



Halófilos deteriorantes em produtos cárneos salgados

Eduardo Henrique Santos Guedes^a, André Leonardo dos Santos^b, Camila Mariane da Silva Soares^c, Aynaran Oliveira de Aguiar^a, Aloísio Freitas Chagas Junior^{a*}, Gessiel Newton Scheidt^a, Marcos Giongo^a, Lillian França Borges Chagas^a

^a Universidade Federal do Tocantins, Brasil

^b Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil

^c Universidade Federal de Lavras, Brasil

* Autor correspondente (chagasjraf@mail.uft.edu.br)

INFO

Keywords

halophiles
archaea
salty meat foods
spoilage
control

ABSTRACT

Deterioration halophils in salty meat products. The use of sodium chloride in meat products, in addition to its sensory and preservative effect, gives them stability, as it reduces microbial growth and chemical degradation reactions, prolonging shelf life. Despite being used for the conservation of several products, when non-sterile salt can contain microorganisms adapted to high salt concentrations, called halophiles, which can cause deterioration problems, such as unpleasant odors and aromas. They are popularly known as vermilion for their colonial pigmentation, and can be an economic problem for meat and salty byproducts industries. The aim of this study is to present the main characteristics and control measures of deteriorating halophilic archaea in salted meat products through a bibliographic survey. Prokaryotes belonging to the Archaea domain and the Euryarchaeota phylum are reported as the main halophilic organisms first described as *Halobacterium* growing ideally at 2 to 4 Mmol L⁻¹ of NaCl. They do not suffer from dehydration, as they have a high intracellular concentration of salts (KCl) greater than the concentration of NaCl in their habitat, they are organisms of varied morphology, most are gram-negative, neutrophilic and mesophilic, with exceptions. To prevent the appearance of physicochemical barriers, they can be used, highlighting the vacuum packaging as well as the use of organic acids. Most studies on halophilic archaeas have focused on environmental and ecological research and few studies are focused on isolation and identification from salty foods, nor on control measures that can be used to combat spoilage species.

RESUMO

A utilização de cloreto de sódio em produtos cárneos além do seu efeito sensorial e conservante confere a eles uma estabilidade, pois diminui o crescimento microbiano e as reações química de degradação, prolongando a vida de prateleira. Apesar de ser utilizado para conservação de vários produtos, o sal quando não estéril pode conter microrganismos adaptados a altas concentrações salinas, denominados halófilos, estes podem ocasionar problemas de deterioração, como odores e aromas desagráveis. São popularmente conhecidos como vermelhão por sua pigmentação colonial, e podem ser um problema econômico a indústrias de carnes e derivados salgados. O objetivo deste estudo é apresentar as principais características e medidas de controle de archaeas halófilas deteriorantes em produtos cárneos salgados por meio de um levantamento bibliográfico. Os procariotos pertencentes ao domínio Archaea e ao filo Euryarchaeota são relatados como os principais organismos halofílicos descritas primeiramente como *Halobacterium* crescendo idealmente a 2 a 4 Mmol L⁻¹ de NaCl. Não sofrem desidratação, pois possui elevada concentração intracelular de sais (KCl) maior que a concentração de NaCl no seu habitat, são organismos de morfologia variada, maioria é gram-negativas, neutrófilas e mesófilas, havendo exceções. Para prevenir o aparecimento barreiras físico-químicas podem ser utilizadas destacando-se a embalagem a vácuo como também a utilização de ácidos orgânicos. A maior parte dos estudos sobre archaeas halofílicas tem se concentrado em pesquisas ambientais e ecológicas e poucos estudos são concentrados no isolamento e identificação a partir de alimentos salgados, nem tão pouco em medidas de controle que podem ser utilizadas para combater espécies deteriorantes.

Palavras-chaves

halófilos
archaea
alimentos cárneos
salgados
deterioração
controle

Received 29 July 2021; Received in revised from 19 October 2021; Accepted 07 November 2021



INTRODUÇÃO

Relatos históricos evidenciam a utilização do sal cloreto de sódio (NaCl) desde a idade antiga, como meio de conservação para alimentos. Sabe-se que sua principal utilidade era a salga de carne crua de animais domésticos, sobretudo suínos e peixes, assim de forma empírica o homem descobriu os efeitos favoráveis desse processo (Ordoñez et al., 2005).

A técnica da salga em produtos de origem animal é um dos métodos mais longínquos para conservação desses alimentos, e consiste na retirada de uma quantidade de água da porção muscular com substituição de sal no processo conhecido por osmose, desencadeando a diminuição da atividade de água do produto e consequentemente ocorre um ganho da estabilidade microbiana, bioquímica e química além de contribuir nas alterações desejáveis de sabor e aroma do produto (Aiura et al., 2008; Rebouças et al., 2020).

O NaCl é um dos ingredientes que proporciona o sabor salgado disponível nas dietas, consiste em um elemento indispensável na formulação de produtos cárneos salgados tendo efeito direto nos componentes químicos da carne, principalmente nas proteínas, e influencia positivamente a suculência, maciez, o sabor e a vida útil do produto (Rios-mera et al., 2020; Zhao et al., 2020). Segundo Armenteros et al. (2012), outros sais podem substituir o cloreto de sódio na salga de carnes, como o cloreto de potássio (KCl) que exibe características físicas semelhantes ao NaCl e apresenta melhores resultados em termo de qualidade sensorial e físico-químicos quando comparados a outros sais como o cloreto de cálcio (CaCl₂) e o cloreto de magnésio (MgCl₂).

No mundo e também no Brasil, a utilização de métodos de conservação combinado com a salga, como secagem por estufa e sol, refrigeração e embalagens a vácuo proporciona a elaboração de diversos produtos alimentícios cárneos salgados como linguiças, salames, presuntos, carne de sol e o charque, diferenciando-se pelo processo de obtenção e as quantidades de sal utilizadas na elaboração do produto (Silva et al., 2013).

Apesar do NaCl ser um ótimo inibidor de microrganismos, produtos cárneos salgados não estão isentos de sofrerem processos de deterioração microbiana, pois existe certas espécies capazes de sobreviverem em altas concentrações de sal, os halófilos, que quando presentes deterioram as carnes salgadas provocando alterações indesejáveis, a sua aparição pode ser caracterizada pelo surgimento de manchas avermelhadas ou rasadas além do forte odor de putrefação pois produzem enzimas proteolíticas e ainda se

desenvolverem idealmente em temperatura ambiente, tornando-se assim um problema econômico as indústrias que processam carnes e seus derivados salgados (Moschetti et al., 2006; Enquahone et al., 2020).

Neste contexto, o objetivo deste artigo é apresentar as principais características e medidas de controle de archaeas halófilas deteriorantes em produtos cárneos salgados por meio de um levantamento bibliográfico.

MATERIAL E MÉTODOS

Produtos Cárneos Salgados

A utilização de NaCl em produtos alimentícios de origem animal (POA) além do seu efeito conservante conferem a eles uma estabilidade em temperatura ambiente, o que se torna importante nas regiões com dificuldades de conservação pela utilização de temperaturas de refrigeração e congelamento (Nunes e Pedro, 2011).

Como ingrediente principal no preparo de carnes secas, o sal pode ser aplicado à carne de duas maneiras, em salga úmida onde ocorre a injeção ou imersão dos cortes em salmouras e na salga seca que consiste na formação de pilhas de carnes intercaladas por camadas de sal, acarretando alterações desejáveis nas propriedades texturais, aromáticas e conservantes (Shimokomaki et al., 2006; Brasil, 2020). A desidratação do tecido muscular, devido à difusão do sal nos tecidos, promove a redução da atividade de água levando a perda de água livre por osmose, que implicará na inibição do crescimento microbiano e diminuição de reações químicas de degradação (Aykin-Dinçer e Erbas, 2018).

