



## Área: Engenharia de Alimentos

# VALIDAÇÃO DE SOFTWARE DE MICROBIOLOGIA PREDITIVA PARA APLICAÇÃO EM ABATEDOURO DE AVES

**Angélica Jacobi Danielli\*, Rogério Luis Cansian, Geciane Toniazco Backes, Rosicler Colet**

*Laboratório de Biotecnologia de Alimentos, Curso de Engenharia de Alimentos, Departamento de Ciências Agrárias, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Erechim, RS*

*\*E-mail: angelicajdanielli@hotmail.com*

**RESUMO** – A microbiologia preditiva é uma área da microbiologia de alimentos, baseada em modelos matemáticos, capaz de prever o comportamento de microrganismos em alimentos através de experimentos em laboratório, fornecendo respostas rápidas para dados específicos necessários na indústria. A temperatura é considerada um dos fatores que influenciam favoravelmente no desenvolvimento bacteriano. Como um meio de controle a fim de evitar a perda de qualidade da carne em todas as etapas do processo, a legislação brasileira destaca a necessidade de atentar-se para a temperatura das carcaças, e recentemente a Portaria nº 74/19 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) estabelece que a variação aceitável de temperatura dos produtos no ambiente de corte e manipulação deve ser estabelecida e validada como base em microbiologia preditiva. Posto isto, esse estudo previu a multiplicação de possíveis microrganismos na etapa de cortes de um abatedouro de aves (*Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella choleraesuis*), avaliando a cinética de crescimento em diferentes temperaturas (7, 12, 15 e 20°C) em carne de frango in natura e temperado. Os resultados experimentais foram aplicados e comparados com o software ComBase Predictor®, de modo a validar os dados obtidos na temperatura de 12°C em relação às condições industriais. Nas avaliações microbiológicas dos produtos, a fase lag dos microrganismos foi menor que a predita pelo software, mas ambas (experimental ou predita) são maiores que o tempo máximo de permanência do produto na sala de cortes, sendo possível, a utilização do software ComBase para validação dos dados deste estudo.

**Palavras-chave:** microbiologia preditiva, ComBase Predictor®, carne de frango

## 1 INTRODUÇÃO

A carne de frango é vulnerável à deterioração bacteriana devido a sua composição química e ao seu grande conteúdo de água. O desenvolvimento de microrganismos dependerá de fatores como condições de abate, estresse do animal e correta evisceração (GALARZ, 2008; MEZAROBA, 2014).

A microbiologia preditiva consiste em estimar o potencial de crescimento de microrganismos específicos em diferentes condições. Modelos utilizados por esta metodologia são desenvolvidos a partir de análise experimental, realizada em laboratório, com posterior extrapolação para os alimentos, auxiliando na tomada de decisões sobre a segurança microbiológica e a qualidade dos mesmos (FAKRUDDIN et al., 2011).

Os modelos de predição são vistos como importantes ferramentas para aferição da avaliação do risco e da segurança nos alimentos. Através das curvas de crescimento microbiano, é possível explicar como ocorre a proliferação de um determinado microrganismo no alimento analisado, prevendo assim, sua *shelf life* (ARROYO-LOPEZ et al., 2014; SIQUEIRA et al., 2014).

Tais modelos baseiam-se em *softwares* que permitem a observação da resposta de um comportamento microbiano através de demonstração gráfica, empregado como ferramenta auxiliar na área da Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) (NAKASHIMA et al., 2000; FAKRUDDIN et al., 2011; MATO S, 2014). Ao realizar simulações em uma situação ou condição pré-estabelecida a partir do modelo terciário, é possível avaliar a probabilidade de uma taxa de crescimento em uma condição pré-determinada de pH e temperatura, associada a probabilidade do valor desta mesma taxa quando em diferentes condições dessas variáveis. Isto é fundamental para a gestão de risco em indústrias de alimentos, pois é possível verificar, caso ocorra algum desvio no processo, a probabilidade de seu produto atingir determinada população microbiana (SCOLFORO, 2018).

