

# Avaliação da qualidade e segurança alimentar pela previsão do crescimento microbiano em diferentes condições de conservação

P. D. Gaspar<sup>1\*</sup>, C. Domingues<sup>2</sup>, L.C.C. Gonçalves<sup>1</sup> e L. P. Andrade<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade da Beira Interior, Departamento de Engenharia Electromecânica, Rua Marquês d'Ávila e Bolama, 6200 Covilhã, Portugal,  
Tel.: +351 275 329 759, Fax: +351 275 329 972  
e-mail: [dinis@ubi.pt](mailto:dinis@ubi.pt); [carrilho@ubi.pt](mailto:carrilho@ubi.pt)

<sup>2</sup> Instituto Politécnico de Castelo Branco; Av. Pedro Álvares Cabral nº 12, 6000 Castelo Branco, Portugal,  
E-mail: [claudiadomingues@ipcb.pt](mailto:claudiadomingues@ipcb.pt); [lpintoandrade@ipcb.pt](mailto:lpintoandrade@ipcb.pt)

**Palavras-chave:** Segurança Alimentar, Câmaras de frio, Crescimento microbiano

## Resumo

A segurança alimentar surge actualmente como uma das grandes preocupações das indústrias que se dedicam à conservação de produtos perecíveis. A avaliação da qualidade e segurança alimentar dos produtos evidencia as fragilidades da distribuição de produtos alimentares através 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 câmaras de conservação pela previsão do crescimento microbiano em diferentes condições termohigrométricas do ambiente de conservação. Com base numa ferramenta computacional, os tempos de crescimento dos principais microrganismos patogénicos encontrados nos produtos alimentares até à dose infectante são previstos e avaliados para as condições ambientais na zona de conservação de produtos. A recolha de dados decorreu durante 4 meses e os parâmetros ambientais foram medidos com uma sonda integrada de temperatura, humidade e velocidade do ar através do instrumento de precisão multi-função TESTO 400. Foram analisadas seis câmaras de frio e cada câmara foi monitorizada pelo menos durante uma jornada de trabalho. Para a previsão do crescimento microbiano foram utilizados os valores médios dos parâmetros ambientais.

Os resultados indicam que variações das condições ambientais no interior das câmaras de conservação resultam no crescimento de diferentes tipos de microrganismos, alguns dos quais responsáveis por alterações nas 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 a segurança e qualidade alimentar não é assegurada.

## 1 Introdução

Desde tempos imemorráveis 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 frigorígena 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] teve por objectivo analisar como o sector da refrigeração se enquadrava no desenvolvimento sustentável global e em que extensão os objectivos estabelecidos pelo plano de acção Agenda 21, são implementados no seio do sector da refrigeração, definindo para tal quais os desafios chave e as acções a implementar. Neste mesmo documento, encontram-se definidos os objectivos do plano Agenda 21, cobrindo as dimensões sociais, económicas e ambientais. O impacto do sector da refrigeração na sua dimensão social possui várias facetas: (1) cerca de 75 % dos produtos alimentares consumidos necessitam de um qualquer tipo de processamento; (2) após a manufactura, 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.

Nos países industrializados, os seguintes aspectos podem ser apontados ao sector da refrigeração: (1) gera postos de trabalho, em particular nos campos industrial, comercial e de serviços; (2) torna possível a conservação de produtos alimentares perecíveis em todos os níveis da cadeia de frio mantendo a segurança alimentar, da produção ao consumidor final, e melhora o abastecimento de produtos alimentares às populações; (3) no campo médico, este sector favorece a saúde. A sua importância 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. Esta situação acarreta anualmente cerca de 325 mil hospitalizações e 5 mil mortes, que se traduz em 22 mil milhões de dólares anuais de custos [3]; (4) e torna possível a criação de ambientes de trabalho com as condições de temperatura, humidade e ventilação desejadas.

## 2 Factores intrínsecos e extrínsecos de produtos alimentares

Os principais factores intrínsecos dos produtos alimentares que afectam o crescimento microbiano são: a actividade da água ( $a_w$ ); a acidez (pH); o potencial de oxidação/redução (Eh); a composição química do alimento; a estrutura biológica do alimento; e as substâncias anti-microbianas naturais presentes no alimento. Por sua vez, os principais factores extrínsecos dos produtos alimentares que afectam o crescimento microbiano são: a temperatura; a humidade relativa e a composição do meio. A aplicação dos Regulamentos (CE) n.º 852/2004 e n.º 853/2004, fiscalizado pela Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (ASAE - Portugal), 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 [4-6]. 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 ( $\phi_{cons}$ ) elevada é fundamental para assegurar a correcta conservação dos produtos em termos de aspecto, paladar e odor. A imposição de um valor de  $\phi_{cons}$  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  $a_w$ , já que as bactérias crescem normalmente em ambientes com muita água disponível. Enquanto que 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  $a_w$  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  $a_w$  variam entre 0 (osso seco) e 1 (água saturada). Quando o equilíbrio é atingido, a  $a_w$  de uma amostra é igual à humidade relativa do ar que envolve a amostra (numa câmara de medição selada ao exterior). Assim, a  $a_w$  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 [7]. Deste modo, a humidade relativa influencia directamente a  $a_w$  do alimento. Se um alimento com baixa  $a_w$  está armazenado num ambiente com humidade relativa elevada, a  $a_w$  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 [8-10] são apresentadas os valores limite (mínimo e máximo) para o crescimento de variados microrganismos, assim como exemplos das gamas de  $a_w$  para diversos de produtos alimentares. 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  $a_w$  [11]. 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<sub>2</sub>), de ozono (O<sub>3</sub>), de oxigénio (O<sub>2</sub>), de azoto (N<sub>2</sub>) ou de etanol (CH<sub>3</sub> CH<sub>2</sub>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<sub>3</sub> e pelo O<sub>2</sub> são altamente tóxicas para bactérias anaeróbias e podem ter um efeito inibidor nas bactérias aeróbias dependendo da sua concentração. Por sua vez, o CO<sub>2</sub> é eficaz relativamente a microrganismos aeróbios, podendo, em concentrações elevadas, inibir outros microrganismos. O efeito do CO<sub>2</sub> 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<sub>2</sub> de 15 a 75%; O<sub>2</sub> de 5 a 80% e de N<sub>2</sub> de 40 a 80% [11].

O pH dos produtos alimentares também influi na progressão do crescimento microbiano. A redução do pH de um alimento contribui para reduzir a capacidade de desenvolvimento microbiano [12]. Conforme descrito por Foster *et al.* [13], a redução de 1 °C na 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 em câmaras de refrigeração é sensível às condições e particularidades do ar ambiente.

Na Tabela 1 encontram-se indicados os valores médios de pH e de  $a_w$  para cada uma das fileiras agro-alimentares seleccionadas: carne e charcutaria (CC), peixe e marisco (PM), leite e derivados (LD), horto-frutícolas (HF), padaria e pastelaria (PP) e ovos (OV) conforme os dados apresentados em [11, 14-15]. De salientar que os valores limite de pH e  $a_w$  em produtos de CC, contemplam desde produtos crus a produtos preparados prontos a comer, enquanto que a fileira agro-alimentar de PM inclui peixe, crustáceos e moluscos. Por sua vez, a fileira agro-alimentar de HF inclui os vegetais, legumes e frutas. Produtos crus ou frescos de carne, peixe, vegetais, frutas, leite e ovos possuem valores de  $a_w$  entre 0,98 e 0,99 [14].

Fileira agro-alimentar	$pH_{\min}$	$pH_{\max}$	$a_{w,\min}$	$a_{w,\max}$
Carne e charcutaria (CC)	4,3	7,0	0,60	0,99
Peixe e marisco (PM)	4,8	7,0	0,98	0,99
Leite e derivados (LD)	3,8	7,4	0,60	0,99
Horto-frutícolas (HF)	1,8	7,3	0,70	0,99
Padaria e pastelaria (PP)	4,4	8,5	0,93	0,97
Ovos (OV)	6,4	9,5	0,98	0,99

Tabela 1. Valores mínimo e máximo dos parâmetros intrínsecos, pH e  $a_w$ , de produtos de diferentes fileiras agro-alimentares.

### 3 Segurança alimentar

Salienta-se que os produtos alimentares perecíveis são ricos do ponto de vista nutricional e que, na generalidade dos casos, não apresentam ao nível de alguns parâmetros ( $a_w$ , pH, 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 [6-8]. 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 [9]. 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 em diversos produtos distribuídos pelas diferentes fileiras agro-alimentares. 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* [14-15]. 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. É importante salientar desde já que os perigos (dados clínicos e epidemiológicos) associados ao crescimento das bactérias patogénicas podem ser reduzidos pela implementação de boas práticas de higiene, diminuição do tempo de armazenamento, respeito estrito pelas temperaturas de refrigeração ou congelação, redução do contacto com o ar (embalamento) e até pela adição de ácidos e conservantes.

