

# **Adequação de tempos de vida útil de Produtos *Ready-to-Eat*: avaliação em termos microbiológicos e organoléticos**

**Sofia Alexandra Marcos Carvalho Ferreira Costa**

Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em  
**Engenharia Alimentar**

Orientadores:

Doutora Maria Luísa Louro Martins

Doutora Maria Luísa Lopes de Castro e Brito

**Júri:**

Presidente: Doutor Vítor Manuel Delgado Alves, Professor Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

Vogais: Doutor Manuel José de Carvalho Pimenta Malfeito Ferreira, Professor auxiliar com agregação do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

Doutora Maria Luísa Lopes de Castro e Brito, Professora auxiliar com agregação do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

2021

À memória da minha mãe

## **Agradecimentos**

No final de mais uma etapa da minha vida, há que lembrar aqueles que contribuíram de forma tão positiva para a concretização deste projeto.

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à Professora Doutora Luísa Louro e à Professora Doutora Luísa Brito, pela gentileza de aceitarem a orientação do percurso que fiz ao longo do projeto de investigação, como orientanda, e da escrita da dissertação. Estou grata pela sabedoria e visão, assim como pelo espírito crítico nas sugestões e correções feitas durante a orientação.

Gostaria também de expressar a minha gratidão à Professora Doutora Elsa Gonçalves, por toda a ajuda, simpatia, disponibilidade e apoio no processo de análise estatística.

Agradeço à empresa de acolhimento, a GESCO Società Cooperativa Agricola (Amadori), bem como à empresa parceira, Gastronomica Roscio Srl, por me terem proporcionado as condições necessárias para a realização deste trabalho científico. Adicionalmente, gostaria de agradecer ao meu orientador na empresa Amadori, Paolo Montagna, por ter sido incansável ao longo da realização do meu estágio.

Gostaria de agradecer o companheirismo de todos aqueles com quem tive oportunidade de trabalhar, em ambas as empresas, durante o meu estágio. O meu agradecimento em especial aos colegas com quem tive a oportunidade de trabalhar diariamente: Enrico Zanotti, Francesco Biguzzi, Giacomo Biguzzi e Luca Bonoli.

Algumas palavras especiais, de gratidão, aos meus amigos, que sempre estiveram presentes. Estou muito grata por todo o apoio e pelos momentos e experiências partilhados.

Por último, um agradecimento muito especial aos meus pais. Estou muito grata pelo amor incondicional, pela educação, pelo incentivo e apoio constantes em todos os momentos da minha vida para atingir os meus objetivos sem nunca pensar em desistir. Gostaria de agradecer à minha irmã e restante família, pela presença e apoio constantes. Ao Cláudio, pelo amor, carinho, paciência, compreensão, dedicação e motivação constantes ao longo de todo o percurso.

A todos, o meu mais sincero obrigada!

*Recomeça... se puderes, sem angústia e sem pressa. E os passos que deres, nesse caminho duro do futuro, dá-os em liberdade. Enquanto não alcances não descanses, de nenhum fruto queiras só metade.*

Miguel Torga. *In*: Sísifo. Diário XVIII

## **Acknowledgements**

At the end of another stage of my life, I must remember those who contributed so positively to the conclusion of this project.

First of all, I would like to thank Professor Luísa Louro and Professor Luísa Brito, my mentors, for the kindness of accepting me as their master student. I am grateful not only for their wisdom and vision but also for their critical spirit, for all suggestions and corrections during the orientation.

I would also like to express my gratitude to Professor Elsa Gonçalves, for her sympathy, availability and support in the statistical analysis process.

I would like to thank the host company GESCO Società Cooperativa Agricola (Amadori) and also its partner company, Gastronomica Roscio Srl, both in Italy, for providing me with the necessary conditions to carry out this scientific work. I would like to highlight the role of my company's advisor, Paolo Montagna, for being tirelessly available throughout my entire internship.

I would like to thank the companionship of all those with whom I had the opportunity to work in both companies during my internship. My particular thanks to the colleagues with whom I had the opportunity to work daily: Enrico Zanotti, Francesco Biguzzi, Giacomo Biguzzi and Luca Bonoli.

Some special words of gratitude go, naturally, to my friends who were always there. I am very grateful for all their support and for the shared moments and experiences.

Finally, a very special thanks to my parents. I am very grateful for their unconditional love, education, constant encouragement and support at all the moments of my life to achieve my goals, without ever thinking of giving up. I would also like to thank my sister and the rest of my family for their constant presence and support. To Cláudio, for the love, affection, patience, understanding, dedication and constant motivation along all the way.

To all, my most sincere thanks!

*Start again... If you can, without anguish and without haste. And the steps you take, in this hard journey of the future, give them in freedom. Until you reach it do not rest. Of no fruit you want only half.*

Miguel Torga. *In: Sísifo. Diário XVIII*

## Resumo

**Enquadramento:** A vida útil de um produto consiste no tempo em que é possível ser comercializado sem sofrer alterações relevantes em termos de qualidade e segurança, correspondendo às necessidades e requisitos dos consumidores. Apesar do aumento de procura de produtos alimentares *ready-to-eat* (RTE), há pouca investigação quanto à adequação, em termos de qualidade e segurança alimentar, dos tempos de vida que são estipulados para e pela indústria.

**Objetivos:** Verificar se os tempos de vida determinados pela indústria para produtos alimentares RTE são válidos do ponto de vista microbiológico e organolético. Objetivos secundários: (a) determinar se a validade de tempos de vida de produtos alimentares varia em função do tipo de produto, e (b) verificar se após 24h e após 48h da abertura das embalagens, os produtos (conservados no frigorífico), mantêm as suas características microbiológicas e sensoriais.

**Métodos:** Após confeção, foram armazenados três lotes diferentes de três produtos RTE: frango de caril, salada de *tabulé*, e sopa de legumes, 32 exemplares de cada lote (para cada produto), a duas temperaturas diferentes: condições ideais (de +1°C a +4°C) e condições de *stress* térmico (de +7°C a +10°C). Para esta última gama, foram efetuados testes microbiológicos às 24h e às 48h após abertura das embalagens. Os valores microbiológicos obtidos foram comparados com os valores-guia do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), e com os do *Public Health Laboratory Service*. Foram também realizados testes organoléticos após confeção dos alimentos (Julho 2019) e no final da vida útil estabelecida para os mesmos (Agosto 2019), com um painel de 27 (primeira avaliação) e 32 (segunda avaliação) provadores.

**Resultados:** Relativamente às características microbiológicas, todos os valores analíticos encontrados foram satisfatórios, à exceção de uma amostra da salada de *tabulé*, com indicador de *Listeria spp.* não satisfatório. Para o frango de caril foram encontradas diferenças significativas na análise sensorial, entre o primeiro e segundo momentos de avaliação, para: apreciação geral, aroma, sabor do arroz, sabor da carne e consistência do arroz. Para a salada de *tabulé* as diferenças encontradas foram relativamente ao aroma, sabor total, sabor da carne e consistência da carne. No caso da sopa de legumes, foi encontrada diferença significativa para a consistência dos legumes.

**Conclusões:** Os resultados apontam para manutenção de valores microbiológicos satisfatórios ao longo dos tempos de vida útil estabelecidos para os produtos RTE testados. Por outro lado, as características organoléticas parecem sofrer alterações ao longo do tempo de vida útil. O estudo realça a importância dos testes organoléticos, nomeadamente como critério para definição dos tempos de vida útil.

**Palavras-chave:** Controlo de qualidade, Segurança alimentar, Microbiologia, Análise organolética.

## **Abstract**

**Background:** The shelf-life of a food product consists of the period of time the product can be sold without suffering any significant change in terms of quality and safety, meeting the consumers' needs and requirements. In spite of the increase in global demand for ready-to-eat (RTE) food products, there is lack of research about the adequacy of the lifetimes that are set for and by the industry, in terms of food quality and safety.

**Objectives:** To verify if the shelf-life determined by the industry for RTE food products are valid from the microbiological, physical-chemical and organoleptic perspective. Secondary objectives: (a) to determine if the shelf-life of food products varies according to the type of RTE food product, and (b) to verify if after 24h and 48h of opening the packages, the products (kept in the refrigerator) keep their microbiological and sensory characteristics unchanged.

**Methods:** After confection, three different lots from three different RTE products were stored: chicken curry, *tabulé* salad, and vegetable soup, 32 samples from each lot (per product), at two different temperatures: ideal conditions (from +1°C to +4°C) and thermal stress conditions (from +7°C to +10°C). Regarding to the last range, microbiological tests were conducted at 24h and 48h after opening the packages. The microbiological values for quality and safety evaluation were compared with the guide values of the Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), and with the guide values of the Public Health Laboratory Service. Organoleptic tests were also conducted after the food confection (July 2019) and at the end of the shelf-life established for them (August 2019), with a panel of 27 and 32 tasters (first evaluation and second evaluation, respectively).

**Results:** Regarding the microbiological characteristics, obtained values were all satisfactory, with exception of one *tabulé* salad sample, which had an unsatisfactory *Listeria* spp. indicator. Regarding the chicken curry, significant differences were found in the sensory analysis between the first and second moment of evaluation, for the general appreciation, aroma, taste of the rice, taste of the meat and rice consistency. In *tabulé* salad, significant differences were found in aroma, total flavour, meat flavour and meat consistency. Concerning the vegetable soup, significant differences were found in the vegetables' consistency.

**Conclusions:** The results of the study suggest that satisfactory microbiological values are maintained over the established shelf-life of the tested RTE products. Nevertheless, the organoleptic characteristics seem to change during this same shelf-life period. This study highlights the importance of organoleptic tests as a criterion for defining food products shelf-life.

**Keywords:** Quality control, Food safety, Microbiology, Organoleptic analysis.

## Índice

<b>Resumo</b> .....	7
<b>Abstract</b> .....	8
<b>1. Introdução</b> .....	<b>15</b>
<b>2. Enquadramento teórico</b> .....	<b>18</b>
2.1. Segurança e qualidade alimentar .....	18
2.2. Legislação alimentar.....	21
2.3. Perigos para o consumidor.....	26
2.4. Parâmetros que influenciam o tempo de vida útil .....	28
2.4.1. <i>Fatores intrínsecos</i> .....	29
2.4.2. <i>Fatores extrínsecos</i> .....	30
2.5. Alimentos prontos a consumir .....	31
2.6. Alterações de natureza físico-química e microbiológica .....	34
2.7. Avaliação do tempo de vida útil .....	37
2.7.1. <i>Testes físicos</i> .....	37
2.7.2. <i>Análises químicas</i> .....	38
2.7.3. <i>Análises microbiológicas</i> .....	38
2.7.4. <i>Análises Sensoriais</i> .....	43
<b>3. Objetivos do projeto</b> .....	<b>46</b>
<b>4. Material e Métodos</b> .....	<b>47</b>
4.1. Amostragem.....	50
4.2. Procedimentos: determinações analíticas .....	51
4.2.1. <i>Análises microbiológicas</i> .....	51
4.2.2. <i>Análises nutricionais</i> .....	52
4.2.3. <i>Análises sensoriais</i> .....	53
4.3. Análise estatística .....	53
<b>5. Resultados</b> .....	<b>54</b>
5.1. Frango de Caril RTE.....	54
5.1.1. <i>Análise microbiológica</i> .....	54
5.1.2. <i>Análise sensorial</i> .....	56
5.2. Salada de Tabulé RTE .....	57
5.2.1. <i>Análise microbiológica</i> .....	57
5.2.2. <i>Análise sensorial</i> .....	60
5.3. Sopa de Legumes RTE .....	61
5.3.1. <i>Análise microbiológica</i> .....	61
5.3.2. <i>Análise Sensorial</i> .....	65
<b>6. Discussão</b> .....	<b>66</b>
<b>7. Conclusão</b> .....	<b>69</b>

<b>8. Referências bibliográficas .....</b>	<b>71</b>
<b>Anexos .....</b>	<b>79</b>
Anexo 1. Processo de produção dos produtos alimentares RTE em estudo .....	<b>80</b>
Anexo 2. Comparação de médias relativas aos valores obtidos para o logaritmo da contagem bacteriana, entre Lotes, Tempos de armazenamento e Temperaturas, para os três produtos RTE em estudo.....	<b>84</b>

## Lista de Tabelas

Tabela 1. Subgrupos de (a) alimentos sujeitos a tratamento térmico e (b) alimentos compostos de alimentos totalmente cozinhados/pasteurizados, adicionados de componentes crus ou carne ou peixe crus (Saraiva et al., 2019).....	33
Tabela 2. Diretrizes do <i>Public Health Laboratory Service</i> (PHLS) para a contagem de colónias aeróbias para a qualidade microbiológica de alimentos RTE (critério de contagem: número de colónias aeróbias (30°C/48h).....	39
Tabela 3. Diretrizes do <i>Public Health Laboratory Service</i> (PHLS) para os organismos indicadores para a qualidade microbiológica de alimentos RTE (todos os grupos alimentares indicados na Tabela 2; critério de contagem: número de colónias aeróbias (30°C/48h) .....	40
Tabela 4. Diretrizes do <i>Public Health Laboratory Service</i> (PHLS) para os patógenos para a qualidade microbiológica de alimentos RTE (critério de contagem: número de colónias aeróbias (30°C/48h).....	41
Tabela 5. Critérios do INSA relativos à qualidade microbiológica de alimentos RTE ..	42
Tabela 6. Critérios do INSA relativos a microrganismos indicadores de condições de higiene e/ou de alteração da segurança de produtos RTE.....	43
Tabela 7. Descrição nutricional dos alimentos RTE em estudo.....	47
Tabela 8. Condições de armazenamento por tempo de vida útil dos produtos alimentares em estudo.....	50
Tabela 9. Delineamento experimental da abordagem analítica utilizada .....	50
Tabela 10. Normas utilizados para a análise microbiológica de avaliação de indicadores de segurança e qualidade alimentar .....	52
Tabela 11. Parâmetros da análise sensorial, por tipo de produto.....	53
Tabela 12. Resultados microbiológicos para os indicadores de qualidade para o Frango de Caril.....	54
Tabela 13. Resultados microbiológicos para os indicadores de segurança para o Frango de Caril.....	55
Tabela 14. Resultados da ANOVA para o logaritmo da contagem bacteriana total, para o Frango de Caril .....	56
Tabela 15. Resultados organoléuticos para o frango de caril.....	56

Tabela 16. Resultados microbiológicos para os indicadores de qualidade para a Salada de <i>Tabulé</i> .....	57
Tabela 17. Resultados microbiológicos para os indicadores de segurança, para a Salada de <i>Tabulé</i> .....	58
Tabela 18. Resultados da ANOVA para o logaritmo da contagem bacteriana total para Salada de <i>Tabulé</i> .....	60
Tabela 19. Resultados organoléticos para a Salada de <i>Tabulé</i> RTE .....	60
Tabela 20. Resultados microbiológicos para os indicadores de qualidade alimentar, para as amostras de Sopa de Legumes.....	61
Tabela 21. Resultados microbiológicos para os indicadores de segurança alimentar, para as amostras de Sopa de Legumes.....	63
Tabela 22. Resultados da ANOVA para logaritmo da contagem bacteriana total para Sopa de Legumes.....	65
Tabela 23. Resultados organoléticos para as amostras de Sopa de Legumes .....	65
Tabela 24. Médias amostrais para o logaritmo da contagem bacteriana, para as combinações Lote e Tempo, para o Frango de Caril.....	83
Tabela 25. Médias amostrais para o logaritmo da contagem bacteriana, para as combinações Lote e Tempo, para o Frango de Caril.....	83
Tabela 26. Médias amostrais para o logaritmo da contagem bacteriana, para as combinações Lote e Tempo, para a Salada de <i>Tabulé</i> .....	83
Tabela 27. Médias amostrais para o logaritmo da contagem bacteriana, para as combinações Lote e Temperatura, para a Salada de <i>Tabulé</i> .....	84
Tabela 28. Resultados do teste de Tukey - Diferenças entre as médias amostrais para o logaritmo da contagem bacteriana para as combinações lote e tempo para a Salada de <i>Tabulé</i> .....	84
Tabela 29. Resultados do teste de Tukey – Diferenças entre as médias amostrais para o logaritmo da contagem bacteriana para as combinações lote e temperatura para a Salada de <i>Tabulé</i> .....	85
Tabela 30. Médias amostrais para o logaritmo da contagem bacteriana, para as combinações Lote e Tempo, para a Sopa de Legumes .....	86
Tabela 31. Resultados do teste de Tukey – Diferenças entre as médias amostrais para o logaritmo da contagem bacteriana para as combinações lote e temperatura para a Sopa de Legumes.....	86

## Lista de Figuras

Figura 1. Vias possíveis de perigo microbiológico associado ao consumo de alimentos (Zavanella, Maurizio; Muliari, Riccardo; Mioni, Renzo; D’Incau, 2008).....	16
Figura 2. Embalagens dos produtos alimentares em estudo.....	48
Figura 3. Fluxograma da produção de Frango de Caril na Empresa B.....	80
Figura 4. Fluxograma da produção de Salada Tabulé na Empresa B .....	81
Figura 5. Fluxograma da produção de Sopa de Legumes na Empresa B .....	82

## Lista de Abreviaturas

Aw	–	Atividade da água (activity of water)
CM	–	Critérios microbiológicos
INSA	–	Instituto Nacional de Saúde Pública Doutor Ricardo Jorge
OMS	–	Organização Mundial de Saúde
pH	–	Escala numérica para especificar a acidez ou basicidade de soluções aquosas
PHLS	–	Public Health Laboratory Service
RTE	–	Produtos Ready-to-Eat
VMA	–	Valor Máximo Admissível
VMR	–	Valor Máximo de Referência

## 1. Introdução

Em produtos alimentícios, de natureza perecível, o final do prazo de validade é condicionado pelo perfil microbiológico do alimento e é determinado pelo tempo que decorre até à perda de atributos sensoriais e/ou pelo aparecimento de defeitos organoléticos, reconhecíveis pelo consumidor, incluindo odores desagradáveis ou por alteração na cor ou na consistência natural destes produtos (Aiello et al., 2012). A deterioração progressiva de atributos sensoriais específicos ou aceitabilidade sensorial geral é, por norma, monitorizada através de análise sensorial, durante a distribuição e armazenamento dos produtos alimentares (Corrigan et al., 2012).

Um alimento é considerado perigoso para a saúde humana quando contém agentes físicos, químicos ou biológicos que possam acarretar danos para quem os consome. Na maioria dos casos, os problemas de saúde resultantes do consumo de alimentos são classificáveis em intoxicações (envenenamento) ou infeções. As intoxicações verificam-se através da ingestão de produtos alimentares que contêm substâncias tóxicas, (a) naturalmente presentes nos tecidos de algumas espécies animais ou vegetais formadas durante a confeção ou preparação dos alimentos (animais ou plantas venenosos), ou (b) produzidas e libertadas por microrganismos que contaminaram o alimento (toxinas bacterianas, vírus, fungos, algas) (Zavanella, Maurizio; Muliari, Riccardo; Mioni, Renzo; D’Incau, 2008).

A maioria dos alimentos aloja uma população microbiológica natural, que pode aumentar durante os processos de transformação e conservação a que são sujeitos, devido à contaminação atmosférica ou por contaminação com utensílios, animais ou manuseamento humano. A presença destes microrganismos pode fazer variar simplesmente as características organoléticas do alimento, ou pode determinar o desenvolvimento de agentes patogénicos, tornando assim o alimento perigoso para o consumidor (Zavanella, Maurizio; Muliari, Riccardo; Mioni, Renzo; D’Incau, 2008). Por outro lado, os agentes patogénicos atuam através da produção *in vivo* de toxinas, ou através da invasão da mucosa intestinal e de outros tecidos e órgãos (infeções evasivas) (Zavanella, Maurizio; Muliari, Riccardo; Mioni, Renzo; D’Incau, 2008).

A Figura 1 ilustra vias possíveis de perigo microbiológico associado ao consumo de alimentos, muitos deles menos conhecidos (Zavanella, Maurizio; Muliari, Riccardo; Mioni, Renzo; D’Incau, 2008).

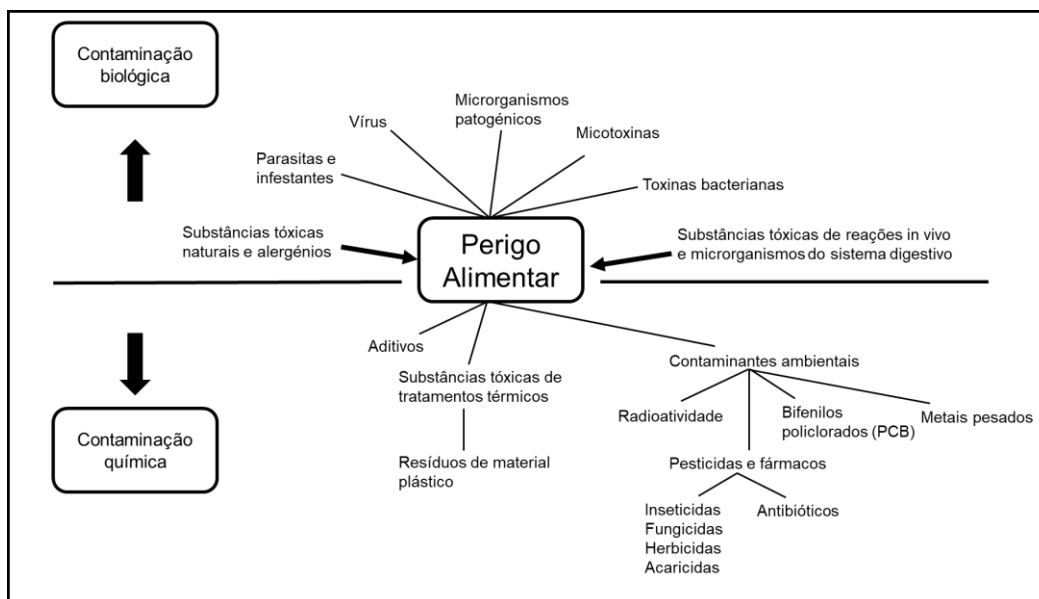


Figura 1. Vias possíveis de perigo microbiológico associado ao consumo de alimentos (Zavanella, Maurizio; Muliari, Riccardo; Mioni, Renzo; D’Incau, 2008)

As autoridades públicas têm promovido e criado mecanismos de regulação da qualidade e segurança alimentar, atuando ao nível das indústrias de alimentos e rações (para animais) no sentido de estas dotarem sistemas robustos de gestão de qualidade, com o objetivo de melhorar a segurança alimentar, reestruturar o sistema de inspeção de alimentos e aumentar o nível de informação fornecida aos consumidores (Röhr et al., 2005).

É neste contexto de preocupação com a qualidade de produtos alimentares altamente perecíveis - como os alimentos ready-to-eat (RTE) – que surge este trabalho. Foi desenvolvido no âmbito do Curso de Mestrado em Engenharia Alimentar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa. A componente prática do trabalho (análises microbiológicas, bem como a recolha de dados organolépticos) decorreu na *GESCO Società Cooperativa Agricola (Amadori)*. Trata-se de uma empresa do setor alimentar italiano que aposta na confeção de produtos avícolas. De forma a inovar, apostou na confeção de produtos RTE, em colaboração com a empresa *Gastronomica Roscio Srl*.

