



CATÓLICA

ESCOLA SUPERIOR DE BIOTECNOLOGIA

PORTO

REFORÇO DA CAPACIDADE DE CONTROLO DA QUALIDADE ANALITICA INTERNA NUMA
INDÚSTRIA DE PRODUTOS DE CHARCUTARIA

Patrícia Alexandra Néné Soares

Outubro 2019



CATÓLICA

ESCOLA SUPERIOR DE BIOTECNOLOGIA

PORTO

REFORÇO DA CAPACIDADE DE CONTROLO DA QUALIDADE ANALÍTICA INTERNA NUMA INDÚSTRIA DE PRODUTOS DE CHARCUTARIA

Relatório de Estágio apresentado à Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica
Portuguesa para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Alimentar

por

Patrícia Alexandra Néné Soares

Local: Primor Charcutaria-Prima, SA

Supervisor: Dr. Marco Ferreira

Orientadora: Prof.^a Doutora Paula Teixeira

Outubro 2019

Resumo

O trabalho desenvolvido no âmbito do estágio curricular do Mestrado em Engenharia alimentar teve como principal objetivo o reforço da qualidade analítica numa empresa de charcutaria-Primor Charcutaria Prima localizada em Vila Nova de Famalicão. O estágio teve a duração de 6 meses tendo sido iniciado a 10 de Fevereiro de 2019 e terminado a 10 de Julho de 2019.

O trabalho realizado dividiu-se em duas áreas: implementação do laboratório interno e controlo de qualidade.

Ao nível da implementação do laboratório foram estabelecidas as normas de funcionamento, disposição dos equipamentos, escolha de materiais e métodos e implementação dos métodos. No que diz respeito ao modo de funcionamento do laboratório foi elaborada uma planta das instalações, um sistema que permite garantir a rastreabilidade das amostras desde o momento da receção dos produtos até ao momento da emissão dos resultados. Para além disso, foram criados boletins *standart* para a divulgação dos resultados e consequente análise estatística. Os métodos disponíveis no laboratório a nível microbiológico são a pesquisa de *Listeria* spp. pesquisa de *Salmonella* spp. e contagem de microrganismos totais; a nível físico-químico são a determinação de proteína, gordura, colagénio, humidade e sal através do aparelho FoodScan, determinação da atividade da água e análise da viscosidade. O plano de implementação dos métodos consiste em adequar os métodos às instalações e necessidades da empresa, bem como validá-los através da realização de análises interlaboratoriais com laboratório externo acreditado. Por outro lado, no caso do método de FoodScan foi realizado um estudo com o objetivo de elaborar uma calibração ao parâmetro sal que permita corrigir os desvios observados entre os resultados obtidos com este método e análises externas. Ao nível do viscosímetro, este método será utilizado essencialmente em salmouras permitindo assim caracterizá-las face à viscosidade, sendo posteriormente introduzido como um método de apoio ao controlo de qualidade operacional.

Ao nível do controlo de qualidade, o trabalho desenvolvido consistiu na análise da qualidade de produtos subcontratados, cumprimento do plano analítico de análises, resposta a reclamações de clientes relativas a análises físico-químicas e microbiológicas, bem como realização de análises sensoriais e acompanhamento de estudos de vida útil. Ao nível do controlo de higienização foram realizados testes às mãos dos manipuladores de alimentos, testes de determinação da adenosina trifosfato (ATP) por bioluminescência, pesquisa de *Listeria* em superfícies e realização de testes alergénios.

Os objetivos estabelecidos no âmbito no estágio curricular foram alcançados o que culminou na inauguração e funcionamento do laboratório interno da Primor.

Palavras-chaves: Primor lab; Laboratório interno; controlo de qualidade;

Abstract

The work developed within the curricular internship of the Master in Food Engineering had as its main objective the reinforcement of analytical quality in a deli meats company-Primor Charcutaria Prima located in Vila Nova de Famalicão. The internship lasted 6 months and began on 10th February 2019 and ended on 10th July 2019.

The work was divided into two areas: internal laboratory implementation and quality control.

At the laboratory implementation level, the operating rules, equipment layout, choice of materials and methods and method implementation were established. With regard to the way the laboratory works, an indoor map design has been developed, and a system to ensure the traceability of samples during the analysis. In addition, worksheets of the results were made in order to analyse the results. Microbiological methods available at the laboratory are the research of *Listeria* spp. *Salmonella* spp. and total microorganism count; The physicochemical methods are determination of protein, fat, collagen, moisture and salt through the FoodScan device, determination of water activity and viscosity analysis. The implementation of methods consists of tailoring the methods to the company's facilities and needs, as well as validating them by interlaboratory analysis with an external accredited laboratory. On the other hand, in the case of the FoodScan method, a study was carried out with the purpose of elaborating a calibration to the salt parameter that allows the correction of deviations observed between the results obtained with this method and external analysis. At the viscometer level, this method will be used mainly in brines, allowing us to characterise viscosity and subsequently introduced as a method to support daily quality control.

In terms of quality control, the work carried out consisted of quality analysis of subcontracted products, fulfill analytical analysis plan, response to customer complaints regarding physicochemical and microbiological analysis, as well as performing sensory analysis and assisting with shelf-life studies. At the level of sanitation control, tests such as microbial flora analysis of workers' hands, adenosine triphosphate (ATP) determination test by bioluminescence, and surface *Listeria* screening and allergen testing were carried out as well.

The objectives established in the curricular internship were achieved which culminated in the inauguration and operation of Primor's internal laboratory.

Keywords: Primor lab; laboratory; quality control.

Agradecimentos

Ao meu orientador, Marco Ferreira, por me ter aceitado como estagiária e por ter acreditado em mim desde o primeiro dia para fazer parte deste projeto tão aliciante, desafiante e motivador. Por desde o início me transmitir os melhores valores e por ter depositado toda a confiança no meu trabalho permitindo-me evoluir diariamente e motivar-me constantemente, obrigada por todos os ensinamentos e pela amizade ao longo destes meses.

À minha orientadora, Paula Teixeira, por todos os conhecimentos transmitidos ao longo do meu percurso académico e por toda a ajuda na elaboração deste relatório. Obrigada pelas palavras de incentivo e pelos conhecimentos e valores de responsabilidade e organização que me transmitiu.

À equipa de qualidade que desde o primeiro dia me acolheu da melhor maneira e permitiu que a minha integração fosse a melhor possível. À Vânia, um especial obrigado por todos os conhecimentos e sentido de liderança e motivação que me transmite diariamente; Ao Sérgio, ao Camilo, à Juliana e à Adriana por me transmitirem todas as bases necessárias para o trabalho numa empresa de Charcutaria, um obrigada pelos conhecimentos e pela amizade que fizeram com que descobrisse o verdadeiro significado de trabalhar em equipa e verificar diariamente os frutos deste trabalho. Não menos importante, um grande obrigado aos meus colegas estagiários, André e Inês, que vivenciaram estes seis meses de estágio ao meu lado apoiando-nos mutuamente em todas as dificuldades e desafios o que permitiu a construção de uma grande amizade e cumplicidade.

A todos os que trabalham na Primor-Charcutaria e que acolheram de uma forma extraordinária e que contribuem para um ótimo ambiente em contexto de trabalho, obrigada pelo carinho, pelos almoços e partilha de conhecimento.

Um especial obrigada à Professora Fátima Poças por me ter acompanhado estes dois anos nos projetos extracurriculares dos quais tive oportunidade de aprender e evoluir constantemente com a sua ajuda.

À minha mãe e avó que mesmo à distância me apoiam diariamente e que permitiram que a concretização de um sonho em realizar o mestrado em engenharia alimentar. Obrigada por estarem sempre presentes e por apoiarem as minhas escolhas.

Ao Adriano, aos amigos de sempre e aos meu colegas de mestrado que com boa disposição, companheirismo e amizade acompanham o culminar de mais uma etapa importante na minha vida.

Índice

Resumo	2
Abstract.....	3
Agradecimentos.....	4
Índice	5
Lista de Figuras	8
Lista de Tabelas	9
Lista de abreviaturas	10
1. Introdução.....	11
1.1. Descrição da empresa.....	11
1.2. Descrição dos produtos.....	12
1.2.1. Matérias-Primas de origem animal.....	12
1.2.2. Ingredientes	13
1.2.3. Aditivos	13
1.2.3.1. Fosfatos	13
1.2.3.2. Hidrocolóides	14
1.2.3.3. Antioxidantes	14
1.2.3.4. Conservantes.....	15
1.2.4. Produtos de charcutaria	15
1.2.4.1. Fiambres.....	15
1.2.4.2. Enchidos	16
1.2.4.3. Bacon.....	17
1.2.4.4. Presunto	17
1.2.4.5. Banha e Torresmo	17
1.3. Produtos Charcutaria Primor	18
1.4. Processo de produção.....	19
1.4.1. Picagem.....	20
1.4.2. Preparação da salmoura e Injeção.....	20
1.4.3. Massagem/Maturação	20
1.4.4. Enchimento/ Enformagem	21

1.4.5.	Processamento térmico	21
1.4.6.	Fumagem.....	21
1.4.7.	Arrefecimento	22
1.4.8.	Armazenamento Refrigerado	22
1.4.9.	Desenformagem	22
1.4.10.	Processo de fatiamento.....	22
1.4.11.	Etiquetagem.....	23
1.4.12.	Embalagem secundária	24
1.5.	Controlo da qualidade	24
1.5.1.	Deterioração dos alimentos.....	25
1.5.2.	Controlo ao nível da receção de matérias-primas.....	25
1.5.2.1.	Matérias-primas de origem animal	25
1.5.2.2.	Matérias-Primas Ingredientes.....	29
1.5.3.	Controlo do processo	29
1.5.4.	Controlo microbiológico	30
1.5.4.1.	Fatores que influenciam o crescimento microbiológico.....	30
1.5.4.2.	Microrganismos patogénicos.....	32
1.5.4.3.	Bactérias patogénicas formadoras de esporos	33
1.5.4.4.	Bactérias do ácido láctico.....	35
1.5.4.5.	Fungos, bolores e leveduras	35
1.5.4.6.	Microrganismos indicadores de higiene	36
1.5.5.	Critérios microbiológicos aplicados a produtos de charcutaria	36
1.6.	Controlo alergénios	37
2.	Trabalho desenvolvido	40
2.1.	Fases de implementação do laboratório	40
2.1.1.	Fase I-Projeção das instalações do laboratório	41
2.1.2.	Fase II-Seleção de equipamentos e métodos.....	41
2.1.3.	Fase III-Desenvolvimento do funcionamento do laboratório	42
2.1.4.	Fase IV-Implementação dos métodos.....	44
2.2.	Controlo da qualidade à receção de produtos subcontratados.....	45
2.3.	Cumprimento do plano analítico de análises e análise dos boletins.....	46

2.4.	Realização de análises sensoriais no âmbito da alteração da micragem das embalagens de produto fatiado.....	46
2.5.	Controlo de higienização	47
2.6.	Acompanhamento de Estudos de Vida Útil.....	47
3.	Materiais e Métodos	48
3.1.	Métodos físico-químicos	48
3.1.1.	Food Scan	48
3.1.1.1.	Calibração ANN	49
3.1.2.	Viscosímetro	49
3.1.3.	Atividade da água (aw).....	50
3.2.	Métodos microbiológicos	51
3.2.1.	Seleção dos meios	51
3.2.2.	Preparação da amostra	52
3.2.3.	Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.	52
3.2.4.	Pesquisa de <i>Listeria</i> spp.	53
3.2.5.	Contagem Total	54
3.3.	Métodos de controlo de higienização	54
3.3.1.	Zaragatoas de <i>Listeria</i> spp.	54
3.3.2.	Manipuladores	55
3.3.3.	Método ATP bioluminescência	55
3.3.4.	Análise de alergénios em linha.....	56
3.4.	Análise sensorial	58
4.	Resultados.....	59
4.1.	Análise em Food Scan	59
4.2.	Estudo de calibração do Food Scan no parâmetro sal	59
4.3.	Análise por viscosímetro	61
4.4.	Resultados Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.....	62
4.5.	Resultados Pesquisa de <i>Listeria</i> spp.	63
4.6.	Resultados Contagem total	63
4.7.	Resultados Controlo de higienização- <i>Listeria</i>	64
4.8.	Resultados Controlo de higienização-Manipuladores	64
4.9.	Resultados Controlo de higienização-ATP.....	65

.....	65
4.10. Resultados Controlo de higienização-Testes alergénios	65
5. Discussão	66
6. Conclusões Gerais	69
7. Trabalho futuro	70
8. Elementos pós-textuais	71
8.1. Apêndices	71
8.1.1. Produção de fiambres	71
8.1.2. Produção de Bacon	72
8.1.3. Produção de enchidos.....	73
8.1.4. Instrução de trabalho para a preparação de meios de cultura.....	74
8.1.5. Instrução de trabalho para a Pesquisa de Salmonella.....	75
8.1.6. Instrução de trabalho para a Pesquisa de Listeria.....	76
8.1.7. Instrução de trabalho para a Contagem Total.....	77
8.1.8. Boletim analítico Food Scan.....	78
.....	78
8.1.8.1. Boletim analítico microbiológico	79
8.2. Anexos.....	80
8.2.1. Exemplar de Requisição de análises	80
8.2.2. Tabela de Conversão do método simplate.....	81
8.2.3. Bibliografia	82

Lista de Figuras

Figura 1: Principais matérias-primas obtidas a partir de suínos.	12
Figura 2: Diminuição do pH em carne de porco normal e com PSE. Adaptado (Feiner 2006).	27
Figura 3: Diminuição do pH em carne de porco normal e com DFD. Adaptado (Feiner 2006).	28
Figura 4: Conversão de mioglobina em oxymióglobina e metamioglobina. Adaptado (Belitz, Grosch, and Schieberle 2004).	28
Figura 5: Esquema reação alérgica. Adaptado (Flanagan 2014).	38
Figura 6: Planta Primor Lab.....	41
Figura 7: Método de pesquisa de <i>Salmonella</i> .(A- câmara de inoculação; B-Câmara móvel)	53
Figura 8: Dispositivo de teste VIP Gold Listeria. A-Poço de adição da amostra.	54
Figura 9: Ilustração da tira de teste para determinação de alergénios.....	56

Figura 10: Resultados FoodScan para o Fiambre da Perna Extra. Os resultados estão expressos sob a forma de média aritmética; n=20. $p^* \leq 0,05$	60
Figura 11: Resultados FoodScan para o Bacon. Os resultados estão expressos sob a forma de média aritmética; n=20. $p^* \leq 0,05$	60
Figura 12: Resultados FoodScan para o Fiambre da Pá. Os resultados estão expressos sob a forma de média aritmética; n=20. $p^* \leq 0,05$	60
Figura 13: Viscosidade de pá extra 80% ao longo do tempo (minutos) analisada em 3 dias distintos a diferentes temperaturas.....	61
Figura 14: Viscosidade de perna extra 86% ao longo do tempo (minutos) analisada em 3 dias distintos a diferentes temperaturas.....	62
Figura 15: Viscosidade de perna extra 70% ao longo do tempo (minutos) analisada em 3 dias distintos a diferentes temperaturas.....	62
Figura 16: Exemplar de resultado negativo obtido pelo método 1-2Test Pesquisa de <i>Salmonella</i>	62
Figura 17: Resultado obtido no caso da presença de <i>Listeria</i> ser positiva (A) e negativa (B)	63
Figura 18: Resultado obtido pelo método Simplate.	63
Figura 19: Resultados da Pesquisa de <i>Listeria</i> em superfícies no caso positivo (A) e em caso negativo (B).....	64
Figura 20: <i>Dipslide</i> com meio Agar que permite o crescimento de espécies aeróbicas.	64
Figura 21: <i>Dipslide</i> com meio modificado de agar biliar vermelho violeta com adição de glucose que permite o crescimento de <i>Enterobacteriaceae</i>	64
Figura 22: Resultados ATP obtidos no mês de Julho de 2019 na Secção de Picagem.....	65
Figura 23: Resultado teste a alergénio negativo.....	65
Figura 24: Produção de fiambres (Setas a vermelho indicam a produção de fiambre sem injeção; Setas a azul indicam a produção de fiambre em peça; Setas a verde indicam a produção de fiambres com destino a serem fatiados; Setas a laranja indicam a produção de fiambres em peça.....	71
Figura 25: Produção de bacon (As setas verde indicam a produção de bacon enformado sob vácuo; Setas a amarelo indicam a produção de bacon que não é enformado sob vácuo).....	72
Figura 26: Produção de enchidos fumados (Setas a verde indicam a produção de enchidos apenas embalados a vácuo; Setas a azul indicam a produção de enchidos que sofrem a etapa de secagem em fumeiro ou em estufa elétrica e que podem ser embalados em atmosfera protetora).	73

Lista de Tabelas

Tabela 1: Constituição do Grupo Primor	11
Tabela 2: Principais diferenças entre os tipos de carragenato (Adaptado de Feiner, 2006).	14
Tabela 3: Características de carne PSE e DFD. Adaptado (Feiner 2006).	28
Tabela 4: Temperaturas de crescimento de 5 grupos de microrganismos	31

Tabela 5: Critérios de segurança de géneros alimentícios (Adaptado do regulamento (CE) nº144172007).....	37
Tabela 6: Critérios de higiene para géneros alimentícios (Adaptado do regulamento (CE) nº144172007).	37
Tabela 7: Plano de análises no Food Scan.....	44
Tabela 8: Plano de análise às salmouras.	44
Tabela 9: Plano de validação dos métodos de produto acabado e matérias-primas	45
Tabela 10: Parâmetros de repetibilidade e exatidão para cada determinação de Gordura, humidade, proteína, colagénio e sal.	48
Tabela 11: Principais especificações do método Food Scan.....	49
Tabela 12: Constituição da água peptonada tamponada	51
Tabela 13: Constituição do meio Demi Fraser	52
Tabela 14: Resultado da análise a FoodScan a uma amostra de bacon.	59
Tabela 15: Parâmetros calculados a partir dos resultados da Tabela 14.....	59
Tabela 16: Média e desvio padrão das análises realizadas a fiambre da perna, bacon e fiambre da pá.	61
Tabela 17: Cálculo do Valor de SEP para amostras de Fiambre da perna, Bacon e Fiambre da pá. .	61
Tabela 18: Resultados intralaboratoriais realizados para os métodos microbiológicos.	63
Tabela 19: Limites estabelecidos para a contagem de unidades formadoras de colónias observadas nos <i>dipslides</i>	64
Tabela 20: Limites estabelecidos para ATP.....	65

Lista de abreviaturas

ADP-Adenosina Difosfato
 ATP-Adenosina Trifosfato
 a_w -atividade da água
 CO₂-Dióxido de Carbono
 CC-Central Carnes
 CE-Comissão Europeia
 DFD-carne escura, firme e seca.
 E_h -Potencial redox
 GGG-General Ganadera Gallega
 H·-Radicais hidrogénio
 HACCP-Análise de Perigos e Controlo de Pontos Críticos
 HALⁿ -Gene Halotano
 ICM-Indústria de Carnes do Minho
 LQA- Limite de qualidade aceitável
 Mb-Mioglobina
 MbO₂-oximioglobina
 MMb⁺- metamioglobina
 NP-Norma Portuguesa
 °C-grau Celcius
 PCC-Ponto de controlo crítico
 PSE-carne pálida, macia e exsudada
 SEP-Erro padrão de previsão
 ufc-unidades formadoras de colónias

1. Introdução

1.1. Descrição da empresa

O grupo Primor teve início em 1961 e ao longo destes 58 anos a empresa localizada em Vila Nova de Famalicão expandiu-se numa das maiores referências do setor. Atualmente, o grupo Primor é formado por quatro empresas: General Ganadera Gallega (GGG), Central Carnes (CC), Indústria Carnes do Minho (ICM Pork) e a Primor Charcutaria-Prima, abrangendo assim os vários setores da sua atividade desde a produção animal, abate, transformação de carnes e distribuição, tal como ilustrado na **Tabela 1**.

Tabela 1: Constituição do Grupo Primor

	A General Ganadera Gallega é uma unidade de produção animal localizada no Norte da Galiza que se dedica à produção animal exclusiva do Grupo Primor.
	Após o crescimento, os animais são encaminhados para a Central Carnes onde ocorre o abate dos mesmos. É de salientar que a CC é a maior unidade de abate a nível nacional e uma das maiores da Península Ibérica.
	Após o abate, a carcaça é encaminhada para a ICM Pork, empresa especializada na desmancha e comercialização de carne suína fresca ou congelada. Nesta empresa, ocorre um processo de receção de matéria-prima, desmancha, armazenamento, embalagem e expedição a nível nacional e internacional, desde Europa, África, América e Ásia.
	Finalmente, a Primor Charcutaria-Prima destina-se à transformação da carne em produtos de charcutaria que podemos dividir em Cozidos (Fiambres de Suíno e Aves), Mortadelas, Enchidos Fumados (Chouriços), Fumados em Peça (Bacon) e Banha e Torresmos.

