiology*, 215(1), 109–116. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmic ro.2015.0>

8.023

- Brasil. (2000). Instrução Normativa nº 20, de 31 de julho 2000. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de hambúrguer, almôndega e fiambre. In *Publicado no Diário Oficial da União de 31/07/2000* (Vol. 1, Issue 1). <http://medcontent.metapress.com/index/A65RM03P4874243N.pdf>
- Brasil. (2004). RDC Nº 216. Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. *Ministério Da Saúde*. <http://portal.anvisa.gov.br/>
- Brasil. (2010). Doenças Transmitidas por alimentos. *Ministério Da Saúde.*, 1(1), 160. http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_integrado_vigilancia_doencas_alimentos.pdf
- Brasil. (2019a). Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil Informe 2018. In *Ministério da Saúde*. (Fevereiro). Ministério da Saúde - MS. <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/fevereiro/15/Apresenta----o-Surtos-DTA---Fevereiro-2019.pdf>
- Brasil. (2019b). *Instrução Normativa Nº 60, de 23 de dezembro de 2019*. Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 23 de dezembro de 2019.
- Bruker Daltonik. (2015). *Maldi Biotyper 4.0 User Manual Revision 1* (Revision B; Issue August, pp. 108–111). Pag. 174.
- Canada, G. of C. (2015). *Safe Food for Canadians Regulations*.
- Castro, V. S., Figueiredo, E. E. de S., Stanford, K., McAllister, T., & Conte-Junior, C. A. (2019). Shiga-Toxin producing *Escherichia coli* in Brazil: A systematic review. *Microorganisms*, 7(5). <https://doi.org/10.3390/microorganisms7050137>
- Claudino, F. B., & Bertoloni, W. (2013). Perfil de textura e composição de hambúrgueres elaborados com diferentes teores de gordura e plasma sanguíneo bovino. *Archives of Veterinary Science*, 18(2), 01–08. <https://doi.org/10.5380/avs.v18i2.26562>
- de Assis, D. C. S., da Silva, T. M. L., Brito, R. F., da Silva, L. C. G., Lima, W. G., & Brito, J. C. M. (2021). Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in bovine meat and meat products over the last 15 years in Brazil: A systematic review and meta-analysis. *Meat Science*, 173(November 2020). <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108394>
- Edward, K. ., Ikpawho, E., & Ibekwe, V. I. (2013). The bacteriological quality of Hamburger patties from fast-food restaurants in Umuahia, Nigeria. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 5(3), 27–29. <https://doi.org/10.9790/3008-0532729>
- FAO, F. and A. O. of the U. N. (2005). *Codex Alimentarius. Código de práticas de higiene para a carne*. (Vol. 1, Issue 1985, pp. 1–55). <http://www.esac.pt/noronha/manuais/Codex - CBP Carne.pdf>
- FDA. (2009). Food Code. *US Public Health Service*, 0001(1), 237–304.
- Ferigolo, L. P., Elias, S. de O., Silva, D. C. da, Lopes, S. M., Geimba, M. P., & Tondo., E. C. (2021). *Escherichia coli* inactivation on tenderloin beef medallions processed by sous vide treatment. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 104743. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2021.100366>

- Fernandes, A. B.C. (2019). Preparation of beef burger with addition of sorghum flour (Sorghum Vulgare). *Pubsaude*, 1–15. <https://doi.org/https://dx.doi.org/10.31533/pubsaude2.a009>
- Forsythe, S. J. (2013). *Microbiologia da segurança dos alimentos*. (Artmed (ed.); 2nd ed.).
- Furlán, L. T. R., Padilla, A. P., & Campderrós, M. E. (2014). Development of reduced fat minced meats using inulin and bovine plasma proteins as fat replacers. *Meat Science*, 96(2), 762–768. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.09.015>
- Gayler, P. (2004). *Burgers*. ((1st ed.)). Jacqui Small LLP.
- Geesink, G. H., Bekhit, A. D., & Bickerstaffe, R. (2000). Rigor temperature and meat quality characteristics of lamb longissimus muscle. *Journal of Animal Science*, 78(11), 2842–2848. <https://doi.org/10.2527/2000.78112842x>
- Grispoldi, L., Karama, M., Hadjicharalambous, C., de Stefani, F., Ventura, G., Ceccarelli, M., Revoltella, M., Sechi, P., Crotti, C., D’Innocenzo, A., Couto-Contreras, G., & Cenci-Goga, B. (2020). Bovine lymph nodes as a source of *Escherichia coli* contamination of the meat. *International Journal of Food Microbiology*, 331(December 2019). <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.10.8715>
- Gurman, P. M., Ross, T., Holds, G. L., Jarrett, R. G., & Kiermeier, A. (2016). Thermal inactivation of *Salmonella* spp. in pork burger patties. *International Journal of Food Microbiology*, 219, 12–21. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.11.014>
- Hulánková, R., Kameník, J., Saláková, A., Závodský, D., & Borilova, G. (2018). The effect of dry aging on instrumental, chemical and microbiological parameters of organic beef loin muscle. *LWT - Food Science and Technology*, 89(May 2017), 559–565. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.014>
- Husbands, A., Hart, C., & Pyenson, A. (2013). *Wicked Good Burgers: Fearless Recipes and Uncompromising Techniques for the Ultimate Patty* (1 edition.). Fair Winds Press.
- IAL, I. A. L. (2008). *Métodos químicos e físicos para análise de alimentos* (Instituto Adolfo Lutz (ed.); 3 ed.).
- ICMSF, I. C. on M. S. for F. (2015). *Microrganismos em Alimentos 8: Utilização de Dados Para Avaliação do Controle de Processo e Aceitação de Produto* (1 (Portugu). Blucher.
- Ishiwatari, N., Fukuoka, M., & Sakai, N. (2013). Effect of protein denaturation degree on texture and water state of cooked meat. *Journal of Food Engineering*, 117(3), 361–369. <https://doi.org/10.1016/j.jfoode.2013.03.013>
- Jaja, I. F., Green, E., & Muchenje, V. (2018). Aerobic mesophilic, coliform, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus* counts of raw meat from the formal and informal meat sectors in South Africa. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(4). <https://doi.org/10.3390/ijerph15040819>
- Joo, S. T., Kim, G. D., Hwang, Y. H., & Ryu, Y. C. (2013). Control of fresh meat quality through manipulation of muscle fiber characteristics. *Meat Science*, 95(4), 828–836. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.04.044>

- Juneja, V. K., Snyder, O. P., Williams, A. C., & Marmer, B. S. (1997). Thermal Destruction of *Escherichia coli* O157:H7 in Hamburger. *Journal of Food Protection*, 60(10), 1163–1166. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-60.10.1163>
- Kothe, C. I., Schild, C. H., Tondo, E. C., & da Silva Malheiros, P. (2016). Microbiological contamination and evaluation of sanitary conditions of hot dog street vendors in Southern Brazil. *Food Control*, 62, 346–350. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.11.005>
- Li, T., He, B., Mei, Y., Wang, D., Sun, X., & Li, J. (2019). Inhibitory effect of vanillin on the virulence factors and biofilm formation of *Hafnia alvei*. *Lwt*, 102, 223–229. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.038>
- Mafart, P., Couvert, O., Gaillard, S., & Leguerinel, I. (2001). On calculating sterility in thermal preservation methods: Application of the Weibull frequency distribution model. *Acta Horticulturae*, 566, 107–114. <https://doi.org/10.17660/Actahortic.2001.566.11>
- Marques, G. D., Maia, H. De A. O., & Horta, P. M. Do V. (2016). *Hambúrguer: o fast food inspirando a gastronomia brasileira*. 3(2), 98–107.
- Monteiro, E. da S., Costa, P. A. da, Manfrin, L. de C., Freire, D. O., Silva, I. C. R. da, & Orsi, D. C. (2018). Microbiological quality of minced beef sold in supermarkets of the Federal District, Brazil. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, 12(4). <https://doi.org/10.5935/1981-2965.20180048>
- Novello, D., & Pollonio, M. A. R. (2014). Avaliação sensorial e da cor objetiva de hambúrgueres congelados formulados com linhaça dourada e derivados. *Revista Do Instituto Adolfo Lutz*, 73(4), 331–337. <https://doi.org/10.18241/0073-98552014731623>
- Ordóñez, J. A. (2004). *Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal* (Português (ed.); Volume 2). Artmed.
- Palka, K., & Daun, H. (1999). Changes in texture, cooking losses, and myofibrillar structure of bovine M. semitendinosus during heating. *Meat Science*, 51(3), 237–243. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(98\)00119-3](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(98)00119-3)
- Pan, Z., Singh, R. P., & Rumsey, T. R. (2000). Predictive modeling of contact-heating process for cooking a hamburger patty. *Journal of Food Engineering*, 46(1), 9–19. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(00\)00063-7](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(00)00063-7)
- Pasternak, J. (2012). New methods of microbiological identification using MALDI-TOF. *Einstein (São Paulo)*, 10(1), 118–119. <https://doi.org/10.1590/s1679-450820120010100026>
- Pearce, K. L., Rosenvold, K., Andersen, H. J., & Hopkins, D. L. (2011). Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes - A review. *Meat Science*, 89(2), 111–124. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.04.007>
- Peixoto, C. R., Armendaris, P., Grassi, A., Walker Hengles, F. A., & Tondo, E. C. (2019). *Escherichia coli* inactivation on tenderloin beef medallions fried to different degrees of doneness. *Food Control*, 106(March), 106683. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.06.009>