A Biltong produzida na África do Sul, o Jerky e a Pemmican na América do Norte e o charque, Jerked beef e carne de sol encontradas no Brasil são exemplos de carnes salgadas, diferenciando-se na fabricação (Petit et al., 2014).

Além de proporcionar elevada eficiência proteica, excelente valor biológico e fácil digestão, no mercado mundial, diversos são os POA que utilizam o sal como ingrediente indispensável, tendo sua concentração variável de acordo com o produto: em almôndegas contém 0,62 g de NaCl por 100 g de produto, linguiça suína com 1,18 g por 100 g, embutidos fermentados com 1,5 g por 100 g, presunto maturado com 2,2 g por 100 g e o charque que com 5,85 g por 100 g de produto não dessalgado (Garcia et al., 2013).

O charque é um importante produto produzido desde a antiguidade em muitos países de importância econômica que utiliza como técnica de conservação a tecnologia das barreiras, a redução da atividade de água por adição de sal, secagem e

embalagem a vácuo (Vidal et al., 2019). Segundo Brasil (2020) charque é o produto cárneo obtido de carne bovina, com adição de sal e submetido a processo de dessecação seguindo as etapas de desossa e manteação, salga úmida ou salmouragem, salga seca, remoção do excesso de sal, secagem e embalagem.

Além de proporcionar alterações desejáveis no sabor e odor dos produtos cárneos a utilização do sal primitivamente foi utilizada para conservação a fim de evitar o desenvolvimento de microrganismos deteriorantes nos alimentos (Ordoñez et al., 2005).

Eventualmente os microrganismos estão presentes por todo planeta habitando diferentes ambientes, inclusive em ecossistemas salinos, e muitas dessas espécies ainda não foram identificadas e estudadas. Organismos extremófilos tem ganhado notoriedade nos últimos tempos tendo seu metabolismo e filogenia cada vez mais pesquisado, como é o caso dos organismos halófilos (do grego halo - sal + filo – amigo) que podem causar deterioração em produtos cárneos salgados. Produtos alimentícios salgados e fermentados geralmente contêm archaea halofílicas que se desenvolve na presença de NaCl e conseguem ocasionar a deterioração do produto mesmo em altas concentrações de sal (Moschetti et al., 2006; Lee, 2013; Lorentzen et al., 2015; Tortora et al., 2017).

Deterioração Microbiana em Produtos Cárneos Salgados

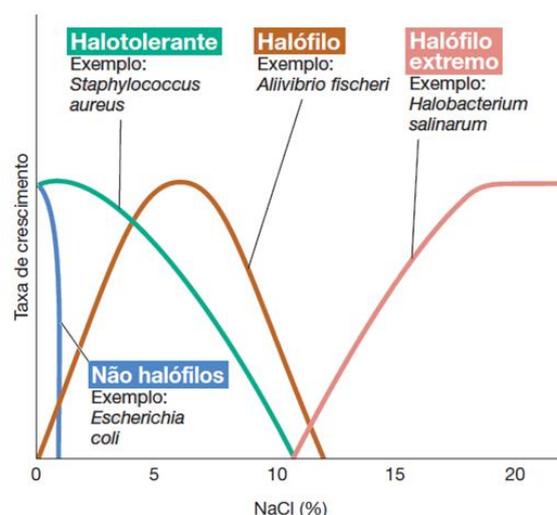
Por possuir fatores intrínsecos tais como pH favorável, alta atividade de água, elevado teor de nutrientes e não possuir constituintes antimicrobiano, a carne *in natura* é meditada como um excelente meio de cultivo microbiano, divergindo-se das carnes salgadas que a tornam um ambiente pouco propício para a proliferação microbiana por possuir barreiras como a alta concentração de sal, assim apenas organismos considerados extremófilos, com afinidade salina, consegue prosperar nesse habitat (Franco e Landgraf, 2008; Lee, 2013).

Organismos extremófilos são aqueles que vivem em ambientes com condições extremas de pH (>pH 8,5, <pH 5,0 <pH<8,0), temperatura (>45 °C, <15 °C<15<°C<45), pressão (>500 atmosferas), em altas concentrações de metais pesados e compostos recalcitrantes e salinidade (>58,4 g L⁻¹ de NaCl). Por suportarem essas condições são considerados produtores de biomoléculas de potencial biotecnológico devido a sua estratégia de adaptação e a capacidade de biossíntese de diversos metabólitos (De Carvalho e Fernandes, 2010).

Os halófilos são classificados em três categorias,

quanto a concentração ótima de NaCl que necessitam para o seu crescimento, os não halófilos tem crescimento ótimo em menos de 1% (0,2 Mmol. L⁻¹) de NaCl, halotolerantes com crescimento ótimo a 1-3% (0,2-0,5 Mmol. L⁻¹) de NaCl, halofílicos com crescimento ótimo a 3-15% (0,5-2,5 Mmol. L⁻¹) de NaCl e os halófilos extremos com crescimento ótimo a 15-30% (2,5-5,2 Mmol. L⁻¹) de NaCl. Os procaríotos pertencentes ao domínio bactéria e archaea são relatados como os principais organismos com afinidade ao NaCl (Amoozegar et al., 2017).

Segundo Lorentzen et al. (2015), no sal para uso alimentar pode haver a existência de microrganismos viáveis, onde Petter (1931) utilizou o sal de qualidade alimentar da Trapani, Sicília (Itália), sendo o primeiro produto alimentar a partir do qual um membro da família Halobacteriaceae foi isolado, conhecido originalmente como *Halorubrum trapanicum*. Alguns exemplos de microrganismos em relação à salinidade tolerada podem ser vistos na Figura 1.



Fonte: Madigan et al. (2016).

Figura 1 - Taxa de crescimento de microrganismos em relação à salinidade.

Alimentos elaborados com altas concentrações de sal se tornam um ambiente propício para o desenvolvimento de organismos halófilos, visto que archaea extremamente halofílicas são onipresentes na natureza onde a presença de NaCl é alta, como em lago salinos, salinas e alimentos salgados. Assim quando o sal não estéril é utilizado para conservar produtos alimentícios, a contaminação por microrganismos halófilos é inevitável e assim podem ocasionar diversos problemas de deterioração como em carnes salgadas e produtos pesqueiros. Essa deterioração é conhecida e caracterizada pelo aparecimento de

colônias pigmentadas de vermelho à rosa e por serem fortemente proteolíticas produzindo odores e aromas nesses produtos (Moschetti et al., 2006).

O autor supracitado elucida que na maior parte dos estudos está voltado com o envolvimento desses microrganismos na deterioração de carnes salgadas e produtos pesqueiros, mas estudos sistemáticos sobre a ocorrência de tais microrganismos em ecossistemas alimentares são raramente encontrados. Como é observado o frequente isolamento de cepas da família Halobacteriaceae, mas seu papel na salga destes produtos ainda é pouco investigado.

Segundo Akpolat et al. (2015), a coloração vermelha em produtos alimentícios salgados vem chamando à atenção desde 1880, onde manchas em bacalhau salgado, couro salgado e peixe salgado já era examinados, e devido ao seu valor comercial alguns cientistas propuseram a estudar a causa, efeito e prevenção do vermelhão nesses produtos que são comumente observados na porção exposta ao oxigênio e podendo variar a coloração, como manchas vermelhas brilhantes, marrom-alaranjadas, violeta-azuladas, manchas extensas e estrias, presentes em áreas geralmente úmidas e pegajosas. A Figura 2 apresenta a contaminação de organismos halófilos pigmentados de vermelho em charque.



