

Análise da segurança alimentar pela previsão do crescimento microbiano em produtos alimentares perecíveis para diferentes condições de conservação em equipamentos expositores abertos ao ar ambiente

Pedro Dinis Gaspar*, L.C. Carrilho Gonçalves* e R.A. Pitarma**

* Departamento de Engenharia Electromecânica

Universidade da Beira Interior

Rua Fonte do Lameiro – Edifício 1 das Engenharias, 6201-001 Covilhã

Telf: +351 275 329 925; fax: +351 275 329 972; e-mail: dinis@ubi.pt, carrilho@ubi.pt

** Departamento de Engenharia Mecânica

Escola Superior de Tecnologia e Gestão - Instituto Politécnico da Guarda

Avenida Dr. Francisco Sá Carneiro, n.º 50, 6300-559 Guarda

Telf: +351 271 220 100; e-mail: rpitarma@ipg.pt

Resumo — A segurança alimentar surge actualmente como uma das grandes preocupações do sector dedicado à conservação de produtos perecíveis. A avaliação da segurança alimentar dos produtos evidencia as fragilidades da cadeia de frio, sendo um elemento crítico para a manutenção das condições adequadas de refrigeração.

No presente trabalho avalia-se a segurança alimentar de produtos perecíveis armazenados em equipamentos expositores refrigerados abertos ao ar ambiente destinados à conservação de produtos cárneos/charcutaria, pela previsão do crescimento microbiano em diferentes condições termohigrométricas do ambiente de conservação.

Os valores médios dos parâmetros do ambiente de conservação (temperatura e humidade relativa do ar) obtidos através de ensaios experimentais realizados segundo a Norma ISO 23953 para distintas condições do ar ambiente, são utilizados como dados de entrada numa ferramenta computacional, destinada à previsão dos tempos de crescimento dos principais microrganismos patogénicos encontrados nos produtos alimentares até à dose infectante.

Os resultados indicam que variações das condições ambientais no interior dos equipamentos expositores refrigerados abertos ao ar ambiente resultam no crescimento de diferentes tipos de microrganismos, alguns dos quais responsáveis por alterações das características de qualidade dos produtos e condicionam o nível de segurança alimentar. A previsão do crescimento microbiano para as diferentes condições termohigrométricas do ambiente de conservação, possibilita estimar um período temporal durante o qual é assegurada a segurança alimentar.

1. Introdução

Desde tempos imemoráveis o Homem debate-se com a problemática da conservação de géneros alimentares, pois o carácter sazonal e a distribuição irregular de produtos perecíveis por regiões impuseram a procura de formas de conservação que permitissem o seu transporte e

armazenamento para posterior consumo. Os métodos tradicionais de preservação de alimentos (secagem, fumagem, salga e salmoura) apresentam diversas desvantagens, como sejam a alteração da aparência e do sabor inicial, tempo de armazenamento, entre outros, embora ainda hoje sejam adequados para estender o período de segurança alimentar dos produtos. O frio constitui o único meio de conservação de alimentos no seu estado natural desde que aplicado com continuidade, desde a produção até ao consumo. A temperatura do produto revela-se um dos factores mais importantes para manter a qualidade dos produtos armazenados, já que a sua diminuição reduz a velocidade das reacções que produzem a deterioração da qualidade dos alimentos e do crescimento microbiano. O efeito de conservação pelo frio baseia-se na inibição total ou parcial dos principais agentes microbiológicos responsáveis pela alteração dos alimentos. Assim, a aplicação do frio nas suas vertentes, refrigeração ou congelação, permite alargar a vida útil dos alimentos, quer sejam frescos ou processados, com uma repercussão mínima nas suas características nutritivas e organolépticas. O objectivo da conservação de produtos alimentares consiste na manutenção dos alimentos num patamar de qualidade o mais elevado possível no que respeita à aparência, odor, sabor e conteúdo nutritivo, elementos de que depende o seu valor comercial, além do perfeito estado sanitário. Quando em meados do século XIX foi descoberta a propriedade frigorífgena de substâncias (capacidade de arrefecer quando submetidas a uma expansão -efeito de Joule-Thomson-) como seja o amoníaco, iniciou-se a produção industrial de gelo [1]. Desde então, a actividade comercial de conservação de produtos alimentares perecíveis em grande escala desenvolveu-se até à imprescindível necessidade que possui hoje em dia.

O relatório elaborado pelo IIR [2] indica que: (1) cerca de 75 % dos produtos alimentares consumidos necessitam de um qualquer tipo de processamento; (2) após a

manufatura, os produtos alimentares refrigerados são transportados em média 2,5 vezes; (3) nos países desenvolvidos, cerca de 70 % de todos os produtos alimentares são congelados ou refrigerados quando produzidos e que; (4) cerca de 50 % da venda de produtos alimentares é realizada através da conservação e exposição em frio. Adicionalmente, a importância do sector da refrigeração é revelada pelos casos de doenças provocadas pela ingestão de alimentos deteriorados, que somente nos Estados Unidos da América (E.U.A.), atinge 76 milhões de indivíduos por ano, o que acarreta anualmente cerca de 325 mil hospitalizações e 5 mil mortes, que se traduz em 22 mil milhões de dólares anuais de custos [3].

Segundo [4] estima-se que a procura mundial de equipamentos de refrigeração comercial aumente 4,6 % anualmente até 2012 atingindo um valor de 29,3 mil milhões de dólares, sendo o mercado de vendas liderado pelos expositores de refrigeração e de congelação fechados ao ar ambiente e as câmaras de refrigeração e de congelação, seguidos dos expositores abertos ao ar ambiente. A análise conjunta destes dados permite verificar que grande parte do consumo energético no sector da refrigeração comercial é imputada aos equipamentos expositores refrigerados abertos ao ar ambiente [5-6], cuja configuração tipo é apresentada na Figura 1.

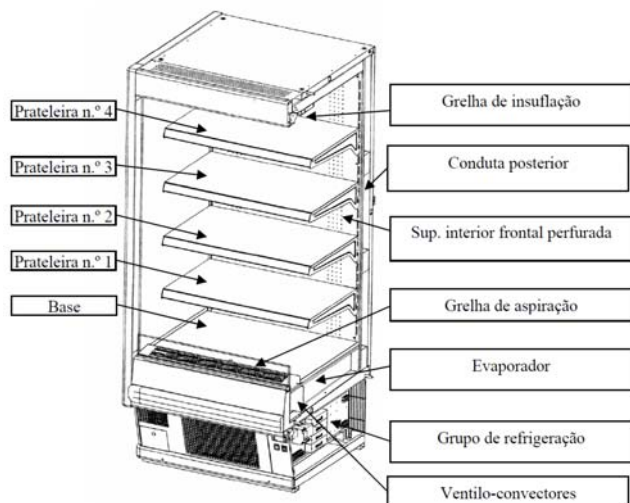


Fig. 1. Configuração típica de um expositor refrigerado vertical aberto (Cortesia: JORDAO Cooling Systems®).