- Pinho, J. P. A., Sousa, J. V. B., Bezerra, K. C. B., & Carvalho, L. M. F. (2013). Calidad microbiológica de los sándwiches de hamburguesa: una revisión. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699.
- Prayson, B., McMahon, J. T., & Prayson, R. A. (2008). Fast food hamburgers: what are we really eating? *Annals of Diagnostic Pathology*, 12(6), 406–409. <https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2008.06.002>
- Rawdkuen, S., Punbusayakul, N., & Lee, D. S. (2016). Antimicrobial Packaging for Meat Products. *Antimicrobial Food Packaging* (Antimicrob, pp. 229–241). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800723-5.00017-6>
- Ribeiro, Caio César de Sousa; Castillo, C. J. C., Donado, P. R. dos S., & Venturini., A. C. (2020). New alternatives for improving and assessing the color of dark-cutting beef – a review. *Scientia Agricola*, 79(1), 1–16. <https://doi.org/10.1590/1678-992x-2020-0079>
- Ribeiro, Lannie de Menezes, J., Alves, D. A. T., Martins, O. A., dos Santos, E. A., & Raghianti, F. (2020). Hygienic-sanitary quality of ground beef. *Brazilian Journal of Hygiene and Animal Sanitary*, 44–52.
- Ridell, J. (1999). *Hafnia alvei*. In R. K. Robinson (Ed.), *Encyclopedia of Food Microbiology* (Three-Volu, p. Pages 973-976). Academic Press Inc.
- Røssvoll, E., Sørheim, O., Heir, E., Møretrø, T., Olsen, N. V., & Langsrud, S. (2014). Consumer preferences, internal color and reduction of shigatoxigenic *Escherichia coli* in cooked hamburgers. *Meat Science*, 96(2), 695–703. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.09.009>
- Sebrae. (2019). Como montar uma hamburgueria. In *Empreendedorismo*. Serviço Brasileiro De Apoio Às Micro E Pequenas Empresas - Brasil. <http://Www.Novonegocio.Com.Br/Ideias-De-Negocios/Como-Montar-Uma-Grafica/>
- Signorini, M., & Tarabla, H. (2009). Quantitative risk assessment for verocytotoxigenic *Escherichia coli* in ground beef hamburgers in Argentina. *International Journal of Food Microbiology*, 132(2–3), 153–161. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.04.022>
- Sormaz, U., Akmeshe, H., Gunes, E., & Aras, S. (2016). Gastronomy in Tourism. *Procedia Economics and Finance*, 39(November 2015), 725–730. [https://doi.org/10.1016/S2212-5671\(16\)30286-6](https://doi.org/10.1016/S2212-5671(16)30286-6)
- Tan, J. Y., See-Too, W. S., Convey, P., & Chan, K. G. (2019). Characterisation of quorum sensing system and its role in global regulation in *hafnia alvei*. *BioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/812727>
- Toldrá, F. (2010). Thermal processing. In F. Toldrá (Ed.), *In Handbook of Meat Processing* (Ed.; John, pp. 169–183).
- Unruh, D. A. et al. (2016). Handling of hamburgers and cooking practices. In *Food Hygiene and Toxicology in Ready-to-Eat Foods* (pp. 107–122). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801916-0.00007-8>
- Unruh, D., Kastner, J., Jenott, J., & Gragg, S. (2016). Handling of hamburgers and cooking practices. In *Food Hygiene and Toxicology in Ready-to-Eat Foods* (pp.

- 107–122). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801916-0.00007-8>
- USDA- FSIS. (2017). FSIS Compliance Guideline for Stabilization (Cooling and Hot-Holding) of Fully and Partially Heat-Treated RTE and NRTE Meat and Poultry Products Produced by Small and Very Small Establishments and Revised Appendix B 2017 Compliance Guideline. *Performance Standards for the Production of Certain Meat and Poultry Products*, 64(3), 732–749.
- USDA, U. S. D. of A. (2016). *Ground Beef and Food Safety*. Food Safety and Inspection Service. https://www.fsis.usda.gov/wps/portal/fsis/topics/food-safety-education/get-answers/food-safety-fact-sheets/meat-preparation/ground-beef-and-food-safety/CT_Index.
- USDA, U. S. D. of A. (2020). *Safe Minimum Internal Temperature Chart*. 11 MAY. <https://www.fsis.usda.gov/food-safety/safe-food-handling-and-preparation/food-safety-basics/safe-temperature-chart>
- Veflen, N., Røssvoll, E., Langsrud, S., & Scholderer, J. (2020). Situated food safety behavior. *Appetite*, 153(July 2018). <https://doi.org/10.1016/j.appet.2020.104751>
- Vivas, J. R. (2020). Microbiología de *Hafnia alvei*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*.
- Wieser, A., Schneider, L., Jung, J., & Schubert, S. (2012). MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics-identification of microorganisms and beyond (mini review). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 93(3), 965–974. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3783-4>
- Wright, J., & Treuille, E. (2019). *Todas as técnicas culinárias - Le Cordon Bleu: Academie D'Art Culinaire de Paris*. (12a. Re ed.) Academie D'art culinaire de Paris (4 (ed.); 16a. re.). Ed. Barueri. Marco Zero.

Figure captions

Fig. 1: Visual internal color of *gourmet* hamburger grilled to different degrees of doneness. 1) Rare 2) Medium-rare 3) Medium 4) Medium-well 5) Well-done.

Fig. 2: Natural microbiota in raw and thermally processed hamburger samples at different degrees of doneness.

Fig. 3: Visual characteristics of *gourmet* hamburger grilled to a very well-done degree.

Fig. 4: Inactivation curve of *Escherichia coli* obtained by Weibull model. ▫: observed curve. -: estimated curve by the inactivation model.