O objetivo geral deste trabalho surgiu naturalmente como resposta a uma necessidade da empresa, dado o seu interesse e necessidade em avaliar os prazos de validade de três produtos RTE que produzem, designadamente: frango de caril, salada de tabulé, e sopa de legumes. Isto porque a avaliação dos prazos de validade dos produtos RTE implica avaliar os parâmetros de qualidade e verificar o cumprimento da legislação em

vigor, de forma a obter produtos alimentares seguros e que correspondam à expectativa dos consumidores.

Foi realizado um estágio na GESCO Società Cooperativa Agricola (Amadori) e, nesse contexto foi desenvolvido um projeto com duplo objetivo de (a) satisfazer os interesses da entidade de acolhimento (do estágio) e (b) realizar o projeto conducente à dissertação de mestrado, assim sendo, este trabalho representou uma oportunidade de fazer um estudo científico com utilidade empresarial, numa perspetiva translacional (Woolf, 2008).

Esta dissertação está estruturada em cinco partes. Começa por um enquadramento teórico, onde são realçados os aspetos relativos a segurança e qualidade alimentar, legislação alimentar, perigos para o consumidor, parâmetros que influenciam o tempo de vida útil, alimentos prontos a consumir, alterações de natureza microbiológica e sensorial e métodos geralmente utilizados para definição do tempo de vida útil. Depois dos capítulos relativos a materiais e métodos, são apresentados os resultados do estudo: características microbiológicas dos produtos RTE em estudo (frango de caril, salada de *tabulé* e sopa de legumes), bem como as respetivas características sensoriais. Por fim, são discutidos os principais resultados do estudo, bem como as conclusões, com sugestões para estudos adicionais e potencial utilidade prática do estudo.

## 2. Enquadramento teórico

A indústria alimentar depara-se atualmente com dois grandes desafios: (a) a necessidade de fornecer alimentos acessíveis, nutritivos e seguros para uma população em crescimento contínuo e (b) uma procura crescente por alimentos minimamente processados e altamente perecíveis (DeFries et al., 2015). Neste contexto, as questões da segurança alimentar e da qualidade dos produtos alimentares são centrais, sendo ambas objeto de estudo neste projeto de mestrado.

### 2.1. Segurança e qualidade alimentar

Muitas vezes, os termos qualidade alimentar e segurança alimentar não são diferenciados. No entanto, existem diferenças muito relevantes entre estes conceitos.

Existe também alguma confusão semântica entre os termos “segurança alimentar” e “insegurança alimentar”. Estes termos representam constructos muito distintos, como reconhecido pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em 2004 (Robertson et al., 2004). Em Portugal, o conceito de segurança alimentar está mais direcionado para o termo inglês *Food Safety* do que propriamente para a tradução literal de *Food Security*. *Food Security* (“insegurança alimentar”, em português), designa a escassez ou a dificuldade no acesso a alimentos suficientes, seguros e nutritivos, que permitam satisfazer as necessidades nutricionais e preferências alimentares de um indivíduo, garantindo-lhe uma vida ativa e saudável. A insegurança alimentar é uma grande preocupação em grandes partes do mundo em desenvolvimento. A produção de alimentos deve claramente aumentar significativamente para atender às procuras futuras de uma população mundial cada vez abundante. A insegurança alimentar pode levar a diferentes manifestações de malnutrição e afetar a qualidade da dieta de diferentes maneiras, podendo levar à desnutrição, pré-obesidade ou à obesidade. Garantir o acesso a uma dieta saudável é um pré-requisito para atingir a meta de erradicar todas as formas de desnutrição (Organização das Nações Unidas, 2016). Um dos primeiros meios para combater os desequilíbrios e reduzir as tensões entre o aumento necessário do consumo e o aumento desafiante da produção, é também promover a redução do desperdício alimentar, que por si só tem um potencial considerável para aumentar a eficiência de toda a cadeia alimentar. Num mundo com recursos naturais limitados (terra, água, energia, fertilizantes) e onde as soluções

económicas podem ser encontradas para produzir alimentos seguros e nutritivos para todos, reduzir as perdas de alimentos não deve ser uma prioridade esquecida (Gustavsson et al., 2011).

Por outro lado, *Food Safety* (“segurança alimentar”, em português) designa a disponibilidade de alimentos que não oferecem risco para a saúde do consumidor, não causando danos ao mesmo (ou seja, sem perigos físicos, químicos ou microbiológicos) quando preparados ou consumidos de acordo com o esperado.

Importa salientar que um produto seguro pode não ter qualidade para o consumidor. Mas o contrário já não se verifica uma vez que, se o produto não for seguro, não tem qualidade. Para produzir com qualidade há que garantir os pré-requisitos de segurança alimentar para depois cumprir as especificações de confeção e conservação do produto, que não devem ser mudadas a meio do processo produtivo (Borchers et al., 2010; Röhr et al., 2005).

Já no que se refere à qualidade dos alimentos, nomeadamente os produtos RTE esta depende da satisfação de vários requisitos. A qualidade dos alimentos é um conceito muito abrangente, estando associado a três componentes muito específicos: saúde, conveniência e prazer. Os consumidores valorizam num produto alimentar, entre outras características, uma boa relação qualidade/preço, uma boa aparência, um sabor de elevada palatabilidade, porção adequada, bem como aspetos associados ao *marketing* (nomeadamente a marca e a embalagem). A inovação associada ao produto alimentar também é muito apreciada, bem como a relação percecionada entre o alimento e a saúde. Existem ainda outros aspetos inerentes à perceção de qualidade do produto alimentar, como a origem do alimento, o impacto ambiental, as modas e os nichos de mercado. Os produtores têm que ter em atenção todas estas valências de qualidade aquando da produção, distribuição e conservação dos produtos (Peri, 2006).

Segundo Juran, a qualidade de um produto pode ser definida como: (a) características do produto que atendem às necessidades dos clientes e, portanto, promovem satisfação com o produto, (b) ausência de deficiências (Juran, 1904; citado em (Defeo, 2016)). Estes conceitos são válidos nos dias de hoje: a norma ISO 9001:2015 que trata dos fundamentos e vocabulário do Sistema de Gestão da Qualidade, define no item 3.1.1 qualidade como sendo: “o grau no qual um conjunto de características inerentes satisfaz a requisitos.” (Instituto Português da Qualidade, 2005).

Para os consumidores, a avaliação da qualidade baseia-se no aspeto visual do produto alimentar, que é a base da decisão de compra. Um produtor deve procurar cumprir as expectativas básicas do consumidor, garantindo segurança, higiene,

cuidados na preparação e conservação das características sensoriais imediatamente após a produção bem como durante o armazenamento, de modo a que não existam contaminações químicas, físicas ou desenvolvimento de microrganismos (Bilska & Kowalski, 2014).

A indústria alimentar utiliza uma vasta gama de técnicas de processamento para poder garantir o nível exigido de qualidade nutricional, a nível sensorial e microbiológico, sendo estas características determinadas por um conjunto alargado de fatores, incluindo: (a) qualidade das matérias-primas e dos métodos de processamento utilizados durante o fabrico e manipulação dos alimentos (incluindo a utilização inadequada de produtos químicos agrícolas, como por exemplo, pesticidas ou herbicidas), e (b) presença ou ausência de infraestruturas adequadas de armazenamento de alimentos, bem como existência ou não de normas reguladoras (e sua implementação) (World Health Organization, 2015).

Os processos de produção e os produtos alimentares têm um conjunto de características específicas que influenciam a qualidade do produto e a garantia de qualidade nos processos de produção. A variação da qualidade entre diferentes produtores e entre diferentes lotes de produção devido a, por exemplo, condições meteorológicas, variação biológica e sazonalidade, mas também a um resultado possível de variações na produção; perecibilidade de produtos frescos, torna fundamental estimar o prazo de validade a aplicar (Trienekens & Zuurbier, 2008).

A partir da década de 70, o reconhecimento da importância de prevenção de doenças de origem alimentar e a preocupação com a segurança dos alimentos adquiriram uma relevância crescente. A necessidade de estabelecer critérios microbiológicos (CM) começou a ser sentida há cerca de 50 anos, para responder ao crescente interesse e preocupação com a saúde pública, tornando-se um desafio para os produtores do setor agroalimentar (Saraiva et al., 2019).

Os sistemas de gestão da segurança alimentar baseiam-se na implementação de medidas preventivas, tais como o cumprimento das Boas Práticas Agrícolas (BPA), das Boas Práticas de Higiene e de Fabrico (BPHF) e a aplicação do Sistema de Análise de Perigos e Controlo de Pontos Críticos (HACCP), sendo que as análises microbiológicas fazem parte do sistema de gestão do risco e de controlo de perigos. Os testes microbiológicos podem ser utilizados para validar e monitorizar processos e pontos críticos de controlo (PCC) identificados através do sistema HACCP (Saraiva et al., 2019).

O *Codex Alimentarius* (do latim Lei ou Código dos Alimentos) é uma coletânea de normas alimentares adotadas internacionalmente e apresentadas de modo uniforme. Inclui ainda disposições de natureza consultiva na forma de códigos de práticas, diretrizes e outras medidas recomendadas, destinadas a alcançar os objetivos do *Codex Alimentarius* (Organização Pan-Americana da Saúde et al., 2003). Foi criado pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) e pela OMS, com o propósito de proteger a saúde dos consumidores garantindo que os alimentos não tenham efeitos indesejáveis na saúde e garante práticas idênticas em todas as empresas do setor alimentar. Determina também os Princípios Gerais da Higiene Alimentar que incluem as práticas de higiene desde a produção primária até ao consumidor final, destacando os principais controlos de higiene em cada fase e garantindo a segurança alimentar (Bilska & Kowalski, 2014; World Health Organization (WHO) & Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2009).

## 2.2. Legislação alimentar

Existem vários quadros legislativos que estabelecem normas de qualidade e segurança alimentar, quer ao nível da produção quer ao nível da conservação e distribuição dos alimentos. De acordo com o terceiro artigo do Regulamento (CE) Nº. 178/2002 do Parlamento Europeu e do Conselho de 28 de Janeiro de 2002, entende-se por legislação alimentar *“as disposições legislativas, regulamentares e administrativas que regem os géneros alimentícios em geral e a sua segurança em particular, a nível quer comunitário quer nacional, abrange todas as fases da produção, transformação e distribuição de géneros alimentícios, bem como de alimentos para animais produzidos para, ou dados a, animais produtores de géneros alimentícios”* (Parlamento Europeu e do Conselho, 2002, L 31/7). *“A legislação alimentar deve procurar alcançar um ou mais objetivos gerais de um elevado nível de proteção da vida e da saúde humanas, a proteção dos interesses dos consumidores, incluindo as boas práticas no comércio de géneros alimentícios, tendo em conta, sempre que adequado, a proteção da saúde e do bem-estar animal, a fitossanidade e o ambiente”*. *“A legislação alimentar deve também visar a realização da livre circulação na Comunidade de géneros alimentícios e de alimentos para animais, fabricados ou comercializados em conformidade com os princípios e os requisitos gerais”* (Parlamento Europeu e do Conselho, 2002, L 31/8). Esta legislação tem como objetivo a proteção dos interesses dos consumidores de modo a fornecer-lhes uma base para que possam fazer escolhas com conhecimento de causa em relação aos géneros alimentícios que consomem. Para além disto, previne as práticas fraudulentas ou

enganosas, a adulteração de géneros alimentícios, quaisquer outras práticas que possam induzir em erro o consumidor (Parlamento Europeu e do Conselho, 2002).

O Regulamento (CE) Nº. 178/2002 do Parlamento Europeu e do Conselho de 28 de Janeiro de 2002 prevê os fundamentos para garantir um elevado nível de proteção da saúde humana e dos interesses dos consumidores em relação aos géneros alimentícios, tendo nomeadamente em conta a diversidade da oferta de géneros alimentícios, incluindo produtos tradicionais e assegurando, ao mesmo tempo, o funcionamento eficaz do mercado interno. Este regulamento estabelece princípios e responsabilidades comuns, a maneira de assegurar uma sólida base científica e disposições e procedimentos organizacionais eficientes para servir de base à tomada de decisões em questões de segurança dos géneros alimentícios e dos alimentos para animais. Assim, não serão colocados no mercado quaisquer géneros alimentícios que não sejam seguros. Os géneros alimentícios não serão considerados seguros se se entender que são prejudiciais para a saúde e no caso de serem impróprios para consumo humano. Os operadores das empresas do setor alimentar e do setor dos alimentos para animais devem assegurar, em todas as fases da produção, transformação e distribuição nas empresas sob o seu controlo, que os géneros alimentícios ou os alimentos para animais preencham os requisitos da legislação alimentar aplicáveis às suas atividades e verificar o cumprimento desses requisitos. Nas fases referidas será assegurada a rastreabilidade dos géneros alimentícios, dos alimentos para animais, dos animais produtores de géneros alimentícios e de qualquer outra substância destinada a ser incorporada num género alimentício ou num alimento para animais ou com probabilidade de o ser (Parlamento Europeu e do Conselho, 2002).

A legislação europeia que diz respeito à segurança alimentar foi reorganizada com a entrada em vigor em Janeiro de 2006 do “*pacote de higiene*” (Reg. (CE) 852/2004, 853/2004, 854/2004, 882/2004) e o Reg. (CE) 2073/2005). Neste contexto legislativo são apresentados os métodos e critérios tidos como adequados para avaliar a inocuidade microbiológica, bem como resíduos que são potencialmente perigosos. O método a utilizar será a avaliação do risco ligada ao consumo do alimento (Nuvoloni et al., 2007).

Como verificado, as políticas legislativas de segurança alimentar destinam-se a proteger a saúde do consumidor atuando, deste modo, em todo o tipo de alimentos incluindo produtos RTE. O facto de serem seguidas boas práticas de fabrico não determina, por si só, que os alimentos produzidos estejam isentos de microrganismos

patogénicos. A meta a atingir será a obtenção de alimentos com o mais baixo teor possível de microrganismos (Viegas, 2014).

A legislação alimentar em muitos países desenvolvidos exige que a maioria dos alimentos pré-embalados tenha uma data de 'durabilidade mínima' (Parlamento Europeu; Conselho da União Europeia, 2011). Os procedimentos têm sido estabelecidos (principalmente pelos fabricantes) para que a vida útil possa ser avaliada (Parlamento Europeu e do Conselho, 2002). Segundo o regulamento europeu nº 1169/2011 no caso de géneros alimentícios microbiologicamente muito perecíveis e que, por essa razão, sejam suscetíveis de apresentar após um curto período um perigo imediato para a saúde humana, a data de durabilidade mínima deve ser substituída pela data-limite de consumo. Depois da data-limite de consumo, o género alimentício é considerado não seguro nos termos do artigo 14º, números 2 a 5, do Regulamento (CE) nº 178/2002 (Parlamento Europeu; Conselho da União Europeia, 2011; Parlamento Europeu e do Conselho, 2002).

É crime vender qualquer alimento após a sua data de validade. A data “consumir de preferência antes de” é a data até à qual (e inclusive) o alimento “pode razoavelmente esperar manter as suas propriedades específicas”, desde que tenha sido armazenado de forma adequada. Os alimentos ainda podem ser ingeridos após esta data, mas a sua aparência e qualidade podem ficar comprometidas (Nicoli, 2012).

Naturalmente, são necessárias instruções relevantes de armazenamento, juntamente com a data “consumir de preferência antes de”, para que o alimento seja apreciado da melhor forma possível (ASAE, 2015). Embora o termo "propriedades específicas" possa não estar bem definido para muitos alimentos, os regulamentos como por exemplo “The Food Labelling Regulations” exigem que os nomes e as descrições dos produtos estejam corretos e estes podem ser considerados enganosos se o prazo de validade definido permitir alterações relevantes nas propriedades dos alimentos. Exemplos destas alterações incluem: (a) a separação aquosa ou oleosa que ocorre durante o prazo de validade do creme de salada e maionese, (b) as vitaminas indicadas no rótulo desaparecerem (por exemplo, no caso de existir perda durante o armazenamento), (c) os bolos podem não subir suficientemente durante a cozedura, como resultado da falha do fermento em pó na mistura do bolo, que tem efeito na desejada alteração química (U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration & Center for Food Safety and Applied Nutrition, 2013).

A propriedade sensorial de uma bebida pode ser prejudicada devido à simples perda de sabor ou a alterações de deteriorantes químicos. O vendedor é, em geral,

legalmente responsável pela conformidade do alimento vendido ao consumidor. No entanto, no caso de alimentos processados, um retalhista normalmente exige a mercadoria com um prazo de validade remanescente suficiente para venda e que permita ao consumidor o armazenamento por um período de tempo razoável antes da utilização (Nicoli, 2012).

Também deve ser reconhecido que, se os alimentos chegam ao mercado em condições fora dos parâmetros, a sanção legal imposta pela autoridade reguladora será provavelmente trivial em comparação com a publicidade adversa que tal ação atrairia, especialmente para uma empresa de grande dimensão ou bem conhecida (Nicoli, 2012).

No que diz respeito aos critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios o Regulamento (CE) nº. 2073/2005, e sucessivas alterações, considera que a legislação alimentar tem por objetivo fundamental assegurar um elevado nível de proteção da saúde pública. Considera ainda que os perigos microbiológicos que os géneros alimentícios possam apresentar constituem uma importante fonte de doenças de origem alimentar. De acordo com este regulamento, os géneros alimentícios não devem conter microrganismos ou as suas toxinas e metabolitos em quantidades que representem um risco inaceitável para a saúde humana. Os CM dão orientações quanto à aceitabilidade dos géneros alimentícios e dos seus processos de fabrico, manuseamento e distribuição. A sua utilização deve fazer parte integrante da aplicação de procedimentos baseados no sistema HACCP e de outras medidas de controlo de higiene, servindo para a sua validação e verificação. O critério microbiológico é um critério que define a aceitabilidade de um produto de um lote de géneros alimentícios ou de um processo, baseado na ausência/presença de microrganismos, ou no seu número, e/ou na quantidade das suas toxinas/metabolitos, por unidade(s) de massa, volume, área ou lote. Microrganismo inclui bactérias, vírus, leveduras, bolores, micro-algas, protozoários parasitas, helmintas parasitas microscópicos, bem como as suas toxinas e metabolitos. Os critérios de higiene dos processos indicam se o processo de produção funciona de forma aceitável. Não são aplicáveis aos produtos colocados no mercado. Estabelecem valores de contaminação indicativos, acima dos quais se tornam necessárias medidas corretivas para preservar a higiene do processo em conformidade com a legislação alimentar (Comissão das Comunidades Europeias, 2005).

Os critérios de segurança definem a aceitabilidade de um produto ou de um lote de géneros alimentícios, e são aplicáveis aos produtos colocados no mercado. Um lote é um grupo ou conjunto de produtos identificáveis obtidos a partir de um determinado

processo em circunstâncias praticamente idênticas e produzidos num determinado local durante um período de produção definido (Comissão das Comunidades Europeias, 2005).

Para avaliar a qualidade microbiológica dos alimentos é necessário recorrer a critérios microbiológicos pré-estabelecidos, nomeadamente no que se refere a:

- “*Standard*” ou norma: critério incluído na legislação ou regulamento e cujo cumprimento é obrigatório. Estes são introduzidos pelos Governos ou pelas autoridades reguladoras. Exemplos típicos incluem a maioria dos critérios das diretivas da Comunidade Europeia (CE)/União Europeia (UE), articulando com Instrumentos Estatuários dos países onde os critérios são estabelecidos. A indústria alimentar deve assegurar o cumprimento total destas normas, as quais são monitorizadas pelas agências de execução. Para além de constituírem uma infração, os produtos que não cumpram com as normas serão considerados impróprios para o uso pretendido com a consequência de aplicação de coimas se não forem cumpridos (Saraiva et al., 2019; Stannard, 1997).
- Especificações: critérios aplicados a matérias-primas, ingredientes ou produto final, que são utilizados em trocas comerciais. O critério pode incidir sobre patógenos, toxinas, microrganismos indicadores ou microrganismos de deterioração onde a não conformidade possa afetar a segurança e/ou a qualidade do produto durante o prazo de validade. As especificações do produto final são normalmente mais rigorosas do que as normas microbiológicas, de modo a proporcionar uma margem de segurança. Os produtos que não cumpram as especificações devem ser investigados de modo a que sejam determinadas as causas. A rejeição dos produtos pode ocorrer mesmo que estes não sejam perigosos ou prejudiciais no momento do ensaio. É importante garantir que os componentes das especificações microbiológicas são relevantes e realistas e totalmente compreendidos por ambas as partes no acordo (Saraiva et al., 2019; Stannard, 1997).
- Valores guia, “*guidelines*” ou diretrizes: constituem linhas de orientação para avaliação da qualidade microbiológica dos alimentos; servem para identificar situações que necessitam monitorização e para garantir o cumprimento de Boas Práticas de Higiene. Uma diretriz microbiológica é um critério aplicado em qualquer fase do processamento e da venda de produtos alimentares e que indica o estado microbiológico da amostra e ajuda a identificar situações que requerem atenção por razões de segurança ou qualidade dos alimentos. Os resultados obtidos a partir de testes com base numa diretriz microbiológica também ajudam na análise de tendências. Os resultados que apresentam desvios significativos da tendência

podem indicar uma tendência para uma situação fora de controlo e salientar a necessidade de atenção antes que o controlo seja perdido. As diretrizes são normalmente autoimpostas pela indústria alimentar, mas podem ocasionalmente ser incluídas na legislação. Os produtos que não cumpram as diretrizes devem resultar em ações de investigação para que seja identificada e retificada a causa. As diretrizes relativas aos níveis e tipos de microrganismos relevantes em determinados alimentos produzidos de acordo com boas práticas de produção podem também ser fornecidas pelas associações industriais aos seus membros (Saraiva et al., 2019; Stannard, 1997).

### *2.3. Perigos para o consumidor*

O conceito de perigo num género alimentício foi definido, pela comissão do *Codex Alimentarius*, como qualquer propriedade biológica, química ou física, com potencial de causar efeitos adversos na saúde (Suhendra et al., 2020).

De acordo com o regulamento nº 178/2002 perigo pode significar um agente biológico, químico ou físico presente nos géneros alimentícios ou nos alimentos para animais, ou uma condição dos mesmos, com potencialidades para provocar um efeito nocivo para a saúde (Parlamento Europeu e do Conselho, 2002).

Os perigos podem ser classificados como biológicos, químicos ou físicos (ASAE, 2020). Nesta categoria de perigos biológicos incluem-se as bactérias, fungos, vírus e parasitas patogénicos e toxinas microbianas. Estes organismos estão frequentemente associados à manipulação dos alimentos por parte dos operadores e aos produtos crus contaminados que sejam utilizados como matéria-prima. Muitos desses microrganismos aparecem naturalmente no ambiente onde os alimentos são processados, outros destes microrganismos são destruídos através de processos térmicos e muitos deles também podem ser controlados por práticas adequadas de manipulação e armazenamento, boas práticas de higiene e controlo de tempo e temperatura dos processos (ASAE, 2020).