A temperatura, por exemplo, é um fator de extrema importância no contexto de uma indústria de alimentos. Caso o produto fique exposto a condições não adequadas de temperatura, maiores serão as chances de deterioração por microrganismos, enzimas e reações químicas, que reduzirão, consequentemente, o tempo de vida útil do produto. Por esta razão, é necessário conhecer o comportamento de microrganismos deteriorantes expostos a diferentes temperaturas durante o processamento industrial (ANJOS, 2013).

Em um abatedouro de aves, há várias etapas do processo relacionadas à temperatura. Recentemente foi publicada a Portaria nº 74 do MAPA que revoga a tolerância de temperatura de 10°C após o sistema de pré resfriamento de carcaças citada na Portaria nº 210, estabelecendo que ao sair do sistema de pré-resfriamento a temperatura aceitável dos cortes precisa ser validada com base em microbiologia preditiva, e a mesma deve garantir que o binômio tempo x temperatura seja respeitado, ou seja, que não ultrapasse 4 horas desde a etapa de sangria até o produto atingir 4°C no túnel de



congelamento, assegurando a ausência de multiplicação de patógenos e produção de toxinas (BRASIL, 1998; BRASIL, 2019).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho refere-se à aplicabilidade de microbiologia preditiva através de um modelo terciário (*software* preditivo) em amostras de carne de frango *in natura* e temperada, determinando o comportamento de *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* e *Salmonella choleraesuis* submetidas a diferentes temperaturas (7°C, 12°C, 15°C e 20°C), comparando a aproximação das previsões obtidas através do *software*, e validando a microbiologia preditiva para produtos em temperatura de 12°C.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 DETERMINAÇÃO DO PRODUTO A SER ANALISADO

Os produtos do estudo foram obtidos em um abatedouro de aves localizado na região Sul do Brasil, sendo habilitado a exportar seus cortes para diversos mercados internacionais, além do comércio nacional. Foram coletados três grupos de produtos no setor de sala de cortes com relação ao tipo de corte sendo asa inteira, coxas e sobrecoxas e peito inteiro, de modo abranger todas as partes da carcaça, estando os mesmos *in natura* e temperados, para determinação de pH e  $a_w$ . As amostras temperadas foram provenientes do processo de injeção de salmoura. Estes grupos foram coletados em linha de produção, desossados, embalados em embalagens herméticas, fechadas com lacre, armazenadas em caixa de isopor com gelo até serem transportadas ao laboratório de microbiologia da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões para posterior análise.

Para análise de pH triturou-se 5g da amostra em 50mL de água destilada, após foi realizado a leitura em duplicata através de pHmetro (IAL, 2005). A leitura de  $a_w$  ocorreu em duplicata, em equipamento analisador de atividade de água sendo usada uma parte da amostra que envolvia toda a cápsula do equipamento (Aqualab, 3TE).

O produto que apresentar maior valor de pH e  $a_w$  visando simular uma condição mais favorável ao crescimento bacteriano. Ainda, avaliou-se possíveis diferenças entre o produto *in natura* e produto temperado, de modo a identificar a influência do sal no crescimento dos microrganismos.

### 2.2 DETERMINAÇÃO DO COMPORTAMENTO BACTERIANO EM CORTES DE FRANGOS SUBMETIDOS A DIFERENTES TEMPERATURAS

Para o desenvolvimento dos testes foram empregadas amostras de filé de coxas e sobrecoxas de frango. A fim de obter microrganismos viáveis para a realização do experimento as cepas foram previamente inoculadas em caldo LB e incubadas por 24 horas a 37°C. Foram utilizadas porções de filé de coxas e sobrecoxas com aproximadamente 5g. Para a determinação da cinética de crescimento de *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* e *Salmonella choleraesuis* foram inoculados, separadamente, nos produtos na concentração de  $10^3$  UFC/mL e incubados nas temperaturas de 7, 12, 15 e 20°C. Como controle, amostras de filé de coxas e sobrecoxas foram incubadas por 24 h sem inoculação dos microrganismos. Foram coletadas amostras em intervalos de tempo conforme crescimento em caldo LB para realizar a contagem total de UFC destas bactérias.