Estes equipamentos de refrigeração têm um potencial de vendas superior, determinado pela concorrência do mercado e pelas exigências das empresas relacionadas com os serviços de alimentação. Este desempenho comercial é conseguido através da inexistência de uma barreira física entre o produto conservado em frio e o consumidor, de modo que este possa ver e manusear sem constrangimentos o produto que pretende adquirir. Porém, esta facilidade determina que a carga térmica mais significativa seja devida à infiltração do ar ambiente através da cortina de ar. A eficácia desta barreira aerodinâmica é muito dependente das condições do ar ambiente, isto é, da sua temperatura (T_{amb}), humidade relativa (ϕ_{amb}) e velocidade - módulo (v_{amb}) e direcção (θ_{amb}). A interacção térmica está associada à variação destas grandezas, cujo impacto no

desempenho global dos equipamentos é significativo e diferenciado. Se a esta dependência forem associados os efeitos negativos das alterações climáticas que segundo [7] se caracterizam por um aumento da temperatura média e uma redução da precipitação, com uma estação chuvosa mais curta, mas mais intensa, torna-se indispensável avaliar a influência das condições do ar ambiente na segurança alimentar dos produtos alimentares perecíveis. Este trabalho pretende contribuir na prossecução deste objectivo, sendo analisada a segurança alimentar pela previsão do crescimento microbiano em produtos alimentares perecíveis para diferentes condições de conservação em equipamentos expositores verticais abertos ao ar ambiente.

2. Segurança Alimentar

A aplicação dos Regulamentos (CE) n.º 852/2004 e n.º 853/2004, fiscalizado pela Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (ASAE), exige que os operadores do sector alimentar que realizem qualquer fase da produção, transformação e distribuição de alimentos depois da produção primária e das operações associadas, possuam um sistema de *Análise de Perigos e Controlo de Pontos Críticos (HACCP – Hazards Analysis and Critical Control Points)* desenvolvido pela Comissão do *Codex Alimentarius*, com o objectivo de manter a inocuidade dos produtos alimentares cumprindo todas as exigências legais neste âmbito [8-10]. Uma das etapas desta metodologia reside na monitorização da temperatura do ar na zona de conservação dos produtos, assim como na sua temperatura interna e a sua manutenção dentro da adequada gama de temperaturas indispensáveis à segurança alimentar dos produtos. Assim, a análise da temperatura do ar na zona de conservação dos produtos sob distintas condições do ar ambiente é relevante para ir ao encontro das normativas vigentes.

Para produtos como sejam: charcutaria, carnes frescas, legumes e marisco, a humidade relativa (ϕ_{cons}) elevada é fundamental para assegurar a correcta conservação dos produtos em termos de aspecto, paladar e odor. A imposição de um valor de ϕ_{cons} acima de 75 % é essencial para evitar a desidratação do produto, mantendo todas as suas características apelativas. A evaporação da água da superfície dos produtos depende da diferença de pressão do vapor de água, assim como da redução do conteúdo de água com a temperatura.

Porém, um dos factores intrínsecos dos produtos susceptíveis de promover o crescimento microbológico, é a actividade da água (a_w) já que as bactérias crescem normalmente em ambientes com muita água disponível.

A humidade relativa é a razão entre a pressão do vapor de água no ar e a pressão do vapor de água saturado à mesma temperatura. A actividade da água é definida como a razão entre a pressão do vapor de água no produto alimentar, p_v , e a pressão de vapor de água saturado, p_{vs} , à mesma temperatura. Os valores da actividade da água variam entre 0 (osso seco) e 1 (água saturada). Quando o equilíbrio de temperatura e vapor são atingidos, a actividade da água de uma amostra é igual à humidade relativa do ar que envolve a amostra (numa câmara de

medição selada ao exterior). Assim, a actividade da água num produto alimentar é igual à humidade relativa de equilíbrio do ambiente. Se o ar em contacto com a amostra possui uma humidade relativa menor que o valor de equilíbrio, a água migra para o ar, aumentando a sua humidade relativa e reduzindo o conteúdo de humidade da amostra, e vice-versa) [11]. Deste modo, a humidade relativa influencia directamente a actividade da água do alimento. Se um alimento com baixa actividade da água está armazenado num ambiente com humidade relativa elevada, a actividade da água deste alimento aumenta, permitindo a multiplicação de microrganismos. A combinação entre humidade relativa e temperatura não pode ser desprezada. Geralmente, quanto maior a temperatura de armazenagem, menor a humidade relativa, e vice-versa. Em [12] são apresentadas os valores limite (mínimo e máximo) para o crescimento de variados microrganismos, assim como exemplos das gamas de actividade da água para diversos de produtos alimentares. Segundo [13], cerca de 75% dos produtos de charcutaria conservados em expositores refrigerados apresentam uma gama de valores de actividade da água que varia entre 0,90 e 0,95. Todavia, no caso de carnes cruas, este valor alargase até 0,996 [14]. A maioria das bactérias patogénicas encontra-se controlada quando a_w é inferior a 0,85, sendo que a produção de toxinas é, na maioria dos casos, inibida para a_w inferior a 0,90. O *Staphylococcus aureus* é uma excepção, podendo crescer e produzir toxinas em alimentos com a_w inferior a 0,90. Deve-se ter em consideração que estes valores são aproximados na medida em que diferentes solutos poderão inibir diferenciadamente o crescimento microbiano em idênticas condições de a_w [15]. É de salientar que alguns produtos são embalados, o que dificulta a transferência de calor e de massa entre o ambiente e o produto. Adicionalmente, os produtos alimentares geralmente são embalados em atmosfera modificada. Em ambientes com atmosfera na qual foi alterada a percentagem de dióxido de carbono (CO_2), de ozono (O_3), de oxigénio (O_2), de azoto (N_2) ou de etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) é possível retardar a multiplicação de microrganismos, sem diminuir a humidade relativa, já que são gases directamente tóxicos para alguns microrganismos. A oxidação gerada pelo O_3 e pelo O_2 são altamente tóxicas para bactérias anaeróbias e podem ter um efeito inibidor nos aeróbios dependendo da sua concentração. Por sua vez, o CO_2 é eficaz relativamente a microrganismos aeróbios, podendo, em concentrações elevadas, inibir outros microrganismos. O efeito do CO_2 tende a aumentar com a diminuição da temperatura e ao dissolver-se no alimento, vai também promover a redução do seu pH. Para produtos cárneos e de charcutaria, as combinações de gases para aplicações em atmosfera modificada, variam entre os valores mínimos e máximos de: CO_2 de 15% a 75%; O_2 de 5% a 80% e de N_2 de 40% a 80% [15].

A acidez (ou pH) dos produtos alimentares também é influente na progressão do crescimento microbiano. A redução do pH de um alimento contribui para reduzir a capacidade de desenvolvimento microbiano. Os produtos cárneos apresentam um pH que varia entre 5,1 a 6,4 e de produtos de charcutaria este valor varia de 4,3 a 7,0 [14-16]. Conforme descrito por Foster *et al.* [17], a redução de

1 °C da temperatura dos produtos (carne fresca) permite estender o seu tempo de conservação em aproximadamente um dia e meio. Perante a análise efectuada, verifica-se que a segurança alimentar dos produtos conservados e expostos em expositores refrigerados é muito susceptível às condições e particularidades do ar ambiente.

Nas últimas décadas, os métodos de avaliação quantitativa do risco microbiológico tornaram-se numa ferramenta de suporte importante ao controlo da segurança alimentar. O uso destes métodos é promovido por organizações internacionais como sejam a *World Trade Organization* (WTO), o *Codex Alimentarius*, a *World Health Organization* (WHO), e a *Food and Agricultural Organization of the United Nations* (FAO), já que disponibilizam uma abordagem estruturada e unificada para problemas complexos, assim como uma base científica em decisões de gestão de riscos. Neste sentido, diversos modelos de previsão do crescimento microbiano e de avaliação de riscos para produtos cárneos têm sido desenvolvidos. Entre estes, destacam-se os recentes modelos de avaliação de riscos baseados na previsão do crescimento da *Campylobacter* spp. em carne de frango [18], da *Escherichia coli* O157:H7 em carne de vaca [19] e do seu crescimento após incubação a temperaturas de conservação de 2 °C, 6 °C e 8 °C [20]. Para esta bactéria foi também modelado o efeito do tamanho da inoculação e da adaptação ao ácido na interface de crescimento/não crescimento [21]. Também para a carne de vaca foi modelado matematicamente o crescimento da *Salmonella* para condições isotérmicas de 10 a 45 °C [22].

