

UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

**U LISBOA**

UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE 2 ALIMENTOS VENDIDOS AVULSO

TAMIRES ROCHA VILLA NOVA

ORIENTADOR:

Dr. José Manuel Vale Pereira Cordeiro

COORIENTADORA:

Doutora Cristina Maria Riscado Pereira  
Mateus

2024

UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

**U LISBOA**

UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE 2 ALIMENTOS VENDIDOS AVULSO

TAMIRES ROCHA VILLA NOVA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SEGURANÇA ALIMENTAR

**JÚRI**

**PRESIDENTE:**

Doutora Maria João dos Ramos Fraqueza

**VOGAIS:**

Doutora Susana Paula Almeida Alves

Dr. José Manuel Vale Pereira Cordeiro

**ORIENTADOR:**

Dr. José Manuel Vale Pereira Cordeiro

**COORIENTADORA:**

Doutora Cristina Maria Riscado

Pereira Mateus

2024

## DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Nome:

Tamires Rocha Villa Nova

Título da Tese ou Dissertação:

Avaliação microbiológica de 2 Alimentos vendidos Avulso

Ano de conclusão (indicar o da data da realização das provas públicas):

Designação do curso de

Mestrado ou de

Doutoramento:

mestrado em Segurança Alimentar

Área científica em que melhor se enquadra (assinale uma):

Clínica

Produção Animal e Segurança Alimentar

Morfologia e Função

Sanidade Animal

Declaro sobre compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBOA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, e o direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto (assinale um):

- Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial;
- Disponibilização do conjunto do trabalho para acesso exclusivo na Faculdade de Medicina Veterinária durante o período de  6 meses,  12 meses, sendo que após o tempo assinalado autorizo o acesso mundial\*;

\* Indique o motivo do embargo (OBRIGATÓRIO)

Nos exemplares das dissertações de mestrado ou teses de doutoramento entregues para a prestação de provas na Universidade e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito na Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa deve constar uma das seguintes declarações (incluir apenas uma das três):

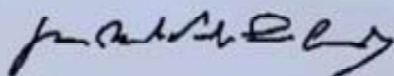
- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA TESE/TRABALHO (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA TESE/TRABALHO.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, 20 de março de 2025

(indicar aqui a data da realização das provas públicas)

Assinatura:

Tamires Rocha Villa Nova



## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me conduzir a este caminho, e ter me proporcionado uma vivência muito além de tudo que eu havia imaginado. Por ter me permitido chegar tão longe, e continuar almejando muito mais.

Agradeço ao meu marido, Arismar Ferreira Junior, por sempre ter me incentivado a fazer o Mestrado. Sem esse apoio, nada disso teria sido possível. Agradeço por ele sempre estar presente. O seu apoio incondicional me permitiu estar aqui hoje. Obrigada por ajudar sempre, mesmo quando as coisas se tornaram mais difíceis.

Agradeço à Auchan Portugal hipermercados a possibilidade de me permitir realizar este trabalho nas suas instalações, nomeadamente na sede. Agradeço ao meu orientador Dr. José Cordeiro pela prontidão em aceitar-me como sua estagiária, por todo o seu tempo despendido e pelo apoio na orientação do trabalho.

Um obrigado muito especial à minha co-orientadora Professora Cristina Mateus, apesar do longo período de tempo entre o estágio e a redação da dissertação, sempre me ajudou.

Às técnicas do Laboratório de Tecnologia da Faculdade de Medicina Veterinária, Maria Helena na microbiologia e Eng.<sup>a</sup> Maria José Fernandes na química, pelos conhecimentos transmitidos e disponibilidade sempre demonstrada no auxílio nos trabalhos de laboratório.

À Patrícia pela por me ter orientado no Laboratório de Microbiologia Alimentar, muito obrigado por tudo.

À minha amiga, Jéssica Medeiros que me acompanha quase desde que nasci, muito obrigado pela sua amizade, por toda a força e apoio que me deu durante a fase mais complicada da minha vida.

## RESUMO

### AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE 2 ALIMENTOS VENDIDOS AVULSO

Devido aos novos estilos de vida, acabam surgindo novos hábitos alimentares, o que impulsiona o desenvolvimento de novas técnicas de preparação, confeção e distribuição dos alimentos. Diante disso, a implementação de um setor de venda avulso é vista como uma grande oportunidade de desenvolvimento e aceitação pelos clientes, tornando fácil o acesso aos alimentos adaptados às suas necessidades e exigências.

Os alimentos vendidos avulsos são definidos pela legislação como produtos comercializados fora de uma embalagem. Devido a essa forma de comercialização, possuem algum risco de contaminação biológica. Diante disso, o objetivo deste estudo foi realizar a avaliação microbiológica em 2 alimentos (massa e pimenta). As análises microbiológicas incidiram sobre a pesquisa de *Salmonella* spp., contagem de *E. coli*, *Staphylococcus* coagulase positivos e de fungos (bolores e leveduras). Em relação às análises físico-químicas, determinou-se os parâmetros da atividade de água ( $a_w$ ), do pH e da cor e a medição da humidade relativa e temperatura.

Os resultados obtidos no presente estudo foram semelhantes aos estudos de Oliveira et al. (2017), no qual todas as amostras recolhidas no comércio a granel também apresentaram contaminação fúngica. Embora tenham sido detetados fungos tanto na massa como na pimenta, os seus valores permitiram concluir que as amostras estavam dentro dos limites aceitáveis.

Os resultados permitem concluir que a massa e a pimenta, apresentavam boa qualidade microbiológica, nomeadamente ausência de *Salmonella* spp. em 25 g, *E. coli* e *Staphylococcus* coagulase positivos. Diante das análises físico-químicas, pode constatar que o resultado do parâmetro da cor de ambos os produtos, pode ter sido influenciado pela ausência de embalagem.

**Palavras-Chave:** Alimentos vendidos avulso, massa, pimenta, análise microbiológica, avaliação físico-química.

## ABSTRACT

### MICROBIOLOGICAL EVALUATION OF 2 FOODS SOLD LOOSELY

Due to new lifestyles, new eating habits emerge, which drives the development of new techniques for preparing, cooking and distributing food. In view of this, the implementation of a loose sales sector is seen as a great opportunity for development and acceptance by customers, making it easier for them to access food adapted to their needs and requirements. Foods sold loose are defined by law as products sold outside of a package. Due to this form of marketing, they have some risk of biological contamination. In view of this, the objective of this study was to perform a microbiological evaluation on 2 foods (pasta and pepper). The microbiological analyses focused on the search for *Salmoella* spp., *E. coli* count, coagulase-positive *Staphylococcus* and fungi (mold and yeast). Regarding the physicochemical analyses, the parameters of water activity (*aw*), pH and color were determined, and the measurement of relative humidity and temperature.

The results obtained in this study were similar to the studies by Oliveira et al. (2017), in which all samples collected in bulk trade also showed fungal contamination. Although fungi were detected in both the pasta and the pepper, their values allowed us to conclude that the samples were within acceptable limits.

The results allow us to conclude that the pasta and the pepper presented good microbiological quality, namely the absence of *Salmonella* spp. in 25 g, *E. coli* and coagulase-positive *Staphylococcus*. In view of the physical-chemical analyses, it can be seen that the result of the color parameter of both products may have been influenced by the lack of packaging.

**Keywords:** Food sold loosely, pasta, pepper, microbiological quality, physical-chemical evaluation.

## ÍNDICE GERAL

Declaração sobre as condições de reprodução.....	ii
Agradecimentos.....	iii
Resumo.....	iv
<i>Abstract</i> .....	v
Índice geral.....	vi
Índice de figuras.....	viii
Índice de gráficos.....	ix
Índice de tabelas.....	x
Índice de siglas e símbolos.....	xi
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Breve descrição das atividades do estágio.....	1
1.2 A empresa.....	1
1.3 Enquadramento do estudo.....	3
2. As novas tendências do consumidor.....	5
2.2 A nova posição da grande distribuição.....	5
2.3 A consciência ambiental.....	6
2.4 Alimentos vendidos avulso.....	6
2.5 Massas alimentícias.....	8
2.6 Pimenta.....	9
3. Perigos sanitários nos alimentos.....	11
3.1 Fatores que influenciam a multiplicação microbiana .....	13
3.1.1 Fatores intrínsecos.....	14
3.1.1.2 Atividade da água ( $a_w$ ).....	14
3.1.1.3 pH.....	14
3.1.1.4 Disponibilidade de nutrientes.....	14
3.1.1.5 Estrutura biológica do alimento.....	15
3.1.2 Fatores extrínsecos.....	15
3.1.2.1 Temperatura.....	15
3.1.2.2 Humidade relativa .....	16
3.1.2.3 Composição da atmosfera .....	16
3.2 Doenças alimentares causadas por microrganismos .....	17
3.2.3 Doses infetantes .....	19
3.3 Formas de contaminação microbiológica dos alimentos .....	19
4. Tempo de vida útil dos alimentos.....	21
4.1 Conceito de vida útil.....	21
4.2 Fatores com influência na vida útil dos alimentos.....	22
4.2.1 Tecnologia de barreiras.....	23

4.3 Estudo de vida útil dos alimentos.....	26
4.4 Índices de avaliação da vida útil.....	26
4.4.1 Determinações microbiológicas.....	27
4.4.2 Determinações físico-químicas.....	28
5. Objetivos propostos.....	28
6. Materiais e métodos.....	29
6.1 Amostra em estudo.....	29
6.2 Análises microbiológicas.....	29
6.2.1 Preparação das amostras.....	29
6.2.2 Contagem de bolores e leveduras.....	30
6.2.3 Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positivos.....	30
6.2.4 Contagem de <i>Escherichia coli</i> .....	30
6.2.5 Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.....	30
6.3 Análises físico-químicas.....	31
6.3.1 Determinação da atividade da água ( $a_w$ ) .....	31
6.3.2 Medição do pH.....	31
6.3.3 Determinação da cor.....	31
6.3.4 Medição da humidade relativa e temperatura.....	32
6.3.5 Análise estatística.....	32
7. Resultados.....	32
7.1 Análises microbiológicas.....	32
7.2 Análises físico-químicas.....	33
8 Discussão.....	36
8.1 Análises microbiológicas.....	36
8.1.1 Contagem de bolores e leveduras.....	36
8.1.2 Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp. ....	37
8.1.3. Contagem de <i>Escherichia coli</i> .....	38
8.1.4 Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positivos.....	38
8.2 Análises físico-químicas.....	38
8.2.1 Atividade da água.....	38
8.2.2 pH.....	39
8.2.3 Cor.....	39
8.2.4 Temperatura.....	39
8.2.5 Humidade.....	39
9. Conclusão.....	40
10. Referências bibliográficas.....	41

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Logotipos do Grupo Auchan .....	1
Figura 2. Qualidade de um género alimentício – conceito multidimensional .....	4
Figura 3. Distribuição mundial da produção de massas .....	9
Figura 4. Representação esquemática da aplicação de tecnologia de barreiras num género alimentício, em que cada fator (a-d) contribui para a diminuição da capacidade de crescimento bacteriano (---) até ao bloqueio total.....	23

## ÍNDICE DE GRÁFICO

Gráfico 1. Valores de temperatura e humidade relativa da massa nas condições de exposição entre 2 de abril e 3 junho.....	35
Gráfico 2. Valores de temperatura e humidade relativa da pimenta nas condições de exposição entre 2 de abril e 3 junho.....	35

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Composição de alguns tipos de massas.....	8
Tabela 2. Principais consumidores mundiais de massas em 2021.....	9
Tabela 3. Classificação dos microrganismos de acordo com o seu risco e difusão, segundo o NACMCF (2004).....	12
Tabela 4. Classificação dos microrganismos quanto à sua temperatura ótima de desenvolvimento.....	16
Tabela 5. Principais fatores intrínsecos e extrínsecos que condicionam o desenvolvimento de bactérias potencialmente patogénicas de maior importância no setor alimentar.....	17
Tabela 6. Microrganismos/toxinas mais comuns na transmissão de doenças de origem alimentar.....	18
Tabela 7. Doses infetantes de alguns microrganismos patogénicos.....	19
Tabela 8. Fatores com influência na vida útil de um género alimentício.....	22
Tabela 9. Principais técnicas de conservação alimentar.....	24
Tabela 10. Tecnologias de barreiras que podem ser utilizadas na conservação dos alimentos.....	25
Tabela 11. Parâmetros de medição da segurança sanitária e qualidade dos alimentos.....	27
Tabela 12. Produtos analisados.....	29
Tabela 13. Resultados das contagens de bolores e leveduras (UFC/g) nas massas.....	32
Tabela 14. Resultados das análises microbiológicas (UFC/g) em pimentas para contagens de bolores e leveduras.....	33
Tabela 15. Resultados das análises microbiológicas (UFC/g) na massa.....	32
Tabela 16. Resultados das análises microbiológicas (UFC/g) na pimenta.....	33
Tabela 17. Valores médios do pH, $a_w$ e parâmetros da cor na massa ao longo do tempo.....	34
Tabela 18. Valores médios do pH, $a_w$ e dos parâmetros da cor na pimenta ao longo do tempo.....	34

## ÍNDICE DE SIGLAS E SÍMBOLOS

APT	Água peptonada tamponada
$a_w$	Atividade da água
EFSA	<i>European Food Safety Authority</i>
HACCP	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controlo
IPO	International Pasta Organization
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
MKTT	Caldo Muller Kauffmann tetracionato novobiocina
MSA	Manual de Segurança Alimentar
NACMCF	<i>National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods</i>
NP	Normas portuguesas
ONGs	Organizações Não Governamentais
pH	Potencial hidrogeniónico
RSC	Responsabilidade Social Corporativa
RVS	Rappaport Vassiliadis com soja
TSI	Triple Sugar Iron Agar
UFC	Unidade formadora de colónias
XLD	Xylose Lysine Desoxycholate
°C	Grau Celsius
%	Percentagem
mL	Mililitro
±	Mais ou menos
ufc/g	Unidades formadoras de colónias por grama
HR	Humidade relativa
T/°C	Temperatura
g	Gramma
≤	Menor ou igual a
<	Menor que

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. Breve descrição das atividades do estágio

No âmbito do Mestrado em Segurança Alimentar, tive a oportunidade de realizar o estágio curricular na Empresa Auchan Retail Portugal e no Laboratório de tecnologia da Faculdade de Medicina Veterinária, entre 13 de novembro de 2023 a 14 de junho de 2024.

O estágio realizou-se, numa primeira fase, na sede da empresa Auchan, localizada em Paços D'Arcos, sobre a orientação do Dr. José Cordeiro, Médico Veterinário, diretor do departamento de qualidade.

As atividades desenvolvidas, de uma forma concisa, compreenderam a realização de:

- Formações de cursos na área de Segurança Alimentar em todas as secções da empresa.
- Estudos de Regulamentos relacionados a Segurança dos alimentos e afins.
- Estudos de Normas Portuguesas (NP).
- Participações de reuniões com a equipa de qualidade.

A segunda fase do estágio decorreu no Laboratório de Tecnologia da Faculdade de Medicina Veterinária, na qual foram realizadas as análises microbiológicas e químicas dos produtos do estudo.

## 1.2. A empresa

O Grupo Auchan criado na França por Gérard Mulliez no ano de 1961, tendo como referência por ser uma empresa multinacional presente em 12 países. Possuindo em Portugal 130 lojas, sendo 32 hipermercados, 4 supermercados, 46 My Auchan, 1 loja My Auchan Saúde e Bem-Estar, 17 lojas franchisadas e 30 gasolineras. Os logotipos estão demonstrados na Figura 1.



Figura 1. Logotipos do Grupo Auchan.

Trata-se de uma empresa caracterizada por se transformar em um mundo em constante mudança, proporcionando diferentes modalidades de acesso (presencial e *on-line*) procurando envolvimento com os seus consumidores, tendo atenção às suas compras e à sua saúde, com interesse e intenção de transformar as suas vidas. Possui três valores: a Confiança, a Partilha (do Saber, do Haver e do Poder) e o Progresso.

Tem como missão oferecer produtos e serviços, centrados na alimentação, saudáveis e amigos do ambiente, atrativos e acessíveis ao maior número de pessoas, tendo em vista uma boa alimentação e o cuidado com o planeta. A empresa possui pilares fundamentais com os produtos da marca própria e tem interesse em ser a marca preferida, colocando em pratica alguns princípios: O respeito pelo Cliente, melhorando as suas satisfações, proporcionando opções mais económicas e assegurando a qualidade de produtos e serviços; O respeito pelos Colaboradores da Empresa, envolvendo práticas laborais socialmente responsáveis, coordenando recrutamento e carreiras, assegurando remuneração justa; O respeito por Terceiros, atuando de forma ética, respeitando e integrando o interesse das partes interessadas.