Figura 2 - Charque bovino em estado de deterioração ocasionado por microrganismos halófilos.

Diversos procariotos halófilos veem sendo descoberto após a evolução da filogenética, aumentando continuamente o número de gêneros e espécies conhecidos tanto no domínio bactéria quanto no archaea. A maior parte são as archaeas

que são altamente halofílicas necessitando de 1,5 M a 2,5 M de NaCl para seu desenvolvimento (Lee, 2013; Amoozegar et al., 2017).

A descoberta e as ideias propostas por Woese et al. (1990), dos três domínios, fizeram com que o domínio archaea se tornasse um campo de pesquisa fascinante para microbiologia moderna pela sua peculiaridade metabólica e de sobrevivência, atrelada ao dificultoso trabalho em cultivar archaea em laboratório. Antimicrobianos, enzimas, pigmentos solutos compatíveis e lipídeos estáveis podem ser fornecidos por esses archaea halófilos e podem apresentar potencial biotecnológico (Brochier-Armanet, 2011; Quadri et al., 2016).

Domínio Archaea

Um novo tipo de organismo celular procarioto foi encontrado no final da década de 1970. O fato espantoso foi descobrir que sua parede celular se diferenciava das demais bactérias por não conter peptidoglicano, como também eles não compartilhavam inúmeras sequências de rRNA as quais eram sequências diferentes do domínio bactéria e dos eucariotos. Com essas novas descobertas significativas, os cientistas propuseram a criação de um novo domínio para incluir esses novos organismos em grupos taxonômicos semelhantes, criando o Domínio Archaea (Tortora et al., 2017).

Domínio Archaea, do grego significa antigo, primitivo, são células procarióticas, com predominância de lipídios na membrana, diéteres de glicerol isoprenóide ou tetraéteres de diglicerol, com ribossomos contendo um tipo de archaeal de rRNA, diferenciando-se quando comparadas ao domínio bactéria em relação as características moleculares, fisiológicas e estruturais (Woese et al., 1990).

Nas primeiras tentativas em caracterizar as descobertas sobre o domínio archaea, erroneamente foram denominados de ancestrais das bactérias (reino Archaeabacteria), entretanto ao logo da evolução da biologia celular e molecular e com a descoberta de características peculiares e exclusivas foi evidenciado que as archaea compartilham um ancestral comum entre Eucarya e a Bactéria (Pires, 2012). A Figura 3 apresenta um esquema da árvore filogenética universal dos três domínios proposta na década de 1990.

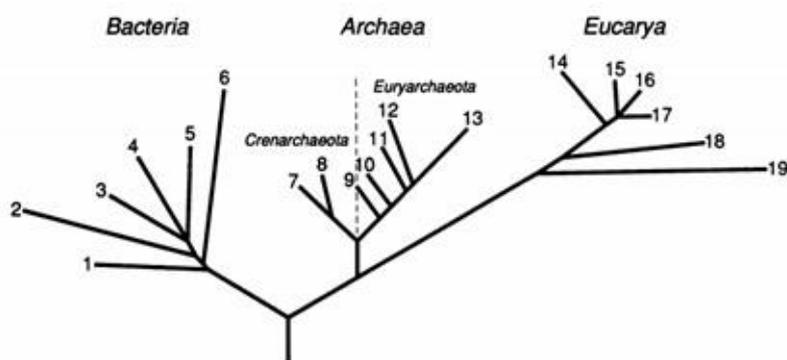


Figura 3 - Árvore filogenética universal na forma enraizada dos três domínios primeiramente proposta por Woese et al. (1990)

Segundo Madigan et al. (2016), a cerca de 2,8 bilhões de anos, ocorreu uma bifurcação, quando archaea e eucarya divergiram como domínios distintos e assim mediante a evolução das linhagens diversas características biológicas fixaram-se especificadamente em cada grupo originando diferenças genéticas entre os três domínios. Apesar de mais de 4 bilhões de anos de evolução, hoje evidencia-se a semelhança celular entre os domínios, mas por outro lado têm histórias evolutivas distintas e próprias.

As archaea apresentam características metabólicas extraordinárias e filogenia particular, sendo considerados únicos a sobreviverem em condições extremas de temperatura, pH, osmolaridade e outros, assim por apresentar determinadas funções de organização do genoma, expressão gênica, composição celular e filogenia são organismos evolutivamente distintos das demais bactérias do domínio Bactéria (Paixão et al., 2015). A Tabela 1 apresenta as principais características celulares dos três domínios.

Tabela 1 - Diferenças celulares entre os três domínios

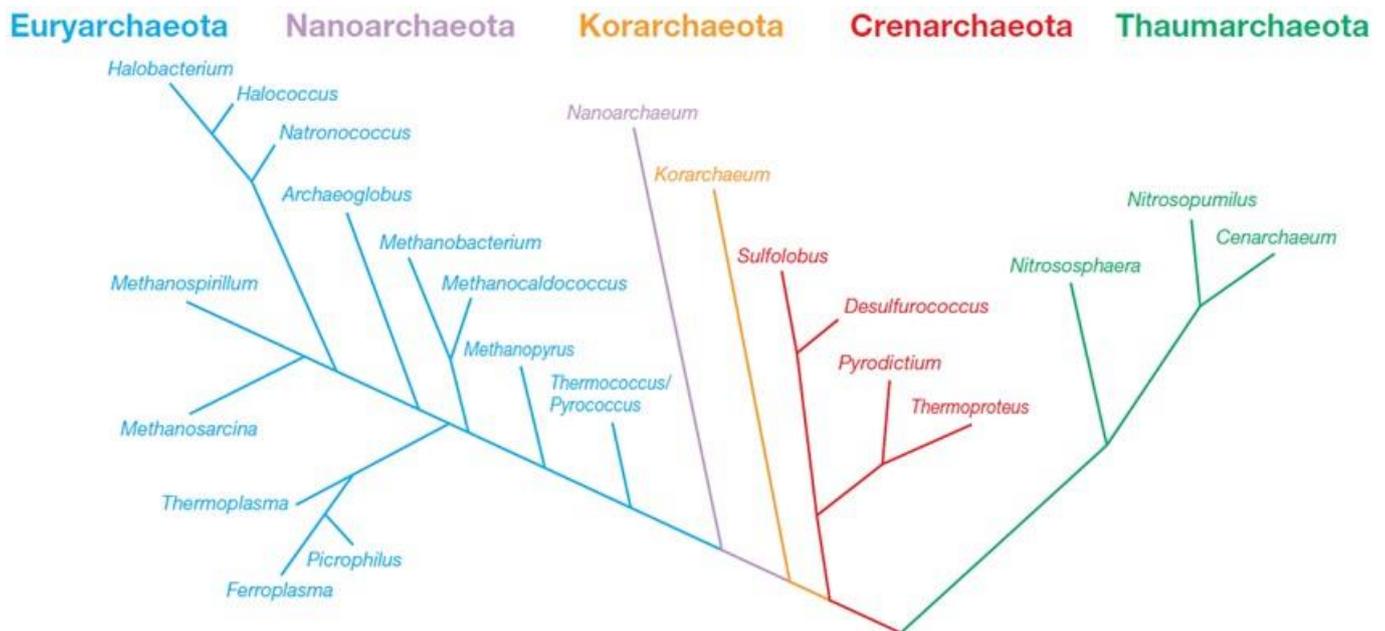
Características	Núcleo	Parede celular	Lipídeos membrana	Cromossomos	Plasmídeos	Ribossomos
Bactéria	Não	Pepitideoglicano Não contém	Ligação éter	Circular	sim	70 S
Archaea	Não	peptideoglicano	Ligação éter	Circular	Sim	70 S
Eucarya	Sim	Varia na composição; contém carboidratos.	Ligação éter	Linear	Não	80 S

Fonte: Adaptado de Madigan, et al. (2016)

Os microrganismos pertencentes ao domínio archaea são comumente encontradas em ambientes extremos, por isso, de modo geral são classificadas em três grupos principais por suas características peculiares: os halofílicos são aqueles que sobrevivem em ambientes onde as concentrações de NaCl são altas, os metanogênicos produzem metano como resultado da respiração, e por fim os termofílicos (*termo* = quente), organismos que suportam sobreviver em águas sulfurosas e quentes. Apesar de serem microrganismos extemófilos até o momento não foi relatado espécie que cause nenhuma patologia aos humanos (Tortora et al., 2017).