O grupo Primor representa cerca de 26% das vendas de mercado externo e exporta para mais de 30 países, contando com cerca de 910 colaboradores.

1.2. Descrição dos produtos

1.2.1. Matérias-Primas de origem animal

A carne é constituída maioritariamente por músculo esquelético e por músculo estriado com vários núcleos localizados na periferia das células. Por sua vez, o músculo é dividido em duas secções pelo tecido conjuntivo (perimísio) que se divide em fibras de colagénio.

A carne é maioritariamente composta por água, proteína, lípidos e minerais, sendo a água o constituinte principal. A proporção dos nutrientes varia consoante o teor de gordura da carne.

Após o abate do animal, ocorrem várias reações enzimáticas que afetam a qualidade do produto. A glucose é hidrolisada em ácido láctico por ação de enzimas glicolíticas. Na ausência da circulação sanguínea, o ácido láctico é acumulado no músculo o que leva a que o pH diminua para valores entre os 5,6 a 5,8. Esta diminuição de pH depende da concentração de glucose, da temperatura do músculo e do metabolismo animal (Warner, Kauffman, and Greaser 1997). As principais matérias-primas obtidas a partir do suíno são as designadas na **Figura 1**:

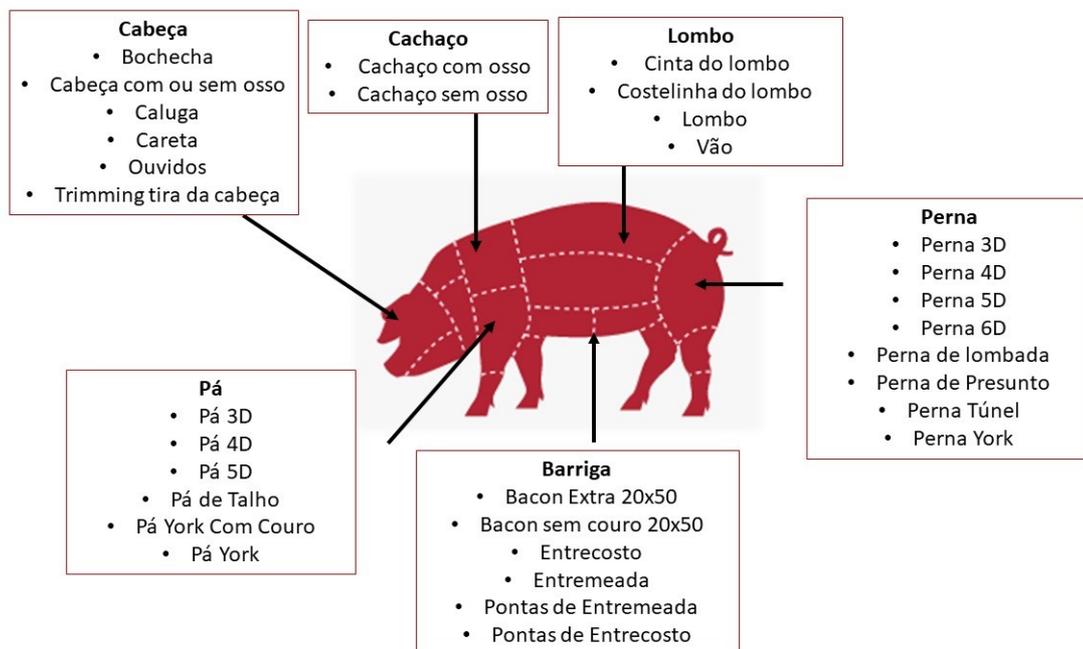


Figura 1: Principais matérias-primas obtidas a partir de suínos.

No caso das aves, as principais matérias-primas utilizadas são o peito de frango e o peito de Perú.

1.2.2. Ingredientes

Durante o processamento dos alimentos um dos principais ingredientes utilizados é a **água** que deverá ser potável, destinada ao consumo humano de modo a garantir que não ocorre contaminação dos géneros alimentícios. A adição de água nos alimentos tem como principal função facilitar a diluição dos condimentos e aditivos da carne, permitindo uma melhor homogeneização do preparado. Para além de ser um ingrediente, a água intervém em vários pontos ao longo do processo nomeadamente nas lavagens dos equipamentos, das superfícies em contacto com o produto, utensílios e espaços. De igual modo, pode ser utilizado gelo como ingrediente, tendo a função de controlar a temperatura dos preparados ao longo do processo. Neste caso, o gelo deverá ser incolor, inodoro e sem contaminações.

Seguidamente, o **sal** (ou cloreto de sódio, NaCl) atua como intensificador de sabor e juntamente com os fosfatos permite a solubilização de proteínas através da retenção de grandes quantidades de água e permite emulsionar as gorduras melhorando a textura e o aroma do produto final. Para além disso, permite uma diminuição da atividade da água (a_w), levando a uma diminuição do crescimento microbiano e maior conservação dos produtos (Farmer and Patterson 1991).

A par do sal, também são adicionados **açúcares** com o objetivo de diminuir a a_w e consequentemente aumentar o prazo de validade. Por outro lado, também permite uma diminuição do pH uma vez que ocorre fermentação de açúcares com produção de ácido láctico. O principal açúcar utilizado é a sacarose. No entanto, no caso das temperaturas de refrigeração não serem mantidas, a sacarose facilita o crescimento e multiplicação de microrganismos que levam à alteração do pH e consequente diminuição do tempo de vida útil dos produtos.

1.2.3. Aditivos

De acordo com a diretiva 89/107/CEE os aditivos alimentares são substâncias intencionalmente adicionadas aos alimentos com o objetivo de conservar, intensificar ou modificar as propriedades, desde que não diminuam o seu valor nutritivo. Os aditivos alimentares são autorizados mediante a avaliação por parte do Comité Científico Europeu da Alimentação Humana e são classificados quanto à sua função tecnológica.

1.2.3.1. Fosfatos

Os **fosfatos** são sais obtidos a partir do ácido fosfórico e têm uma utilização muito variada na indústria de carnes. Durante o *rigor mortis*, ocorre a ligação entre actina e miosina formando o complexo actomiosina que se traduz numa maior rigidez da carne. Os fosfatos neutralizam as forças eletrostáticas formadas neste complexo contribuindo para uma maior solubilidade das proteínas musculares. Apenas os fosfatos conseguem separar a actina e a miosina após o *rigor mortis* daí serem muito utilizados em carne fresca. Para além disso, também são utilizados para alterar ou estabilizar o pH dos produtos, aumentar a capacidade de retenção da água, diminuir as perdas de peso que ocorrem durante a confeção dos produtos, aumentar as propriedades sensoriais como o sabor, aroma, suculência e para aumentar o tempo de vida útil dos produtos, uma vez que exercem um efeito bacteriostático (Huynh Bach et al. 2011) e inibem a oxidação lipídica (Branen et al. 2001).

1.2.3.2. Hidrocolóides

Os **hidrocolóides**, também conhecidos como gomas, podem ter origens distintas e têm como principal função serem espessantes. Atuam como géis que ajudam a reduzir as perdas durante o processo de cozedura e, assim, permitem um aumento do rendimento. Para além disso, melhoram a textura dos produtos. Os carragenatos são carboidratos naturais obtidos a partir de algas vermelhas comestíveis pertencentes à classe *Rhodophyceae* e têm propriedades de gelificação, espessamento e emulsificação. Existem três tipos de carragenato: kappa (k), iota (i) e lambda (λ) que se distinguem pela posição e pelo número de grupos ester-sulfato que influenciam as suas propriedades, tal como demonstrado na **Tabela 2**. O carragenato k é o mais utilizado na produção de produtos cárnicos uma vez que para obtenção uma dissolução completa são necessárias temperaturas de 68 e 70 °C que permitem a formação de hélices duplas que se associam entre si formando uma rede que possibilita a retenção de água. O carragenato deve ser adicionado após o sal e os fosfatos estarem totalmente dissolvidos, pois estes sais reduzem a tensão superficial da água facilitando a sua dispersão (Necas and Bartosikova 2013).

Tabela 2: Principais diferenças entre os tipos de carragenato (Adaptado de Feiner, 2006).

	Peso molecular	Força gel	Viscosidade	Syneresis	Elasticidade
κ-carragenato	Baixo	Alto	Baixa	Alta	Baixa
ι-carragenato	Médio	Médio	Média	Média	Média
λ -carragenato	Alto	Não forma gel	Alta	Baixa	Alta

Quando este ingrediente é adicionado a produtos alimentares o rótulo do respetivo produto deve conter a menção E407.

1.2.3.3. Antioxidantes

Os antioxidantes são adicionados a carne fresca ou a produtos transportados com o objetivo de reduzir a oxidação lipídica, retardar o aparecimento de odores indesejáveis e melhorar a estabilidade da cor. Podem ser divididos em antioxidantes naturais ou sintéticos. Os antioxidantes caracterizam-se por serem substâncias capazes de doar radicais de hidrogénio (H[•]) que se agregam a outros radicais livres, prevenindo assim a propagação da reação durante o processo de oxidação (Velasco and Williams 2011). O ascorbato e o eritorbato de sódio são sais derivados dos ácidos ascórbico e eritórbito, respetivamente, e são os principais antioxidantes utilizados na indústria alimentar.

Os antioxidantes reduzem o nitrito a óxido nítrico que facilita a formação de nitrosomiogloblina que promove a coloração rosada típica da carne. Para além disso, permitem uma estabilização da cor, reduzindo a concentração de nitritos no produto final e prevenindo a formação de nitrosaminas cancerígenas. Para além disso, ainda atuam em sinergia com os nitritos inibindo o crescimento celular, nomeadamente de microrganismos como *Clostridium botulinum* (Branen et al. 2001).

1.2.3.4. Conservantes

Os conservantes alimentares são aditivos que têm a função de impedir ou retardar as alterações dos alimentos, alterações estas provocadas por microrganismos ou por enzimas. Os principais conservantes utilizados nos produtos cárnicos são os **nitratos/nitritos** que têm um papel fundamental quer no desenvolvimento e estabilização de propriedades sensoriais quer na segurança dos produtos. Os nitratos exercem efeito bacteriostático e bactericida contra bactérias, entre as quais *Listeria monocytogenes*, *C. botulinum* e *Salmonella enterica*. No entanto, estes efeitos dependem de outros fatores como o pH, temperatura, concentração de nitrato ou nitrito e concentração inicial de microrganismos (Majou and Christieans 2018). No caso do fiambre, a utilização de nitrato de sódio permite o desenvolvimento da coloração rosada e a reação entre o óxido nítrico (produto obtido pela redução do nitrato) e produtos naturalmente presentes na carne como álcoois, aldeídos e componentes sulfúricos permite o desenvolvimento do *flavour* característico destes produtos. Por fim, os nitratos também atuam como antioxidantes uma vez que diminuem a quantidade de iões ferro livres que aceleram o processo de rancificação (Feiner 2006).

1.2.4. Produtos de charcutaria

Na Primor Charcutaria-Prima podemos subdividir os produtos produzidos em várias categorias: Os produtos cozidos nos quais se incluem os fiambres de suíno e aves, as mortadelas (mortadela pimenta e de azeitona), e os Produtos enchidos fumados, os Fumados em Peça e a Banha e Torresmos.

Ao abrigo do artigo 3.º do Decreto-Lei n.º 354/90, de 10 de novembro de 1990, pelos Ministros da Agricultura e do Comércio e Turismo foi estabelecido que no fabrico e comercialização de carnes preparadas e enchidos de carne é necessário o cumprimento das disposições relativas a:

- “a) Definição, excluindo as referências a formas e dimensões do produto acabado, quando as contenham, e também quanto à obrigação de que os fiambres da perna e da pá sejam prensados em molde;
- b) Matérias-primas e invólucros, quando existam, ou os ingredientes classificados ou não como essenciais e facultativos e os condimentos, não se considerando as referências a percentagens, quando existam nas carnes e gorduras;
- c) Caracteres organoléticas constantes das seguintes normas portuguesas (...).”

1.2.4.1. Fiambres

Segundo a Norma Portuguesa (NP) 4393 (2001), entende-se por fiambre um produto à base de carne, preparado exclusivamente a partir de carne de porco, salmourada, prensada ou não em moldes e posteriormente submetida a tratamento térmico.

Os Fiambres podem ter cinco classificações: Fiambre da Perna Superior, Fiambre da Perna Extra, Fiambre da Pá e Fiambre Corrente. As diferentes designações devem-se aos ingredientes que

são adicionados à carne de suíno. No caso do Fiambre da Perna Superior não ocorre a adição de proteínas, amidos ou fosfatos. Por outro lado, no caso do Fiambre da Perna Extra, não ocorre a adição de proteínas não cárneas nem de amidos. No caso do Fiambre da Perna, podem ser adicionadas proteínas não cárneas, excluído a adição de amidos. No que diz respeito ao Fiambre da pá, a matéria-prima utilizada é carne da pá de suíno à qual são adicionadas proteínas não cárneas, excluindo-se o amido. Finalmente, no caso do Fiambre Corrente pode ocorrer a adição de proteínas não cárneas e amidos.

1.2.4.2. Enchidos

Os enchidos são produtos cárneos pertencentes ao grupo dos preparados à base de carne, os quais se definem como produtos transformados resultantes da transformação da carne de tal modo que a superfície de corte à vista permita constatar o desaparecimento das características da carne fresca. Dentro dos enchidos podemos destacar a alheira, chouriço, linguiça, morcela, mortadela, paio, salsicha e salpicão.

A alheira é um enchido curado pelo fumo, feito da mistura de carnes (vitela, frango, peru, carnes de caça, entre outras.) ligadas por pão. É condimentada com sal, pimenta, colorau, azeite (ou banha) e alho de acordo com a NP-598 (1969).

A linguiça é um enchido em forma de salsicha, feito de carne de porco, temperada com cebola, alho e outras especiarias. Pode ser consumida fresca após preparação ou sofrer processo de cura e conservação por meio de defumação de acordo com a NP-590 (1989).

Os chouriços podem ser de vários tipos: carne, sangue, mel, entre outros. São produzidos à base de carne e gorduras de porco picadas e misturadas com pimentão, alho, sal, entre outros. Podem ser designados por tradicional (feito exclusivamente com tripas naturais), corrente (feito com couratos cozidos ou salmourados) ou extra (feito com carnes selecionadas mais magras). Apresenta uma consistência firme, uma cor avermelhada e brilho de acordo com a NP-589 (1969).

A morcela é um enchido feito com uma combinação de carne de porco (aparas de entremeada, língua e coração), sangue e arroz (em alguns casos) condimentada com alho, louro, cravinho, cominhos e cebola. É um enchido constituído basicamente por gorduras de porco, finamente fragmentadas, e sangue, adicionados de condimentos e aditivos segundo a NP-593 (1990). Os ingredientes essenciais são as gorduras macias, carne picada e sangue fresco de porco. Após o enchimento sofre um processamento térmico (cozedura), sendo arrefecida rapidamente e posteriormente colocada na área de secagem.

As mortadelas são enchidos feitos de carne de bovinos, suínos, de aves e com cubos de gordura. Podem ser temperadas com alho, pimenta, noz moscada ou coentros de acordo com a NP-720 (1983).

O paio apresenta a forma cilíndrica com um exterior irregular e com consistência firme de cor avermelhada brilhante. O seu ingrediente principal é o lombo de porco, o que o torna um dos enchidos mais populares contendo pouca gordura. Como condimentos, inclui a massa de pimentão, o alho e o sal de acordo com a NP-592 (2008).

As salsichas são enchidos feitos a partir de carnes frescas ou defumadas, moídas, com gordura animal, ervas, especiarias e outros ingredientes segundo a NP-723 (1989).

O salpicão pode ser feito segundo diversas variantes, tanto no modo de preparação como no tempero aplicado à carne de porco. O invólucro é de tripa de porco e o preparado é feito com lombo de porco, ou outras peças magras, e gordura rija (Price and Schweigert 1994). São usadas grandes peças de carne do lombo, temperadas com colorau, alho, louro e vinho segundo a NP-591 (1969).

1.2.4.3. Bacon

Entende-se por Bacon, o produto cárneo industrializado, obtido do corte da parede torácico-abdominal dos suínos com ou sem costela e com ou sem pele. Para além disso, ocorre a adição de ingredientes e é submetido posteriormente a processamento térmico adequado com defumação. O bacon pode ser produzido em Peça, em cubos, fios ou em fatias.

1.2.4.4. Presunto

O Presunto apresenta a forma da perna de porco, tratada com sal e, em alguns casos, com uma mistura de azeite com colorau ou com recobrimento com banha de porco ao longo do processo. Pode ser fumado.

1.2.4.5. Banha e Torresmo

De acordo com o regulamento Comissão Europeia (CE) nº 853/2004 a banha e o Torresmo são produzidos a partir de resíduos proteicos da fusão, após separação parcial da gordura e da água.

1.3. Produtos Charcutaria Primor

Produtos	Exemplos
<p>Gama Balance</p> <p>Bacon de Peru; Peito de Peru; Peito de Peru Forno a Lenha; Peito de Peru com Ervas; Peito de Peru Extra Saboroso; Mortadela de Peru; Mortadela de Peru com Azeitonas; Peito de Frango; Peito de Frango Forno a lenha.</p>	
<p>Gama Chef</p> <p>Salsicha de Churrasco; Salsicha de Churrasco Picante; Fios de Bacon de Peru; Fios de Peito de Peru; Bacon Extra; Bacon Extra Tiritas; Fios de Bacon; Fios de Fiambre; Cubitos de Fiambre.</p>	
<p>Gama Deli</p> <p>Presunto; Cupita; Salsichão; Paio do Lombo; Bacon</p>	
<p>Gama Tradicional</p> <p>Bacon Extra Tradição; Bacon Extra Moldado; Bacon Moldado; Bacon Inteiro; Painho Pá Fumada; Presunto Inteiro; Pernil Fumado; Cabeça Fumada Torresmo; Banha de Porco Chouriço Extra; Chouriço Extra Picante; Chouriço; Chouriço de Vinho; Chouriço Mouro Linguiça; Linguiça Picante; Salpicão; Morcela Fumada; Alheira.</p>	
<p>Gama Sanduicharia</p> <p>Fiambre da Perna Extra; Fiambre da Perna; Fiambre da Pá; Fiambre Extra Saboroso; Fiambre da Perna Extra Saboroso; Fiambre Sandwich; Filete Afiambrado com alho Chourição; Chourição Extra; Bacon Extra; Paio York; Presunto; Mortadela; Mortadela com Azeitonas; Mortadela Extra Saborosa.</p>	
<p>Gama Natura</p> <p>Peito de Peru</p>	

1.4. Processo de produção

A produção de fiambres/enchidos inicia-se pelo abate na empresa CC seguindo-se o Corte e desossa da carne, processo efetuado na empresa ICM Pork. Neste processo, a carcaça é cortada em diferentes peças de carne sendo posteriormente selecionadas as matérias-primas para cada produto final. Seguidamente, ocorre a receção das matérias-primas e ingredientes. Ao nível da receção das matérias-primas, ocorre um controlo criterioso das condições de receção das mesmas de acordo com as especificações definidas para cada matéria-prima/ingrediente.

A empresa Primor-Charcutaria apresenta uma vasta gama de produtos com processos de fabrico muito complexos e autênticos para cada tipologia de produto. Neste relatório serão apresentadas as principais etapas do processo de fabrico comuns aos diferentes produtos, sendo apresentado com mais detalhe a produção de fiambres, bacon e enchidos fumados.

Os fiambres podem ser produzidos a partir de dois processos (Apêndice 8.1 Figura 24): As matérias primas sofrem injeção e picagem, seguida de tenderização e massagem ou apenas são picadas e maturadas (Apêndice 8.1 Figura 24 processo representado a vermelho). Para além do tratamento aplicado ao nível das matérias primas, o processo é diferenciado consoante o destino dos mesmos uma vez que pode ocorrer produção de fiambres para ser vendidos em peça (Apêndice 8.1 Figura 24 processo representado a azul) ou em fatias (Apêndice 8.1 Figura 24 processo representado a verde). Por fim, ao nível do processamento térmico podem ser só cozidos ou serem sujeitos a pasteurização (Apêndice 8.1 Figura 24 processo representado a laranja).