A Auchan Retail Portugal possui uma Política de Segurança Alimentar na qual é estabelecida a responsabilidade da Direção Geral no fornecimento de produtos alimentares frescos são e seguros aos consumidores. Política que se baseia:

- ◇ Cumprimento dos requisitos legais no âmbito da Segurança Alimentar.
- ◇ Garantia da eficiência dos processos por ela utilizados para comercializar os produtos alimentares produzidos e comercializados.
- ◇ Procuram comunicar aos seus clientes a sua interação e monitorização da segurança dos produtos que irão adquirir.
- ◇ Formações aos colaboradores de modo que haja conhecimento no que diz respeito à Segurança Alimentar, em todos os setores da empresa como charcutaria, padaria e pastelaria, peixaria, queijaria, frutas e verduras, produtos de grande consumo e gastronomia.
- ◇ Seleção de fornecedores de modo a garantir produtos de qualidade.
- ◇ Realização de auditorias internas e externas, na intenção de verificar aplicações no que diz respeito a Segurança Alimentar.
- ◇ Dar feedback aos problemas no que diz respeito a Segurança Alimentar e acompanhar os processos nas lojas, plataformas e Central de Compras, de modo a garantir o seguimento se o Sistema de Segurança Alimentar permanece adaptado à realidade.

A Auchan Portugal Hipermercados possui o Manual de Segurança Alimentar (MSA), documento base em que descreve todo o Sistema de Segurança Alimentar em implementação na empresa, no qual se encontram orientações, definições, procedimentos e regras de comunicação, entres os serviços para os colaboradores. Este manual é destinado a todos os setores com géneros alimentícios comercializados e/ou produzidos nos hipermercados e supermercados da mesma. A Direção de Qualidade é responsável pela elaboração, alteração e/ou revisão, emissão, estipulação do tipo de controlo e de identificação de documentos ou normas internas relativas à segurança dos alimentos.

A a empresa tem implementado o sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controlo (HACCP do inglês *Hazard Analyses and Critical Control Points*), abrangendo todas as etapas de processo, levando em conta a relação existente com os agentes intervenientes nas diferentes fases da cadeia alimentar. A formalização das práticas implementadas está expressa nas diferentes certificações que a empresa detém: SA 8000 – Responsabilidade Social, Certificação de Serviços de Produtos Frescos (Referencial Próprio auditado por OIC – Organismo Independente de Controlo), ISO 14001:2015 - Sistemas de Gestão Ambiental.

### **1.3. Enquadramento do estudo**

De acordo com os novos estilos de vida em consequência das mudanças económicas, sociais, demográficas e culturais, acabam surgindo novos hábitos alimentares, impulsionando o desenvolvimento de novas técnicas de preparação, confeção e distribuição dos alimentos. Dessa maneira, torna-se indispensável a implementação de sistemas de controlo da segurança sanitária (CAC 2003). Atualmente, a segurança sanitária dos alimentos tem um papel importante sobre os consumidores, de maneira que os deixem informados e conscientes sobre os perigos potencialmente veiculados pelos alimentos (APED 2004).

O Regulamento (CE) nº 852/2004, descreve que os operadores do sector agroalimentar possuem a obrigatoriedade de aplicar regras de higiene alimentar, por meio de boas práticas de higiene e fabrico, pré-requisitos de segurança dos alimentos e a implementação de sistemas de autocontrolo baseados nos princípios do HACCP, tendo como referência o “Codex Alimentarius”. O Regulamento garante flexibilidade na sua aplicação, levando em consideração as dificuldades referentes à implementação de sistemas pró-ativos de segurança sanitária em empresas de pequeno e médio dimensão, de forma que não prejudique os objetivos de higiene e segurança dos géneros alimentícios. O Regulamento (CE) n.º 2073/2005, descreve os critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios.

O sistema HACCP é uma metodologia com objetivo relacionado com a saúde pública, por meio de níveis de risco aceitáveis do consumo de alimentos, sendo aplicável em qualquer

fase da cadeia alimentar. É uma ferramenta que possibilita a identificação de perigos específicos em etapas ou pontos, no qual podem causar falha de segurança do produto. Além do mais, determina as medidas preventivas e corretivas de forma a estabelecer o seu controlo. Para a implementação do sistema HACCP é exigido a aplicação de programas de pré-requisitos sólidos, os quais assegurem as condições operacionais e estruturais apropriadas, assim como as boas práticas de fabrico e de higiene. A monitorização e verificação periódica destes programas e do sistema de autocontrolo, por meio de auditorias técnicas e controlo analítico, são fundamentais na avaliação da sua eficácia (CAC 2003).

Segundo o “Codex Alimentarius” (FAO and WHO 2003), tendo em vista a segurança dos alimentos, propõe que os alimentos não causem danos na saúde do consumidor, de maneira que sejam consumidos respeitando as informações do fabricante, estando intrinsecamente ligada à higiene dos géneros alimentícios.

A qualidade de um género alimentício possui vários fatores importantes relacionados ao uso, embalagem, custo, método de produção, origem geográfica, certificação e a marca de um produto, fatores que são atributos relacionados com as preocupações ou expectativas dos consumidores. As características como a rotulagem e rastreabilidade satisfazem imposições legais (Figura 2) (Alli 2004; FAO 2004).



**Figura 2. Qualidade de um género alimentício – conceito multidimensional.**

Um alimento que não cumpra os requisitos de segurança consequentemente não cumpre os requisitos de qualidade, apesar disto, pode haver um alimento que cumpra os requisitos de segurança sem atingir outros requisitos de qualidade. A qualidade pode ser um fator crucial entre os operadores económicos que procuram atender às expectativas do consumidor (Alli 2004).

Um dos grandes desafios colocados na indústria alimentar refere-se ao controlo da qualidade e segurança, devido ao facto dos consumidores estarem cada vez mais exigentes

e informados com o objetivo de oferecer produtos seguros. A análise microbiológica dos alimentos é o principal aspeto a ter em atenção em qualquer sistema que tenha como objetivo a garantia da higiene e segurança dos alimentos (André 2017).

## **2. As novas tendências do consumidor**

Os três motivos mais importantes para o consumidor no ato da compra são o preço, a variedade e a conveniência. Contudo, o preço vem a ser de maior significância, diante destes tempos de crise. Dessa maneira torna-se indispensável a disponibilização de diversidade de escolhas para oferecer ao cliente, levando a um aumento do fator de conveniência, de maneira que uma vasta gama de produtos na loja possibilita ao consumidor centralizar as suas compras num único lugar (Sousa 2012).

As empresas identificam as novas tendências do novo perfil emergente do consumidor português de acordo com as mudanças dos tempos. Algumas dessas tendências concentram-se mais em si próprio, ou seja, os consumidores optam por serviços de entrega em casa usando a internet. Por outro lado, o preço é um fator crucial conforme os esforços financeiros têm crescido para a maioria dos consumidores portugueses. Sendo assim, os clientes tentam poupar dinheiro e diminuir gastos exagerados. Consequentemente o processo de compra será mais complexo onde algumas particularidades como as promoções podem motivar a decisão final. Com isso, algumas vezes os consumidores preferem comprar produtos que, não são a opção realmente mais económica, porém é aquela que lhes faz gastar menos no imediato. Dessa maneira, os consumidores, procuram serviços que ofereçam maiores opções de produtos e, consequentemente, têm a possibilidade de escolher quais são as melhores opções de acordo com o seu orçamento, nomeadamente como *smart shopping* (Sousa 2012).

Além das grandes tendências citadas anteriormente, existem outras que estão surgindo e que permitem definir o novo perfil de consumidor, no qual é caracterizado por procurar novas experiências relacionadas ao consumo exagerado e ao desperdício de dinheiro, e está cada vez mais exigente na sua escolha final, em consequência, procura produtos com particularidades específicas: baixo preço, qualidade e singularidade, de modo, que procura ser eficiente em relação às suas escolhas, levando a uma pesquisa aprofundada sobre o mercado e interesse em promoções atrativas (Sousa 2012).

### **2.2. A nova posição da grande distribuição**

O consumidor tem perspectivas positivas e negativas em relação ao cenário da grande distribuição. Existem clientes que vêm as redes comerciais com poucas opções para competir ao nível da qualidade do serviço prestado e com pouca preocupação com a qualidade, falta de interesse com as necessidades do cliente em relação a lucro garantido e o receio em

relação às estratégias utilizadas para escoar os produtos (promoções com vários requisitos em termos de montante das compras, preços trocados ou inexistentes, vários preços para o mesmo produto), porém existem clientes que acham os preços mais acessíveis, quando comparados com o comércio tradicional, e admitem que há um grande investimento em publicidade e criatividades promocionais, além de uma política de funcionamento (horários, acessos) ao serviço do cliente (APED 2024). Diante desse desenvolvimento da distribuição, os consumidores têm beneficiado com preços mais baixos, mais ofertas de produtos e maiores opções de lojas. As grandes redes de distribuição oferecem mais opções aos consumidores, por meio de produtos de marca própria de qualidade e com preços acessíveis, além de facilitar o acesso aos hipermercados e lojas “discount” através dos horários de funcionamento que foram aumentados (APED 2024).

### **2.3. A consciência ambiental**

O consumo alimentar é responsável por um terço de todo o impacto ambiental de uma casa, com isso torna-se uma das áreas mais importantes para a sustentabilidade ambiental (Vlaeminck et al. 2013).

A justiça social tem um papel importante nas decisões estratégicas da distribuição alimentar, seja analisando as campanhas de relações públicas empresarias, descrevendo doações de caridade a bancos alimentares, realizando atividades de Organizações Não Governamentais (ONGs), verificando esforços de “marketing” e políticas públicas que intencionam as práticas de segurança dos alimentos. Os consumidores, as empresas agrícolas e alimentares todos os dias enfrentam estes assuntos relacionados com a sustentabilidade, diante disso, os reguladores oficiais e todos os intervenientes dispõem de oportunidades e desafios de gestão e “marketing” únicos. Contudo, os produtores alimentares e os retalhistas têm várias perspectivas de Responsabilidade Social Corporativa (RSC). Os retalhistas estão aptos a promover estratégias, prioridades organizacionais ou modificar técnicas de “marketing” através dos preços, programas de treino dos colaboradores, ofertas de produtos, abastecimento, envolvimento da comunidade e por mensagens de comunicação integrada de “marketing” (Hooker and Monteiro 2013).

### **2.4. Alimentos vendidos avulsos**

Os alimentos avulsos são definidos como aqueles que não necessitam de embalagens e no qual são colocados em dispensadores e comprados de acordo com o peso (Costa 2018). O aumento da comercialização destes produtos está-se popularizando cada vez mais, devido a vários fatores, destacando-se pela sua conveniência, incentivo de pequenos empreendedores, diminuição da produção de desperdício, facilidade do acesso a produtos

naturais e de géneros semelhantes e a obtenção sob medida, ainda tendo a opção dos clientes poderem misturar diversos géneros alimentares numa única compra (Souza 2001).

Geralmente os produtos vendidos avulsos são especiarias, ervas secas (tisanas e aromáticas), doces (rebuçados, gomas, bombons), massas, frutos secos e cereais. Devem ser armazenados em local com baixa humidade e fresco. Algumas especiarias e ervas como coentros, pimentão doce e chillies são propícias a infestações, por isso deve-se ter atenção ao controlo de pragas (Matthews and Jack 2011).

As especiarias moídas devem ser conservadas a uma humidade relativa de no máximo 60% e uma temperatura de 20°C, para evitar o aparecimento de bolores, e também devido às especiarias em pó perderem o seu aroma rapidamente e absorverem aromas estranhos facilmente. Quando estas condições de armazenamento não forem possíveis, os produtos devem ser colocados em recipientes estanques (Belitz and Grosch 1988).

Devido à falta de embalagens, torna-se indispensável um cuidado apropriado em todas as etapas do processamento até à chegada ao consumidor, desde o processamento, transporte, armazenamento e distribuição, tendo em consideração a segurança microbiológica (Costa et al. 2020). Para isso é necessário a implementação de boas práticas, a fim de garantir a segurança dos alimentos, visto que esses produtos aparentam ser mais suscetíveis a contaminações em comparação a produtos do mesmo género, porém embalados (Albuquerque et al. 2019).

Apenas um erro em alguma das etapas pode ser o necessário para prejudicar o controlo sanitário e, por consequência, a qualidade e a segurança microbiológica de toda a produção, acarretando danos à saúde do consumidor final (Veloso et al. 2022).

O Regulamento nº 1169/2011, tem como objetivo proteger a saúde e os interesses dos consumidores, através do fornecimento de informações sobre determinado género alimentício, a fim de proporcionar escolhas informadas, levando em consideração a saúde, economia, ambiental, social e ética. Sobre a rotulagem dos géneros alimentícios, o Dec. Lei nº 560/99 de 18 de dezembro descreve que os produtos expostos devem possuir a denominação de venda, lista e quantidade de ingredientes (que podem ser dadas a conhecer por consulta ou verbalmente), condições especiais de conservação (quando se justifica) e modo de emprego ou utilização quando necessário para o uso adequado.

Devido a não possuírem as informações do fabricante, os alimentos vendidos avulsos requerem atenção no que diz respeito às informações sobre alergénios. A comunicação entre os colaboradores, fornecedores e consumidores é importante, de modo a garantir as informações exatas do produto (FSA 2008).

## 2.5. Massas alimentícias

As massas alimentícias são consideradas um dos alimentos mais consumidos pelo mundo, devido a vários fatores como o baixo custo, a facilidade de preparação e estabilidade durante o armazenamento. São fabricadas a partir de uma mistura de sêmola de trigo, a qual é um produto refinado, que contém algumas vitaminas e minerais, possuindo um baixo índice glicémico (Sissons 2022). Porém é possível utilizar outras farinhas ou ingredientes sem comprometer as características sensoriais, com intuito de aumentar o seu valor nutricional. A composição de alguns tipos de massas alimentícias está apresentada na Tabela 1.

**Tabela 1. Composição de alguns tipos de massas (Rocha 2013).**

Tipo de massa	Composição	Tipo de massa	Composição
Massa simples	88% Sêmola de trigo duro; 12,0% Água.	Massa 6 cereais	66% Sêmola trigo duro; 22% Sêmola de 6 cereais; 12% Água.
Massa de tomate	81,1% Sêmola de trigo duro; 12,0% Água; 3,8% Ovo; 3,0% Tomate em pó; 0,1% Vermelho-beterraba.	Massa de espinafre	82% Sêmola de trigo duro. 12% Água. 3,7% Ovo. 2,3% Espinafre em pó.
Massa 4 ovos	83,6% Sêmola de trigo duro. 12% Água. 4,4% Ovo.	Massa do tipo kochfest	86,9% Sêmola de trigo duro. 12% Água. 1,1 % Clara de ovo.
Massa integral	88% Sêmola integral de trigo duro. 12% Água.	Massa Morga Bio	93% Sêmola integral de trigo duro. 5% Sêmola de soja. 2% Gérmen de trigo. 76,8% Sêmola de trigo duro fina. 7,8% Ovo. 5,5% Leite magro em pó. 2,7% Sal. 0,8% Novation 4600. 0,07% Noz-moscada. 0,2% Curcuma. 0,08% Extrato de levedura. 0,05% Óleo de girassol. 6% Água.
Massinhas da sopa	93% Sêmola de trigo duro. 7% Água.	Flädli de 7 ovos	

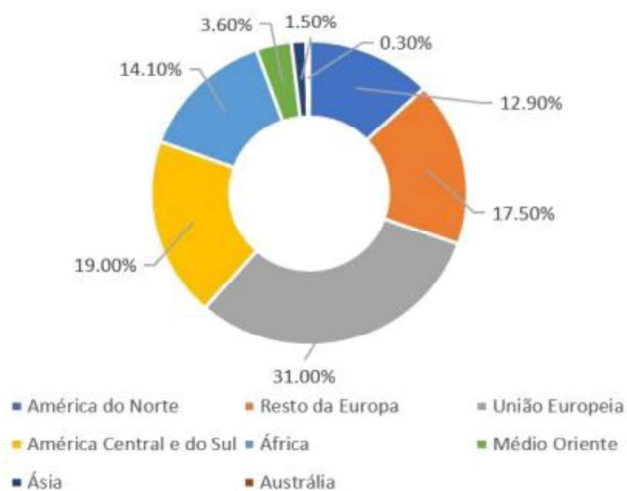
De acordo com os dados da Nielsen, foi verificado uma estabilidade no consumo das massas, no período entre abril de 2018 e abril de 2019 comparado ao ano anterior, no que se refere ao valor económico (70,9 milhões de euros) e ao volume de vendas (53,3 milhões de quilogramas). Luísa Lourenço, *Senior Client Consultant* da Nielsen, refere que “apesar desta estabilidade global, verifica-se um dinamismo positivo das massas bio, integrais e de legumes/vegetais, tendência que parece espelhar mudanças de comportamentos de consumo, como a procura por produtos considerados mais saudáveis”. Apesar do consumo não ter aumentado nos últimos anos, Portugal continua a ser um país onde o consumo de massas alimentícias é da preferência dos consumidores (Costa 2019). Entre o total de massa

produzida no mundo, cerca de 25% é consumida em Itália, sendo o consumo em Portugal (6,8%) um dos mais altos da União Europeia (Tabela 2).