Quando propôs o domínio archaea Woese et al. (1990) sugeriram a divisão desse domínio em dois filios, Euryarchaeota e Crenarchaeota, mas com o

advento da ciência atualmente os organismos desse domínio são classificados dentre os filios o Euryarchaeota, Crenarchaeota e os novos, Thaumarchaeota (Brochier-Armanet et al., 2008), Korarchaeota (Barns et al., 1996; Elkins et al., 2008) e Nanoarchaeota (Hohn et al., 2002). Com isso periodicamente novos organismos veem sendo descobertos e incluídos a um desses filios a partir da análise filogenética moleculares. Vale ressaltar que os filios Euryarchaeota e Crenarchaeota são aqueles onde ocorre a maioria das espécies descritas e estudadas, enquanto apenas algumas espécies nos filios Nanoarchaeota, Korarchaeota e Thaumarchaeota. A Figura 4 apresenta uma atual árvore filogenética do domínio archaea baseada na comparação das sequências de proteínas ribossomais (Madigan et al., 2016).



Fonte: Madigan et al. (2016)

Figura 4 - Árvore filogenética detalhada de Archaea, baseada na comparação de proteínas ribossomais provenientes de genomas sequenciados.

Os filios Korarchaeota e Nanoarchaeota são representados por uma única espécie conhecida de cada (Madigan et al., 2016). O filo Korarchaeota foi proposto por Barns *et al.* (1996) após uma análise filogenética de sequências de RNA ribossomal obtidas de um organismo não cultivado de uma fonte termal no Parque Nacional de Yellowstone (EUA), onde seus resultados revelou um novo grupo de archaea, que pode ter divergido antes da divisão das linhagens de Crenarchaeota e Euryarchaeota. Elkins et al. (2008) relatam primeiramente a caracterização de um membro da Korarchaeota com o nome proposto *Candidatus Korarchaeum cryptofilum*, que exibe uma morfologia filamentosa ultrafina anaeróbios hipertermofílicos. Até o momento, membros desse filo foram encontrados apenas em ambientes com altas temperaturas como fontes termais terrestres.

O Nanoarchaeota que inicialmente foi relatado pela primeira vez por Hohn et al. (2002), como um único organismo simbiote ou parasita obrigatório (de genoma altamente reduzido, e capacidade biosintética reduzida) tendo como hospedeiro um organismo do filo Crenarchaeota hipertermofílico marinho o *Ignicoccus hospitalis*. Segundo Munson-Mcgee et al. (2015), a inclusão desse novo filo foi parcialmente aceita e relatam no seu manuscrito que os organismos do filo Nanoarchaeota habitam diferentes ambientes além das fontes termais marinhas, onde outros autores expõem a evidência deste filo em fontes termais terrestres e ambientes

hipersalinos mesófilos.

Já o Filo Thaumarchaeota (Brochier-Armanet et al., 2008), os organismos estão presentes em águas marinhas e doces, solos e ambientes quentes, e tiveram bastante atenção após a descoberta de que alguns deles são capazes de oxidar aerobiamente a amônia demonstrando ser o primeiro organismos do domínio archaea no processo de nitrificação, habilidade anteriormente restrita e conhecida a algumas linhagens proteobacterianas, como principal gênero tem-se o *Nitrosopumilus*, *Nitrososphaera* (Brochier-Armanet et al., 2012).

Os microrganismos pertencentes ao filo Crenarchaeota são extremófilos e são caracterizados por incluir espécies com temperaturas ótimas de crescimento próximo a 100 °C, os hipertermofílicos, que podem ser quimiolitotróficos e autotróficos, sem nenhum fototrófico. São capazes de metabolizar o enxofre e viverem em ambientes tanto alcalinos ou ácidos, entretanto a maioria vive em ambientes neutros ou moderadamente ácidos como os gêneros *Sulfolobus* e *Acidianus*. Por fim, tem-se o filo com maior quantidade de organismos conhecidos, e englobam indivíduos fenotipicamente heterogêneos, o filo Euryarchaeota que consiste em um grupo diverso onde acomoda organismos hipertermofílicos *Thermococcus* e *Pyrococcus*, o metanogênico hipertermofílico *Methanopyrus* e *Thermoplasma*, um organismo desprovido de parede celular, fenotipicamente similar aos micoplasmas, como

também archaeas extremamente halófilas, que crescem bem em altas concentrações de sal (Woese et al., 1990; DeLong, 1992; Madigan et al., 2016).

Archaea Halófilas Extremofilas

A habilidade de habitarem ambientes com altas concentrações de NaCl é visto em organismos membros do domínio Bactéria como também da Archaea, e são distinguidos como “halobactéria” e “haloarchaea” (Krzmarzick et al., 2018). Logo ambientes hipersalinos são habitats colonizados por uma diversidade microbiana em função de fatores ambientais, incluindo a concentração de sal. Podem existir em lagoas, bacias submarinas, desertos de sal, e em salinas solares construídas pelo homem para a exploração comercial de sal (Ghanmi et al., 2020).

Pertencente ao filo Euryarchaeota as archaeas

halófilas foram descritas primeiramente como *Halobacterium*, esse termo foi utilizado anteriormente ao descobrimento das archaea, assim além do termo haloarchaea, essas archaea são comumente denominadas “halobactérias”, gênero este bem mais estudado dentro o domínio. Eles estão incluídos na classe Halobacteria, dividida em três ordens: *Halobacteriales*, *Haloferacales* e *Natrialbales*, e uma das espécies mais estudadas é *Halobacterium salinarum* e é usada como modelo em vários estudos de archaea (Gupta et al., 2015). Os gêneros *Natribaculum*, *Halosiccatus*, *Halocalculus* e *Halovarius* ainda não foram categorizados de acordo com os marcadores filogenéticos (Amoozegar et al., 2017). Na Tabela 2 são descritos a ordem, família e principais gêneros da classe Halobacteria atualmente conhecidos.

Tabela 2 - Principais gêneros pertencentes à classe Halobacteria

Classe:	Ordem	Família	Gênero
Halobacteria	Halobacteriales	Halobacteriaceae	<i>Halobacterium</i>
		Haloarculaceae	<i>Haloarcula</i>
		Halococcaceae	<i>Halococcus</i>
	Haloferacales	Haloferacaceae	<i>Haloferax</i>
		Halorubraceae	<i>Halorubrum</i>
	Natrialbales	Natrialbaceae	<i>Natrialba</i>

Fonte: Adaptado: Gupta et al. (2015) e Euzéby (2021)

Os halófilos extremos são aqueles adaptados às altas concentrações de sal, denominados halófilos obrigatórios, pois só se desenvolve em elevadas concentrações de sal. Esses organismos requerem concentrações de no mínimo 1,5 Mmol L⁻¹ (9%), mas em concentrações de 2 a 4 Mmol L⁻¹ de NaCl (12-23%) são valores ótimos para seu crescimento, entretanto algumas espécies são capazes de crescer em 5,5 Mmol L⁻¹ de NaCl (Madigan et al., 2016).