Na produção de bacon (Apêndice 8.2 Figura 25), ocorre seleção de matérias primas que sofrem injeção, tenderização, picagem e massagem. Neste ponto, a matéria-prima é enformada sob vácuo e sofre cozedura (Apêndice 8.2 Figura 25 processo representado a verde) ou é colocado em fios e destinado à etapa seguinte (Apêndice 8.2 Figura 25 processo representado a amarelo). Após este processo, consoante o tipo de bacon a produzir pode ocorrer um dos seguintes processos: Cozedura com fumo, Secagem com fumo, Secagem ou Secagem e cozedura com fumo. Após a estabilização em clima seguida de estabilização na câmara de refrigeração o bacon pode ter vários destinos: Vendidos em peça, em metades, em nacos, em tiras ou fatias.

Ao nível dos enchidos (Apêndice 8.3 Figura 26), ocorre picagem das matérias primas e mistura de primeira e segunda fase intercaladas com a fase de maturação. Após o enchimento podem ocorrer duas situações: O produto é enformado, cozido e embalado a vácuo (Apêndice 8.3 Figura 26 processo representado a verde) ou é colocado em carros, cozido e sofre o processo de secagem (Apêndice 8.3 Figura 26 processo representado a azul). Ao nível da secagem, pode ser de dois tipos: Secagem em fumeiro ou secagem em estufa elétrica. Após a secagem, ocorre a estabilização em clima e o enchido pode ser embalado a vácuo ou em atmosfera protetora.

1.4.1. Picagem

No caso da matéria-prima ser direcionada para a zona da picagem, esta etapa deverá ser realizada o mais rápido possível para evitar o aumento da temperatura da carne e para evitar o manuseamento desnecessário, pois isto poderá aumentar a contaminação microbiana. Para além disso a picagem apresenta como vantagens aumentar a superfície de contacto da carne que permite um melhor desenvolvimento de cor e absorção da salmoura (etapa posterior).

1.4.2. Preparação da salmoura e Injeção

As matérias-primas picadas ou músculo inteiro (quando a carne não é picada) são encaminhadas para a etapa de salmoura que consiste na adição de água, sal e condimentos. Esta etapa envolve um trabalho prévio de pesagem dos aditivos e condimentos, bem como identificação da ordem de adição dos mesmos que serão encaminhados para a misturadora. Nesta etapa é fundamental garantir a correta adição dos aditivos e condimentos pela ordem pré-definida, bem como garantir que o processo ocorre a uma temperatura inferior a 5 °C, condição que é garantida pela adição de água refrigerada ou de gelo (Feiner 2006). No final, a salmoura não deve ter qualquer aglomerado visível, e a sua temperatura deve estar compreendida entre os -2 e os 2 °C quando adicionada à carne (Freixanet 2010). Após a preparação da salmoura, no caso do bacon e de alguns fiambres ocorre injeção que consiste tal como o nome indica, na injeção de salmoura na carne. A quantidade de salmoura injetada é expressa sob a forma de percentagem (Exemplo: salmoura a 40% indica que são injetados 40 kg de salmoura por 100 kg de produto). A injeção de salmoura é controlada pela velocidade do tapete, sendo que quanto mais rápida for a velocidade do tapete, menor será a quantidade de salmoura injetada. A eficácia da injeção é controlada pela pesagem da matéria-prima antes e após da passagem pela injeção.

Seguidamente, o produto sofre uma ação mecânica pela tenderizadora que efetua ligeiros cortes na matéria-prima com o objetivo de destruir parcialmente o tecido conjuntivo e fibras musculares, que permite uma maior maciez da carne.

1.4.3. Massagem/Maturação

Após a ação mecânica sofrida na tenderizadora, o produto é direcionado para os massajadores ou bateadeiras. Os massajadores são equipamentos fechados sob vácuo onde a carne será massajada juntamente com a salmoura que foi injetada na etapa anterior. Esta etapa ocorre a temperaturas entre os 0 a 5 °C. A aplicação de vácuo (cerca de -0,95 bar) permite um melhor desenvolvimento da cor, um *flavour* mais intenso e uma maior dilatação das proteínas musculares o que leva a uma maior coesão entre as partículas no produto final tendo como principal objetivo evitar a formação de possíveis bolsas de ar. A formação de uma cor mais forte e intensa resulta da remoção de oxigénio e ausência de pressão que permite que o óxido nítrico formado se ligue mais rapidamente e de uma forma mais eficaz à mioglobina.

No caso da maturação da massa dos enchidos pretende-se garantir que ocorre a entrada de sal nos fragmentos de carne e resultante extração de água e proteínas miofibrilares. De igual modo, o desenvolvimento microbiano permite a libertação de produtos resultantes da atividade metabólica. Nesta fase, intensifica-se o aroma da cura, estabilização da cor do curado dos produtos e desenvolvimento das características organoléticas. Durante a maturação, ocorre fermentação realizada por bactérias do ácido láctico que acidificam o preparado, conferindo um sabor mais ácido.

1.4.4. Enchimento/ Enformagem

Nesta etapa, os produtos podem sofrer dois cenários possíveis dependente do destino do produto que está a ser produzido: Pode ser produzido em peça ou destinado a ser fatiado.

No caso da produção de fiambre em peça, o preparado anterior é colocado dentro da enchedora. À saída da enchedora é colocado um saco plástico de polietileno juntamente (ou não) com uma peça de couro igual à forma que se pretende dar ao fiambre. No final é devidamente selado com um clipe, na clipsadora. Os sacos são encaminhados para um túnel retrátil que facilita a colocação dentro das formas, exercendo a pressão necessária para que sejam evitadas perdas durante a cozedura. No caso do bacon ocorre enformagem da barriga do suíno à qual são adicionadas aparas nos devidos moldes. Após o enchimento dos sacos ou enformagem o produto passa por um extrator de vácuo que permite uma boa coesão entre o preparado. No caso dos enchidos, a fase do enchimento consiste na introdução da pasta no invólucro que lhe é destinado, designado por tripa. A tripa pode ser de origem animal, de colagénio ou de celulose consoante o tipo de enchido.

1.4.5. Processamento térmico

O processamento térmico é a etapa em que o produto sofre uma série de fenómenos físico-químicos, bioquímicos e microbiológicos que definem as suas características organoléticas, a sua qualidade e a sua estabilidade microbiológica. Neste caso, o processamento térmico decorre entre os 72 e os 85 °C, sendo designado por pasteurização. Esta gama de temperaturas permite que ocorra a formação e estabilização da cor, desenvolvimento das características organoléticas e da textura dos produtos e destruição dos microrganismos patogénicos. Os produtos pasteurizados têm de ser armazenados a temperaturas inferiores a 5 °C.

1.4.6. Fumagem

A fumagem é uma das técnicas mais antigas que permite a conservação dos enchidos e produtos cárneos. Consiste em submeter os produtos à ação de compostos químicos obtidos pela combustão lenta de madeiras não resinosas e secas. Neste sentido, os produtos são colocados em estufas, câmaras ou fumeiros e são sujeitos ao fumo (Fraqueza and Patarata 2006).

Inicialmente, a fumagem tem como objetivo a penetração do fumo nos produtos que é favoravelmente influenciada pela humidade que estes possuem. Posteriormente, com o aumento da temperatura ocorre o desenvolvimento microbiano e conseqüente acidificação do produto devido à ação das bactérias do ácido láctico. Por outro lado, os compostos fenólicos do fumo atuam como

antioxidantes permitindo retardar a degradação oxidativa dos lípidos e ação bacteriostática. Assim, ocorre uma estabilização da carga microbiana dos produtos fumados (Prandl et al. 1994). A fumagem influencia as propriedades nutricionais e melhora as propriedades sensoriais e a segurança do produto devido ao efeito combinado do aquecimento, secagem e de compostos químicos como aldeídos, fenóis e ácidos que exercem uma ação antimicrobiana. Esta etapa depende do controlo da humidade relativa, velocidade e temperatura do ar bem como do tipo, densidade, composição e tempo de atuação do fumo.

1.4.7. Arrefecimento

Após ser atingida o binómio tempo/temperatura desejado no centro do produto, procede-se ao arrefecimento do produto. Este é efetuado diretamente na estufa, através de um “banho” com água fria. O arrefecimento deve ser rápido, para que não haja a germinação de esporos e para que se formem proteínas solubilizadas. O arrefecimento lento aumenta a probabilidade de desenvolvimento microbiano e a água presente nas camadas mais exteriores solidificam enquanto o interior permanece quente e, por consequente, a formação de exsudados será favorecida.

1.4.8. Armazenamento Refrigerado

Depois do arrefecimento rápido, o produto é armazenado em câmara fria com temperatura e humidade controladas, até atingir a temperatura desejada.

1.4.9. Desenformagem

Nesta etapa, o produto é desenformado e direcionado para as seguintes etapas consoante o seu destino. Caso seja um produto em peça, é direcionado para a pesagem e etiquetagem. No caso de ser um produto destinado a ser fatiado é reencaminhado para a sala de Fatiados onde será fatiado e embalado individualmente.

1.4.10. Processo de fatiamento

No caso dos produtos que têm como destino serem fatiados, após a sua desenformagem têm de ser arrefecidos e posteriormente fatiados. Antes de serem fatiados, os produtos sofrem um arrefecimento rápido a temperaturas de -2 °C a 4 °C em túneis próprios para o efeito- etapa designada por tratamento criogénico. Este arrefecimento rápido tem como objetivo garantir a qualidade e especificação dos produtos, uma vez que ao fatiar verifica-se um aquecimento do produto devido à velocidade de funcionamento do conjunto de lâminas e, assim, através do tratamento criogénico é possível minimizar o impacto do aquecimento e reduzir o potencial crescimento de microrganismos. Para além disso, este tratamento permite a manutenção da espessura das fatias e um maior rendimento no momento de fatiar. Aquando do momento de fatiamento, ocorre a separação das fatias correspondentes para cada embalagem, conjuntos que serão colocados dentro de cuvetes e, posteriormente, revestidas com filmes.

A embalagem primária constitui o último passo ao nível do processo de fabrico e é responsável por ser a barreira entre o produto e meio externo. Com o objetivo de garantir uma maior segurança, qualidade e consequente validade do produto o ar do interior da embalagem é substituído por uma mistura de gases, nomeadamente dióxido de carbono (CO₂) e Azoto (N₂). Previamente à introdução dos gases de embalagem, é realizado o processo de vácuo à unidade primária o que permite que o valor de O₂ seja inferior a 0,3%. Posteriormente são introduzidos os gases de embalagem: O Dióxido de Carbono é um gás com propriedades antimicrobianas e o Azoto é um gás inerte sendo que a combinação mais utilizada no caso de embalagens de fiambre é 70% N₂ e 30% de CO₂ o que permite retardar os fenómenos químicos e bioquímicos responsáveis pela deterioração dos produtos.

1.4.11. Etiquetagem

Durante a etapa de etiquetagem é importante garantir que o produto é etiquetado com toda a informação de acordo com o Artigo 3º do Decreto-Lei nº 560/99 de 18 de dezembro de 1999 no qual define que as menções obrigatórias da rotulagem são as seguintes:

- A denominação de venda;
- A quantidade líquida;
- A data de durabilidade mínima ou a data limite de consumo;
- A referência ao teor alcoométrico adquirido, para as bebidas com um teor alcoométrico superior a 1,2% volume;
- O nome ou firma ou denominação social e a morada do fabricante ou do embalador, ou de um vendedor estabelecido na União Europeia;
- A lista de ingredientes por ordem de peso decrescente no momento da sua incorporação;
- A quantidade de determinados ingredientes ou categoria de ingredientes;
- As condições especiais de conservação, quando for caso disso, nomeadamente quando se trate de géneros alimentícios com data limite de consumo;
- Modo de emprego ou de utilização;
- O local de origem ou proveniência;
- Referência à utilização de gases de embalagem para prolongar a durabilidade do produto fazendo referência a “Acondicionado em atmosfera protetora”;
- No caso de géneros alimentícios que contenham um ou mais edulcorantes é necessário mencionar “Contém edulcorante(s)”;
- No caso de géneros alimentícios que contenham simultaneamente um ou mais açúcares de adição e um ou mais edulcorantes é necessário mencionar “Contém açúcar(es) e edulcorante(s)”, menção esta que deve acompanhar a denominação de venda;
- No caso de géneros alimentícios que contenham aspartame é necessário mencionar “Contém uma fonte de fenilalanina”;
- No caso de géneros alimentícios que contenham mais de 10% de polióis de adição é necessário mencionar “O seu consumo excessivo pode ter efeitos laxativos”;
- Indicação que permita identificar o lote e rastrear a sua origem.

1.4.12. Embalagem secundária

O encaixotamento é realizado aos produtos que serão expedidos em que a embalagem deverá ser selada e identificada com as seguintes informações:

- O nome ou firma ou denominação social e a morada do fabricante ou do embalador;
- A denominação de venda;
- Data de Fabrico;
- Validade;
- Quantidade;
- Lote;
- Peso líquido;
- Condições de conservação;

1.5. Controlo da qualidade

O controlo da qualidade na indústria alimentar tem como objetivo identificar e controlar todas as fases do processo de fabrico desde a receção de matérias-primas ao consumidor final. Deste modo, os principais objetivos passam por prevenir, minimizar ou eliminar a probabilidade da ocorrência de acontecimentos que representem um risco para a saúde humana, focando-se assim na aplicação de medidas preventivas.

De modo a garantir que estes objetivos são cumpridos é necessário a implementação de um sistema de controlo que pretende identificar os pontos ou etapas críticas do processo, através da implementação de medidas de controlo dos limites de aceitabilidade e da adoção das respetivas ações corretivas-Metodologia HACCP-Hazards Analysis and Critical Control Points (Análise de Perigos e Controlo de Pontos Críticos), sendo uma referência internacionalmente aceite na implementação de sistemas de segurança alimentar (Tompkin 1994) e a sua implementação é legalmente obrigatória de acordo com o Regulamento (CE) nº852/2004.

De modo a agrupar os diversos perigos sanitários que podem ser veiculados pelos alimentos podemos salientar três categorias principais em função das respetivas naturezas: Perigos físicos, químicos e Alergénios e os perigos Biológicos.

Os **perigos físicos** incluem um conjunto de materiais denominados objetos estranhos que podem causar doenças ou ferimentos quando consumidos com o produto. Podem estar naturalmente presentes nas matérias-primas e a sua remoção fará parte do processo de transformação que neste caso podem ser ossos, cabelos ou pelos, pedras e agulhas. Para além disso, constituem também parte dos perigos físicos materiais que possam ser introduzidos durante o processamento ou embalagem dos produtos como plásticos, madeiras, vidros ou fragmentos de equipamentos/utensílios.

No que diz respeito aos **perigos químicos**, caracterizam-se por estarem presentes em concentrações baixas e que podem causar patologias específicas após exposição prolongada. Neste caso salientam-se produtos de limpeza, medicamentos/hormonas e agro-químicos, pesticidas, Dioxinas, Bifenilos policlorados (PCBs), metais pesados, aditivos como conservantes (nitritos) ou colorantes e lubrificantes. Para além disso, também constituem um perigo os **alergénios**-substâncias

de origem natural que podem induzir uma reação de hipersensibilidade em pessoas suscetíveis aquando do contacto com o alergénio. Destacam-se como alergénios a soja, lactose, glúten e sulfitos.

No caso dos **perigos biológicos** destacam-se os perigos microbiológicos, como por exemplo a presença de moscas ou outros insetos que em contacto com os produtos comprometem a segurança dos mesmos, e os perigos microbiológicos que são as bactérias, bolores, vírus e parasitas. Os microrganismos podem ser introduzidos através do ar, solo, água, manipuladores de alimentos ou por contaminações cruzadas.

1.5.1. Deterioração dos alimentos

A deterioração dos alimentos pode ser causada por diversos fatores dos quais se destacam agentes físicos, como frio ou calor, alterações enzimáticas dos alimentos, deteriorações químicas não enzimáticas, como oxidação ou escurecimento, e alterações de origem microbiana.

Ao nível dos microrganismos, o seu desenvolvimento leva ao aparecimento de características indesejáveis como perdas nutritivas, amolecimento de tecidos, alterações de sabor, odor e aparência desagradável. Os microrganismos presentes nos produtos podem ter várias origens desde ar, água, contaminações cruzadas ou os próprios seres humanos, uma vez que a fase de manipulação dos alimentos é uma das etapas onde ocorre a introdução de muitos microrganismos indesejáveis. Quer ao nível dos utensílios e equipamentos quer ao nível das pessoas que manipulam os alimentos, ocorre a possibilidade de contaminação dos mesmos, sendo que o grau de contaminação está diretamente relacionado com a periodicidade de limpeza e desinfeção das superfícies/utensílios que estão em contacto com o produto.

Por outro lado, a água e o ar são meios de contaminação do produto. No caso da água, devido à sua importância durante o processo de fabrico é fundamental garantir que existe um tratamento adequado e que esta não exerce um efeito de contaminação do produto. No caso do ar, apesar de não ser um meio favorável do crescimento de microrganismos, é um meio de transporte dos mesmos que podem depositar-se nos alimentos, equipamentos e nas superfícies que estão em contacto com o produto. Para além disso, os seres humanos são igualmente responsáveis pela contaminação dos produtos através da microbiota da cavidade respiratória, como por exemplo através de espirros ou tosse, podendo transmitir alguns patogénicos como *Staphylococcus aureus*.

1.5.2. Controlo ao nível da receção de matérias-primas

1.5.2.1. Matérias-primas de origem animal

A receção de matérias-primas é um ponto fulcral ao nível do controlo da qualidade, uma vez que as suas características têm um grande impacto na qualidade final dos produtos. Neste nível, é fundamental um controlo rigoroso do aspeto, temperatura, pH e contaminação inicial dos produtos rececionados.

Aquando da receção da carne é fundamental garantir as seguintes etapas:

- Análise da data de validade;
- Controlo da temperatura do meio de transporte, através da análise da guia que contém o registo da temperatura do meio de transporte e análise do estado de higienização do veículo/compartimento de transporte.
- Controlo da temperatura e pH da matéria-prima no momento da receção;
- Controlo do peso da matéria-prima;
- Análise da carne consoante a ficha de especificações correspondente;
- Análise do aspeto da carne que deve apresentar ausência de hematomas, fraturas, defeitos de limpeza, pelos, entre outros aspetos;
- Inspeção das canastras/canastreiros onde o produto foi transportado.

O pH é um fator que exerce uma influência direta ou indireta sobre a qualidade da carne, tendo um impacto na cor, capacidade de retenção da água, maciez, suculência e sabor.

Após o abate dos animais, a circulação sanguínea e o fornecimento de oxigénio ao músculo são cessados, momento que caracteriza o *rigor mortis*. Assim, em condições de anaerobiose ocorre a degradação das fontes ricas em fosfato como a creatina, adenosina trifosfato (ATP) e da adenosina difosfato (ADP) sendo o único processo capaz de fornecer energia a glicólise. A glicólise depende da temperatura e do pH, sendo influenciada pela presença de glicogénio. Ao ser o único processo capaz de fornecer energia, leva à formação de ácido láctico e, conseqüentemente, à diminuição do pH de 6,5 a 5,8 (Belitz, Grosch, and Schieberle 2004). A taxa de diminuição do pH e o valor final do pH da carne são fatores importantes para a capacidade da retenção da água na carne o que tem um impacto na qualidade da mesma.

As transformações que ocorrem no músculo após o abate iniciam-se no momento de insensibilização dos animais que deverá ser rápida, sem causar sofrimento uma vez que isto tem um impacto direto ao nível do sistema nervoso e da pressão sanguínea. As principais condições que exercem um impacto na qualidade da carne e, conseqüentemente, dos produtos transformados são a: PSE (carne pálida, macia e exsudada) e DFD (carne escura, firme e seca). A carne PSE representa o principal problema de qualidade na indústria das carnes e caracteriza-se pelo facto da carne apresentar baixa capacidade de retenção de água, uma textura flácida e cor pálida que se traduzem em elevadas perdas de água durante o processamento.

A principal causa de carne com PSE é o stresse elevado a que os animais podem estar sujeitos antes do seu abate, como por exemplo: transporte, manipulação, calor, exercício físico ou mistura com animais desconhecidos. Para além disso, fatores genéticos podem predispor um animal para a condição de PSE, nomeadamente suínos portadores do gene Halotano (HALⁿ), ou gene da síndrome do stress suíno (Ledward and Hopkins 2017). de Oliveria Vargar Culau et al. (2002) verificaram que existe uma maior predisposição para o aparecimento das características de carne PSE em suínos portadores do gene Halotano. No entanto, embora se verifique a correlação positiva entre o gene halotano e a produção de carne PSE, o aparecimento destas características é potenciado quando os

animais são sujeitos a elevado stress após o abate, não sendo a predisposição genética a causa principal (Trout 1994).