Para o preparo do inóculo, após crescimento em meio específico realizou-se diluição da concentração de células em água peptonada 0,1%, mergulhou-se por um minuto as porções com aproximadamente 5 g de frango em 27 mL desta solução aquosa e 3 mL do inóculo com posterior transferência para embalagens herméticas, e armazenamento nas temperaturas de 7, 12, 15 e 20°C.

A cada intervalo de tempo as amostras foram trituradas em Stomacher, realizadas diluições seriadas, em água peptonada 0,1%, seguido do plaqueamento em meio LBA (10 g/L triptona; 5 g/L extrato de levedura; 5 g/L NaCl; 15 g/L ágar) nas concentrações de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ . As placas foram incubadas por 24 horas a 37°C.

A avaliação e validação do *software* preditivo foi feita pela comparação entre os resultados experimentais no produto (filé de coxa e sobrecoxa) com os resultados preditos pelo *software* em 3 condições de pH (5, 6 e 7) e  $a_w$  (0,96, 0,98 e 0,99) e 4 condições de temperaturas (7, 12, 15 e 20°C).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 DETERMINAÇÃO DO PRODUTO A SER ANALISADO

Para definir o produto a ser estudado, foram selecionados cortes de asa, filé de coxas e sobrecoxas e filé de peito de frango, tanto *in natura* quanto temperado. Estes foram submetidos a determinação de pH e  $a_w$ . Os resultados obtidos na análise destes parâmetros estão apresentados na Tabela 1.



**Tabela 1.** Valores de pH e  $a_w$  para asa, filé de coxas e sobrecoxas e filé de peito de frango *in natura* e temperado.

	Produto	$a_w$	pH
<b>In natura</b>	Asa	0,989	6,12
	Filé de Coxas e Sobrecoxas	0,995	6,73
	Filé de Peito	0,993	6,38
<b>Temperado</b>	Asa	0,999	6,22
	Filé de Coxas e Sobrecoxas	0,999	6,61
	Filé de Peito	0,993	6,10

Para  $a_w$  dos produtos *in natura*, foi observado valor de 0,989 para a asa, 0,993 para filé de peito, e o maior valor foi constatado em filé de coxas e sobrecoxas (0,995). Quanto ao pH, foi observada variação na faixa de 6,12 a 6,73, sendo o valor menor e maior, respectivamente para as porções de asa e filé de coxas e sobrecoxas.

Já os resultados para os produtos temperados foram relativamente diferentes dos observados para o produto *in natura*. O menor valor de  $a_w$  foi verificado no filé de peito (0,993), enquanto que os outros dois cortes obtiveram o mesmo resultado de 0,999. Para o pH, o menor valor foi observado no filé de peito (6,10), seguido de asa (6,22) e o pH mais elevado foi detectado na amostra de filé de coxas e sobrecoxas (6,61).

Asa *in natura* apresentou valores baixos de  $a_w$  e pH quando comparados com a asa temperada que apresentou valor de  $a_w$  próximo a 1. O corte filé de coxas e sobrecoxas apresentou valores altos tanto de  $a_w$ , quanto pH, no produto *in natura* e temperado quando comparado com os demais. O oposto foi observado para filé de peito que apresentou valores mais baixos para  $a_w$  e pH.

Conforme observado em outros estudos quanto maior o valor de pH e  $a_w$ , maior a velocidade de crescimento do microrganismo. Portanto, o produto escolhido para determinação do comportamento bacteriano foi filé de coxas e sobrecoxas com resultados de  $a_w$  e pH de 0,995 e 6,73, para o produto *in natura* e 0,999 e 6,61 para o produto temperado, respectivamente.

### 3.2 COMPORTAMENTO BACTERIANO EM CORTES DE FRANGO SUBMETIDOS A DIFERENTES TEMPERATURAS E VALIDAÇÃO DO PROGRAMA

Avaliou-se o comportamento de crescimento de *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* e *Salmonella choleraesuis*, em amostras de filé de coxas e sobrecoxas de frango *in natura* e temperado, submetidos a 7, 12, 15 e 20°C. Os resultados obtidos experimentalmente foram comparados com os dados oriundos do *software* ComBase Predictor® nas mesmas condições e estão ilustrados na Tabela 2.