As bactérias patogénicas são, entre outro tipo de microrganismos, as responsáveis pelo maior número de casos de intoxicação alimentar. O armazenamento ou a manipulação inadequada de alimentos crus contribuem para a existência de um número significativamente maior desses microrganismos ao longo do processamento. A maioria das bactérias morre durante a confeção, mas algumas existem sob uma forma resistente denominada esporo. Trata-se de uma espécie de invólucro que protege a bactéria das condições adversas, permitindo-a sobreviver até que se criem

as condições que favoreçam novamente a sua multiplicação. É, por isso, essencial conhecer e controlar os fatores que influenciam o desenvolvimento bacteriano, de modo a contrariar este processo, uma vez que os esporos apresentam uma resistência superior ao calor, bem como às radiações, antibióticos e aos agentes desinfetantes. No entanto, nem todas as bactérias produzem esporos. As bactérias esporuladas mais vulgarmente presentes nos alimentos pertencem aos géneros *Bacillus* e *Clostridium* (ASAE, 2020).

Os fungos incluem bolores e leveduras. Embora existam fungos que são benéficos e são inclusivamente utilizados na produção de determinados alimentos, como o queijo, os iogurtes e a cerveja, existem outros que produzem substâncias tóxicas (micotoxinas), que são prejudiciais ao homem (ASAE, 2020).

Os fungos crescem mais lentamente que as bactérias em alimentos pouco ácidos (pH superior a 4,6) e com elevada aw, pelo que raramente constituem um perigo para estes alimentos. Contudo, em alimentos ácidos e em alimentos com baixa aw a sua velocidade de propagação é superior à das bactérias, pelo que o risco associado a este perigo biológico é grande em frutos e sumos de frutos frescos, vegetais, queijos, cereais, alimentos salgados, alimentos acidificados e alimentos secos, sempre que as condições de armazenamento não forem as mais adequadas. O risco associado a este perigo agrava-se, quando se está na presença de uma espécie produtora de micotoxinas (ASAE, 2020).

Os perigos químicos estão geralmente relacionados com contaminações graves e são responsáveis por problemas de saúde associados a toxicidade crónica (ASAE, 2020).

Nesta gama inclui-se um vasto conjunto de perigos de origens diversas, desde perigos associados diretamente às características das próprias matérias-primas até aos perigos criados ou introduzidos durante a confeção dos alimentos, passando por aqueles que resultam da contaminação das matérias-primas utilizadas. Destacam-se (Baptista & Linhares, 2005):

- Aditivos alimentares (quando utilizados em concentrações indevidas);
- Pesticidas químicos (por exemplo: inseticidas, rodenticidas, fungicidas, herbicidas);
- Medicamentos veterinários (por exemplo: antibióticos, hormonas);
- Metais pesados (por exemplo: toxinas associadas a mariscos, cogumelos);
- Alergénios (por exemplo: glúten, lactose)
- Químicos criados durante o processo de confeção;

- Químicos introduzidos nos alimentos (por exemplo: produtos de limpeza e desinfecção, lubrificantes).

Na categoria de perigos físicos incluem-se um vasto conjunto de objetos, que podem ter origens diferentes. Podem provir dos materiais de embalagem e/ou acondicionamento das matérias-primas, de produtos em curso de preparação e/ou confeção ou de produtos finais, dos equipamentos e utensílios e ainda dos operadores. Como objetos extrínsecos aos alimentos é possível enumerar aqueles que têm origem (a) nas instalações, nos equipamentos ou nos utensílios, (b) nos operadores que direta ou indiretamente manipulam os alimentos, (c) nos materiais de embalagem, (d) nas atividades de manutenção, (e) nas atividades de higienização dos equipamentos e instalações e (f) em pragas (Baptista & Venâncio, 2003).

#### *2.4. Parâmetros que influenciam o tempo de vida útil*

Após a abertura da embalagem, as alterações ambientais (atmosfera e humidade), erros de manipulação e modificação da temperatura de conservação podem comprometer a segurança do produto, especialmente quando se trata de géneros alimentícios perecíveis (Nicoli, 2012).

Segundo a *Food Safety Authority of Ireland* (2019) o tempo de vida útil é o período durante o qual um alimento mantém a sua segurança e qualidade em condições razoavelmente previsíveis de distribuição, armazenamento e uso, permanecendo aceitável para consumo humano em termos de segurança, características nutricionais e sensoriais (Corradini & Peleg, 2007; Man & Jones, 1996). Já de acordo com a *New Zealand Food Safety Authority* (2005) o tempo de vida útil é um guia de orientação para os consumidores sobre o período de tempo durante o qual os alimentos podem ser mantidos antes que se comecem a deteriorar, desde que sejam seguidas as condições de conservação indicadas (Food Safety Authority of Ireland, 2019; New Zealand Food Safety Authority, 2005).

O prazo de validade de um produto começa a partir do momento em que o produto é fabricado. A sua duração depende de muitos fatores, incluindo o tipo de ingredientes, o processo de fabrico, o tipo de embalagem e as condições de armazenamento (Trienekens & Zuurbier, 2008).

Muitos fatores podem influenciar o prazo de validade e podem ser categorizados em fatores intrínsecos, extrínsecos e implícitos (Saraiva et al., 2019).

Prazos longos de validade e estabilidade à temperatura ambiente, são condições que normalmente requerem a utilização de tratamentos intensos (por exemplo, conservas)

que muitas vezes alteram a qualidade sensorial geral dos produtos alimentares em relação às propriedades dos produtos frescos. Deste modo, uma combinação de diferentes métodos de processamento pode ser útil para manter a qualidade sensorial, enquanto se alcança o mesmo nível de estabilidade microbiana. Este é o princípio da técnica de barreira para o controlo do crescimento microbiano. Os consumidores muitas vezes associam o armazenamento em prazos de validade longos a uma baixa qualidade dos produtos. Assim, mais recentemente tem havido um movimento no sentido de uma maior utilização de métodos de processamento mínimos, que resultam numa maior qualidade, no entanto com a necessidade de armazenamento refrigerado (Subramaniam & Kilcast, 2000; Valero et al., 2012).

As muitas opções disponíveis incluem tratamentos suaves com calor, micro-ondas e radiação e as tecnologias relativamente novas, como o processamento a alta pressão, o tratamento com campos elétricos e a luz de alta intensidade (Subramaniam & Kilcast, 2000).

#### **2.4.1. Fatores intrínsecos**

Os fatores intrínsecos são influenciados por variáveis como o tipo e a qualidade da matéria-prima e a formulação e estrutura do produto. Os fatores intrínsecos são inerentes ao próprio alimento, já confeccionado, e dependem da sua própria natureza. Incluem o seguinte: a  $a_w$ , o pH, a composição química do alimento, a estrutura biológica do alimento, e as substâncias antimicrobianas naturais presentes no alimento (Subramaniam & Kilcast, 2000).

A disponibilidade de água é um elemento central da conservação dos alimentos, tanto no que diz respeito às alterações químicas como microbiológicas. De facto, os microrganismos precisam de água disponível, para poderem desenvolver-se nos alimentos. Essa disponibilidade de água, ou seja, a água existente em alimentos sem estar ligada a moléculas alimentares e que suporta o crescimento de bactérias, leveduras ou bolores, é expressa em termos de atividade de água: a  $a_w$  pura corresponde a um valor igual a 1,00, enquanto a  $a_w$  num alimento completamente desidratado é mais próxima de 0,00 (Department of Health Education & Welfare of the Public Health Service - Food and Drug Administration, 2014). A maioria dos alimentos frescos, como as carnes, o pescado, os frutos e os vegetais têm valores de  $a_w$  que se encontram próximos das condições ótimas para o crescimento da maioria das bactérias ( $a_w$  entre 0,97 e 0,99). A maioria das bactérias patogénicas encontra-se controlada quando a  $a_w$  é inferior a 0,85, sendo que a produção de toxinas é, na maioria dos casos, inibida a valores de  $a_w$  inferiores a 0,90. O *Staphylococcus aureus*

é uma exceção, podendo crescer e produzir toxina em alimentos com  $a_w$  inferiores a 0,90 (Subramaniam & Kilcast, 2000). Ao contrário da generalidade das bactérias, que necessitam também de atividades de água da ordem de 0,90 para se desenvolverem, a maior parte dos fungos desenvolve-se em alimentos com valores de  $a_w$  superiores a 0,70. Perante valores de  $a_w$  abaixo de 0,60, os fungos não são capazes de germinar e de se desenvolver; contudo, mantêm a sua viabilidade e podem retomar o crescimento e o metabolismo normal, assim que a  $a_w$  aumente (Subramaniam & Kilcast, 2000). A  $a_w$  pode ser controlada através da adição de solutos (como o sal e/ou o açúcar), pela remoção da água por processos de secagem ou técnica de confeção, ou pela redução da disponibilidade da água através do congelamento (Baptista & Linhares, 2005).

Os alimentos considerados ácidos apresentam valores de pH inferiores a 7, podendo ser divididos em duas categorias: pouco ácidos ( $4,6 < \text{pH} < 7,0$ ) e ácidos ( $\text{pH} < 4,5$ ). Por outro lado, os alimentos considerados alcalinos (ou básicos) apresentam valores de pH superiores a 7. Os que apresentam valores de pH igual a 7 são considerados neutros. A maioria das bactérias não se multiplica em alimentos ácidos ( $\text{pH} < 4,6$ ), tendo um pH ótimo para crescimento entre 6,0 e 8,0 e sendo raros os que se desenvolvem abaixo de 4. A redução do pH de um alimento contribui para diminuir a capacidade de desenvolvimento microbiano, razão pela qual a acidificação de alimentos, quer através de processos fermentativos (exemplo: iogurtes), quer através da adição de ácidos fracos (exemplo: conservas de pickles) é utilizada como técnica de conservação dos alimentos (Baptista & Linhares, 2005).

#### **2.4.2. Fatores extrínsecos**

Os fatores extrínsecos são aqueles a que o produto final está exposto durante e após a sua confeção, armazenamento e distribuição, como sejam a temperatura, a humidade relativa e a composição da atmosfera (Subramaniam & Kilcast, 2000).

Todos os microrganismos possuem uma gama de temperatura na qual crescem, existindo um valor mínimo, um máximo e um valor ótimo para o seu crescimento. A relação entre a temperatura e a taxa de crescimento de microrganismos varia significativamente entre eles. A maioria dos microrganismos patogénicos encontram condições ótimas para se desenvolverem entre os 30 e os 45°C, sendo o seu crescimento tanto mais acelerado quanto mais próximo da temperatura ótima de crescimento se encontrar o alimento (Subramaniam & Kilcast, 2000).

A temperatura de maior risco para a manutenção de alimentos encontra-se entre os 4 e os 63°C (“zona de perigo”), sendo a temperatura ótima de crescimento para a

maioria dos patogénicos à volta dos 37°C (temperatura do corpo humano). Abaixo dos 4°C, as bactérias multiplicam-se mais lentamente, reduzindo a sua atividade metabólica até ficarem na forma latente. Quando a temperatura aumenta, as bactérias voltam a encontrar as condições adequadas para a sua multiplicação, sendo este o problema dos alimentos refrigerados, nos quais não ocorre a destruição das bactérias. Acima dos 63 °C as bactérias começam a morrer, sendo maior a sua mortalidade ao aumentar o tempo de exposição a altas temperaturas (Subramaniam & Kilcast, 2000).

Os efeitos letais da congelação e refrigeração dependem do microrganismo em questão e das condições de tempo e temperatura de armazenamento. Alguns microrganismos podem permanecer viáveis por longos períodos em alimentos congelados (temperaturas inferiores a -18 °C) (Subramaniam & Kilcast, 2000).

A resistência a altas temperaturas (> 100 °C) depende das características dos microrganismos. Entre os patogénicos, o *Staphylococcus aureus* é um dos mais resistentes e pode sobreviver a 60 °C durante 15 minutos. No caso dos fungos, a gama de temperaturas ótima para o seu desenvolvimento varia entre os 25 a 30°C, para a temperatura mínima, e os 40 a 45°C, para a temperatura máxima. No entanto, alguns fungos são capazes de se desenvolver a temperaturas de refrigeração acima de 0°C (exemplo: *Penicillium roqueforti*), enquanto outros resistem e desenvolvem-se a temperaturas de 55 °C (por exemplo: *Aspergillus fumigatus*) (Baptista & Linhares, 2005).

A humidade relativa influencia diretamente a aw do alimento (fator intrínseco relevante, como já referido). Se um alimento com baixa aw está armazenado num ambiente com alta humidade relativa, a aw deste alimento aumenta, permitindo a multiplicação de microrganismos. A combinação entre humidade relativa e temperatura não pode ser desprezada. Geralmente, quanto maior a temperatura de armazenamento, menor a humidade relativa e vice-versa. Por outro lado, alterando a composição da atmosfera é possível retardar a multiplicação de microrganismos sem diminuir a humidade relativa (Baptista & Linhares, 2005).

## 2.5. Alimentos prontos a consumir

O nosso modo de vida mudou profundamente e, conseqüentemente, os hábitos alimentares, sendo o consumo de refeições prontas ou pré-cozinhadas cada vez mais prevalente (Jackson & Viehoff, 2016). Este tipo de refeição tem elevada palatibilidade embora possam estar associados a uma dieta mais desequilibrada, reações gastrointestinais, hepáticas, autoimunes ou alérgicas (Corrigan et al., 2012)

O mercado de produtos RTE cresceu consideravelmente nos últimos anos devido a uma procura crescente por alimentos de conveniência, devido a diversas circunstâncias, como por exemplo a diminuição nas famílias que fazem refeições juntas e um aumento nas famílias de menor dimensão. As refeições prontas podem ser definidas como refeições completas e de preparação simples que requerem poucos ou nenhum ingrediente extra e têm como objetivo substituir uma refeição caseira (Van Der Horst et al., 2011).

Os alimentos RTE, também chamados alimentos de conveniência, são hoje de enorme importância para as sociedades porque constituem uma das mudanças mais importantes nos hábitos de consumo e são uma das bases mais importantes sobre a qual assentam os objetivos da indústria alimentar. Na literatura, os alimentos de conveniência são geralmente referidos como alimentos pré-preparados comercialmente, nos quais parte do trabalho, conhecimento, habilidades culinárias e tempo necessário para preparar os alimentos é transferido da cozinha doméstica para a indústria de alimentos e distribuição alimentar. Estudos de mercado confirmam que os alimentos de conveniência pertencem a um dos setores de maior sucesso e crescimento mais rápido na indústria de alimentos. Esta categoria irá continuar a ganhar importância nos próximos anos, quer no que diz respeito ao consumo, quer no que diz respeito à diversidade de produtos oferecida. Os alimentos de conveniência são vistos como umas das mais importantes “formas de racionar” do fornecimento de alimentos que tem origem nos vários processos desenvolvidos no passado (Daniels & Glorieux, 2015).

Os alimentos RTE são consumidos no mesmo estado em que são distribuídos e vendidos e que não incluem processamento pelo consumidor. Podem ser crus, cozinhados, quentes ou aquecidos e podem ser consumidos sem mais aquecimento (Centre for food safety, 2014; New Zealand Food Safety Authority, 2009). Constituem um grupo heterogéneo de produtos alimentares que são sujeitos a uma forte manipulação antes de estarem prontos para o consumo. Muitas vezes são uma mistura de vários ingredientes de diversas naturezas resultantes das matérias-primas e mesmo do processo produtivo (Zavanella, Maurizio; Muliari, Riccardo; Mioni, Renzo; D’Incau, 2008).

Existe uma grande variedade de alimentos prontos a comer, que podem incluir ou não, ingredientes cozinhados. Devido à variedade existente, a interpretação dos resultados das análises efetuadas deve ter em conta o método de processamento e os componentes individuais do alimento, bem como a suscetibilidade de alguns alimentos

para suportar crescimento de microrganismos patogénicos (New Zealand Food Safety Authority, 2009).

O documento “Valores-guia para interpretação de resultados de ensaios microbiológicos em alimentos RTE e em superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar” elaborado pelo Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (Saraiva et al., 2019), identifica os critérios microbiológicos aplicados a diferentes grupos de alimentos RTE. São identificados quatro grupos de alimentos RTE e estão organizados da seguinte forma:

- Grupo 1. Alimentos que sofreram tratamento térmico
- Grupo 2. Alimentos compostos de alimentos totalmente cozinhados ou pasteurizados, adicionados de componentes crus, ou carne ou peixe cru, pronto para consumo
- Grupo 3. Frutos e produtos hortícolas crus
- Grupo 4. Alimentos ou seus componentes contendo flora específica própria

Como se verifica através da análise da Tabela 1, estes quatro grupos foram ainda subdivididos em Subgrupos de acordo com o nível de manuseamento após a confeção, o tipo e proporção de componentes e a população a que se destinam (Saraiva et al., 2019).

*Tabela 1. Subgrupos de (a) alimentos sujeitos a tratamento térmico e (b) alimentos compostos de alimentos totalmente cozinhados/pasteurizados, adicionados de componentes crus ou carne ou peixe crus (Saraiva et al., 2019).*

Subgrupo	Categoria de alimentos	Exemplos
1 <sup>a</sup>	<p><b>Alimentos totalmente cozinhados, não manuseados após o tratamento térmico</b> Estão incluídos os alimentos fracionados em porções individuais e os que levam cobertura colocada em quente</p> <p><b>Alimentos reconstituídos a partir de um produto desidratado, com exceção das FDL</b></p>	<p><b>Pratos/aperitivos, servidos quentes</b> Pratos servidos quentes, sopas. Alimentos de Cook-chill e Cook freeze, após o reaquecimento/regeneração.</p> <p><b>Pratos/aperitivos, servidos frios</b> Bolinhos/pastéis de bacalhau, bolas de bacalhau/carne, croquetes, empadas, filetes de peixe, folares, panados, pastéis de carne/marisco/peixe, pizzas, quiches/tartes salgadas, rissóis.</p> <p><b>Pastelaria e sobremesas</b> Aletria, arroz doce, leite-creme e tapioca sem canela, biscoitos e bolachas, bolo de chocolate com e sem cobertura, compotas, croissants, frutas assadas ou cozidas, gelatinas, mousses instantâneas, pastéis de nata, pudins, queques, tartes de maçã.</p>
1B	<p><b>Alimentos totalmente cozinhados, manuseados após o tratamento térmico</b> estão incluídos os alimentos adicionados de componentes processados, com baixo pH ou baixo aW, como açúcar em pó, coco ralado, especiarias, frutos secos, maionese, mel, ketchup, xaropes de caramelo, de chocolate, de fruta, etc. ou congelados</p>	<p><b>Pratos/aperitivos, servidos frios</b> Crepes com recheio, salada russa com maionese, saladas frias de arroz/batata/massa, produtos hortícolas cozinhados com delícias do mar/atum/bacalhau/frango/pato/peixe desfiados e/ou frutos secos, amêndoas, nozes e pinhões. Alimentos de Cook-chill e Cook-freeze, antes do reaquecimento/regeneração. Crustáceos e moluscos bivalves cozidos.</p> <p><b>Pastelaria e sobremesas</b> Aletria, arroz doce, leite-creme e tapioca com canela, bolas de Berlim, éclairs, bavaoises, cheesecake e gelados com natas ultrapasteurizadas (UHT). Crepes com recheio e/ou cobertura, mousse de</p>

Subgrupo	Categoria de alimentos	Exemplos
		bolachas/biscoitos, rolo/torta de laranja, saladas de fruta em calda, salame de chocolate. <b>Sandes</b> Cachorro, hambúrguer no pão, prego no pão, sandes de atum/carne assada/panado. <b>Bebidas</b> Tisanas/chás com aromas.
1C	Alimentos com componentes totalmente cozinhados adicionados de componentes pasteurizados conservados em refrigeração e não incluídos no Grupo 1B	<b>Pratos/aperitivos, servidos frios</b> Fiambres/mortadelas fatiados, saladas frias de arroz/massa com fiambre. <b>Pastelaria e sobremesas</b> Gelados preparados com natas frescas, tartes com natas frescas, pastéis recheados com natas frescas.  <b>Sandes</b> Sandes de fiambre/mortadela/queijo flamengo.
1D	Fórmulas desidratadas para lactentes (FDL) reconstituídas	FDL reconstituídas, em biberão ou em copo.
2A	Alimentos compostos Estão incluídos os alimentos totalmente cozinhados adicionados de frutos/produtos hortícolas crus, em que os crus constituem apenas um apontamento, ou estavam congelados	Pratos/aperitivos Pratos cozinhados decorados com leves apontamentos de produtos hortícolas frescos (ex. coentros, hortelã, manjeriço, salsa), ou frutos (ex. morango ou rodela de laranja/limão/tomate). Sobremesas Gelados de fruta. Bebidas Batidos de fruta congelada.
2B	Alimentos compostos Estão incluídos os alimentos totalmente cozinhados/pasteurizados, adicionados de frutos crus com ou sem molhos	Pastelaria e sobremesas Bolos/pastéis/ tartes contendo fruta fresca, bolos/pastéis/tartes de natas frescas com frutas frescas, saladas de frutas com mistura de fruta fresca e fruta em calda. Bebidas Batidos de fruta,
2C	Alimentos compostos Estão incluídos os alimentos totalmente cozinhados/pasteurizados, adicionados de produtos hortícolas crus podendo incluir frutos crus	Pratos/aperitivos Prato de carne/peixe/ovos contendo mistura de vegetais ou frutos crus. Paté de atum/camarão/delícias do mar com cebola, húmus, salada de feijão-frade com salsa, cebola e ovo cozido, saladas mistas compostas de alimentos cozinhados e vegetais crus. Sandes Sandes contendo produtos hortícolas (ex:alface, cebola, cenoura, tomate, rúcula) frescos.
2D	Alimentos compostos e/ou com queijo (fabricado com leite cru), carne/peixe crus Estão incluídos queijos (fabricados com leite cru), carne/peixe/marisco crus/marinados/fumados/salgados acompanhados ou não de alimentos totalmente cozinhados/frutos/produtos hortícolas/algas crus	Pratos/aperitivos Sushi, Sashimi, Nigiri, Maki, Ceviche, Tártaro e Carpaccio de peixe/carne. Sandes Sandes de chouriço/presunto/salmão fumado com ou sem alface, cebola, tomate.

Adaptado de (Saraiva et al., 2019)

## 2.6. Alterações de natureza físico-química e microbiológica

Os alimentos RTE são perecíveis por natureza, pelo que é fundamental analisar os principais processos de deterioração. As principais causas de deterioração dos alimentos podem ocorrer através de alterações a nível físico, químico e microbiológico (Man & Jones, 1996).

Existem pontos críticos ao longo do processo de produção dos alimentos e importa ter estes pontos críticos em especial atenção de forma a eliminar (ou pelo menos minimizar) o risco de quebra de segurança e/ou da qualidade dos alimentos (Kotsanopoulos & Arvanitoyannis, 2017). No Anexo 1 é apresentado o fluxograma de produção de cada um dos três produtos alimentares que foram alvo do presente

estudo (frango de caril, salada de *tabulé*, e sopa de legumes). Os pontos críticos no frango de caril estão identificados no momento de armazenamento temporário, no momento do armazenamento com temperatura controlada, no controlo através do detetor de metais, na cozedura de grandes pedaços de carne e na transição do detetor de metais para o congelamento no túnel e pasteurização. Para a salada de *tabulé*, os pontos críticos estão identificados no momento do armazenamento de matérias-primas, armazenamento, controlo através do detetor de metais e pasteurização. No caso da sopa de legumes, os pontos críticos encontram-se no momento de armazenamento de matérias-primas, armazenamento de doses temporário, controlo através do detetor de metais, e dosagem a quente/embalamento.