A desidratação e o estresse osmótico são os principais desafios para microrganismos halófilos extremos, entretanto sua adaptação ocorre pelas proteínas permanentemente expostas à baixa atividade de água e com condições iônicas extremas. Os halófilos extremos têm uma elevada concentração intracelular de sais (KCl), tão alta quanto a concentração de NaCl no seu habitat, tal fato previne a desidratação e mantém o equilíbrio osmótico ao seu redor. Assim, as adaptações bioquímicas das proteínas da membrana dos halófilos extremos são adaptadas para suportar altas concentrações salina, influenciando diretamente os mecanismos de resistência a diferentes efeitos deletérios encontrado nesses ambientes salinos (Oren, 2014).

A elevada concentração de NaCl e sais de

magnésio é muito importante para desenvolvimento e manutenção celular. Quando ocorre a redução nas concentrações menor que 2 mol L⁻¹ ocorre o processo de lise celular que é a destruição ou dissolução da celular por ruptura da membrana plasmática. Dessa forma, as altas concentrações intracelulares de K⁺ são mantidas pela célula (4 mol L⁻¹) o qual é análogo à concentração de Na⁺ que exerce uma função importante na manutenção do equilíbrio osmótico. Nesses organismos as proteínas e ribossomos são estabilizados pelo bombeamento de K⁺ do meio extracelular para o citoplasma, diferentemente do que ocorrem em organismos não halófilos por não exigir K⁺ para estabilizar o ribossomo, e possivelmente ocorrer à agregação de proteínas, precipitação e desnaturação quando submetidos a altas condições salinas (Klein et al., 2005; Falb et al., 2008; Madigan et al., 2016).

Haloarchaea exibe enorme diversidade em termos de sua morfologia, fisiologia e outras características, são relatados como bastonetes no gênero *Halobacterium*, cocos em *Halococcus*, discos achatados no *Haloferax* e outras formas que variam de triângulos achatados em *Haloarcula* a quadrados em *Haloquadratum* e *Natronorubrum*.

Seu habitat pode variar de alcalifílicos a acidofílicos e ou psicrotolerantes e eles podem ser móveis ou não móveis, e ser Gram-negativos ou Gram-positivos. Metabolicamente são, em sua maioria, aeróbios obrigatórios e quimioheterotróficos oxidando compostos como ácidos carboxílicos, açúcares, álcoois e aminoácidos, mas existem espécies autotróficas fotossintéticas providos de bacteriorodopsina, uma proteína da membrana pigmentada, que age como uma bomba de prótons acionada pela luz como a espécie *Halobacterium salinarum* (Oesterhelt e Krippahl, 1983; Grant et al., 2001; Oren, 2002).

Em relação à temperatura ótima de crescimento diversos autores como Lee (2013), Cui et al. (2017)

e Sahli et al. (2020) relatam a temperatura de 37 a 42 °C, podendo variar de 20 a 56 °C em algumas espécies segundo Amoozegar et al. (2017).

A parede celular das haloarchaea é constituída por subunidades de glicoproteínas, em vez de peptidoglicano que é característico das bactérias, entretanto alguns organismos podem ter parede celulares quimicamente constituída por polissacarídeos complexos ou por unidades repetidas de L-glutamina e por essas diferenças podem exibir coloração Gram-negativa (a maioria), mas essa coloração é variável em algumas espécies (Grant et al., 2001; Oren, 2006; Guan et al., 2012). A Figura 5 apresenta a microscopia de algumas espécies de Haloarchaea.

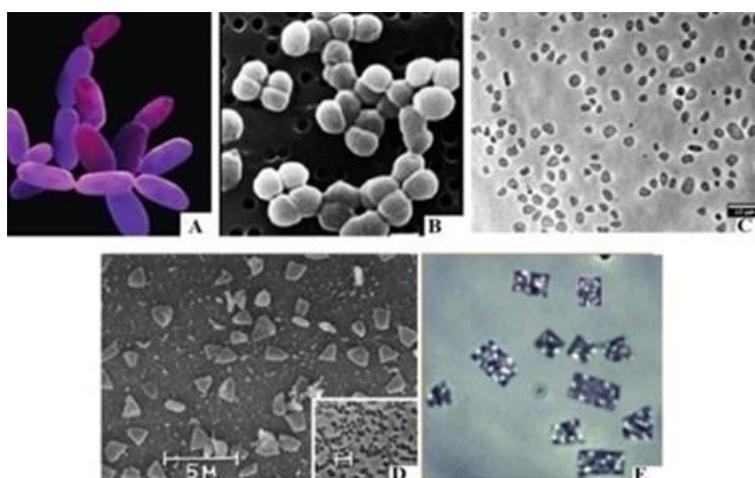


Figura 5 - Micrografia de Haloarchaea. (A) *Halobacterium salinarum*, (B) *Halococcus*, (C) *Haloferax*, (D) *Haloarcula* e (E) *Haloquadratum walsbyi*.

Fonte: (A) Disponível em: <<https://sites.google.com/site/groupaprokaryoticdiversity/home/halobacterium-salinarum>>. Acesso em 02 ago. 2021. (B) Namwong et al., (2007). (C) Disponível em: <<https://alchetron.com/Haloferax>>. Acesso em 02 ago. 2021. (D) Oren et al., (1999). (E) Disponível em <<https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Haloquadra>>. Acesso em 02 ago. 2021.

Há mais de 100 anos os membros dessa classe foram identificados, pois habitam em ambientes aquáticos, e em alguns alimentos salgados de origem animal, e com resultado da colonização apresentam coloração que pode variar entre vermelho, rosa e roxa (Capes et al., 2012). A

coloração vermelha dos lagos hipersalinos (Figura 6) como o lago Hillier na Austrália (A), Masazirgol no Azerbaijão (B), Salinas de Torrevieja na Espanha (C) é devido à abundância de pigmentos carotenóides encontrados nas membranas celulares das halobactérias (Oren, 1994).



Figura 6 – Exemplos naturais de ambientes hipersalinos colonizados por haloarchaeas.

Fonte: (A) Disponível em: <<https://rotasdeviagem.com.br/descubra-o-lago-hillier-uma-surpresa-da-natureza-no-oeste-da-australia/>>. Acesso em 02 ago. 2021. (B) Disponível em: <<https://glamurama.uol.com.br/sete-impressionantes-lagos-cor-de-rosa-que-parecem-coisa-de-outro-planeta/>>. Acesso em 02 ago. 2021. (C) Disponível em <https://www.tripadvisor.com.br/ShowUserReviews-g187527-d3500008-r317182394-Las_Salinas_de_Torrevieja-Torrevieja_Costa_Blanca_Province_of_Alicante_Valencian.html>. Acesso em 02 ago. 2021.