Mesmo que exista correlação significativa entre animais portadores do gene halotano e produção de carne PSE, é afirmado que o genótipo por si só não explica totalmente a ocorrência de carne PSE (Warriss et al. 1994). O elevado stress leva a uma taxa acelerada de glicólise e consequente gasto de glicogénio, acumulação de ácido láctico e diminuição do pH do músculo. O pH típico da carne de porco após o abate é de 6,5 a 6,7 à temperatura de 37 °C. No entanto, quando se verifica uma situação de PSE o pH diminui para cerca de 6,0, tal como verificado na **Figura 2** (Feiner 2006).

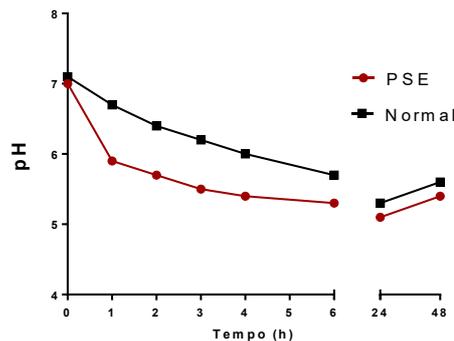


Figura 2: Diminuição do pH em carne de porco normal e com PSE. Adaptado (Feiner 2006).

A diminuição de pH e as temperaturas altas da carcaça causadas pelo aumento do metabolismo aeróbio e anaeróbio e consequente produção de calor levam a que ocorra desnaturação das proteínas contráteis da carne, traduzindo-se numa carne pálida, macia e exsudada, com perda de capacidade de retenção da água (Warriss et al. 1994). A identificação de carne PSE pode ser feita por métodos subjetivos dependendo da experiência de quem examina a carne após o abate ou por métodos objetivos que são baseados na medição do pH após 45 ou 60 minutos, da cor, da condutividade elétrica, métodos gravimétricos, análise da força de cisalhamento ou análise genética (Qu et al. 2017). O aparecimento destas características verifica-se principalmente em carne de porco. No entanto, tem-se verificado um aumento destes sintomas em carne de frango e peru, estimando-se que abranja entre 5 a 40% do total de carne peru produzida industrialmente (Owens et al. 2000; Carvalho et al. 2014).

A carne DFD caracteriza-se pelo pH elevado resultante dos baixos níveis de glicogénio e de creatina fosfato presentes no momento do abate, o que restringe a formação de ácido láctico. Ao contrário da PSE, este fenómeno traduz-se na alta capacidade da carne reter água, levando a uma elevada solubilidade proteica. No entanto verifica-se um aumento do desenvolvimento microbiano e enzimático e desenvolvimento de uma cor mais escura, fatores que condicionam a validade da carne. Para além disso, nas carnes DFD o pH deve ser determinado após o *rigor mortis* o que no caso da carne suína corresponde a 24 a 36 horas, tal como ilustrado na **Figura 3** (Feiner 2006).

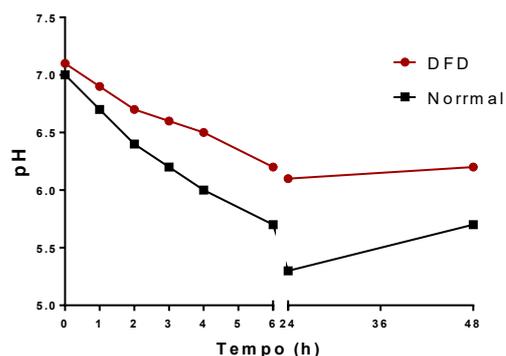


Figura 3: Diminuição do pH em carne de porco normal e com DFD. Adaptado (Feiner 2006).

O desenvolvimento de uma cor mais escura está relacionado com o pH alto da carne que faz com que as proteínas musculares permaneçam altamente carregadas, maximizando a separação das miofibrilas muscular e, conseqüentemente, reduzindo a passagem da luz. Para além disso, com o pH elevado a respiração mitocondrial leva a uma diminuição dos níveis de oximioglobina. A cor da carne fresca é determinada pela razão entre a mioglobina (Mb), oximioglobina (MbO₂) e metamioglobina (MMb⁺). Assim, quando a carne fica em contacto com o oxigénio do ar forma-se a oximioglobina que é responsável pela cor vermelha da carne, tal como ilustrado na **Figura 4** (Belitz, Grosch, and Schieberle 2004).

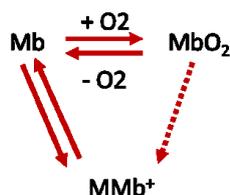


Figura 4: Conversão de mioglobina em oximioglobina e metamioglobina. Adaptado (Belitz, Grosch, and Schieberle 2004).

O aparecimento de carne DFD pode resultar da exposição dos animais a longos períodos de fome, exercício intenso ou elevado stress. A taxa de incidência deste fenómeno predomina em períodos frios e húmidos (Keenan 2016).

As principais diferenças entre a carne PSE e DFD encontram-se na **Tabela 3**.

Tabela 3: Características de carne PSE e DFD. Adaptado (Feiner 2006).

	Carne PSE	Carne DFD
Valor de pH	pH 1h após abate < 5,8	pH 24h após abate > 6,2
Capacidade de retenção de água	Baixa	Elevada
Consistência da carne	Suave	Sólida
Cor da carne	Pálida	Escura
Glicólise <i>post-mortem</i>	Muito rápida	Lenta e incompleta
Prazo de validade	Pouco reduzido	Significativamente reduzido
Textura da carne	Reduzida	Melhorada

1.5.2.2. Matérias-Primas Ingredientes

De acordo com o Decreto-Lei nº560/99 de 18 de dezembro de 1999, um género alimentício caracteriza-se por ser “toda a substância, seja ou não tratada, destinada à alimentação humana, englobando as bebidas e os produtos do tipo das pastilhas elásticas, com todos os ingredientes utilizados no seu fabrico, preparação e tratamento”.

Um ingrediente é definido como “toda a substância, inclusive aditivo alimentar, incorporada intencionalmente como componente de um género alimentício durante o fabrico ou preparação e presente no produto acabado”. Para além dos ingredientes, é definido como aditivo alimentar, “toda a substância, tenha ou não valor nutritivo, que por si só não é normalmente género alimentício nem ingrediente característico de um género alimentício, mas cuja adição intencional, com finalidade tecnológica ou organolética, em qualquer fase de obtenção, tratamento, acondicionamento, transporte ou armazenagem de um género alimentício, tem como consequência quer a sua incorporação nele ou a presença de um seu derivado, quer a modificação de características desse género, não abrangendo as substâncias adicionadas aos géneros alimentícios com a finalidade de lhes melhorar as propriedades nutritivas”.

Aquando da receção de matéria-prima ingredientes/aditivos é fundamental garantir as seguintes etapas:

- Controlar as condições de transporte dos ingredientes (temperatura e higiene);
- Realizar uma monitorização visual dos ingredientes em relação ao seu aspeto geral o que contempla: integridade da embalagem, data de validade, quantidade, entre outros fatores;
- Respeitar as condições de armazenamento e conservação dos ingredientes para evitar a multiplicação microbiana/contaminação relacionada com temperaturas elevadas e/ou humidade (Seguir as instruções do fornecedor);
- Pesagem dos ingredientes com precisão (utilizando a balança) para evitar erros de produção;
- Garantir o correto armazenamento tendo em atenção a correta armazenagem de ingredientes que contenham alergénios;

1.5.3. Controlo do processo

Tal como anteriormente foi referido, o sistema de controlo HACCP prevê a identificação dos pontos críticos de controlo (PCC) e estabelecimento dos seus limites críticos. Na indústria de charcutaria-Primor os PCC existentes durante o processo são:

- Deteção de corpos estranhos, nomeadamente metais, ao nível do enchimento;
- Tratamento térmico do produto (cozedura);
- Deteção de corpos estranhos, nomeadamente metais, ao nível do fatiamento.

1.5.4. Controlo microbiológico

O controlo microbiológico nos produtos processados de carne é um dos principais desafios ao nível da indústria alimentar, uma vez que a presença de patogénicos na carne ou nos produtos cárnicos pode causar quer problemas de saúde aos consumidores quer perdas económica devido a devoluções por parte dos clientes.

O principal desafio passa por controlar os patogénicos associados a estes produtos, mas também identificar patogénicos novos e emergentes, bem como acompanhar a evolução e adaptação dos mesmos (Sofos 2008). Para além disso, os produtos prontos-a-comer carecem de uma maior atenção, uma vez que serão consumidos sem confeção e, para além disso, são um bom substrato para o desenvolvimento de microrganismos patogénicos. Deste modo, garantir a qualidade das matérias primas, um tratamento térmico adequado e uma higienização adequada dos equipamentos e higienização pessoal e do ambiente são aspetos fulcrais para prevenir a contaminação em produtos prontos-a-comer.

Os principais microrganismos associados a produtos cárneos são *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp, *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* incluindo o serotipo 0157:H7 ao nível de carne fresca e *Listeria monocytogenes* e bactérias aeróbicas associadas a produto prontos-a-comer, devido a contaminação decorrida após o processamento térmico e à sua capacidade de se replicarem a temperaturas baixas (Mead 2004).

No entanto, a presença de microrganismos não apresenta apenas desvantagens, sendo fundamental a presença de microrganismos para a realização de fermentação e desenvolvimento do sabor característico dos produtos de charcutaria. De facto, é fundamental uma correta caracterização da microbiota dos produtos uma vez que a segurança, aceitabilidade e a qualidade sensorial dependem desta caracterização (Chevallier et al. 2006).

1.5.4.1. Fatores que influenciam o crescimento microbiológico

Existem vários fatores essenciais para a contaminação e conseqüente desenvolvimento dos microrganismos desde má qualidade da água, níveis não aceitáveis de microrganismos no ar, temperatura e humidade não controladas.

Os principais fatores que devem ser controlados para diminuirmos o crescimento microbiológico são: Temperatura ao longo do processo/armazenamento dos produtos, pH, atividade da água, valor de potencial redox (E_h), tratamento térmico aplicado, conservantes e embalagem usada.

As bactérias e os fungos podem classificar-se em 5 grupos consoante a gama de temperaturas na qual se desenvolvem, tal como ilustrado na **Tabela 4**.

Tabela 4: Temperaturas de crescimento de 5 grupos de microrganismos

	Temperatura mínima (°C)	Temperatura ótima (°C)	Temperatura máxima (°C)
Psicrófilos	-12	5-15	20
Psicotróficos	-8	20-25	35
Mesófilos	5	20-45	50
Termófilos	35	45-60	70
Hipertermófilos	70	85-90	100

Os microrganismos mesófilos caracterizam-se por apresentarem condições ótimas de crescimento entre os 20 e os 45 °C. A contagem de microrganismos totais a 30 °C permite estimar a totalidade de microrganismos aeróbios e anaeróbios facultativos presentes num alimento. Os psicrófilos caracterizam-se por terem temperaturas máximas de crescimento inferiores a 25 °C e crescimento ótimo entre os 5 °C e 15 °C, apesar da sua grande maioria conseguir desenvolver-se, embora de forma lenta, a temperaturas próximas e abaixo dos 0 °C. Contrariamente, os termófilos e os hipertermófilos, são microrganismos que preferem temperaturas mais elevadas. Para além disso, verifica-se que as bactérias Gram-positivas têm uma melhor resistência às temperaturas de congelação do que as bactérias Gram-negativas. Por outro lado, as bactérias aeróbias são menos resistentes ao calor do que as bactérias anaeróbias (Toldrá et al. 2014).

Para além da temperatura, o pH é um fator que influencia o crescimento das bactérias. O pH que se verifica nos diferentes tipos de carne situa-se entre os 6,2 a 6,4. A maioria das bactérias prefere um pH neutro situado entre os 6,6 os 7,2. No caso dos fungos, o pH ótimo de crescimento é de 4,5.

É necessário salientar que o valor da a_w é definido como a relação que existe entre a pressão de vapor de um alimento em relação à pressão de vapor de água pura à mesma temperatura. A maior parte dos microrganismos patogénicos necessita de um valor de a_w superior a 0,95 para crescer ou produzir toxinas. No entanto, patogénicos como *S. aureus* e *L. monocytogenes* conseguem crescer com a_w mais baixas, 0,86 e 0,92 respetivamente.

Para além da temperatura, a tolerância/necessidade de oxigénio é outro fator que permite distinguir os microrganismos em: **aeróbios obrigatórios** que necessitam de oxigénio para viver e crescer (como por exemplo *Pseudomonas* spp); **Anaeróbios facultativos** que podem usar o oxigénio, mas conseguem sobreviver na sua ausência (como é o caso da *E.coli*); **anaeróbios obrigatórios** que não toleram o oxigénio que é o caso do *Cl. botulinum*. Por fim, ainda podemos destacar os **microaerófilicos** que conseguem sobreviver em atmosferas com baixa percentagem de oxigénio (Toldrá et al. 2014). Assim é fundamental assegurar o embalamento em vácuo de modo a aumentar o período de vida útil dos produtos. O vácuo aplicado deve ser o mais alto possível (cerca de -0,98 bar) e a embalagem deve ser bem selada, com alta barreira ao oxigénio e ao vapor de água. Para além disso, a combinação de O₂ e CO₂ no interior das embalagens através de uma atmosfera modificada evita o crescimento dos microrganismos, combinação esta que deverá ser de 20 a 40% de O₂ e 60 a 80% de CO₂.

Para além do controlo da temperatura, pH e constituição gasosa da embalagem, os processos de oxidação e redução influenciam as características da carne sendo que um valor de E_h baixo favorece a qualidade da carne uma vez que inibe o crescimento de bactérias aeróbias.

Por fim, a aplicação de um correto tratamento térmico permite eliminar os microrganismos patogénicos e as bactérias vegetativas através da utilização do *F value* que define a temperatura necessária a aplicar ao produto durante um certo tempo com vista a obtenção de um produto seguro e com o tempo de vida útil desejado.

1.5.4.2. Microrganismos patogénicos

Os microrganismos patogénicos caracterizam-se pela capacidade de comprometer a saúde humana através de infeções e intoxicações alimentares. As **infeções alimentares** caracterizam-se pela invasão e multiplicação dos microrganismos no hospedeiro, devido ao consumo de alimentos contaminados. As **intoxicações alimentares** são causadas pela presença de toxinas nos alimentos. No caso de uma infeção, o período de incubação é maior pois é necessário que ocorra a replicação dos microrganismos, enquanto que no caso de uma intoxicação o consumo do alimento contaminado é suficiente para que os sintomas sejam manifestados.

Escherichia coli pertence à família *Enterobacteriaceae* e caracteriza-se por fazerem parte da microbiota intestinal normal, fermentar glicose com produção de hidrogénio e CO_2 . São bactérias Gram-negativas, apresentam mobilidade por flagelos e são aeróbias ou anaeróbias facultativas. No entanto, existem estirpes capazes de produzir citotoxinas designadas por *E. coli* verotoxigenicas (VTEC). Atualmente, distinguem-se seis grupos de *E. coli* patogénica: *E. coli* Enterotoxigenicas (ETEC), *E. coli* enteropatogenica (EPEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* Enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC) e *E. coli* diffusely adherent (DAEC) (Feiner 2006).

Atualmente, são conhecidos mais do que 150 serótipos de VTEC associados a infeções alimentares, embora a maioria dos surtos e casos esporádicos reportados sejam atribuídos ao serotipo 0157:H7. A dose infecciosa é baixa, uma vez que não é necessário ocorrer multiplicação dos microrganismos para que os sintomas surjam. *E. coli* 0157:H7 é uma bactéria Gram-negativa, anaeróbia facultativa, mesofílica e para se multiplicar necessita de um intervalo de pH de 4,5 a 8,8, a_w cerca de 0,95 e apresenta como temperatura ótima de crescimento os 37 °C, sendo capaz de sobreviver a temperaturas de congelação (Marshall et al. 2005).

O género *Listeria* spp. inclui pelo menos dezoito espécies reconhecidas: *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri*; *L. marthii*, *L. rocourtiae*, *L. fleischmannii*, *L. floridensis*, *L. aquatica*, *L. newyorkensis*, *L. cornellensis*, *L. weihenstephanensis*, *L. grandensis*, *L. riparia*, *L. booriae*, *L. grandensis* e *L. grayi*. Apenas a *L. monocytogenes* e a *L. ivanovii* são consideradas patogénicas (Orsi and Wiedmann 2016). Caracterizam-se por serem microrganismos Gram-positivos, psicotróficos, não formadores de esporos e anaeróbios facultativos. Apresentam mobilidade através de flagelos (embora a 35 °C seja imóvel) e desenvolve-se numa gama de pH de 5,0 a 5,9 e a temperaturas de 4 a 38 °C. No entanto, é capaz de sobreviver a temperaturas inferiores a 1 °C e com concentração de sal de 30%. Para além de sobreviver a temperaturas baixas, também são capazes de se replicar em produtos com atividade da água de 0,92, sendo o seu crescimento apenas inibido a temperaturas

inferiores a -2 °C. *Listeria* é inativada quando os produtos são sujeitos a temperaturas acima dos 72 °C, embora no processo de fatiar ou embalar possa ocorrer contaminação cruzada, possivelmente pela possibilidade de algumas estirpes sobreviverem em biofilmes e persistirem no ambiente (Zhu et al. 2005).

Listeria monocytogenes é a espécie responsável por listeriose associada ao consumo de alimentos contaminados e está relacionada com a ocorrência de meningite, encefalite e sintomas semelhantes a gastroenterites de origem alimentar. É um patógeno humano de origem alimentar muito importante sendo a terceira causa de morte resultante da ingestão de alimentos contaminados devido a microrganismos.

Salmonella pertence à família *Enterobacteriaceae* e é uma bactéria Gram-negativa, móvel, não formadora de esporos, catalase positiva e anaeróbia facultativa. *Salmonella* pode causar dois tipos de problemas: salmonelose não-tifoide e a febre tifoide (Mrema, Mpuchane, and Gashe 2006). A salmonelose não-tifoide é causada por todos os serótipos de salmonela exceto *S. Typhi* e *S. Paratyphi* A. A dose infecciosa é muito baixa e os sintomas surgem após 6 a 72 horas de exposição. No caso da salmonelose tifoide, pode ser causada por *S. Typhi* e *S. Paratyphi* sendo que os sintomas aparecem entre 1 a 3 dias até 2 meses. A dose infecciosa apesar de superior do que no caso da não tifoide é inferior a 1000 células (Feiner 2006; Stock and Stolle 2001).

Staphylococcus aureus pertence à família *Micrococcaceae* e ao género *Staphylococcus*, Gram positiva, imóvel e anaeróbia facultativa produtora de toxinas. O crescimento ocorre entre os 7 °C e os 48 °C, sendo aos 35 °C a temperatura ótima de crescimento. O intervalo de pH de crescimento é de 4,5 a 9,3, com pH ótimo entre o 7,0 e 7,5. Os estafilococos têm a particularidade de serem atípicos, uma vez que conseguem crescer em a_w de 0,83 embora apresente condições ótimas de crescimento a 0,99. A maior parte das estirpes, é tolerante a elevadas concentrações de sal e açúcar. *Staphylococcus aureus* tem a capacidade de produzir enterotoxinas resistentes à inativação realizada por proteases gastrointestinais. A dose de enterotoxinas produzidas pelo *Staphylococcus* é menor do que 1,0 µg o que se verifica quando a população de *S. aureus* é superior a 10^5 unidades formadoras de colónias/grama (ufc/g) nos alimentos.

1.5.4.3. Bactérias patogénicas formadoras de esporos

As bactérias responsáveis pela formação de esporos no seu interior (endoesporos) pertencem à família *Bacillaceae* e *Clostridiaceae* das quais fazem parte, respetivamente, *Bacillus* spp e *Clostridium* spp. Os esporos são muito resistentes ao calor, sendo apenas destruídos quando sujeitos a temperaturas muito elevadas (115 a 120 °C), enquanto que as bactérias formadoras de esporos podem ser destruídas em poucos minutos quando sujeitos a temperaturas inferiores (cerca de 90 °C). Na maioria dos casos os esporos não germinam a pH ácidos (abaixo dos 4,3) nem a temperaturas inferiores a 10 °C.