Durante o armazenamento e distribuição, os alimentos são expostos a diversos fatores extrínsecos anteriormente explorados, que podem influenciar negativamente os seus atributos de qualidade. Como consequência destas alterações, os alimentos podem deixar de cumprir os critérios exigidos de qualidade e segurança alimentar, passando a ser considerados inadequados para consumo, o que corresponde ao fim do seu tempo de vida útil/prazo de validade (Man & Jones, 1996).

É fundamental compreender quais as reações que causam deterioração dos alimentos e se as mesmas são adquiridas antes do desenvolvimento de procedimentos específicos para a avaliação do prazo de validade dos alimentos (Man & Jones, 1996).

A migração de humidade entre os diversos ingredientes e o meio envolvente é uma das principais causas da deterioração física dos alimentos. Isto é facilmente visível em produtos frescos, através da perda de humidade, e em produtos secos (como os cereais de pequeno-almoço e bolachas), os quais podem perder a sua crocância através da absorção de humidade. As saladas podem também deteriorar-se devido à migração de água da componente vegetal para o ambiente ou para o molho. A queimadura por congelação é também uma consequência da migração de humidade da superfície dos alimentos congelados (Subramaniam & Kilcast, 2000).

As alterações físicas dos materiais de embalagem, por vezes associadas a reações químicas subsequentes, podem também limitar o prazo de validade sensorial. Estas alterações podem também permitir a migração de voláteis externos para os alimentos, resultando no desenvolvimento de manchas, o que pode ser particularmente grave em produtos com um longo prazo de validade (Subramaniam & Kilcast, 2000). O desenvolvimento de ranço é também um fator importante nos alimentos que contêm gordura e pode ocorrer através de diferentes mecanismos, por exemplo, reações lipolíticas/hidrolíticas, reações oxidativas e reações de reversão do sabor

(Subramaniam & Kilcast, 2000). Os processos enzimáticos limitam o período de validade das frutas e legumes e as reações de oxidação limitam o período de validade da carne (Subramaniam & Kilcast, 2000). Por outro lado, a hidrólise química pode ocorrer em produtos que contêm adoçantes intensos, reduzindo a doçura, e o escurecimento não enzimático pode ocorrer em muitos alimentos a partir das reações de *Maillard* (Subramaniam & Kilcast, 2000). Por fim, podem também ocorrer alterações resultantes da exposição à luz, que conduzem a alterações como a perda de cores naturais dos alimentos e o desenvolvimento de ranço ou de sabores desagradáveis no leite e nos alimentos do tipo *snacks* (Subramaniam & Kilcast, 2000).

A proliferação de microrganismos durante o armazenamento depende de vários fatores, sendo os mais importantes: a carga microbiana no início do armazenamento; as propriedades físico-químicas do alimento, como o teor de humidade, o pH, a presença de conservantes; o método de transformação utilizado na produção do alimento; e o ambiente externo do alimento, como a composição do gás circundante e a temperatura de armazenamento (Subramaniam & Kilcast, 2000).

O crescimento de organismos patogénicos (causadores de doença) como *Salmonella* e *Listeria monocytogenes* não será necessariamente acompanhado de alterações no aspeto, odor, sabor ou textura que possa ser detetada pelos sentidos humanos e conseqüentemente podem representar graves problemas de saúde (Man & Jones, 1996).

Por outro lado, o crescimento de organismos deteriorantes é frequentemente e facilmente identificado por alterações sensoriais como por exemplo o crescimento visual de bolores, a produção de maus odores e sabores e alterações de textura, frequentemente devido à ação de enzimas produzidas por microrganismos (Subramaniam & Kilcast, 2000).

Assim, para determinar a influência do crescimento microbiano na vida útil dos alimentos, precisam de ser conhecidas as características específicas dos microrganismos, como as taxas de crescimento microbiano, função de vários fatores ambientais (Man & Jones, 1996).

Resumindo, a presença de microrganismos patogénicos é uma grande preocupação no processamento e manuseamento de alimentos. Após ingestão, microrganismos de espécies como *Salmonella* e *Escherichia coli* verotoxinogénica podem causar doença, enquanto outros microrganismos como *Aspergillus flavus*, *Clostridium botulinum* e *Staphylococcus aureus* produzem toxinas que podem causar doença, a médio ou longo prazo e/ou morte.

A combinação de fatores intrínsecos, extrínsecos e implícitos leva a uma seleção de microrganismos específicos durante a conservação dos produtos. Contagens semelhantes de microrganismos em produtos idênticos podem corresponder a diferentes microrganismos deteriorantes quando conservados a diferentes temperaturas e atmosferas, o que pode originar alterações sensoriais num determinado produto, que outro pode não evidenciar.

Para além dos fatores extrínsecos e intrínsecos, já abordados, importa considerar também os fatores implícitos. Estes estão relacionados com a interação entre microrganismos presentes no alimento (Saraiva et al., 2019).

### *2.7. Avaliação do tempo de vida útil*

São várias as mudanças a microbiológico e sensorial que ocorrem durante a vida útil de um produto. Identificar um único atributo crítico que pode sinalizar inequivocamente o fim da vida útil de um produto é geralmente difícil. Os atributos que definem o final da vida de prateleira de um produto são específicos do produto, do consumidor e do mercado (Manzocco, 2016; Sciortino et al., 2016).

Para que seja possível avaliar o tempo de vida útil dos alimentos usam-se parâmetros físicos, químicos e microbiológicos.

#### **2.7.1. Testes físicos**

Os testes físicos mais utilizados medem as alterações na textura dos produtos. Estas alterações podem ser o resultado de reações químicas que ocorrem no produto, tais como as causadas pela interação de ingredientes ou por influências ambientais, tais como a migração de humidade através da embalagem. Os métodos de medição de textura devem ser escolhidos cuidadosamente para que os resultados se correlacionem bem com as alterações de textura percebidas pelos painéis sensoriais. Vários instrumentos estão disponíveis para medição de textura e métodos instrumentais de medição de atributos como dureza, crocância são comumente usados durante os testes de prazo de validade. Alguns atributos, como a dureza, podem ser medidos com relativa facilidade medindo a força necessária para penetrar uma determinada distância no produto. No entanto, mesmo em casos simples, os detalhes dos testes, tais como tipo de sonda, velocidade cruzada, posição e alinhamento da amostra, distância de penetração precisam ser escolhidos cuidadosamente para obter a melhor correlação possível com as medições sensoriais.

Encontram-se também a ser desenvolvidos métodos mais sofisticados, tais como testes não destrutivos para medição de textura *on-line* (como a medição do som como medida de atributos texturais) e métodos para medir atributos difíceis, tais como pegajosidade (Subramaniam & Kilcast, 2000).

### **2.7.2. Análises químicas**

As análises químicas desempenham um papel vital nos testes de validade, uma vez que podem ser utilizadas tanto para medir os pontos finais das reações químicas que ocorrem nos alimentos durante o armazenamento, bem como para confirmar os resultados obtidos pelos painéis sensoriais. Para qualquer e determinado produto, muitas e diferentes reações químicas ocorrem simultaneamente durante o armazenamento. No entanto, apenas as principais reações que influenciam as alterações na qualidade do produto precisam de ser medidas durante o teste de validade. Alguns testes químicos que determinam alterações numa determinada característica de qualidade podem ser aplicáveis a diferentes tipos de produtos (Subramaniam & Kilcast, 2000).

### **2.7.3. Análises microbiológicas**

Os aspetos mais relevantes para a determinação da estabilidade microbiológica de um produto são o crescimento microbiano (responsáveis pela deterioração dos produtos alimentares) e o desenvolvimento de patógenos microbianos (responsáveis pelo risco de quebra da segurança do produto) (Patrick, 2000; citado em (Rahman et al., 2018)).

A *aw* a temperatura de armazenamento, o tempo e o pH podem ser utilizados para prever em grande medida os microrganismos que são suscetíveis de crescer no produto (Patrick, 2000; citado em (Rahman et al., 2018)).

O "tempo até à deterioração" pode ser determinado ao armazenar o produto à temperatura apropriada e através da medição da concentração microbiana em intervalos específicos. O tempo para atingir um nível predeterminado de contagem microbiana (contagem total e nível de micróbios individuais) será considerado como o ponto final. Uma vez que é aconselhável deixar uma margem de segurança na definição do prazo de validade, geralmente 70% do tempo para atingir esse nível predeterminado de contagem microbiana é tomado como prazo de validade (Patrick, 2000; citado em (Rahman et al., 2018)).

Podem ser utilizados *challenge tests* para determinar a probabilidade de crescimento de determinados microrganismos, tais como os que causam doença alimentar. Neste caso, microrganismos selecionados são inoculados em produtos e o crescimento desses microrganismos é monitorizado através de um teste de armazenamento. Os *challenge tests* também podem ser aplicados para estudar a possibilidade de crescimento de organismos de deterioração resistentes selecionados, que podem contaminar os alimentos provenientes da fábrica ou do ambiente de produção (Subramaniam & Kilcast, 2000).

Modelos matemáticos, tais como o *Food MicroModel*, podem ser utilizados para identificar organismos específicos que podem causar problemas de segurança alimentar e prever a sua taxa de crescimento nos produtos (Subramaniam & Kilcast, 2000).

Em alguns produtos com atividade de água relativamente baixa (*aw*), o prazo de validade foi ainda determinado (para além das análises químicas) por alterações nas características sensoriais físicas do produto.

#### 2.7.3.1. Valores guia para análise microbiológica

No ano de 2000, o *Public Health Laboratory* (PHLS), apresentou um documento com valores guia (*guidelines*) onde se individualizam cinco categorias de alimentos, baseadas na expectativa do número de colónias aeróbias, de acordo com a tipologia do produto alimentar e o tratamento que este tinha recebido.

O PHLS identifica quatro graus de qualidade microbiológica (satisfatório, aceitável, insatisfatório e inaceitável/potencialmente perigoso) relacionados com a contagem de colónias aeróbias, com o número de organismos indicadores e com a presença/número de patogénicos determinados pela análise microbiológica dos alimentos. Na Tabela 2 estão representadas as diretrizes para a contagem de colónias aeróbias para a qualidade microbiológica de vários alimentos RTE (Gilbert et al., 2000).

Tabela 2. Diretrizes do *Public Health Laboratory Service* (PHLS) para a contagem de colónias aeróbias para a qualidade microbiológica de alimentos RTE (critério de contagem: número de colónias aeróbias (30°C/48h))

Categoria de alimentos	Qualidade microbiológica (CFU por grama)			
	Satisfatório	Aceitável	Insatisfatório	Inaceitável/Potencialmente perigoso
Grupo 1: Hambúrgueres; ovo escocês, pickles (arrenque e outros peixes), mousse.	<10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup> – <10 <sup>4</sup>	≥10 <sup>4</sup>	N/A
Grupo 2: outras refeições,	<10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup> – <10 <sup>5</sup>	≥10 <sup>5</sup>	N/A

Categoria de alimentos	Qualidade microbiológica (CFU por grama)			
	Satisfatório	Aceitável	Insatisfatório	Inaceitável/Potencialmente perigoso
almôndegas, <i>kebabs</i> , maionese, chamuça, massa, pizza.				
Grupo 3: crustáceos, carne fatiada, bolos, doces, espetada, arroz.	<10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup> – <10 <sup>6</sup>	≥10 <sup>6</sup>	N/A
Grupo 4: Torresmo, peixe fumado, húmus, tripa e outras miudezas.	<10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup> – <10 <sup>7</sup>	≥10 <sup>7</sup>	N/A
Grupo 5: presunto, salame, queijo, iogurte, sandes com salada, frutas e vegetais frescos.	N/A	N/A	N/A	N/A

Adaptado de Gilbert et al., 2000

Os organismos indicadores podem ser usados para auxiliar na avaliação da segurança microbiológica de um dos produtos alimentares. Em termos gerais, a presença de alguns organismos, nomeadamente *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* ou *Listeria* spp., indicam falhas no controlo do processo e/ou potencial presença de patogénicos (Gilbert et al., 2000).

A presença de bactérias indicadoras nos alimentos RTE não significa um risco inerente, mas é indicativa de contaminação cruzada, confeção imprópria do alimento ou simplesmente falta de higiene. Na

Tabela 3 estão representadas as diretrizes para os organismos indicadores para a qualidade microbiológica de vários alimentos RTE (Gilbert et al., 2000).

Tabela 3. Diretrizes do *Public Health Laboratory Service* (PHLS) para os organismos indicadores para a qualidade microbiológica de alimentos RTE (todos os grupos alimentares indicados na Tabela 2; critério de contagem: número de colónias aeróbias (30°C/48h)

Organismos indicadores	Qualidade microbiológica			
	Satisfatório	Aceitável	Insatisfatório	Inaceitável / Potencialmente perigoso
Enterobacteriaceae	<100	100 – <10 <sup>4</sup>	≥10 <sup>4</sup>	N/A
<i>E. coli</i> (total)	<20	20 – <100	≥100	N/A
<i>Listeria</i> spp. (total)	<20	20 – <100	≥100	N/A

Adaptado de Gilbert et al., 2000

O teste para a *Enterobacteriaceae* substituiu os testes para coliformes como indicadores de higiene e contaminação após o processamento. Isto porque o teste para coliformes apenas deteta os organismos fermentadores de lactose, enquanto que a família *Enterobacteriaceae* está bem definida taxonomicamente. Além disso, este teste também deteta importantes microrganismos não fermentadores de lactose, tais como *Salmonella* spp (Gilbert et al., 2000).

Na Tabela 4 estão representadas as diretrizes da PHLS para os patógenos para a qualidade microbiológica de vários alimentos RTE.

Tabela 4. Diretrizes do *Public Health Laboratory Service* (PHLS) para os patógenos para a qualidade microbiológica de alimentos RTE (critério de contagem: número de colónias aeróbias (30°C/48h))

Patógenos	Qualidade microbiológica			
	Satisfatório	Aceitável	Insatisfatório	Inaceitável / Potencialmente perigoso
Salmonella spp.	Não detetado em 25g			Detetado em 25g
Campylobacter spp.	Não detetado em 25g			Detetado em 25g
E. coli O157 & outra VTEC	Não detetado em 25g			Detetado em 25g
V. cholerae	Não detetado em 25g			Detetado em 25g
V. parahaemolyticus	<20	20 – <100	100 – <10 <sup>3</sup>	≥10 <sup>3</sup>
Listeria spp. (total)	<20**	20 – <100	N/A	≥100
S. aureus	<20	20 – <100	100 – <10 <sup>4</sup>	≥10 <sup>4</sup>
C. perfringens	<20	20 – <100	100 – <10 <sup>4</sup>	≥10 <sup>4</sup>
B. cereus e outros patógenos Bacillus spp.	<10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup> – <10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup> – <10 <sup>5</sup>	≥10 <sup>5</sup>

Adaptado de Gilbert et al., 2000

Já em Portugal, o Instituto Nacional de Saúde Pública Doutor Ricardo Jorge (INSA) propõe também critérios de qualidade para os produtos alimentares RTE, tendo também por base as características microbiológicas dos mesmos. Propõe também três níveis de qualidade microbiológica, níveis estes que variam em função do tipo de microrganismo. Na Tabela 5 estão referenciados os limites estabelecidos neste documento do INSA para alguns microrganismos patogénicos e toxinas: nível satisfatório (quando os resultados de todos os parâmetros são adequados), não satisfatório (um ou mais do que um parâmetro com resultado não satisfatório), potencialmente perigoso (um ou mais do que um parâmetro com resultado não satisfatório/potencialmente perigoso).

Tabela 5. Critérios do INSA relativos à qualidade microbiológica de alimentos RTE

Microrganismos patogênicos e toxinas	Resultado			Testes de referência
	Satisfatório	Contagem (ufc/g ou ufc/ml) ou Pesquisa (em 25g) (Nota 1)	Potencialmente perigoso	
<i>Bacillus cereus</i> (Nota 2)	<10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup> – ≤10 <sup>5</sup>	>10 <sup>5</sup>	Confirmar a capacidade de produzir toxina, triplicação molecular
Outros <i>Bacillus spp.</i> Patogênicos	<10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup> – ≤10 <sup>6</sup>	>10 <sup>6</sup>	Triplicação molecular
<i>Clostridium perfringens</i>	<10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup> – ≤10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	Triplicação molecular, detecção do gene codificador da toxina na estirpe isolada
Estafilococos coagulase positiva	<10	10 <sup>2</sup> – ≤10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	Triplicação molecular, detecção da patogenicidade (detecção do gene codificador da toxina na estirpe isolada ou verificar se a estirpe é produtora de toxina), resistência aos antimicrobianos
<i>Listeria monocytogenes</i>	Não detetado	Detetado	>10 <sup>2</sup>	Triplicação molecular e serotipagem das estirpes isoladas
<i>Campylobacter spp.</i>	Não detetado	NA	Detetado	Triplicação molecular, resistência aos antimicrobianos
<i>Cronobacter spp.</i>	Não detetado	NA	Detetado	
Enterotoxina estafilocócica	Não detetado	NA	Detetado	Identificação do grupo da toxina
<i>Escherichia coli</i> verotoxigênico	Não detetado	NA	Detetado	Triplicação molecular, resistência aos antimicrobianos
<i>Escherichia coli</i> patogênicos (EPEC, ETEC, EIEC, EAEC, DAEC)	Não detetado	NA	Detetado	Triplicação molecular, resistência aos antimicrobianos
Norovírus	Não detetado	NA	Detetado	
<i>Salmonella spp.</i>	Não detetado	NA	Detetado	Serotipagem, triplicação molecular, resistência aos antimicrobianos
<i>Shigella spp.</i>	Não detetado	NA	Detetado	Triplicação molecular
<i>Vibrio cholerae</i>	Não detetado	NA	Detetado	Serotipagem, triplicação molecular
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Não detetado	NA	Detetado	Triplicação molecular
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Não detetado	NA	Detetado	Serotipagem, triplicação molecular

Adaptado de Saraiva et al., 2019

NA – Não Aplicável; ufc/g – unidades formadoras de colônias por grama; ufc/ml – unidades formadoras de colônias por mililitro  
 Nota 1 – Usualmente, o ensaio é realizado em 25g ou em 25ml de alimento por teste analítico; uma porção diferente pode ser requerida para algumas situações (ex. amostra insuficiente, preconizado em normas, investigação de surtos de toxinfecção alimentar).

Nota 2 – Fórmulas desidratadas para lactentes (FDL) reconstituídas (Subgrupo 1D) – os limites a considerar são: Satisfatório <5x10<sup>1</sup>; Não satisfatório 5x10<sup>1</sup>-10<sup>3</sup>; Não Satisfatório/potencialmente perigoso >10<sup>3</sup>.

Na Tabela 6 estão referenciados os limites estabelecidos neste documento do INSA para microrganismos indicadores de higiene e de alteração nos produtos RTE, recolhidos na área de preparação/distribuição alimentar: estão referenciados os limites estabelecidos neste documento do INSA para alguns microrganismos patogênicos e toxinas: nível satisfatório (quando os resultados de todos os parâmetros são adequados), questionável (um ou mais do que um parâmetro com resultado questionável), e não satisfatório (um ou mais do que um parâmetro com resultado não satisfatório).

Tabela 6. Critérios do INSA relativos a microrganismos indicadores de condições de higiene e/ou de alteração da segurança de produtos RTE

Microrganismos indicadores e de alteração	Grupos e Subgrupos	Resultado Contagem (ufc/g ou ufc/ml)		
		Satisfatório	Questionável	Não satisfatório
Microrganismos a 30°C/Contagem de aeróbios mesófilos	1A (Nota 1)	<10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup> – ≤10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>
Leveduras	1A	<10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup> – ≤10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>
Bolores	1	<5x10 <sup>2</sup>	5x10 <sup>2</sup> – ≤10 <sup>3</sup>	>10 <sup>3</sup>
Enterobacteriaceae a 37°C	1A	<10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup> – ≤10 <sup>3</sup>	>10 <sup>3</sup>
<i>Escherichia coli</i>	1	<10 (Não detetado)	NA	≥10
<i>Listeria spp.</i>	Todos os grupos	<10	10 – ≤10 <sup>2</sup>	>10 <sup>2</sup>

Adaptado de (Saraiva et al., 2019)

NA – Não Aplicável; ufc/g – unidades formadoras de colónias por grama; ufc/ml – unidades formadoras de colónias por mililitro  
Nota 1 – Aplicável quando a flora específica interfere neste ensaio

Neste contexto, o nível satisfatório indica que o resultado analítico se encontra dentro dos valores previstos, ou seja, inferior ou igual ao Valor Máximo de Referência (VMR); o nível questionável indica que o resultado analítico é superior ao VMR e inferior ou igual ao Valor Máximo Admissível (VMA) e indica que há probabilidade de existirem falhas nos processos. Recomenda-se que seja efetuada uma análise de causas, de forma a esclarecer a causa provável; o nível não satisfatório e não satisfatório/potencialmente perigoso indica que o resultado analítico é superior ao VMA e indica que há falhas nos processos.

#### 2.7.4. Análises Sensoriais

Segundo (Kemp et al., 2009, p. 16) a análise sensorial é “um método científico utilizado para suscitar, medir, analisar e interpretar as respostas aos produtos que são percebidas pelos sentidos da visão, tato, odor, sabor e audição”. Segundo a Norma Portuguesa 4263:1994, podemos definir análise sensorial, ou exame organolético, como uma análise das características organoléticas de um produto através dos órgãos dos sentidos (visão, olfato, tato, paladar e audição), de forma a avaliar os atributos ou características de um produto (Kemp et al., 2009; Sidel & Stone, 1993).

É difícil medir objetivamente algumas propriedades do produto. Para além disto, a medição instrumental por si só não indica aceitabilidade ou rejeição do consumidor. Por estes motivos, é habitual recorrer-se à recolha de dados subjetivos de apreciação de alimentos, por parte de painéis de provadores. Os desafios colocados à indústria alimentar têm feito com que a análise sensorial tenha um papel cada mais relevante no processo de geração e inovação de produtos, com base em propriedades

sensoriais únicas ou segmentadas por perfis diferentes de consumidores (Sidel & Stone, 1993).

A análise sensorial recorre a testes sensoriais analíticos ou testes sensoriais afetivos. Os testes sensoriais analíticos são de natureza objetiva e podem ser descritivos ou discriminativos. Enquanto os testes sensoriais descritivos identificam a natureza/magnitude da diferença sensorial, os testes discriminativos determinam se existem diferenças sensoriais entre amostras. Os testes sensoriais afetivos estão divididos em dois grupos: de aceitação ou de preferência. São subjetivos e fornecem informação sobre se o indivíduo gosta ou não gosta de um produto. São usados na indústria para avaliar se o consumidor gosta do produto ou se o produto em questão é preferido em relação ao outro (Kemp et al., 2009). Os testes sensoriais podem ser também desenhados com o intuito de validar o período de tempo em que um produto permanecerá com o mesmo nível de "qualidade aceitável" ou não apresentará "alterações nas características sensoriais desejadas" durante toda a sua vida útil (Subramaniam & Kilcast, 2000).

Para a avaliação sensorial podem ser selecionados três tipos de provadores: provador participante (qualquer pessoa que participe num ensaio sensorial, sem que tenha de corresponder a critérios exatos de seleção), provador qualificado (escolhidos com base em critérios de inclusão bem definidos e treinados para testes sensoriais) e provador perito (escolhidos e treinados para uma variedade de métodos de análise sensorial e que demonstram uma sensibilidade sensorial particular) (International Organization for Standardization, 2017a).