**Tabela 2. Principais consumidores mundiais de massas em 2021 (adaptado de UN.A.F.P.A.).**

País	Consumo de massas (kg/per capita)
Itália	23,5
Tunísia	17
Venezuela	15
Grécia	12,2
Perú	9,9
Portugal	6,8
Brasil	6,0
Espanha	3,6
Noruega	2,7

Os principais produtores de massa são a União Europeia e a América Central e do Sul, de acordo com a “International Pasta Organization” (IPO 2019), (Figura 3).



**Figura 3. Distribuição mundial da produção de massas (fonte: IPO 2019).**

## 2.6. Pimenta

De acordo com a NP 1047 de 1974, é considerado como especiaria o produto vegetal ou mistura de produtos vegetais, livre de substâncias estranhas, utilizado para realçar as propriedades organoléticas dos alimentos. As especiarias podem ser inteiras, fracionadas ou

moídas. São utilizadas para temperar alimentos crus e cozinhados, e em determinados alimentos processados industrialmente. É importante assegurar a qualidade microbiológica das especiarias, visando a prevenção da deterioração dos alimentos, com perda das suas qualidades, e evitar efeitos nocivos para a saúde dos consumidores.

As especiarias são consideradas produtos não perecíveis, em condições normais de armazenamento (Guarino et al. 1992), algumas até possuem propriedades antimicrobianas e antioxidantes, o que contribui para ajudar na conservação dos alimentos (Guarino et al. 1992; Macrae et al. 1993). Apesar disso, alguns destes produtos podem apresentar-se como uma fonte de contaminação microbiana (McKee 1995). Esses produtos são produzidos em zonas tropicais ou subtropicais com aspetos sanitários inadequados, na qual as condições de manuseamento, secagem e armazenamento são bastante precárias, associada a climas quentes e húmidos, tornando-se propícias a potencial contaminação microbiana (Macrae et al. 1993; McKee 1995). As fontes de contaminação podem ser de origem humana ou de animais (insetos, aves e roedores), ainda pode ser encontrado entre as especiarias corpos estranhos como pedras, areia, vidro, metais, penas, cabelos e excrementos (Macrae et al. 1993).

A pimenta é uma das especiarias mais utilizadas para realçar o sabor dos alimentos, além do mais é bastante consumida na cultura gastronómica devido às suas propriedades sensoriais (Vinha, et al. 2017; Machado et al. 2021). É uma das especiarias mais valorizadas no mundo apresentando grande valor económico, proporciona alta rentabilidade aos puericultores (Lima et al. 2010). A pimenta é utilizada especialmente na preparação e processamento de alimentos e geralmente o consumo do grão é na forma in natura devido ao seu sabor único (Prabhakaran and Nair 2011). A pimenta por ser um produto escasso e caro, e pode ser adulterada com materiais semelhantes como grãos de zimbro, casca de mostarda e farinha de ervilha e até mesmo com vestígios de produtos provenientes e existentes no chão da sala de armazenamento - "pepper dust" (Tannahill 1988).

As principais causas de contaminação da pimenta estão associadas a ausência de boas práticas agrícolas, condições higio-sanitárias precárias durante as etapas de secagem e armazenamento dos grãos, podendo tornar-se uma fonte de disseminação de agentes patogénicos, podendo vir a ser um risco para a saúde pública. As bactérias mais preocupantes frequentemente associadas às especiarias são a *Salmonella* spp. e a *E. coli* (Vinha et al. 2017; Ducan et al. 2017).

### 3. Perigos sanitários veiculados nos alimentos

De acordo com o *Codex Alimentarius* (FAO and WHO 2003), é caracterizado como perigo qualquer agente biológico, químico ou físico presente no alimento, com capacidade de provocar um efeito nocivo à saúde do homem. O risco é designado pela probabilidade desse efeito nocivo para a saúde humana e da sua severidade.

Os perigos biológicos representam um maior risco para a inocuidade dos alimentos entre todas as categorias de perigo. Muitos deles são destruídos por processos a altas temperaturas e muitos podem ser controlados por boas práticas de higiene e fabrico (Baptista and Venâncio 2003). São eles:

◇ As bactérias patogénicas são as maiores responsáveis por casos de toxinfecções alimentares. Estes microrganismos podem atingir os géneros alimentícios durante a preparação, transformação, transporte, armazenamento, ou estarem presentes naturalmente nas matérias-primas (Baptista and Venâncio 2003; Afonso 2008). Estima-se que 90% das doenças de origem alimentar são causadas por bactérias (Veiga et al. 2009). Os agentes de doença de origem alimentar mais frequentes são o *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *Yersinia* spp., *Escherichia coli* verotoxigénica (VTEC ou STEC) e *Listeria monocytogenes*.

◇ Os fungos são caracterizados por desenvolverem rapidamente em alimentos ácidos e em alimentos com baixa atividade de água, geralmente associado a cereais, frutas e sumos, vegetais, queijos, alimentos salgados, alimentos acidificados e alimentos secos, sempre que as suas condições de armazenamentos não respeitam as boas práticas de higiene. Entre os fungos existentes, incluem-se os bolores e leveduras. Geralmente as leveduras são responsáveis pela deterioração dos alimentos onde estão presentes e são utilizadas como indicadores de contaminação cruzada (Baptista and Venâncio 2003). *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium* são conhecidos por serem as espécies produtoras de micotoxinas mais frequentes. As suas micotoxinas são caracterizadas por serem estáveis a temperaturas elevadas o que as tornam difíceis de eliminar dos alimentos (Henriques 2014).

◇ Os vírus são microrganismos que não possuem células e são constituídos por ácido nucleico revestidos por proteína e precisam de hospedeiro para se multiplicarem na célula viva. São transmitidos ao homem pelos alimentos, água e por outras vias. As contaminações mais frequentes são os pescados crus, vegetais crus, água contaminada e as saladas (Baptista and Venâncio 2003). Os vírus mais associados a doenças de origem alimentar são os da *hepatite A e E*, *calicivírus*, vírus de *Norwalk*, *rotavírus* e *astrovírus* (Prescott et al. 2005).

◇ Os parasitas são organismos que necessitam de um hospedeiro para crescer e se reproduzir, obtendo alimento a partir deste. As infeções causadas por parasitas estão relacionadas com alimentos que não foram bem cozidos ou alimentos prontos para o consumo contaminados. A contaminação pode ocorrer em carnes, pescados contaminados ou animais domésticos (Baptista and Venâncio 2003). São conhecidos por serem os principais parasitas provocadores de doenças de origem alimentar: *Cryptosporidium parvum*, *Taenia solium*, *Ascaris lumbricoides*, *Diphyllobothrium* spp., *Entamoeba histolytica*, *Anisakis simplex*, *Trichinella spiralis*, *Giardia lamblia* e *Cyclospora cayetanensis* (Henriques 2014).

A classificação de perigo, quanto à sua severidade e difusão, representa um passo importante na determinação de medidas preventivas. A severidade e difusão de diferentes microrganismos patogénicos bacterianos estão descritas na Tabela 3 (Morgado 2007; Veiga et al. 2009).

**Tabela 3. Classificação dos microrganismos segundo o (adaptado de Morgado 2007; Veiga et al. 2009).**

<b>Classificação do risco e sua difusão</b>	<b>Microrganismos patogénicos</b>
<b>1. Moderado com difusão limitada</b> , sem risco de vida, sem sequelas, normalmente de curta duração e autolimitantes.	<i>Bacillus cereus</i> <i>Campylobacter jejuni</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Vibrio cholerae</i> não O1 <i>Giardia lamblia</i>
<b>2. Moderado com elevada difusão</b> , incapacitante, com sequelas raras e de duração limitada.	<i>Listeria monocytogenes</i> <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Salmonella</i> spp. (excluindo <i>typhi</i> e <i>paratyphi</i> ) <i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica (EHEC) <i>Shigella</i> spp. (excluindo <i>disenteriae</i> ) Rotavírus <i>Cryptosporidium parvum</i>
<b>3. Severo</b> , risco de vida para a população em geral, sequelas crónicas e longa duração.	<i>Clostridium botulinum</i> <i>Vibrio cholerae</i> O1 <i>Salmonella typhi</i> e <i>paratyphi</i> <i>Shigella disenteriae</i> <i>Brucela abortus e suis</i>
<b>4. Severo para grupos de risco</b> , risco de vida para populações, restritas sequelas crónicas e de longa duração.	<i>Campylobacter jejuni</i> <i>Listeria monocytogenes</i> EHEC

Os perigos físicos são classificados como qualquer matéria física que possa ser prejudicial aos consumidores, causando doença, trauma psicológico ou danos físicos. Podem ser encontrados nos géneros alimentícios ou terem sido introduzidos durante o processo,

acidentalmente ou não (Afonso 2008). Possui uma vasta natureza como fragmentos de metal, vidro, e de madeira, plástico, de panos, de borracha, de aço, pedras, areias, ossos ou seus fragmentos, espinhas, adornos dos manipuladores como peças de bijuteria, pragas ou frações do corpo das pragas, isótopos radioativos entre outros. Entre todos os perigos, a contaminação física é caracterizada em possuir fácil solução, tanto pelo operador do setor alimentar tanto pelo consumidor, devido a sua facilidade visual. Porém quando não são detetados e são consumidas junto aos alimentos podem ocasionar graves lesões no consumidor (Veiga et al. 2009).

Baptista and Linhares (2005), descreveram como perigo químico uma série de substâncias químicas inoportunas que podem, por várias razões aparecer ao longo da cadeia alimentar, ocasionando perigo para saúde dos consumidores. Destacando - se:

- Químicos introduzidos nos alimentos (e.g. produtos de limpeza e desinfecção, lubrificantes)
- Pesticidas químicos (e.g. inseticidas);
- Medicamentos veterinários (e.g. antibióticos, hormonas);
- Metais pesados (e.g. cádmio, chumbo, mercúrio);
- Toxinas naturais (e.g. toxinas associadas a mariscos, cogumelos);
- Químicos criados pelo processo de confeção
- Aditivos alimentares (quando utilizados em concentrações indevidas);
- Alérgenos (e.g. glúten, lactose);

### **3.1. Fatores que influenciam a multiplicação microbiana**

Qualquer microrganismo necessita de um conjunto de fatores que lhe permita viver num determinado ambiente. Cada microrganismo possui as suas necessidades por exemplo, as bactérias necessitam de ambientes diferentes das leveduras e estas dos bolores, de maneira como dentro do grupo das bactérias há diferenças de espécie para espécie (Baptista and Venâncio 2003).

Considerando os vários fatores que determinam a sobrevivência dos microrganismos, torna-se possível determinar a probabilidade de ocorrência de microrganismos, patogénicos ou não, nos alimentos. Os alimentos são ótimas fontes para a multiplicação de microrganismos e o seu desenvolvimento depende de fatores intrínsecos e extrínsecos (Prescott et al. 2005). Segundo a Baptista e Venâncio (2003), estes fatores exercem uma influência sobre a microbiota inicial, tornando algumas espécies mais beneficiadas do que outras. O controlo destes fatores torna possível aumentar o tempo de vida útil dos produtos, aumentando a sua qualidade microbiológica.

### **3.1.1. Fatores intrínsecos**

Os fatores intrínsecos estão relacionados com as características físico-químicas dos alimentos. Estes fatores têm uma influência importante sobre o desenvolvimento dos microrganismos, devido a que quase todos os alimentos possuem um meio mais ou menos favorável para o crescimento da maioria dos microrganismos ((Baptista and Venâncio 2003).

#### **3.1.1.2. Atividade da água**

É definida como atividade da água ( $a_w$ ) a disponibilidade de água num alimento, e o seu valor varia de 0 a 1 (Prescott et al. 2005). Os microrganismos necessitam dessa água disponível para se desenvolverem nos alimentos. Existem várias formas de controlar a  $a_w$ , levando em consideração a adição de substâncias como o sal ou o açúcar, ou por processos de secagem, liofilização e congelação, com o intuito de diminuir a  $a_w$  (Henriques 2014). Na maioria das bactérias quando a  $a_w$  é menor a 0,85, o seu crescimento é inibido. Para valores de  $a_w$  inferiores a 0,90, a produção de toxinas é inibida, com exceção das toxinas produzidas pelo *Staphylococcus aureus*. Os fungos conseguem-se desenvolver a valores abaixo de 0,60 a 0,70 (Pinto and Neves 2010).

Mesmo que o desenvolvimento microbiano num determinado alimento não seja possível, não significa que não existam microrganismos presentes, ou seja, os microrganismos são capazes de se manter latentes em alimentos com baixa  $a_w$ , podendo multiplicar-se após a rehidratação.

#### **3.1.1.3. pH**

O pH é uma escala de 0 a 14 utilizada para determinar o grau de acidez de um produto. Enquanto os fungos preferem alimentos mais ácidos para crescer já as bactérias preferem alimentos com pH próximo da neutralidade a alcalino. O pH afeta não só a multiplicação dos microrganismos nos alimentos, mas também a sua taxa de sobrevivência durante o armazenamento e nos diversos tratamentos de conservação (Baptista and Venâncio 2003).

#### **3.1.1.4. Disponibilidade de nutrientes**

Para que os microrganismos possam crescer e realizar as suas funções metabólicas, é necessário um conjunto de nutrientes. São eles: hidratos de carbono (açúcares), álcoois e aminoácidos para obter fonte de energia. O azoto é geralmente obtido a partir de aminoácidos, nucleótidos, peptídeos e proteínas. As vitaminas mais importantes para o crescimento dos microrganismos, são as do complexo B, como a biotina (vitamina B7) e o ácido pantoténico

(vitamina B5), normalmente, presentes nos alimentos. Os sais minerais são utilizados em pequenas quantidades e são indispensáveis para o crescimento dos microrganismos devido à sua intervenção nas reações enzimáticas, sendo os mais importantes o sódio, potássio, cálcio, magnésio, ferro, manganésio, fósforo e enxofre (Baptista and Venâncio 2003).

Os fungos são menos exigentes em relação aos nutrientes para o seu desenvolvimento comparado com as bactérias. Alimentos com baixos nutrientes podem inibir o crescimento fúngico. A composição do alimento é mais importante na produção de micotoxinas (Baptista and Venâncio 2003).

#### **3.1.1.5. Estrutura biológica do alimento**

Alguns alimentos de origem animal ou vegetal, possuem estruturas biológicas que atuam como barreiras físicas, impedindo a entrada e o desenvolvimento de microrganismos. A casca de frutos e vegetais, as escamas do pescado, a pele dos animais, conchas de mariscos e a casca do ovo são alguns exemplos dessas barreiras. Danos causados na produção primária nas cascas de alguns frutos e vegetais podem facilitar a entrada de microrganismos (Baptista and Linhares 2005).

#### **3.1.2. Fatores extrínsecos**

Estes fatores, estão relacionados às condições de armazenamento dos alimentos e às condições ambientais, possuindo uma grande importância, podendo prolongar a vida útil do alimento (Baptista and Venâncio 2003).

##### **3.1.2.1. Temperatura**

A temperatura é um dos fatores mais importante para o crescimento bacteriano. Todos os microrganismos precisam de uma determinada temperatura para se desenvolverem à sua velocidade máxima, designada temperatura ótima, sendo divididos em quatro grupos (tabela 4) (Baptista and Linhares 2005).

**Tabela 4. Classificação dos microrganismos quanto à sua temperatura ótima de crescimento (adaptado de Prescott et al. 2005).**

	Temperaturas ótimas de crescimento (°C)
Psicrófilos	<15
Psicrotróficos	20 a 30
Mesófilos	20 a 45
Termófilos	55 a 65

Existem bactérias patogênicas como *Yersinia enterocolitica* e *Listeria monocytogenes* que sobrevivem e multiplicam-se a baixas temperaturas de refrigeração, e bactérias como *Staphylococcus aureus* que resistem a temperaturas elevadas de 60 °C durante 15 minutos (Henriques 2014). A temperatura ótima para os fungos situa-se entre 25 °C e os 45 °C. Alguns fungos como o *Penicillium roqueforti* conseguem desenvolver-se a temperaturas de refrigeração acima dos 0°C, também existindo alguns fungos com capacidade de sobreviver em temperaturas elevadas de 55 °C como é o caso do *Aspergillus fumigatus* (Baptista and Linhares 2005).