A resposta adaptativa da *Listeria monocytogenes* ao calor e o seu impacto na segurança alimentar foi investigada por [23], assim como do seu crescimento face à quantidade de inoculação para diferentes combinações de temperatura, pH e actividade da água [24]. A avaliação quantitativa de riscos biológicos deste patogéneo em carne pronta a ser consumida foi efectuada por [25] tendo sido identificado que cerca de 40% das enfermidades provocadas por este patogéneo decorrem do consumo deste tipo de alimentos, enquanto que para carne de vaca crua foi modelada por [26]. Noutra vertente, em [27] investigaram a deterioração da carne na cadeia de frio face a parâmetros físico-químicos e da estrutura dos alimentos (tipo, concentração e disponibilidade de nutrientes, difusividade,...), competição bacteriana e estado fisiológico das células das bactérias assim como os efeitos transientes durante o armazenamento (flutuação da temperatura, tipo de embalagem/empacotamento, permeabilidade do filme,...) e à ecologia e mecanismo microbiano (comunicação bacteriana, crescimento/sobrevivência de patogéneos em ambiente de stress térmico para os alimentos). Outros modelos consistiram na aplicação de abordagens sistemáticas de determinação dos parâmetros de desactivação térmicos globais de vários patogéneos nos alimentos, tais como *Bacillus cereus*, *Campylobacter* spp., *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Enterobacter sakazakii*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Vibrio* spp. e *Yersinia enterocolitica* [28]. Foi também realizada a caracterização das bactérias predominantes (*Lactobacillus sakei* e *Lactobacillus curvatus*) em fatias de presunto embalado

em vácuo conservado à temperatura de 4 °C [29]. Também para carne cozida curada foi modelada e prevista a sua deterioração por análise multivariável face ao crescimento de bactérias do ácido láctico [30]. A estimação dos parâmetros de crescimento microbiano de *Clostridium perfringens* em condições não isotérmicas foi desenvolvida por [31], enquanto que os efeitos da temperatura, pH e da concentração de NaCl no crescimento deste patógeno foram também analisados por [32-34] para a carne crua e cozida, de frango e de vaca, através modelos dinâmicos predictivos. Fazendo uso de um modelo deste tipo, [35] realizou a análise da influência das condições térmicas dos processos na resistência microbiana da *Escherichia coli* K12 MG1655 ao calor.

Na revisão bibliográfica realizada encontram-se diversos dos modelos mais recentes desenvolvidos para a previsão de variados patógenos em produtos cárneos. Neste sentido, também em [36] é apresentada uma revisão detalhada dos modelos existentes, assim como dos perfis de risco e sua escala para a combinação entre vários patógenos e produtos alimentares.

Como síntese das principais conclusões gerais desta revisão bibliográfica, é importante salientar que tipicamente os produtos alimentares perecíveis são ricos do ponto de vista nutricional e que, na generalidade dos casos, não apresentam ao nível das suas características intrínsecas (actividade da água, acidez, composição química, estrutura biológica e potencial de oxidação/redução), factores que constituam barreiras ao desenvolvimento microbiológico tornando-se assim alimentos de alto risco pela probabilidade de conterem microrganismos patogénicos, e por normalmente suportarem o seu crescimento e a formação de toxinas. O tempo de conservação destes produtos é assim limitado. Entre os principais factores que reduzem o prazo de validade estão a carga microbiana inicial e a temperatura de conservação. A carga microbiológica inicial torna-se num factor preponderante quando a temperatura de conservação não é adequadamente mantida. Um aumento de poucos graus na temperatura pode resultar no crescimento de diferentes tipos de microrganismos, alguns dos quais responsáveis por alterações nas características de qualidade dos produtos, enquanto outros podem ter implicações ao nível da segurança alimentar. Para a maioria dos produtos cárneos a temperatura crítica acima da qual a segurança dos produtos e a própria qualidade pode ser comprometida é de 5 °C [8-10]. O conceito de perigo em alimentos foi definido pela Comissão do *Codex Alimentarius* como qualquer propriedade biológica, física ou química, que possa tornar um alimento prejudicial para consumo humano. A *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF) detalhou mais em pormenor este conceito, definindo como perigo uma qualquer contaminação ou crescimento inaceitável, ou sobrevivência de bactérias em alimentos que possam afectar a sua inocuidade ou qualidade (deterioração), ou a produção ou persistência de substâncias como toxinas, enzimas ou produtos resultantes do metabolismo microbiano em alimentos [15]. Microrganismos patogénicos como as diferentes espécies de *Salmonella*, de *Shigella*, de *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter*, *Aeromonas*, *Listeria monocytogenes*,

Bacillus cereus, *Clostridium botulinum/perfringens* e *Staphylococcus aureus*, são “frequentemente” encontrados nas carnes cruas e nos produtos cárneos. O crescimento de alguns destes microrganismos inicia-se à temperatura mínima de 5 °C. Porém, mesmo que os produtos se encontrem no limiar da temperatura mínima, o seu desenvolvimento não é totalmente impedido, como sucede com o crescimento e formação das toxinas dos agentes patogénicos *Yersinia enterocolitica*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* e *Clostridium botulinum* [37]. Para além do crescimento de agentes patogénicos e microrganismos responsáveis pela deterioração dos produtos, é igualmente importante avaliar a actividade enzimática com o aumento da temperatura. Esta actividade pode afectar significativamente a qualidade dos produtos, no que toca à cor, odor e paladar.

3. Estudo Experimental

Com base nas investigações desenvolvidas por [38-41], este estudo tem por objectivo estender a amplitude das análises efectuadas. O desenvolvimento e execução do trabalho experimental foram realizados com a colaboração de um fabricante nacional deste tipo de equipamentos (*JORDÃO Cooling Systems*®), pelo que todos os ensaios experimentais foram realizados num equipamento real de teste, no departamento de I&D desta empresa. O estudo experimental foi conduzido de acordo com a Norma EN 23953 [42] para equipamentos refrigerados abertos para a classe de produtos M1 (produtos de charcutaria com temperatura de conservação, $T_{cons} \in [-1 \ 5] \text{ °C}$). Os ensaios experimentais foram efectuados numa câmara de simulação climática ARALAB - FITOCLIMA 650000 EDTU utilizando um sistema de aquisição de dados INTAB - PC-Logger 3100, ao qual foram ligadas as seguintes pontas de prova: 9 termopares tipo K para medição da temperatura do ar; 5 termopares de contacto tipo K; 4 higrómetros; 2 anemómetros de fio quente; 2 sondas de pressão e uma pinça amperimétrica.

Os ensaios experimentais (EE) efectuados corresponderam a diferentes condições climáticas indicadas na Norma EN 23953. Foram também considerados ensaios em condições do ar ambiente adicionais, face às indicações prestadas pelo fabricante. Os diversos ensaios experimentais, efectuados durante períodos de 12 horas, encontram-se definidos na Tabela I.