O género ***Bacillus*** caracteriza-se por um conjunto de bactérias Gram-positivas com a forma de bastonetes, aeróbicas obrigatórias ou anaeróbicas facultativas, catalase positivas e produtoras de endósporos. Dentro do género *Bacillus* podemos destacar a espécie patogénica *Bacillus cereus* que se encontra frequentemente no solo e nos alimentos (Goepfert, Spira, and Kim 1972) .

Bacillus cereus é responsável por dois tipos de doenças alimentares: síndrome diarreico e síndrome emético. O síndrome diarreico ocorre devido à ingestão de alimentos contaminados com células vegetativas que crescem no intestino humano e libertam toxinas levando ao aparecimento dos sintomas associados cerca de 10 a 20 horas após a ingestão. No caso emético, ocorre a ingestão da toxina sendo que os sintomas surgem entre 15 minutos a 5 horas. As células vegetativas são destruídas por temperaturas de pasteurização, no entanto, as toxinas não. Apresentam temperaturas de crescimento ótimas de 28 °C a 35 °C e crescem em temperaturas mínimas de 4 °C e máxima de 48 °C. Para além disso, o crescimento pode ocorrer numa gama de pH de 4,9 a 9,3 (Kramer and Gilbert 1989).

A presença de um elevado número de *B. cereus* é um indicativo do crescimento ativo e proliferação dos microrganismos que podem representar um potencial risco para a saúde humana, sendo que populações de 10^5 a 10^8 estão associadas ao aparecimento de surtos alimentares. No entanto, a patogenicidade depende da presença das toxinas produzidas por este microrganismo (Food and Administration 2012).

O género ***Clostridium*** é composto por várias espécies, apresentando fatores de virulência distintos, entre as quais se destacam o *Clostridium botulinum* e o *Clostridium perfringens*. Estas espécies fazem parte do grupo dos clostrídios sulfito-redutores que se caracterizam por reduzir sulfito a sulfureto de hidrogénio a 46 °C.

Clostridium botulinum é uma bactéria Gram-positiva, formadora de esporos, anaeróbia, superóxido dismutase positiva e catalase negativa. Apresenta a capacidade de produzir neurotoxinas uma vez que em produtos com pH ácido os esporos de *C. botulinum* podem germinar, crescer e produzir toxinas. Deste modo, uma pequena quantidade de toxinas é capaz de provocar os sintomas associados à ingestão de alimentos contaminados com este microrganismo. Atualmente, conhecem-se sete tipos de *C. botulinum* categorizados por A, B, C, D, E, F e G que se baseiam na especificidade antigénica da toxina produzida por cada estirpe. Podemos classificar estas estirpes em dois grupos: Grupo I cujos esporos são resistentes a temperaturas altas e podem proliferar a $a_w > 0,94$ e a $pH > 4,6$; Grupo II os esporos são sensíveis a temperaturas altas e podem germinar e proliferar a $a_w > 0,97$ e $pH > 5,0$ (Lund, Baird-Parker, and Gould 2000).

Clostridium perfringens é uma bactéria Gram-positiva, formadora de esporos anaeróbica. No entanto, ao contrário de *C. botulinum*, a germinação de esporos pode ser controlada através da adição de nitratos embora os esporos formados sejam resistentes a temperatura. A temperatura ótima de crescimento ocorre aos 45 °C, podendo crescer entre os 10 e os 52 °C (Ray and Bhunia 2008; Food and Administration 2012). Os sintomas de doença são causados pela ingestão de um elevado número de células vegetativas ($>10^6$ ufc/g) ou esporos ($>10^6$ esporos/g).

1.5.4.4. Bactérias do ácido láctico

As bactérias do ácido láctico são um grupo de bactérias que se caracterizam por não formarem esporos, serem imóveis, Gram-positivas, aeróbicas e anaeróbicas facultativas e que incluem os géneros *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* and *Weissella*. Podem ser homofermentativas, fermentam açúcares em ácido láctico sem a produção de gás, ou heterofermentativas que fermentam glucose em ácido láctico, mas também produzem outras substâncias antimicrobianas e bacteriocinas (por exemplo ácido acético e CO₂) (Carr, Chill, and Maida 2002).

A pH abaixo de 5,0, as condições são mais favoráveis ao crescimento de *Lactobacillus* heterofermentativos, sendo necessário uma atividade de água de 0,95 para que ocorra fermentação. A presença destes microrganismos é indicativa de alteração da qualidade do produto uma vez que os metabolitos resultantes da sua atividade levam ao aparecimento de odor e aromas azedos, exsudado, alteração da cor e aparecimento de embalagem opada (Mataragas et al. 2006).

1.5.4.5. Fungos, bolores e leveduras

Os **fungos** são classificados de acordo com o método de reprodução, estrutura e ciclo de vida. Os géneros *Penicillium*, *Aspergillus* e *Fusarium* são os mais importantes ao nível de produtos cárnicos e derivados.

As **leveduras** são organismos unicelulares, cujas células são maiores do que as células das bactérias podendo assumir tamanhos de 2 µm a 120 µm. Para sobreviverem e crescerem necessitam de humidade, embora possam viver em condições em que a a_w é mais baixa do que no caso das bactérias. As leveduras preferem pH entre os 3,5 a 6,0 sendo o pH ótimo 4,5. A temperatura ótima de crescimento é de 25 °C com gama de temperaturas de crescimento entre os 20 e os 35 °C.

Apesar de não crescerem a temperaturas inferiores a 0 °C, conseguem sobreviver a temperaturas inferiores a -10 °C. Podem ser aeróbicos e anaeróbicos facultativos. Caso estejam na ausência de oxigénio, a fermentação do açúcar leva a formação de água e etanol. Em condições de aerobiose, o açúcar é fermentado em CO₂ e água.

Bolores são microrganismos multicelulares complexos que se reproduzem através de esporos quer de modo assexuado quer sexuado, sendo a forma assexuada a mais comum. Os bolores são normalmente aeróbios e mesófilos sendo as temperaturas ótimas de crescimento entre os 5 e os 25 °C. A maioria das espécies de bolores requerem pouca humidade para sobreviver. Para além disso, conseguem crescer em ambientes com a_w baixa. Por outro lado, nalguns casos conseguem crescer em temperaturas inferiores a 0 °C. A temperatura ótima de crescimento é de 25 °C embora algumas espécies possam crescer a -18 °C. O intervalo de pH é de 3,0 a 8,0 e a maioria das espécies de fungos preferem condições ácidas.

O crescimento de bolores pode ser prevenido através da utilização de misturas como fumo ou substâncias como propionato de sódio e natamicina. Para além disso, através da redução da água ou embalagem a vácuo sem oxigénio é possível prevenir o seu crescimento.

1.5.4.6. Microrganismos indicadores de higiene

Os produtos prontos-a-comer requerem um maior controlo ao nível dos processos de higienização uma vez que não exigem uma confeção por parte do consumidor. Ao nível da produção de fiambres e enchidos a etapa de fatiar é uma etapa crucial no controlo da estabilidade microbiológica dos produtos uma vez que o produto não sofrerá nenhum tratamento térmico posterior e nesta etapa poderá ocorrer recontaminação microbiológica. Para minimizar a possibilidade de recontaminação é fundamental existir uma correta higienização das superfícies em contacto com os alimentos, bem como dos utensílios utilizados, máquinas e higienização das mãos dos colaboradores.

Os microrganismos indicadores de higiene, nomeadamente as bactérias do ácido láctico e os microrganismos que apresentam crescimento a temperaturas de 30 °C, permitem-nos analisar as condições higio-sanitárias de todas as etapas ao longo da produção e armazenamento dos produtos. Assim, em produtos cárneos é esperada que as contagens relativas a estes microrganismos sejam inferiores a 10^7 ufc/g uma vez que acima deste valor verificam-se alterações sensoriais detetáveis pelo consumidor que põem em causa o tempo de vida útil do produto.

1.5.5. Critérios microbiológicos aplicados a produtos de charcutaria

Os perigos microbiológicos constituem uma das principais causas de doenças transmitidas pelos alimentos que afetam o ser humano e podem ser introduzidos em qualquer ponto da cadeia alimentar. Assim, foi estabelecido como objetivo de segurança que os géneros alimentícios não devem conter microrganismos patogénicos nem as suas toxinas e/ou metabolitos em quantidades que representem um risco para a saúde humana sendo necessário estabelecer os critérios de aceitabilidade dos alimentos no que se refere à presença de microrganismos.

O Regulamento (CE) nº1441/2007 que altera o Regulamento (CE) nº2073/2005 define os critérios de segurança dos géneros alimentícios e os critérios de higiene dos processos.

Os critérios de segurança dos géneros alimentícios definem a aceitabilidade de um produto ou de um lote de géneros alimentícios aplicando-se a produtos no fim de processo de fabrico ou colocados no mercado. O objetivo destes critérios é definir um limite acima do qual um género alimentício deve ser considerado inaceitavelmente contaminado com microrganismos.

Os critérios de higiene dos processos definem a aceitabilidade dos processos. Deste modo, é definido um valor indicativo de contaminação, acima do qual são requeridas ações corretivas, com o objetivo de manter a higiene do processo de acordo com a legislação alimentar (Gomes 2007).

A Tabela 5 e Tabela 6 resumem os limites definidos em termos de segurança e higiene (respetivamente) no regulamento (CE) nº 1441/2007 aplicáveis a produtos de charcutaria.

Tabela 5: Critérios de segurança de géneros alimentícios (Adaptado do regulamento (CE) nº144172007)..

Os critérios de segurança dos géneros alimentícios				
Microrganismos/respetivas toxinas e metabolitos	Plano de amostragem	Limites	Método de análise de referência	Fase em que o critério se aplica
<i>Listeria monocytogenes</i>	5	Ausência em 25 g*	EN/ISO 11290-1	Vida útil produto
<i>Salmonella</i>	5	Ausência em 25 g*	EN/ISO 6579	Vida útil produto

*Apenas para os alimentos que suportam crescimento

Tabela 6: Critérios de higiene para géneros alimentícios (Adaptado do regulamento (CE) nº144172007).

Critérios de higiene			
Microrganismos/respetivas toxinas e metabolitos	Limites	Método de análise de referência	Fase em que o critério se aplica
Número de colónias aeróbias	4,0 a 5,0 log ufc/cm ² média logarítmica diária	ISO 4833	Carcaças após a preparação, mas antes da refrigeração
<i>Enterobacteriaceae</i>	2,0 a 3,0 log ufc/cm ² média logarítmica diária	ISO 21528-2	Carcaças após a preparação, mas antes da refrigeração
<i>Salmonella</i>	Ausência na área testada em cada carcaça	EN/ISO 6579	Carcaças após a preparação, mas antes da refrigeração
Contagem de colónias aeróbias	5x10 ⁵ ufc/g 5x10 ⁶ ufc/g	ISO 4833	Fim do processo de fabrico
<i>E. coli</i>	50 ufc/g 500 ufc/g	ISO 16649-1 ou 2	Fim do processo de fabrico

1.6. Controlo alergénios

Os alergénios alimentares são proteínas que podem desencadear uma resposta imune em indivíduos alérgicos. As alergias alimentares são definidas como reações imunológicas que resultam do consumo ou contacto com alimentos que afetam apenas pessoas sensíveis a um alergénio específico. Evidências recentes demonstram que a ingestão de alimentos com pequenas quantidades destas substâncias podem desencadear uma resposta alérgica, sendo dependente do tipo de indivíduo que as ingere. Após o consumo, os alergénios alimentares podem causar vários sintomas gastrointestinais e respiratórios graves, desde náuseas, vômitos, inchaço na garganta e asma. O sintoma mais preocupante causado pela ingestão de alergénios são os choques anafiláticos que podem levar à diminuição da pressão arterial e, por vezes, arritmia cardíaca podendo ser mesmo fatal e causar a morte. As reações alergénicas caracterizam-se por duas fases: Fase de sensibilização e a fase da

elicitação. Na fase da sensibilização o organismo reconhece um componente inofensivo dos alimentos alergénios (normalmente proteínas) como um componente estranho o que leva à produção de anticorpos IgE e consequente distribuição dos mesmos pelo corpo. No entanto, os IgE não permanecem apenas no sangue ou na linfa, pois através de um recetor específico associam-se a mastócitos (células do tecido conjuntivo). Com esta associação ocorre a fase da elicitação, uma vez que associação entre as proteínas alergénicas e os IgE mediada pelos mastócitos desencadeiam a libertação de mediadores químicos, como histaminas, que causam os sintomas associados a reações alergénicas (Flanagan 2014) .

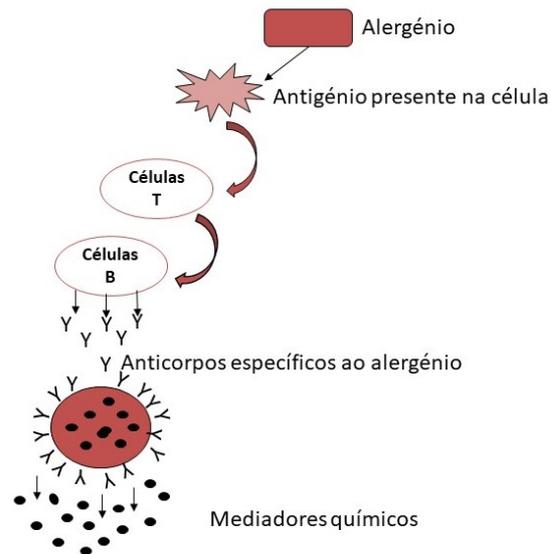


Figura 5: Esquema reação alérgica. Adaptado (Flanagan 2014).

Estima-se que atualmente cerca de 3,5 a 4% dos adultos e 6 a 8% de crianças são alérgicas a alimentos o que leva a que seja fundamental que durante o processo de fabrico seja reduzido ou eliminado o risco de contaminações cruzadas entre alimentos que não possuem alergénios e os que possuem a menção de algum alergénio.

De acordo com o Decreto-Lei nº156/2008 são considerados alergénios os seguintes ingredientes:

- Cereais que contêm glúten (nomeadamente trigo, centeio, cevada, aveia, espelta, kamut);
- Crustáceos e produtos à base de crustáceos;
- Ovos e produtos à base de ovos;
- Peixes e produtos à base de peixe;
- Amendoins e produtos à base de amendoins;
- Soja e produtos à base de soja;
- Leite e produtos à base de leite;
- Frutos de casca rija, ou seja, amêndoas, avelãs, nozes, castanhas de caju, nozes de pécan, castanhas do Brasil, pistácios, nozes de macadâmia;
- Aipos e produtos à base de aipos;
- Mostarda e produtos à base de mostarda;
- Sementes de sésamo e produtos à base de sementes de sésamo;

- Dióxido de enxofre e sulfitos em concentrações superiores a 10 mg/kg ou 10 mg/L expressos em SO₂;
- Tremoço e produtos à base de tremoço;
- Moluscos e produtos à base de moluscos.

Todos os produtos que contenham alergénios têm de fazer a menção aos mesmos na rotulagem em que os alergénios devem estar destacados a negrito ou a maiúsculo.

O controlo de alergénios deve ocorrer em todas as etapas do processo o que envolve:

- Controlo dos fornecedores no sentido de nos fornecerem informações sobre a possibilidade dos produtos fornecidos conterem alergénios;
- Controlo das especificações dos ingredientes que devem estar em concordância com o plano de controlo de alergénios;
- Formação dos colaboradores que devem estar conscientes do significado de alergénios e treinados de modo a conhecerem a importância do controlo dos alergénios;
- Identificação e rastreabilidade dos produtos deve ser assegurada em todos os momentos de produção;
- Garantir que as boas práticas são cumpridas nomeadamente no que diz respeito ao plano de higienização e desinfeção dos equipamentos, saneamento e controlo das áreas de receção e armazenamento de ingredientes e controlos dos pontos de distribuição;
- Identificação das potenciais fontes de alergénios como por exemplo as matérias-primas (ingredientes, materiais da embalagem) e o contacto cruzado com equipamentos.

2. Trabalho desenvolvido

O trabalho realizado teve como objetivo o reforço da qualidade analítica numa indústria de charcutaria. Nesse sentido, foram várias as tarefas desempenhadas ao longo dos 6 meses de estágio:

- Implementação do laboratório interno-Primor Lab;
- Controlo de qualidade à receção de produtos subcontratados;
- Cumprimento do plano analítico de análises de produtos, nomeadamente, envio para análise em laboratório externo de matérias-primas, ingredientes e produto final de acordo com o plano definido internamente e cumprimento dos planos analíticos de análises à água e ar ambiente.
- Análise dos boletins analíticos relativos aos produtos enviados para análise no âmbito do cumprimento do plano de análise interno, bem como análise dos boletins do plano analítico de análise à água e ar ambiente. Análise de boletins analíticos enviados por fornecedores de matérias-primas e ingredientes.
- Resposta a reclamações de clientes relativas a análises físico-químicas e microbiológicas.
- Abertura de não conformidades quando verificado algum incumprimento de boas práticas ou anomalias no processo/ produto final.
- Realização de análises sensoriais;
- Acompanhamento de Estudos de Vida Útil.
- Controlo de higienização através da realização de testes às mãos dos manipuladores de alimentos, teste do ATP, pesquisa de *Listeria* em superfícies e realização de testes alergénios.

2.1. Fases de implementação do laboratório

Com o objetivo de reforçar a qualidade analítica na Primor Charcutaria Prima foi necessário implementar um laboratório interno que tem como principais objetivos:

- Acompanhar os processos de produção;
- Resposta a reclamações de clientes;
- Resposta a exigências de clientes;
- Melhoria contínua;
- Controlo à receção;
- Auxílio nos projetos de desenvolvimento do departamento de Inovação e Desenvolvimento;
- Apoio na monitorização interna dos produtos no âmbito do plano analítico interno.

Este projeto foi dividido em várias fases:



2.1.1. Fase I-Projeção das instalações do laboratório

O laboratório interno está dividido em duas áreas: Área microbiológica e a Área Físico-Química/Nutricional tal como ilustrado na Figura 6.

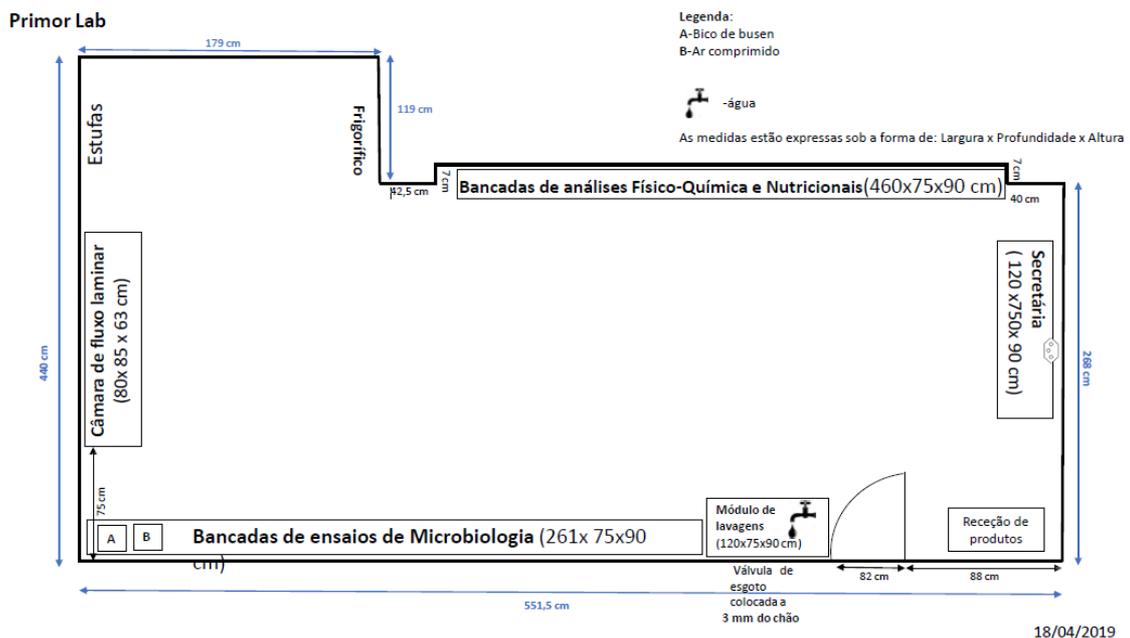


Figura 6: Planta Primor Lab.