### **3.1.2.2. Humidade relativa**

A humidade relativa é influenciada pela temperatura, ou seja, quanto mais alta a temperatura de acondicionamento menor a humidade relativa, e vice-versa (Prescott et al. 2005). A atividade de água do alimento é influenciada pela humidade relativa, se um alimento de  $a_w$  baixa estiver armazenado num local com humidade relativa alta, a água disponível desse alimento aumenta, esta absorção pode alterar a qualidade do alimento e favorecer o crescimento microbiano (Baptista and Venâncio 2003).

### **3.1.2.3. Composição da atmosfera**

A presença ou ausência de oxigénio é um fator importante para o desenvolvimento dos microrganismos, sendo classificados como microrganismos aeróbios estritos, aeróbios, anaeróbios facultativos ou anaeróbios estritos (Correia 2015). Grande parte das bactérias patogênicas são anaeróbias facultativas, ou seja, são microrganismos que não requerem oxigénio para o seu desenvolvimento (Prescott et al. 2005; Henriques 2014).

Segundo Henriques (2014), a utilização de embalagens com atmosferas modificadas é um método de conservação que impede a multiplicação bacteriana devido à variação da composição da atmosfera normal, modificando a percentagem dos gases, como o dióxido de

carbono, o azoto e o oxigénio. É descrito na Tabela 5 os valores de alguns parâmetros que afetam o desenvolvimento dos microrganismos patogénicos (FSAI 2011).

**Tabela 5. Principais fatores intrínsecos e extrínsecos, que condicionam a multiplicação de bactérias potencialmente patogénicas de maior importância no sector alimentar (FSAI 2011).**

Parâmetros/ Microrganismos	T (°C)			pH			a <sub>w</sub>	NaCl (%)	Relação O <sub>2</sub>
	m	ótima	M	m	ótimo	M	m	M	
<i>Bacillus cereus</i>	4	30-40	55	5,0	7,0	8,8	0,93	7,5	anaeróbio F
<i>Campylobacter</i> spp.	32	42-43	45	4,9	6,5-7,5	9,0	>0,99	1,5	microaerófilo
<i>Clostridium perfringens</i>	10	43-47	50	5,5	7,2	9,0	0,93	6,0	anaeróbio
<i>Escherichia coli</i>	6,5	30-40	45	3,6	6,0-7,0	9,0	0,95	≥ 6,5	anaeróbio F
<i>Listeria monocytogenes</i>	-1,5	30-37	45	4,2	7,0	9,5	0,90	12,0	anaeróbio F
<i>Salmonella</i> spp.	5,2	35-43	46,2	3,8	7,0-7,5	9,5	0,94	4,0	anaeróbio F
<i>Staphylococcus aureus</i> *	10	40-45	48	4,0	7,0-8,0	9,6	0,85	10,0	anaeróbio F
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-1,3	25-37	42	4,2	7,2	9,6	0,94	7,0	anaeróbio F

Legenda: anaeróbio F- anaeróbio facultativo; a<sub>w</sub> – atividade da água; m - mínimo(a); M - máximo(a); NaCl (%) - concentração de cloreto de sódio tolerável; O<sub>2</sub> - oxigénio; pH – potencial hidrogeniónico; T (°C) – temperatura em grau Celsius; (\*) Formação de enterotoxina.

### 3.2 Doenças alimentares provocadas por microrganismos

É definido como doença de origem alimentar um quadro sintomatológico caracterizado por vómitos, diarreias, náuseas e dores abdominais, denominado gastroenterite. A gastroenterite pode ser causada por vários grupos de microrganismos, incluindo bactérias, fungos, protozoários e vírus. As bactérias constituem o grupo microbiano que está mais associado às doenças transmitidas pelos alimentos, devido à sua diversidade e patogenicidade (Pinto 1996).

De acordo com a EFSA, a infeção alimentar bacteriana ocorre no interior do trato gastrointestinal causando irritabilidade na mucosa intestinal, podendo migrar para outros tecidos e ocasionar problemas adicionais. Esta infeção é causada pelo consumo de alimentos e/ou água contaminados com bactérias patogénicas (Alves 2012; EFSA 2018). Estas infeções podem ocorrer por dois mecanismos diferentes: infeção não mediada por toxinas e a infeção mediada por toxinas (toxinfecção) (Pinto 1996; Saraiva et al. 2018).

A infeção não mediada por toxinas ocorre pela ingestão dos microrganismos que, após colonização, invadem os tecidos e multiplicam-se no interior do trato gastrointestinal (Pinto 1996; Saraiva et al. 2018). Exemplo de bactérias causadoras de infeção alimentar são a *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* e *Yersinia enterocolitica* (Baptista and Antunes 2005; Alves 2012; Fleckenstein et al. 2010).

A toxinfecção é descrita como a infeção mediada por toxinas, após a ingestão de alimento contaminado com as formas vegetativas das bactérias, ocorre produção de toxinas no intestino. Exemplos de bactérias capazes de poder causar toxinfecção alimentar são a *Escherichia coli enterohemorrágica (O157:H7)*, o *Vibrio cholerae*, o *Clostridium perfringens* e o *Bacillus cereus* (associado ao síndrome emético) (Baptista and Antunes 2005; Fleckenstein et al. 2010; Alves 2012). As toxinas são classificadas em termolábeis, quando são inativadas pelo calor (ex. toxina botulínica), e em termorresistentes, quando continuam no alimento mesmo após eliminação dos microrganismos por tratamento térmico (ex. toxina estafilocócica) (Alves 2012). As toxinas termorresistentes normalmente não são detetáveis organolepticamente, pois não possuem odor ou sabor (Baptista and Antunes 2005).

Os sintomas envolvidos nas intoxicações alimentares dependem de acordo com as características do hospedeiro, do agente etiológico e do grau de contaminação dos alimentos (Baptista and Antunes 2005).

São conhecidos 250 tipos diferentes de bactérias, vírus e parasitas causadores de doenças de origem alimentar, apenas alguns aparecem frequentemente. Geralmente estes microrganismos acabam ocorrendo naturalmente no ambiente onde os alimentos são produzidos. Muitos acabam sendo inativados pelas temperaturas e muitos vários podem ser controlados por práticas adequadas de manipulação e armazenamento (Alves 2012). Na tabela 6 encontram-se exemplos dos microrganismos/toxinas mais frequentemente responsáveis pelas doenças transmitidas por alimentos.

**Tabela 6. Microrganismos/toxinas mais comuns na transmissão de doenças de origem alimentar (Saraiva et al. 2018).**

<b>Bactérias</b>	<i>Campylobacter, Salmonella, Listeria, Escherichia coli, Yersinia</i>
<b>Toxinas bacterianas</b>	Toxinas de <i>Staphylococcus aureus, Clostridium perfringens, Clostridium botulinum e Bacillus cereus</i>
<b>Vírus</b>	Calicivírus (incluindo norovírus), rotavírus, vírus da hepatite A, vírus da hepatite E
<b>Parasitas</b>	<i>Trichinella, Toxoplasma, Cryptosporidium, Giardia</i>

A análise microbiológica por si só não assegura a segurança final de um produto, mas permite transmitir informações importantes quando associados num sistema com implementação de medidas preventivas. A presença de microrganismos nem sempre apresenta um perigo para a saúde dos consumidores, um dos aspetos mais importantes para

a determinação da vida útil dos alimentos é a definição dos microrganismos presentes (Mendes 2009).

### 3.2.3 Doses infetantes

Compreende-se como dose infetante o número mínimo de microrganismos ou de toxinas necessários para causar doença, podendo variar de acordo com a sensibilidade do consumidor, designando os grupos de risco (Baptista and Venâncio 2003; Prescott et al. 2005). É necessária a ingestão de um número elevado de células para causarem doença, no caso da maioria das bactérias, porém noutras bactérias como a *Escherichia coli* O157:H7, basta ingerir 10 células viáveis (Feng 2012). As doses infetantes para alguns microrganismos patogénicos, suscetíveis de causar doença, em adultos saudáveis, estão apresentados na Tabela 7 (FDA 2012).

**Tabela 7. Doses infetantes de alguns microrganismos patogénicos (adaptado de FDA 2012).**

Microrganismo patogénico	Dose infetante (ufc ou massa)
<b>Infeciosos</b>	
<i>Salmonella enteritidis</i>	1
<i>Campylobacter jejuni</i>	500-10 <sup>4</sup>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<10 <sup>3</sup>
<i>Yersinia enterocolitica</i>	10 <sup>4</sup> -10 <sup>6</sup>
<i>Escherichia coli</i>	
Enterotoxinogénia EC	10 <sup>7</sup> -10 <sup>10</sup>
Enteropatogénica EC	10 <sup>7</sup> -10 <sup>10</sup>
Enterohemorrágica EC O157:H7	10-100
Enteroinvasiva EC	200-5000
<b>Toxi-infeciosos</b>	
<i>Bacillus cereus</i> – células	10 <sup>5</sup> -10 <sup>8</sup>
<i>Clostridium perfringens</i>	
Células	>10 <sup>6</sup>
Esporos	>10 <sup>8</sup> /g
<b>Causadores de intoxicação</b>	
<i>Staphylococcus aureus</i>	
Células	<10 <sup>5</sup>
Enterotoxinas	<1µg

### 3.3. Formas de contaminação microbiológica dos alimentos

Alguns problemas relacionados com a qualidade nos produtos de origem agrícola, durante a colheita e principalmente nas operações pós-colheita, são as contaminações químicas (pesticidas e herbicidas), contaminações físicas (pedras, cabelos entre outras), contaminações bacterianas, infestações de pragas, contaminações fúngicas, compactação

causada por sobre-enchimento ou sobre-empilhamento dos recipientes e danos mecânicos no produto (Matthews and Jack 2011).

Geralmente os alimentos que ingerimos nunca estão integralmente livres de microrganismos viáveis, os quais podem ser transmitidos através do contato com o solo, do ar, da água, dos animais, dos manipuladores, dos utensílios, das superfícies e equipamentos. Sendo assim, os alimentos possuem uma carga microbiana que resulta da microbiota natural do próprio alimento (animal ou vegetal), do seu ambiente de produção e ao longo de toda a cadeia de processamento (Adams and Motarjemi 1999).

O solo é um grande depósito de microrganismos provenientes dos resíduos de animais e vegetais. Partículas de solo contaminado podem ser transportadas pelos animais, contaminando as plantas, a água e o ar (Epralima 2018). O solo é caracterizado por ser a principal fonte de bactérias formadoras de esporos, entre elas estão as bactérias dos gêneros *Bacillus* e *Clostridium*, de fungos filamentosos e de leveduras. Os alimentos mais favoráveis aos microrganismos do solo são os tubérculos e as raízes. As frutas e os legumes, especialmente, os que crescem próximo ao solo (ex. morangos, melões e melancias), pois podem ser contaminados pela chuva, pelo pó ou pelo vento. Quando são utilizados fertilizantes de origem de dejetos de animais (estrumes) nos solos, são introduzidos microrganismos de origem fecal, os quais estão presentes no intestino de animais de sangue quente (Adams and Motarjemi 1999).

As águas apresentam uma microbiota devido seu nível de poluição. A contaminação da água com espécies patogênicas de algumas bactérias, alguns vírus e parasitas, excretados por pessoas ou por animais podem constituir um risco para a saúde pública. Algumas doenças têm sido relacionadas ao consumo de peixes e mariscos contaminados através da água, entre elas são destacadas a hepatite, a febre tifoide e muitas gastroenterites. A contaminação de alimentos através da água pode ocorrer durante a lavagem, na manipulação de alimentos ou bebidas, na lavagem dos utensílios ou a utilização de gelo. Segundo alguns autores, o gelo utilizado para conservação de alimentos cozinhados (por exemplo, mariscos) é caracterizado por ser uma das principais fontes de contaminação, devido à péssima qualidade da água utilizada na sua produção. Portanto, a água deve ser de boa qualidade, devido ser um elemento de extrema importância na produção de alimentos como componente de muitos produtos ou como agente de limpeza (Epralima 2018).

A atmosfera é um ambiente desfavorável para o desenvolvimento de muitos microrganismos, devido à inexistência de nutrientes e humidade. Apesar da maioria dos microrganismos não conseguirem multiplicar-se na atmosfera, e muitos acabarem por morrer, existe um número grande que possui a capacidade de sobreviver e utilizar o fluxo do ar como

meio de transporte, e como consequência a contaminação de alimentos. Esses microrganismos são oriundos das matérias em decomposição, do solo ou da vegetação. Além do mais, o Homem também pode ser um meio de transporte de microrganismos, gestos como espirrar, tossir, abanar a cabeça principalmente com os cabelos compridos e soltos, transferem para o ar muitos dos microrganismos que fazem parte da flora humana. O ar apesar de não possuir uma flora própria pode representar um importante veículo de transmissão de microrganismos para os alimentos, especialmente para os alimentos cozinhados (Adams and Motarjemi 1999).

Além do mais, os manipuladores e as pragas (roedores, insetos, etc.) podem ser veículo de contaminação dos alimentos. Os manipuladores possuem milhares de microrganismos na pele, no nariz, na boca, na garganta e no intestino. A maioria desses microrganismos quando estão em número elevado, possuem capacidade de causar doenças, tornando importante evitar o seu contato e a sua multiplicação nos alimentos. Os manipuladores são caracterizados por serem uma das principais fontes de contaminação dos alimentos (Simões et al. 2010).

Os equipamentos e utensílios utilizados na manipulação de alimentos também podem agir como fontes de contaminação (Adams and Motarjemi 1999; Epralima 2018). Ambos não possuem uma microbiota natural, sendo o resultado da higienização e limpeza. Os microrganismos possuem facilidade de fixar aos materiais e aos alimentos que entram em contato com superfícies mal higienizadas acabam acarretando um aumento da sua carga microbiana (Epralima 2018). Para evitar que ocorra a contaminação cruzada, é importante que os mesmos utensílios não sejam utilizados para manipular ou guardar alimentos diferentes como por exemplo, facas ou tábuas usadas para cortar carne crua ou aves podem ser contaminadas com patogênicos se forem utilizados novamente sem serem higienizadas corretamente. Diante disso, os microrganismos patogênicos podem ser transportados através de utensílios, equipamentos, mãos, panos, entre outros, colocando em ameaça a segurancados alimentos (Adams and Motarjemi 1999; Epralima 2018).

## **4. Tempo vida útil dos alimentos**

### **4.1. Conceito de vida útil**

É definido como vida útil o intervalo de tempo em que os alimentos permanecem próprios para consumo, respeitando as condições de armazenamento estabelecidas pelo fabricante. Isso quer dizer que o alimento deve (FSAI 2017):

◇ Permanecer seguro para consumo humano, ou seja, não ocasionar quadros de infecção e intoxicação alimentar devido ao desenvolvimento de bactérias patogénicas ou à produção de toxinas (bacterianas e fúngicas);

◇ Conservar a sua qualidade sensorial e evitar a sua deterioração;

◇ Conservar as suas características nutricionais.

O prazo de validade de um alimento começa a partir do momento em que o alimento é preparado ou embalado (Jay et al. 2005). Apesar dos operadores do setor alimentar terem a responsabilidade geral pela segurança dos alimentos, visto que ocorrem diversas condições que podem prejudicar a segurança e a qualidade dos produtos. Os elevados níveis de contaminação das matérias-primas ou falhas de temperatura durante o armazenamento e/ou transporte, causam impacto negativo na segurança do alimento durante a sua vida útil (FSAI 2017).

## 4.2. Fatores com influência na vida útil

Todas as etapas da cadeia alimentar têm influência sobre a qualidade e segurança final de um alimento e, em última análise sobre o seu processo de deterioração. Além dos elementos da cadeia alimentar, existem outros fatores que são responsáveis pela oscilação da taxa de decomposição do género alimentício, ou seja, de decomposição microbiana e decomposição não microbiana (Tabela 8) relacionada com o próprio alimento e com o processamento, embalagem e armazenamento, aos quais o alimento foi sujeito (NZFSA 2005).