É da responsabilidade do investigador garantir a segurança e o cumprimento dos aspetos éticos dos participantes (por exemplo ter em consideração alergias e intolerâncias, não solicitar trabalharem com alimentos que detestam profundamente, não solicitar a vegetarianos que consumam alimentos carne).

O número de pessoas a serem recrutadas varia e depende a) dos meios financeiros da empresa, b) do tipo e frequência de testes a serem conduzidos e c) do tipo de análise estatística pretendido (International Organization for Standardization, 1993).

O painel de provadores treinados tem que ter condições de trabalho. Isto significa que a sala de provas deve ter ambiente insonorizado, cómodo e normalizado, luz difusa, ambiente ventilado, humidade relativa de aproximadamente 60-70%, temperatura entre 20 e 22°C, cabines idênticas e separadas por tabiques, sistema de entrega e devolução das amostras. Quanto ao material e condições de prova: amostras em recipientes adequados, quantidade de amostra constante, amostras a temperatura

constante e próxima da de consumo, amostras codificadas (exemplo: A35, 534). O número de amostras por sessão de avaliação organoléptica depende do tipo de análise requerida e do produto (International Organization for Standardization, 2017a; Sidel & Stone, 1993).

### **3. Objetivos do projeto**

Tendo por base o enquadramento teórico atrás desenvolvido, o presente trabalho teve como objetivo principal verificar se os tempos de vida determinados pela indústria para produtos alimentares RTE são válidos do ponto de vista microbiológico e organolético.

Como objetivos secundários, foram propostos os seguintes:

- (a) Determinar se a validade de tempos de vida de produtos alimentares varia em função do tipo de produto alimentar RTE.
- (b) Verificar se após 24h e após 48h da abertura das embalagens, e conservados no frigorífico, os produtos mantêm as suas características microbiológicas e sensoriais inalteradas.

#### 4. Material e Métodos

O desenho de investigação deste estudo seguiu duas abordagens metodológicas complementares: análises microbiológicas dos alimentos RTE em estudo e análise sensorial dos mesmos alimentos: frango de caril, sopa de legumes e salada de *tabulé*. Estas análises foram realizadas em momentos diferentes ao longo do tempo de vida útil destes três produtos alimentares RTE.

Estes produtos alimentares pertencem à categoria 1A da Tabela 1 (Saraiva et al., 2019), apresentada na secção da introdução desta dissertação. Pertencem assim à categoria de alimentos totalmente cozinhados, não manuseados após o tratamento térmico, estando incluídos os alimentos fracionados em porções individuais e os que levam cobertura colocada em quente (pratos/aperitivos servidos quentes, sopas, alimentos de *Cook-chill* e *Cook-freeze*, após o reaquecimento/regeneração, pratos/aperitivos servidos frios). A lista de ingredientes destes três produtos RTE, e respetivo tempo de vida útil, são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Descrição nutricional dos alimentos RTE em estudo

Produto alimentar RTE em estudo	Lista de ingredientes	Peso por Porção (g)	KJ por porção	Kcal por porção	Tempo de vida útil (dias)
<b>Frango de Caril</b>	Carne de frango 32%, arroz venere cozido 32% (arroz negro 16%, água, óleo de sementes de girassol, sal), natas, bebida de coco 14%: água, massa de coco 4%, açúcar de cana, amido de milho, aroma natural, proteína de ervilha, sal marinho, maçã desidratada 2,4% (maçã, antioxidante: anidrido sulfuroso, cebola, azeite, sal, sumo de limão, caril 0,65% (gingibre 0,17%; curcuma 0,1%; cominho; coentro, pimenta). Pode conter soja, aipo, trigo, mostarda, ovo, caju, tremoço, avelãs, amêndoas, pistachos, nozes, moluscos, frutos do mar, peixe.	250	1830	438	33
<b>Salada de Tabulé</b>	Couscous reidratado 43% (sêmola de grão duro, água, óleo de sementes de girassol, sal, paprica doce, pimento, menta), <i>kebab</i> de frango 15% (carne de frango 91%, aromas naturais (contêm fermento), amido de batata, sal, antioxidante: ascorbato de sódio, extrato de rosmaninho; aromas, especiarias, dextrose, plantas aromáticas, extratos de plantas aromáticas, extratos de especiarias), pimento (pimento, água, sal), feijão <i>azuki</i> cozido 10% (feijão, água, sal), milho (milho doce em grão, água, sal), soja verde <i>edamame</i> , cebola, azeitonas 3,5% (azeitonas pretas sem caroço, sal. Pode conter fragmentos de	200	1334	318	34

	núcleo de azeitona), óleo de sementes de girassol. Pode conter ovo, leite, aipo, tremçoço, caju, nozes, avelãs, pistachos, amêndoas, moluscos, frutos do mar, peixe.				
<b>Sopa de Legumes</b>	Água, carne de frango 11%, batatas, cenouras, lentilhas 4%, cebola, amido de tapioca, óleo de sementes de girassol, sal, salsa, alho, caril 0,2%, curcuma 0,1%, rosmaninho, estratos de frango, amido de batata, extrato de levedura em pó, maltodextrina. Pode conter soja, cereais que contêm glúten, leite, aipo, ovo, tremçoço, caju, nozes e outra fruta com casca, moluscos, frutos do mar, peixe.	300	861	204	27

Na Figura 2 são representadas as embalagens destes produtos alimentares RTE.



Figura 2. Embalagens dos produtos alimentares em estudo

Em termos de valor nutricional destes produtos alimentares, o consumo médio total de energia diária é de 1912 kcal/dia, sendo no sexo feminino de 1685 kcal/dia e no sexo masculino de 2158 kcal/dia (Direção-Geral da Saúde (DGS), 2017). Assim, se um adulto ingerir 3 porções do frango de caril (equivale a 1314 Kcal), ainda se encontra

dentro dos valores energéticos recomendados; se um adulto ingerir 3 porções de salada de *tabulé* (954 Kcal), ainda se encontra dentro dos valores energéticos recomendados; e se um adulto ingerir 3 porções de sopa de legumes (612 Kcal), ainda se encontra dentro dos valores energéticos recomendados.

Para a produção destes alimentos RTE, a empresa A (*vide* secção “Introdução”, desta dissertação) forneceu a matéria-prima cárnea à empresa B, que utilizou a mesma para a produção final dos alimentos. A empresa B compra as restantes matérias-primas já parcialmente processadas e estabilizadas, na maioria dos casos (e.g., legumes já submetidos a pré-tratamento térmico e branqueamento). As matérias-primas não estabilizadas são tratadas a nível térmico antes da utilização no circuito produtivo, para aumentar a segurança higiénico-sanitária dos produtos acabados. O processo de produção de cada um dos produtos alimentares em estudo encontra-se esquematizado no Anexo 1. O controlo da matéria-prima implica a realização de análises microbiológicas, químicas, bem como a avaliação da qualidade nutricional. A produção destes alimentos é organizada com planificação semanal, em função das vendas. Os produtos, depois de confeccionados (na empresa B), são armazenados numa câmara de refrigeração e o número de dias em que ficam conservados varia de acordo com os pedidos por parte dos clientes. Estes produtos têm um tempo de vida útil que oscila entre os 30 e os 40 dias, devendo a conservação ser feita na câmara de refrigeração entre os 0 °C e os 4 °C.

Para o presente estudo, foram analisados os seguintes microrganismos, relevantes em termos de segurança alimentar (devendo ser eliminados ou reduzidos a um nível determinado como aceitável): (1) *Clostridium perfringens* e *Clostridium botulinum*, (2) *Bacillus cereus*, (3) *Listeria monocytogenes*, (4) *Escherichia coli* STEC (sierogrupos patogénicos), (5) *Salmonella spp* e (6) *Staphylococcus aureus*. Para além destes microrganismos, foram estudados como indicadores de qualidade dos alimentos: (1) Contagem bacteriana total, (2) Bactérias Lácticas, (3) Bolores, (4) Leveduras e (5) *Enterobacteriaceae*.

Em paralelo com este controlo microbiológico, e para efeitos do estudo aqui descrito, foi realizado no início e no fim do tempo de vida útil de cada produto um teste de análise sensorial para avaliação das qualidades organolépticas dos produtos RTE ao longo do tempo. O objetivo foi o de perceber a opinião dos consumidores sobre os alimentos, no início e no fim da vida útil definido. Foram realizadas duas sessões de análise sensorial por cada tipo de produto, uma no início do tempo de vida útil (meados de Julho) e outra no final do tempo de vida útil (Agosto).

#### 4.1. Amostragem

Para cada um dos produtos alimentares RTE em estudo, foram selecionadas de forma aleatória amostras referentes a três lotes de produção. Por cada lote, foram selecionadas 30 amostras, tendo este sido considerado como um tamanho amostra mínimo adequado aos testes estatísticos planeados (para um nível de confiança de 95%). As amostras foram analisadas em diferentes condições de armazenamento no que diz respeito ao tempo e à temperatura de conservação (Tabela 8).

Tabela 8. Condições de armazenamento por tempo de vida útil dos produtos alimentares em estudo

Tempo de conservação do alimento	Temperatura de conservação
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Início do tempo de vida útil (t=0) (momento da produção)</li> <li>• 24 h e 48 h da abertura das embalagens</li> <li>• Final do tempo de vida útil (t1)</li> <li>• Entre 0 e 42 dias, dependendo do produto analisado (os tempos variaram de acordo com o tipo de produto, lote e disponibilidade das empresas para realização das análises) em condições de refrigeração.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• de +1 °C a +4 °C</li> <li>• de +7 °C a +10 °C.</li> <li>• A primeira gama (+1°C/+4°C) é a temperatura indicada por parte do produtor e declarada em etiqueta)</li> <li>• A segunda gama (+7°C/+10 °C) é a temperatura que simula a refrigeração doméstica</li> </ul>

O delineamento experimental para análise microbiológica encontra-se detalhado na Tabela 9.

Tabela 9. Delineamento experimental da abordagem analítica utilizada

Tempo (dias) pós-produção (armazenamento)			Temperatura de conservação (°C)	Tempo após abertura das embalagens (h)	Análises		
1º Lote	2º Lote	3º Lote			Microbiológica	Química	Sensorial
<b>Frango de caril</b>							
0	0	0	n.a.	0	X	X	X
12	13	14	+1 a +4	0	X	X	X
			+7 a +10	24	X		
				48	X		
19	20	21	+1 a +4	0	X		
			+7 a +10	24	X		
				48	X		
28	29	30	+1 a +4	0	X		
			+7 a +10	24	X		
				48	X		
34	35	36	+1 a +4	0	X		
			+7 a +10	24	X		
				48	X		
40	41	42	+1 a +4	0	X		X
			+7 a +10	0	X		
<b>Sopa de legumes</b>							
1º Lote	2º Lote	3º Lote					
0	0	0	n.a.	0	X		X
8	11	15	+1 a +4	0	X		
			+7 a +10	24	X		

Tempo (dias) pós-produção (armazenamento)			Temperatura de conservação (°C)	Tempo após abertura das embalagens (h)	Análises		
1º Lote	2º Lote	3º Lote			Microbiológica	Química	Sensorial
				48	X		
15	18	22	+1 a +4	0	X		
			+7 a +10	24	X		
				48	X		
	26	29	+1 a +4	0	X		
			+7 a +10	24	X		
				48	X		
31			+1 a +4	0	X		
			+7 a +10	24	X		
				48	X		
	33	33		0	X		X
				0	X		
<b>Salada de <i>Tabulé</i></b>							
1º Lote	2º Lote	3º Lote					
0	0	0	n.a.	0	X		X
10	10	12	+1 a +4	0	X		
			+7 a +10	24	X		
				48	X		
18	18	18	+1 a +4	0	X		
			+7 a +10	24	X		
				48	X		
25	25	25	+1 a +4	0	X		
			+7 a +10	24	X		
				48	X		
32	32	32	+1 a +4	0	X		
			+7 a +10	24	X		
				48	X		
42	42	42	+1 a +4	0	X		X
			+7 a +10	0	X		

n.a.: não se aplica

## 4.2. Procedimentos: determinações analíticas

### 4.2.1. Análises microbiológicas

Todas as análises microbiológicas foram realizadas nos laboratórios das empresas, com a exceção da análise aos *Bacillus cereus* que foi realizada em laboratório externo. Ao longo de todo o período em que decorreram as análises microbiológicas, foram respeitadas as boas práticas de laboratório e os requisitos constantes nas normas UNI EN ISO 6887-1:2017 e na UNI EN ISO 6887-2:2017. Por motivos de confidencialidade por parte das empresas não é possível apresentar os procedimentos experimentais.

Como já referido, para cada uma das amostras dos diferentes lotes acima referidos, foram avaliados os seguintes parâmetros microbiológicos: *Salmonella*; *Listeria monocytogenes* (critérios de segurança Reg. CE. 2073/05); Bactérias lácticas a 30 °C; *Staphylococcus aureus*; enterobactérias; bolores; leveduras; *Bacillus cereus*; *Clostridia sulfito* redutores; contagem bacteriana total (critérios de higiene de processo e de conservação).

Na Tabela 10 são indicadas as normas que definem os métodos analíticos utilizados para cada tipo de análise microbiológica.

Tabela 10. Normas utilizados para a análise microbiológica de avaliação de indicadores de segurança e qualidade alimentar

Microrganismos/parâmetros	Normas consideradas para procedimentos/métodos analíticos
<b>Microrganismos indicadores de segurança alimentar</b>	<i>Salmonella</i> ISO 6579-1:2017 (International Organization for Standardization, 2017b). Utilização dos meios de cultura seletivos XLD Agar e RAPID <i>Salmonella</i> /Agar.
	<i>Listeria monocytogenes</i> (detecção) ISO 11290-1: 2017 (International Organization for Standardization, 2017d)
	<i>Listeria monocytogenes</i> (enumeração) ISO 11290-2: 2017 (International Organization for Standardization, 2017e).
	<i>Bacillus cereus</i> Laboratório externo (sem informação sobre métodos analíticos utilizados)
	<i>Clostrídios</i> sulfito redutores ISO 15213:2003 (International Organization for Standardization, 2003).
	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva ISO 6888-1:1999 (International Organization for Standardization, 1999).
<b>Microrganismos indicadores de qualidade alimentar</b>	Bactérias lácticas a 30°C Norma AFNOR V 08-30
	Enterobacteriaceae ISO 21528-2:2017 (International Organization for Standardization, 2017c). AFNOR BRD 07/24-11/13 (Association française de normalisation, 2018). MicroVal L 0806-002LR (MicroVal, 2017)
	Bolores e Leveduras AFNOR V 08-22 (Association française de normalisation, 2018).
	Carga microbiana ISO 4833-2:2013 (International Organization for Standardization, 2013).

#### 4.2.2. Análises nutricionais

Todas as análises da composição nutricional dos três tipos de produtos RTE foram realizadas externamente, num laboratório certificado. Por este motivo, não houve acesso às metodologias usadas.

Foram analisados os seguintes parâmetros: humidade, sódio, cloretos (NaCl), hidratos de carbono, vitamina PP (ou niacina ou vitamina B3), vitamina B6, vitamina B12, ácidos gordos saturados, ácidos gordos monoinsaturados, ácidos gordos polinsaturados, valor energético (kcal/kJ), proteínas, lípidos, cinzas, fibras alimentares, e açúcares.

#### 4.2.3. Análises sensoriais

No contexto deste projeto, foi realizada uma análise sensorial dos produtos em estudo com a colaboração da equipa de Inovação e Desenvolvimento de novos produtos da empresa A, com o objetivo de perceber qual a opinião dos consumidores no início e no fim do tempo de vida útil definido. Assim sendo, foram realizadas duas sessões de análise sensorial para cada tipo de produto: uma no início do tempo de vida útil (meados de Julho) e outra no final do tempo de vida útil (Agosto). Estes elementos do painel tinham experiência prévia enquanto provadores, sendo solicitados frequentemente para este tipo de provas, conhecendo as características organolépticas dos produtos, sendo assim consumidores com capacidade de apreciação crítica das características dos produtos alimentares em questão. Foram analisados os parâmetros indicados na

Tabela 11. Para cada parâmetro, as respostas foram dadas numa escala entre 1 (apreciação menos positiva) e 9 (apreciação mais positiva).

Tabela 11. Parâmetros da análise sensorial, por tipo de produto

Produto	Parâmetros analisados
Frango de caril	Caraterísticas no geral, Aspeto geral, Aroma geral, Sabor arroz geral, Consistência da carne, Consistência do arroz
Salada de <i>Tabulé</i>	Caraterísticas no geral, Aspeto geral, Aroma geral, Sabor geral, Sabor da carne, Sabor da salada, Consistência da carne
Sopa de legumes	Caraterísticas no geral, Aspeto geral, Aroma geral, Sabor geral, Densidade geral, Consistência dos legumes, Consistência da carne

#### 4.3. Análise estatística

Para efetuar a análise estatística recorreu-se ao *software* R i386 3.2.1.

Foi realizada estatística descritiva, com recurso à apresentação de percentagens para variáveis nominais e de médias para variáveis intervalares.

Para análise da contagem bacteriana total, e uma vez que não são dados com distribuição normal, foi efetuada uma transformação logarítmica de base 10 antes de proceder a testes de comparação de médias. Para cada tipo de alimento RTE em estudo, foi realizado um modelo linear generalizado com três fatores (efeitos fixos; lote, tempo e temperatura) e com as interações Lote\*Tempo e Lote\*Temperatura, para estudo de determinantes da contagem bacteriana total.

Para efeitos de estatística inferencial, foi utilizado o nível de significância  $\alpha = 0,01$  para análises microbiológicas e  $\alpha = 0,05$  para análises sensoriais.

## 5. Resultados

### 5.1. Frango de Caril RTE

#### 5.1.1. Análise microbiológica

Os resultados microbiológicos referentes aos indicadores de qualidade e aos indicadores de segurança relativos ao frango de caril RTE estão apresentados na Tabela 12 e na Tabela 13, respetivamente.

Tabela 12. Resultados microbiológicos para os indicadores de qualidade para o Frango de Caril

Lote	Tempo de armazenamento (dias) / Temperatura de armazenamento / Tempo após abertura da embalagem	Leveduras (UFC/g)	Bolores (UFC/g)	Bactérias lácticas (UFC/g)	Enterobacteriaceae (UFC/g)
1, 2, 3	t0 (-4°C)	<50	<50	10	<10
1, 2, 3	t12, t13, t14 (4 °C)   t12, t13, t14 (-8°C)   t12, t13, t14 (-8 °C) - 24 h	<10	<10	<10	<10
1, 3	t12-8 °C-48 h   t14-8 °C-48 h	<10	<10	<10	<10
2	t13-8 °C-48 h	<10	<40	<40	<10
1, 2, 3	t19-4 °C   t20-4 °C	<10	<10	<10	<10
1, 2,3	t19-8 °C   t20-8 °C	<10	<10	<10	<10
1, 2,3	t19-8 °C-24 h   t20-8 °C-24 h	<10	<10	<10	<10
1, 2,3	t19-8 °C-48 h   t20-8 °C-48 h	<10	<10	<10	<10
1, 2,3	t28-4 °C   t29-4 °C	<10	<10	<10	<10
1, 2, 3	t28-8 °C   t29-8 °C	<10	<10	<10	<10
1, 3	t28-8 °C-24 h   t29-8 °C-24 h	<10	<10	<10	<10
2	t29-8 °C-24 h	<10	<40	<10	<10
1	t28-8 °C-48 h	<10	<10	290	<10
2,3	t29-8 °C-48 h	<10	<10	<10	<10
1, 2, 3	t34-4 °C   t35-4 °C	<10	<10	<10	<10
1, 2, 3	t34-8 °C   t35-8 °C	<10	<10	<10	<10
1, 2, 3	t34-8 °C-24 h   t35-8 °C-24 h	<10	<10	<10	<10
1, 2	t34-8 °C-48 h   t35-8 °C-48 h	<10	<10	<10	<10
3	t35-8 °C-48 h	<10	<10	45	<40
1, 2, 3	t40-4 °C	<10	<10	<10	<10
1, 2	t40-8 °C   t41-8 °C	<10	<10	<10	<10
3	t41-8 °C	<10	<10	55	<10

Comparando com os valores-guia propostos pelo INSA para leveduras (<10<sup>3</sup>UFC/g), verifica-se que os valores obtidos para as amostras em estudo são satisfatórios para todos os lotes de frango de caril RTE para todos os tempos considerados de armazenamento (dias) e após abertura da embalagem (dias) bem como para todas as

diferentes temperaturas de armazenamento. De igual modo, para os bolores, comparando os valores obtidos para os bolores com os dos valores-guia propostos pelo INSA, verifica-se que para todos os lotes e para todos os tempos considerados de armazenamento (dias) e após abertura da embalagem (dias), bem como para todas as diferentes temperaturas de armazenamento, os valores são satisfatórios (<5x10<sup>2</sup>UFC/g). Por fim, comparando também os valores obtidos nas amostras, relativamente aos *Enterobacteriaceae* com os dos valores-guia propostos pelo INSA, assim como com os valores-guia propostos pelo PHLS, verifica-se serem satisfatórios (<10<sup>2</sup>UFC/g) em todos os lotes e respetivos tempos de armazenamento (dias) / temperaturas de armazenamento/tempo após abertura da embalagem.

Tabela 13. Resultados microbiológicos para os indicadores de segurança para o Frango de Caril

Lote	Tempo de armazenamento (dias) / Temperatura de armazenamento / Tempo após abertura da embalagem	<i>Salmonella</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	Clostrídios Sulfito Redutores	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1, 2, 3	t0-4 °C, t0-4 °C, t0-4 °C	Ausente/25g	Ausente/25g		<50	<50
1, 2, 3	t12-4 °C, t13-4 °C, t14-4 °C		Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t12-8 °C, t13-8 °C, t14-8 °C		Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t12-8 °C-24 h, t13-8 °C-24 h, t14-8 °C-24 h		Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t12-8 °C-48 h, t13-8 °C-48 h, t14-8 °C-48 h		Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t19-4 °C, t20-4 °C, t20-4 °C		Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t19-8 °C, t20-8 °C, t20-8 °C		Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t19-8 °C-24 h, t20-8 °C-24 h, t20-8 °C-24 h		Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t19-8 °C-48 h, t20-8 °C-48 h, t20-8 °C-48 h		Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t28-4 °C, t29-4 °C, t29-4 °C		Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t28-8 °C, t29-8 °C, t29-8 °C		Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t28-8 °C-24 h, t29-8 °C-24 h, t29-8 °C-24 h		Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t28-8 °C-48 h, t29-8 °C-48 h, t29-8 °C-48 h		Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t34-4 °C, t35-4 °C, t35-4 °C		Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t34-8 °C, t35-8 °C, t35-8 °C		Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t34-8 °C-24 h, t35-8 °C-24 h, t35-8 °C-24 h		Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t34-8 °C-48 h, t35-8 °C-48 h, t35-8 °C-48 h		Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t40-4 °C, t41-4 °C, t41-4 °C		Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t40-8 °C, t41-8 °C, t41-8 °C		Ausente	<10	<10	<10

Os valores obtidos para a *Salmonella* são satisfatórios (Não detetado ou Não detetado em 25g), quando comparados com os dos valores-guia propostos pelo INSA. Isto é verificado para os três lotes, no tempo 0 a 4°C após abertura da embalagem. O mesmo se verifica (Não detetado) para a *Listeria monocytogenes*, em todos os lotes e respetivos tempos de armazenamento (dias) e para todas as temperaturas de armazenamento/tempo após abertura da embalagem. No que se refere aos *Clostrídios*

*Sulfito* Redutores e ao *Bacillus cereus*, os valores obtidos também revelam valores satisfatórios ( $<10^2$ ) em todos os lotes estudados, para todos os tempos de armazenamento e para todas as temperaturas consideradas. Por fim, verifica-se para os valores de *Staphylococcus aureus* são também satisfatórios ( $<10$ ) para todos os lotes, respetivos tempos e temperaturas de armazenamento temperaturas após abertura da embalagem e ao longo dos 41 dias de observação. Comparando com os valores-guia propostos pelo PHLS, foram observados valores aceitáveis (20-  $<100$ ) em três lotes (no tempo 0 e a 4 °C).