2.1.2. Fase II-Seleção de equipamentos e métodos

Os equipamentos existentes no Primor Lab estão identificados com o seu nome e número de série e são acompanhados pelo manual de instruções e certificado de qualidade. Nalguns casos como balanças e estufas foi realizada a calibração das mesmas no laboratório e emitido o respetivo certificado. Foi definido a periodicidade de verificação e a realização das próximas calibrações (caso aplicável) para cada equipamento. Alguns equipamentos, como é o caso do autoclave, da câmara de fluxo laminar e do Viscosímetro foi realizado uma instrução de trabalho de utilização.

Os **equipamentos** existentes no laboratório são os seguintes:

- Banho Maria
- Autoclave
- Balança analítica
- Balança (8kg)
- Câmara de fluxo laminar
- 2 estufas

- Frigorífico
- Triturador de amostras
- FoodScan
- Viscosímetro
- Medidor de atividade da água
- Humídmetro

Os **métodos** existentes no laboratório são os seguintes:

- Análise nutricional por Food Scan, nomeadamente Determinação de Proteína, Humidade, Gordura, Sal e Colagénio;
- Contagem Total de microrganismos pelo método Simplate;
- Pesquisa de *Listeria* spp. pelo método VIP Gold *Listeria*;
- Pesquisa de *Salmonella* spp. pelo método 1-2Test;
- Análise de Viscosidade;
- Medição da atividade da água;
- Medição da Humidade.

2.1.3. Fase III-Desenvolvimento do funcionamento do laboratório

A-Receção das amostras

As amostras entregues ao laboratório devem ser acompanhadas com a respetiva requisição e uma etiqueta que o identifica (Anexo 9.1). As informações que devem ser colocadas na **requisição** são as seguintes:

- Data;
- Nome do laboratório: Primor Lab;
- Número da requisição;
- Departamento que envia a requisição;
- Nome do requerente.

Para cada produto deve estar indicado o código SAP, descrição do produto, lote, parâmetros a analisar e número de unidades a analisar. Ainda existe um parâmetro opcional definido como “Observações” no qual devem ser colocadas informações que não estejam clarificadas nos parâmetros anteriores. As informações que devem ser colocadas na **etiqueta** que identifica o produto são as seguintes: Nome do produto, lote e data.

B-Rastreabilidade das amostras no laboratório

No momento da receção da requisição e dos produtos, é atribuída a cada análise um código sequencial que corresponde ao número do boletim que será emitido. No caso da amostra ser constituída por várias porções (Exemplo: Amostra de Linguiça que é constituída por 4 linguiças) e caso seja realizada análise distinta a cada produto será atribuído um código de letras que distingue as amostras analisadas. No caso de a análise ser específica de um determinado local do produto (Exemplo: Análise à Ponta, Meio e Ponta de um produto) a amostra será identificada pelo código correspondente ao número do boletim seguindo-se com a designação do local da amostra analisada.

Ao nível das amostras colocadas nas estufas, existe um plano de registo da entrada e saída de produtos de acordo com a respetiva análise.

C-Emissão do boletim

O boletim analítico é emitido no final da análise com as seguintes informações:

- Nome do produto e Código Material;
- Departamento e Número da Requisição;
- Data de receção; Lote e Validade (No caso das análises microbiológicas);
- Período de realização dos ensaios e data de emissão dos boletins;
- N° do boletim analítico.

Os resultados são apresentados consoante o número de amostras analisadas sendo indicado qual o método utilizado, o resultado, intervalo especificado e avaliação (sendo estes dois últimos parâmetros indicados caso o valor esperado esteja especificado).

D-Registo dos resultados

Os resultados são registados num ficheiro Excel e exportados para a plataforma ACCEPT. A plataforma ACCEPT é um software de apoio ao controlo de qualidade industrial que permite uma visão global sobre parâmetros críticos e análises estatísticas da Qualidade. Com o auxílio desta plataforma, os resultados obtidos no laboratório são registados e facilmente consultados o que auxilia a análise dos resultados e observação de tendências.

E-Gestão de stocks

Para a gestão de stocks do material do laboratório é necessário a realização de um inventário semanal dos consumíveis e dos kits dos métodos utilizados no laboratório de modo a prever o número de análises que é possível realizar na semana seguinte bem como prever a encomenda dos consumíveis. Assim, foi elaborado um ficheiro Excel com o material de laboratório (que inclui o material de vidro) e os consumíveis e reagentes que são necessários adquirir à medida que os mesmos são consumidos. Neste ficheiro para além do inventário do stock existente no laboratório, é possível consultar o fornecedor e prazo de entrega dos materiais.

2.1.4. Fase IV-Implementação dos métodos

Na fase IV os principais objetivos consistem em implementar e validar os novos métodos bem como otimizar os métodos já elaborados.

Ao nível do Food Scan verificaram-se desvios significativos entre os resultados obtidos com o aparelho e os resultados verificados em laboratório externo. Com o objetivo de corrigir este desvio, foi definido um plano de análises intra-laboratoriais com um laboratório externo com a perspectiva da realização de uma matriz de calibração que permita melhorar a performance do equipamento no que diz respeito a este parâmetro. Estabeleceu-se o plano de análises demonstrado na Tabela 7.

Tabela 7: Plano de análises no Food Scan

Método	Tipologia de produto	Nº análises a realizar
FoodScan	Fiambre da Pá	20
	Fiambre da Perna	20
	Bacon	20

O viscosímetro será utilizado essencialmente ao nível das salmouras tendo como objetivo inicial caracterizá-las quanto ao valor de viscosidade. Uma vez que não possuímos qualquer informação relativa às propriedades reológicas da viscosidade das salmouras utilizadas, numa fase inicial foram escolhidas três salmouras e realizados vários ensaios com o objetivo de caracterizá-las. Numa segunda-fase o objetivo passa por caracterizar todas as salmouras e definir uma especificação para cada uma delas de modo a conseguirmos antecipar quaisquer desvios da produção das mesmas, bem como garantir que o processo de injeção é realizado de forma correta.

As salmouras escolhidas encontram-se descritas na Tabela 8.

Tabela 8: Plano de análise às salmouras.

Salmoura	Número de análises
Pá Extra 80%	20 recolhas em dias diferentes
Perna Extra 86%	20 recolhas em dias diferentes
Perna Extra 70%	20 recolhas em dias diferentes

Para os métodos microbiológicos foi definido um plano de implementação que consistiu em realizar as análises no laboratório interno e envio para laboratório externo ilustrado na Tabela 9:

Tabela 9: Plano de validação dos métodos de produto acabado e matérias-primas

Produto acabado			
Tipologia de Produto	Número de análises		
	Peça	Fatiado	
Fiambres	4	4	
Fiambres com picagem	2	1	
Mortadelas Suíno	3	2	
Bacon	3	2	
Paio York	2	2	
Fumados em Peça	2	Não aplicável	
Enchidos Fumados	2	2	
Morcela	1	Não aplicável	
Torresmo	2	Não aplicável	
Banha	1	Não aplicável	
Subcontratados	1	1	
Peito de Perú	1	2	
Mortadelas de Perú	1	1	
Peito Perú Natura	0	1	
Enchidos cozidos	2	Não aplicável	
Bacon de Perú	1	1	
Enchidos de Perú	3	Não aplicável	
Matérias-Primas			
Tipologia de Produto	Número de análises	Tipologia de Produto	Número de análises
Aparas de bovino	1	Bacon extra	1
Peito de Perú	1	Caluga	1
Aparas de Peito de Perú	1	Diafragma de suíno	1
Couros rapados	1	Pá	1
Aparas de frango	1		

2.2. Controlo da qualidade à receção de produtos subcontratados

O controlo de qualidade à receção de produtos subcontratados contempla a análise dos seguintes parâmetros:

- Identificação do produto que inclui nome, lote, data de receção, validade; peso; número da guia e fornecedor;
- Análise de situações anormais;
- Análise da embalagem e do vácuo (caso aplicável);

- Registo da temperatura;
- Análise da consistência;
- Pesagem de embalagem no caso de se tratar de um produto com peso fixo;
- Análise das dimensões;
- Verificação da rotulagem;
- Temperatura de transporte no início, meio e fim;
- Validade;

O número de embalagens inspecionadas é determinado de acordo com o Limite de Qualidade Aceitável (LQA) que define a inspeção que prescreve o número de componentes com defeito que são considerados aceitáveis numa inspeção com amostragem definida.

2.3. Cumprimento do plano analítico de análises e análise dos boletins

O plano analítico de análises a produtos é definido no início do ano e contempla as análises que deverão ser realizadas ao longo do ano (divididas em semestres) de modo a acompanhar os produtos produzidos. Para a elaboração deste plano de análises é realizada uma análise da produção e das vendas de cada produto de modo a definir a periodicidade das análises consoante os artigos que têm uma maior ou menor produção/venda.

Estas análises dividem-se nas seguintes tipologias:

- Análise microbiológica completa, sumária e em fim de validade;
- Análise Físico-química;
- Análise nutricional completa;
- Análise a contaminantes;

Ao nível da análise à água, os parâmetros analisados são os exigidos na legislação no Decreto-Lei nº306/2007 e alterações. Ao nível da análise ao ar é feita a colheita de amostra de ar por aspiração e analisados os microrganismos aeróbicos, bolores e leveduras.

2.4. Realização de análises sensoriais no âmbito da alteração da micragem das embalagens de produto fatiado

No âmbito de um projeto de sustentabilidade com o intuito da redução de plástico nas embalagens individuais foi realizado uma análise sensorial com o intuito de avaliar a estabilidade dos produtos até ao final da sua vida útil em resposta à alteração do filme que cobre a cuvette onde são colocados os produtos fatiados. A realização da análise sensorial pressupõe os seguintes aspetos:

- Escolha e convocação do painel de provadores;
- Envio das amostras para análise microbiológica em laboratório externo;
- Preparação dos pratos identificados com um código de 3 dígitos onde serão colocadas as amostras a analisar;
- Realização de um teste de diferenciação;
- Análise dos resultados ao longo do tempo;

2.5. Controlo de higienização

O controlo da correta higienização das mãos dos manipuladores em contacto com o produto é realizado através de dipslides que permitem a contagem de microrganismos totais e de *Enterobactereaceas* existentes nas superfícies das mãos. A periodicidade da realização está definida num plano elaborado anualmente onde é definida a secção onde serão realizados, bem como a periodicidade mensal em cada secção de modo a abranger todos os colaboradores que estão em contacto direto com o produto.

Ao nível das superfícies em contacto com os produtos, após a higienização das mesmas é realizada o controlo da eficácia da higienização através da quantificação de Adenosina Trifosfato (ATP) por bioluminescência, bem como através da colheita de amostra com uma zaragatoa que permite a pesquisa de *Listeria*.

2.6. Acompanhamento de Estudos de Vida Útil

Os estudos de vida útil têm como objetivo avaliar a conformidade do produto ao longo do seu tempo de vida útil, permitindo-nos aferir se o tempo de vida útil estipulado é o correto. Frequentemente, estes estudos são utilizados quando se pretende aumentar o tempo de vida útil dos produtos. O acompanhamento deste estudo consiste em acompanhar o processo de produção, fatiamento e embalagem dos produtos garantindo que todas as etapas do processo são cumpridas. Para além disso, são recolhidas amostras do produto intermédio e do produto final e realizadas análises microbiológicas e análises sensoriais ao longo do tempo de modo a analisar se ocorrem alterações. As análises microbiológicas realizadas são a contagem de microrganismos a 30 °C e contagem de bactérias lácticas, permitindo analisar o crescimento ao longo do tempo.

3. Materiais e Métodos

3.1. Métodos físico-químicos

3.1.1. Food Scan

Food Scan é um método de análise nutricional de carne que permite obter informação relativa a gordura, humidade, proteína, colagénio e sal. Permite uma análise a matérias primas e a produto final destacando-se por ser um método rápido, preciso e versátil uma vez pode ser utilizado para vários produtos, fácil de usar e não destrutivo.

A tecnologia do Food Scan é baseada na Transmissão de infravermelho próximo, em que a luz é transmitida através da amostra. Através de uma lâmpada de halogéneo-tungsténio colocada na parte de trás do equipamento a luz é guiada através de uma fibra ótica para o monocromador interno que fornece uma luz monocromática com comprimento de onda de 850 a 1050 nm.

Através de uma segunda fibra ótica, a luz é guiada através de um colimador que está localizado sobre a amostra. A luz é então transmitida para a amostra e a luz que não é absorvida é direcionada para o detetor. O detetor mede a quantidade de luz e transmite esta informação ao processador de sinal digital que comunica com o computador permitindo que os resultados nutricionais sejam calculados.

A amostra é colocada num disco redondo de 140 mm que roda ao longo da análise de modo a que várias zonas sejam analisadas, o que culmina na emissão de um valor final. No caso de amostras cárnicas estamos na presença de amostras pouco homogéneas o que faz com que a análise em diversas zonas seja fundamental para que o resultado fornecido seja o mais representativo possível da amostra.

Contrariamente a outros métodos baseados na luz que é refletida à superfície da amostra, este método garante uma maior precisão em amostras homogéneas, pois permite uma análise ao longo de toda a amostra e não apenas à superfície. Após a incidência de luz, o resultado obtido a vários comprimentos de onda é sujeito a uma função matemática que permite obter o resultado dos parâmetros referidos. Os parâmetros de repetibilidade e exatidão do método encontram-se na Tabela 10 e as principais especificações do método na Tabela 11.

Tabela 10: Parâmetros de repetibilidade e exatidão para cada determinação de Gordura, humidade, proteína, colagénio e sal.

Componente	Repetibilidade	Exatidão
Gordura	< 0,2%	0,4-0,8%
Humidade	< 0,2%	0,4-0,8%
Proteína	< 0,2%	0,3-0,6%
Colagénio	< 0,2%	0,2-0,4%
Sal	< 0,05%	0,1-0,2%

Tabela 11: Principais especificações do método Food Scan

Gama de medição	850 - 1050 nm
Exatidão do comprimento de onda	< 0,5 nm
Precisão do comprimento de onda	< 0,01nm

O método de realização das leituras consiste na colocação de aproximadamente 150 g de amostra homogeneizada no disco redondo de 140 mm de modo a que toda a superfície fique homogênea. A leitura é iniciada clicando no botão “Scan” e os resultados obtidos surgem após 50 segundos sob a forma de percentagem (g/100 g) de gordura, proteína, humidade, sal e colagénio.

3.1.1.1. Calibração ANN

O método do Food Scan permite analisar diferentes produtos desde lácteos, carne, peixe e mais recentemente queijo. O modelo ANN tem a capacidade de descrever relações lineares ou não lineares com características espectrais e análise composicional. As bases destas calibrações requerem um conjunto de dados representados por espectros e análises químicas para cada amostra. Neste caso, é importante que as amostras de calibração descrevam uma variabilidade razoável e prática que inclui o tipo de amostra e composição (Anderson 2007). A precisão da calibração ANN é quantificada em termos de erro padrão de previsão (SEP) conforme definido por Mark e Workman na Equação 1.

$$SEP = \left((Y_i - \hat{Y}_i)^2 / N \right)^{\frac{1}{2}}$$

Equação 1: Cálculo do erro padrão de previsão em que Y_i = análise química do amostra i ; \hat{Y}_i = valor de previsão da amostra i obtido pela calibração e N = número de amostras usadas na validação.

3.1.2. Viscosímetro

Isaac Newton definiu a viscosidade como a propriedade associada à resistência que um fluido oferece à deformação por cisalhamento, ou seja, o atrito interno nos fluidos devido a interações intermoleculares em função da temperatura. Podemos distinguir os fluidos em newtonianos que seguem a lei de Newton (Equação 2) e que a uma dada temperatura assumem valores de viscosidade constantes e os não-newtonianos que não apresentam um comportamento linear ao longo do tempo.

$$\tau = \mu \frac{du}{dy}$$

Equação 2: Lei de Newton para fluidos newtonianos em que T é a taxa de deformação angular do fluido, constante μ é o coeficiente de viscosidade e $\frac{du}{dy}$ é a medida da mudança de velocidade à qual duas camadas paralelas se movem uma em relação a outra.

A medição da viscosidade é uma medida da resistência ao fluxo de um fluido. O princípio do método consiste em dirigir um *spindle* imerso no fluido de teste através de uma mola calibrada. A resistência viscosa do fluido contra o *spindle* é medida pela deflexão de uma mola. A viscosidade é

uma propriedade reológica que pode ser utilizada como método de controlo de qualidade ao nível das salmouras, uma vez que a medição da viscosidade permite uma medição indireta da consistência e qualidade que o produto final terá. Para uma determinada viscosidade, o arrasto viscoso ou a resistência ao escoamento é proporcional à velocidade de rotação do *spindle* e depende da sua forma e tamanho. O arrastamento aumenta à medida que o tamanho e a velocidade do *spindle* aumenta. Quanto maior for a calibração torque do equipamento, maior será a viscosidade que o equipamento consegue medir. Durante a medição o objetivo é obter uma % torque entre os 10 e 100%. Se o valor do torque for superior a 100%, é necessário escolher uma velocidade mais baixa ou um *spindle* menor. Se o valor for abaixo dos 10, devemos aumentar a velocidade ou um *spindle* maior. A unidade fundamental da viscosidade é o poise e as unidades de viscosidade segundo o sistema internacional são o Pascal-segundo (Pa.s) ou o mili-Pascal-segundos (mPa.s).

Fatores que podem influenciar a medição da viscosidade:

- A **temperatura** é um dos fatores que mais influencia o comportamento reológico dos produtos, uma vez que há produtos sensíveis à temperatura e têm variações de viscosidade muito significativas a diferentes temperaturas.
- As condições de medição como o modelo do viscosímetro, combinação spindle/velocidade, tamanho do recipiente, ausência/presença de guadaleg (peça auxiliar colocada por detrás do *spindle* que tem como objetivo garantir uma maior estabilidade da amostra), temperatura da amostra, modo de preparação da amostra, ambiente e a homogeneidade da amostra.
- O **tempo de medição**, uma vez que a viscosidade de alguns materiais pode variar ao longo do tempo.
- Variação de **pressão** pode levar à formação de bolhas e conseqüente turbulência que afeta a medição da viscosidade.
- **Alterações na composição** da amostra quer seja na alteração das proporções, adição/remoção de ingredientes.

Para realizar a análise de viscosidade é necessário ligar o aparelho e realizar o auto-zero sem nenhum *spindle*. Posteriormente, colocar o *spindle* pretendido e selecionar no painel qual o *spindle* colocado e qual será a velocidade de realização do ensaio. Seguidamente, colocar 600 mL de amostra num gobelé e baixar o equipamento até à marca da medição e iniciar o teste. O valor de viscosidade deverá manter-se constante a uma determinada temperatura e o valor do torque deverá estar situado entre os 10 a 100%.

3.1.3. Atividade da água (aw)

A atividade da água define-se como a relação entre a pressão de vapor de um alimento em relação à pressão de vapor da água pura à mesma temperatura, tal como ilustrado na Equação 3.

$$aw = \frac{P}{P_0}$$

Equação 3: Relação entre a pressão de vapor de um alimento (P) e a pressão de vapor da água pura (Po) à mesma temperatura.

O medidor de atividade da água Aqualab permite medir a atividade da água com controlo da temperatura e pode ser utilizado para amostras sólidas, semi-sólidas ou líquidas. Possui uma faixa de leitura de 0,0300 a 1,0000 a_w e permite a realização de leituras em aproximadamente 5 minutos e possui uma exatidão de $\pm 0,003 a_w$. A determinação da atividade da água baseia-se no princípio do ponto de orvalho em que o valor de atividade da água é medida diretamente quando ocorre o equilíbrio entre a água da amostra com o ar da câmara da amostra. Quando este equilíbrio é alcançado, ocorre a determinação da pressão de vapor de água na câmara, sendo a temperatura de formação do orvalho a temperatura na qual o ar alcança a saturação (Campbell and Lewis 1998). O modo de funcionamento consiste em colocar a amostra na câmara de análise do medidor de a_w Aqualab e esperar cerca de 5 minutos para obter o resultado.

3.2. Métodos microbiológicos

3.2.1. Seleção dos meios

Os meios selecionados são água peptonada tamponada e o meio Demi Fraser para o enriquecimento de *Salmonella* e *Listeria*, respetivamente. Estes meios de cultura são os meios indicados pela ISO 6579-1 e 11290-1, relativas à deteção e enumeração de *Salmonella* spp. e *Listeria* spp., respetivamente.

A água peptonada tamponada é utilizada para o pré-enriquecimento não seletivo de *Salmonella* spp em alimentos. A água peptonada tamponada mantém um pH alto durante o período de pré-enriquecimento e permite a reparação de células danificadas que podem ser sensíveis a pH baixo. A constituição da água peptonada tamponada encontra-se descrita na Tabela 12. A peptona é a fonte de azoto, carbono, vitaminas e minerais. O cloreto de sódio mantém o equilíbrio osmótico e os fosfatos são os agentes tamponantes.