**Tabela 8. Fatores com influência na degradação de um género alimentício (NZFSA 2005).**

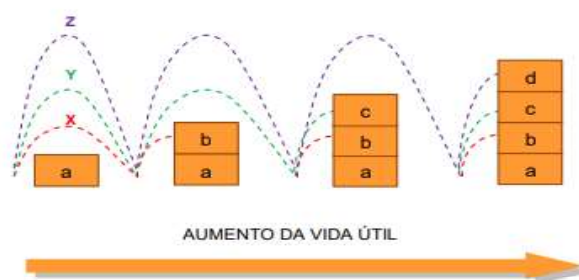
DECOMPOSIÇÃO RELATIVA AO GÉNERO ALIMENTÍCIO		
NÃO MICROBIANA	CRESCIMENTO MICROBIANO	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alterações de humidade</li> <li>• Alterações químicas</li> <li>• Alterações induzidas pela luz</li> <li>• Alterações de temperatura</li> <li>• Estragos físicos</li> <li>• Adulteração de produtos</li> <li>• Sabores ou odores resultantes do armazenamento com outros produtos</li> </ul>	<p><i>PROPRIEDADES INTRÍNECAS</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Teor microbiano inicial</li> <li>• Matérias-primas</li> <li>• Formulação e composição dos ingredientes</li> <li>• Montagem e estrutura dos alimentos</li> <li>• pH</li> <li>• <math>a_w</math></li> <li>• Potencial redox</li> <li>• Estruturas biológicas</li> <li>• Tipo de ácido presente</li> <li>• Substâncias antimicrobianas</li> <li>• Microflora natural ou adicionada</li> <li>• Disponibilidade e conteúdo nutricional</li> </ul>	<p><i>PROPRIEDADES EXTRÍNECAS</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Boas práticas de fabrico e higiene</li> <li>• Sistema de segurança sanitária</li> <li>• Processamento dos alimentos</li> <li>• Temperatura de armazenamento</li> <li>• Atmosfera de gases</li> <li>• Humidade relativa</li> <li>• Embalagem</li> <li>• Cadeia de distribuição</li> <li>• Práticas dos consumidores</li> </ul>

O primeiro passo na determinação da vida útil de um alimento é a análise dos processos de degradação. Os fatores mais importantes no controlo da taxa de decomposição e da multiplicação microbiana nos alimentos são a temperatura, a  $a_w$  e o pH (Singh and Cadwallader 2004).

#### 4.2.1. Tecnologia de barreiras

Os conhecimentos sobre os métodos de degradação de um género alimentício têm capacidade de estipular o tempo de vida de prateleira, a estabilidade microbiológica e ainda determinar a capacidade de desenvolvimento de microrganismos patogénicos esporadicamente presentes ou a formação de toxinas. A utilização de técnicas que retardam ou inibam a multiplicação microbiana são chamadas de tecnologia de barreiras (*hurdle technology*), a qual permite obter alimentos seguros e com uma vida de prateleira prolongada (Franco and Landgraf 2001). A tecnologia de barreiras consiste em técnicas de conservação, existentes ou emergentes, que agem como barreiras ou obstáculos à presença e/ou desenvolvimento de microrganismos (Henriques 2008). As tecnologias utilizadas individualmente talvez não sejam suficientes para eliminar ou reduzir um determinado perigo até a um nível aceitável, mas a junção de várias tecnologias tem a possibilidade de alcançar o objetivo (FSAI 2011).

As tecnologias de barreiras (Figura 4) podem utilizar várias técnicas de preservação como a prevenção, eliminação ou limitação da contaminação pela implementação de um sistema HACCP e de boas práticas de higiene e fabrico; inibição do crescimento microbiano por meio da diminuição de pH ou  $a_w$ ; inativação de microrganismos através de processamentos térmicos (FSAI 2011).



Legenda: (a) tratamento térmico; (b) redução da  $a_w$ ; (c) redução do pH; (d) adição de conservantes; (X, Y, Z) bactérias com capacidade de multiplicação no género alimentício.

**Figura 4. Representação esquemática da aplicação de tecnologia de barreiras num género alimentício, em que cada fator (a-d) contribui para a diminuição da capacidade de multiplicação bacteriana (---) até ao bloqueio total (adaptado de Ray 2004).**

De acordo com Baptista e Antunes (2005), as principais técnicas de conservação para prevenir ou retardar a deterioração dos alimentos, são a redução de temperatura, a diminuição do pH, a redução da atividade de água e a utilização de calor, devido a estes fatores serem oportunos ao desenvolvimento dos microrganismos, especialmente dos patogênicos. Na tabela 9 estão exemplificados estes fatores.

**Tabela 9- Principais técnicas de conservação alimentar (Gould 1996).**

Objetivo	Fator de conservação	Método de aplicação
<b>Redução ou inibição da multiplicação microbiana</b>	Baixa temperatura	Refrigeração e Congelação
	Baixa atividade de água	Secagem, Cura
	Teor baixo em oxigênio	Embalagem em azoto ou em vácuo
	Teor elevado de dióxido de carbono	Embalagem em atmosfera protetora
	Acidificação	Adição de ácidos; fermentação
	Fermentação alcoólica	Vinificação, fermentação a cerveja
	Uso de conservantes	Adição de conservantes: inorgânicos (sulfitos, nitritos) Orgânicos (propionatos, sorbatos, benzoatos) Antibióticos (nisina, natamicina)
<b>Inativação microbiana</b>	Alta temperatura - Irradiação	Pasteurização e esterização Irradiação ionizante
	Pressurização	Aplicação de alta pressão hidrostática
	Electroporação	Descarga elétrica de alta voltagem
	Manotermossonicação	Aquecimento com ultrasonicação a pressão elevada
	Lise celular	Adição de enzimas bacteriolíticas (lisozina)
<b>Restrição do acesso microbiano</b>		Processamento e/ ou embalagem asséptica

São chamados de obstáculos ou barreiras, os fatores utilizados para a conservação dos alimentos, podendo ser de origem física, físico-química, microbiana ou mista (Henriques 2008). Na tabela 10, são apresentadas as tecnologias de barreiras usadas, presentemente, com uma grande tendência para aplicar estas técnicas de conservação em novas combinações, de forma a minimizar a extrema utilização de qualquer uma delas e assim melhorar a qualidade dos produtos alimentares e possibilitar uma vida útil mais prolongada, e a produção de alimentos seguros, estáveis, nutritivos, saborosos e económicos (Gould 1996; Batista 2013).

**Tabela 10 – Tecnologias de barreiras que podem ser utilizadas na conservação dos alimentos (adaptado de Batista 2013).**

<b>Barreiras Físicas</b>	Altas temperaturas (esterilização, apertização, pasteurização e branqueamento), baixas temperaturas (refrigeração e congelação), radiação (UV e ionizante), energia eletromagnética (micro-ondas, radiofrequência, impulsos elétricos de alta intensidade, campos magnéticos oscilantes), inativação fotodinâmica, pressão elevada, eletroporação, ultrasonicação, manotermosonicação, embalagem em vácuo.
<b>Barreiras Físico - Químicas</b>	Baixo aw, baixo pH, baixo potencial redox, teor em cloreto de sódio, nitrito, nitrato, dióxido de carbono, oxigênio, azoto, presença de ácidos orgânicos, ácido láctico, lactato, ácido acético, acetato, ácido ascórbico, sulfito, fosfatos, fenóis, quelantes, agentes de tratamento da superfície, etanol, produtos da reação de Maillard, especiarias, ervas aromáticas, lactoperoxidase e lisozima
<b>Barreiras Microbianas</b>	Microfora competitiva, culturas de iniciação.

As técnicas de conservação tais como a secagem, a cura, o arrefecimento rápido, a congelação, a acidificação, a embalagem protetora, a fermentação e a adição de conservantes são utilizadas a fim de impedir ou inibir o crescimento. A inativação dos microrganismos é feita ainda por algumas técnicas, como a pasteurização, a apertização e a irradiação. O restringimento do acesso dos microrganismos aos alimentos é feito por técnicas, como o processamento e a embalagem asséptica (Rybka-Rodgers 2001).

Nos dias de hoje o cuidado com o consumo de alimentos muito processados, acaba refletindo o aparecimento de tendências ao consumo de produtos mais naturais, de alta qualidade, com menos conservantes e aditivos e mais saudáveis em relação ao valor nutritivo. Dessa maneira, torna-se importante o desenvolvimento de técnicas de conservação dos alimentos, de modo a garantir o mínimo de danos na qualidade do alimento, possibilitando uma vida útil mais prolongada (Gould 1996; Rybka-Rodgers 2001).

O armazenamento/conservação de alimentos é um dos pontos mais importantes a considerar para garantir a segurança dos mesmos, o método ou processo utilizado vai depender em grande parte da natureza e características do alimento. Independentemente do armazenamento/conservação ser à temperatura ambiente ou a uma temperatura regulada, ou até mesmo por acondicionamento em atmosfera modificada e/ou controlada, deve-se ter especial atenção para que esses fatores sejam adequados para cada alimento (Batista and Antunes 2005). A tecnologia de barreiras permite combinar uma série de técnicas de conservação suaves de modo a alcançar um maior nível de segurança e estabilidade dos produtos (Henriques 2008).

Segundo Gould (1996), grande parte das técnicas de conservação alimentar agem especialmente suavizando ou em alguns casos, inibindo totalmente o desenvolvimento microbiano. As novas técnicas mais naturais são elas, a embalagem em atmosfera modificada, o uso de culturas protetoras e de algumas enzimas. Algumas das técnicas mais utilizadas que atuam essencialmente pela inativação do microrganismo alvo, são aquelas onde se utilizam o calor. Entretanto, é importante notar que a maioria das técnicas mais emergentes são por métodos de barreiras físicas, inativação direta, utilizando por exemplo, aplicação de alta pressão hidrostática, irradiação, descarga elétrica de alta tensão (electroporação), adição de enzimas bacteriolíticas (lisozimas), ultrasonicação combinada com o aumento da temperatura e pressão levemente elevada, como citado na tabela 9.

### **4.3 Estudo de vida útil**

O desenvolvimento de novos produtos e os estudos de *shelf-life* fazem parte da produção de alimentos. Para haver um produto com prazo de validade extenso, requer um nível alto de técnicas complexas em relação a segurança dos alimentos, a qualidade, ao valor nutricional e a engenharia de processos.

A identificação de microrganismos patogénicos, são incluídos na determinação de uma validade segura, a qual está relacionada com as matérias-primas e ao local de produção. A determinação deve ser realizada sobre condições de armazenamento, distribuição e uso. As falhas nas condições normais, como abusos de altas temperaturas durante o armazenamento e/ou transporte ou níveis elevados de contaminação das matérias-primas terão um efeito negativo na segurança sanitária do alimento durante a sua vida de prateleira (FSAI 2011).

### **4.4. Índices de avaliação na determinação da vida útil**

Normalmente a avaliação do fim da vida útil é baseado em determinações microbiológicas. Em algumas situações, a determinação baseia-se na taxa de degradação sensorial ou físico-química (NZFSA 2005). Deve ser avaliada a decomposição de um alimento com base em índices apropriados que expressam diretamente ou não o nível de qualidade e segurança sanitária (Singh and Cadwallader 2004). Na Tabela 11 estão apresentados alguns parâmetros de medição da segurança sanitária e qualidade dos alimentos.

**Tabela 11. Parâmetros de medição da segurança sanitária e qualidade dos alimentos (Kilcast and Subramaniam 2000).**

PARÂMETROS	SEGURANÇA SANITÁRIA				QUALIDADE			
	M	Q	F	N	Aparência	Textura	Aroma	Sabor
Cor					X			
Temperatura	X	X	X					
Tempo - Temperatura	X	X	X	X	X	X	X	X
Densidade			X		X	X		
Viscosidade			X		X	X		
Textura						X		
$a_w$	X	X	X	X	X	X		X
pH	X	X					X	X
Acidez				X			X	X
Humidade	X		X		X	X		
Na, K, Ca				X				X
Lípidos, proteínas, cinzas hidratos de carbono				X	X	X	X	X

Legenda: (Ca) cálcio; (F) aspetos físicos; (K) potássio; (M) aspetos microbiológicos; (N) aspetos nutricionais; (Na) sódio; (Q) aspetos químicos;

#### 4.4.1. Determinações microbiológicas

Existem dois fatores a ser considerados na determinação da estabilidade microbiológica de um género alimentício: o desenvolvimento microbiano responsável pela decomposição/deterioração e o desenvolvimento de microrganismos patogénicos que prejudicam a sua segurança. Durante o armazenamento, a multiplicação de um microrganismo específico decorre por vários aspetos, sendo eles os mais essenciais, o teor microbiano inicial, as propriedades físico-químicas, o método de processamento e o ambiente externo do alimento (Kilcast and Subramaniam 2000).

A análise microbiológica permite ao longo do tempo, estipular as alterações no número e na espécie de microrganismos de decomposição, além do mais, possui a capacidade de detetar microrganismos patogénicos (NZFSA 2005). São realizadas avaliações da carga microbiana e a deteção da presença de microrganismos patogénicos por meio de métodos rápidos, criados para obter resultados num curto prazo de tempo, ou através dos métodos convencionais, os quais necessitam de homogeneização da amostra a ser analisada, em seguida a inoculação em meios específicos de enriquecimento, que ativam o crescimento do microrganismo ou do grupo de microrganismos que possui a intenção de detetar (Forsythe 2000).

O período de vida útil é determinado com o alimento armazenado em condições normais de utilização, por meio da aferição da carga microbiana em intervalos de tempo pré-estabelecidos, até atingir os valores estipulados como limite (Kilcast and Subramaniam 2000).

Normalmente esses limites têm como base os critérios microbiológicos estabelecidos por leis e regulamentos de cumprimento obrigatório ou por valores-guia, elaborados por autoridades ou agências alimentares reconhecidas (Forsythe 2000). A aceitabilidade de um alimento, ou de um lote, baseado na ausência ou na presença de microrganismos, ou na quantidade das suas toxinas/metabolitos por unidade de massa, volume, área ou lote é definido pelo critério microbiológico (Regulamento n.º 2073/2005).

É permitido utilizar como parâmetros microrganismos indicadores de contaminação para a determinação da qualidade microbiológica dos alimentos. A expressão microrganismo indicador pode ser empregue a qualquer conjunto fisiológico, taxonómico ou ecológico de microrganismos, no que a presença ou ausência possibilita evidência indireta relacionada a uma particularidade da amostra (Schuh et al. 2015).

São definidos como microrganismos indicadores, espécies ou grupos de microrganismos que são capazes de proporcionar informações referente a contaminação de origem fecal, a possível presença de microrganismos patogénicos e a deterioração potencial do alimento, podendo ainda indicar falhas nas condições sanitárias durante o processamento, produção e armazenamento. Podem ser aplicados para retratar a qualidade microbiológica dos alimentos relacionada à vida útil ou à segurança para o consumidor, ou à presença de agentes patogénicos alimentares (Ferreira et al. 2014).

#### **4.4.2. Determinações físico-químicas**

A alteração física e química dos alimentos tem como consequência a redução da vida útil dos mesmos. O escurecimento não enzimático, reações enzimáticas e de oxidação, especialmente a oxidação lipídica, são as principais alterações químicas nos alimentos. A manipulação correta dos alimentos, a utilização de embalagens adequadas e do controlo rigoroso das temperaturas de armazenamento são importantes no que diz respeito a prevenção das alterações físicas (Singh and Cadwallader 2004). São exemplos de análises físico-químicas laboratoriais essenciais na determinação da validade de produtos alimentares, os testes instrumentais de aferição da  $a_w$ , do pH, da cor, da textura e a determinação do azoto básico volátil total (NZFSA 2005).

## **5. OBJETIVOS PROPOSTOS**

O objetivo do presente trabalho consiste em avaliar a qualidade microbiológica e físico-química de dois alimentos vendidos avulso comercializados pela Auchan Retail,

nomeadamente na massa laço e na mistura de 3 pimentas (pimenta preta, pimenta rosa e pimenta vermelha). Mais especificamente pretende-se avaliar como parâmetros microbiológicos a contagem de bolores e leveduras; contagem de *Escherichia coli*; contagem de *Staphylococcus aureus* e pesquisa de *Salmonella* spp. em 25 g. De entre os parâmetros físico-químicos pretende-se determinar a atividade da água ( $a_w$ ), do pH e os parâmetros da cor.

## 6. MATERIAIS E MÉTODOS

### 6.1. Amostras em estudo

Foram analisadas amostras de 2 alimentos com 2 lotes diferentes cada um, aos 0, 30 e 60 dias. Sendo elas a massa laço e uma mistura de 3 pimentas em grãos (pimenta preta, pimenta rosa e pimenta vermelha). Estes alimentos foram adquiridos no hipermercado Auchan Paços d'Arcos. Todas as amostras recolhidas no comércio encontravam-se dentro do prazo de validade estipulada nas embalagens (Tabela 12). Ambos os produtos se encontravam em embalagens fechadas, posteriormente abertas e colocadas em dispensadores, sendo expostos em local separado para não ocorrer aduteração ao longo dos estudos das análises. A cada estudo, as amostras foram coletadas dos dispensadores com utensílios e colocados em sacos apropriados, em seguida sendo transportadas para o laboratório de Tecnologia da Faculdade Medicina Veterinária, onde foram realizadas as análises.