Na Tabela 14 são apresentados os resultados da análise de variância para o logaritmo da contagem bacteriana total nas amostras de frango com caril RTE, realizada para comparação de médias de contagens entre lotes, tempos e temperaturas. Como se pode observar, não se observaram diferenças significativas (valores  $p > 0,05$ ) entre lotes, tempos e temperaturas. Na Tabela 24 e na Tabela 25 (Anexo II), podem ser consultadas as médias amostrais para a contagem bacteriana para as combinações entre Lote\*Tempo e Lote\*Temperatura, que variam entre 1.29 e 1.95 (para Lote\*Tempo) e entre 1.36 e 2.10 (para Lote\*Temperatura), respetivamente.

Tabela 14. Resultados da ANOVA para o logaritmo da contagem bacteriana total, para o Frango de Caril

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	valor p
Lote	2	0.405	0.2026	0.705	0.502
Tempo	9	1.090	0.1211	0.421	0.913
Temperatura	3	1.627	0.5422	1.885	0.153
Lote:Tempo	3	0.159	0.0530	0.184	0.906
Lote:Temperatura	6	1.000	0.1666	0.579	0.744
Residuals	30	8.628	0.2876		

### 5.1.2. Análise sensorial

Ao todo, participaram 27 provadores no painel da primeira avaliação (imediatamente após a produção das amostras de Frango de Caril RTE; Julho 2020) e 32 no painel da segunda avaliação (no limite de vida útil do produto; Agosto de 2020). Na Tabela 15 são apresentados os resultados desta prova sensorial. Como se pode observar, existem diferenças significativas na apreciação geral, aroma, sabor do arroz, sabor da carne e consistência do arroz, sendo valores superiores (ou seja, apreciações melhores) para o mês de Julho.

Tabela 15. Resultados organoléuticos para o frango de caril

	Nº de provadores	Apreciação geral	Aspetto	Aroma	Sabor arroz	Sabor carne	Consistência da carne	Consistência do arroz
<b>Julho</b>	27	6.44 *	6.07	6.48 *	5.93 *	6.26 *	5.96	5.59 *
<b>Agosto</b>	32	5.50	5.25	5.50	5.09	5.47	5.69	4.65

\* Valor médio significativamente superior (valores  $p < 0.05$ )

## 5.2. Salada de Tabulé RTE

### 5.2.1. Análise microbiológica

Os resultados microbiológicos referentes aos indicadores de qualidade e aos indicadores de segurança relativos às amostras de salada de *tabulé* RTE estão apresentados na Tabela 16 e na Tabela 17, respetivamente.

Tabela 16. Resultados microbiológicos para os indicadores de qualidade para a Salada de *Tabulé*

Lote	Tempo de armazenamento (dias) / Temperatura de armazenamento / Tempo após abertura da embalagem	Leveduras (UFC/g)	Bolores (UFC/g)	Bactérias Lácticas (UFC/g)	Enterobacteriaceae (UFC/g)
1, 3	t0-4 °C	<50	<50	50	<10
2	t0-4 °C	<50	<50	<10	<10
1, 2, 3	t10-4 °C	<10	<10	<10	<10
1	t10-8 °C	<10	<10	<10	<10
2	t10-8 °C	s.d	s.d	s.d	s.d
3	t12-8 °C	s.d	s.d	s.d	s.d
1	t10-8 °C-24 h	<40	<10	<10	<40
2, 3	t10-8 °C-24 h	<10	<10	<10	<10
1	t10-8 °C-48 h	<10	<10	<40	<10
2	t10-8 °C-48 h	<10	<10	<10	<10
3	t12-8 °C-48 h	<10	<10	100	<10
1, 2	t18-4 °C	<10	<10	<10	<10
3	t18-4 °C	<40	<40	<10	<10
1	t18-8 °C	<10	<40	<10	<10
2	t18-8 °C	<10	<10	<10	<10
3	t18-8 °C	<40	<40	<10	<10
1, 2	t18-8 °C-24 h	<10	<10	<10	<10
3	t18-8 °C-24 h	<40	<10	36	<10
1	t18-8 °C-48 h	<10	<10	82	<10
2	t18-8 °C-48 h	<10	<10	<10	<10
3	t18-8 °C-48 h	<40	<10	<10	<10
1	t25-4 °C	<10	<10	<10	<10
2	t25-4 °C	s.d	s.d	s.d	s.d
3	t25-4 °C	s.d	s.d	s.d	s.d
1	t25-8 °C	<10	<10	<10	<10
2	t25-8 °C	s.d	s.d	s.d	s.d
3	t25-8 °C	s.d	s.d	s.d	s.d
1	t25-8 °C-24 h	<10	<10	<10	<10
2	t25-8 °C-24 h	s.d	s.d	s.d	s.d
3	t25-8 °C-24 h	s.d	s.d	s.d	s.d

Lote	Tempo de armazenamento (dias) / Temperatura de armazenamento / Tempo após abertura da embalagem	Leveduras (UFC/g)	Bolores (UFC/g)	Bactérias Lácticas (UFC/g)	Enterobacteriaceae (UFC/g)
1, 2	t25-8 °C-48 h	<10	<10	<10	<10
3	t25-8 °C-48 h	<10	<10	440	<10
1, 2, 3	t32-4 °C	<10	<10	<10	<10
1, 2, 3	t32-8 °C	<10	<10	<10	<10
1, 2, 3	t32-8 °C-24 h	<10	<10	<10	<10
1, 2, 3	t32-8 °C-48 h	<10	<10	<10	<10
1, 2, 3	t42-4 °C	<10	<10	<10	<10
1, 2, 3	t42-8 °C	<10	<10	<10	<10

Comparando os valores obtidos para as amostras de salada de *tabulé* relativamente às leveduras com os valores-guia propostos pelo INSA, verifica-se que, para todos os lotes e para todos os tempos considerados de armazenamento (dias) e após abertura da embalagem (dias), bem como para todas as diferentes temperaturas de armazenamento, os valores relativos a leveduras são satisfatórios (<10<sup>3</sup>UFC/g). De igual modo, comparando os valores obtidos para os bolores com os dos valores-guia propostos pelo INSA, verifica-se que, para todos os lotes e para todos os tempos considerados de armazenamento (dias) e após abertura da embalagem (dias), bem como para todas as diferentes temperaturas de armazenamento, os valores são satisfatórios (<5x10<sup>2</sup>UFC/g). Por fim, comparando também os valores obtidos para os *Enterobacteriaceae* com os dos valores-guia propostos pelo INSA, assim como com os valores-guia propostos pelo PHLS, foram observados valores satisfatórios (<10<sup>2</sup>UFC/g) em todos os lotes e respetivos tempos de armazenamento (dias) / temperaturas de armazenamento/tempo após abertura da embalagem.

Tabela 17. Resultados microbiológicos para os indicadores de segurança, para a Salada de *Tabulé*

Lote	Tempo de armazenamento (dias) / Temperatura de armazenamento / Tempo após abertura da embalagem	<i>Salmonella</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Clostrídios Sulfito Redutores</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1	t0-4 °C	Ausente/25g	Ausente/25g	s.d	<50	<50
2	t0-4 °C	Ausente/25g	Ausente	s.d	<50	<50
3	t0-4 °C	Ausente/25g	Ausente	<10	<50	<50
1, 2	t10-4 °C	s.d	Ausente	<10	<10	<10
3	t12-4 °C	s.d	Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t10-8 °C	s.d	Ausente	<10	<10	<10
1	t10-8 °C-24 h	s.d	Presença <10 (UFC/g)	<10	<10	<10
2	t10-8 °C-24 h	s.d	Ausente	<10	<10	<10
3	t12-8 °C-24 h	s.d	Ausente	<10	<10	<10

1, 2	t10-8 °C-48 h	s.d	Ausente	<10	<10	<10
3	t12-8 °C-48 h	s.d	Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t18-4 °C	s.d	Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t18-8 °C	s.d	Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t18-8 °C-24 h	s.d	Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t18-8 °C-48 h	s.d	Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t25-4 °C	s.d	Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t25-8 °C	s.d	Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t25-8 °C-24 h	s.d	Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t25-8 °C-48 h	s.d	Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t32-4 °C	s.d	Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t32-8 °C	s.d	Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t32-8 °C-24 h	s.d	Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t32-8 °C-48 h	s.d	Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t42-4 °C	s.d	Ausente	<10	<10	<10
1, 2, 3	t42-8 °C	s.d	Ausente	<10	<10	<10

s.d.: sem dados disponíveis

Os valores obtidos para a *Salmonella* são satisfatórios (Não detetado ou Não detetado em 25g), quando comparados com os dos valores-guia propostos pelo INSA. Isto foi verificado para as amostras dos três lotes, no tempo 0 a 4°C após abertura da embalagem, para os restantes lotes, tempos de armazenamento e tempo após abertura de embalagem não existem dados disponíveis. O mesmo não se verifica para a *Listeria monocytogenes*, uma vez que de acordo com os valores-guia propostos pelo INSA, bem como os valores-guia proposto pelo PHLS, existe um valor não satisfatório ao fim de 10 dias a 8°C e após 24h. Nos restantes lotes e respetivos tempos de armazenamento (dias) / temperaturas de armazenamento/tempo após abertura da embalagem, foram encontrados valores satisfatórios (Não detetado). No que se refere aos *Clostrídios Sulfito Redutores* e ao *Bacillus cereus*, os valores obtidos também revelam valores satisfatórios (<10<sup>2</sup>) e (<10<sup>3</sup>) para todos os lotes estudados, para todos os tempos de armazenamento e para todas as temperaturas consideradas. Por fim, verificaram-se para os *Staphylococcus aureus* que todos os lotes, respetivos tempos e temperaturas de armazenamento temperaturas após abertura da embalagem valores satisfatórios (<10) ao longo dos 42 dias de observação. Comparando com os valores-guia propostos pelo PHLS, foram observados valores aceitáveis (20- <100) em três lotes (no tempo 0 e a 4°C).

Na Tabela 18 são apresentados os resultados da análise de variância para o logaritmo da contagem bacteriana total nas amostras de Salada de *tabulé*, realizada para comparação de médias de contagens entre lotes, tempos e temperaturas. Como se

pode verificar, observaram-se diferenças significativas (valores  $p < 0,05$ ) entre lotes, tempos e temperaturas. Na Tabela 26 e na Tabela 27 (Anexo II), podem ser consultadas as médias amostrais para a contagem bacteriana para as combinações entre Lote\*Tempo e Lote\*Temperatura, que variam entre 1.30 e 2.80 (para Lote\*Tempo) e entre 1.48 e 3.22 (para Lote\*Temperatura), respectivamente. Na Tabela 28 e na Tabela 29 (Anexo II), podem ser consultados os resultados do teste de Tukey no que diz respeito às diferenças das médias amostrais para o logaritmo da contagem bacteriana para combinações entre Lote\*Tempo e Lote\*Temperatura respectivamente.

Tabela 18. Resultados da ANOVA para o logaritmo da contagem bacteriana total para Salada de *Tabulé*

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	valor p
Lote	2	13.033	6.517	79.069	1.1e-12
Tempo	5	1.173	0.235	2.846	0.03215
Temperatura	3	1.564	0.521	6.326	0.00187
Lote:Tempo	7	0.586	0.084	1.016	0.44025
Lote:Temperatura	6	0.641	0.107	1.296	0.28923
Residuals	30	2.473	0.082		

### 5.2.2. Análise sensorial

Na tabela 19 são apresentados os resultados da prova sensorial para este produto alimentar RTE. Como se pode observar, existem diferenças significativas no aroma, sabor total, sabor da carne e consistência da carne entre o mês de Julho e o mês de Agosto (melhores para Julho do que para Agosto).

Tabela 19. Resultados organoléuticos para a Salada de *Tabulé* RTE

	Nº de provadores	Apreciação geral	Aspetto	Aroma	Sabor total	Sabor carne	Sabor couscous	Consistência da carne
<b>Julho</b>	27	6.93	6.30	6.18 *	6.78 *	6.85 *	6.67	7.15 *
<b>Agosto</b>	32	5.50	6.66	5.53	6.50	6.31	6.63	6.34

\* Valor médio significativamente superior (valores  $p < 0.05$ )

### 5.3. Sopa de Legumes RTE

#### 5.3.1. Análise microbiológica

Os resultados microbiológicos referentes aos indicadores de qualidade e aos indicadores de segurança relativos ao frango de caril RTE estão apresentados na Tabela 20 e na Tabela 21, respetivamente.

Tabela 20. Resultados microbiológicos para os indicadores de qualidade alimentar, para as amostras de Sopa de Legumes

Lote	Tempo de armazenamento (dias) / Temperatura de armazenamento / Tempo após abertura da embalagem	Leveduras (UFC/g)	Bolores (UFC/g)	Bactérias lácticas (UFC/g)	Enterobacteriaceae (UFC/g)
1	t0-4 °C	<50	<50	20	<10
2, 3	t0-4 °C	<50	<50	<10	<10
1	t8-4 °C	<50	<50	<10	<10
2	t11-4 °C	<10	<10	<10	<10
3	s.d	s.d	s.d	s.d	s.d
1	t8-8 °C	<50	<50	<10	<10
2	t11-8 °C	<10	<10	<10	<10
3	s.d	s.d	s.d	s.d	s.d
1	t9-8 °C-24 h	<50	<50	<10	10
2	t12-8 °C-24 h	<10	<10	<10	<10
3	s.d	s.d	s.d	s.d	s.d
1	t11-8 °C-48 h	50	<50	<100	<10
2	t13-8 °C-48 h	<10	<10	<10	<10
3	s.d	s.d	s.d	s.d	s.d
1	t15-4 °C	<50	50	<50	<10
2, 3	t18-4 °C	<10	<10	<10	<10
1	t15-8 °C	<50	<50	<50	<10
2	t18-8 °C	<10	<10	<10	<10
3	t15-8 °C	<10	<10	<10	<10
1	t15-8 °C-24 h	<50	<50	<50	10
2, 3	t18-8 °C-24 h	<10	<10	<10	<10
1	t15-8 °C-48 h	<50	<50	<50	<10
2, 3	t18-8 °C-48 h	<10	<10	<10	<10
1	t31-4 °C	<50	<50	<10	<10
2, 3	t26-4 °C	<10	<10	<10	<10
1	t31-8 °C	<50	<50	<10	<10
2, 3	t26-8 °C	<10	<10	<10	<10
1	t31-8 °C-24 h	<50	300	<10	<10
2, 3	t26-8 °C-24 h	<10	<10	<10	<10
1	t31-8 °C-48 h	<50	<50	<10	<10

Lote	Tempo de armazenamento (dias) / Temperatura de armazenamento / Tempo após abertura da embalagem	Leveduras (UFC/g)	Bolores (UFC/g)	Bactérias lácticas (UFC/g)	Enterobacteriaceae (UFC/g)
2	t26-8 °C-48 h	<10	<10	<10	<10
3	t29-8 °C-48 h	<10	<10	<40	<10
1	s.d	s.d	s.d	s.d	s.d
2, 3	t33-4 °C	<10	<10	<10	<10
1	s.d	s.d	s.d	s.d	s.d
2, 3	t33-8 °C	<10	<10	<10	<10
1	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
2	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
3	t22-4 °C	<10	<10	<10	<10
1	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
2	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
3	t22-8 °C	<10	<10	<10	<10
1	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
2	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
3	t22-8 °C-24 h	<10	<10	<10	<10
1	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
2	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
3	t22-8 °C-48 h	<10	<10	<10	<10

Comparando os valores obtidos para as leveduras que com os valores-guia propostos pelo INSA verifica-se, para todos os lotes e para todos os tempos considerados de armazenamento (dias) e após abertura da embalagem (dias), bem como para todas as diferentes temperaturas de armazenamento, os valores relativos a leveduras são satisfatórios para todas as amostras (<10<sup>3</sup>UFC/g). De igual modo, comparando os valores obtidos para os bolores com os valores-guia propostos pelo INSA, verifica-se que, para todos os lotes e para todos os tempos considerados de armazenamento (dias) e após abertura da embalagem (dias) bem como para todas as diferentes temperaturas de armazenamento, que os valores são satisfatórios (<5x10<sup>2</sup>UFC/g). Por fim, comparando também os valores relativos aos Enterobacteriaceae nas amostras em estudo com os dos valores-guia propostos pelo INSA, assim como com os valores-guia propostos pelo PHLS, foram encontrados valores satisfatórios (<10<sup>2</sup>UFC/g) em todos os lotes e respetivos tempos de armazenamento (dias) / temperaturas de armazenamento/tempo após abertura da embalagem.

Tabela 21. Resultados microbiológicos para os indicadores de segurança alimentar, para as amostras de Sopa de Legumes

Lote	Tempo de armazenamento (dias) / Temperatura de armazenamento / Tempo após abertura da embalagem	<i>Salmonella</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Clostrídios Sulfito Redutores</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1,2	t0-4 °C	Ausente/25g	Ausente/25g	s.d.	<50	<50
3	t0-4 °C	Ausente/25g	Ausente	s.d.	<50	<50
1	t8-4 °C	s.d.	s.d.	s.d.	<50	<50
2	t11-4 °C	s.d.	Ausente	<10	<10	<10
3	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
1	t8-8 °C	s.d.	s.d.	s.d.	<50	<50
2	t11-8 °C	s.d.	Ausente	<10	<10	<10
3	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
1	t9-8 °C-24 h	s.d.	s.d.	s.d.	<50	<50
2	t12-8 °C-24 h	s.d.	Ausente	<10	<10	<10
3	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
1	t11-8 °C-48 h	s.d.	s.d.	s.d.	<50	<50
2	t13-8 °C-48 h	s.d.	Ausente	<10	<10	<10
3	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
1	t15-4 °C	s.d.	s.d.	s.d.	<50	<50
2	t18-4 °C	s.d.	Ausente	<10	<10	<10
3	t15-4 °C	s.d.	Ausente	<10	<10	<10
1	t15-8 °C	s.d.	s.d.	s.d.	<50	<50
2	t18-8 °C	s.d.	Ausente	<10	<10	<10
3	t15-8 °C	s.d.	Ausente	<10	<10	<10
1	t15-8 °C-24 h	s.d.	s.d.	s.d.	<50	<50
2	t18-8 °C-24 h	s.d.	Ausente	<10	<10	<10
3	t15-8 °C-24 h	s.d.	Ausente	<10	<10	<10
1	t15-8 °C-48 h	s.d.	s.d.	s.d.	<50	<50
2	t18-8 °C-48 h	s.d.	Ausente	<10	<10	<10
3	t15-8 °C-48 h	s.d.	Ausente	<10	<10	<10
1	t31-4 °C	s.d.	s.d.	s.d.	<50	<50
2	t26-4 °C	s.d.	Ausente	<10	<10	<10
3	t29-4 °C	s.d.	Ausente	<10	<10	<10
1	t31-8 °C	s.d.	s.d.	s.d.	<50	<50
2	t26-8 °C	s.d.	Ausente	<10	<10	<10
3	t29-8 °C	s.d.	Ausente	<10	<10	<10
1	t31-8 °C-24 h	s.d.	s.d.	s.d.	<50	<50
2	t26-8 °C-24 h	s.d.	Ausente	<10	<10	<10
3	t29-8 °C-24 h	s.d.	Ausente	<10	<10	<10
1	t31-8 °C-48 h	s.d.	Ausente/25g	s.d.	<50	<50
2	t26-8 °C-48 h	s.d.	Ausente	<10	<10	<10
3	t29-8 °C-48 h	s.d.	Ausente	<10	<10	<10
1	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
2	t33-4 °C	s.d.	Ausente	<10	<10	<10

Lote	Tempo de armazenamento (dias) / Temperatura de armazenamento / Tempo após abertura da embalagem	<i>Salmonella</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Clostrídios Sulfito Redutores</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
3	t32-4 °C	s.d.	Ausente	<10	<10	<10
1	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
2	t33-8 °C	s.d.	Ausente	<10	<10	<10
3	t32-8 °C	s.d.	Ausente	<10	<10	<10
1	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
2	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
3	t22-4 °C	s.d.	Ausente	<10	<10	<10
1	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
2	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
3	t22-8 °C	s.d.	Ausente	<10	<10	<10
1	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
2	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
3	t22-8 °C-24 h	s.d.	Ausente	<10	<10	<10
1	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
2	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
3	t22-8 °C-48 h	s.d.	Ausente	<10	<10	<10

Os valores obtidos para a *Salmonella* são satisfatórios (Não detetado ou Não detetado em 25g) quando comparados com os dos valores-guia propostos pelo INSA. Isto foi verificado para os três lotes, no tempo 0 a 4°C, após abertura da embalagem. O mesmo se verifica (Não detetado) para a *Listeria monocytogenes*, em todos os lotes e respectivos tempos de armazenamento (dias) e para todas as temperaturas de armazenamento/tempo após abertura da embalagem. No que se refere aos *Clostrídios sulfito* redutores e ao *Bacillus cereus*, os valores obtidos foram também satisfatórios (<10<sup>2</sup> e <10<sup>3</sup>, respetivamente) em todos os lotes estudados, para todos os tempos de armazenamento e para todas as temperaturas consideradas. Por fim, para o *Staphylococcus aureus*, todos os lotes, respetivos tempos e temperaturas de armazenamento temperaturas após abertura da embalagem apresentaram valores satisfatórios (<10) ao longo dos 41 dias de observação. Comparando com os valores-guia propostos pelo PHLS, foram observados três valores aceitáveis (20- <100) em três lotes (no tempo 0 e a 4°C).

Na Tabela 22 são apresentados os resultados da análise de variância para o logaritmo da contagem bacteriana total nas amostras de Sopa de legumes, realizada para comparação de médias de contagens entre lotes, tempos e temperaturas. Como se pode verificar, observaram-se diferenças significativas (valores p < 0.05) entre lotes e temperaturas para um nível de significância  $\alpha=0.05$ . Por outro lado, não se

observaram diferenças significativas (valores  $p > 0.05$ ) entre tempos e interação lote:temperatura. Na Tabela 30 Na tabela 30 (Anexo II), podem ser consultados os resultados das médias amostrais para o logaritmo da contagem bacteriana para as combinações entre Lote\*Temperatura, que variam entre 1.11 e 2.99. Na Tabela 31 (Anexo II), podem ser consultados os resultados do teste de Tukey no que diz respeito às diferenças das médias amostrais para o logaritmo da contagem bacteriana para combinações entre lotes e temperaturas.