Foi adotado o valor do estado fisiológico (*phys. State*) geral, recomendado pela própria ferramenta, para cada microrganismo. Pelo fato da análise deste parâmetro não ser comum e não ter sido previamente efetuada em laboratório, sendo ainda utilizada a condição de aerobiose.

Para *E. coli* não há previsões no *software* para a temperatura de 7°C, portanto, não foi possível realizar um comparativo com os resultados *in vitro*. Pelos dados obtidos experimentalmente pode-se observar a ausência de crescimento nesta condição de temperatura. O microrganismo manteve-se constante na fase lag em até 109 h de avaliação. Este comportamento ocorreu tanto no produto *in natura* quanto em produto temperado.

Para as demais temperaturas pode-se observar que a ocorrência de crescimento em maior velocidade no produto em relação ao valor predito pelo programa. Isto pode estar relacionado ao fato de que o *software* considera utilização de meio líquido (caldo), enquanto que o experimento foi realizado no produto escolhido.

Na temperatura de 12°C para o produto *in natura* o início da fase de crescimento ocorreu na amostra com *E. coli* em 12 h de processo. Para o produto temperado o crescimento ocorreu em 8 h de processo. Na comparação entre os dois produtos é possível observar que a amostra temperada favoreceu o crescimento bacteriano em relação ao produto *in natura*. Isto indica que o sal presente no produto temperado não agiu como inibidor do crescimento microbiano. Na avaliação do produto mantido em 15 °C pode ser observado que em 8 h de processo houve o término da fase lag para ambos os produtos. Em 20°C, como esperado, o crescimento iniciou previamente aquele comportamento observado nas outras temperaturas, apresentando o fim da fase de adaptação da bactéria após 4h e início da fase log em ambos os produtos, interferindo na garantia do tempo de processamento industrial em torno de 4 h.

Para *S. aureus* o crescimento em amostras de carne *in natura* ocorreu em tempos menores quando comparado ao predito pelo *software*. Em temperatura de 7°C é possível observar um pico de crescimento em 56 h. No produto temperado o término da fase lag pode ser observado em 48 h, onde ocorre o crescimento do microrganismo. Em 12°C pode ser observado o início do crescimento em 32 h de processo para o produto *in natura* e 12 h para o produto temperado, demonstrando, novamente que o sal não atua como inibidor do crescimento microbiano. Para as amostras mantidas a 15°C, o término da fase lag ocorre em 8 h de processo para ambos os produtos. A temperatura no ambiente da sala de processamento de cortes na indústria, por legislação, não pode exceder 12°C, conseqüentemente o produto se mantém



nesta temperatura. Mesmo em caso de ocorrência de temperatura do produto acima deste limite, é possível inferir que em até 8 horas não haveria o término da fase lag para este microrganismo. Semelhante ao que ocorre para amostras de 15°C, foi observado em 20°C, com término da fase lag em 4 h de processo para ambos os produtos. Como precisa ser respeitado o tempo para atingir 4°C em 4 h de processo de acordo com a portaria n° 74/19 desde a etapa de sangria até o produto atingir 4°C, nesta condição não ocorreria a multiplicação em até 4 h de processamento.

**Tabela 2.** Tempos de crescimento dos microrganismos na avaliação do produto *in natura*, temperado e no *software* nas mesmas condições.

Microrganismo	Temperatura	Tempo avaliação produto <i>in natura</i> (h)	Tempo avaliação produto temperado (h)	Tempo Software (h)
<i>E. coli</i>	12°C	12	8	32
	15°C	8	8	17
	20°C	4	4	7
<i>L. monocytogenes</i>	7°C	56	86	54
	12°C	12	12	22
	15°C	12	8	14
	20°C	4	7	7
<i>S. aureus</i>	7°C	56	48	155
	12°C	32	12	45
	15°C	8	8	22
	20°C	4	4	8
<i>Salmonella choleraesuis</i>	7°C	48	56	95
	12°C	12	12	28
	15°C	8	12	14
	20°C	4	4	6