Diversos pigmentos estão presentes em plantas, algas e microrganismos, como os carotenoides (pigmentos de cores amarela, laranja e vermelha), que são obtidos por via biossintética dos terpenos e diferenciados de acordo com o número de estruturas de carbono (C_{30} , C_{40} e C_{50}). Nas haloarchaea esses pigmentos estão presentes sendo expressas na cor rosa ou vermelho por razão da alta produção de carotenóides C_{50} , com bacterioruberina (BR) e seus precursores - monoanidrobacterioruberina (MABR), bisanidrobacterioruberina (BABR) e 2-isopentenil-3,4-desidrorodopsina (IDR) (Borowitzka, 2010; Tobias e Arnold, 2006; Yatsunami et al., 2014).

Os carotenoides são produzidos como metabólico secundário pela haloarchaea e apresenta função biológica de reforço e rigidez a membrana celular, proteção ao DNA contra alta incidência de luz (protetores contra os danos da radiação ultravioleta) e ainda diminui a permeabilidade à água nas células desses organismos (Hwang et al., 2021).

Ghanmi et al. (2020), relatam que as haloarchaeas produzem compostos antimicrobianos, entre os quais peptídeos antimicrobianos chamados halocinas.

Em comparação com outros microrganismos, as haloarchaea representam a menor parte dos estudos, são pouco difundidas, mas podem trazer avanços industriais favoráveis. Deste modo a partir da década de 1990 diversos estudiosos centralizam suas pesquisas na produção de carotenoides, degradação de hidrocarbonetos, potencial na produção de enzimas hidrolíticas, potencial em processos de biorremediação, estudo da biodiversidade das comunidades microbianas aquáticas e de solo, e sua relação como contaminante em produtos cárneos salgados e suas medidas de controle (Moschetti et al., 2006; Lee, 2013; Krzmarzick et al., 2018).

Medidas de Controle

A deterioração de produtos alimentícios pode ocorrer por alterações físicas, químicas e microbiológicas. As alterações microbiológicas são aqueles onde microrganismos colonizam o alimento e alteram suas características, texturas, aromas, sabor, podendo ocasionar patologia aos humanos (Franco e Landgraf, 2008).

A conservação de carne por salga originou-se desde os primórdios e vem sendo utilizada até hoje principalmente em produtos regionais brasileiros como o *jerked Beef*, a carne de sol e o charque juntamente com alternativas para aumentar a vida de prateleira destes produtos (Ishihara e Madruga, 2013).

Os métodos físicos (calor, frio, embalagens com

atmosfera modificada - EAM) e químicos (aditivos alimentares) de preservação têm como finalidade principal a inibição da deterioração microbiana como também minimizar as alterações sensoriais e química (Zhou et al., 2010).

Mantilla et al. (2010) reportam que tradicionalmente esses produtos além de contar com barreiras como salga e dessecação utilizam também a EAM como a embalagem a vácuo que reduz o nível de O_2 para menos de 1%, impedindo o crescimento de aeróbios deteriorantes como as archaea halófilas. Entretanto um produto embalado a vácuo que porventura sofra alguma ação mecânica ocasionando perfurações na embalagem, a proliferação microbiana poderá ocorrer pelo aumento das concentrações de O_2 .

Assim, apesar das técnicas de conservação disponíveis utilizadas, a segurança microbiológica ainda é uma preocupação, causando assim um incentivo à busca de novas técnicas, processos e substâncias (como aditivos) para garantir a inocuidade (Hayouni et al., 2008).

Para charque, além das barreiras de salga, dessecação e embalagem a vácuo uma nova barreira ficou autorizado que é a utilização de aditivos intencionais com acidulante pela sua Instrução Normativa Nº 92, de 18 de setembro de 2020, que até então era proibido o uso. Segundo a Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 272, de 14 de março de 2019 para industrializados secos são permitidos o uso de acidulantes ácido láctico, ácido cítrico e glucono-delta-lactona tendo como limite máximo *quantum satis*.

O ácido láctico, é um produto natural de uso industrial obtido como produto resultante do metabolismo de microrganismos, um ácido orgânico fraco de ação antimicrobiana (reduzir o pH do meio), antioxidante que aumenta a vida de prateleira por proporcionar estabilidade sensorial dos produtos (Campêlo, 2016). O ácido cítrico é outro ácido orgânico fraco encontrado nos cítrinos principalmente no limão e laranja, sua acidez é devido à presença de três grupos carboxílicos que em soluções perdem prótons formando-se o íon citrato, considerado um bom controlador de pH em soluções ácidas. Para uso industrial sua obtenção se dá por fermentação fúngica aeróbica (Freiberger, 2016). O acidulante glucono-delta-lactona (GDL) é obtido em condições naturais a partir do mel, uva e outras frutas de sabor adocicado encontrado em estado sólido cristalino que em contato com a água converte-se em ácido glucônico promovendo a redução do pH, sendo bastante utilizado em produtos cárneos (Soltoft-Jensen e Hansen, 2005).

Assim o estudo da utilização de ácidos orgânicos em produtos cárneos salgados, como antimicrobianos veem sendo largamente