Tabela 12: Constituição da água peptonada tamponada

Constituinte	Massa (g)
Peptona	10,0
Cloreto de Sódio	5,0
Fosfato Dissódico	3,5
Fosfato Monopotássico	1,5

O modo de preparação consiste em dissolver 20 g em 1 L de água destilada, misturar bem e esterilizar no autoclave a 121 °C durante 15 minutos sendo o pH final de $7,2 \pm 0,2$ a 25°C.

O meio Demi Fraser é usado para o enriquecimento seletivo de *Listeria* spp. em alimentos. A constituição do meio encontra-se descrita na Tabela 13.

Tabela 13: Constituição do meio Demi Fraser

Constituinte	Massa (g)
Triptona	5,0
Peptona	5,0
Cloreto de lítio	3,0
Extrato de carne	5,0
Extrato de leveduras	5,0
Cloreto de sódio	20,0
Fosfato de hidrogénio dissódico anídrico	9,5
Dihidrogenofosfato de potássio	1,35
Esculin	1,0
Ácido nalidíxico	0,01
Acriflavina	0,0125

A peptona e o extrato de leveduras fornecem azoto, carbono, enxofre e vitaminas. O cloreto de lítio e o cloreto de sódio mantêm o equilíbrio osmótico do meio. O cloreto de sódio tem uma atividade seletiva e o fosfato dissódico e o fosfato monossódico têm uma ação tamponante. A hidrólise de esculina produz esculetina que reage com os iões férricos, formando assim um composto preto que indica a presença de *Listeria* spp. O modo de preparação consiste em dissolver 55 g de meio em 1 Litro de água, misturar bem e esterilizar no autoclave durante 15 minutos a 121 °C sendo o pH final de pH=7,2 ± 0,2 a 25 °C. A instrução de trabalho relativa à preparação dos meios de cultura encontra-se no Apêndice 8.4.

3.2.2. Preparação da amostra

No caso da Pesquisa de *Listeria* spp e *Salmonella* spp são pesadas 25 g de amostra. No caso da contagem total é necessário pesar 20 g para um volume de meio de 180 mL. No entanto, a quantidade de amostra a utilizar pode ser alterada desde que a proporção de amostra/meio seja mantida (1/10). Seguidamente, o preparado anterior deve ser homogeneizado no Bag Mixer durante 120 segundos.

3.2.3. Pesquisa de *Salmonella* spp.

O método de deteção de *Salmonella* móvel 989.13 1-2Test imunodifusão tem como base a presença e observação de salmonela imobilizada num meio de mobilidade com anticorpos polivalentes flagelares. O método de deteção de salmonela é constituído por um dispositivo de plástico formado por 2 câmaras (A- câmara de inoculação; B-Câmara móvel) tal como ilustrado na Figura 7.

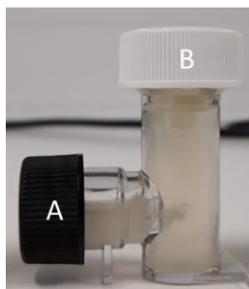


Figura 7: Método de pesquisa de *Salmonella*. (A- câmara de inoculação; B-Câmara móvel)

Na câmara de inoculação (câmara de tampa preta) será colocada a amostra, enquanto que na câmara móvel (câmara de tampa branca) será colocado o anticorpo num meio peptonado e selado com um tampão gel. Na presença de salmonela, ocorre migração desde a câmara onde é colocada até à câmara de tampa branca que contem o anticorpo flagelar levando à formação de uma banda de coloração branca que indica a presença deste microrganismo.

Em primeiro lugar, é necessário realizar a fase de pré-enriquecimento que consiste em pesar 25 g de amostra a analisar e adicionar 225 mL de meio de incubação (água peptonada tamponada) e colocar na estufa durante 24 ± 2 horas a $35-37$ °C. Seguidamente, adiciona-se uma gota de solução de iodeto de iodo na câmara de inoculação e agita-se ligeiramente. Remove-se o *plug* de plástico com uma pinça esterilizada e adiciona-se 0,1 mL de amostra que foi pré-enriquecida ou 1,5 mL no caso de ser uma matéria-prima. É colocada novamente a tampa preta e a câmara é invertida no sentido de colocar a câmara móvel virada para cima. Remove-se a tampa branca e corta-se a ponta do gel com uma tesoura. No orifício formado pela ponta do gel é colocado 1 gota de solução de anticorpo. De modo a verificar se o ensaio realizado foi bem sucedido, deve-se visualizar a presença do anticorpo a 2/3 do gel. Posteriormente, a unidade de teste é colocada na estufa a 35 °C durante 14 a 30 h.

A análise dos resultados é feita visualmente. Caso o resultado seja positivo observa-se a presença de uma banda branca em forma de U ou com forma de menisco. Se nenhuma banda aparecer durante as 14h pode-se concluir que o resultado é negativo. A Instrução de trabalho relativa a este método encontra-se no Apêndice 8.5.

3.2.4. Pesquisa de *Listeria* spp.

O método de pesquisa de *Listeria* é o VIP Gold *Listeria*, que consiste num imunoensaio visual de uma única etapa para a deteção de *Listeria* spp. em alimentos. Caso se verifique a presença de *Listeria* é formado um complexo antigénio-anticorpo.

Em primeiro lugar, é necessário realizar a fase de pré-enriquecimento que consiste em pesar 25 g de amostra a analisar e adicionar 225 mL de meio de incubação (Demi Fraser) e colocar na estufa durante 48 ± 2 horas a 30 °C. Após a fase de enriquecimento, ocorre a fase de inativação que consiste em colocar 1 mL do preparado enriquecido num tubo de ensaio e inativá-lo durante 5 minutos em banho-maria a 100 °C. Seguidamente, a amostra deve ser arrefecida até à temperatura de $25-37$ °C e homogeneizada no vortex antes do teste ser iniciado. Após arrefecimento, a realização do teste consiste em colocar 0,1 mL de amostra no poço de adição da amostra do teste VIP (Figura 8). O dispositivo deve ser incubado à temperatura ambiente (15 a 30 °C) e observar-se a formação da linha

de controlo e, em caso de pesquisa positiva, observar-se-à a formação de uma segunda linha. A instrução de trabalho encontra-se no Apêndice 8.6.



Figura 8: Dispositivo de teste VIP Gold Listeria. A-Poço de adição da amostra.

3.2.5. Contagem Total

O método Simplate foi desenvolvido pelos laboratórios IDEXX para a determinação de bactérias aeróbias, coliformes totais, *E.coli* e bolores e leveduras em alimentos através da metodologia do número mais provável. Esta metodologia consiste em analisar pelo menos três diluições decimais, a partir das quais são transferidas alíquotas iguais para três ou cinco tubos que contêm meio de cultura para o crescimento dos microrganismos.

O método Simplate apresenta-se na forma de kit comercial e é constituído por placas de plástico descartáveis. O meio de cultura é liofilizado sendo necessário a sua reidratação com água esterilizada. O método Simplate de contagem total é usado para a deteção e quantificação de microrganismos aeróbicos totais. É baseado na tecnologia de deteção binária que se baseia na mudança de cor do meio que permite através da contagem do número de poços que mudam de cor, determinar o número de unidades formadoras de colónias através da tabela de Conversão do método Simplate (Anexo 9.2).

Inicialmente, é necessário pesar 20 g de amostra para 180 mL de meio (Água peptonada) e homogeneizar durante 120 segundos. Seguidamente, é necessário realizar as diluições necessárias para o plaqueamento das amostras. Para uma diluição de 1:10 é necessário adicionar 1 mL de preparado anterior a 9 mL de água esterilizada no tubo com o meio em pó. Para uma diluição de 1:100 é necessário adicionar 0,1 mL de preparado anterior a 9,9 mL água de esterilizada no tubo com o meio em pó. Caso se pretenda realizar mais diluições é necessário recolher 1 mL do preparado da diluição 1:100 e completar o restante volume com a água esterilizada realizando o mesmo procedimento para cada diluição seguinte, sendo o volume final de 10 mL. A instrução de trabalho encontra-se no Apêndice 8.7.

3.3. Métodos de controlo de higienização

3.3.1. Zaragatoas de *Listeria* spp.

As zaragatoas de *Listeria* foram desenvolvidas para minimizar o risco de contaminação de superfícies por *Listeria* spp. incluindo *Listeria monocytogenes*. Cada unidade é constituída por uma zaragatoa e uma bolsa com um eixo de plástico e uma tampa verde com alginato de cálcio e um tubo rotulado e selado contendo meio de cultura seletivo como indicador. As zaragatoas são esterilizadas por irradiação.

Para realizar o teste é necessário remover o invólucro da embalagem, passar a zaragatoa na área a analisar, retirar a tampa do tubo de cultura e inserir a zaragatoa no meio de cultura mergulhando-a completamente. Após a recolha da amostra, a zaragatoa deve ser incubada a 37 °C durante 24 a 48 horas. Na presença de *Listeria* spp. ocorre a hidrólise de esculina, resultando na formação de um precipitado de cor preta. O facto da tampa verde possuir alginato de cálcio permite que quando a ponta da zaragatoa é imersa no meio seja totalmente dissolvida, garantindo assim que todos os organismos recolhidos durante a amostra entrem em contacto com o meio. A mudança de cor verifica-se diretamente na região próxima da zaragatoa, espalhando-se até que todo o meio mude de cor. Caso a mudança de cor ocorra passadas 24 horas, devemos registar o resultado positivo. Caso não se verifique mudança de cor, a zaragatoa deve ser incubada por mais 24 horas a 37 °C e, caso se verifique mudança de cor o resultado deve ser considerado positivo.

3.3.2. Manipuladores

A correta higienização das mãos dos colaboradores que estão em contacto com os alimentos é um ponto fundamental para evitar a contaminação dos produtos alimentares. O controlo da eficácia da higienização das mãos é realizado através de *dipslides* que permitem a deteção de microrganismos numa área de 17 cm². Os *dipslides* utilizados são os Contact E que possuem meio de cultura em dois lados: Um com meio modificado de agar biliar vermelho violeta com adição de glucose que permite o crescimento de *Enterobacteriaceae* sob a forma de colónias vermelhas; o outro lado possui meio agar que permite o crescimento de microrganismos aeróbicos totais, nomeadamente *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium* e *Salmonella sonnei*.

De modo a evitar contaminações, o *dipslide* deve ser utilizado apenas na área de análise durante três a quatro segundos. O *dipslide* deve ser fechado e incubado durante 24 a 48 horas à temperatura de 35 a 37 °C. A análise dos resultados deve ser feita através da observação do número de colónias que se destacam pela mudança de cor do meio de cultura.

3.3.3. Método ATP bioluminescência

O método ATP bioluminescência permite avaliar a eficácia da limpeza e desinfeção de superfícies através da medição da luminescência produzida através da reação da Adenosina Trifosfato com a luciferina na presença da enzima luciferase. Esta reação leva à formação de energia sob a forma de fotões que é designada por bioluminescência (Nunes-Halldorson and Duran 2003).



Equação 4: Reação química de deteção de ATP por Bioluminescência. ATP-Adenosina Trifosfato; AMP-Adenosina monofosfato; PPi-Pirofosfato inorgânico; O₂-Oxigénio; CO₂-Dióxido de Carbono

A presença de ATP é um indicador de contaminação biológica das superfícies embora não seja possível distinguir a origem desta contaminação, o tipo de microrganismos presentes ou se estamos na presença de microrganismos vivos ou mortos. No entanto, níveis de ATP elevados em superfícies, podem indicar uma limpeza e desinfecção ineficazes e o consequente risco de contaminação. A luz libertada pela reação entre o ATP e a luciferina está diretamente relacionada com a quantidade de ATP presente, uma vez que a presença de uma molécula de ATP leva à produção de um fóton de luz que é quantificado pelo luminómetro, o que nos permite obter um resultado quantificável.

A amostra deve ser recolhida através de uma zaragatoa numa superfície de 25 cm² em cada local que se pretende analisar. Após a passagem no local a analisar, a zaragatoa é humedecida numa solução salina esterilizada e homogeneizada durante aproximadamente 5 segundos. A zaragatoa é colocada no luminómetro Lightning e a leitura é realizada. O resultado é obtido após 10 segundos.

3.3.4. Análise de alergénios em linha

Os testes rápidos de deteção de alergénios têm como objetivo identificar contaminações cruzadas que possam levar ao aparecimento de alergénios em produtos que são isentos dos mesmos. No caso da utilização destes testes em superfícies de equipamentos, é fundamental garantir que são realizados após a higienização e desinfecção das superfícies. Os testes de alergénios caracterizam-se por serem testes de fluxo lateral imunológicos. O método consiste em extrair a amostras para um vial de incubação que contem os anticorpos específicos. Caso o alergénio esteja presente é formado um complexo antígeno-anticorpo que é facilmente detetado na tira de teste.

A tira de teste para a determinação dos alergénios está ilustrada na Figura 9.

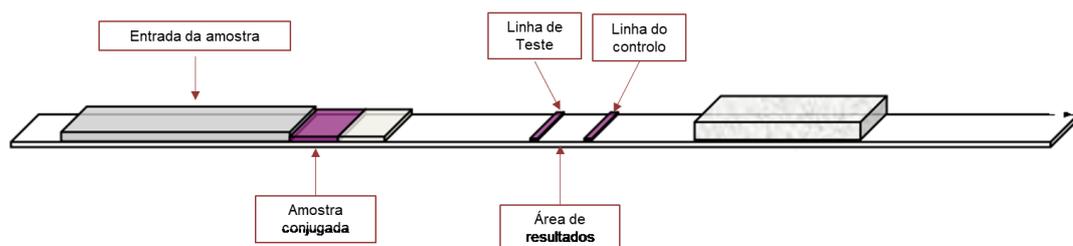


Figura 9: Ilustração da tira de teste para determinação de alergénios.

A entrada da amostra é constituída por um material que será submerso na amostra a analisar, a partir do qual a amostra se deslocará por ação capilar. A amostra conjugada apresenta uma cor roxa devido às nanopartículas que contém. A área de resultados aparece após o período de incubação e é constituída por duas linhas: A linha de teste (que só aparecerá caso o resultado seja positivo) e a linha do controlo que permite garantir que o teste foi bem realizado.

Para a determinação do glúten é utilizado o teste AgraStrip® Gluten G12, teste imunocromatográfico que permite a identificação da presença de glúten em alimentos e em superfícies, uma vez que são constituídos por anticorpos que reagem com frações da proteína que causa reação alérgica. O fragmento responsável pela imunotoxicidade do glúten é a 3-gliadina constituída por 33 aminoácidos longos, também designados por 33-mer que são muito resistentes à ação das enzimas digestivas o que leva a que seja um bom marcador molecular para a identificação da sua presença.

A sequência 33-mer imunotóxico é a seguinte:

LQL QPF PQP QLP YPQ PQL PYP QPQ LPY PQP QPF

Sendo, L = Leucina, Q = Glutamina, P = Prolina, F = Fenilalanina e Y = Tirosina

O teste AgraStrip® Gluten G12 reconhece o péptido QPQLPY da sequência 33-mer da proteína gliadina presente no glúten e permite a determinação de diferentes concentrações de glúten: 5, 10 e 20 ppm. A deteção de glúten pode ser realizada em alimentos ou em superfícies e o limite de deteção do teste são 4 µg/25cm². No caso do teste ser realizado em alimentos é necessário adicionar 0,2 g de amostra ao tubo de amostra e encher até acima com o reagente de extração. Fechar o tubo e agitar vigorosamente durante 1 minuto. No caso do teste ser realizado em superfícies é necessário encher o tubo de amostra com o reagente de extração. Com uma zaragatoa recolher uma amostra de uma superfície com área de 5 cm x 5 cm usando movimentos laterais e rodando a zaragatoa. Em seguida, colocar a zaragatoa no tubo de amostra, fechá-lo e agitar vigorosamente durante 1 minuto.

A partir deste ponto, o procedimento é semelhante quer para a deteção em alimentos quer em superfícies. Transferir 100 µL do sobrenadante para um tubo de diluição adicionando o volume de reagente de diluição correspondente à deteção de glúten pretendida (5/10/20 ppm). Fechar o tubo de diluição e agitar durante 15 segundos. O tubo deverá ficar a incubar à temperatura ambiente durante 5 minutos, seguindo-se a colocação da tira de teste no vial durante 5 minutos observando-se a subida do preparado anterior por ação capilar.

As caseínas são um grupo de proteínas divididas em alfa, befa e kappa caseína, sendo o componente principal do queijo e devido à sua elevada resistência ao calor podem estar presentes em lacticínios. O teste AgraStip® Caseína é constituído por um dispositivo de fluxo lateral elaborado para a deteção de caseína em géneros alimentícios através de anticorpos policlonais purificados. Após a extração, na presença de caseína ocorre a formação de complexo alergénio-anticorpo, sendo formados conjugados de nanopartículas presentes que são visualmente detetáveis.

O ensaio deverá ser realizado a pH de 6 a 8 uma vez que um pH muito ácido ou amostras muito alcalinas podem estar na origem de resultados falso-positivos ou falso-negativos. O limite de deteção é de 2 µg/25cm², sendo dependente da matriz da amostra a analisar.

A soja é um legume nutritivo composto por cerca de 39% de proteína, entre as quais algumas são alergénios como é o caso da Gly m3, Gly m4, Glicina e a proteína inibidora da tripsina. Tal como no caso da caseína, o teste AgraStip® Soja é constituído por um dispositivo de fluxo lateral com anticorpo policlonal purificado. O limite de deteção é de 2 µg/25 cm². O procedimento para a deteção de caseína e soja é o mesmo, sendo possível realizá-lo para amostras de alimentos e água ou em superfícies. No caso de ser utilizado em amostras de alimentos é necessário adicionar 0,2 mL de água

ou 0,2 mg de amostra num tubo de extração. Seguidamente, é necessário encher o tubo de extração com o reagente de extração e agitar vigorosamente durante 1 minuto. Depois da agitação é necessário adicionar 400 µL da solução anterior a um vial de incubação. No caso de ser utilizado em superfícies é necessário encher o tubo de extração com reagente de extração. Com uma zaragatoa recolher uma amostra de uma superfície com área de 5 cm x 5 cm usando movimentos laterais e rodando a zaragatoa. Em seguida, colocar a zaragatoa no tubo de amostra, fechá-lo e agitar vigorosamente durante 1 minuto. Após o tempo de incubação, adicionar 400 µL da solução anterior a um vial de incubação. Neste ponto, o procedimento é semelhante para os dois tipos de amostras. O vial de incubação é agitado vigorosamente durante 15 segundos de modo a garantir que todas as superfícies do vial estão em contacto a solução e incubam durante 5 minutos à temperatura ambiente. Colocar a tira de teste no vial durante 5 minutos observando-se a subida do preparado anterior por ação capilar.

3.4. Análise sensorial

As análises sensoriais permitem evocar, medir e interpretar as reações às características dos alimentos através dos sentidos como a visão, olfato, paladar, audição e tato. A análise sensorial teve como objetivo avaliar as alterações sensoriais e microbiológicas verificadas em diferentes produtos fatiados após a substituição de um filme com menor micragem. O painel foi constituído por 6 pessoas (3 homens e 3 mulheres) e é um painel interno. O estudo decorreu ao longo do tempo de vida útil dos produtos. A nível microbiológico foram analisados os parâmetros de microrganismos a 30 °C e bactérias do ácido láctico. Ao nível da análise sensorial foi realizado um teste de discriminação global com o objetivo de verificar se os provadores detetam diferenças entre as amostras.

4. Resultados

4.1. Análise em Food Scan

Na Tabela 14 encontra-se exemplificado os resultados obtidos em cada ensaio de Food Scan.

Tabela 14: Resultado da análise a FoodScan a uma amostra de bacon.

Data/Hora	Nome da amostra	Colagénio (%)	Gordura (%)	Humidade (%)	Proteína (%)	Sal (%)
04-04-2019 16:17	bacon_01	1,94	18,47	57,74	19,10	2,15
04-04-2019 16:18	bacon_02	2,21	20,66	56,41	18,06	2,18
04-04-2019 16:19	bacon_03	2,35	20,81	56,26	17,78	2,21
04-04-2019 16:20	bacon_04	2,29	20,92	56,14	18,09	2,19
04-04-2019 16:23	bacon_05	2,43	21,65	55,90	17,54	2,09

Para cada ensaio são calculados a média e o desvio padrão, Tabela 15, e emitido o boletim Apêndice 8.8.