Figure 1

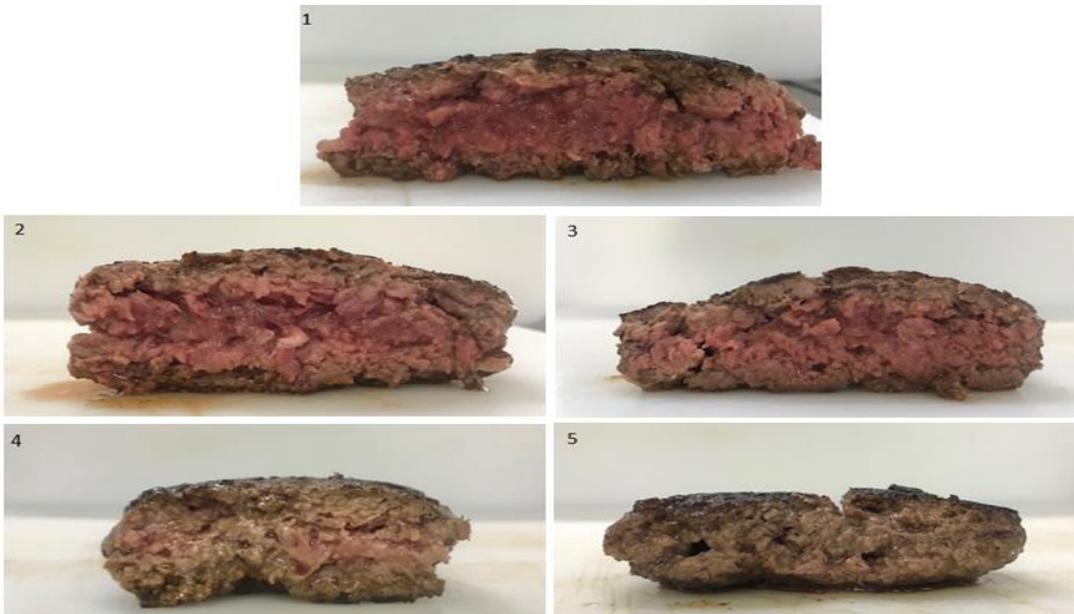


Figure 2

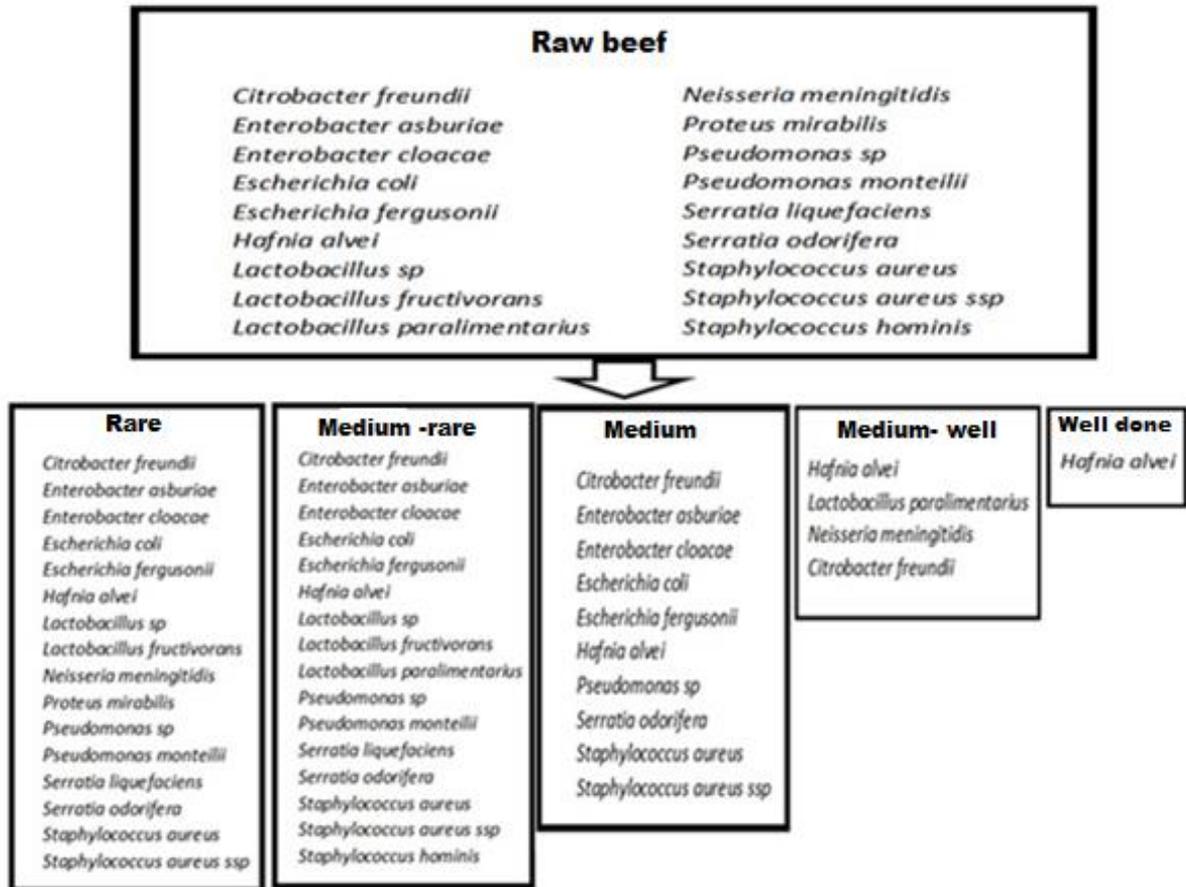


Figure 3



Figure 4

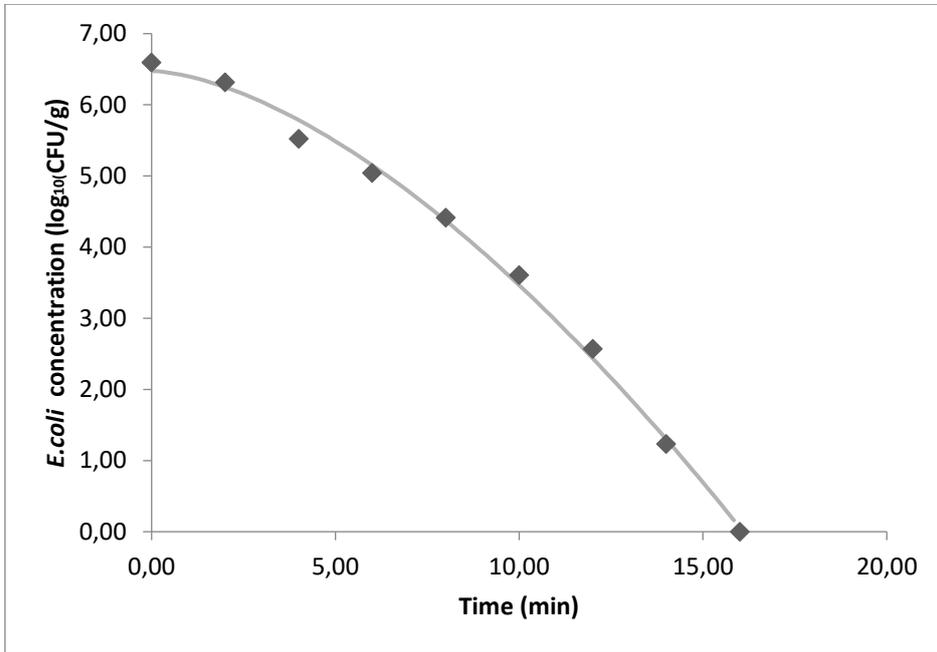


Table 1.

Parameters for grilling hamburger preparation based on the technique described by Le Cordon Bleu (Wright & Treuille, 2016), Gayler (2016) and Husbands et al. (2018).

Degrees of doneness	Controlled parameter	
	Grill time	Central temperature
Rare	4 min (2 mins each side)	45 – 49 °C
Medium-rare	6 min (3 min each side)	54 – 57 °C
Medium	8 min (4 min each side)	60 – 63 °C
Medium-well	10 min (5 min each side)	66 – 68 °C
Well-done	More than 10 min (+5 min each side)	71 – 80 °C

Table 2.

Thermal processing and color analysis at the center of *gourmet* hamburger grilled to different degrees of doneness.

Degrees of doneness	Controlled parameter				
	Processing time and temperature		Color analysis		
	TMax. (°C)	Time (min)	<i>L</i> *	<i>a</i> *	<i>b</i> *
Raw	10.2 ± 2.0	0	34.01 ± 2.86 ^b	15.44 ± 0.28 ^a	7.39 ± 0.48 ^c
Rare	45.3 ± 4.7	6	32.84 ± 1.80 ^b	12.33 ± 1.04 ^{ab}	7.36 ± 0.27 ^c
Medium-rare	57.0 ± 2.0	8	32.66 ± 0.67 ^b	12.05 ± 2.41 ^{ab}	9.67 ± 0.77 ^b
Medium	61.0 ± 1.7	10	41.37 ± 2.07 ^a	11.76 ± 0.47 ^b	11.22 ± 0.48 ^a
Medium- well	67.6 ± 1.5	12	41.63 ± 1.57 ^a	9.53 ± 0.44 ^{bc}	11.71 ± 0.52 ^a
Well done	77.1 ± 2.6	14	42.50 ± 2.53 ^a	8.21 ± 0.71 ^c	11.40 ± 0.20 ^a

Data represent mean ± standard deviation of a minimum of 3 measurements. Different superscript letters in a column indicate significant differences by the Tukey test ($p < 0.05$)

TMax = maximum temperature at the center in Celsius (°C)

Time = maximum processing time in minutes

Table 3.