Nas últimas décadas, os métodos de avaliação quantitativa do risco microbiológico tomaram-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 [16], da *Escherichia coli* O157:H7 em carne de vaca [17] e do seu crescimento após incubação a temperaturas de conservação de 2 °C, 6 °C e 8 °C [18]. Para esta bactéria foi também modelado o efeito do tamanho da inoculação e da adaptação ao ácido na interface de crescimento/não crescimento [19]. Também para a carne de vaca foi modelado matematicamente o crescimento da *Salmonella* para condições isotérmicas de 10 a 45 °C [20]. A resposta adaptativa da *Listeria monocytogenes* ao calor e o seu impacto na segurança alimentar foi investigada por [21], assim como do seu crescimento face à quantidade de inoculação para diferentes combinações de temperatura, pH e  $a_w$  [22]. A avaliação quantitativa de riscos biológicos deste microrganismo patogénico em carne pronta a ser consumida foi efectuada por [23] tendo sido identificado que cerca de 40% das enfermidades provocadas por este agente patogénico decorrem do consumo deste tipo de alimentos, enquanto que para carne de vaca crua foi modelada por [24]. Noutra vertente, em [25] foi investigada a deterioração da carne na cadeia de frio face a parâmetros físico-químicos e da estrutura dos alimentos, competição bacteriana e estado fisiológico das bactérias assim como os efeitos transientes durante o armazenamento (flutuação da temperatura, tipo de embalamento/empacotamento, permeabilidade do filme,...) e a ecologia e mecanismo microbiano. Outros modelos consistiram na aplicação de abordagens sistemáticas de determinação dos parâmetros de desactivação térmicos globais de vários microrganismos patogénicos 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* [26]. 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 [27]. Também para carne cozida curada foi modelada e prevista a sua deterioração por análise multivariável face ao crescimento de bactérias do ácido láctico [28]. A estimação dos parâmetros de crescimento microbiano de *Clostridium perfringens* em condições não isotérmicas foi desenvolvida por [29], enquanto que os efeitos da temperatura, pH e da concentração de NaCl no crescimento deste patogénio foram também analisados por [30-32] para a carne crua e cozida, de frango e de vaca, através modelos dinâmicos predictivos. Fazendo uso de um modelo deste tipo, [33] realizou a análise da influência das condições térmicas dos processos na resistência microbiana da *Escherichia coli* K12 MG1655 ao calor. Na revisão bibliográfica realizada foram encontrados diversos dos modelos mais recentes desenvolvidos para a previsão de variados microrganismos patogénicos em produtos alimentares. Neste sentido, também em [34] é apresentada uma revisão detalhada dos modelos existentes, assim como dos perfis de risco e sua escala para a combinação entre vários agentes patogénicos e produtos alimentares.

#### 4 Estudo experimental

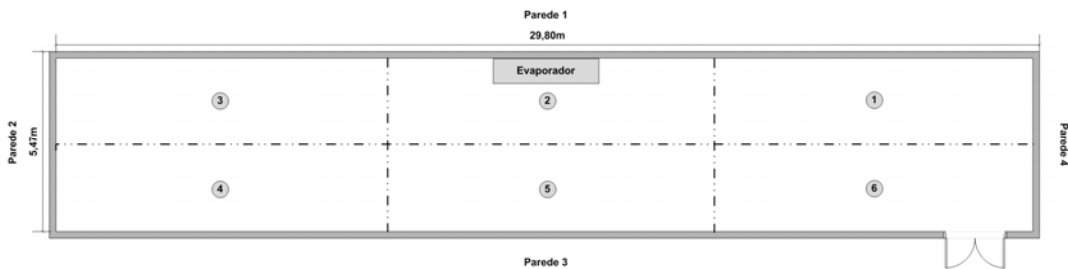
Face à relevância que o sector da Refrigeração assume no distrito de Castelo Branco e ao nível nacional, o presente estudo experimental [35] contempla uma análise da segurança alimentar de produtos perecíveis pela previsão do crescimento microbiano face às condições de conservação em câmaras de conservação (i.é., Câmaras de Frio Positivo - CFP - temperaturas entre 0 e 14 °C). As empresas que colaboraram no estudo experimental são representativas do sector de Refrigeração, na qualidade de grandes consumidores de frio, cujas condições de temperatura encontradas no interior das câmaras são variadas e distribuem-se entre -20 e 10 °C. Os ensaios experimentais decorreram em 6 câmaras construídas em painel isotérmico, cujas dimensões e volume estão definidos na Tabela 2.

Identificação Geral	1	2	3	4
Comprimento [m]	29,8	14,6	6,45	7,4
Largura [m]	5,47	4,85	5,7	5,9
Altura [m]	3,22	5,85	4,43	4,23
Volume [m <sup>3</sup> ]	525	414,24	163	185

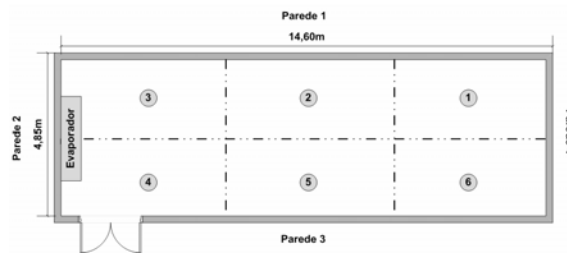
Tabela 2. Dimensões e volume das câmaras caracterizadas.

Para realizar a parte experimental foi necessário empregar várias técnicas e metodologias. Os parâmetros ambientais foram medidos com uma sonda integrada de temperatura, humidade e velocidade do ar e com um termómetro de globo negro através do instrumento de precisão multi-função TESTO 400. Utilizou-se uma extensão que permite o posicionamento das sondas no interior da câmara e do equipamento no exterior. Para a medição de temperaturas e humidades durante um período de tempo mais alargado, utilizou-se *data loggers* TinyTag Talk. A temperatura das superfícies foi medida com um termopar de contacto, termómetro Testo term 9200. Cada câmara foi monitorizada pelo menos durante uma jornada de trabalho. Foi obtida a distribuição espacial e a evolução temporal dos parâmetros ambientais (temperatura do ar, temperatura média radiante, humidade do ar e velocidade do ar). Para a medição das referidas grandezas foi aplicada a metodologia preconizada pela ISO 7726, tendo os parâmetros sido medidos de acordo com as especificações e métodos do tipo S, que se referem a medições efectuadas em ambientes sujeitos a stress térmico [36]. Devido à inércia térmica dos sensores, a medição das variáveis ambientais não é instantânea. O tempo de resposta do termómetro de globo negro é de aproximadamente 20 a 30 minutos, de acordo com as características do globo e as condições ambientais [36].

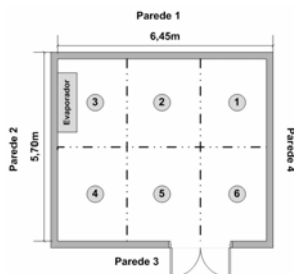
Identificam-se no conjunto de empresas pertencentes à região da Beira Interior cerca de 25 empresas que utilizam o frio como forma de conservação de alimentos ou como parte do seu processo produtivo. Não foram contabilizados para este estudo os indivíduos que a título particular têm grandes CFP para conservação de produtos hortícolas. Analisaram-se seis câmaras de conservação com volume médio por câmara de 339 m<sup>3</sup>. Levando em consideração a planta de cada uma das câmaras, dividiu-se cada uma delas em seis áreas de controlo, e definida a localização do seu centro. Um esquema resumido das plantas que inclui a localização dos 6 pontos, da porta da câmara e dos evaporadores está representado na Figura 1.



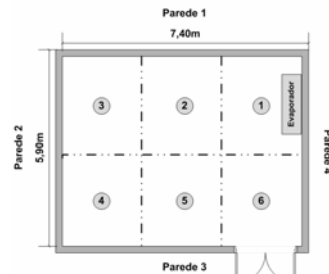
a) Planta da câmara nº 1.



b) Planta da câmara nº 2.



c) Planta da câmara nº 3.



d) Planta da câmara nº 4.

Figura 1. Plantas das câmaras de frio positivo.

Os valores da temperatura das superfícies de diferentes produtos posicionados no interior de uma câmara de refrigeração são um indicador importante acerca da qualidade do frio produzido no interior dessa câmara. De forma a verificar se existe homogeneidade de temperaturas no interior das câmaras, além da temperatura do ar mediram-se as variáveis temperatura superficial do produto no ponto  $i$  ( $T_{pri}$ ) e temperatura da fachada  $i$  ( $T_{fai}$ ) (Tabela 3). Verifica-se que não há uma variação significativa das temperaturas obtidas no interior de uma dada câmara. As zonas de temperatura mais baixa estão normalmente associadas à proximidade dos evaporadores e as zonas de temperatura mais elevada estão associadas à proximidade da porta.

Parâmetro	i	Câmaras			
		1	2	3	4
$T_{pri}$ [°C]	1	14	9	6	6
	2	14	9	5	6
	3	14	9	6	6
	4	14	9	7	6
	5	15	8	7	7
	6	15	9	7	8
$T_{fai}$ [°C]	1	14	13	5	6
	2	14	13	5	6
	3	15	13	6	7
	4	15	13	6	7

Tabela 3. Temperatura dos produtos no interior das câmaras e temperatura das fachadas envolventes.

## 5 Simulação do crescimento microbiano

Tendo por base a ferramenta numérica desenvolvida por [4-6], é possível obter resultados 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 numéricos. 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. Os modelos foram obtidos em ComBase ([www.combase.cc](http://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 para obtenção de curvas de crescimento microbiológico desenvolvidas em estabelecimentos de investigação e publicadas em revistas científicas.

Na Tabela 4 estão descritas as condições do ar ambiente e parâmetros intrínsecos limites para a previsão do crescimento de distintos microrganismos através destes modelos. 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 [7-11, 14-15, 37-40]. Nos casos em que não se encontram dados disponíveis acerca da dose infectante de determinado microrganismo, considera-se que  $UFC > 10^5$ , indica já problemas de segurança alimentar [38-40]. 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.