**Tabela 12: Produtos analisados (informação disponível no rótulo).**

Identificação da amostra	Produto	Lote	Validade
M1	Massa laço	1252302	28/12/2026
M2	Massa laço	1444302	28/11/2026
P1	Mistura de 3 pimentas	110324	12/2025
P2	Mistura de 3 pimentas	180324	12/2025

### 6.2. Análises microbiológicas

#### 6.2.1. Preparação das amostras

O plano de amostragem foi baseado no Regulamento (CE) N 2073/2005, o qual descreve que se deve analisar no mínimo 5 amostras de cada produto. A preparação das

amostras foi realizada, através da Norma ISO 6887-2:2003. De cada amostra foram retiradas, assepticamente, 5 porções de 25 g, colocadas separadamente em sacos esterilizados de *Stomacher* e adicionado 225 mL de APT (água peptonada tamponada, Scharlau, Espanha) em cada saco. Em seguida procedeu-se à homogeneização no homogeneizador *Stomacher BagMixer*, durante 2 minutos com a finalidade de obter a suspensão inicial (diluição  $10^{-1}$ ).

### **6.2.2. Contagem de Bolores e Leveduras**

A partir da diluição decimal  $10^{-1}$ , foram semeados 0,2 mL de inóculo por espalhamento com ajuda de um semeador em 5 placas de petri com meio de Rose Bengal (Scharlau, Espanha) totalizando 1 mL de inóculo. As placas foram incubadas a 25°C durante 120 horas e os resultados expressos em UFC/g (NP 3277-1, 1987).

### **6.2.3. Contagem de *Staphylococcus coagulase positiva***

Foi semeado 1 mL da diluição  $10^{-1}$  em placa de petri, seguido da incorporação com o meio *agar Baird Parker* (Scharlau, Espanha) adicionado de gema de ovo. As placas foram incubadas a 37°C, por 24 horas. Após o período de incubação, procedeu-se à contagem das colónias suspeitas: pretas com halo em volta. A confirmação é feita em plasma de coelho. Os resultados foram expressos em UFC/g (Norma ISO 688-2:1999).

### **6.2.4. Contagem de *Escherichia coli***

Foi semeado 1 mL da diluição  $10^{-1}$  em placa de petri, sendo em seguida incorporado o meio de cultura Tergitol (Scharlau, Espanha). As placas foram incubadas a 44°C durante 24 horas. Os resultados foram expressos em UFC/g (NP 4396:2002).

### **6.2.5. Pesquisa de *Salmonella* spp.**

Foram incubados em estufa a 37°C, por 24 horas os sacos de *Stomacher* com a suspensão-inicial. Após a incubação, foram retirados 1 mL do inóculo para um tubo de ensaio contendo 10 mL de MKTT (caldo Muller Kauffmann tetracionato novobiocina, Scharlau, Espanha) e incubou-se a 37°C durante 24 horas. Noutro tubo de ensaio contendo 10 mL de caldo RVS (Rappaport Vassiliadis com soja, Scharlau, Espanha) adicionou-se 0,1 mL do inóculo e incubou-se a 42°C por 24 horas. Após incubação dos meios de enriquecimento líquidos seletivos repicou-se para isolamento através de sementeira por estria em placas de Hektoen enteric agar, (Scharlau, Espanha) e de XLD (Xylose Lysine Desoxycholate - Scharlau, Espanha). Em cada um dos meios sólidos seletivos colocou-se o inóculo proveniente do RVS e na outra placa o inóculo proveniente do MKTT. As placas foram incubadas a 37°C durante

24 horas (Norma ISO 6579:2002). Em caso de colónias suspeitas após a incubação (Meio XLD – colónias vermelhas, transparentes e com halo negro, Meio Hektoen – colónias verdes com ou sem centro negro).

### **6.3. Análises físico-químicas**

No início de cada ciclo de análises procedeu-se à homogeneização de cada amostra com o auxílio de uma picadora elétrica (Eletric Co, 320, Portugal). Posteriormente cada amostra homogeneizada, foi colocada em caixas de alumínio, devidamente identificadas.

Foi determinada a atividade de água ( $a_w$ ), pH, cor, humidade relativa e temperatura nos produtos analisados. As análises do  $a_w$ , pH e cor, foram realizadas no laboratório de química do Laboratório de Tecnologia da Faculdade de Medicina Veterinária. As aferições da humidade relativa e temperatura foram realizadas na sede da Auchan.

#### **6.3.1. Determinação de $a_w$**

A determinação da atividade da água ( $a_w$ ) foi realizada no Higrómetro (Rotronic HygroPalm 23, Suíça). Foi colocada uma amostra de cada produto em placas poliestireno que se introduziu na estação de medida WA14TH. A estabilização da temperatura foi realizada com um banho termostaticado (GRANT, ECOCOOL 100R, Reino Unido). Para cada amostra foi realizada uma leitura.

#### **6.3.2. Medição do pH**

A determinação do pH foi feita de acordo com NP 3441 (1990), após homogeneização da amostra. Para a medição do pH foi utilizado um potenciómetro portátil digital (HANNA, HI99163, EUA), previamente calibrado com soluções-tampão de pH conhecido, pH=4,00 e pH=7,00, após cada leitura, o elétrodo foi lavado com água destilada e colocado numa solução de armazenamento. A medição do pH das amostras, foi realizado por introdução direta do elétrodo de pH de penetração e combinado com um sensor.

#### **6.3.3. Determinação da cor**

A cor das amostras foi determinada, utilizando um colorímetro (Konica Minolta, CR-400, Japão), iluminante D65, baseando-se no espaço de cor definido pelo método da Comissão Internacional de l'Eclairage (CIELab system), avaliando os parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ . Antes das amostras serem analisadas o aparelho foi calibrado. As determinações foram realizadas, em triplicado, para cada amostra. O parâmetro  $L^*$ , mede a luminosidade entre o preto (0) e o branco (100) corresponde ao claro e ao escuro, e as coordenadas da

cromaticidade  $a^*$ , define a cor verde para valores negativos e a cor vermelha para valores positivos, e  $b^*$ , define a cor amarela para valores positivos e a cor azul para valores negativos (Carrilha and Guiné, 2010).

### 6.3.4. Medição da humidade relativa e temperatura

Para a medição da humidade relativa e da temperatura, foi utilizado um data logger (EL-USB-2), o qual monitorizou e registou em tempo real, durante todo o período de análise laboratorial dos produtos, que teve início no dia 2 de abril e fim no dia 3 de junho. Os dados dos registos foram armazenados no Software EasyLog USB e representados em gráficos.

### 6.3.5. Análise estatística

A análise estatística foi efetuada utilizando o programa SAS 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, 21 NC, USA) através do modelo GLM do SAS. Para a determinação de diferenças significativas efetuou-se um teste de comparação múltipla de Tukey. Consideram-se diferenças significativas quando  $P < 0,05$ .

## 7. Resultados

Nos pontos a seguir irão ser apresentados os resultados obtidos nas análises microbiológicas e físico-químicas efetuadas neste estudo.

### 7.1. Análises microbiológicas

Nas tabelas 13 e 14, apresentam-se os resultados das determinações microbiológicas para contagem de bolores e leveduras.

**Tabela 13 - Resultados das análises microbiológicas (UFC/g) nas massas para contagens de bolores e leveduras.**

	<b>MASSA</b>						
	<b>Tempo 0</b>	<b>Bolores</b>			<b>Leveduras</b>		
		<b>Tempo 30</b>	<b>Tempo 60</b>	<b>Tempo 0</b>	<b>Tempo 30</b>	<b>Tempo 60</b>	
<b>LOTE I</b>	$2 \times 10^1$	$3 \times 10^1$	$3 \times 10^1$	$<10^*$	$<10$	$<10$	
<b>LOTE II</b>	$10 \times 10^1$	$1 \times 10^1$	$2 \times 10^1$	$<10$	$<10$	$<10$	

\*Limite de quantificação

**Tabela 14 - Resultados das análises microbiológicas (UFC/g) em pimentas para contagens de bolores e leveduras.**

<b>PIMENTA</b>						
	<b>Bolores</b>			<b>Leveduras</b>		
	<b>Tempo 0</b>	<b>Tempo 30</b>	<b>Tempo 60</b>	<b>Tempo 0</b>	<b>Tempo 30</b>	<b>Tempo 60</b>
<b>LOTE I</b>	6 x 10 <sup>1</sup>	8 x 10 <sup>1</sup>	9 x 10 <sup>1</sup>	58 x 10 <sup>1</sup>	<10	10 x 10 <sup>1</sup>
<b>LOTE II</b>	22 x 10 <sup>1</sup>	5 x 10 <sup>1</sup>	58 x 10 <sup>1</sup>	<10	<10	<10

\*Limite de quantificação

Os resultados obtidos nas análises feitas para a pesquisa de *Salmonella* spp. e *Escherichia coli*. e a contagem de *Staphylococcus*, estão apresentados nas tabelas 15, 16.

**Tabela 15 - Resultados das análises microbiológicas (UFC/g) na massa.**

<b>MASSAS</b>									
<b>Lote</b>	<b><i>Salmonella</i></b>			<b><i>Staphylococcus</i></b>			<b><i>E. coli</i> (UFC/g)</b>		
	<b>t0</b>	<b>t30</b>	<b>t60</b>	<b>t0</b>	<b>t30</b>	<b>t60</b>	<b>t0</b>	<b>t30</b>	<b>t60</b>
<b>I</b>	Ausência em 25 g	Ausência em 25 g	Ausência em 25 g	<10	<10	<10	<10	<10	<10
<b>II</b>	Ausência em 25 g	Ausência em 25 g	Ausência em 25 g	<10	<10	<10	<10	<10	<10

t, tempo (0, 30 e 60 dias); \* limite de quantificação

**Tabela 16 - Resultados das análises microbiológicas (UFC/g) na pimenta.**

<b>PIMENTA</b>									
<b>Lote</b>	<b><i>Salmonella</i></b>			<b><i>Staphylococcus</i></b>			<b><i>E. coli</i> (UFC/g)</b>		
	<b>t0</b>	<b>t30</b>	<b>t60</b>	<b>t0</b>	<b>t30</b>	<b>t60</b>	<b>t0</b>	<b>t30</b>	<b>t60</b>
<b>I</b>	Ausência em 25 g	Ausência em 25 g	Ausência em 25 g	<10*	<10	<10	<10	<10	<10
<b>II</b>	Ausência em 25 g	Ausência em 25 g	Ausência em 25 g	<10	<10	<10	<10	<10	<10

t, tempo (0, 30 e 60 dias); \* limite de quantificação

## 7.2. Análises físico-químicas

Os resultados relativos aos parâmetros físico-químicos são expressos como valores médios e respectivo erro padrão da média (EPM).

De acordo com a Tabela 17, observaram-se diferenças na  $a_w$ , no parâmetro  $L^*$  e na coordenada de cromaticidade  $a^*$  da massa ao longo do tempo. No que diz respeito ao

parâmetro  $a_w$ , foi verificado efeito significativo ( $P=0,0371$ ) dos 0 para os 30 e 60 dias. Relativamente ao parâmetro pH não existiram diferenças significativas ( $P=0,5156$ ) na massa. Em relação aos parâmetros da cor,  $L^*$  e coordenada de cromaticidade  $a^*$ , observaram-se diferenças significativas ( $P<0,0001$ ), verificando-se que os valores de  $L^*$  aumentaram significativamente ao longo dos 60 dias e a coordenada  $a^*$  diminuiu significativamente dos 0 para os 30 e 60 dias. Relativamente à coordenada  $b^*$ , não se observaram diferenças significativas ao longo do tempo de armazenamento para a massa ( $P=0,1846$ ).

**Tabela 17 - Valores médios do pH,  $a_w$  e dos parâmetros da cor na massa ao longo do tempo.**

	t0	t30	t60	EPM	<i>P</i>
$a_w$	0,618 <sup>a</sup>	0,547 <sup>b</sup>	0,554 <sup>b</sup>	0,008	0,0371
pH	5,76	5,65	6,25	0,331	0,5156
$L^*$	78,00 <sup>a</sup>	82,16 <sup>b</sup>	82,69 <sup>c</sup>	0,127	<0,0001
$a^*$	0,43 <sup>a</sup>	-0,06 <sup>b</sup>	-0,13 <sup>b</sup>	0,019	<0,0001
$b^*$	36,07	34,61	36,29	0,660	0,1846

t, tempo (0,30 e 60 dias); EPM, erro padrão da média; <sup>abc</sup>Letras diferentes indicam diferenças estatísticas ( $P<0,05$ )

A média dos resultados obtidos para o pH,  $a_w$  e para os parâmetros da cor para a pimenta estão apresentados na Tabela 18.

**Tabela 18 - Valores médios do pH,  $a_w$  e dos parâmetros da cor na pimenta ao longo do tempo.**

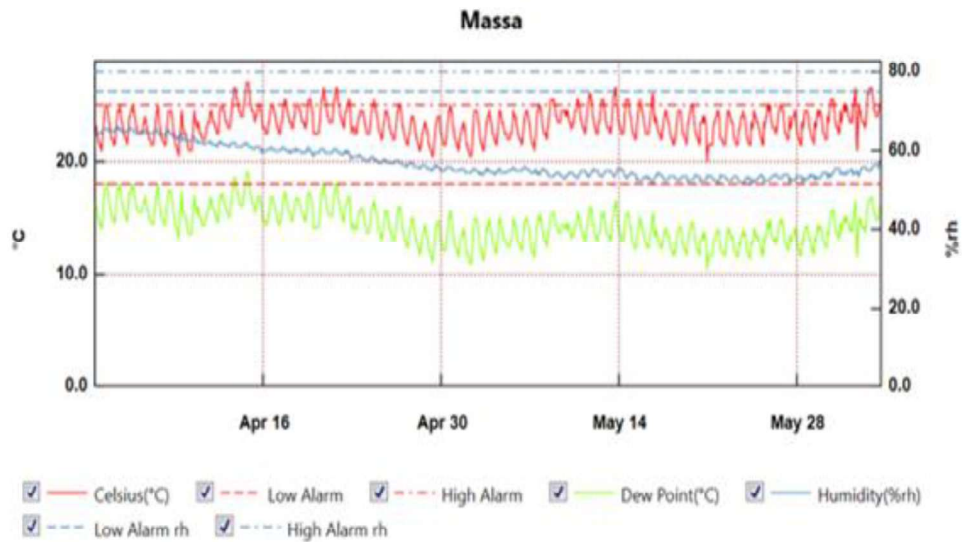
	t0	t30	t60	EPM	<i>P</i>
$a_w$	0,586	0,490	0,539	0,022	0,1770
pH	5,43 <sup>a</sup>	5,52 <sup>b</sup>	5,41 <sup>a</sup>	0,011	0,001
$L^*$	37,56 <sup>a</sup>	40,71 <sup>b</sup>	39,74 <sup>b</sup>	0,397	0,0004
$a^*$	7,79 <sup>a</sup>	6,19 <sup>b</sup>	5,45 <sup>c</sup>	0,199	<0,0001
$b^*$	15,69 <sup>a</sup>	18,66 <sup>b</sup>	17,98 <sup>b</sup>	0,204	<0,0001

t, tempo (0,30 e 60 dias); EPM, erro padrão da média; <sup>abc</sup>Letras diferentes indicam diferenças estatísticas ( $P<0$ )

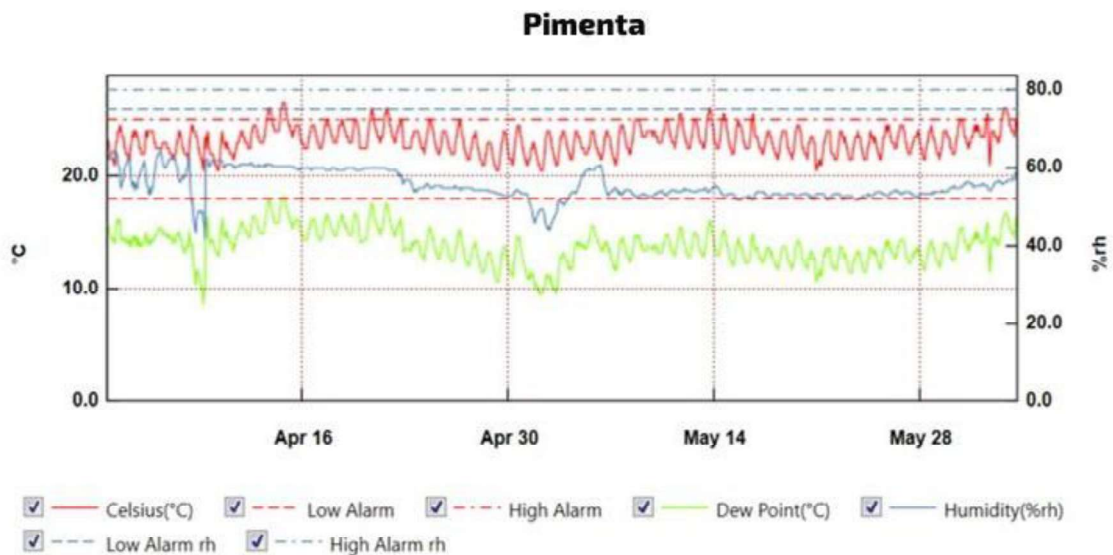
De acordo com os dados obtidos pela estatística da pimenta, não houve efeito do tempo para a  $a_w$  na pimenta ( $P>0,05$ ). Relativamente ao pH, observaram diferenças estatísticas do pH dos 0 para os 30 dias ( $P=0,001$ ), sendo o valor de pH significativamente maior aos 30 dias. Observando os valores obtidos para a cor observaram-se diferenças significativas para o parâmetro  $L^*$  ao longo do tempo ( $P=0,0004$ ). Relativamente às coordenadas de cromaticidade  $a^*$  e  $b^*$ , o valor de  $a^*$  foi significativamente menor aos 60 dias

( $P < 0,0001$ ) enquanto a coordenada  $b^*$  diminuiu significativamente dos 0 para os 30 e 60 dias ( $P < 0,0001$ ).