Texture parameters of thermally processed *gourmet* hamburgers. Note: (1) does not have a unit of measure, as it is dimensionless.

Degrees of doneness	Texture parameters				
	Shear force (kgf)	Hardness (g)	Springiness ¹	Chewiness (g)	Cohesiveness ¹
Raw	0.25 ± 0.10 ^e	236.86 ± 27.97 ^e	3.42 ± 0.22 ^b	1247.14 ± 231.51 ^c	1.54 ± 0.14 ^b
Rare	0.62 ± 0.05 ^d	540.78 ± 28.25 ^d	4.43 ± 0.32 ^a	5048.84 ± 1116.12 ^b	2.08 ± 0.22 ^a
Medium-rare	1.36 ± 0.03 ^c	1318.92 ± 22.92 ^c	2.65 ± 0.39 ^{bc}	5143.43 ± 920.13 ^b	1.47 ± 0.08 ^b
Medium	1.72 ± 0.01 ^b	2907.75 ± 94.55 ^a	2.24 ± 0.18 ^c	7747.88 ± 619.54 ^{ab}	1.52 ± 0.23 ^b
Medium-well	1.87 ± 0.10 ^b	2161.78 ± 117.33 ^{ab}	2.33 ± 0.41 ^c	7633.99 ± 1872.71 ^{ab}	1.52 ± 0.23 ^b
Well-done	2.19 ± 0.24 ^a	2986.47 ± 48.84 ^a	1.88 ± 0.29 ^c	6789.47 ± 801.09 ^{ab}	1.20 ± 0.11 ^b

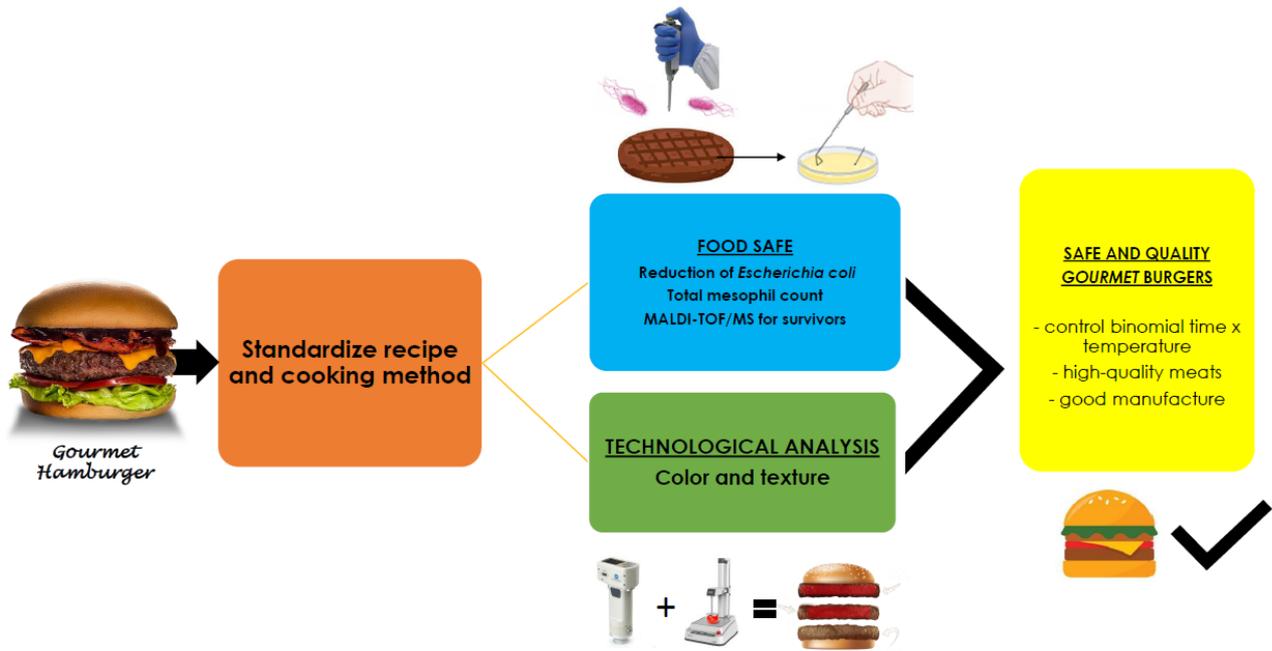
Data represent mean ± standard deviation of minimum 3 measurements. Different superscript letters in a column indicate significant differences by the Tukey test ($p < 0.05$)

Table 4.

Log *E. coli* and mesophilic total counts/g after thermal processing of *gourmet* hamburgers subjected to different degrees of doneness. TMax = maximum temperature. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$); ND: not detected (*E. coli* counts < 1.0 log CFU/g).

Degrees of doneness	Controlled parameter			
	Time (min)	TMax (°C)	<i>E. coli</i> (log CFU/g)	Mesophilic total (log CFU/g)
Raw	0	10.2 ± 2.0	6.59 ± 0.15 ^a	7.48 ± 0.05 ^a
Rare	6	45.3 ± 4.7	5.52 ± 0.44 ^b	6.53 ± 0.02 ^b
Medium-rare	8	57.0 ± 2.0	4.41 ± 0.55 ^c	5.55 ± 0.04 ^c
Medium	10	61.0 ± 1.7	3.60 ± 0.11 ^c	4.64 ± 0.03 ^d
Medium-well	12	67.6 ± 1.5	2.57 ± 0.32 ^d	4.33 ± 0.03 ^e
Well-done	14	77.1 ± 2.6	1.76 ± 0.09 ^d	3.14 ± 0.12 ^f
Very well-done	16	81.3 ± 1.4	ND ^e	2.49 ± 0.21 ^g

Graphical abstract



3. CAPÍTULO 3

3.1 DISCUSSÃO GERAL

Quando elaborado com qualidade, o hambúrguer *gourmet* torna-se notável, tanto que diversos chefs talentosos estão investindo nessa preparação que está ganhando destaque nos cardápios de restaurantes ao redor do mundo.

Assim, com esse trabalho foi possível caracterizar uma receita de hambúrguer na versão *gourmet* usualmente utilizada em referências importantes da gastronomia e em estabelecimentos especializados por essa preparação (HUSBANDS; HART; PYENSON, 2013; WRIGHT, J., & TREUILLE, 2019). Além de analisar os aspectos físicos, como cor e textura, após tratados termicamente, a segurança da preparação foi verificada pela redução microbiana após diferentes pontos de cocção, uma vez que algumas preparações solicitadas pelos consumidores não atendem aos parâmetros de temperatura estabelecidos como seguros para consumo pelas legislações vigentes (BRASIL, 2002, 2004; CANADA, 2015; FDA, 2009, 2017; USDA, 2020).

Na padronização da receita, foi possível estabelecer que o corte bovino acém é um dos mais consumidos. Normalmente, cortes mais suculentos, ou seja, com mais gordura intramuscular, como os cortes do dianteiro bovino, são os selecionados pelos restaurantes especializados. Conforme referências gastronômicas (HUSBANDS; HART; PYENSON, 2013; SMITH, 2012), o uso de 170 a 180 gramas de carne é ideal para pães de 80 gramas. Assim, foi possível determinar a quantidade e as dimensões (diâmetro de $9,0 \pm 0,2$ cm, espessura de $2,0 \pm 0,4$ cm e peso de $180,0 \pm 2,0$ g) das carnes usadas para modelar os hambúrgueres, além dos equipamentos para aplicação do tratamento térmico, como a chapa e frigideira de ferro, devido à facilidade de aquisição e praticidade de manuseio, mantendo de forma fiel a realidade aplicada pelos estabelecimentos.