Microrganismo	$T_{\min}$ [°C]	$T_{\max}$ [°C]	$pH_{\min}$	$pH_{\max}$	$a_{w,\min}$	$a_{w,\max}$	Colónia inicial [UFC/g]	Colónia Infectante [UFC/g]
<i>Bacillus cereus</i>	5	34	4,9	7,4	0,940	1	10 <sup>1</sup>	> 10 <sup>5</sup>
<i>Bacillus licheniformis</i>	13	34	4,0	7,6	0,907	1	10 <sup>3</sup>	> 10 <sup>5</sup>
<i>Bacillus subtilis</i>	10	34	4,3	7,8	0,933	1	10 <sup>1</sup>	> 10 <sup>5</sup>
<i>Clostridium botulinum</i>	4	30	5,1	7,5	0,974	1	10 <sup>0</sup>	> 10 <sup>4</sup>
<i>Clostridium perfringens</i>	15	20	5,0	8,0	0,971	1	10 <sup>1</sup>	> 10 <sup>6</sup>
<i>Escherichia coli</i>	10	42	4,5	7,5	0,961	1	10 <sup>2</sup>	> 10 <sup>6</sup>
<i>Listeria monocytogenes</i>	1	40	4,4	7,5	0,934	1	10 <sup>1</sup>	> 10 <sup>2</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	7,5	30	4,4	7,5	0,907	1	10 <sup>1</sup>	> 10 <sup>5</sup>
<i>Salmonella</i>	7	40	3,9	7,4	0,973	1	10 <sup>2</sup>	> 10 <sup>5</sup>
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-1	37	4,4	7,2	0,957	1	10 <sup>2</sup>	> 10 <sup>7</sup>
<i>Brochothrix thermosphacta</i>	0	30	5,5	7,0	0,950	1	10 <sup>2</sup>	> 10 <sup>7</sup>
<i>Pseudomonas spp.</i>	0	20	5,0	7,4	0,961	1	10 <sup>2</sup>	> 10 <sup>7</sup>

Tabela 4. Valores limites das condições do ar ambiente e dos parâmetros intrínsecos dos produtos para a previsão pelos modelos computacionais do crescimento de microrganismos patogénicos desde uma colónia inicial até à colónia infectante.

## 6 Análise e discussão dos resultados

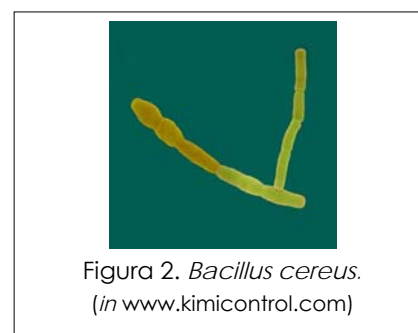
É necessário realçar que estes modelos de previsão/simulação não avaliam a qualidade do produto no que respeita a cor, odor ou paladar e que apenas prevêem o tempo de crescimento dos microrganismos até à dose infectante, para a temperatura média de conservação considerada nos ensaios experimentais realizados, a partir do momento em que os produtos são colocados nas câmaras de conservação. Assim, sabendo que estes mesmos produtos foram já transportados, podendo apresentar alterações da sua temperatura de conservação, certamente a sua qualidade e segurança alimentar podem ser afectadas, reduzindo os tempos indicados.

Na discussão de resultados relativos ao crescimento dos microrganismos patogénicos indicados na Tabela 4 com incidência mais significativa de surtos de doenças [14-15], é de salientar que a comparação do crescimento de determinado microrganismo para as condições do ar ambiente, mesmo que distintas dentro da mesma câmara de refrigeração, contempla os valores mínimos e máximos de pH,  $T$  e  $a_w$  para aos quais os modelos foram desenvolvidos, caso os valores experimental da temperatura de conservação e dos factores intrínsecos dos produtos das diferentes fileiras agro-alimentares sejam excedidos. Neste estudo são analisados os casos mais críticos em termos de segurança alimentar, isto é, aqueles em que o crescimento de cada um dos microrganismos para os valores limite superior de pH e de  $a_w$  em cada uma das fileiras agro-alimentares.

### 6.1 Tempo de crescimento da *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) [14-15, 39-40].

Na Figura 3 encontram-se os valores do tempo de crescimento (em dias) desta bactéria até atingir o valor da dose infectante, dependendo da fileira agro-alimentar em que se insere o produto, para os diferentes valores da temperatura do ar nas câmaras de conservação analisadas. Nos distintos gráficos de a) a d) da Figura 3, são apresentados os tempos de crescimento do microrganismo para a temperatura máxima (■) e para a temperatura mínima (■), medidas experimentalmente dentro de cada uma das câmaras de conservação.



A análise global dos resultados no que toca à influência dos parâmetros intrínsecos e extrínsecos dos produtos, permite indicar que a segurança alimentar é garantida durante aproximadamente 9 dias, que se reduz de aproximadamente entre 1 a 2 dias quando a temperatura aumenta 1 °C. Na Câmara n.º 1 ( $14\text{ °C} \leq T_{\text{cons}} \leq 15\text{ °C}$ ), o período de tempo em que produtos permanecem inócuos reduz-se para 3 dias. A redução do pH de 7,4 para 7 leva a uma redução do crescimento microbiano, sendo a dose infectante atingida após cerca de 13 horas.

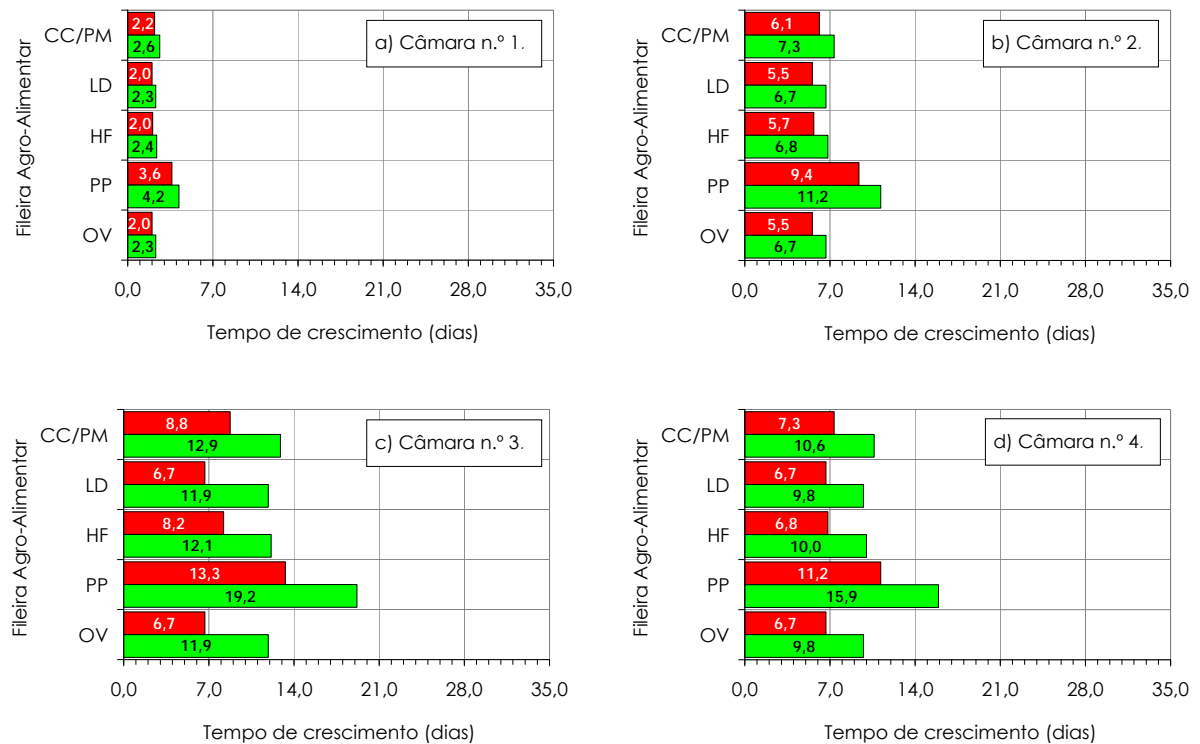


Figura 3. Previsões numéricas do tempo de crescimento até à dose infectante do microrganismo *Bacillus Cereus* para as diferentes fileiras agro-alimentares ( $T_{\text{max}}$ : ■;  $T_{\text{min}}$ : ■).

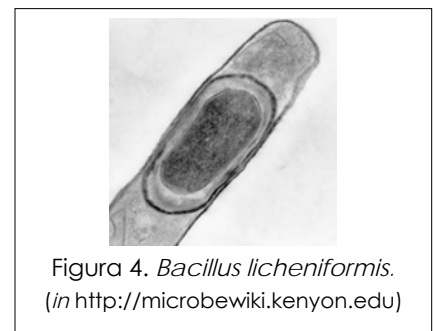
## 6.2 Tempo de crescimento da *Bacillus licheniformis*

A *B. licheniformis* é uma bactéria responsável pela deterioração de produtos alimentares, entre os quais produtos enlatados caso o tratamento térmico seja efectuado a temperatura abaixo dos  $100\text{ °C}$  [39]. A actuação desta bactéria encontra-se associada a gastroenterites, cujos sintomas podem passar por diarreia, dores abdominais e vómitos [14-15].

O modelo de previsão do crescimento da *B. licheniformis* apenas se encontra disponível para temperaturas acima ou iguais a  $13\text{ °C}$ , pelo que apenas são apresentados os resultados para a câmara n.º 1.

O valor de dose infectante é atingido ao fim de 5 e de 6 dias com um desvio padrão de 1,3 e de 1,7 dias, entre as diferentes fileiras agro-alimentares, respectivamente para as temperaturas máxima ( $T_{\text{cons}} = 15\text{ °C}$ ) e mínima ( $T_{\text{cons}} = 14\text{ °C}$ ) de conservação.