TABELA I
DESCRICÃO DOS ENSAIOS EXPERIMENTAIS - CONDIÇÕES DO AR AMBIENTE

Ensaio n.º	Classe (EN 23953)	T_{amb} [°C]	ϕ_{amb} [%]	v_{amb} [m/s]	θ_{amb} [°]
EE1	1	16	80	0,2	0°
EE2		20	60	0,2	0°
EE3		21	45	0,2	0°
EE4	2	22	65	0,2	0°
EE5		25	35	0,2	0°
EE6	3	25	60	0,2	0°
EE7		25	60	0,2	90°
EE8		25	60	0,2	45°
EE9		25	60	0,4	0°

A Norma EN 23953 indica que durante o procedimento experimental, o escoamento do ar ambiente deverá ser paralelo ($\theta_{amb} = 0^\circ$) ao plano da abertura frontal do equipamento ao exterior com $v_{amb} = 0,2$ m/s. Com o objectivo de avaliar a influência da direcção e do módulo da velocidade do ar ambiente no desempenho global do equipamento, assim como na cortina de ar, foram realizados os ensaios n.º 7 (EE7) e n.º 8 (EE8) correspondentes às T_{amb} , ϕ_{amb} e v_{amb} indicadas pela classe climática n.º 3, mas com orientação do escoamento do ar ambiente respectivamente perpendicular ($\theta_{amb} = 90^\circ$) e oblíqua ($\theta_{amb} = 45^\circ$) ao plano da abertura ao exterior.

A distribuição das pontas de prova no interior do equipamento e procedimento experimental de medição encontra-se detalhadamente descrito em Gaspar *et al.* [41]. Para a análise e previsão do crescimento microbiano em produtos cárneos para diferentes condições de conservação, apresentam-se de seguida na Tabela II os valores médios das grandezas em estudo para os distintos ensaios: temperatura (T_{cons}) e humidade relativa (ϕ_{cons}) na zona de conservação, assim como a temperatura interna dos simuladores dos produtos (T_{prod}).

TABELA II
RESULTADOS EXPERIMENTAIS (VALORES MÉDIOS)

Parâmetro	Ensaio								
	EE1	EE2	EE3	EE4	EE5	EE6	EE7	EE8	EE9
T_{cons} [°C]	1,8	2,3	3,5	5,3	5,9	3,9	5,9	7,4	12,2
ϕ_{cons} [%]	85,1	-	83,7	85,4	68,2	86,2	85,7	74,9	86,4
T_{prod} [°C]	2,6	3,2	4,9	5,3	4,4	2,9	6,7	8,4	11,0

4. Análise e Discussão dos Resultados

Segundo [40], as componentes sensíveis e latentes da carga térmica a que um equipamento deste tipo está sujeito são determinadas: (1) por infiltração de ar; (2) por transmissão de calor (condução e convecção); (3) por radiação térmica; (4) cargas internas devido à iluminação e ao sistema de ventilação; (5) respiração e armazenamento de produtos; (6) devido aos mecanismos de descongelamento e de anti-embaciamento. Neste conjunto de componentes, apenas as cargas térmicas (1) a (3) são directamente influenciadas pela variação das condições do ar ambiente.

Tipicamente, as grandes superfícies comerciais como supermercados ou hipermercados dispõem de condicionamento de ar, proporcionando condições ambientais, que traduzidas em cargas térmicas, conseguem ser colmatadas pelos equipamentos expositores refrigerados abertos ao ar ambiente. Todavia, mesmo em grandes superfícies comerciais com sistemas de condicionamento de ar, o desempenho térmico dos equipamentos é afectado por pequenas variações das suas propriedades do ar ambiente (temperatura, humidade e velocidade). Entre estas, é significativa, a variação de v_{amb} e da ϕ_{amb} devido à localização de difusores do sistema de condicionamento de ar do estabelecimento comercial, aos fluxos mássicos originados por diferenças de pressão decorrentes de aberturas ao exterior, e à perturbação do

movimento do ar pela passagem dos consumidores em frente à abertura frontal do equipamento.

Porém, quando este tipo de equipamentos é instalado em pequenos estabelecimentos comerciais como lojas, pastelarias, mercearias e afins, muitos dos quais sem sistema de condicionamento de ar, o desempenho térmico dos equipamentos torna-se muito mais susceptível às variações das condições do ar ambiente, e consequentemente, o mesmo sucede aos produtos alimentares que deverá conservar em frio.

Neste sentido e tendo por base a ferramenta numérica desenvolvida por [8-10], é possível obter uma percepção da influência das condições do ar ambiente no crescimento microbiano, através de uma simulação do crescimento de diferentes tipos de microrganismos em alimentos baseada em modelos de previsão académicos e científicos. Fixando um conjunto de variáveis (tipicamente, temperatura do ar – T e acidez – pH), pode-se simular o crescimento microbiológico tendo como base o modelo seleccionado, prevendo o efeito dessas variáveis no desenvolvimento microbiológico. Embora não seja precisa devido ao número elevado de variáveis que na realidade deverão ser contabilizadas, permite avaliar e comparar as diferenças entre os tempos de crescimentos de diversos microrganismos em função da temperatura do ar na zona de conservação dos produtos.

Os modelos foram obtidos em ComBase (www.combase.cc) – *Combined Database for Predictive Microbiology*, que resulta de uma colaboração entre o *Food Standards Agency* (FSA) e o *Institute of Food Research* (IFR) do Reino Unido; o *Agricultural Research Service* (USDA) e o seu *Eastern Regional Research Center* (ERRC) dos Estados Unidos da América; e o *Food Safety Centre* (FSC) da Austrália. Esta colaboração entre as instituições dedica-se à recolha e agregação dos diferentes modelos de previsão e curvas de crescimento microbiológico desenvolvidas em estabelecimentos de investigação e publicadas em revistas científicas.

Na Tabela III, estão descritas as condições do ar ambiente usadas nos modelos de previsão de crescimento de distintos microrganismos com base nos dados expostos em [11-15, 43-46]. Os valores de pH e de a_w são impostos respectivamente a 6,1 e 0,973 (valores médios das gamas de variação supracitadas anteriormente) para contemplar um maior número de tipos de produtos de talho e charcutaria. Estão também definidos os valores limites das doses infectantes de unidades formadoras de colónias (UFC) dos microrganismos patogénicos susceptíveis de causar doenças em adultos saudáveis [11-15, 43-46]. Nos casos em que não se encontram dados disponíveis acerca da dose infectante de determinado microrganismo, considera-se que a Unidade Formadora de Colónias, i.e., $UFC > 10^5$, indica já problemas de segurança alimentar [43]. É de salientar que este valor varia de indivíduo para indivíduo e depende de variadíssimos factores. Dada a variabilidade na obtenção de dados e a menor consistência nos valores existentes em literatura diversa, a dose infectante não deve ser usada directamente para se analisar o risco, mas sim para indicar a evolução do crescimento microbiológico face às condições do ar ambiente. Além disso, é importante considerar que a perigosidade de alguns microrganismos, como sejam, a *Escherichia coli* O157:H7

e o *Clostridium botulinum* (pode provocar botulismo clássico, infantil ou de feridas), é tal que, independente do seu número, a sua presença num alimento representa um risco muito elevado para os consumidores.

TABELA III
VALORES LIMITE DAS DOSES INFECTANTES DE MICROORGANISMOS
PATOGÉNICOS

Microrganismo	T_{\min} [°C]	Colónia inicial [UFC/g]	Colónia infectante [UFC/g]
<i>Bacillus cereus</i>	5,0	1000	$> 10^5$
<i>Escherichia coli</i>	10,0	100	$> 10^6$
<i>Listeria monocytogenes</i>	1,0	20	$> 10^2$
<i>Staphylococcus aureus</i>	7,5	20	$> 10^5$
<i>Salmonella</i>	7,0	100	$> 10^5$
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-1,0	100	$> 10^7$
<i>Brochothrix thermosphacta</i>	0	100	$> 10^7$
<i>Pseudomonas spp.</i>	0	100	$> 10^7$

Na discussão de resultados relativos ao crescimento de cada um dos microrganismos patogénicos indicados na Tabela III, é de salientar que a comparação para as distintas condições do ar ambiente apenas contempla os ensaios experimentais para os quais a temperatura de conservação excede a temperatura mínima de crescimento do microrganismo.