Análises sobre os fatores intrínsecos como pH, atividade de água, concentração de gordura, entre outros, demonstraram resultados em conformidade com o estabelecido para carnes *in natura*. Em estudo sobre carne bovina (SHANGE et al., 2018), fatores como o pH muscular, quando encontrados em valores superiores ao recomendado, podem ocasionar o aumento de microrganismos e diminuir a vida

útil das carnes. Assim, nossos achados indicam que a matéria prima utilizada para os experimentos estava adequada e era de boa qualidade.

Caracterizada a formulação, foi realizada a padronização dos parâmetros de tempo e temperatura necessários para os diferentes pontos de cocção conforme referências gastronômicas e bibliográficas (GAYLER, 2004; HUSBANDS; HART; PYENSON, 2013; WRIGHT, J., & TREUILLE, 2019), e as temperaturas centrais máximas para cada ponto ficaram bem estabelecidas e similares a essas orientações.

Todavia, para atingir essas temperaturas, foi exigido um tempo maior de 2 minutos para cada ponto de cocção na técnica de grelhar. A necessidade de um tempo maior de processo pode ser justificada pelo fogão elétrico, equipamento de geração de calor utilizado, e que pode gerar uma potência menor do que os equipamentos de chapa de ferro com chama proveniente de gás liquefeito de petróleo (GLP) que são normalmente usados nos restaurantes.

Contudo, foi possível realizar a padronização do binômio tempo e temperatura, e os pontos foram definidos como: malpassado, com temperatura central de $45,3 \pm 4,7$ °C e tempo total de 6 minutos em grelha; ao ponto malpassado, com temperatura de $57,0 \pm 2,0$ °C e tempo de 8 minutos; ao ponto, com $61,0 \pm 1,7$ °C e 10 minutos; ao ponto bem passado, com o total de 12 minutos e temperatura de $67,6 \pm 1,5$ °C; além do bem passado, com o centro de $77,1 \pm 2,6$ °C de temperatura e 14 minutos de tempo final.

Os pontos estabelecidos no estudo de Veflen et al. (2020), demonstraram graus mais elevados de temperatura para malpassado (55 °C), ao ponto malpassado (65 °C), ao ponto bem-passado (73 °C) e bem- passado (80 °C). Essa variação pode ser justificada pela adoção de hambúrgueres com a metade do tamanho do que é utilizado na versão *gourmet*, o que ratifica a necessidade de validação do processo térmico conforme especificidade e realidade de cada serviço de alimentação.

Análises tecnológicas de cor e textura nos hambúrgueres foram determinadas após os diferentes pontos de tratamento térmico com a intenção de avaliar as modificações desses importantes atributos sensoriais, que são primordiais na escolha e seleção das carnes vermelhas pelos consumidores

A determinação da força de corte e a análise objetiva de cor são ferramentas de medição instrumental da maciez e coloração dos produtos cárneos e auxiliam os

cientistas no desenvolvimento e melhorias destes produtos (AMSA, 2012; SHACKELFORD; WHEELER; KOOHMARAIE, 1999; VAN WEZEMAEL et al., 2014).

Os dados instrumentais do presente estudo apontaram que os pontos malpassado (45 °C) e ao ponto malpassado (57 °C) mantiveram maior intensidade da cor vermelha (a^*) do que os demais avaliados. A cor vermelha da carne bovina é um dos principais fatores que influenciam a opinião dos consumidores sobre seu frescor e valor de compra, tanto em produtos crus como após cozimento, tornando-a mais desejada pelos apreciadores de carnes (SINGH; SHUKLA; MISHRA, 2018).

Em relação à textura, a sensação de suculência em um produto de carne é referente ao estímulo da percepção da quantidade de água e gordura durante a mastigação, e essas frações precisam ser controladas durante o tratamento térmico para não serem perdidas de forma a prejudicar a qualidade do alimento (HOLMAN; HOPKINS, 2021). Nos resultados experimentais, os pontos mais expostos ao calor, como ao ponto bem-passado (67 °C) e bem-passado (77 °C), apresentaram valores insatisfatórios para textura e força de cisalhamento, tornando reduzida sua aplicação na prática dos restaurantes, por não estarem de acordo com as preferências sensoriais de suculência e maciez solicitadas pela maioria dos consumidores de hambúrgueres.

Ademais, a cor central e a suculência das carnes também são utilizadas pelos consumidores como parâmetros de avaliação para saber quando seus hambúrgueres estão prontos, conforme demonstrado nos estudos de Røssvoll et al., (2014) e Phang & Bruhn, (2011), e esta prática é igualmente adotada por alguns restaurantes, os quais aplicam esse julgamento em seus preparos. Porém, a avaliação visual isoladamente das carnes não é considerada um indicador confiável, uma vez que as temperaturas internas podem não atingir as recomendações de segurança, gerando riscos à saúde dos consumidores. Assim, conforme USDA (2020), para garantir que o tratamento térmico aplicado seja seguro, o monitoramento através do uso de termômetro deve perdurar durante todo o processo de cocção.

Dessa forma, a segurança microbiológica de hambúrgueres *gourmet* termicamente tratados sob diferentes parâmetros de cocção foi avaliada com a investigação da microbiota naturalmente presente nas carnes cruas, bem como a redução de *E. coli* (6-7 log₁₀ UFC/g) inoculada artificialmente nos hambúrgueres crus.

A contagem dos mesófilos totais apresentou uma redução de 4,34 log UFC/g no ponto bem-passado (77 °C após 14 minutos), sendo similar aos resultados encontrados em estudos feitos com carne de filé mignon brasileira (FENELON et al, 2019; MONTEIRO et al., 2018; OLIVEIRA et al, 2017;)e menor em comparação aos resultados de contagem em hambúrgueres provenientes de lanchonetes *fast-food* na Nigéria (EDWARD; IKPAWHO; IBEKWE, 2013).

Mesmo após o tratamento térmico, algumas células bacterianas apresentavam-se viáveis. A identificação por análise proteômica, com uso do equipamento MALDI-TOF/MS, indicou a presença dos gêneros *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Lactobacillus*, *Hafnia*, *Pseudomonas* e *Serratia*, que os são principais relacionados a deterioração das carnes e seus produtos.

Alguns mostraram-se mais resistentes ao tratamento térmico aplicado, como a bactéria *Hafnia alvei*, permanecendo ao fim do processo bem passado (77 °C). Essa mesma bactéria foi identificada no estudo conduzido por Ferigolo et al. (2021), em medalhões de filé mignon tratados termicamente por *sous vide*. Assim como em nosso estudo, a matéria prima utilizada nos experimentos era proveniente de embalagem a vácuo, que está amplamente associado a esta bactéria, pela persistência que apresenta a esse tipo de embalagem a uma ampla faixa de temperatura.

Outra bactéria identificada foi *E. coli*, a qual apresentava-se naturalmente na carne. A *E. coli* genérica e/ou patogênica podem estar associadas à contaminação cruzada das carcaças de animais durante o processo de abate em decorrência do contato com outras carcaças, pelas fezes durante os processos de evisceração ou pela incorreta manipulação ao longo da cadeia de produção (GRISPOLDI et al., 2020), tornando o seu controle priorizado pelas indústrias de carne.

Posteriormente, com a mesma intenção de verificar a segurança da preparação, foi avaliada a redução de *E. coli* artificialmente inoculada nos hambúrgueres crus. A contagem inicial foi de $6,59 \pm 0,15$ log UFC/g, e houve uma redução significativa para $2,57 \pm 0,32$ log UFC/g deste microrganismo na temperatura de $67,6 \pm 1,5$ °C após 12 minutos (ao ponto bem-passado) em grelha.

A redução máxima de 4,83 log UFC/g foi alcançada após 14 minutos de grelha, a uma temperatura central de aproximadamente 77 °C, sendo relacionado ao ponto bem passado. A contagem final neste ponto ficou em 5.8×10^1 UFC/g para *E.coli* e encontra-se acima da recomendação permitida para produtos prontos para consumo

preconizada pela legislação nacional de até 2.0×10^1 UFC/g (BRASIL, 2019a). Além disso, também não atingiu a recomendação internacional mínima de redução de 5 log UFC/g preconizado pela USDA- FSIS (2017) para carnes e seus produtos derivados.