Os produtos de CC e PM são aqueles que se degradam mais rapidamente.



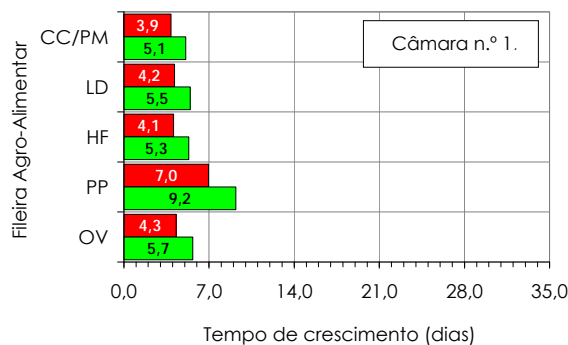


Figura 5. Previsões numéricas do tempo de crescimento até à dose infectante do microrganismo *Bacillus licheniformis* para as diferentes fileiras agro-alimentares na câmara n.º 1 ( $T_{max}$ : ■;  $T_{min}$ : ■).

### 6.3 Tempo de crescimento da *Bacillus subtilis*

A actuação desta bactéria encontra-se associada à deterioração dos produtos alimentares, cujos esporos poderão decorrer em gastroenterites, com sintomas que podem passar por náuseas, vómitos, dores abdominais acompanhados por diarreia em metade dos casos [40].

Tal como na secção anterior, os resultados apenas são apresentados para a câmara n.º 1, pois o modelo de previsão do crescimento da *B. subtilis* requer uma temperatura mínima de 10 °C. De um modo geral, o n.º de UFC correspondente à dose infectante é atingido ao final de 12 dias com um desvio padrão de cerca de 3 dias, entre as diferentes fileiras agro-alimentares, para a temperatura máxima de conservação ( $T_{cons} = 15$  °C), enquanto que para a temperatura mínima ( $T_{cons} = 14$  °C) a adequada conservação dos produtos é garantida durante mais 3 dias. Novamente, a segurança alimentar dos produtos das fileiras agro-alimentares de CC e de PM é comprometida mais cedo.

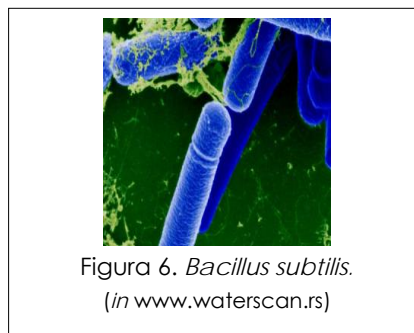


Figura 6. *Bacillus subtilis*.  
(in www.waterscan.rs)

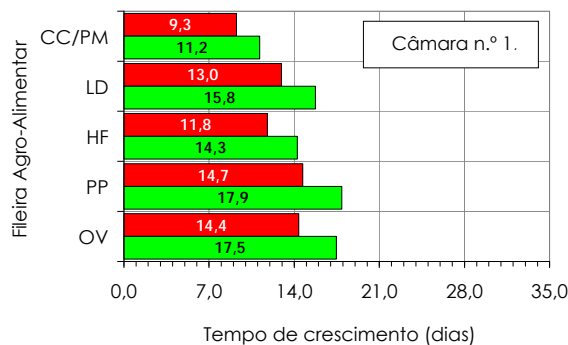


Figura 7. Previsões numéricas do tempo de crescimento até à dose infectante do microrganismo *Bacillus subtilis* para as diferentes fileiras agro-alimentares na câmara n.º 1 ( $T_{max}$ : ■;  $T_{min}$ : ■).

### 6.4 Tempo de crescimento da *Clostridium botulinum*

Qualquer alimento que permita o crescimento e a produção da toxina produzida pela bactéria *C. botulinum*, que permita a sobrevivência dos esporos quando processado e que não seja aquecido devidamente antes do consumo pode levar desde uma doença ligeira que pode ser caracterizada por náuseas e vómitos até ao botulismo, forma de intoxicação alimentar rara mas potencialmente fatal, que pode ser caracterizada por sintomas neurológicos, incluindo fadiga extrema, fraqueza, problemas de visão, descoordenação de movimentos até paragem cardíaca e respiratória [14-15, 39-40].

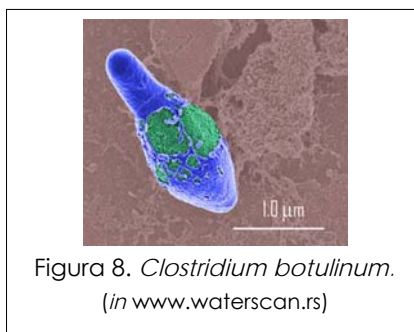


Figura 8. *Clostridium botulinum*.  
(in www.waterscan.rs)

É de salientar que os valores limite estabelecidos para os parâmetros intrínsecos de produtos de PP inibem o desenvolvimento deste agente patogénico. Na Figura 9 são apresentados 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 encontradas nas distintas câmaras. As previsões indicam a manutenção da segurança alimentar, independentemente da fileira agro-alimentar, durante cerca de 2 semanas. O aumento de 1 °C do valor da temperatura de conservação reduz a segurança alimentar cerca de 5 dias. As fileiras agro-alimentares de CC/PM e HF são as mais susceptíveis de potenciar o desenvolvimento deste agente patogénico.

As temperaturas de conservação determinadas na Câmara n.º 1 reduzem o tempo em que produtos permanecem inócuos para 2 dias. A consideração de aumento do pH de 7 (ex: CC/PM) para 7,4 (ex: LD) consegue estender o período de conservação do produto em cerca de 2 dias.

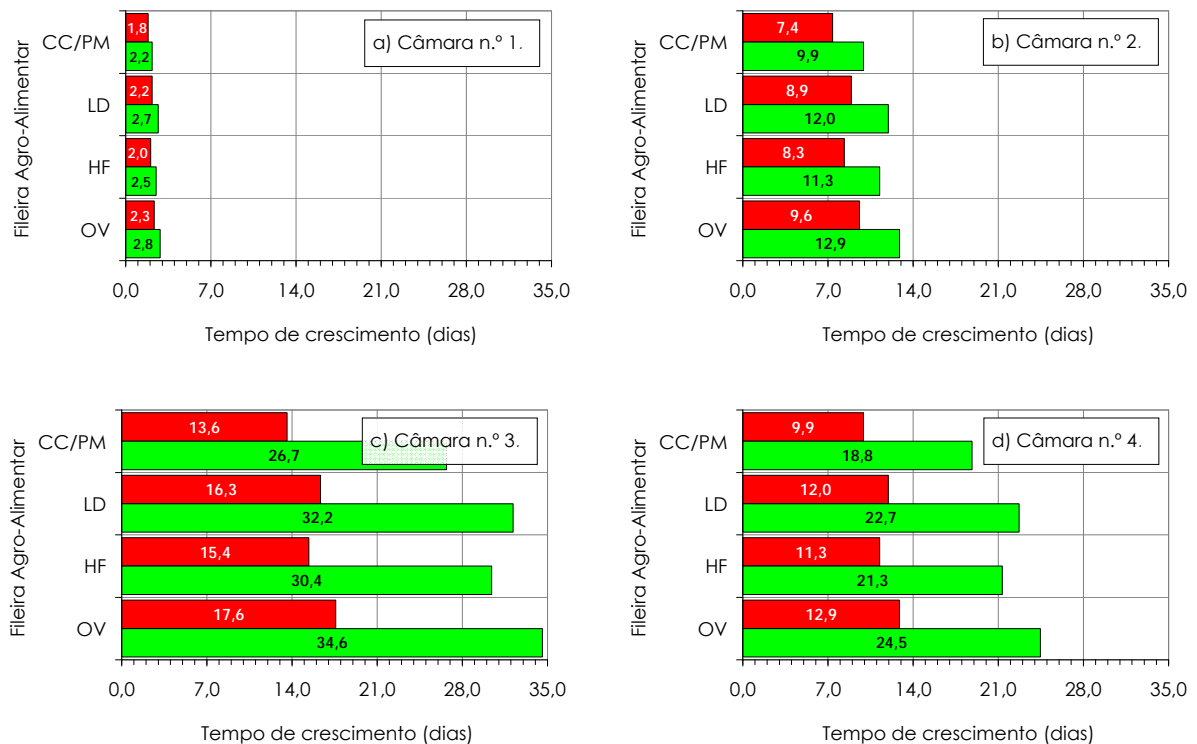


Figura 9. Previsões numéricas do tempo de crescimento até à dose infectante do microrganismo *Clostridium botulinum* para as diferentes fileiras agro-alimentares ( $T_{max}$ : ■;  $T_{min}$ : ■).

## 6.5 Tempo de crescimento da *Clostridium perfringens*

A ingestão de alimentos contaminados pela toxina produzida pela bactéria *C. perfringens* pode provocar gastroenterites. Algumas variedades provocam uma doença, entre ligeira e moderada, que melhora sem tratamento. Outras, no entanto, provocam um tipo de gastroenterite grave e muitas vezes mortal. Os sintomas podem passar por dores abdominais, distensão por gases, diarreia intensa, desidratação e choque [14-15, 39-40].

O crescimento da *B. perfringens* requer uma temperatura mínima de 15 °C (ver Tabela 3), pelo que as previsões do crescimento deste agente apresentadas na Figura 11 apenas foram obtidas para a temperatura máxima determinada experimentalmente na câmara n.º 1. Abaixo desta temperatura, o tempo teórico de crescimento desta bactéria é equivalente a infinito.