Foram registados durante o período de teste, os valores de temperatura ( $T/^{\circ}\text{C}$ ) e humidade relativa (HR/%) dos produtos em exposição do I lote, ambos apresentados nos gráficos 1, 2.



**Gráfico 1 – Valores de temperatura e humidade relativa da massa nas condições de exposição entre 2 de abril e 3 junho.**



**Gráfico 2 – Valores de temperatura e humidade relativa da pimenta nas condições de exposição entre 2 de abril e 3 junho.**

## 8. DISCUSSÃO

Vários fatores podem influenciar negativamente a qualidade microbiológica de alimentos a granel, principalmente em razão desses produtos estarem vulneráveis a um risco de contaminação por diversos tipos de fungos devido a sua exposição ao meio externo consequente da falta de embalagem e a manipulação, tornando-os mais propícios a tais riscos (Iha and Trucksess 2019).

A presença ou ausência de microrganismos nas análises microbiológicas, permitem levantar dados sobre indicativos de contaminação de origem fecal, além de identificar a presença de patógenos ou deteriorantes. Essas análises também são capazes de avaliar as condições sanitárias durante a produção ou armazenamento (Ferreira et al. 2014).

As especiarias geralmente contêm, grande número de bactérias e bolores, que conseguem sobreviver a longos períodos, em alimentos secos, devido as condições de manipulação após colheita facilitam uma contaminação extensiva e a proliferação microbiana. Porém, estas características poderão ser reduzidas pela secagem, processo que diminuí a população microbiana (ICMSF, 1986).

### 8.1. Análises microbiológicas

#### 8.1.1. Contagem de Bolores e Leveduras

Das amostras analisadas, apenas a pimenta do I lote apresentou leveduras entre a sua população fúngica, sendo os bolores os principais responsáveis pelas contagens de fungos.

De acordo com Belin (1990), o desenvolvimento das leveduras é reduzido quando a atividade da água ( $a_w$ ) é baixa, tendo em vista que a desidratação consegue proteger o gênero alimentício deste tipo de microrganismos. Em contrapartida, embora que a humidade possuir grande influência sobre o desenvolvimento dos bolores e a germinação dos seus esporos, há alguns grupos xerófilos, como *Aspergillus*, que conseguem desenvolver com baixa disponibilidade de água, consequentemente podendo contaminar alimentos secos. Além do mais, estes microrganismos conseguem se espalhar facilmente sobreviver em condições pouco favoráveis, tornando a maioria dos suscetíveis a alterações por bolores (Moreau 1990). Nesse contexto os bolores requerem valores de  $a_w$  mais baixos do que as leveduras e as bactérias (Mescle and Zucca 1990).

Neste estudo não foi realizada a identificação das espécies dos fungos contaminantes. porém, Germano et al. (2001), relatam que os fungos mais comuns são os dos gêneros *Mucor*, *Aspergillus*, *Penicillium* e *Rhizopus*, destacam-se na pimenta-preta o *Aspergillus flavus*. Referencia na qual foi confirmada por Delcourt et al. (1994) que ao analisarem amostras de pimenta-do-reino preta e branca encontraram principalmente *Aspergillus fumigatus*.

Os fungos são caracterizados por modificarem os alimentos, pois produzem enzimas que hidrolisam lípidos, proteínas e hidratos de carbono, tendo como consequência aparecimento de produtos dessa degradação, que promovem modificações na coloração, perda de sabor, aparência desagradável, e também produção de metabólitos tóxicos, conhecidos como micotoxinas, tornando-os impróprios para o consumo (Franco and Landgraf 2002). A presença de bolores e leveduras em grandes quantidades, podem indicar deficientes condições higiênicas de equipamentos, falhas no processamento e/ou armazenamento, além de matéria-prima excessivamente contaminada (Lima 2005; Franco and Landgraf 2002).

De acordo com o capítulo 56 “Microbiologie” do Schweizerisches Lebensmittelbuch que estabelece os limites microbiológicos para massas alimentícias, que por sua vez devem obedecer aos valores padrão para bolores e leveduras < 500 UFC/g. Já para as especiarias e condimentos, o limite para contaminação por bolores e leveduras é de  $2 \times 10^3$  UFC/g, de acordo com os Padrões Bacteriológicos de Alimentos Portugueses para condimentos desidratados, propostos por Ribeiro (1974). As amostras analisadas neste estudo, apresentam contagens de fungos inferiores aos limites estabelecidos, no que condiz uma grande variabilidade da qualidade microbiológica em função da marca comercial analisada.

Os resultados obtidos no presente estudo foram semelhantes aos estudos de Oliveira et al. (2017), no qual todas as amostras recolhidas no comércio a granel também apresentaram contaminação fúngica em especiarias vendidas em feiras livres em Cuiabá, no Mato Grosso.

Estudos de Kemper et al. (2020), também apresentaram valores semelhantes, no qual os investigadores recolheram 12 amostras em dois pontos de comércio em Videira, Santa Catarina. Destas amostras recolhidas, 9 acusaram contaminação por fungos.

### **8.1.2. Pesquisa de *Salmonella* spp.**

Em relação à pesquisa de *Salmonella* spp., esta bactéria não foi detetada em 25 g de nenhuma das amostras em estudo. Todas as amostras analisadas foram consideradas conformes, de acordo com os critérios de segurança dos gêneros alimentícios estabelecidos Regulamento (CE) nº 2073/2005. A sua ausência pode ser explicada pelos baixos valores de

pH da massa e da pimenta, visto que o pH ótimo para o desenvolvimento da *Salmonella* spp. é 7.0. É importante ressaltar que a cocção é capaz de eliminar essa bactéria pela ação do calor.

### **8.1.3. Pesquisa *Escherichia coli***

Os resultados das análises para a *Escherichia coli* (*E. coli*) foram considerados “satisfatório” para ambos os géneros alimentícios, o que está de acordo com os critérios microbiológicos propostos por Ribeiro (1974). O valor baixo de contagens pode ser explicado devida à sensibilidade desta bactéria à secagem (Julseth et al. 1974). Além do mais, é uma bactéria pouco resistente em determinados tipos de alimentos, como os desidratados (Catsaras 1991). Os critérios microbiológicos que envolvem a *E. coli* são úteis quando se tem a intenção de averiguar se houve contaminação fecal. Uma vez que este microrganismo vive pouco tempo fora do ambiente entérico, a sua presença nos alimentos indica contaminação recente (Ferreira et al. 2014).

### **8.1.4. Contagem de *Staphylococcus coagulase-positiva***

Nenhuma das amostras analisadas apresentou desenvolvimento de colónias típicas de *Staphylococcus coagulase-positivos*. Este resultado é semelhante aos estudos realizados pela ICMSF (1985), que estimaram a baixa prevalência destas bactérias em especiarias desidratadas. Os estudos realizados por Natalia (2020) também apresentaram valores semelhantes de *Staphylococcus* em massas alimentícias.

## **8.2. Análises físico químicas**

### **8.2.1. Atividade de água**

A atividade da água ( $a_w$ ) é conhecida como um dos parâmetros mais importante para o desenvolvimento de fungos em alimentos e para a produção de micotoxinas. Grande parte dos fungos desenvolve-se em alimentos com valores de  $a_w$  superiores a 0,70 (a esta  $a_w$  corresponde uma humidade no alimento de cerca de 13%). Diante dos valores de  $a_w$  abaixo de 0,60, os fungos não conseguem se desenvolver, porém, mantêm a sua viabilidade e metabolismo normal assim que a atividade da água aumente (Baptista and Linhares 2005). As massas alimentícias são alimentos de baixa  $a_w$  (< 0,60) pelo que são microbiologicamente estáveis. Verificou-se nas análises realizadas à massa, que em geral as amostras encontram-se dentro do teor referido anteriormente.

### **8.2.2. pH**

O pH é outro parâmetro importante porque afeta a cor, o sabor, a solubilidade, a e conservação dos alimentos. Valores baixos de pH nos produtos alimentares contribuem para o desenvolvimento de leveduras e bolores. Podendo desenvolver-se numa extensa faixa de valores de pH (entre 2,5 a 9,5) com valores ótimos mais próximos da acidez. O pH ótimo de multiplicação das leveduras varia entre 4,5 e 6,0 e dos bolores entre 3,5 e 4,0. (Santos et al. 1998). De acordo com as análises, o pH das amostras da massa e da pimenta encontram-se na faixa pouco ácida.

### **8.2.3. Cor**

A deterioração da cor dos alimentos geralmente ocorre devido ao escurecimento enzimático, oxidação do ácido ascórbico e de carotenoides (Pallet 2012). A exposição ao calor é um dos fatores que podem afetar negativamente sobre a cor, levando a perdas de compostos. Além do mais, a perda da coloração também pode ser provocada pela embalagem, no qual pode ocorrer permeabilidade ao oxigênio ocorrendo reações de oxidação por oxigênio (Silva et al. 2019).

### **8.2.4. Temperatura**

A temperatura ótima para o crescimento dos fungos varia entre os 25 a 30 °C, para a temperatura mínima, e os 40 a 45°C, para a temperatura máxima- (Baptista and Linhares 2005). Na medição de temperatura das amostras, a massa teve uma variação com temperatura mínima de 21°C e máxima de 26°C. Enquanto a pimenta apresentou temperatura mínima de 20,5°C e máxima de 26,5°C.

### **8.2.5. Humidade**

A humidade relativa é um parâmetro fundamental porque interfere na textura, o sabor e a conservação dos alimentos. Um teor de humidade muito elevado pode levar ao desenvolvimento de microrganismos, à deterioração do produto e à perda de qualidade.

De acordo com Guerreiro (2006), o teor de humidade relativa das massas alimentícias deve ser inferior a 12,5%, sendo assim o processo mais simples e eficaz para inibir o processo microbiológico. Estudos realizados por Rosário (2013), apresentaram resultados do controlo laboratorial do teor de humidade para as massas alimentícias semelhantes aos limites estabelecidos.

Estudos de Carvalho et al. (1998), descrevem teor de 12,08 % para pimenta. Especiariais, condimentos, ervas e temperos, ervas geralmente são contaminados por fungos

filamentosos e bactérias esporulantes, sendo que essa contaminação frequentemente está relacionada com o teor de umidade (Lirio 2010). Estudos realizados por Ribeiro et al. (2020), apresentaram valores superiores de acordo com os limites estabelecidos, entretanto ressaltase que a pimenta encontrava em estado pastoso e com menores quantidades de cloreto de sódio o que se explica um maior teor de umidade.

## 9. CONCLUSÃO

É evidente a importância que a grande distribuição tem no cenário do consumo alimentar e a maneira como influencia a vida dos consumidores, tanto no orçamento como nas suas escolhas dos agregados familiares. Associadamente a isto torna-se cada vez mais significativo também o efeito que têm no meio ambiente e a sua significância no desenvolvimento de medidas social, ambiental e sustentabilidade económica. Diante disso, a implementação de um setor de venda avulso é vista como uma grande capacidade de desenvolvimento e aceitação pelos clientes, tornando de fácil acesso os alimentos adaptados às suas necessidades e exigências, e em simultâneo como um desafio para quem o disponibilizar, sendo capazes de conquistar a confiança do consumidor e ao mesmo tempo, garantir a segurança e a qualidade dos produtos.

Neste estudo após as análises e discussões dos resultados é possível concluir que no que diz respeito à qualidade microbiológica os resultados foram satisfatórios. Apesar de ter sido encontrados colónias de bolores e leveduras, ainda se encontra dentro dos limites estabelecidos. É importante salientar que os alimentos não apresentaram qualquer tipo de contaminação por microrganismos patogénicos como *Salmonella* spp. o que é extremamente relevante pois, esta bactéria é responsável por causar doença grave como salmonose, que pode ser potencialmente fatal para os grupos de risco. Quanto à *Escherichia coli.*, as suas contagens são consideradas satisfatória, pois trata-se de uma bactéria preocupante encontrada no trato intestinal dos seres humanos. Também praticamente não houve multiplicação de *Staphylococcus* coagulase-positivos.

Diante das análises físico-químicas, pode constatar que o resultado do parâmetro da cor de ambos os produtos, pode ter sido influenciado pela ausência de embalagem. No entanto, a massa apresentou valor de atividade da água que se encontram dentro do valor esperado ( $a_w < 0,60$ ). Relativamente ao pH, ambos os géneros alimentícios mantiveram valores de pH na faixa pouco ácido. De uma forma geral, é possível constatar que os produtos analisados apresentam boa qualidade microbiológica.

## 10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams M, Motarjemi Y. 1999. Basic food safety for health workers. World Health Organization. Geneva. [Internet]. [accessed 2024 Feb 25]: [http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/65992/WHO\\_SDE\\_PHE\\_FOS\\_99.1.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/65992/WHO_SDE_PHE_FOS_99.1.pdf?sequence=1&isAllowed=y).
- Albuquerque MC, Azevedo LN, Santos EM, Cunha IG et. al 2019. Análises microbiológicas de granolas comercializadas no Bairro São José na cidade de Recife-PE. Brazilian Journal of health Review. 2(3):1743-1753.
- Alli I. 2004. Food quality assurance -principles and practices. USA: Ed. CRC Press LLC.
- Alves ARF. 2012. Doenças alimentares de origem bacteriana. [dissertação de mestrado] Porto: FFUP- Faculdade de farmácia da Universidade do Porto.
- André MV. 2017. Controlo da qualidade em microbiologia alimentar – estágio em laboratório com acreditação IPAC segundo a NP EN ISSO/IEC 17025. [dissertação de mestrado]. Viana do Castelo: Instituto Politécnico de Viana do Castelo.
- APED. 2004. Código de boas práticas da distribuição alimentar. Ed. Associação Portuguesa de Empresas de Distribuição, Lisboa. pp-40.
- APED. 2009. A evolução da concentração da indústria e da distribuição em Portugal. Roland Berger Strategy Consultants.
- APED. 2010. Imagem Percetiva da Grande Distribuição. GfK Group.
- Baptista P, Venâncio A. 2003. Os perigos para a segurança alimentar no processamento de alimentos. Consultoria em Formação Integrada, Lda. Guimarães: Ed. Forvisão.
- Baptista P, Pinheiro G, Alves P. 2003. Sistemas de gestão de segurança alimentar. Consultoria em Formação Integrada, Lda. Guimarães: Ed. Forvisão
- Baptista P, Antunes C. 2005. Higiene e Segurança Alimentar na Restauração. Volume II – Avançado. Consultoria em formação integrada, SA. Guimarães: Ed. Forvisão
- Baptista P, Linhares M. 2005. Higiene e Segurança Alimentar na Restauração. Volume I – Iniciação. Consultoria em formação integrada, SA. Guimarães: Ed. Forvisão
- Batista TC. 2013. Proposta de implementação do método Cook-Chill na Cozinha de uma Instituição Particular de Solidariedade Social. [dissertação de mestrado]. Castelo Branco: Instituto Politécnico de Viana do Castelo.
- Belin LL, Bourgeois CM, Mesclé JF, Zucca J . 1990. Microbiologie Alimentaire. 1- Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaires. Lavoisier: 2e éd. Technique et Documentation.
- Belitz HD, Grosch W. 1988. Química de los alimentos, Editorial Acribia, S.A.
- Bernardo F. 2006. Perigos sanitários nos alimentos. Revista de Segurança e Qualidade Alimentar. 1: 6-8.
- CAC 2003. Food hygiene basic texts. Codex Alimentarius Commission, Rome, Italy.