Como os diferentes pontos de cocção estabelecidos não atingiram uma redução adequada de *E. coli*, os hambúrgueres foram submetidos a mais um ponto de tratamento térmico com a intenção de avaliar uma maior redução de *E. coli* nas amostras. Chamado de bem mais passado, esse ponto atingiu temperatura interna de $81,3 \pm 1,4^\circ\text{C}$ após 16 minutos de grelha e apresentou uma quantificação de *E. coli* abaixo do limite de detecção pela técnica. Contudo, em relação à avaliação visual final das amostras, os hambúrgueres apresentaram uma crosta queimada e interior extremamente seco, o que provavelmente não seria aceito por restaurantes por estarem em desacordo com o solicitado pelos consumidores. Portanto, mesmo que nesse ponto as contagens microbianas tenham atingido recomendações consideradas seguras, sua padronização na prática seria inviável pelas qualidades visuais que apresentou ao fim do processo.

Os dados experimentais obtidos pelas contagens de *E. coli* nos diferentes pontos foram modelados pelo *software* GlnaFiT e o modelo Weibull apresentou melhor ajuste, com R^2 e R^2 adj de 0,99 e RMSE de 0,15, que confirmam a adequação do modelo utilizado e validam os resultados dos dados experimentais.

O programa forneceu uma redução 4D automática com o valor de 12 minutos e com isso, foi possível prever que após 15 minutos de exposição ao calor, com uma temperatura aproximada de 80°C , o tratamento será capaz de atingir a recomendação segura de redução conforme a USDA (2017).

Dessa forma, conforme os dados experimentais de contagem e a validação pelo modelo cinético, podemos considerar seguros para consumo os hambúrgueres *gourmet* processados termicamente que atinjam temperaturas centrais de 80°C ou mais.

Esse parâmetro encontra-se bem acima dos valores recomendados pelas agências regulamentadoras para produtos à base de carne moída. Provavelmente, a necessidade de exposição prolongada ao calor para a versão *gourmet* pode ser relacionada à maior dimensão e peso da carne utilizada neste hambúrguer, e esse formato pode gerar uma resistência ao calor na parte central, o que exige um cuidado diferenciado para obter reduções satisfatórias na concentração de microrganismos.

Isso pode ser confirmado quando em comparação a outros autores (JUNEJA et al., 1997; LAHOU et al., 2015; PAN; SINGH; RUMSEY, 2000), que demonstram maior eficácia de redução de *E. coli* produtora de STEC em hambúrgueres termicamente tratados com volume de carnes inferiores ao proposto na versão *gourmet*.

Assim, para manter o binômio tempo e temperatura seguros, sem prejudicar a qualidade e aspecto final dos hambúrgueres, é aconselhável que os restaurantes padronizem e validem os seus tratamentos térmicos respeitando a individualidade de cada estabelecimento e os processos, como através do equipamento térmico a ser utilizado, o monitoramento adequado da temperatura interna com o uso de termômetro durante o processamento e os utensílios. A formulação dos hambúrgueres também influenciam no tratamento térmico e por isso, é aconselhável padronizar as porções de carnes, os cortes bovinos e a quantidade de gordura a ser utilizada na preparação desse alimento. Além disso, é recomendado o uso ingredientes de alta qualidade para compor os hambúrgueres, com fornecedores registrados e com procedência, é fundamental a adoção de boas práticas de fabricação em toda a produção.

Com o mercado de hamburguerias aquecido e o aumento do público-alvo, é necessário ter atenção redobrada com a segurança dos alimentos e conhecer cada etapa do processo de produção do hambúrguer para garantir a saúde do consumidor e fidelizar clientes. Assim, a realização das análises tecnológicas e avaliação da segurança microbiológica do hambúrguer *gourmet* possibilitou relacionar os fatores avaliados com as preferências dos consumidores e propor orientações para garantir produtos de boa qualidade e confiáveis.

3.2 CONCLUSÃO

As principais características da receita de hambúrguer *gourmet* foram alcançadas através da seleção do corte bovino, a definição da porção das carnes, o equipamento para a cocção e o binômio tempo e temperatura necessários para cada ponto de tratamento térmico dos hambúrgueres.

Mesmo após todos os pontos analisados, os resultados da contagem de mesófilos mostraram uma pequena diversidade microbiana remanescente nas amostras, demonstrando que alguns gêneros foram resistentes ao tratamento aplicado. No entanto, não indicaram a presença de patógenos, apontando que as carnes utilizadas para o preparo dos hambúrgueres analisados apresentaram boa procedência, que é imprescindível para a segurança desse alimento.

Nenhum ponto de cocção pré estabelecido pelas referências gastronômicas apresentou contagens aceitáveis para *E. coli* para a legislação brasileira, bem como não atingiu a redução mínima satisfatória para a legislação internacional, sendo necessário a aplicação de mais um ponto de tratamento térmico nos hambúrgueres. O ponto muito bem passado (81 °C após 16 minutos) apresentou uma quantificação abaixo da detecção pela técnica, podendo ser considerado seguro conforme diretrizes internacionais. Contudo, nesse ponto os aspectos visuais de cor e textura das carnes tornaram-se indesejáveis para a aplicabilidade em restaurantes, uma vez que a suculência e maciez foram alterados ao final do processo de maneira negativa às preferências dos consumidores.

Os parâmetros cinéticos apresentaram uma forte correlação com resultados microbiológicos realizados em laboratório e o modelo Weibull forneceu o melhor ajuste para validar os dados experimentais, predizendo o tempo e temperatura aconselháveis para uma redução segura de *E. coli*.

De maneira geral, como os pontos de tratamento inferiores ao ponto muito bem-passado não reduziram adequadamente a população de *E. coli*, é primordial para o consumo seguro e manutenção da qualidade de cor e textura dos hambúrgueres *gourmet*, a adoção pelos restaurantes de práticas sanitárias adequadas, o uso de carnes de boa qualidade, além de realizem a validação corretamente com o monitoramento por termômetro de todo o processo térmico, respeitando as

particularidades de cada estabelecimento para garantir que a combinação de tempo e temperatura sejam eficazes e seguras para os consumidores.

4. REFERÊNCIAS

ABIEC, Associação Brasileira das indústrias Exportadoras de Carnes Bovinas. Perfil da pecuária no Brasil. **Beef Report 2019**, Brasil, v. 91, p. 399–404, 2019.

ÁLVAREZ-BUYLLA, A.; CULEBRAS, E.; PICAZO, J. J. Identification of Acinetobacter species: Is Bruker biotyper MALDI-TOF mass spectrometry a good alternative to molecular techniques? **Infection, Genetics and Evolution**, v. 12, n. 2, p. 345–349, 2012.

AMSA. **American Meat Science Association – International, AMSA**. Revised Deed. AMSA, Champaign, IL, USA. 2012.

BELL, B. P. et al. A Multistate Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7—Associated Bloody Diarrhea and Hemolytic Uremic Syndrome From Hamburgers: The Washington Experience. **JAMA: The Journal of the American Medical Association**, v. 272, n. 17, p.1349–1353, 1994.

BORBA, C. M. et al. Avaliação físico-química de hambúrguer de carne bovina e de frango submetidos a diferentes processamentos térmicos. **Alim. Nutr. Braz. J. Food Nutr**, Araraquara, v. 24, n. jan./mar., p. 21–27, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Instrução normativa no 62, de 26 de agosto de 2003. Diário Oficial da União**. Brasília. Brasil, 2003. Disponível em: <<https://wp.ufpel.edu.br/inspleite/files/2016/03/Instru%C3%A7%C3%A3o-normativa-n%C2%B0-62-de-26-de-agosto-de-2003-1.pdf>>. Acesso em: 06 de fev. 2020.