*Listeria monocytogenes* foi o microrganismo que apresentou comportamento de maior semelhança aos dados preditos pelo software. De forma geral, a cinética de crescimento ocorreu de forma análoga. Em 7°C o pico de crescimento para o produto *in natura* foi em 56 h, para o produto temperado 86 h, enquanto que o programa ocorreu em 54 h. Na condição de 12°C o crescimento de *L. monocytogenes* ocorreu tanto para o produto *in natura* quanto temperado em 12 h de processo. Resultado também semelhante ao obtido no *software*. Para o produto *in natura* em temperatura de 15°C o crescimento ocorreu em 12 h de processo, mesmo tempo observado na temperatura de 12°C. A pequena variação entre as temperaturas de análise, pode ter sido um fator que influenciou neste resultado. Já para o produto temperado em 8 h de processo pode-se observar o início do crescimento microbiano. Em 20°C o início da fase log ocorreu em produto *in natura* em 4 h de processo e em produto temperado em 7 h. Tempos estes superiores ao que pode ser mantido em uma indústria para processamento do produto, garantindo que não ocorrerá desenvolvimento do microrganismo.

Para *Salmonella choleraesuis* na condição de 7°C ocorreu o crescimento para produto *in natura* em 48 h de processo, e em 56 h para o produto temperado. Para as amostras mantidas a 12°C, nota-se que o início da fase log em ambos os produtos ocorreu em 12 h de processo. Estes resultados indicam que caso haja presença de *S. choleraesuis* durante o tempo de processamento do alimento não ocorreria a multiplicação deste microrganismo, pois o tempo de manipulação é muito menor em relação ao obtido experimentalmente. Já em 15°C observa-se o crescimento de *S. choleraesuis* em 8 h e 12 h de processo para a amostra *in natura* e temperada, respectivamente. Para os produtos mantidos a 20°C verificou-se o início da fase log em 4 h para ambos os produtos. De uma forma geral, em todas as temperaturas avaliadas em 4 h de processo - tempo máximo em que pode ocorrer o processamento de produtos numa indústria de abate de aves segundo a legislação - não há o desenvolvimento da fase log deste microrganismo.

Os parâmetros utilizados na obtenção do modelo, deram-se através da análise e combinação dos dados, nos quais o programa desenvolve um perfil do estado fisiológico inicial dos microrganismos o qual é utilizado como referência para os modelos preditivos que se pretende desenvolver através da ferramenta. Para desenvolvimento do modelo preditivo em questão, o programa utilizou os parâmetros variáveis aplicados que determinam através de uma simulação computacional a multiplicação de patógenos em carnes de aves.

Todos os dados obtidos experimentalmente foram aplicados no *software*, alguns com determinadas limitações. No entanto, de uma forma geral, foi possível comparar e verificar que as análises realizadas em laboratório garantem em tempo maior a não ocorrência da multiplicação dos microrganismos avaliados, sendo, desta forma, uma ferramenta capaz de validar a temperatura de 12°C em uma sala de processamento de cortes.

Observou-se então que em 12°C os tempos de duração da fase lag obtidos nas avaliações experimentais foram menores quando comparados ao *software*. Nesta condição de temperatura o menor tempo foi de 8 h para *E. coli* em



produto temperado, e enquanto que para o software, na mesma condição, menor tempo foi observado para *L. monocytogenes* (22 h).

De modo a garantir o binômio tempo x temperatura de atendimento a 4°C em 4 horas de processo, conforme exige a Portaria nº 74/19 (BRASIL, 2019), os resultados obtidos indicam que a permanência do produto em temperatura de 12°C não favoreceria a multiplicação de microrganismos, tendo ainda a margem de 4 horas quando compara-se com o menor tempo obtido na análise em produtos.

## 4 CONCLUSÃO

As variáveis de processo, como tempo e temperatura previstas neste estudo e aplicadas no modelo matemático prenunciam a multiplicação de patógenos em carnes de aves. Quando realizada a avaliação do crescimento *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* e *Salmonella choleraesuis* em amostras de carne de frango *in natura* e temperada em diferentes temperaturas, pode-se verificar que o teor de sal presente no produto temperado não inibiu ou retardou o crescimento dos microrganismos. Com o aumento da temperatura foi possível prever que o tempo de duração da fase lag foi menor.