pesquisado com o intuito de inibir a presença de deteriorantes e patogênicos é consequentemente aumentar a vida de prateleira dos produtos (Lin et al., 2018).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos envolvendo archaeas halófilas vem ocorrendo principalmente nas áreas ecológica e ambiental, mas novas espécies estão sendo descoberta a partir de alimentos salgados como também a recente descoberta da sua inter-relação com a vida humana, entretanto os relatos das relações entre archaea em alimentos e humanos ainda são escassos devido à falta de interesse dos pesquisadores no isolamento desses organismos peculiares. Técnicas de cultivo para archaeas halofílicas devem ser mais desenvolvidas principalmente por métodos dependentes de cultura pura em vez de descobertas de DNA através de métodos independentes da cultura, pois o sucesso em cultivo acarretara no melhor entendimento para compreensão dos mecanismos de adaptação desses microrganismos, além de utiliza-las para produção de enzimas, substâncias para a indústria de alimentos, e conhecimento nas medidas de controles para inibir a contaminação em produtos cárneos salgados desde a elaboração até o produto final.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aiura FS, Carvalho MRB, Viegas EMM, Kirschnick PG, Lima TMA. Conservação de filés de tilápia-do-nylo (*Oreochromis niloticus*) em salga seca e salga úmida. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.60, p.1531-1537, 2008.
- Akpolat C, Ventosa A, Birbir M, Sanchez-Porro C, Caglayan P. Molecular identification of moderately halophilic bacteria and extremely halophilic archaea isolated from salted sheep skins containing red and yellow discolorations. Journal of the American Leather Chemists Association, v. 110, no. 07, p. 211–226, 2015.
- Amoozegar MA, Siroosi M, Atashgahi S, Smidt H, Ventosa A. Systematics of haloarchaea and biotechnological potential of their hydrolytic enzymes. Microbiology, v. 163, n.5, p.623–645, 2017. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000463>
- Armenteros, M.; Aristoy, M.C.; Barat, J.M.; Toldrá, F. Biochemical and sensory changes in dry-cured ham salted with partial replacements of NaCl by other chloride salts, Meat Science, v. 90, p. 361–367, 2012.
- Aykin-Dinçer E, Erbaş M. Drying kinetics, adsorption isotherms and quality characteristics of vacuum-dried beef slices with different salt contents. Meat Science, v.145, p.114–120, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.06.007>
- Barns SM, Delwiche CF, Palmer JD, Pace NR. Perspectives on archaeal diversity, thermophily and monophyly from environmental rRNA sequences. Proceedings of the National Academy of Sciences, v.93, n.17, p.9188–9193, 1996. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.17.9188>
- Borowitzka MA. Carotenoid Production Using Microorganisms. Single Cell Oils: Microbial and Algal Oils: Second Edition, p.225–240, 2010. <https://doi.org/10.1016/B978-1-893997-73-8.50015-3>
- Brasil. Instrução Normativa Nº 92, de 18 de setembro de 2020. Dispõe Sobre a Identidade e os Requisitos de Qualidade do Charque, da Carne Salgada Curada Dessecada, do Miúdo Salgado Dessecado e do Miúdo Salgado Curado Dessecado. 2020. Disponível em <https://in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normatia-n-92-de-18-de-setembro-de-2020-278692460>. Acesso em 03 ago. 2021.
- Brochier-Armanet C, Boussau B, Gribaldo S, Forterre P. Mesophilic crenarchaeota: proposal for a third archaeal phylum, the Thaumarchaeota. Nature Reviews Microbiology 2008 6:3, v.6, n.3, p.245–252, 2008. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1852>
- Brochier-Armanet C, Gribaldo S, Forterre P. Spotlight on the Thaumarchaeota. The ISME Journal. v.6, n.2, p.227–230, 2012. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.145>
- Brochier-Armanet C, Forterre P, Gribaldo S. Phylogeny and evolution of the Archaea: one hundred genomes later. Current Opinion in Microbiology, v.14, n.3, p.274–281, 2011. <https://doi.org/10.1016/J.MIB.2011.04.015>
- Campêlo MC. S Uso de conservadores naturais na elaboração de carne de sol com teores reduzidos de cloreto de sódio. 2016. 71 f. Dissertação (Mestrado em ciência animal). Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró.
- Capes MD, Dassarma P, Dassarma S. The core and unique proteins of haloarchaea. BMC genomics, v.13, n.1, p.1-12, 2012. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-39>
- Cui HL, Lü ZZ, Li Y, Zhou Y. *Salinirussus salinus* gen. nov., sp. nov., isolated from a marine solar saltern. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, v.67, n.9, p.3622-3626, 2017. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002182>
- De Carvalho CCCR, Fernandes P. Production of metabolites as bacterial responses to the marine environment. Marine Drugs, v.8, n.3, p.705–727, 2010. <https://doi.org/10.3390/md8030705>
- DeLong EF. Archaea in coastal marine environments. Proceedings of the National Academy of Sciences, v.89, n.12, p.5685–5689, 1992. <https://doi.org/10.1073/PNAS.89.12.5685>
- Elkins JG, Podar M, Graham DE, Makarova KS, Wolf Y, Randau L, Hedlund BP, Brochier-Armanet C, Kunin V, Anderson I, Lapidus A, Goltsman E, Barry K, Koonin E, Hugenholtz P, Kyrpides N, Wanner G, Richardson P, Keller M, Stetter KO. A korarchaeal genome reveals insights into the evolution of the Archaea. Proceedings of the National Academy of Sciences, v.105, n.23, p.8102–8107, 2008. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0801980105>
- Enquahone S et al. Molecular identification and evaluation of the impact of red heat damage causing halophilic microbes on salted hide and skin. International Biodeterioration & Biodegradation, v.150, p.104940, 2020.

- Euzéby JP. LPSN - List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. Disponível em: <https://lpsn.dsmz.de/>. Acesso em 23 de junho de 2021
- Falb M, Müller K, Königsmaier L, Oberwinkler T, Horn P, von Gronau S, Gonzalez O, Pfeiffer F, Bornberg-Bauer E, Oesterhelt D. Metabolism of halophilic archaea. *Extremophiles* 2008 12:2, v.12, n.2, p.177–196, 2008. <https://doi.org/10.1007/S00792-008-0138-X>
- Franco BDG, Landgraf M. Microbiologia de alimentos. São Paulo: Atheneu, 182p. 2008.
- Freiberger RCDP. Utilização de ácidos orgânicos como conservantes em linguíças curadas embaladas a vácuo. Ano de obtenção: 2016. 77 p. Dissertação (mestrado Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
- Garcia CER, Bolognesi VJ, Shimokomaki M. Aplicações tecnológicas e alternativas para redução do cloreto de sódio em produtos cárneos. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, v.31, n.1, p.139–150, 2013. <https://doi.org/10.5380/CEP.V31I1.32715>
- Ghanmi F, Carré-Mlouka A, Zarai Z, Mejdoub H, Peduzzi J, Maalej S, Rebuffat S. The extremely halophilic archaeon *Halobacterium salinarum* ETD5 from the solar saltern of Sfax (Tunisia) produces multiple halocins. *Research in Microbiology*, v.171, n.2, p.80–90, 2020. <https://doi.org/10.1016/J.RESMIC.2019.09.003>
- Grant WD. Class III. Halobacteria class nov. *Bergey's manual of systematic bacteriology*, v.1, p.294–301, 2001
- Guan Z, Naparstek S, Calo D, Eichler J. Protein glycosylation as an adaptive response in Archaea: growth at different salt concentrations leads to alterations in *Haloferax volcanii* S-layer glycoprotein N-glycosylation. *Environmental microbiology*, v.14, n.3, p.743–753, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02625.x>
- Gupta RS, Naushad S, Baker S. Phylogenomic analyses and molecular signatures for the class Halobacteria and its two major clades: a proposal for division of the class Halobacteria into an emended order Halobacteriales and two new orders, Haloferacales ord. nov. and Natrialbales ord. nov., containing the novel families Haloferacaceae fam. nov. and Natrialbaceae fam. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v.65, p.1050–1069, 2015. <https://doi.org/10.1099/IJS.0.070136-0>
- Hayouni EA, Chraief I, Abedrabba M, Bouix M, Leveau J. Y, Mohammed H, Hamdi M. Tunisian. *Salvia officinalis* L. and *Schinus molle* L. essential oils: Their chemical compositions and their preservative effects against *Salmonella* inoculated in minced beef meat. *International Journal of Food Microbiology*, v.125, n.3, p.242–251, 2008. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2008.04.005>
- Hohn MJ, Hedlund BP, Huber H. Detection of 16S rDNA sequences representing the novel phylum “Nanoarchaeota”: Indication for a wide distribution in high temperature biotopes. *Systematic and Applied Microbiology*, v.25, n.4, p.551–554, 2002. <https://doi.org/10.1078/07232020260517698>
- Hwang CY, Cho ES, Yoon DJ, Seo MJ. (*Halobellus ruber* sp. nov., a deep red-pigmented extremely halophilic archaeon isolated from a Korean solar saltern. *Antonie van Leeuwenhoek* 2021 114:7, v.114, n.7, p.997–1011, 2021. <https://doi.org/10.1007/S10482-021-01571-1>
- Ishihara YM, Madruga MS. Indicadores de maciez em carnes salgadas e dessecadas: uma revisão. *Semina: Ciências Agrárias*, v.34, n.2, p.3721–3737, 2013. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n6Supl2p3721>
- Klein C, Garcia-Rizo C, Bisle B, Scheffer B, Zischka H, Pfeiffer F, Siedler F, Oesterhelt D. The membrane proteome of *Halobacterium salinarum*. *Proteomics*, v.5, n.1, p.180–197, 2005. <https://doi.org/10.1002/PMIC.200400943>
- Krzmarzick MJ, Taylor DK, Fu X, McCutchan AL. Diversity and niche of archaea in bioremediation. *Archaea*, v.2018, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/3194108>
- Lee HS. Diversity of Halophilic Archaea in Fermented Foods and Human Intestines and Their Application. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, v.23, n.12, p.1645–1653, 2013. <https://doi.org/10.4014/JMB.1308.08015>
- Lin L, Hu JY, Wu Y, Chen M, Ou J, Yan WL. Assessment of the inhibitory effects of sodium nitrite, nisin, potassium sorbate, and sodium lactate on *Staphylococcus aureus* growth and *Staphylococcal enterotoxin* a production in cooked pork sausage using a predictive growth model. *Food Science and Human Wellness*, v.7, n.1, p.83–90, 2018. <https://doi.org/10.1016/J.FSHW.2017.12.003>
- Lorentzen G, Wesmajervi Breiland MS, Østli J, Wang-Andersen J, Olsen RL. Growth of halophilic microorganisms and histamine content in dried salt-cured cod (*Gadus morhua* L.) stored at elevated temperature. *LWT - Food Science and Technology*, v.60, n.1, p.598–602, 2015. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2014.08.035>
- Madigan MT, Martinko JM, Bender KS, Buckley DH, Stahl DA. *Microbiologia de Brock: Artmed*. 1006p. 2016.
- Mantilla SPS, Mano SB, de Carvalho Vital H, Franco RM. Atmosfera modificada na conservação de alimentos. *Revista Acadêmica Ciência Animal*, v.8, n.4, p.437–448, 2010. <http://dx.doi.org/10.7213/cienciaanimal.v8i4.11000>
- Moschetti G, Aponte M, Blaiotta G, Casaburi A, Chiurazzi M, Ventorino V, Villani F. Characterization of halophilic Archaea isolated from different hypersaline ecosystems. *Annals of Microbiology*, v.56, n.2, p.119–127, 2006. <https://doi.org/10.1007/BF03174992>
- Munson-McGee JH, Field EK, Bateson M, Rooney C, Stepanauskas R, Young MJ. Nanoarchaeota, their Sulfolobales Host, and Nanoarchaeota virus distribution across Yellowstone National Park hot springs. *Applied and Environmental Microbiology*, v.81, n.22, p.7860–7868, 2015. <https://doi.org/10.1128/AEM.01539-15>
- Nunes ML, Pedro S. Tecnologias tradicionais: Salga do pescado. In: Gonçalves et al. *Tecnologia do pescado: Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação*. São Paulo: Atheneu, 156–165p. 2011.
- Oesterhelt D, Krippahl G. Phototrophic growth of halobacteria and its use for isolation of photosynthetically-deficient mutants. In: *Annales de l'Institut Pasteur/Microbiologie*. Elsevier Masson, 137–150p. 1983. [https://doi.org/10.1016/S0769-2609\(83\)80101-X](https://doi.org/10.1016/S0769-2609(83)80101-X)