BRASIL. **Doenças Transmitidas por alimentos**. Ministério da Saúde. v. 1, n. 1, p. 160. Brasília. Brasil 2010. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_integrado_vigilancia_doencas_alimentos.pdf>. Acesso em: 04 mai. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Instrução Normativa nº 20, de 31 de julho 2000. Diário Oficial da União**. Brasília. Brasil, 2000. Disponível em: <<http://medcontent.metapress.com/index/A65RM03P4874243N.pdf>>. Acesso em: 15 de jun. 2019

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019. Diário Oficial da União.** Edição 249, Seção 1, p. 133. Brasília. Brasil, 2019a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Instrução normativa nº 20, de 21 de julho de 1999. Diário Oficial da União.** Brasília. Brasil, 1999. Disponível em: [http://www.consultaesic.cgu.gov.br/busca/dados/Lists/Pedido/Attachments/470907/RESPOSTA_PEDIDO_Instrucao Normativa SDA-MAPA 20 de 21.7.1999.pdf](http://www.consultaesic.cgu.gov.br/busca/dados/Lists/Pedido/Attachments/470907/RESPOSTA_PEDIDO_Instrucao%20Normativa%20SDA-MAPA%20de%2021.7.1999.pdf). Acesso em: 01 abr. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução - RDC nº 216, 15 setembro 2004. Diário Oficial da União.** Brasília. Brasil, 2004. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/>. Acesso em: 14 jul. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução- RDC no 275 de 21 de outubro de 2002. Diário Oficial da União.** Brasília. Brasil, 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Decreto Nº9.013 de 29 de março de 2017. Regulamento de inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal (RIISPOA).** Brasília. Brasil, 2017. Disponível em: [https://www.saude.rj.gov.br/comum/code/MostrarArquivo.php?C= NzU2NQ%2C%2C](https://www.saude.rj.gov.br/comum/code/MostrarArquivo.php?C=NzU2NQ%2C%2C). Acesso em: 06 mai. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil- Informe 2018.** ed. fev. Brasil, 2019b.

CÂMARA, A. K. F. I. et al. Efeito da adição de extrato de alecrim, chá verde e óleo de linhaça sobre a estabilidade oxidativa, propriedades físico-químicas e sensoriais de hambúrguer bovino. **B.CEPPA.** v. 35, n. 1, p. 1–14, 2017.

CANADA, Government of Canada. **Safe Food for Canadians Regulations.** 2015.

CASTRO, V. S. et al. Shiga-Toxin producing *Escherichia coli* in Brazil: A systematic review. **Microorganisms**, v. 7, n. 5, 2019.

COSTA, A. C. A. de A. **Estafilococos Em Hambúrguer Artesanal**. 2017–2019 f. 2018. - Universidade Federal Rural do Semi-Árido - UFERSA, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.22201/fq.18708404e.2004.3.66178>>. Acesso em: 11 de ago. 2019.

CRF, Code of Federal Regulations. Miscellaneous beef products. **Definitions and standards of identity or composition Subpart B - Raw Meat Products**. United States of America, 1970. Disponível em: <<https://www.law.cornell.edu/cfr/text/9/319.15#:~:text=“Hamburger”shallconsistofchopped,phosphates%2Cbinders%2Cor%2Cextenders%2C>>. Acesso em: 01 de maio 2021.

DAMER, J. R. da S. et al. Contaminação de carne bovina moída por *Escherichia coli* e *Salmonella* sp. **Revista Contexto & Saúde**, v. 14, n. 26, p. 20–27, 2014.

DE ASSIS, D. C. S. et al. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in bovine meat and meat products over the last 15 years in Brazil: A systematic review and meta-analysis. **Meat Science**, v. 173, n. November 2020, 2021.

DE VASCONCELLOS, A. L. C.; LUCAS, S. F. Gestão Pela Qualidade: Dos Primórdios Aos Modelos De Excelência Em Gestão. **VIII Congresso nacional de excelência em gestão**, Rio de Janeiro, n. 1984–9354, 2012. Disponível em:<www.biografia.inf.br>. Acesso em 02 de mai. 2019.

EDWARD, K.C; IKPAWHO, E.; IBEKWE, V. I. The bacteriological quality of hamburger patties from fast-food restaurants in Umuahia, Nigeria. **Journal of Pharmacy and Biological Sciences**, v. 5, n. 3, p. 27–29, 2013.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Qualidade da carne bovina**. Brasil, 2019. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/qualidade-da-carne/carne-bovina>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Código de práticas de higiene para a carne. CAC/RCP 58-2005 In: **Codex Alimentarius**.

2005. v. 1, p. 1–55. Disponível em: < <http://www.esac.pt/noronha/manuais/Codex - CBPCarne.pdf>>. Acesso em: 04 de mai. 2019.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Animal Production and Health Division: Meat & Meat Products**. 2019. Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/againfo/themes/en/meat/home.html>>. Acesso em: 7 jul. 2019.

FDA, Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Food Code**. US Public health service, v. 0001, n. 1, p. 237–304, 2009.

FDA. Safe Food Handling: What You Need to Know. **United States Food and Drug Administration**, v. 1, n. March, p. 1–2, 2017. Disponível em: <<https://www.fda.gov/food/resourcesforyou/consumers/ucm255180.htm>>. Acesso em 29 de abr. 2021.

FERIGOLO, L. P. et al. *Escherichia coli* inactivation on tenderloin beef medallions processed by sous vide treatment. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, p. 104743, 2021.

FERNANDES, A. B.C. Preparation of beef burger with addition of sorghum flour (*Sorghum Vulgare*). **Pubsaude**, Paraná., p. 1–15, 2019.

FORSYTHE, Stephen J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

FRANCO, R. M.; MANTILLA, S. P. S; LEITE, A. M. O. Enumeration of *Escherichia coli* in meat and poultry by using a miniaturized methodology " eppendorf " and fluoro. **Revista portuguesa de ciências veterinárias**, v. 103, p. 201–207, 2008.

FRANK, C. Epidemic Profile of Shiga-Toxin–Producing. **New England Journal of Medicine**, v. 365, n. 19, p. 1771–1780, 2011.

GAYLER, P. **Burgers**. (1st ed.). ed. Jacqui Small LLP., 2004.

GEERAERD, A. H.; VALDRAMIDIS, V. P.; VAN IMPE, J. F. GlnaFIT, a freeware tool to assess non-log-linear microbial survivor curves. **International Journal of Food Microbiology**, v. 102, n. 1, p. 95–105, 2005.

GRISPOLDI, L. et al. Bovine lymph nodes as a source of *Escherichia coli* contamination of the meat. **International Journal of Food Microbiology**, v. 331, n. December, 2020.

HOLLAND, R. D. et al. Thymol treatment of bacteria prior to matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometric analysis aids in identifying certain bacteria at the subspecies level. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. **Wiley Online Library**, v. 28, n. 23, p. 2617–2626, 2014.

HOLMAN, B. W. B; HOPKINS, D. L. The use of conventional laboratory-based methods to predict consumer acceptance of beef and sheep meat: A review. **Meat Science**, p. 135907, 2021.

HULÁNKOVÁ, R. et al. The effect of dry aging on instrumental, chemical and microbiological parameters of organic beef loin muscle. **LWT - Food Science and Technology**, v. 89, n. May 2017, p. 559–565, 2018.

HUSBANDS, A.; HART, C.; PYENSON, A. **Wicked Good Burgers: Fearless Recipes and Uncompromising Techniques for the Ultimate Patty**. 1 edition.ed. Fair Winds Press, 2013.

HWANG, C.; HUANG, L. Dynamic analysis of competitive growth of *Escherichia coli* O157:H7 in raw ground beef. **Food Control**, v. 93, p. 251–259, 2018.

JAJA, I. F.; GREEN, E.; MUCHENJE, V. Aerobic mesophilic, coliform, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus* counts of raw meat from the formal and informal meat sectors in South Africa. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 15, n. 4, 2018.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6.ed. Brasil.: Porto Alegre: Artmed., 2005.

JIMÉNEZ-BARBERO, J. et al. Synthesis and Conformational Analysis of Galactose-Derived Bicyclic Scaffolds. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 2006, n. 13, p. 2925–2933, 2006.

JUNEJA, VIJAY K. et al. Thermal Destruction of *Escherichia coli* O157:H7 in Hamburger. **Journal of Food Protection**, v. 60, n. 10, p. 1163–1166, 1997.