Tempo de crescimento do *Bacillus cereus*

A intoxicação causada por *B. cereus* pode apresentar como dados clínicos e epidemiológicos, a diarreia e dor abdominal (enfermidade diarreica), ou náuseas e vômitos (enfermidade emética) [46].

O modelo de previsão de crescimento do *B. cereus* está disponível para temperaturas superiores ou iguais a 5 °C (Ensaio experimentais n.ºs EE4-EE5 e EE7-EE9. Na Figura 2 encontram-se os valores do tempo (em dias) que leva o crescimento deste microrganismo até atingir o valor de dose infectante, para as diferentes temperaturas de conservação.

Pela análise dos resultados, verifica-se que o aumento de 1 °C na temperatura de conservação dos produtos, reduz aproximadamente em dois dias o tempo de conservação em que a segurança alimentar não é comprometida.

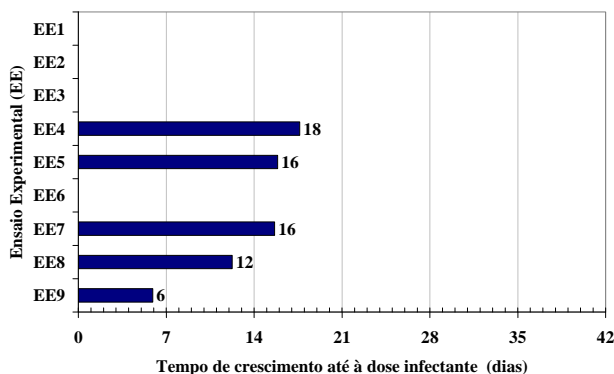


Fig. 2. Comparação das previsões numéricas do tempo de crescimento até à dose infectante do microrganismo *Bacillus cereus*.

Tempo de crescimento da *Escherichia coli*

A *E. coli* possui quatro estirpes de microrganismos enterovirulentos passíveis de provocar gastroenterites em humanos: *E. coli* enteropatogénica clássica (EPEC), enterotoxigénica (ETEC), enteroinvasora (EIEC) e enterohemorrágica (EHEC, ex: *E. coli* 157:H7). Os sintomas podem passar por diarreias bastante severas, algumas com sangue (colites hemorrágicas), febre e náuseas, vômitos e cólicas abdominais com dores violentas [46].

Fazendo uso do modelo de previsão do crescimento da *E. coli*, apenas disponível para temperaturas acima ou iguais a 10 °C, e assumindo este valor, como a temperatura mínima de conservação, o logaritmo de unidades formadoras de colónias, $\log(UFC_i)$, inicialmente igual a 2 atinge o seu valor de dose infectante $\{\log(UFC_i) = 6\}$ ao fim de 15 dias. Todavia, para o ensaio n.º 9 (orientação do ar ambiente paralela à abertura frontal do equipamento, mas com o valor duplicado face à indicação prestada na Norma 23953), este valor de dose infectante é atingido ao fim de 9 dias.

Tempo de crescimento da *Listeria monocytogenes*

A caracterização dos efeitos da enfermidade provocada pela *L. monocytogenes* depende se a sua forma é não-invasiva ou invasiva. No primeiro caso, pode resultar em sintomas auto-limitantes semelhantes à influenza, e/ou distúrbios gastrointestinais brandos como náuseas, vômitos e diarreia. Calafrios e febre podem ocorrer devido à bacteremia. Todavia, no segundo caso, em determinadas condições específicas, a patogenicidade da *L. monocytogenes* também se pode traduzir no desenvolvimento de septicemia, meningite ou meningoencefalite em grupos de risco como sejam grávidas e indivíduos imunodeprimidos. Foi recentemente reconhecida como um perigo para a saúde pública nos E.U.A., pois quando o número de UFC despoleta a enfermidade *Listeriose*, dos cerca 1600 casos que ocorrem por ano, 26 % culminam na morte dos pacientes. Adicionalmente, a mortalidade é na ordem de 70% em casos de meningites, 50% em casos de septicemias e superior a 80% em infecções perinatais e neonatal [46].

O modelo de previsão do crescimento da *L. monocytogenes* encontra-se disponível a partir da temperatura mínima, T_{\min} , de 1 °C. Assim, partindo do logaritmo de unidades formadoras de colónias, $\log(UFC_i) = 1$, este valor aumenta até ao valor de dose infectante $\{\log(UFC_i) = 2\}$, para os casos de ensaio realizados. O tempo (em dias) que leva este crescimento microbiológico encontra-se indicado na Figura 3.

Pela análise dos resultados, verifica-se que o aumento de 1 °C na temperatura de conservação dos produtos, reduz aproximadamente em dois dias o tempo de conservação em que a segurança alimentar não é posta em causa. De salientar que para os ensaios experimentais nos quais a temperatura de conservação dos produtos alimentares é cumprida ($T_{\text{cons}} < 5$ °C), a segurança alimentar destes estende-se por cerca de 11 dias.

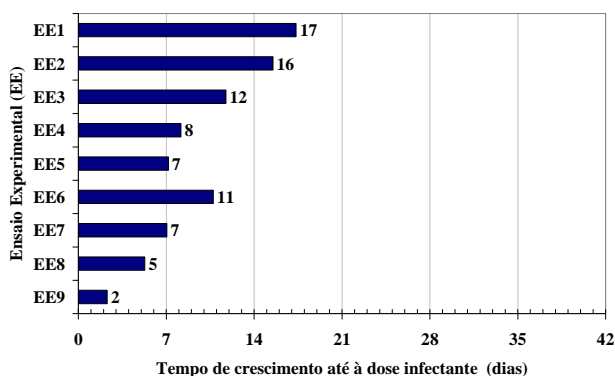


Fig. 3. Comparação das previsões numéricas do tempo de crescimento até à dose infectante do microrganismo *Listeria monocytogenes*.

Tempo de crescimento do *Staphylococcus aureus*

O *S. aureus* produz em 1/3 das estirpes coagulase positivas e em algumas das estirpes termonuclease uma enterotoxina. Os sintomas de doença provocada por esta bactéria podem ir desde náuseas, aumento da produção de saliva, vômitos intensos, cólicas abdominais com dores intensas, diarreias, cefaleias e prostração [46].

O modelo de previsão do crescimento do *S. aureus*, para a temperatura mínima de 7,5 °C, apresenta um crescimento até à dose infectante do valor das unidades formadoras de colónias de $\{\log(UFC_i) = 1 \rightarrow \log(UFC_f) = 5\}$ em 22 dias. No ensaio EE9, a dose infectante é atingida ao final de 6 dias.

Tempo de crescimento da *Salmonella*

Existem 2200 diferentes sorotipos de *Salmonella*, dos quais, 200 podem causar toxinfecções alimentares, sendo que 70% destes casos são provocados pelas estirpes *S. enteritidis*, *S. typhimurium* e *S. newpoort*. Os seus sintomas agudos podem passar por náuseas, vômitos, cólicas abdominais, diarreia, febre e dor de cabeça. Porém, as estirpes *S. typhi* e *S. paratyphi* estão associadas a doenças septicémicas (febre tifóide e paratifóide) que podem causar a morte, se não houver tratamento com antibióticos [46].