De um modo geral, o n.º de UFC correspondente à dose infectante é atingido ao final de cerca de 6 dias, à excepção da fileira agro-alimentar de PP, que devido aos parâmetros intrínsecos dos produtos (pH = 7,5 e  $a_w$  = 0,971) permite estender durante mais 8 dias a adequada conservação.



Figura 10. *C. perfringens*.  
(in <http://frontier.k-state.edu>)

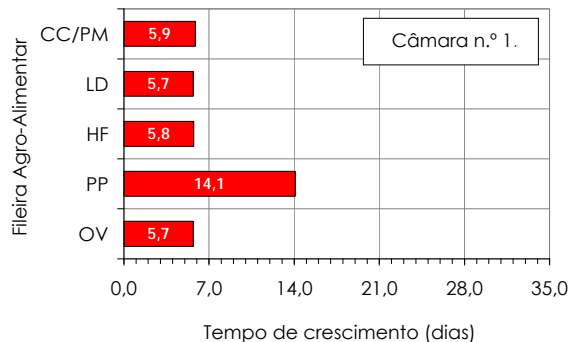


Figura 11. Previsões numéricas do tempo de crescimento até à dose infectante do microrganismo *Clostridium perfringens* para as diferentes fileiras agro-alimentares na câmara n.º 1 ( $T_{max}$ : ■).

### 6.6 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 [15]. Aplicando o modelo de previsão do crescimento da *E. coli* somente à câmara n.º 1, visto apenas se encontrar disponível para temperaturas superiores 10 °C, são apresentados na Figura 13 os tempos de crescimento para as diferentes fileiras agro-alimentares. O valor de dose infectante é atingindo ao fim de cerca de 3 dias. Todavia, para a fileira PP, este valor de dose infectante é atingido apenas ao fim de 7 dias devido aos valores de pH e  $a_w$  considerados para este tipo de produtos. O aumento de 1 °C reduz o período de adequada conservação em 16 horas.



Figura 12. *Escherichia coli*.  
(in www.kimicontrol.com)

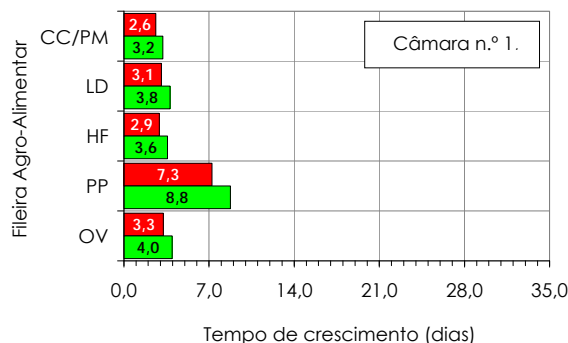


Figura 13. Previsões numéricas do tempo de crescimento até à dose infectante do microrganismo *Escherichia coli* para as diferentes fileiras agro-alimentares na câmara n.º 1 ( $T_{max}$ : ■;  $T_{min}$ : ■).

### 6.7 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 [14-15]. 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 [14-15, 39-40].

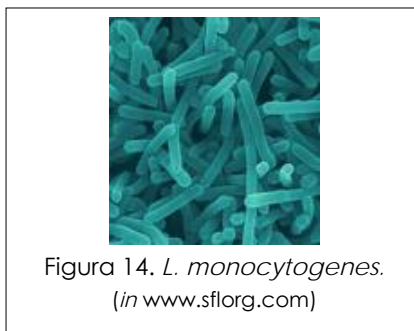


Figura 14. *L. monocytogenes*.  
(in www.sflorg.com)

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 perionatais e neonatal [15, 39]. O valor do UFC aumenta até à dose infectante em aproximadamente 3 dias, independentemente da fileira agro-alimentar (ver Figura 15).

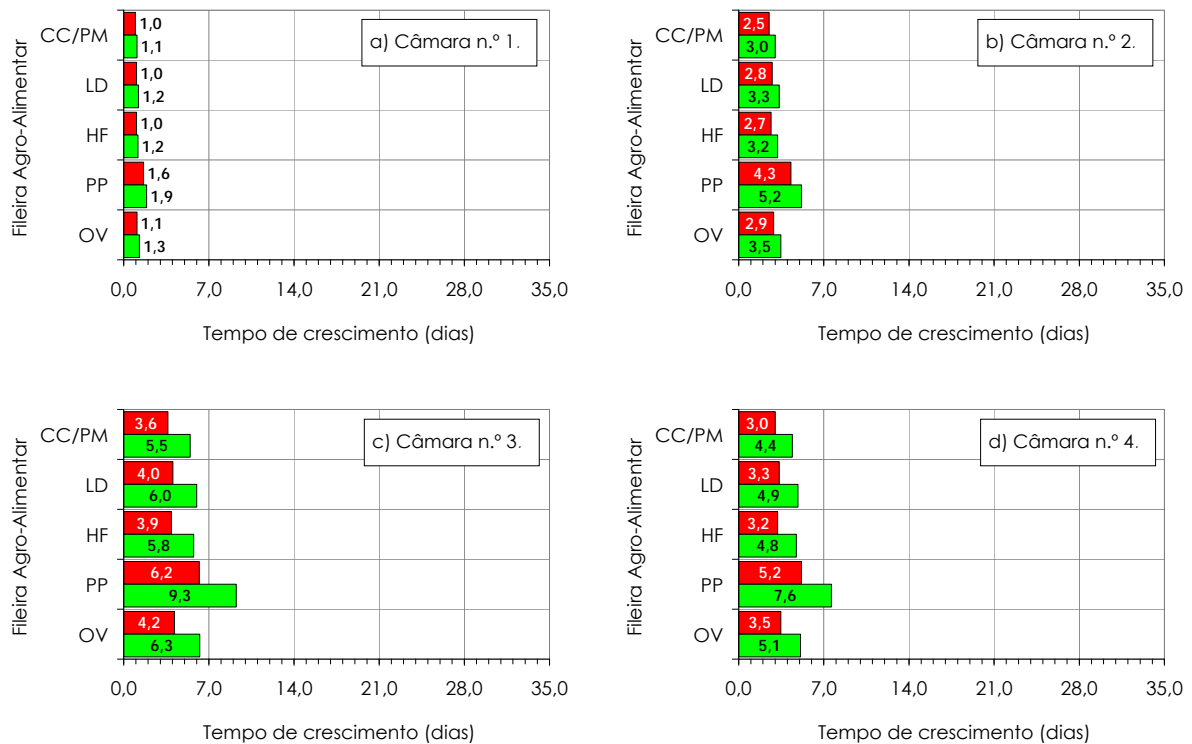


Figura 15. Previsões numéricas do tempo de crescimento até à dose infectante do microrganismo *Listeria monocytogenes* para as diferentes fileiras agro-alimentares ( $T_{max}$ : ■;  $T_{min}$ : ■).

## 6.8 Tempo de crescimento da *Staphylococcus aureus*

A *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 [14-15, 39-40]. O crescimento da *S. aureus* inicia-se para  $T_{cons} \geq 7,5$  °C, pelo que a previsão do seu crescimento até à dose infectante não é analisado para a câmara n.º 3 (ver Tabela 3). Abaixo desta temperatura, o tempo teórico de crescimento da bactéria é equivalente a infinito.

Assim, na câmara n.º 4 apenas é determinado o tempo de crescimento para a  $T_{max}$ . Para as restantes câmaras, os valores de UFCs correspondentes à dose infectante são apresentados na Figura 17.

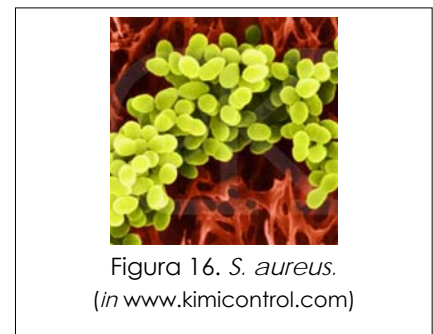
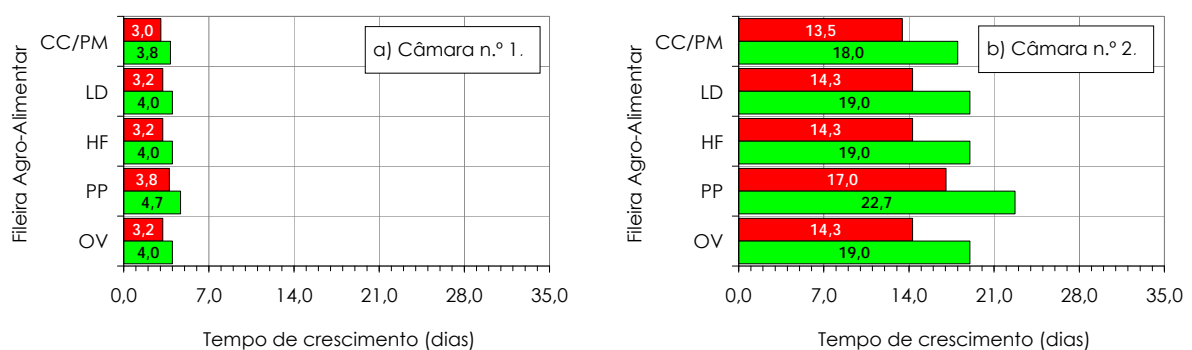


Figura 16. *S. aureus*.  
(in www.kimicontrol.com)



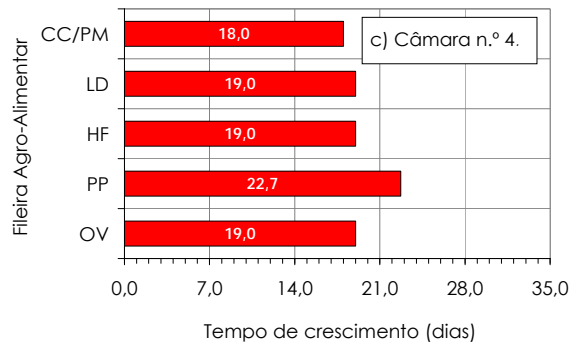


Figura 17. Previsões numéricas do tempo de crescimento até à dose infectante do microrganismo *Staphylococcus aureus* para as diferentes fileiras agro-alimentares ( $T_{max}$ : ■;  $T_{min}$ : ■).