JÚNIOR, R. C. de S. M. **Análise das preferências do consumidor de hambúrguer gourmet.** 1–92 f. 2016. - Universidade Federal da Paraíba - UFPB. Paraíba, 2016. Disponível em: <<https://repositorio.ufpb.br/jspui/bitstream/123456789/2041/1/RCSMJ11092017.pdf>>. Acesso em: 13 de set. 2019.

KOSMIDER, R. D. et al. Attribution of human VTEC O157 infection from meat products: A quantitative risk assessment approach. **Risk Analysis**, v. 30, n. 5, p. 753–765, 2010.

KRONBERGER, G.; BACHINGER, F.; MICHAEL, A. Smart Manufacturing and Continuous Improvement and Adaptation of Predictive Models. **Procedia Manufacturing**, Austria, 2020.

LAHOU, E. et al. Effectiveness of inactivation of foodborne pathogens during simulated home pan frying of steak, hamburger or meat strips. **International Journal of Food Microbiology**, v. 206, p. 118–129, 2015.

LOPES, S. M.; FÖSCH BATISTA, A. C.; TONDO, E. C. *Salmonella* survival during soft-cooked eggs processing by temperature-controlled water circulator. **Food Control**, v. 94, n. July, p. 249–253, 2018.

LOPES, S. M; TONDO, E. C. Survival of *Salmonella* in spaghetti alla carbonara. **LWT - Food Science and Technology**, v. 123, n. July 2019, p. 109115, 2020.

MCDONALD, K.; SUN, Da W. Predictive food microbiology for the meat industry: A review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 52, n. 1–2, p. 1–27, 1999.

MELO, L. F. de et al. Qualidade higiênico - sanitária da carne de hambúrguer industrializada. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 10, n. 2, p. 370–375, 2013.

MILILLO, Sara R. et al. A Review of the Ecology, Genomics, and Stress Response of *Listeria innocua* and *Listeria monocytogenes*. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 52, n. 8, p. 712–725, 2012.

NAIR, Meera Surendran et al. Potentiating the heat inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef patties by natural antimicrobials. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, n. FEB, p. 1–8, 2016.

NASCIMENTO, M. G. F. O.; NASCIMENTO, C. Z. F. Hambúrguer: evolução comercial e padrões microbiológicos. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 23, n. 1, p. 59–74, 2014.

PAN, Z.; SINGH, R. P.; RUMSEY, T. R. Predictive modeling of contact-heating process for cooking a hamburger patty. **Journal of Food Engineering**, v. 46, n. 1, p. 9–19, 2000.

PASTERNAK, J. New methods of microbiological identification using MALDI-TOF. **Einstein (São Paulo)**, v. 10, n. 1, p. 118–119, 2012.

PEIXOTO, C. R. et al. *Escherichia coli* inactivation on tenderloin beef medallions fried to different degrees of doneness. **Food Control**, v. 106, n. March, p. 106683, 2019.

PEREIRA, J. G. et al. Foods introduced into Brazil through the border with Argentina and Uruguay: Pathogen detection and evaluation of hygienic-sanitary quality. **International Journal of Food Microbiology**, v. 283, n. June, p. 22–27, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.06.013>

PHANG, H.; BRUHN, C. Burger Preparation: What Consumers Say and Do in the Home. **Journal of Food Protection**, v. 74, n. 10, p. 1708–1716, 2011.

PINHEIRO, R. S. B. et al. Composição química e rendimento da carne ovina in natura e assada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, São Paulo, v. 2008, n. 002533, p. 154–157, 2008.

PRAYSON, B.; MCMAHON, J. T.; PRAYSON, R. A. Fast food hamburgers: what are we really eating? **Annals of Diagnostic Pathology**, v. 12, n. 6, p. 406–409, 2008.

RAWDKUEN, S.; PUNBUSAYAKUL, N.; LEE, D. S. Antimicrobial Packaging for Meat Products. In: ELSEVIER. (org.). **Antimicrobial Food Packaging**. Antimicrobed. p. 229–241.

RIBEIRO, R. C.; MARQUES, R. C.; FILHO, E. G. J. A criatividade dos chefes de cozinha e o consumo moderno da gastronomia. **DEMETRA: Alimentação, Nutrição & Saúde**, v. 11, n. 2, p. 265–274, 2016.

RØSSVOLL, E. *et al.* Consumer preferences, internal color and reduction of shigatoxigenic *Escherichia coli* in cooked hamburgers. **Meat Science**, Norway, ano 96, n. 2, 2014. p. 695–703.

SCHLEI, K. P. *et al.* Microbiologia Preditiva: aspectos gerais e tendências. **Revista Eletrônica Perspectivas da Ciência e Tecnologia**, v. 10, p. 52, 2018.

SCHÖSLER, H., DE BOER, J. Towards more sustainable diets: Insights from the food philosophies of “gourmets” and their relevance for policy strategies. **Appetite**, v. 127, p. 59–68, 2018.

SEBRAE, Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. Como montar uma hamburgueria. **Empreendedorismo**. Brasil: 2019. Disponível em: <<https://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/ideias/como-montar-uma-hamburgueria,7a302f959f799510VgnVCM1000004c00210aRCRD>>. Acesso em 08 de jun. 2021.

SENASA, Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. **Alimentos cárneos y afines carnes**. 2017. Disponível em: <<http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/arg11897anx2.pdf>>. Acesso em: 05 de mai. 2021.

SHACKELFORD, S. D.; WHEELER, T. L.; KOOHMARAIE, M. Tenderness classification of beef: II. Design and analysis of a system to measure beef longissimus shear force under commercial processing conditions. **Journal of Animal Science**, v. 77, n. 6, p. 1474–1481, 1999.

SHANGE, N. *et al.* The influence of normal and high ultimate muscle pH on the microbiology and colour stability of previously frozen black wildebeest (*Connochaetes gnou*) meat. **Meat Science**, v. 135, n. June 2017, p. 14–19, 2018.

SINGH, A.; SHUKLA, N.; MISHRA, N. Social media data analytics to improve supply chain management in food industries. **Transportation Research Part E: Logistics and Transportation**. Review, v. 114, p. 398–415, 2018.

SMITH, A. F. **Hambúrguer: uma história global**. Tradução Red. São Paulo, SP.: Editora Senac São Paulo, 2012.

SORMAZ, U. et al. Gastronomy in Tourism. **Procedia Economics and Finance**, v. 39, n. November 2015, p. 725–730, 2016.

TAKHAR, P. S. et al. Predictive modeling of *Salmonella* species inactivation in Ground Pork and Turkey during cooking. **International Journal of Food Engineering**, v. 5, n. 2, 2009.

TONDO, E. C.; BARTZ., S. **Microbiologia e sistemas de gestão**. v. 1. Porto Alegre: Sulina, 2011.

UNRUH, D. A. et al. Handling of hamburgers and cooking practices. In: **Food Hygiene And Toxicology In Ready-To-Eat Foods**. p. 107–122, 2016.

USDA- FSIS. FSIS Compliance Guideline for Stabilization (Cooling and Hot-Holding) of Fully and Partially Heat-Treated RTE and NRTE Meat and Poultry Products Produced by Small and Very Small Establishments and Revised Appendix B 2017 Compliance Guideline. **Performance standards for the production of certain meat and poultry products**, v. 64, n. 3, p. 732–749, 2017.

VAN WEZEMAEL, L. et al. Relationships between sensory evaluations of beef tenderness, shear force measurements and consumer characteristics. **Meat Science**, v. 97, n. 3, p. 310–315, 2014.

VEFLEN, N. et al. Situated food safety behavior. **Appetite**, v. 153, n. July 2018, 2020.

VICENTINI, M. S. Alimentos industrializados: abordagem da indústria, consumidores e governo. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, SP., v. 22, n. 1, p. 671, 2018.

WHO, World Health Organization. **Development of Practical Risk Management Strategies bases on Microbiological. Risk Assessment**. 2006. Disponível em: <<http://www.fao.org/fileadmin/templates/agns/pdf/jemra/Ecoli.pdf>>. Acesso em: 19 de set. 2019.

WRIGHT, J., & TREUILLE, E. **Todas as técnicas culinárias - Le Cordon Bleu: Academie D'Art Culinaire de Paris**. 4, 12a. re. ed. Barueri- São Paulo: Marco Zero, 2019.