O modelo de previsão do crescimento da *Salmonella* apenas se encontra disponível para a temperatura mínima, T_{min} , de 7 °C. Impondo este valor, o modelo prevê que partindo de um valor de unidades formadoras de colónias, $\log(UFC_i) = 2$, o valor da dose infectante $\{\log(UFC_f) = 5\}$ seja atingido ao fim de 24 dias. Para os ensaios n.º 8 (EE8) e n.º 9 (EE9), este valor é atingido ao fim de 22 e 7 dias, respectivamente.

Tempo de crescimento da *Yersinia enterocolitica*

A *Y. enterocolitica* é susceptível de causar gastroenterites em humanos, cujos sintomas podem passar por febre, dores abdominais, diarreia e vômitos [46].

O modelo de previsão do crescimento da *Y. enterocolitica* foi desenvolvido para temperaturas positivas

($T_{min} > -1$ °C). Assim, tal como nos modelos anteriores e partindo do valor de unidades formadoras de colónias, $\log(UFC_i) = 2$, este aumenta até ao valor de dose infectante $\{\log(UFC_f) = 7\}$, para os ensaios experimentais realizados conforme indicado na Figura 4.

A análise comparativa dos resultados indica que o aumento de 1 °C da temperatura de conservação dos produtos, reduz aproximadamente em seis dias o tempo de conservação antes de comprometer a segurança alimentar. A segurança alimentar dos produtos para os ensaios experimentais nos quais a temperatura de conservação é cumprida ($T_{cons} < 5$ °C) estende-se por cerca de 1 mês.

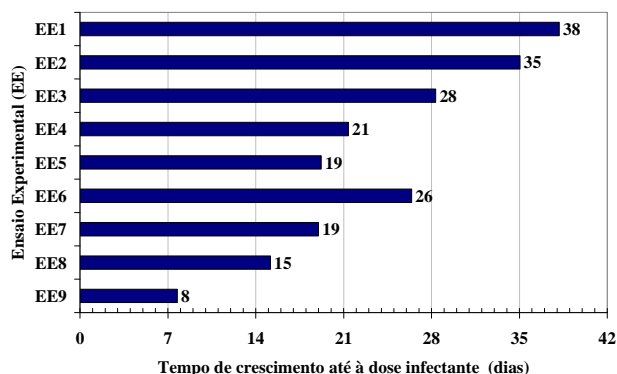


Fig. 4. Comparação das previsões numéricas do tempo de crescimento até à dose infectante do microrganismo *Yersinia enterocolitica*.

Tempo de crescimento da *Brochothrix thermosphacta*

A *B. thermosphacta* é uma das bactérias dominantes associadas à deterioração das características organolépticas de carne refrigerada. Pode-se desenvolver sob condições anaeróbicas (em embalagem com atmosfera modificada), dando origem à deterioração dos alimentos pelo surgimento de odores do tipo levedura, perda de sabor, descoloração e libertação de gases [47-48].

O modelo de previsão do crescimento da *B. thermosphacta* foi desenvolvido para temperaturas positivas ($T_{min} > 0$ °C). Assim, tal como nos modelos anteriores e partindo do valor de unidades formadoras de colónias, $\log(UFC_i) = 2$, este aumenta até ao valor de dose infectante $\{\log(UFC_f) = 7\}$, para os casos de ensaio realizados. O tempo (em dias) que leva este crescimento microbiológico encontra-se indicado na Figura 5.

A análise comparativa dos resultados indica que o aumento de 1 °C da temperatura de conservação dos produtos, reduz aproximadamente em dois dias o tempo de conservação antes dos produtos alimentares começarem a apresentar características de deterioração. Para os ensaios experimentais nos quais a temperatura de conservação é cumprida ($T_{cons} < 5$ °C), os produtos alimentares começam a apresentar sinais de deterioração após aproximadamente uma semana de conservação e exposição em frio.

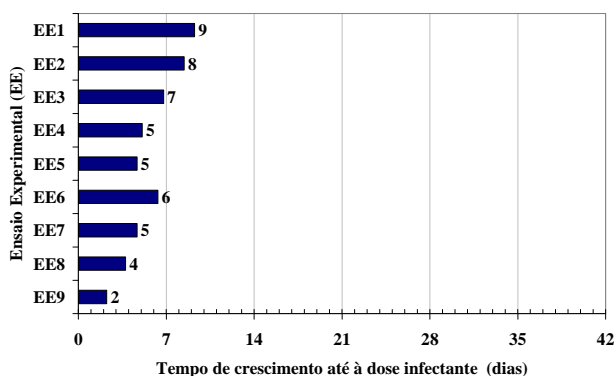


Fig. 5. Comparação das previsões numéricas do tempo de crescimento até à dose infectante do microrganismo *Brochothrix thermosphacta*.

Tempo de crescimento da *Pseudomonas* spp.

A *Pseudomonas* spp. é uma das bactéria também dominante na deterioração das características organolépticas de carne refrigerada. A deterioração manifesta-se por odores, perda de sabor, descoloração e presença de compostos voláteis produzidos em resultado do metabolismo bacteriano [47-48].

O modelo de previsão do crescimento da *Pseudomonas* spp. foi desenvolvido para temperaturas positivas ($T_{\min} > 0$ °C). Partindo do valor de unidades formadoras de colónias, $\log(UFC_i) = 2$, este aumenta até ao valor de dose infectante $\{\log(UFC_f) = 7\}$, para os casos de ensaio realizados conforme indicado na Figura 6.

Pela análise comparativa dos tempos de crescimento desta bactéria para diferentes condições do ambiente de conservação, verifica-se que tal como para a *B. thermosphacta* o tempo de conservação antes dos produtos alimentares começarem a apresentar características de deterioração é reduzido em aproximadamente em dois dias com o aumento de 1 °C na temperatura de conservação dos produtos. Quando a temperatura de conservação é cumprida ($T_{\text{cons}} < 5$ °C), os produtos alimentares começam a apresentar sinais de deterioração aproximadamente após uma semana e meia de conservação e exposição em frio.

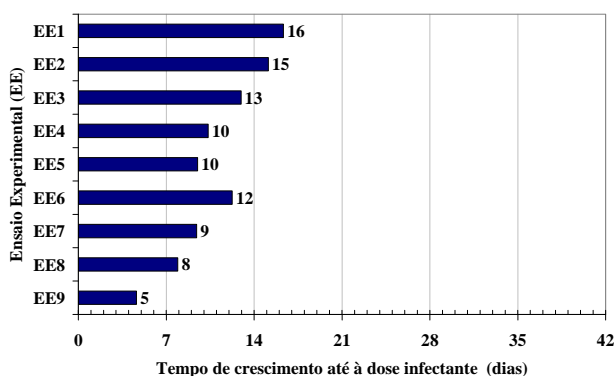


Fig. 6. Comparação das previsões numéricas do tempo de crescimento até à dose infectante do microrganismo *Pseudomonas* spp.

Comparação e discussão dos resultados

Pela análise conjunta de todos os modelos de previsão do crescimento microbiológico, e pretendendo-se evitar o crescimento microbiológico de qualquer microrganismo, para os casos de estudo em que a temperatura de conservação se encontra dentro da gama legalmente exigida (EE1, EE2, EE3 e EE6), os produtos poderão permanecer à venda antes que a segurança alimentar seja comprometida cerca de uma semana. Porém, no caso de estudo mais crítico no que respeita à temperatura de conservação (EE9), o tempo de conservação e exposição do produto com garantia de segurança alimentar passa para um valor menor que três dias.