Em média, a segurança alimentar é garantida para um tempo de conservação até 17 dias, que aumenta cerca de 3 dias para produtos de PP. Porém, a manutenção dos produtos na câmara com  $14\text{ °C} \leq T_{cons} \leq 15\text{ °C}$  (n.º 1) reduz para 3 dias a segurança alimentar. Nas restantes câmaras, a redução de 1 °C na temperatura permite aumentar o período de conservação em cerca de 5 dias.

### 6.9 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. newport*. 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 [39-40]. O crescimento da *Salmonella* é inibido para uma temperatura abaixo de 7 °C (ver Tabela 3). As previsões do crescimento deste agente nas câmaras n.º 3 e n.º 4 (ver Figura 19-c e -d), apenas foram obtidas para a  $T_{max}$ . Abaixo deste valor, o tempo teórico de crescimento da bactéria é equivalente a infinito.

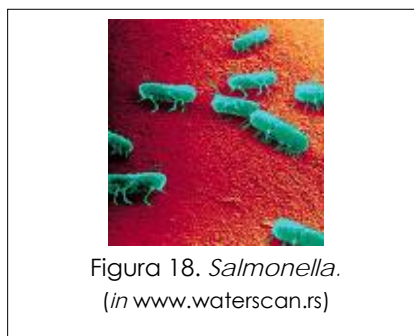


Figura 18. *Salmonella*.  
(in www.waterscan.rs)

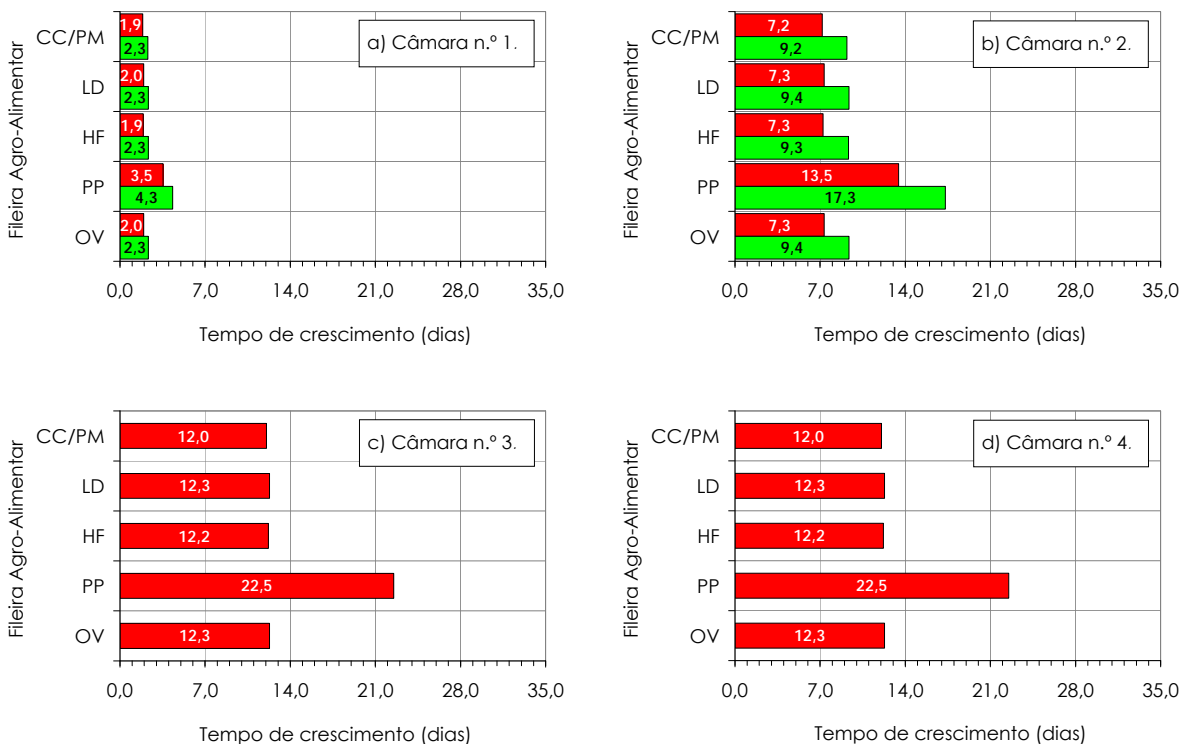


Figura 19. Previsões numéricas do tempo de crescimento até à dose infectante do microrganismo *Salmonella* para as diferentes fileiras agro-alimentares ( $T_{max}$ : ■;  $T_{min}$ : ■).

O modelo prevê que o valor de UFC atinge a dose infectante, em média, ao fim de 12 dias (ver Figura 19), permitindo a redução de 1 °C na  $T_{cons}$  estender este período por 3 dias adicionais. Na câmara n.º 1, face aos valores da  $T_{cons}$ , o período de segurança alimentar é muito curto, rondando os 2 dias.

### 6.10 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 [39-40].

O modelo de previsão do crescimento da *Y. enterocolitica* foi desenvolvido para  $T_{min} \geq -1$  °C. O valor de UFC aumenta até à dose infectante para as temperaturas experimentais de conservação nas distintas câmaras conforme indicado na Figura 21. A dose infectante é alcançada em aproximadamente 5 dias para produtos das fileiras agro-alimentares de CC, PM, HF e OV, enquanto para os produtos de PP, a dose infectante é atingida após 16 dias. A análise comparativa dos resultados indica que o aumento de 1 °C reduz aproximadamente em 2 dias o tempo de conservação antes de comprometer a segurança alimentar, valor este que aumenta para 4 dias no caso de se tratar de um produto da fileira agro-alimentar de PP. Todavia, os produtos localizados na câmara n.º 1, poderão ser conservados à temperatura do ar aí existente, durante um período de 2 dias antes da segurança alimentar ser comprometida.

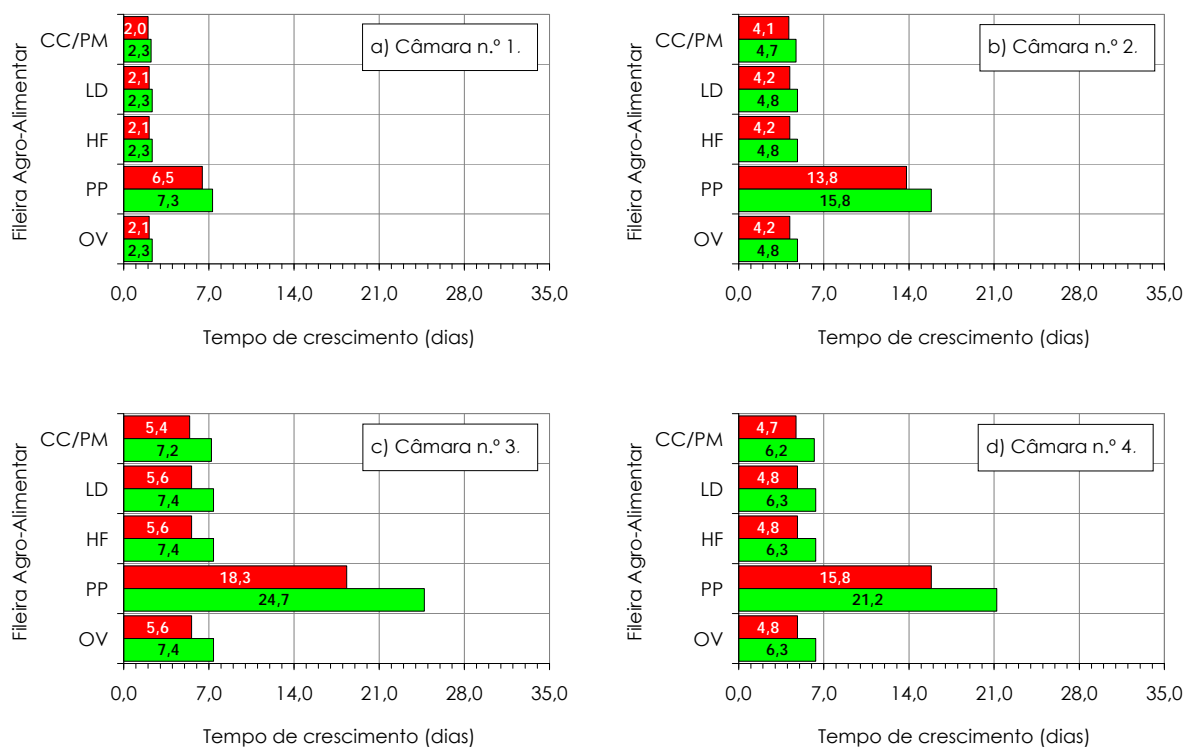
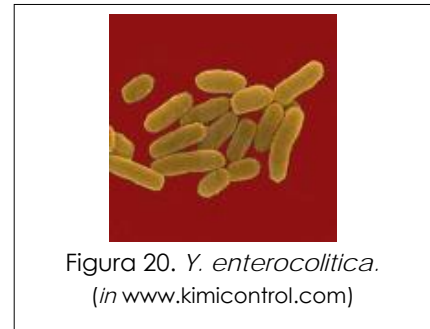


Figura 21. Previsões numéricas do tempo de crescimento até à dose infectante do microrganismo *Yersinia enterocolitica* para as diferentes fileiras agro-alimentares ( $T_{max}$ : ■;  $T_{min}$ : ■).