Tabela 22. Resultados da ANOVA para logaritmo da contagem bacteriana total para Sopa de Legumes

	df	Sum Sq	Mean Sq	F value	valores p
<b>Lote</b>	2	6.258	3.1288	18.124	3.23e-05
<b>Tempo</b>	8	1.303	0.1629	0.944	0.5042
<b>Temperatura</b>	3	2.190	0.7300	4.229	0.0181
<b>Lote:Temperatura</b>	6	2.503	0.4172	2.416	0.0640
<b>Residuals</b>	20	3.453	0.1726		

### 5.3.2. Análise Sensorial

Na Tabela 23 são apresentados os resultados desta prova sensorial. Como se pode observar apenas se verificou diferença estatística nos valores médios de apreciação da consistência dos legumes (melhor apreciados para o mês de Julho do que para o mês de Agosto).

Tabela 23. Resultados organoléticos para as amostras de Sopa de Legumes

	Nº de provadores	Apreciação geral	Aspetto	Aroma	Sabor total	Densidade	Consistência dos legumes	Consistência da carne
<b>Julho</b>	27	6.67	6.22	6.52	7.04	6.59	7.00 *	6.30
<b>Agosto</b>	32	6.28	5.69	6.47	6.75	5.97	6.16	5.91

\* Valor médio significativamente superior ( $p < 0.05$ )

## 6. Discussão

O principal objetivo desta dissertação foi avaliar se os tempos de vida determinados para produtos alimentares RTE são válidos (ou seja, adequados) do ponto de vista microbiológico (em termos de segurança e qualidade alimentares) e organoléptico. Para atingir este objetivo, foi realizado um estudo microbiológico e de avaliação sensorial a três produtos RTE produzidos por uma empresa italiana (no âmbito de um estágio profissional realizado pela autora desta dissertação).

O objetivo do estudo é relevante do ponto de vista empresarial e em termos de movimento do consumidor. Um estudo realizado por (Robin et al., 2019) confirmou (através da realização de questionários a 258 consumidores) que a principal motivação que leva os consumidores a adquirirem produtos RTE é a conveniência na utilização dos mesmos. Uma percentagem relevante dos entrevistados (40,7%) consome produtos RTE mais do que duas vezes por semana. O estudo concluiu que é essencial compreender o conhecimento por parte dos consumidores sobre segurança alimentar para o desenvolvimento de uma saúde educacional eficaz.

No estudo apresentado nesta dissertação, foi estudada a potencial presença de vários microrganismos, nomeadamente a *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter spp*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, e a *Salmonella* ao longo do tempo de vida útil de três produtos alimentares RTE. Alguns estudos mostraram já a importância da investigação sobre presença de *Listeria monocytogenes* em produtos RTE. Num desses estudos, a presença e os níveis deste microrganismo foram determinados através de ensaios rápidos baseados em DNA, em combinações com métodos de cultura. Os dados recolhidos nesse estudo mostraram que a presença deste microrganismo variava no local de recolha para local de recolha (cidades diferentes) e que era mais provável de encontrar quando os alimentos eram embalados nos pontos de distribuição do que quando eram embalados aquando da confeção (Gombas et al., 2003).

Um outro estudo demonstrou a importância da análise de *Campylobacter spp* em alimentos, um dos principais agentes causadores de doenças de origem alimentar (nomeadamente gastroenterite) na população humana (Shad & Shad, 2019).

Outro estudo mostrou que, embora os produtos RTE sejam muito convenientes para os consumidores, é frequente estarem contaminados com bactérias patogénicas, tais como *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* ou o *Staphylococcus aureus* (Yu et al., 2020). O *Bacillus cereus* está presente em diferentes produtos alimentares e pode

causar diversos sintomas relacionados com a intoxicação alimentar. Uma vez que os produtos RTE não são comumente esterilizados por tratamento térmico antes do consumo, a contaminação por *Bacillus cereus* pode causar graves problemas de segurança alimentar (Yu et al., 2020). Apesar de não ser o caso do estudo da presente dissertação (uma vez que os produtos RTE aqui tratados sofreram tratamento térmico antes do consumo), é importante e fundamental estudar este microrganismo pois pode causar intoxicação alimentar mesmo em doses muito baixas. De facto, com mais de  $10^3/g$ , este microrganismo é considerado inseguro para consumo. Ainda neste estudo, 302 das 860 amostras recolhidas foram positivas para *Bacillus cereus*. Isto indica que os produtos RTE são um risco potencial para o consumidor.

Uma meta-análise com o objetivo de determinar a prevalência, em produtos RTE, de um conjunto de microrganismos relevantes para a saúde pública (*Escherichia coli*, *Salmonella* e *Staphylococcus aureus*) em países desenvolvidos, revelou que a contaminação de produtos RTE com microrganismos patogénicos continua a ser um risco para a saúde pública, salientando os autores ser necessário implementar sistemas eficazes de higiene e segurança alimentar para proteger a saúde dos consumidores e do público no geral (Mengistu & Tolera, 2020).

Outro estudo relevante teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de saladas RTE (contagem de colónias aeróbicas, *Escherichia coli*, leveduras, bolores, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*). As amostras de salada RTE foram produzidas e comercializadas em Itália. Os microrganismos patogénicos de origem alimentar, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* não foram detetados; por outro lado, cerca de três por cento das 570 amostras estavam contaminadas por *Escherichia coli*. Embora lavar as saladas antes do consumo não seja eficaz para eliminar patógenos presentes, os resultados deste estudo mostraram que a lavagem das saladas foi útil na redução da carga microbiana, especialmente no que se refere à contagem de *Escherichia coli*. Os autores concluem que a monitorização mais frequente das temperaturas de armazenamento e o transporte seguro (refrigerado) seriam medidas necessárias para garantir a qualidade higiénica exigida (Calonico et al., 2019).

No estudo da presente dissertação, efetuaram-se análises sensoriais para avaliar a qualidade alimentar ao longo do tempo de vida útil dos produtos RTE. Verificou-se, para várias propriedades (e para os três produtos RTE em estudo), deterioração organolética no tempo de vida útil estipulado para estes produtos. No mesmo sentido, num estudo organolético com amostras de salada RTE ao longo do tempo de vida útil,

verificou-se que a maioria das amostras foram consideradas de pouca qualidade (“inaceitáveis”, até) no final do período de armazenamento, para todas as características visuais consideradas (Chhetri & Karki, 2014). O aspeto mais crítico, nesse estudo, foi o da textura.

### **Limites e forças do presente estudo**

O facto de a investigadora do presente estudo ter estado dependente da empresa onde recolheu as amostras para realização das análises microbiológicas, reduziu o controlo sobre o processo de recolha e análise dos dados, sendo este um dos principais limites do estudo apresentado na presente dissertação. Apesar destes constrangimentos, o contexto de estágio profissional que possibilitou a realização deste estudo permitiu o acesso a uma amostra relativamente grande e variada (três tipos diferentes) de produtos alimentares RTE, com recurso a técnicas analíticas dispendiosas. Mais do que isso, permitiu realizar um estudo científico que dá resposta a uma necessidade específica da indústria e da saúde pública relacionada com o consumo alimentar.

Um outro limite do presente estudo tem a ver com o facto de o painel de provadores ter sido diferente nos dois momentos do estudo (27 provadores em Julho e 32 provadores em Agosto). Esta estratégia de amostragem de provadores constitui um limite metodológico, na medida em que não se consegue avaliar a evolução das apreciações organolépticas por provadores (abordagem longitudinal). Por outro lado, o facto de serem amostras independentes de provadores garantiu que as apreciações por parte dos provadores não tenham sido comprometidas visto que os mesmos tinham conhecimento que se encontravam a provar os mesmos alimentos em fases diferentes do tempo de vida útil (conhecimento esse que poderia influenciar as respostas). Um outro aspeto tem a ver com o facto de o painel de provadores não ter sido treinado. Este viés pôde ter sido minimizado pelo facto do painel ser constituído por funcionários da empresa, com experiência relacionada com os produtos alimentares em estudo e por estarem motivados em garantir o máximo possível de qualidade e segurança nestes produtos (adotando assim uma postura crítica, na prova).

## 7. Conclusão

Este estudo mostra que os tempos de vida útil determinados pela indústria para produtos alimentares RTE apontam para uma manutenção de valores microbiológicos satisfatórios. Este resultado reforça a ideia de que as práticas de confeção e armazenamento deste tipo de produto são adequadas e que é fundamental manter as mesmas para que estes valores se mantenham. Por outro lado, é de extrema importância incluir testes organoléticos como critério, os produtos RTE em estudo pareceram sofrer alterações ao nível organolético.

A data de validade dos alimentos diz respeito à segurança - os alimentos podem ser consumidos até essa data, mas não depois, mesmo que tenham aparência e aroma adequados. Assim sendo, o 'Melhor antes de...' refere-se à qualidade: os alimentos serão seguros para comer após essa data, mas podem não estar no seu melhor. Por exemplo, o seu sabor e textura podem não ser tão bons quanto desejável. Apesar de existirem recomendações para o consumidor em como o produto deve ser consumido após abertura, muitos consumidores questionaram se é eventualmente possível manter o produto RTE aberto para ser consumido outro dia. Este estudo mostra que as características microbiológicas são satisfatórias, quer após 24h, quer após 48h, havendo no entanto alguma degradação ao nível da palatibilidade dos alimentos.

Os resultados obtidos neste estudo beneficiarão análises semelhantes futuras em estudos com outros tipos de alimentos e com outros contextos de confeção, distribuição e armazenamento. Para a realização desta dissertação foi feito um estudo relativo a que microrganismos deveriam ser estudados e chegou-se à conclusão que existem microrganismos indicadores de qualidade e microrganismos indicadores de segurança (alvos da abordagem metodológica utilizada). Seria interessante o estudo ter continuação e serem feitas análises físico-químicas nos mesmos tempos de vida realizados para as análises microbiológicas.

A procura por parte dos consumidores deste tipo de produtos RTE leva a que estes produtos sejam cada vez mais estudados e se apostem em análises microbiológicas e organoléticas para garantir a produção de produtos RTE seguros e de qualidade. Nos tempos atuais, as questões da conservação alimentar são fundamentais. Vivemos num período em que é importante recordarmos os perigos representados pelos patógenos e da importância das boas práticas de higiene. Assim sendo, importa que a academia se associe aos esforços da indústria alimentar de forma a garantir continuidade no desenvolvimento e inovação de processos de confeção,

armazenamento e distribuição e que garantam não apenas a qualidade gustativa e nutricional dos alimentos, mas também a segurança.

## 8. Referências bibliográficas

- Aiello, G., La Scalia, G., & Micale, R. (2012). Simulation analysis of cold chain performance based on time-temperature data. *Production Planning and Control*, 23(6), 468–476. <https://doi.org/10.1080/09537287.2011.564219>
- ASAE. (2015). *Rotulagem Alimentar - A importância da informação na Defesa do Consumidor*. ASAEnews N° 92. <https://www.asae.gov.pt/newsletter2/asaenews-n-92-dezembro-2015/rotulagem-alimentar-a-importancia-da-informacao-na-defesa-do-consumidor.aspx>
- ASAE. (2020). *Perigos de origem alimentar*. <https://www.asae.gov.pt/cientifico-laboratorial/area-tecnico-cientifica/perigos-de-origem-alimentar.aspx>
- Association française de normalisation. (2018). *Validation study according to the EN ISO 16140-2:2016 RAPID 'Enterobacteriaceae method* (Issue 33).
- Baptista, P., & Linhares, M. (2005). *Higiene e Segurança Alimentar na Restauração Volume I - Iniciação* (1ª Ed.). Forvisão - Consultoria em Formação Integrada, S.A.
- Baptista, P., & Venâncio, A. (2003). *Os perigos para a segurança alimentar no processamento de alimentos* (1ª Ed., Vol. 4). Forvisão - Consultoria em Formação Integrada, LDA.
- Bilska, A., & Kowalski, R. (2014). Food Quality and Safety Management. *Scientific Journal of Logistics*, 10(3), 351–361. <https://doi.org/10.1016/j.ejmp.2016.07.338>
- Borchers, A., Teuber, S. S., Keen, C. L., & Gershwin, M. E. (2010). Food safety. *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*, 39, 95–141. <https://doi.org/10.1007/s12016-009-8176-4>
- Calonico, C., Delfino, V., Pesavento, G., Mundo, M., & Lo Nostro, A. (2019). Microbiological Quality of Ready-to-eat Salads from Processing Plant to the Consumers. *Journal of Food and Nutrition Research*, 7(6), 427–434. <https://doi.org/10.12691/jfnr-7-6-3>
- Centre for food safety. (2014). Microbiological Guidelines for Food For ready-to-eat food in generak and specific food items. In *Food and Environmental Hygiene Department*. Centre for Food Safety. [https://www.cfs.gov.hk/english/food\\_leg/files/food\\_leg\\_Microbiological\\_Guidelines\\_for\\_Food\\_e.pdf](https://www.cfs.gov.hk/english/food_leg/files/food_leg_Microbiological_Guidelines_for_Food_e.pdf)

- Chhetri, V. S., & Karki, T. (2014). Occurrence of *Clostridium perfringens* in raw meat, poultry and meat spices and effect of sodium chloride and reduced pH on the outgrowth of their spores. *Asian Journal of Microbiology*, 16, 885–890. <https://www.researchgate.net/publication/280027473>
- Comissão das Comunidades Europeias. (2005). Regulamento (CE) n. 2073/2005 da Comissão de 15 de Novembro de 2005 relativo a critérios de microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios. *Jornal Oficial Da União Europeia*, 1–26.
- Corradini, M. G., & Peleg, M. (2007). Shelf-life estimation from accelerated storage data. *Food Science and Technology*, 18, 37–47. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.07.011>
- Corrigan, V., Hedderley, D., & Harvey, W. (2012). Modeling the Shelf Life of Fruit-Filled Snack Bars Using Survival Analysis and Sensory Profiling Techniques. *Journal of Sensory Studies*, 27(6), 403–416. <https://doi.org/10.1111/joss.12006>
- Daniels, S., & Glorieux, I. (2015). Convenience, food and family lives. A socio-typological study of household food expenditures in 21st-century Belgium. *Appetite*, 94, 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2015.04.074>
- Defeo, J. A. (2016). *Juran's Quality Handbook The Complete Guide To Performance Excellence* (McGraw-Hill Education (ed.); 7<sup>a</sup> Ed.).
- DeFries, R., Fanzo, J., Remans, R., Palm, C., Wood, S., & Aderman, T. L. (2015). Instructions That Macrophages. *Global Nutrition*, 349(6245), 238–240. [www.sciencemag.org](http://www.sciencemag.org)
- Department of Health Education, & Welfare of the Public Health Service - Food and Drug Administration. (2014). *Water Activity (aw) in Foods*. <https://www.fda.gov/inspections-compliance-enforcement-and-criminal-investigations/inspection-technical-guides/water-activity-aw-foods>
- Direção-Geral da Saúde (DGS). (2017). Programa Nacional para a alimentação saudável. *Dgs*. <http://www.pais.gob.pe/tambook/pnt>
- Food Safety Authority of Ireland. (2019). Validation of Product Shelf-life. In *Food Safety Authority of Ireland* (Vol. 18, Issue 4).
- Gilbert, R., Louvois, J., Donovan, T., Little, C., Nye, K., Ribeiro, C., Richards, J., Roberts, D., & Bolton, F. (2000). Guidelines for the microbiological quality of some ready-to-eat foods sampled at the point of sale. *Communicable Disease and Public Health / PHLS*, 3(3), 163–167.

- Gombas, D. E., Chen, Y., Clavero, R. S., & Scott, V. N. (2003). Survey of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. *Journal of Food Protection*, 66(4), 559–569. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-66.4.559>
- Gustavsson, J., Cederberg, C., Sonesson, U., Otterdijk, R., & Meybeck, A. (2011). Global Food loss and food waste: Causes and solutions. In *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. <https://doi.org/10.4337/9781788975391>
- Instituto Português da Qualidade. (2005). *NP EN ISO 9000:2005 Sistemas de gestão da qualidade: Fundamentos e vocabulário*.
- International Organization for Standardization. (1993). *Análise sensorial - Orientação geral para a seleção, treino e monitorização de provadores - Parte 1: Provadores selecionados*. (ISO Standard n°8586-1). <https://www.iso.org/standard/15875.html>
- International Organization for Standardization. (1999). *Microbiologia de alimentos e rações para animais - Método horizontal para a enumeração de estafilococos coagulase-positivos (Staphylococcus aureus e outras espécies) - Parte 1: Técnica usando meio de ágar Baird-Parker*. (ISO Standard n°6888-1). <https://www.iso.org/standard/23036.html>
- International Organization for Standardization. (2003). *Microbiologia de alimentos e rações para animais - Método horizontal para a enumeração de bactérias redutoras de sulfito que crescem em condições anaeróbicas*. (ISO Standard n°15213). <https://www.iso.org/standard/26852.html>
- International Organization for Standardization. (2013). *Microbiologia da cadeia alimentar - Método horizontal para a enumeração de microrganismos - Parte 2: Contagem de colónias a 30 °C pela técnica de revestimento de superfície*. (ISO Standard n°4833-2). <https://www.iso.org/standard/59509.html>
- International Organization for Standardization. (2017a). *Análise Sensorial - Metodologia - Orientação geral*. (ISO Standard n°6658). <https://www.iso.org/standard/65519.html>
- International Organization for Standardization. (2017b). *Microbiologia da cadeia alimentar - Método horizontal para a detecção, enumeração e serotipagem de Salmonella - Parte 1: Detecção de Salmmonella spp.* (ISO Standard n°6579-1). <https://www.iso.org/standard/56712.html>
- International Organization for Standardization. (2017c). *Microbiologia da cadeia alimentar - Método horizontal para a detecção e enumeração de Enterobacteriaceae - Parte 2: Técnica de contagem de colónias*. (ISO Standard

- n°21528-2). <https://www.iso.org/standard/63504.html>
- International Organization for Standardization. (2017d). *Microbiologia da cadeia alimentar - Método horizontal para detecção e contagem de Listeria monocytogenes e de Listeria spp. - Parte 1: Método de detecção*. (ISO Standard n°11290-1). <https://www.iso.org/standard/60313.html>
- International Organization for Standardization. (2017e). *Microbiologia da cadeia alimentar - Método horizontal para detecção e contagem de Listeria monocytogenes e de Listeria spp. - Parte 2: Método de enumeração*. (ISO Standard n°11290-2). <https://www.iso.org/standard/60314.html>
- Jackson, P., & Viehoff, V. (2016). Reframing convenience food. *Appetite*, 98, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2015.11.032>
- Kemp, S. E., Hollowood, T., & Hort, J. (2009). *Sensory Evaluation: A Practical Handbook*. Wiley-Blackwell. <http://library1.nida.ac.th/termpaper6/sd/2554/19755.pdf>
- Kotsanopoulos, K. V., & Arvanitoyannis, I. S. (2017). The Role of Auditing, Food Safety, and Food Quality Standards in the Food Industry: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(5), 760–775. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12293>
- Man, C. M. D., & Jones, A. A. (1996). Shelf life evaluation of foods. In *Trends in Food Science & Technology* (1<sup>a</sup> Ed., Vol. 7, Issue 2). Springer, Boston, MA. [https://doi.org/10.1016/0924-2244\(96\)81349-5](https://doi.org/10.1016/0924-2244(96)81349-5)
- Manzocco, L. (2016). The acceptability limit in food shelf life studies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(10), 1640–1646. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.794126>
- Mengistu, D. A., & Tolera, S. T. (2020). Prevalence of Microorganisms of Public Health Significance in Ready-to-Eat Foods Sold in Developing Countries: Systematic Review and Meta-Analysis. *International Journal of Food Science*, 2020, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2020/8867250>
- MicroVal. (2017). *Compact Dry ETB for enumeration of Enterobacteriaceae in foods*.
- New Zealand Food Safety Authority. (2005). *A Guide to Calculating the Shelf Life of Foods*. New Zealand Food Safety Authority.
- New Zealand Food Safety Authority. (2009). Microbiological quality guide for ready to-eat foods. A guide to interpreting microbiological results. *NSW Food Authority*, 1–

9. [www.foodauthority.nsw.gov.au](http://www.foodauthority.nsw.gov.au)

Nicoli, M. C. (2012). *Shelf Life Assessment of Food*. CRC Press.

Nuvoloni, R., Pedonese, F., Forzale, F., D'Ascenzi, C., & Rindi, S. (2007). L'Accertamento Dei Caratteri Di Freschezza Dei Prodotti Ittici Tramite Valutazione Organolettica. *Annali Facoltà Medicina Veterinaria*, 1, 272–287. <http://www.ispalim.unina.it/QIM.pdf>

Organização das Nações Unidas. (2016). *Guia sobre Desenvolvimento Sustentável 17 Objetivos para Transformar o Nosso Mundo*. Centro de Informação Regional das Nações Unidas para a Euro+a Ocidental. [https://www.unric.org/pt/images/stories/2016/ods\\_2edicao\\_web\\_pages.pdf](https://www.unric.org/pt/images/stories/2016/ods_2edicao_web_pages.pdf)

Organização Pan-Americana da Saúde, Organização Mundial da Saúde, & Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2003). *Codex Alimentarius Higiene dos Alimentos Textos Básicos*.

Parlamento Europeu; Conselho da União Europeia. (2011). 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, que altera os Regulamentos (CE) n.º 1924/2006 e (CE) n.º 1925/2006 do Parlamento. *Jornal Oficial Da União Europeia*, L 304, 18–63.

Parlamento Europeu e do Conselho. (2002). Regulamento (CE) n.º 178/2002 do Parlamento Europeu e do Conselho de 28 de Janeiro de 2002 que determina os princípios e normas gerais da legislação alimentar, cria a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos e estabelece procedimentos em matéria. *Jornal Oficial Das Comunidades Europeias*.

Peri, C. (2006). The universe of food quality. *Food Quality and Preference*, 17, 3–8. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2005.03.002>

Rahman, H., Islam, S., Akter, D., Talukder, N., Hossain, N., Rahman, H., & Zubair, A. (2018). Shelf Stability with & Without Preservatives and Storage Conditions , Physico-Chemical Properties of Strawberry Juice Procured from Tangail District Bangladesh. *Journal of Life Science and Engineering*, 3(1), 1–17.

Robertson, A., Tirado, C., Lobstein, T., Jermini, M., Knai, C., Jensen, J. H., Ferro-Luzzi, A., & James, W. P. (2004). *Food and health in Europe: a new basis for action*. WHO regional publications.

Robin, T., Alan Christopher Simmons, A., & Chirara, A. K. (2019). Consumers' consumption practices of ready-to-eat foods and food safety knowledge.

*International Conference of Social Sciences and Humanities*, 399–408.