No que respeita ao tempo de crescimento dos microrganismos nos produtos alimentares face à sua temperatura de conservação, há que salientar duas situações: (1) Durante as horas de fecho do estabelecimento comercial (tipicamente 8 horas), a carga térmica dos equipamentos reduz-se. Esta situação resulta da iluminação dos equipamentos ser desligada, mas mais significativamente pela colocação da cortina de protecção nocturna, que para a condição climática de teste n.º 3, leva a um decréscimo de cerca de 60 % da temperatura dos produtos (e consequentemente uma redução da actividade bacteriana) comparativamente aos resultados obtidos no ensaio experimental que simula uma condição normal de funcionamento (EE6) [36]; (2) Todavia, é necessário ter consideração que estes mesmos produtos foram já transportados em veículos refrigerados, sujeitos a períodos de embarque/desembarque e a períodos de armazenamento refrigerado num ou mais entrepostos, sofrendo flutuações na sua temperatura de conservação, que certamente afectam a sua qualidade e segurança alimentar, podendo reduzir adicionalmente os tempos indicados de crescimento dos microrganismos.

Estes modelos de previsão apenas indicam o tempo de crescimento dos microrganismos até à dose infectante, para a temperatura média de conservação considerada nos ensaios experimentais realizados, a partir do momento em que os produtos são colocados no equipamento expositor refrigerado. É necessário realçar que estes modelos não avaliam as qualidades organolépticas dos produtos no que respeita a cor, odor ou paladar, embora os modelos de previsão do crescimento das bactérias *Brochothrix thermosphacta* e *Pseudomonas* spp. esteja directamente relacionado com a deterioração de produtos alimentares pelo surgimento de odores, perda de cor e de sabor.

A ferramenta computacional dispõe ainda de modelos de crescimento das bactérias *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens* e *Shigella flexneri*, também susceptíveis de infectar produtos cárneos e de charcutaria. Porém, como os modelos de crescimento destas bactérias apenas se encontram disponíveis para gamas de temperatura e de actividade da água, fora das consideradas neste estudo, a análise do seu tempo de crescimento até que a segurança alimentar fosse afectada não foi realizada.

5. Conclusões

A análise da segurança alimentar dos produtos evidencia as fragilidades da distribuição de produtos alimentares na cadeia de frio. Um elemento crítico para a garantia de qualidade e de segurança alimentar é a manutenção de condições adequadas de refrigeração. A degradação dos alimentos ocorre naturalmente por acção de microrganismos que usam os alimentos como a sua fonte de nutrientes até os tornar impróprios para consumo. Porém, sucede frequentemente que a degradação do alimento ainda não é perceptível, mas este encontra-se já de tal modo contaminado com microrganismos patogénicos que o seu consumo pode gerar doenças no consumidor. Assim, e face às condições do ar ambiente (temperatura, humidade relativa e módulo e direcção da velocidade do ar ambiente) e características intrínsecas dos produtos, foi previsto numericamente o tempo durante o qual os produtos permanecem inócuos (sem contemplar as alterações das qualidades organolépticas no que respeita a cor, odor ou paladar) para os distintos casos de estudo. O tempo de conservação e exposição ao ar ambiente em que é garantida a segurança alimentar de produtos cárneos e de charcutaria conservados em equipamentos expositores refrigerados verticais abertos é de cerca de uma semana. Porém, no caso de estudo em que o valor da velocidade do ar ambiente é duplo, o aumento da temperatura do ar na zona de conservação leva a uma redução do tempo de conservação do produto em que a segurança alimentar é garantida menor que 3 dias (ensaio EE9).

Tendo em consideração as flutuações da temperatura de conservação dos produtos devido ao transporte em veículos refrigerados, a períodos de armazenamento refrigerado num ou mais entrepostos, assim como os períodos de embarque e desembarque, certamente afecta mais a qualidade e segurança alimentar, reduzindo adicionalmente os tempos indicados.

Em conclusão, o presente estudo mostra a grande dependência da segurança alimentar dos produtos conservados em equipamentos refrigerados abertos ao ar ambiente, da variabilidade dos processos de interacção térmica e mássica para diferentes condições do ar ambiente. Por isso é essencial que a concepção e projecto dos equipamentos e dos sistemas de AVAC dos espaços onde são instalados tenham em consideração a variação destes parâmetros ambientais com o objectivo de melhorar simultaneamente o desempenho global dos equipamentos, reduzir o seu consumo energético e consequentemente garantir uma maior segurança alimentar.

Agradecimentos

Agradece-se à JORDÃO Cooling Systems® pela colaboração no trabalho, e em particular ao Eng.º Luís Basto pela disponibilização de todos os elementos necessário à prossecução dos objectivos.

Referências

[1] Nagengast, B., Air conditioning and refrigeration chronology. American Society of Heating, Refrigerating and Air Conditioning Engineers, ASHRAE, May, 2006.

- [2] Billard, F. e Dupont, J.L., Industry as a partner for sustainable development - Refrigeration. Ed. by International Institute of Refrigeration – IIR, Final Report prepared for UNEP - United Nations Environment Programme, International Institute of Refrigeration, Paris, France, 2002.
- [3] Faramarzi, R., Showcasing energy efficient emerging refrigeration technologies. ET SUMMIT 2004 - Emerging Technologies in Energy Efficiency, San Francisco, U.S.A., October, 2004).
- [4] Freedonia, “World Commercial Refrigeration Equipment - Industry Study with Forecasts to 2012 & 2017”, The Freedonia Group, Inc., Cleveland, U.S.A., October, 2008.
- [5] ADL – Westphalen, D., Zogg, R, Varon A. e Foran, M., Energy Savings Potential for Commercial Refrigeration Equipment, Ed. ADL - Arthur D. Little, Final Report prepared For Building Equipment Division Office of Building Technologies – U.S. Department of Energy – DOE, Cambridge, Mass., Arthur D. Little, Inc., 1996.
- [6] Faramarzi, R., “Efficient display case refrigeration”, *ASHRAE Journal*, vol. 41, n.º 11, November, 1999.
- [7] Miranda, P.M.A., Coelho, F.E.S., Tomé, A.R., Valente, M.A., Carvalho, A., Pires, C., Pires, H.O., Pires, V.C. e Ramalho, C., 20th century portuguese climate and climate scenarios, in F.D., Forbes, K. e Moita, R., Climate change in Portugal: scenarios, impacts and adaptation measures, Gradiva, 2002.
- [8] Baptista, P., Higiene e segurança alimentar no transporte de produtos alimentares. Forvisão – Consultoria em Formação Integrada, Guimarães, Portugal, 2006.
- [9] Baptista, P., Sistemas de segurança alimentar na cadeia de transporte e distribuição de produtos alimentares”. Forvisão – Consultoria em Formação Integrada, Guimarães, Portugal, 2006.
- [10] Baptista, P., Gaspar, P.D. e Oliveira, J., Higiene e segurança alimentar na distribuição de produtos alimentares. Forvisão – Consultoria em Formação Integrada, Guimarães, Portugal, 2006.
- [11] Rahman, M.S., Handbook of Food Preservation. CRC Press, 2007.
- [12] Beuchat, Water Activity of Some Foods and Susceptibility to Spoilage by Microorganisms, *Cereal Food World*, 26, pp. 345-349, 1981.
- [13] Hayes, J.R., Carr, L.E., Mallinson, E.T., Douglass, L.W. e Joseph S.W., Characterization of the Contribution of Water Activity and Moisture Content to the Population Distribution of Salmonella spp. in Commercial Poultry Houses. *Poultry Science* 79(11), 2000.
- [14] Davies, A. e Board, R.G., The microbiology of meat and poultry. Blackie Academic & professional, Springer, 1998.
- [15] Baptista, P. e Venâncio, A., Os perigos para a segurança alimentar no processamento de alimentos. Forvisão – Consultoria em Formação Integrada, Lda., Guimarães, Portugal, 2003.
- [16] Lund, B.M., Baird-Parker, T.C. e Gould, G.W., The microbiological safety and quality of food. Springer, 2000.
- [17] Foster, A.M., Madge, M. e Evans, J.A., The use of CFD to improve the performance of a chilled multi-deck retail display cabinet. *International Journal of Refrigeration*, 28(5), pp. 698–705, 2005.
- [18] Nauta, M., Hill, A., Rosenquist, H., Brynestad, S. et al., A comparison of risk assessments on Campylobacter in broiler meat. *International Journal of Food Microbiology* 129, pp. 107–123, 2009.
- [19] Duffy, G., Cummins, E., Nally P., O’ Brien, S. e Butler, F., A review of quantitative microbial risk assessment in the management of Escherichia coli O157:H7 on beef. *Meat Science* 74, pp. 76–88, 2006.
- [20] Jones, T.H., Johns, M.W. e Gill, C.O., Changes in the proteome of Escherichia coli during growth at 15 °C after incubation at 2, 6 or 8 °C for 4 days. *International Journal of Food Microbiology* 124, pp. 299–302, 2008.
- [21] Skandamis, P.N., Stopforth, J.D., Kendall, P.A., Belk, K.E. et al., Modeling the effect of inoculum size and acid adaptation on growth/no growth interface of Escherichia coli O157:H7. *International Journal of Food Microbiology* 120, pp. 237–249, 2007.