### 6.11 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 [41-42].

O modelo de previsão do crescimento da *B. thermosphacta* foi desenvolvido para temperaturas positivas ( $T_{min} \geq 0$  °C). O valor de UFC aumenta até ao valor de dose infectante conforme indicado na Figura 23.

A segurança alimentar dos produtos das diversas fileiras agro-alimentar é cumprida para um período de aproximadamente 3 dias. Este período é um pouco superior (cerca de mais dois dias) nos produtos da fileira de produtos de PP. A análise comparativa dos resultados indica que o aumento de 1 °C na temperatura de conservação dos produtos, reduz aproximadamente num dia o tempo de conservação antes dos produtos alimentares começarem a apresentar características de deterioração. Produtos conservados a temperaturas acima dos valores limites indicados pela normalização, como seja o caso dos valores de temperatura determinados experimentalmente na câmara n.º 1, começaram a apresentar características de deterioração após 1 a 2 dias.

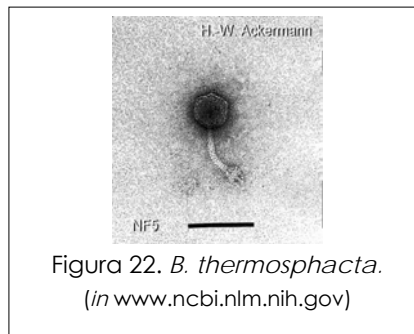


Figura 22. *B. thermosphacta*.  
(in www.ncbi.nlm.nih.gov)

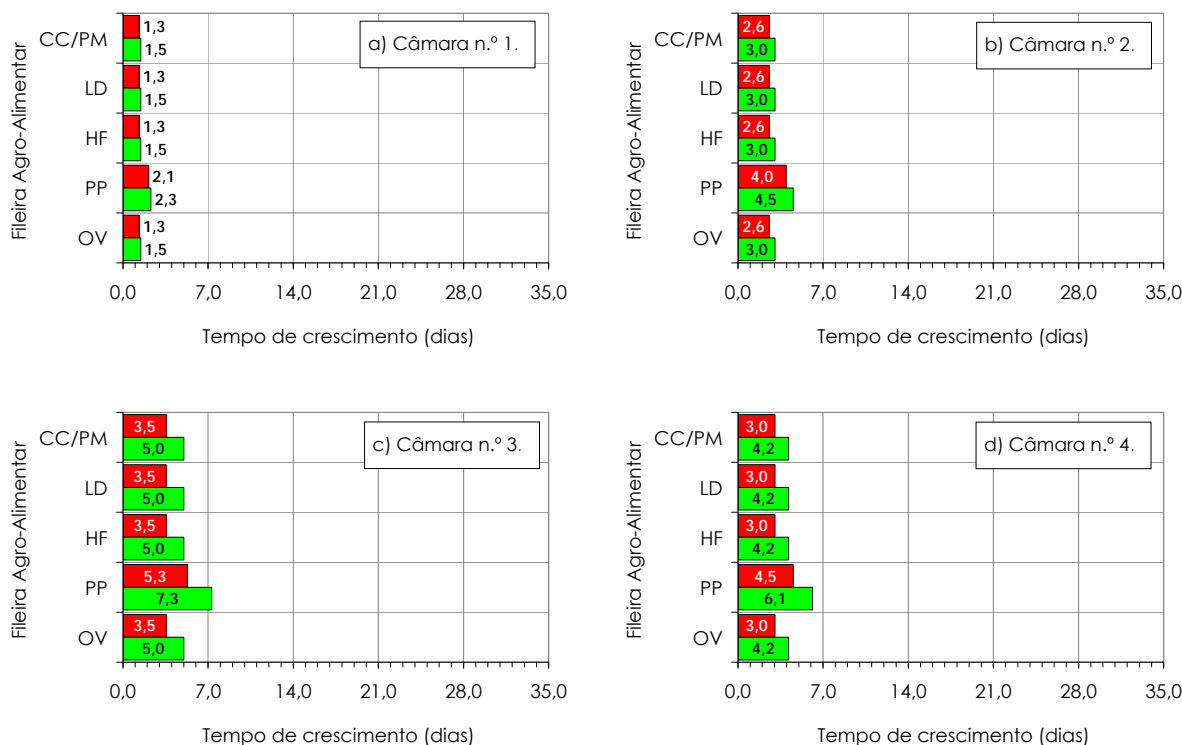


Figura 23. Previsões numéricas do tempo de crescimento até à dose infectante do microrganismo *Brochothrix thermosphacta* para as diferentes fileiras agro-alimentares ( $T_{max}$ : ■;  $T_{min}$ : ■).

### 6.12 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 [41-42].

O modelo de previsão do crescimento da *Pseudomonas* spp. foi desenvolvido para temperaturas positivas ( $T_{min} \geq 0$  °C). O valor de UFC aumenta até ao valor de dose infectante, para os casos de ensaio realizados conforme indicado na Figura 25.

Os tempos de crescimento desta bactéria para diferentes condições do ambiente de conservação são muito semelhantes aos previstos para acção da *B. thermosphacta*. A segurança alimentar dos produtos das diversas fileiras agro-alimentar é cumprida para um período de aproximadamente 3 dias. Este período aumenta cerca de 4 dias para produtos da fileira de PP.

A análise comparativa dos resultados indica que o aumento de 1 °C na temperatura de conservação dos produtos, reduz aproximadamente em 1 dia o tempo de conservação antes dos produtos alimentares começarem a apresentar características de deterioração.

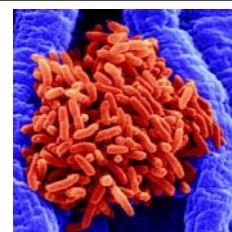


Figura 24. *Pseudomonas* spp.  
(in www.waterscan.rs)

Produtos conservados a temperaturas acima dos valores limites indicados pela normalização, como seja o caso dos valores de temperatura determinados experimentalmente na câmara n.º 1, começaram apresentar características de deterioração após 1 a 2 dias.

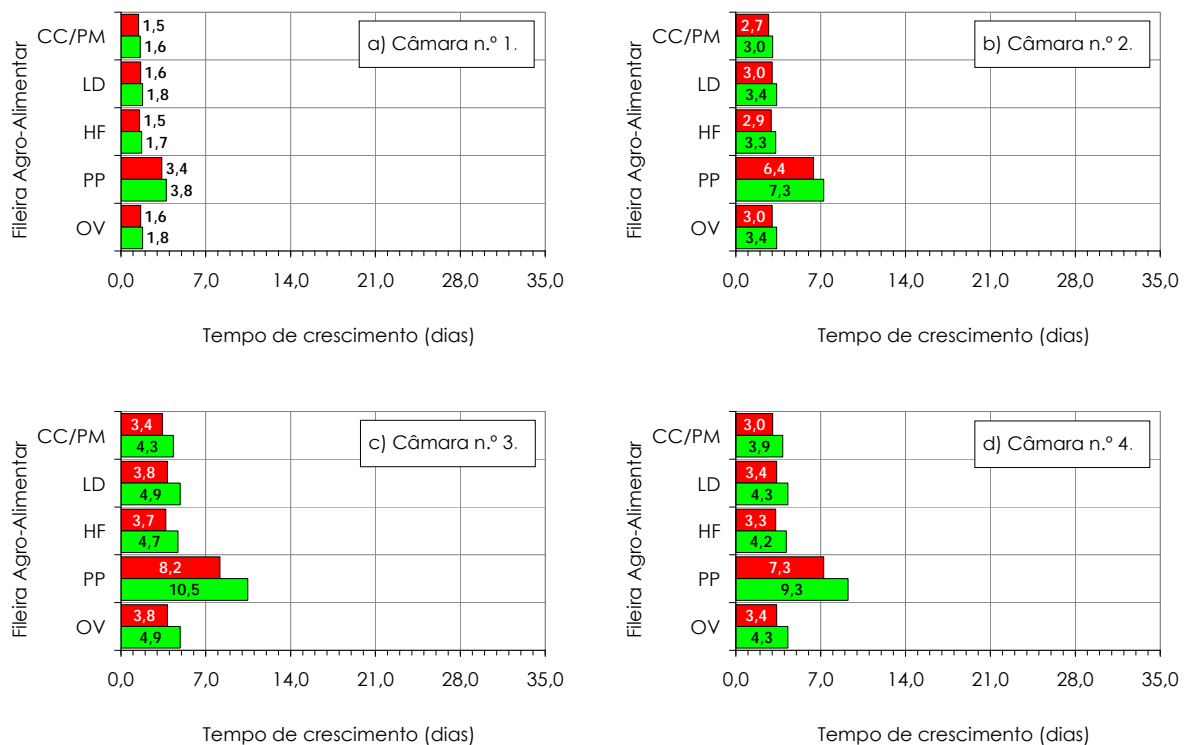


Figura 25. Previsões numéricas do tempo de crescimento até à dose infectante do microrganismo *Pseudomonas spp.* para as diferentes fileiras agro-alimentares ( $T_{max}$ : ■;  $T_{min}$ : ■).