- Röhr, A., Lüddecke, K., Drusch, S., Müller, M. J., & Alvensleben, R. V. (2005). Food quality and safety - Consumer perception and public health concern. *Food Control*, 16, 649–655. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.06.001>
- Saraiva, M., Cristina, C. B., Cunha, I. C., Maia, C., Bonito, C. C., Furtado, R., & Calhau, M. A. (2019). *Interpretação de resultados de ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo em superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar Valores-guia*. <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/5610>
- Sciortino, R., Micale, R., Enea, M., & La Scalia, G. (2016). A webGIS-based system for real time shelf life prediction. *Computers and Electronics in Agriculture*, 127, 451–459. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2016.07.004>
- Shad, A. A., & Shad, W. A. (2019). Review of Food-borne Micro-organism: Campylobacter Species Review of Food-borne Micro-organism: Campylobacter Species. *Journal of Food: Microbiology, Safety & Hygiene*, 4, 0–7.
- Sidel, J. L., & Stone, H. (1993). The role of sensory evaluation in the food industry. *Food Quality and Preference*, 4(1–2), 65–73. [https://doi.org/10.1016/0950-3293\(93\)90314-V](https://doi.org/10.1016/0950-3293(93)90314-V)
- Stannard, C. (1997). Development and use of microbiological criteria for foods Guidance for those involved in using and interpreting microbiological criteria for foods. *Food Science and Technology Today*, 11(3), 137–176.
- Subramaniam, P., & Kilcast, D. (2000). *The stability and shelf-life of food*. Woodhead Publishing Limited.
- Suhendra, A. D., Asworowati, R. D., & Ismawati, T. (2020). *General Principles of food hygiene*. 5(1), 43–54. <http://www.akrabjuara.com/index.php/akrabjuara/article/view/919>
- Trienekens, J., & Zuurbier, P. (2008). Quality and safety standards in the food industry, developments and challenges. *International Journal of Production Economics*, 113(1), 107–122. <https://doi.org/10.1016/j.ijpe.2007.02.050>
- U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, & Center for Food Safety and Applied Nutrition. (2013). *A Food Labeling Guide Guidance for industry*. <https://doi.org/10.1533/9781845696191.123>
- Valero, A., Carrasco, E., & Maria Garcia-Gimeno, R. (2012). Principles and

- Methodologies for the Determination of Shelf-Life in Foods. *Trends in Vital Food and Control Engineering*, April, 2–42. <https://doi.org/10.5772/35353>
- Van Der Horst, K., Brunner, T. A., & Siegrist, M. (2011). Ready-meal consumption: Associations with weight status and cooking skills. *Public Health Nutrition*, 14(2), 239–245. <https://doi.org/10.1017/S1368980010002624>
- Viegas, S. J. (2014). *Segurança Alimentar: Guia de boas práticas do consumidor*. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. <http://library1.nida.ac.th/termpaper6/sd/2554/19755.pdf>
- Woolf, S. H. (2008). The meaning of translational research and why it matters. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 299(2), 211–213. <https://doi.org/10.1001/jama.2007.26>
- World Health Organization. (2015). Who estimates of the global burden of foodborne diseases. In *World Health Organization*. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-27769-6\\_3884-1](https://doi.org/10.1007/978-3-642-27769-6_3884-1)
- World Health Organization (WHO), & Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2009). *Codex Alimentarius Food hygiene Basic texts*.
- Yu, S., Yu, P., Wang, J., Li, C., Guo, H., Liu, C., Kong, L., Yu, L., Wu, S., Lei, T., Chen, M., Zeng, H., Pang, R., Zhang, Y., Wei, X., Zhang, J., Wu, Q., & Ding, Y. (2020). A Study on Prevalence and Characterization of *Bacillus cereus* in Ready-to-Eat Foods in China. *Frontiers in Microbiology*, 10(January), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.03043>
- Zavanella, Maurizio; Muliari, Riccardo; Mioni, Renzo; D'Incau, M. (2008). *Microbi e Alimenti* (Fondazione iniziative zooprofilattiche e zootecniche (ed.)).

# **ANEXOS**

## **Anexo 1.** Processo de produção dos produtos alimentares RTE em estudo

O processo de produção destes produtos encontra-se esquematizado nas Figuras 3 a 5, com indicação dos pontos críticos.

Os fluxogramas são importantes e conforme apropriado incluem a sequência e interação de todas as etapas da operação, quaisquer processos externos ou trabalho subcontratado, a entrada das matérias-primas, ingredientes e produtos intermédios no fluxo, a realização de reprocessamento e recirculação, a liberação ou remoção dos produtos acabados, produtos intermédios, subprodutos e resíduos.

Nestes fluxogramas estão identificados os respetivos pontos críticos de controlo (PCC). São os pontos, fases operacionais ou procedimentos, no qual se pode aplicar um controlo para eliminar ou reduzir a níveis aceitáveis um risco que pode afetar a salubridade de um alimento. Ou, qualquer ponto num sistema específico onde a perda de controlo pode resultar num perigo para a saúde do consumidor. É necessário estabelecer limites críticos para PCC's, um limite crítico é um critério que deve ser definido para cada medida preventiva associada a um PCC, este valor separa aceitabilidade da não aceitabilidade, os limites críticos devem ser mensuráveis, o fundamento para a escolha dos limites críticos deve ser documentado, os limites críticos baseados em dados subjetivos (inspeção visual ao produto, dos processos, do manuseamento) devem ser apoiados por instruções ou especificações e/ou na formação escolar e profissional. (NORMA PORTUGUESA EN ISSO 22000:2005)

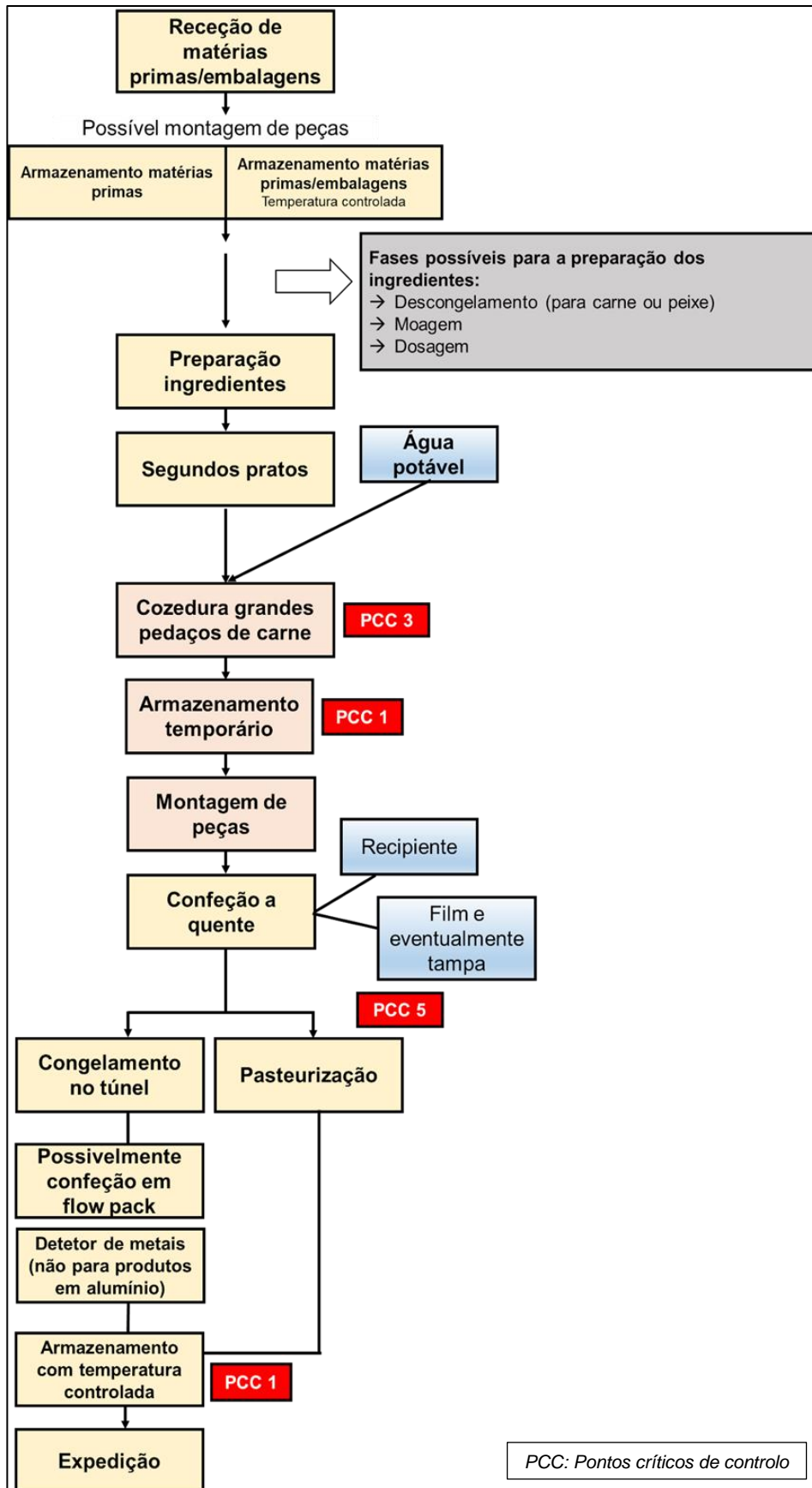


Figura 3. Fluxograma da produção de Frango de Caril na Empresa B

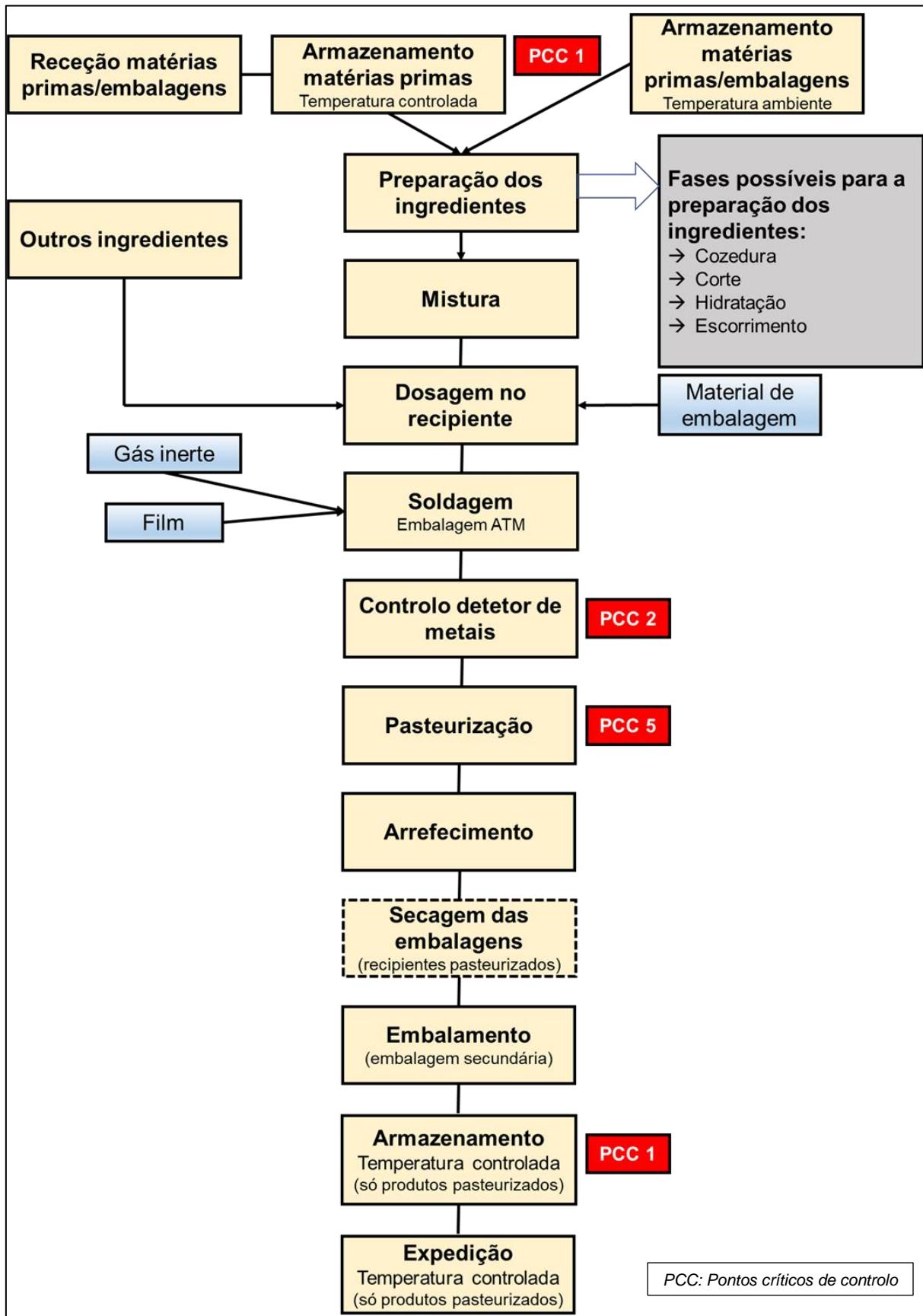


Figura 4. Fluxograma da produção de Salada Tabulé na Empresa B

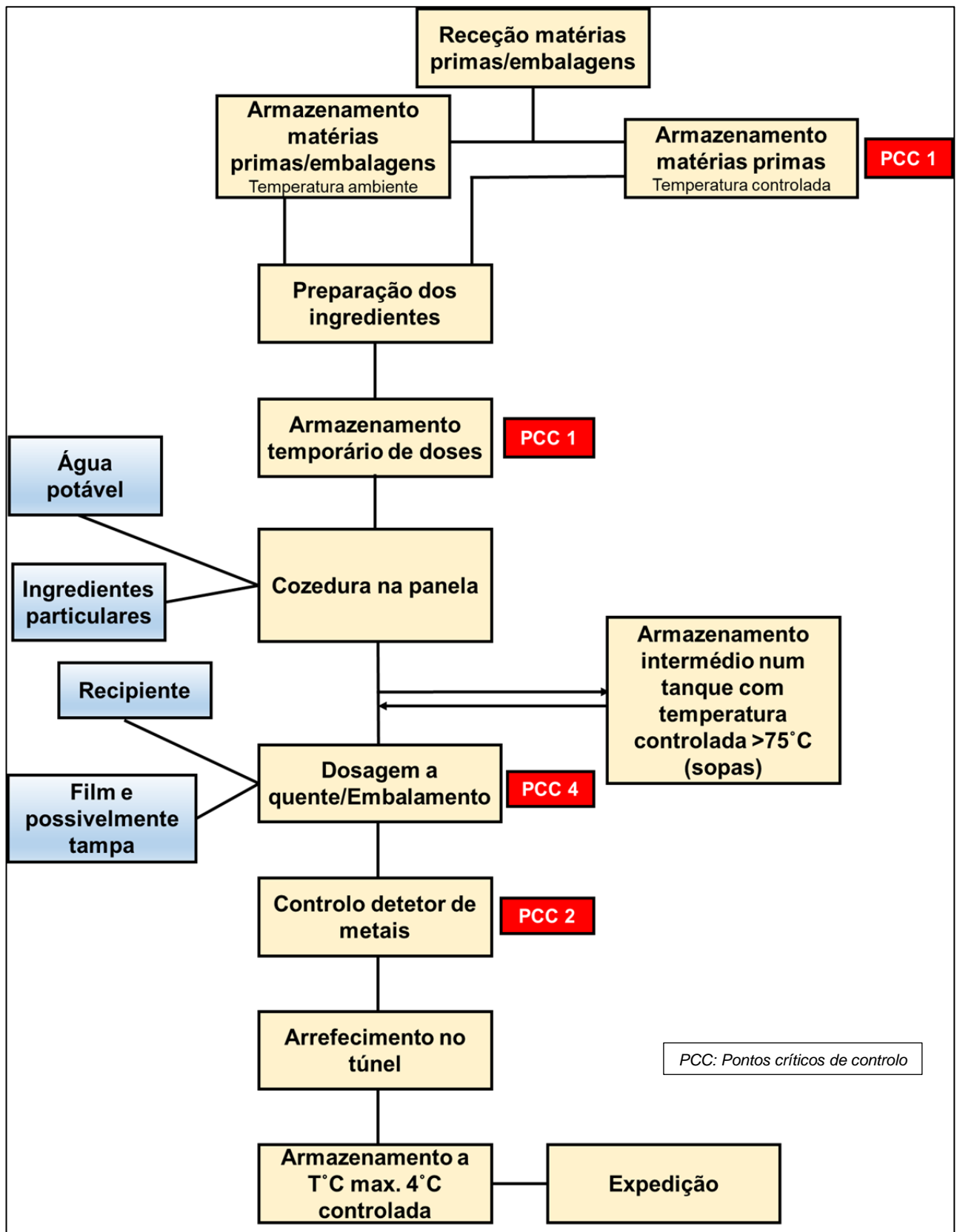


Figura 5. Fluxograma da produção de Sopa de Legumes na Empresa B

**Anexo 2.** Comparação de médias relativas aos valores obtidos para o logaritmo da contagem bacteriana, entre Lotes, Tempos de armazenamento e Temperaturas, para os três produtos RTE em estudo

Tabela 24. Médias amostrais para o logaritmo da contagem bacteriana, para as combinações Lote e Tempo, para o Frango de Caril

<b>Lote</b>	<b>Tempo</b>	<b>Médias amostrais</b>
L1	t12	1.290
L1	t19	1.702
L1	t28	1.953
L1	t34	1.577
L1	t40	1.602
L2	t13	1.685
L2	t20	1.723
L2	t29	1.852
L2	t35	1.586
L2	t41	1.602
L3	t14	1.758
L3	t20	1.715
L3	t29	1.926
L3	t35	1.950
L3	t41	1.827

Tabela 25. Médias amostrais para o logaritmo da contagem bacteriana, para as combinações Lote e Tempo, para o Frango de Caril

<b>Lote</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Médias amostrais</b>
L1	T4	1.364
L1	T8	1.376
L1	T824	1.797
L1	T848	2.101
L2	T4	1.605
L2	T8	1.570
L2	T824	1.613
L2	T848	2.065
L3	T4	1.835
L3	T8	1.863
L3	T824	1.735
L3	T848	1.905

Tabela 26. Médias amostrais para o logaritmo da contagem bacteriana, para as combinações Lote e Tempo, para a Salada de *Tabulé*

<b>Lote</b>	<b>Tempo</b>	<b>Médias amostrais</b>
L1	t10	2.068
L1	t18	1.883
L1	t25	2.120
L1	t32	1.749
L1	t42	1.556
L2	t10	1.952
L2	t18	1.440
L2	t25	1.665
L2	t32	1.301
L2	t42	1.602
L3	t12	2.802
L3	t18	2.684
L3	t25	2.790
L3	t32	2.848
L3	t42	2.550

Tabela 27. Médias amostrais para o logaritmo da contagem bacteriana, para as combinações Lote e Temperatura, para a Salada de *Tabulé*

Lote	Temperatura	Médias amostrais
L1	T1	1.736
L1	T2	1.758
L1	T3	1.970
L1	T4	2.260
L2	T1	1.536
L2	T2	1.663
L2	T3	1.489
L2	T4	1.671
L3	T1	2.532
L3	T2	2.691
L3	T3	2.644
L3	T4	3.226

Tabela 28. Resultados do teste de Tukey - Diferenças entre as médias amostrais para o logaritmo da contagem bacteriana para as combinações lote e tempo para a Salada de *Tabulé*

Comparação de médias	Diferenças entre médias das amostras	Diferenças significativas (p-value < 0,05)
L1:T18-L3:T12	-0.920	*
L1:T32-L3:T12	-1.053	*
L1:T32-L3:T18	-0.935	*
L1:T32-L3:T25	-1.041	*
L1:T42-L3:T12	-1.246	*
L1:T42-L3:T18	-1.128	*
L1:T42-L3:T25	-1.234	*
L1:T42-L3:T32	-1.293	*
L2:T18-L3:T12	-1.362	*
L2:T25-L3:T12	-1.138	*
L2:T25-L3:T18	-1.020	*
L2:T32-L1:T25	-0.819	*
L2:T32-L3:T12	-1.501	*
L2:T32-L3:T18	-1.383	*
L2:T32-L3:T25	-1.489	*
L2:T42-L3:T12	-1.200	*
L2:T42-L3:T18	-1.082	*
L2:T42-L3:T25	-1.188	*
L2:T42-L3:T32	-1.247	*
L3:T12-L2:T10	0.850	*
L3:T18-L1:T18	0.802	*
L3:T18-L2:T18	1.244	*
L3:T25-L1:T18	0.908	*
L3:T25-L2:T10	0.838	*
L3:T25-L2:T18	1.350	*
L3:T25-L2:T25	1.126	*
L3:T32-L1:T10	0.781	*
L3:T32-L1:T18	0.966	*

L3:T32-L1:T32	1.100	*
L3:T32-L2:T10	0.896	*
L3:T32-L2:T18	1.409	*
L3:T32-L2:T25	1.184	*
L3:T32-L2:T32	1.548	*
L3:T42-L2:T18	1.110	*
L3:T42-L2:T32	1.249	*

\* – Estas duas médias diferem significativamente

Tabela 29. Resultados do teste de Tukey – Diferenças entre as médias amostrais para o logaritmo da contagem bacteriana para as combinações lote e temperatura para a Salada de Tabulé

Comparação de médias	Diferenças entre médias das amostras	Diferenças significativas (p-value < 0,05)
L1:T2-L3:T1	-0.77413889	*
L1:T3-L3:T2	-0.72080139	*
L1:T4-L2:T1	0.72425417	*
L1:T4-L2:T3	0.77129167	*
L2:T2-L3:T1	-0.86890556	*
L2:T3-L3:T1	-1.04354306	*
L2:T3-L3:T2	-1.20234306	*
L2:T4-L3:T1	-0.86079306	*
L2:T4-L3:T2	-1.01959306	*
L2:T4-L3:T3	-0.97286806	*
L3:T1-L1:T1	0.79653889	*
L3:T1-L2:T1	0.99650556	*
L3:T2-L1:T1	0.95533889	*
L3:T2-L1:T2	0.93293889	*
L3:T2-L2:T1	1.15530556	*
L3:T2-L2:T2	1.02770556	*
L3:T3-L1:T1	0.90861389	*
L3:T3-L1:T2	0.88621389	*
L3:T3-L2:T1	1.10858056	*
L3:T3-L2:T2	0.98098056	*
L3:T3-L2:T3	1.15561806	*
L3:T4-L1:T1	1.49036389	*
L3:T4-L1:T2	1.46796389	*
L3:T4-L1:T3	1.25582639	*
L3:T4-L1:T4	0.96607639	*
L3:T4-L2:T1	1.69033056	*
L3:T4-L2:T2	1.56273056	*
L3:T4-L2:T3	1.73736806	*
L3:T4-L2:T4	1.55461806	*
L3:T4-L3:T1	0.693825	*

\* – Estas duas médias diferem significativamente

Tabela 30. Médias amostrais para o logaritmo da contagem bacteriana, para as combinações Lote e Tempo, para a Sopa de Legumes

Lote	Temperatura	Médias amostrais
L1	T4	1.735
L1	T8	1.826
L1	T824	2.999
L1	T848	2.560
L2	T4	1.112
L2	T8	1.112
L2	T824	1.638
L2	T848	1.452
L3	T4	1.918
L3	T8	1.704
L3	T824	1.500
L3	T848	2.089

Tabela 31. Resultados do teste de Tukey – Diferenças entre as médias amostrais para o logaritmo da contagem bacteriana para as combinações lote e temperatura para a Sopa de Legumes

Comparação de médias	Diferenças entre médias amostras	Diferenças significativas (p-value < 0,05)
L1:T824-L1:T4	1.264	*
L1:T824-L2:T4	1.886	*
L1:T824-L2:T8	1.886	*
L1:T824-L3:T8	1.294	*
L1:T848-L2:T4	1.448	*
L1:T848-L2:T8	1.448	*

\* – Estas duas médias diferem significativamente