Carrilha F, Guiné R. 2010. Avaliação da cor de peras secadas por diferentes métodos. Conferência: 1º Encontro Português de Secagem de Alimentos. Viseu.

Carvalho et al. 1998. Avaliação da qualidade e composição dos temperos alho e sal industrializados, comercializados na cidade de Juiz de Fora. Alim. Nutr., São Paulo – SP, 9:39-52. [internet]. [accessed 2024 maio 24]. <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/776/662>.

Correia JL. 2015. Avaliação microbiológica de refeições servidas em Cantina Universitária [dissertação de mestrado]. Coimbra: Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

Costa BJP, Almeida HSA, Santana FEO, Soares KMP, Lemos JF, et al. 2020. Aspectos físico-químicos e microbiológicos de amendoim comercializado em mossoró rio grande do Norte. 6(5): 29876-29889.

Costa G. 2019. Massas e arroz: tendências de consumo diversificam setor. Distribuição hoje [internet]. [accessed 2024 maio 31]. <https://www.distribuicaoohoje.com/consumo/massas-e-arroz-tendencias-de-consumo-diversificam-setor/>.

Costa TFT. 2018. A Economia Circular e o Comportamento do Consumidor: O caso das embalagens de produtos alimentares. [dissertação de mestrado]. Universidade do Minho.

Catsaras MV. 1991. Les indices de contamination fécale. In: Bourgeois CM & Leveau JY (eds). Techniques d'Analyse et de Contrôle dans les Industries Agro-Alimentaires, vol. 3. Le contrôle microbiologique. Lavoisier: 2e éd. Technique et Documentation.

Decreto-Lei nº 560/99 de 18 de dezembro, Diário da República nº 293/99 – I Série A, Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas, Lisboa

Delcourt A, Rousset A, Lemaitre JP. 1994. Microbial and mycotoxic contamination of peppers and food safety. Biology, chemistry and pharmacy. 133 (4): 235 -238.

Duncan SE, Moberg K, Amin KN, Wright M, Newkirk JJ, Ponder MA, Acuff G.R, Dick son J.S. 2017. Processes to Preserve Spice and Herb Quality and Sensory Integrity During Pathogen Inactivation. [Internet]. [accessed 2024 maio 30]. <https://iafns.org/>

Epralima 2018. Food Quality, Os Microrganismos nos Alimentos. [Internet]. [accessed 2024 maio 24]. [http://www.epralima.com/infodquality/Material\\_de\\_formacao\\_pt/Manuais/3\\_Os\\_MicrorganismoseosAlimentos.pdf](http://www.epralima.com/infodquality/Material_de_formacao_pt/Manuais/3_Os_MicrorganismoseosAlimentos.pdf).

EFSA, ECDC 2012. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2010. [Internet]. [accessed 2024 junho 05]. <http://www.efsa.europa.eu/efsajournal>.

FAO 2004. Food safety and quality in Europe: aspects concerning in particular quality, nutritional balance, the importance of agricultural land and cultural heritage (“terroirs”). Twenty-fourth FAO regional conference for Europe. 5-7 May 2004. Montpellier, France.

Feng P. 2012. Escherichia coli (ETEC, EPEC, EHEC, EIEC). In Food and Drug Administration, Bad Bug Book. Foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins. 2:69-81.

Fleckenstein J, Bartels S, Drevets P, Bronze M, Drevets, D. 2010. Infectious agents of food- and water-borne illnesses. The American journal of the medical sciences. 340(3): 238-246.

- Ferreira H, Lima H, Coelho T. 2014. Microrganismos indicadores em alimentos de origem animal [Pós-graduação]. Semiárido: Universidade Federal Rural do Semiárido.
- Food and Drug Administration. 2012. Bad Bug Book – Foodborne Pathogenic, Microorganisms and Natural Toxins Handbook. 2th edition. Washington (DC): Center for Food Safety and Applied Nutrition.
- Food and Agriculture Organization and World Health Organization. 2003. Codex Alimentarius: Código de práticas internacionais recomendadas – Princípios gerais de higiene. 4.
- Forsythe SJ. 2000. The microbiology of safe food. Blackwell Science. Oxford. UK. 142-255.
- Franco B, Landgraf M. 2001. Microbiologia dos alimentos. Brasil. Atheneu: 13-81.
- Franco B, Landgraf M. 2002. Microbiologia dos alimentos. 1. São Paulo. Atheneu
- FSA. 2008. The provision of allergen information for non-pre-packed foods – Voluntary best practice guidance, Food Standards Agency.
- FSAI 2011. Guidance note nº18 – validation of product shelf-life (revision I). Ed. Food Safety Authority of Ireland, Dublin, Ireland. pp-50.
- FSAI. 2011. validation of product shelf-life. Guidance note nº18 – validation of product shelf-life (revision I). Ed. Food Safety Authority of Ireland, Dublin, Ireland. pp-50.
- FSAI. 2017. Guidance note nº18 – Validation of product shelf-life - Revision 3. Food Safety Authority of Ireland, Dublin, Irlanda, 50p. ISBN 0-9539183-5-1
- Germano PML, Germano MLS. 2001. Higiene e vigilância sanitária de alimentos. São Paulo. Varela :629.
- Gould G. 1996. Methods for preservation and extension of Shelf Life. International journal of food microbiology. 33(1): 51-64.
- Guarino PA, Gray RJH. 1992. Spices and gums. In: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 3 ed. American Public Health Association. 961-974.
- Guerreiro. 2006. Massas alimentícias. [Internet]. [accessed 2024 maio]. <http://www.sbrt.ibict.br/dossie-tecnico/downloadsDT/MjY=>.
- Henriques ARBCS. 2008. Avaliação da vida útil de refeições" Cook-Chill" e" cook freeze": indicadores microbiológicos, físico-químicos e sensoriais. [dissertação de mestrado]. FMV- Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.
- Henriques BJM. 2014. Relação entre a higienização de manipuladores e superfícies e a contaminação do produto final em pequenas indústrias alimentares. [dissertação de mestrado]. Aveiro: Universidade de Aveiro.
- Hooker NH, Monteiro DMS. 2013. UK food retailer sustainability strategies: Competitive or cooperative, European Association of Agricultural Economists.
- ICMSF. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 1985. Ecologia microbiana de los alimentos: productos alimenticios. 2:739-758.
- Iha MH, Trucksess MW. 2019 Management of Mycotoxins in Spices. Journal of AOAC International. 102 :(6):1732-1739.

International Pasta Organisation. Annual Report. 2019. [internet]. [accessed 2024 Feb 24]. <https://internationalpasta.org/annual-report/>.

ISO 6887-2:(1999) Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species). Technique using rabbit plasma fibrinogen agar medium (British Standard).

ISO 6579-1. (2002). Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.. International Organization for Standardization. Genève.

ISO 6887-(2003). Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination -- Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions. International Organization for Standardization. Switzerland.

Jay JM, Loessner, MJ, Golden DA. 2005. Modern Food Microbiology. Springer Science & Business Media. New York, EUA.

Julseth RM, Deibel RH. 1974. Microbial profile of selected spices and herbs at import. *J. Milk Food Technol.* 37:414-419.

Kemper M, Scheidt BT, Salamoni SP, Ariotti AP, Casa RT. 2020. Análise microbiológica de produtos funcionais vendidos a granel. *Anuário pesquisa e extensão UNOESC Videira*, 1:11.

Kilcast D, Subramaniam P. 2000. The stability and shelf-life of food. Cambridge, England. Ed. Woodhead Publishing Limited. 45.

Lima CDC. 2005. Avaliação microbiológica e química do queijo minas artesanal da Serra do Salitre-MG. [dissertação de mestrado]. UFMG- Instituto de Ciências biológicas.

Lima JSS, Oliveira RB, Rocha W, Oliveira PC, Quarteza WZ. 2010. espacial de atributos químicos do solo e da produção da cultura da pimenta-do-reino (*Piper nigrum*, L.). 28(2):31-39

Lirio FC. 2010. Caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de méis florais irradiados. [Dissertação de Mestrado]. Rio de Janeiro: UFRJ

Lorini A, Wobeto C, Pereira CCBRM, Botelho SCC. 2017. Qualidade microbiológica e físico-química de castanhas-do-Brasil. *Higiene Alimentar* 31: 127-131.

Machado, T. M. F.; Piccolo, M. da P.; Filho, M., Silva, M.B; Oliveira, M.V.; Junior, A.C.S; Martins, L.F; Santos, Y.I.C. 2021. Qualidade de pimenta-do-reino obtida de propriedades rurais do norte do espírito santo. In: VERRUCK, Silvani. *Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos* 4. Editora Científica Digital.

Macrae R, Robinson R, Sadler M. 1993. Spices and flavouring crops. In: *Encyclopaedia of Food Technology and Nutrition*. Academic Press, 4282-4319.

Matthews M, Jack M. 2011. Spices and herbs for home and market, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome.

McKee LH. 1995. Microbial contamination of spices and herbs: a review. *Food Science & Technology*. 28:1-11

Mendes PVF. 2009. Determinação da vida útil de 2 grupos de alimentos prontos a comer comercializados em estabelecimentos de take-away. [dissertação de mestrado]. FMV- Universidade Técnica de Lisboa.

Mescle JF, Zucca J. 1990. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaires. Microbiologie Alimentaire. 2e éd. Technique et Documentation – Lavoisier

Moreau C. Les moisissures. In: Bourgeois CM, Mescle JF, Zucca J (eds). Microbiologie Alimentaire. 1- Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaires. 2e éd. Technique et Documentation - Lavoisier

NP 1047 (1974). Especiarias. Definição e Nomenclatura.

NP 3277-1 (1987). Microbiologia Alimentar. Contagem de bolores e leveduras. Parte 1: Incubação a 25° C.

NP-3441 (1990). Carnes, derivados e produtos cárneos. Determinação do pH. Processo de referência. Instituto Português da Qualidade. Lisboa.

NP 4396. (2002). Norma Portuguesa – Microbiologia Alimentar – Regras gerais para a contagem de Escherichia coli. Instituto Português da Qualidade, Ministério da Economia e Inovação. Lisboa.

NZFSA 2005. A guide to calculating the shelf life of foods - information booklet for the food industry. Ed. New Zealand Food Safety Authority, New Zealand. 27.

Oliveira JO, Vilela LTO, Silva LHO, Nascimento TS, Magalhães FAC, Vivi VK. 2017. Análise microbiológica de especiarias desidratadas comercializadas em feiras livres de Cuiabá, Mato Grosso. Journal Health NPEPS. 2, n(2):365-379.

Palet JSC. 2012. Alterações físico-químicas e microbiológicas num produto à base de tomate embalado em doypack, ao longo do tempo de prateleira. [dissertação de mestrado]. Universidade Nova de Lisboa. Lisboa.

Pinto AFMA. 1996. Doenças de origem microbiana transmitidas pelos alimentos. Millenium. [Internet]. [accessed 2024 Feb 01]. [http://www.ipv.pt/millenium/ect4\\_1.htm](http://www.ipv.pt/millenium/ect4_1.htm).

Pinto J, Neves R. 2010. Análise de riscos no processamento alimentar. Porto: Publidústria, edições técnicas.

Prabhakaran N, Nair KP. 2011. Agronomy and economy of black pepper and cardamom. The “King” and “Queen” of Spices. London, Elsevier Science Publishing, 366p.

Prescott LM, Harley JP, Klein DA. 2005. Microbiology. 6th edition. New York: McGraw-Hill.

Regulamento (CE) nº 852/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 29 de abril. Jornal Oficial da União Europeia L 226/3.

Regulamento (CE) nº 2073/2005 da Comissão de 15 de novembro. Jornal Oficial da União Europeia L 338/1.

Regulamento (UE) N.º 1169/2011 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 25 de outubro de 2011, relativo à prestação de informação aos consumidores sobre os géneros alimentícios. Jornal Oficial da União Europeia, L304:18-63.

Ribeiro AMR. 1974. Padrões bacteriológicos de alimentos portugueses. Microbiol. São Paulo. 5(1): 17-25.

Ribeiro et al. 2020. Tecnologia de Alimentos: Tópicos Físicos, Químicos e Biológicos - Volume 1.

Rybka-Rodgers S. 2001. Improvement of food safety design of Cook-Chill foods. *Food Research International*. 34 (5):449-455.

Rocha N. 2020. Desenvolvimento de massa alimentícia seca sem glúten a base de amido da semente de jaca (*Artocarpus heterophyllus* L.). [pós-graduação]. Centro de ciências da saúde – Universidade Federal de Pernambuco.

Rosário MRR. 2013. Segurança e qualidade alimentar na produção das massas alimentícias. [Dissertação de Mestrado]. Coimbra: Escola Superior Agrária-Instituto Politécnico de Coimbra

Saraiva M, Correia C, Cunha I, Coelho A, Maia C, Pena C, Bonito C, Flores C, Moura I, Sousa I, Barreira M, Toscano M, Furtado R, Marcos S, Santos S, Lopes T, Calhau M, et al. 2018. Investigação laboratorial de surtos de toxinfecção alimentar, 2016. *Boletim Epidemiológico Observações*. 21:24-28.

Santos IM, Venâncio A, Lima N. 1998. Fungos Contaminantes na Indústria Alimentar, Micoteca da Universidade do Minho.

Schuh J, Ribeiros M, Ferez M, Mattiello CA, Thaler Neto A, Millezi A, Semmelmann C, Da Silveira SM, et al. 2015. Enumeração de microrganismos indicadores da qualidade higiênico-sanitária em queijo colonial. Mostra Nacional de Iniciação Científica e Tecnológica Interdisciplinar. [Internet]. [accessed 2024 Feb 8]. <http://eventos.ifc.edu.br/wpcontent/uploads/sites/5/2015/10/ENUMERA%C3%87%C3%83O-DEMICRORGANISMOS-INDICADORES-DA-QUALIDADE HIGI%C3%8ANICOSANIT%C3%81RIA-EM-QUEIJO-COLONIAL.pdf>.

Schweizerische Eidgenossenschaft. 2005. Hygieneverordnung des EDI vom 23. November 2005. [Internet]. [accessed 2024 junho 3]. <http://www.admin.ch/opc/de/classified-compilation/20050160/index.html>

Silva ES et al. 2019. Ultrasound-assisted vacuum drying of nectarine. *Journal of Food Engineering*. 246:119–124.

Simões, Machado J, Morais A. 2010. Microrganismos – Detecção e Prevenção. Edições ASA:INSA, Lisboa, Portugal.

Singh TK, Cadwallader KR. 2004. Ways of measuring shelf-life and spoilage. In R. Steele (Eds.), *Understanding and measuring the shelf life of food*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England.

Sissous M. 2022. Development of Novel Pasta Products with Evidence Based Impacts on Health. *A Review Foods* 2022 11(123.):16-28.

Sousa DP. 2012. A Communication Strategy for Continente: Proposals to Improve the Online Services, NOVA - School of Business and Economics.

Souza RAM. 2001. Mercado para produtos minimamente processados. *IEA- Instituto de Economia Agrícola*. 31(3):7-18

Tannahill R. 1988. In: *Food in History*. Penguin Books. [Internet]. [accessed 2024 may 25]. <https://iafns.org/>.

Veloso RR, Silva MKG, Guedes FGS, Silva TR, Lima GE, Shinohara NKS, et al. 2022. Aspectos Microbiológicos das especiarias comercializadas na Região Metropolitana do Recife/PE. 22(5):397-410.

Veiga A, Lopes A., Carrilho E, Silva L, Dias MB, Seabra MJ, Borges M, Fernandes P, Nunes, S, et al. 2009. Perfil de risco dos principais alimentos consumidos em Portugal. Ed. Autoridade de Segurança Alimentar e Económica - Direção de avaliação e comunicação dos riscos, Lisboa, Portugal. 31-54.

Vinha MB, Lima I. de M. Secundino, W. Contaminantes que comprometem a segurança da pimenta-do-reino ao longo de sua cadeia produtiva. [Internet]. [accessed 2024 may 25]. 8:55-67<https://biblioteca.incaper.es.gov.br/digital/bitstream/123456789/3021/1/>.

Vlaeminck P, Jiang T, Vranken L. 2013. Labelling and sustainable food consumption: Experimental evidence from a Belgian supermarket, European Association of Agricultural Economists, Paris, France.