### 6.13 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 agente patogénico, para as câmaras em que a temperatura de conservação se encontra abaixo de 8 °C, os produtos poderão permanecer à venda antes que a segurança alimentar seja comprometida, cerca de uma semana. É necessário levar em consideração que a previsão do crescimento de microrganismos responsáveis pela deterioração dos produtos alimentares, tais como a *Brochothrix thermosphacta* e *Pseudomonas spp.*, já se reflectirá nas características organolépticas dos produtos no que respeita a cor, odor ou paladar, após três dias. Porém, no caso de estudo mais crítico no que respeita à temperatura de conservação, isto é, na câmara n.º 1, o tempo de conservação e exposição de produtos das diferentes fileiras agro-alimentares com garantia de segurança alimentar passa para um valor menor que dois dias.

Identifica-se na análise dos resultados apresentados nas secções anteriores, que há distintos tipos de agentes patogénicos cuja evolução do crescimento depende da fileira agro-alimentar em que o produto se insere. Todavia, e de um modo geral, os produtos das fileiras agro-alimentares de CC e PM possuem parâmetros intrínsecos que potenciam o crescimento dos microrganismos. Seguem-se os produtos das fileiras de HF e de LD. É de salientar que algumas bactérias desenvolvem-se melhor num meio com os parâmetros intrínsecos desta última fileira agro-alimentar. A fileira de produtos de padaria e pastelaria (PP), face à reduzida  $a_w$  comparativamente aos outros tipos de produtos, é aquela que apresenta uma maior inibição ao crescimento de bactérias, estendendo-se a segurança alimentar deste tipo de produtos por um período mais alargado. No que respeita ao tempo de crescimento dos microrganismos nos produtos alimentares face à sua temperatura de conservação, há que salientar várias situações: (1) Embora estas bactérias possam já encontra-se no animal vivo antes do seu abate ou nos produtos das fileiras agro-alimentares de origem não animal, as exigências das normativas de segurança alimentar, quer pelas boas práticas de higienização dos processos quer pelos tratamentos térmicos e/ou químicos, reduzem a possibilidade destes agentes patogénicos se multiplicarem sem qualquer controlo. Esta situação é ainda mais realista quando se trata de produtos alimentares que

sofreram algum tipo de processamento, como por exemplo um processo de cozedura a elevada temperatura que irá aniquilar os microrganismos presentes no produto alimentar; (2) É necessário levar em consideração que foram estabelecidos os valores de limite máximo de pH (elevada alcalinidade) e de  $a_w$  para produtos das diferentes fileiras agro-alimentares e consequentemente apresentadas as previsões dos valores de crescimento bacteriano mais rápido. Na realidade, cada tipo de produto alimentar tem o seu valor de pH e de  $a_w$ , não podendo os resultados apresentados ser generalizados a todos os produtos de cada uma das fileiras agro-alimentares; (3) Durante as horas de fecho dos entrepostos (tipicamente 8 horas), a carga térmica dos equipamentos reduz-se. Esta situação resulta da iluminação ser desligada, pelo fecho contínuo das portas das câmaras e a inexistência de cargas térmicas associadas aos trabalhadores, empilhadores e outros equipamentos, levando a um decréscimo da temperatura dos produtos e consequentemente uma redução da actividade bacteriana; (4) Todavia, é necessário ter em consideração que estes mesmos produtos foram já transportados em veículos refrigerados, possivelmente sujeitos a períodos de embarque/desembarque e a períodos de armazenamento refrigerado em outros entrepostos. Estas mesmas situações poderão novamente ocorrer antes que os produtos cheguem ao consumidor final. Todas estas flutuações na temperatura de conservação certamente irão afectar a qualidade e segurança alimentar, podendo reduzir os tempos indicados de crescimento dos microrganismos.

Estes modelos de previsão indicam o tempo de crescimento dos microrganismos até à dose infectante, para a temperatura média de conservação considerada nos ensaios experimentais realizados. É necessário realçar que estes modelos não avaliam quantitativamente as características organolépticas dos produtos no que respeita a cor, odor ou paladar.

## **7 Conclusão**

A análise da segurança alimentar dos produtos evidencia as fragilidades da distribuição de produtos alimentares na cadeia de frio, sendo um elemento crítico para a garantia de qualidade e a segurança alimentar, 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 e parâmetros intrínsecos dos produtos, foi previsto numericamente o tempo durante o qual os produtos permanecem inócuos para os distintos casos de estudo. Verifica-se a influência não só da temperatura de conservação, mas também dos próprios parâmetros intrínsecos dos produtos, como sejam a acidez e a actividade de água, na promoção do crescimento bacteriano. De um modo geral identificou-se que os produtos com maior actividade de água e menor acidez são um meio adequado para a proliferação de agentes patogénicos.

A fileira de produtos cárneos e de charcutaria, assim como a de peixe e marisco são aquelas que apresentam um tempo mais reduzido de conservação, cerca de uma semana, sem que a segurança alimentar seja posta em causa. Porém, no caso de estudo em que a temperatura de conservação é mais elevada, o tempo de conservação dos produtos é reduzido para menos de 2 dias (câmara n.º 3). A fileira de produtos de padaria e pastelaria é aquela em que os produtos apresentam parâmetros intrínsecos que atrasam o crescimento microbiano.

Tendo em consideração as flutuações da temperatura de conservação dos produtos desde o produtor até ao consumidor final, devidas ao transporte em veículos refrigerados, a períodos de armazenamento refrigerado num ou mais entrepostos, aos períodos de embarque e desembarque, assim como à exposição em frio no posto de venda, certamente a qualidade e segurança alimentar serão afectadas, reduzindo os tempos indicados. Todavia é necessário realçar que o estudo não pode ser generalizado a todos os tipos de produtos alimentares das fileiras agro-alimentares consideradas, já que foram estabelecidos como parâmetros intrínsecos os valores limite de pH e de actividade de água que proporcionam um crescimento mais rápido dos microrganismos.

Em conclusão, o presente estudo mostra a grande dependência da segurança alimentar de produtos armazenados em câmaras de conservação, dos seus parâmetros intrínsecos (pH e actividade de água) e extrínsecos (variabilidade espacial da temperatura de conservação). É essencial que a concepção e projecto dos entrepostos frigoríficos, seus equipamentos de refrigeração e até de espaços contíguos às câmaras de conservação tenham em consideração a variação dos parâmetros

ambientais, temperatura, humidade e velocidade do ar, com o objectivo de melhorar simultaneamente o desempenho global dos equipamentos, reduzir o seu consumo energético e consequentemente garantir uma maior segurança alimentar.

#### 4 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] Baptista, P., Higiene e segurança alimentar no transporte de produtos alimentares. Forvisão – Consultoria em Formação Integrada, Guimarães, Portugal, 2006.
- [5] Baptista, P., Sistemas de segurança alimentar na cadeia de transporte e distribuição de produtos alimentares". Forvisão – Consultoria em Formação Integrada, Guimarães, Portugal, 2006.
- [6] 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.
- [7] Rahman, M.S., Handbook of Food Preservation. CRC Press, 2007.
- [8] Beuchat, Water Activity of Some Foods and Susceptibility to Spoilage by Microorganisms, Cereal Food World, 26, pp. 345-349, 1981.
- [9] 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.
- [10] Davies, A. e Board, R.G., The microbiology of meat and poultry. Blackie Academic & professional, Springer, 1998.
- [11] Baptista, P. e Venâncio, A., Os perigos para a segurança alimentar no processamento de alimentos. Forvisão – Consultoria em Formação Integrada, Lda., Guimarães, Portugal, 2003.
- [12] Lund, B.M., Baird-Parker, T.C. e Gould, G.W., The microbiological safety and quality of food. Springer, 2000.
- [13] 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.
- [14] Ray, Bibek, Fundamental food microbiology. CRC Press, 2004.
- [15] FDA, Foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins handbook. U.S. Food & Drug Administration, Center for Food Safety & Applied Nutrition, 2007.
- [16] 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.
- [17] 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.
- [18] 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.
- [19] 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.
- [20] 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.
- [21] 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.
- [22] 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.

- [23] 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.
- [24] 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.
- [25] 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.
- [26] 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.
- [27] 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.
- [28] 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.
- [29] 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.
- [30] 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. *Int. Journal of Food Microbiology* 128, pp. 41–50, 2008.
- [31] 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.
- [32] 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.
- [33] 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.
- [34] 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.
- [35] Domingues, C., *Caracterização de ambientes de trabalho com exposição ao frio*. Dissertação de Mestrado em Engenharia Mecânica. Departamento de Engenharia Electromecânica, Universidade da Beira Interior, Agosto, 2008.
- [36] ISO 7726 - Thermal environments-instruments and methods for measuring physical quantities. IN ISO (Ed. Switzerland), 1998.
- [37] Gaspar, P.D., *Optimização do desempenho e da eficiência energética de equipamentos de refrigeração*. Tese de Doutoramento em Engenharia Mecânica. Departamento de Engenharia Electromecânica, Universidade da Beira Interior, Maio, 2008.
- [38] Toldrá, F., *Handbook of fermented meat and poultry*. Blackwell Publishing, 2007.
- [39] Jay, J.M., *Modern Food Microbiology - 6th ed.*, Aspen Publishers, Inc., 2000.
- [40] Doyle, M.P., *Foodborne bacterial pathogens*. Marcel Dekker, 1989.
- [41] 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.
- [42] Borch, E., Kant-Muermans, M.-L., Blixt, Y., Bacterial spoilage of meat and cured meat product. *International Journal of Food Microbiology* 33, pp. 103–120, 1996.