No comparativo entre os resultados obtidos para o produto com o *software*, em todas as temperaturas observou-se que o crescimento bacteriano ocorreu de forma mais rápida experimentalmente. Tal fato pode estar relacionado aos dados do programa, os quais estão em meio líquido (caldo), enquanto que o experimental foi realizado diretamente na amostra de carne.

O resultado experimental apresentou maior tempo em relação à duração da fase lag, diferente do observado para as amostras de carne de frango, para as quais os microrganismos mantiveram-se por menor tempo em fase lag. O tempo e a temperatura propostos através do estudo garantem a segurança e a qualidade dos produtos no ambiente de corte, visto que a fase log, ou de crescimento exponencial, caracterizada pelo momento de maior atividade metabólica não foi atingida mesmo após a elevação da temperatura e variações de pH e  $a_w$  para todos os microrganismos de interesse, com o menor tempo de duração de fase lag obtido em 12°C de 8 h, atendendo o que prevê a portaria nº 74/19.

## 5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, a CAPES, a FAPERGS e a URI pelo suporte financeiro.

## 6 REFERÊNCIAS

- ANJOS, L. D. **Modelos de crescimento de psicrotróficos em diferentes temperaturas e pH**. Dissertação para obtenção do título de Mestre, Lavras, 2013.
- ARROYO-LOPEZ, F. N.; BAUTISTA-GALLEGO, J.; GARCÍA-GIMENO, R. M.; GARRIDO-FERNÁNDEZ, A. Predictive microbiology: a valuable tool in food safety. In: BHAT, R.; GOMEZ-LOPEZ, V. M. **Practical food safety: contemporary issues and future directions**. West Sussex: Wiley Blackwell, cap. 25, 2014.
- BRASIL, Portaria nº 210 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento de 10 de Novembro de 1998. Disponível em: [https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/Portaria-210\\_000h19kjan02wx7ha0e2uuw60rmjy11.pdf](https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/Portaria-210_000h19kjan02wx7ha0e2uuw60rmjy11.pdf), acesso em 26 de Maio de 2019.
- BRASIL, Portaria nº 74 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento de 07 de Maio de 2019. Disponível em: <http://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-n%C2%BA-74-de-7-de-maio-de-2019-87305783>, acesso em 26 de Maio de 2019.
- FAKRUDDIN, M. D. MAZUMDER, R. M., MANNAN, K. S. B. Predictive microbiology: Modeling microbial responses in food. **Ceylon Journal of Science** n.40, v.2, p. 121-131, 2011.
- GALARZ, L. A. **Estimativa da vida útil em peito de frango em diferentes temperaturas de armazenamento**. Dissertação para obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, Rio Grande, 2008.
- MATOS, L. R. **Microbiologia Preditiva aplicada à análise de amostras de carne de vaca e porco**. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Tecnologia e Segurança Alimentar, Lisboa, 2014.
- MEZAROBA, M. E. P. C. **Avaliação da vida útil de filés de frango resfriados, embalados a vácuo e em atmosfera modificada, sob armazenamento isotérmico e não isotérmico**. Tese para obtenção do Grau de Doutor em Engenharia de Alimentos. Florianópolis, 2014.
- NAKASHIMA, S.M.K.; ANDRÉ, D.S.; FRANCO, B.D.G.M. **Revisão: Aspectos Básicos da Microbiologia Preditiva**. Brazilian Journal of Food Technology. v.3,p.41-51, 2000.
- SCOLFORO, C. Z. **Modelagem preditiva do crescimento de *Listeria monocytogenes* e *Salmonella enterica* em co-cultura com *Enterococcus faecalis***. Tese para obtenção do Grau de Doctor Scientiae. Viçosa, 2018.
- SIQUEIRA, A. A., CARVALHO, P. G. S., MENDES, M. L. M., SHIOSAKI, R. K. **MicroFit: um software gratuito para desenvolvimento e ajuste de modelos matemáticos de crescimento bacteriano**. Campinas, v. 17, n. 4, p. 329-339, 2014.