- Ordoñez JA, Rodrigues MIC, Alvarez LF, Sanz MLG, Mi-guillon G. Componentes dos Alimentos e Processos-Tecnologia de Alimento. Porto Alegre: Artmed, 294p. 2005.
- Oren A. Diversity of halophilic microorganisms: environments, phylogeny, physiology, and applications. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, v.28, n.1, p.56-63, 2002. <https://doi.org/10.1038/sj/jim/7000176>
- Oren A. Taxonomy of halophilic Archaea: current status and future challenges. Extremophiles, v. 18, n. 5, p. 825–834, 2014. <https://doi.org/10.1007/S00792-014-0654-9>
- Oren A. The ecology of the extremely halophilic archaea. FEMS Microbiology Reviews, v.13, n.4, p.415–439, 1994. <https://doi.org/10.1111/J.1574-6976.1994.TB00060.X>
- Oren A. The order *Halobacteriales*. In The Prokaryotes. A Handbook on the Biology of Bacteria, v.3, p.113-164, New York: Springer, 2006.
- Paixão GC, Pantoja LDM, Brito EHS, Mourão CI. Desvendando o mundo invisível da microbiologia. 2ª Ed. Fortaleza: EdUECE, 215p. 2015.
- Petit T, Caro Y, Petit AS, Santchurn SJ, Collignan A. Physicochemical and microbiological characteristics of biltong, a traditional salted dried meat of South Africa. Meat Science, v.96, n.3, p.1313–1317, 2014. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2013.11.003>
- Pires ECC. Riqueza do domínio Archaea no solo do bioma Cerrado. Ano de obtenção: 2012. 83p. Dissertação (Mestrado em Biologia molecular) - Universidade de Brasília, Brasília.
- Quadri I, Hassani II, l'Haridon S, Chalopin M, Hacène H, Jebbar M. Characterization and antimicrobial potential of extremely halophilic archaea isolated from hypersaline environments of the Algerian sahara. Microbiological Research, v.186-187, p.119–131, 2016. <https://doi.org/10.1016/J.MICRES.2016.04.003>
- Rebouças L. de OS, Figueiredo JP. do V, Alves VCF, Campêlo MC da S, Oliveira PVC de, Souza JT, Firmino SS, Pereira G da S, Silva JBA, Lima PO. Diferentes processos de salga na qualidade de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*). Research, Society and Development, v.9, n.10, p. e1029108251, 2020. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i10.825>
- Rios-Mera JD, Selani MM, Patinho I, Saldaña E, Contreras-Castillo CJ. Modification of NaCl structure as a sodium reduction strategy in meat products: An overview. Meat Science, v.174, p. 108417, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108417>
- Sahli K, Gomri MA, Esclapez J, Gómez-Villegas P, Ghennai O, Bonete MJ, Kharroub K. Bioprospecting and characterization of pigmented halophilic archaeal strains from Algerian hypersaline environments with analysis of carotenoids produced by Halorubrum sp. BS2. Journal of Basic Microbiology, v.60, n.7, p.624-638, 2020. <https://doi.org/10.1002/jobm.202000083>
- Silva M., Solidônio EG, Vivalvi MCV, Silva GR, Sena KXRF, Colaço W. Efeito da irradiação gama na redução da carga microbiana em Jerked Beef. Scientia Plena, v.9, n.8, p.1-7, 2013.
- Søltøft-Jensen J, Hansen F. New Chemical and Biochemical Hurdles. Emerging Technologies for Food Processing, p. 387–416, 2005. <https://doi.org/10.1016/B978-012676757-5/50017-7>
- Tobias AV, Arnold FH. (Biosynthesis of novel carotenoid families based on unnatural carbon backbones: A model for diversification of natural product pathways. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids, v.1761, n.2, p.235–246, 2006. <https://doi.org/10.1016/J.BBALIP.2006.01.003>
- Tortora G, Case C, Funke B. Microbiologia. Porto Alegre: Artmed, 962p. 2017.
- Vidal VAS, Biachi JP, Paglarini CS, Pinton MB, Campagnol PCB, Esmerino EA, da Cruz AG, Morgano MA, Pollonio MAR. Reducing 50% sodium chloride in healthier jerked beef: An efficient design to ensure suitable stability, technological and sensory properties. Meat Science, v.152, p.49–57, 2019. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2019.02.005>
- Woese CR., Kandler O, Wheelis ML. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. Proceedings of the National Academy of Sciences, v.87, n.12, p.4576–4579, 1990. <https://doi.org/10.1073/PNAS.87.12.4576>
- Yatsunami R, Ando A, Yang Y, Takaichi S, Kohno M, Matsumura Y, Ikeda H, Fukui T, Nakasone K, Fujita N, Sekine M, Takashina T, Nakamura S. Identification of carotenoids from the extremely halophilic archaeon Halorcula japonica. Frontiers in Microbiology, v.5, p.100, 2014. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2014.00100>
- Zhao X, Sun Y, Zhou Y. Modeling the NaCl diffusion in beef during brining process. Journal of Food Science, v.85, n.9, p.2852–2856, 2020. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15382>
- Zhou GH, Xu XL, Liu Y. Preservation technologies for fresh meat – A review. Meat Science, v.86, n.1, p.119-128, 2010. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2010.04.033>