- [22] Juneja, V.K., Melendres, M.V., Huang, L., Subbiah, J. e Thippareddi, H., Mathematical modeling of growth of Salmonella in raw ground beef under isothermal conditions from 10 to 45 °C. *International Journal of Food Microbiology* 2009. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2009.01.034.
- [23] Sergelidis, D. e Abraham, A., Adaptive response of *Listeria monocytogenes* to heat and its impact on food safety. *Food Control* 20, pp. 1–10, 2009.
- [24] Koutsoumanis, K.P. e Sofos, J.N., Effect of inoculum size on the combined temperature, pH and aw limits for growth of *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology* 104, pp. 83–91, 2005.
- [25] Ross, T., Rasmussen, S., Fazil, A., Paoli, G. e Sumner, J., Quantitative risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meats in Australia. *International Journal of Food Microbiology* (2009), doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2009.02.007.
- [26] Huang, L., Thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* in ground beef under isothermal and dynamic temperature conditions. *Journal of Food Engineering* 90, pp. 380–387, 2009.
- [27] Nychas, G.-J.E., Skandamis, P.N., Tassou, C.C. e Koutsoumanis, K.P., Meat spoilage during distribution. *Meat Science* 78, pp. 77–89, 2008.
- [28] van Asselt, E.D. e Zwietering, M.H., A systematic approach to determine global thermal inactivation parameters for various food pathogens. *International Journal of Food Microbiology* 107, pp. 73–82, 2006.
- [29] Hu, P., Zhou, G., Xu, X., Li, C. e Han, Y., Characterization of the predominant spoilage bacteria in sliced vacuum-packed cooked ham based on 16S rDNA-DGGE. *Food Control* 20, pp. 99–104, 2009.
- [30] Mataragas, M., Skandamis, P., Nychas, G.-J.E. e Drosinos, E.H., Modeling and predicting spoilage of cooked, cured meat products by multivariate analysis. *Meat Science* 77, pp. 348–356, 2007.
- [31] Smith-Simpson, S., Corradini, M.G., Normand, M.D., Peleg, M. e Schaffner, D.W., Estimating microbial growth parameters from non-isothermal data: A case study with *Clostridium perfringens*. *International Journal of Food Microbiology* 118, pp. 294–303, 2007.
- [32] Le Marc, Y., Plowman, J., Aldus, C.F., Munoz-Cuevas, M. et al., Modelling the growth of *Clostridium perfringens* during the cooling of bulk meat. *International Journal of Food Microbiology* 128, pp. 41–50, 2008.
- [33] Juneja, V.K., Marks H. e Thippareddi, H., Predictive model for growth of *Clostridium perfringens* during cooling of cooked ground chicken. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 10, pp. 260–266, 2009.
- [34] Juneja, V.K., Marks H. e Thippareddi, H., Predictive model for growth of *Clostridium perfringens* during cooling of cooked uncured beef. *Food Microbiology* 25, pp. 42–55, 2008.
- [35] Valdramidis, V.P., Geeraerd, A.H., Bernaerts, K. e Van Impe, J.F., Microbial dynamics versus mathematical model dynamics: The case of microbial heat resistance induction. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 7, pp. 80–87, 2006.
- [36] Mataragas, M., Skandamis, P.N. e Drosinos, E.H., Risk profiles of pork and poultry meat and risk ratings of various pathogen/product combinations. *International Journal of Food Microbiology* 126, pp. 1–12, 2008.
- [37] Gaspar, P.D., *Optimização do desempenho e da eficiência energética de equipamentos de refrigeração*. Tese de Doutorado em Engenharia Mecânica. Departamento de Engenharia Electromecânica, Universidade da Beira Interior, Maio, 2008.
- [38] Gaspar, P.D., Gonçalves, L.C.C. e Pitarma, R.A., “Experimental analysis of the thermal entrainment three dimensional effects in re-circulated air curtains”, in 10th International Conference on Air Distribution in Rooms – ROOMVENT 2007, Helsinki, Finland, Junho 2007.
- [39] Gaspar, P.D., Gonçalves, L.C.C. e Pitarma, R.A., “Influência da ventilação no desempenho térmico e energético de expositores refrigerados”, in ENVent – Encontro Nacional de Ventilação, Cenertec, Espinho, Julho 2006.
- [40] Gaspar, P.D., Pitarma, R.A. e Gonçalves, L.C.C., “Influência das condições ambientais no desempenho térmico e energético de expositores refrigerados”, in Engenharia ‘2005 – Inovação e Desenvolvimento. U.B.I., Covilhã, Nov., 2005.
- [41] Gaspar, P.D., Pitarma, R.A. e Gonçalves, L.C.C., “Estudo Experimental do Impacto da Variação das Condições do Ar Ambiente no Desempenho Global de Expositores Refrigerados Abertos”, in Engenharia ‘2007 – Inovação e Desenvolvimento. U.B.I., Covilhã, Nov., 2007.
- [42] EN-ISO Standard 23953. Refrigerated display cabinets, parts 1 and 2. ISO - International Organization for Standardization; 2005.
- [43] Toldrá, F., *Handbook of fermented meat and poultry*. Blackwell Publishing, 2007.
- [44] Jay, J.M., *Modern Food Microbiology - 6th edition*, Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, Maryland, 2000.
- [45] Ray, Bibek, *Fundamental food microbiology*. CRC Press, 2004.
- [46] FDA, *Foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins handbook*. U.S. Food & Drug Administration, Center for Food Safety & Applied Nutrition, 2007.
- [47] Russo, F., Ercolini, D., Mauriello, G. e Villani, F., Behaviour of *Brochothrix thermosphacta* in presence of other meat spoilage microbial groups. *Food Microbiology* 23(8), pp. 797–802, 2006.
- [48] Borch, E., Kant-Muermans, M.-L., Blixt, Y., Bacterial spoilage of meat and cured meat product. *Int. J. Food Microbiol.* 33, pp. 103–120, 1996.

Nomenclatura

Geral:

<i>T</i>	Temperatura, [°C].
<i>UFC</i>	Unidade formadora de colónias, [UFC/g].
<i>v</i>	Velocidade, [m/s].

Simbologia grega:

ϕ	Humidade relativa, [%].
θ	Orientação, [°].

Índices inferiores:

cons	Zona de conservação e exposição dos produtos.
amb	Ambiente.
prod	Produtos alimentares.