Tabela 15: Parâmetros calculados a partir dos resultados da Tabela 14.

Parâmetro analisado	Resultado médio	Desvio padrão
Colagénio	2,244	0,188
Gordura	20,502	1,198
Humidade	56,490	0,723
Proteína	18,114	0,595
Sal	2,164	0,047

4.2. Estudo de calibração do Food Scan no parâmetro sal

Os resultados obtidos pela análise em FoodScan para o Fiambre da pá, Fiambre da perna extra e bacon extra encontram-se na Figura 10, Figura 11 e Figura 12, respetivamente. Verificam-se diferenças significativas entre os resultados obtidos em laboratório externo e laboratório interno nos três casos. A média e o desvio padrão para cada conjunto de resultados encontra-se descrito na Tabela 16.

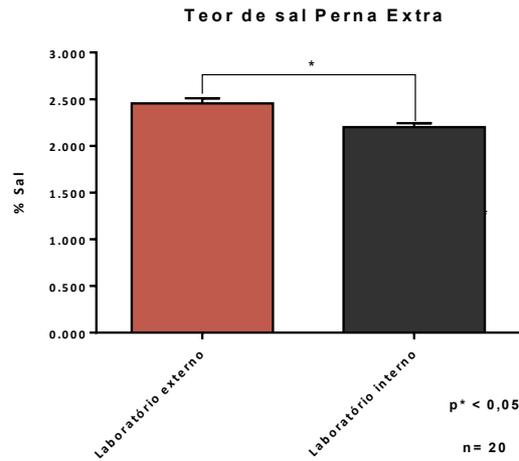


Figura 10: Resultados FoodScan para o Fiambre da Perna Extra. Os resultados estão expressos sob a forma de média aritmética; n=20. $p^* \leq 0,05$

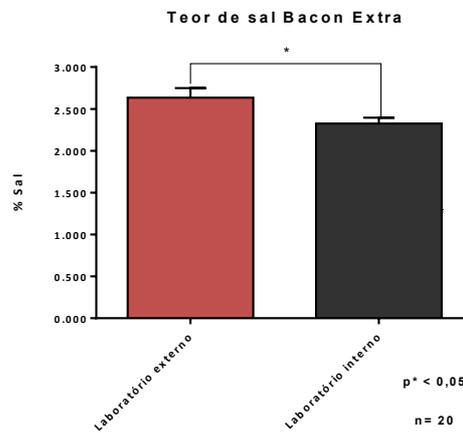


Figura 11: Resultados FoodScan para o Bacon. Os resultados estão expressos sob a forma de média aritmética; n=20. $p^* \leq 0,05$

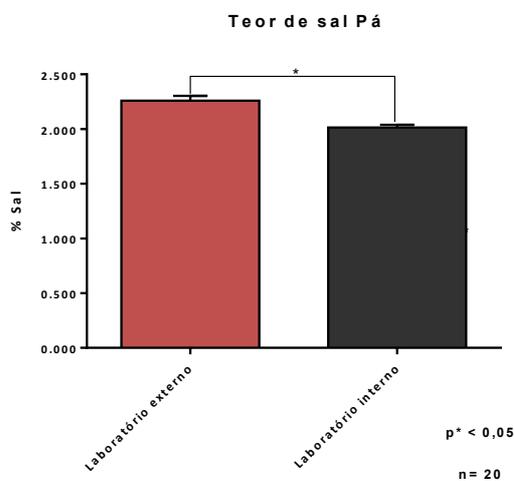


Figura 12: Resultados FoodScan para o Fiambre da Pá. Os resultados estão expressos sob a forma de média aritmética; n=20. $p^* \leq 0,05$

Tabela 16: Média e desvio padrão das análises realizadas a fiambre da perna, bacon e fiambre da pá.

Produto	Laboratório interno		Laboratório externo	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
Fiambre da perna extra	2,454	0,2513	2,201	0,1877
Bacon	2,634	0,5141	2,326	0,3126
Fiambre da pá	2,260	0,1959	2,015	0,1089

Para cada conjunto de resultados foi calculado o SEP, tendo sido considerado cada ensaio individualizado e o n=2 uma vez que para cada produto foram realizadas em média duas leituras e calculada a média dessas duas análises.

Tabela 17: Cálculo do Valor de SEP para amostras de Fiambre da perna, Bacon e Fiambre da pá.

Produto	Fiambre da perna extra	Bacon extra	Fiambre da pá extra
Valor SEP	0,227	0,372	0,197

4.3. Análise por viscosímetro

A análise da viscosidade de salmouras tem como objetivo caracterizá-las para a elaboração da especificação das mesmas. Na Figura 13 encontram-se representado a análise da viscosidade da pá extra 80% ao longo de 5 minutos a temperaturas de 3,2 °C, 3,5 °C e 3,9 °C que correspondem à análise de três salmouras produzidas em dias diferentes. Na Figura 14 encontram-se representado a análise da viscosidade de perna extra 86% ao longo de 5 minutos a temperaturas de 1,4 °C, 1,3 °C e 2,4 °C que correspondem à análise de três salmouras produzidas em dias diferentes. Na Figura 15 encontram-se representado a análise da viscosidade de perna extra 70% ao longo de 5 minutos a temperaturas de 4,0 °C, 4,3 °C e 4,8 °C que correspondem à análise de três salmouras produzidas em dias diferentes.

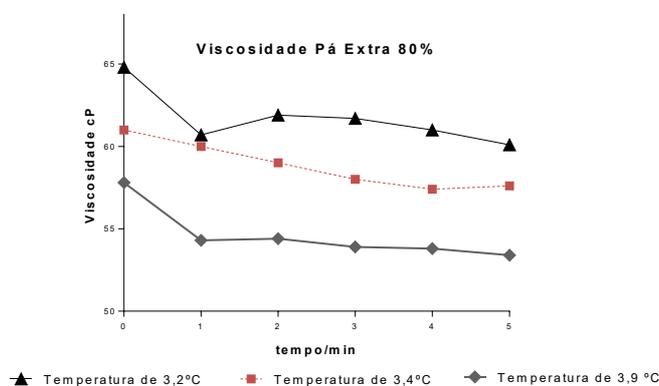


Figura 13: Viscosidade de pá extra 80% ao longo do tempo (minutos) analisada em 3 dias distintos a diferentes temperaturas.

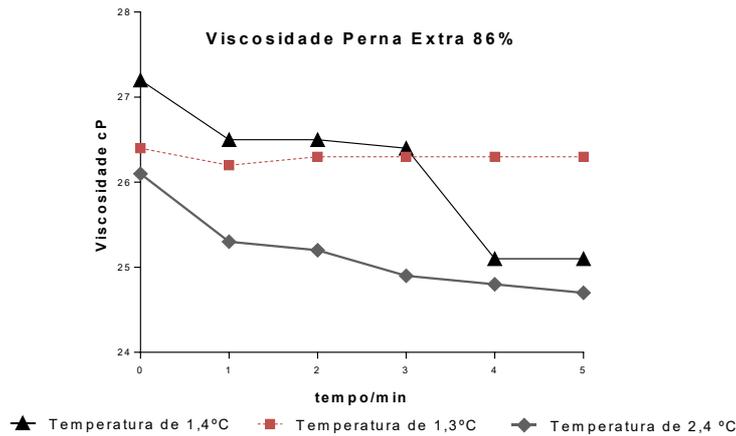


Figura 14: Viscosidade de perna extra 86% ao longo do tempo (minutos) analisada em 3 dias distintos a diferentes temperaturas.

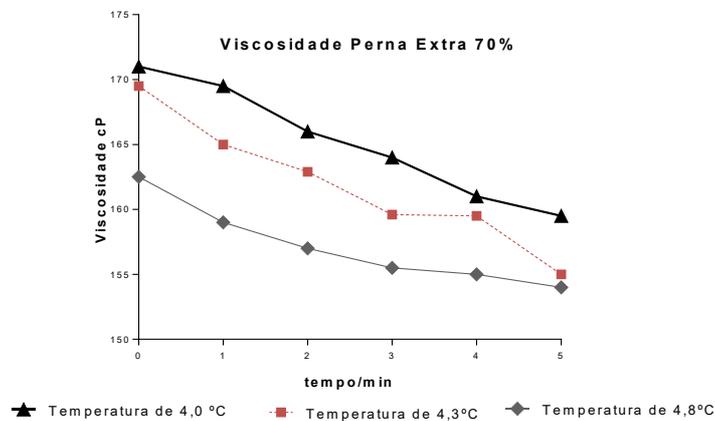


Figura 15: Viscosidade de perna extra 70% ao longo do tempo (minutos) analisada em 3 dias distintos a diferentes temperaturas.

4.4. Resultados Pesquisa de *Salmonella* spp.

No caso da Pesquisa de *Salmonella* os resultados obtidos podem ser positivos ou negativos. No caso positivo, observa-se a formação de um halo branco na zona assinalada com A na Figura 16. No caso negativo (Exemplar na Figura 16) não se observa nenhum halo na zona A.

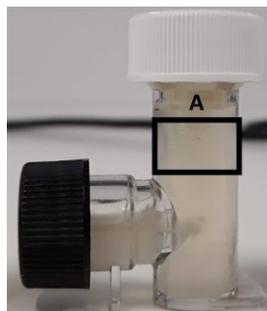


Figura 16: Exemplar de resultado negativo obtido pelo método 1-2Test Pesquisa de *Salmonella*.

4.5. Resultados Pesquisa de *Listeria* spp.

No caso da Pesquisa de *Listeria*, os resultados obtidos podem ser positivos ou negativos. No caso positivo, observa-se a formação de duas riscas tal como ilustrado na Figura 17 assinalado com a letra A. No caso da pesquisa ser negativa, observa-se apenas a presença da linha de controlo que indica que o teste foi bem realizado e o resultado é negativo (Figura 17 assinalado com a letra B).



Figura 17: Resultado obtido no caso da presença de *Listeria* ser positiva (A) e negativa (B)

4.6. Resultados Contagem total

No caso da Contagem total, a análise dos resultados consiste em contar o número de poços que mudaram de cor e verificar a correspondência na tabela de conversão do método. Posteriormente é necessário multiplicar o resultado pela diluição respetiva. No caso da Figura 18 observou-se mudança de cor de dois poços o que corresponde a uma contagem de $4,0 \times 10^1$ ufc/g uma vez que o ensaio corresponde à diluição de 1:10.



Figura 18: Resultado obtido pelo método Simplate.

Os resultados microbiológicos são apresentados sob a forma de boletim analítico tal como ilustrado no Apêndice 8.9. Para os três métodos analisados anteriormente foram realizados testes intralaboratoriais com laboratório externo acreditado. Os resultados obtidos para os métodos encontram-se registados na Tabela 18.

Tabela 18: Resultados intralaboratoriais realizados para os métodos microbiológicos.

Análise realizada	Nº análises realizadas	Nº análises concordantes	Nº análises não concordantes
Pesquisa de <i>Listeria</i> spp.	50	49	1
Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.	50	50	0
Contagem Total	10	9	1

4.7. Resultados Controlo de higienização-*Listeria*

No caso da pesquisa de *Listeria* em superfícies os resultados obtidos são expressos sob a forma de positivos, no caso de se verificar a mudança de cor para preto (Figura 19 A), ou negativos, no caso da cor do meio não ser alterada (Figura 19 B).

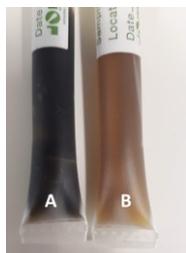


Figura 19: Resultados da Pesquisa de *Listeria* em superfícies no caso positivo (A) e em caso negativo (B)

4.8. Resultados Controlo de higienização-Manipuladores

No caso dos manipuladores os limites estabelecidos encontram-se descritos na Tabela 19:

Tabela 19: Limites estabelecidos para a contagem de unidades formadoras de colónias observadas nos *dipslides*.

Conforme	0 ufc/cm ²
Contaminado	1-10 ufc/cm ²
Muito contaminado	>10 ufc/cm ²

Na Figura 20 e Figura 21 encontram-se demonstrados exemplares de resultados obtidos para o crescimento de microrganismos aeróbicos totais e *Enterobacteriaceae*, respetivamente. Para o cálculo do número de unidades formadoras de colónias/cm² é necessário calcular o número total de colónias observadas no *dipslide* e a partir desse valor estimar o número por cm². Assim, no caso do resultado demonstrado na Figura 20 contam-se 83 ufc o que corresponde a 5 ufc/cm², resultado indicativo de contaminação.



Figura 20: *Dipslide* com meio Agar que permite o crescimento de espécies aeróbicas.



Figura 21: *Dipslide* com meio modificado de agar biliar vermelho violeta com adição de glucose que permite o crescimento de *Enterobacteriaceae*.

4.9. Resultados Controlo de higienização-ATP

Os resultados de ATP são expressos sob a forma de % de conforme (assinalados a verde), % de alerta (assinalados a amarelo) e % de falha (assinalados a vermelho). O estado de limpeza é categorizado em limpo, contaminado ou em muito contaminado de acordo o valor de URL obtido aquando da realização do teste. Os limites estabelecidos encontram-se na Tabela 20 e um exemplar de resultados obtido encontra-se descrito na Figura 22.

Tabela 20: Limites estabelecidos para ATP

Fatiados, Embalagem e Indústria	
Estado da Limpeza	URL
Limpo	$\leq 2,5$
Contaminado	2,5 - 3
Muito contaminado	>3

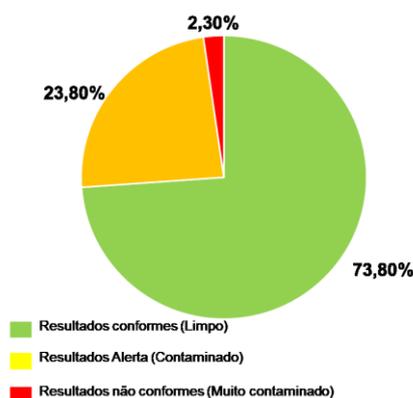


Figura 22: Resultados ATP obtidos no mês de Julho de 2019 na Secção de Picagem

4.10. Resultados Controlo de higienização-Testes alergénios

Os testes de alergénios são realizados em superfícies e os resultados obtidos são expressos na forma de positivos ou negativos. No caso de positivos, verifica-se a presença de duas riscas na zona assinalada com A da Figura 23. No caso negativo, apenas se verifica a presença de uma risca de controlo que indica que o ensaio foi bem realizado e que o resultado é negativo, tal como ilustrado na Figura 23.

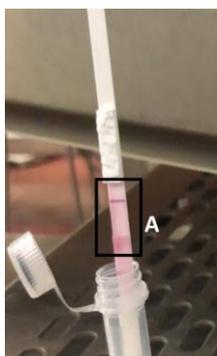


Figura 23: Resultado teste a alergénio negativo.

5. Discussão

O trabalho desenvolvido no âmbito do estágio curricular do Mestrado em Engenharia alimentar teve como principal objetivo o reforço da qualidade analítica numa empresa de charcutaria. Nesse sentido, é possível salientar que o estágio foi dividido em duas áreas: implementação do laboratório interno e controlo da qualidade.

Ao nível do laboratório verificou-se a necessidade de estabelecer o seu método de funcionamento desde a receção das amostras à emissão dos resultados. Neste âmbito, observou-se que a metodologia escolhida se adequa ao contexto empresarial e permite cumprir objetivo fulcral: garantir a rastreabilidade das amostras e consequentes análises realizadas permitindo ser um elemento muito importante na garantia da qualidade e segurança alimentar dos produtos.

Após a definição do modo de funcionamento do laboratório, verificou-se fundamental a construção de instruções de trabalho relativas aos métodos utilizados que permitem a execução dos mesmos. Os métodos microbiológicos que permitem a Pesquisa de *Listeria* spp., Pesquisa de *Salmonella* spp. e Contagem total permitem uma resposta rápida que nem sempre é conseguida quando estas análises são solicitadas em laboratório externo, uma vez que o ensaio pode ser iniciado de imediato. Para além disso, no caso da contagem total o resultado é obtido em 24 horas enquanto que no caso do laboratório externo o resultado só é obtido três dias após o envio da amostra. Por outro lado, no caso da Pesquisa de *Listeria* spp. e de *Salmonella* spp. embora o período de análises seja de 24 horas através da utilização do ensaio por PCR, o boletim analítico não é enviado neste intervalo de tempo, para além de que a este tempo acresce o período de recolha das amostras nas nossas instalações e início das amostras. Assim, a implementação destes métodos tornou-se fundamental no apoio do controlo operacional dos processos da empresa. Porventura, os métodos microbiológicos apresentam como limitação o facto da Pesquisa de *Listeria* spp. e *Salmonella* spp. só poder ser realizada até à quarta-feira da semana corrente, uma vez que a metodologia exige um período de incubação de 48 horas. No caso da Contagem total, o único dia que impossibilita a realização das análises é a sexta-feira. Para além disso, verificou-se outra limitação no que respeita à determinação dos microorganismos *Listeria* spp. e *Salmonella* spp. uma vez que no laboratório interno apenas conseguimos aferir a presença ou ausência destas espécies e não contagem dos mesmos.

Aquando da validação dos métodos, é fundamental a realização de análises interlaboratoriais com laboratório externo acreditado de modo a que sejam analisadas várias matrizes e avaliar se os métodos utilizados são eficazes. Os resultados obtidos no âmbito desta análise são positivos, não tendo sido verificados desvios significativos o permite comprovar a eficácia do método.

Seguidamente, ao nível dos métodos físico-químicos verificou-se a necessidade de aperfeiçoar os métodos já existentes no laboratório bem como implementar o viscosímetro e adequá-lo aos nossos produtos. No caso do FoodScan, o estudo do parâmetro de sal a três produtos (Fiambre da Perna, Bacon e Fiambre da Pá) permitiu observar que existem diferenças significativas entre os resultados obtidos em laboratório externo e os resultados obtidos com o FoodScan, diferença que se verificou superior no caso do bacon. O parâmetro ao sal é fundamental, pois o valor declarado na rotulagem

deve corresponder ao valor que o produto efetivamente contém, bem como pelo facto de o teor de sal influenciar as características organoléticas do produto, verificando-se que desvios no teor de sal são responsáveis pela alteração da qualidade do produto final. Para além disso, as exigências por parte do consumidor na procura de produtos com baixo teor de sal e elevado teor proteico salientam a importância do controlo diário destes parâmetros. Estes resultados foram apresentados ao fornecedor com o objetivo de ser elaborada uma calibração que permita corrigir os desvios observados. Para além disso, é importante salientar que o avanço da tecnologia permitiu o desenvolvimento de calibrações que permitem determinar outros parâmetros nutricionais para além daqueles que os o FoodScan atualmente nos permite, nomeadamente o teor de ácidos gordos saturados e insaturados. Com estes parâmetros é possível analisar o perfil nutricional dos produtos o que permite aferir sobre a qualidade e detetar atempadamente alguns desvios que possam ter origem na produção como, por exemplo, incorreta introdução ou má dissolução dos ingredientes.

A implementação do viscosímetro tem como objetivo a elaboração de um histórico das salmouras produzidas diariamente sendo fundamental, em primeiro lugar, analisar um conjunto de salmouras produzidas em dias diferentes o que permitirá determinar qual o valor de viscosidade destes produtos. Em segundo lugar, será fundamental caracterizar o valor da viscosidade destes produtos quando são detetados desvios visuais na textura ou coloração das salmouras. Nesse sentido, numa fase inicial foi importante analisar o comportamento da viscosidade das salmouras ao longo do tempo e a diferentes temperaturas. Neste relatório foram apresentados os gráficos relativos a três produtos: Pá Extra 80%, Perna extra 86% e Perna Extra 70%. Verificou-se que nos três produtos a viscosidade diminuiu ao longo do tempo e diminuiu com o aumento da temperatura. De acordo com o fundamento teórico, é esperado que para fluídos newtonianos nas mesmas condições o valor da viscosidade seja constante ao longo do tempo, o que não se verificou nestes casos uma vez que as salmouras não são fluídos newtonianos. Para minimizar este facto foi estabelecido que as leituras serão feitas de 1 em 1 minuto ao longo de 5 minutos permitindo determinar qual a viscosidade média neste tempo de medição. Para além disso, é importante analisar o comportamento da viscosidade em função da temperatura uma vez que ao longo do processo de injeção verifica-se que a salmoura tem diferentes temperaturas: No momento inicial da injeção a temperatura verificada é inferior a 2 °C enquanto que no final da injeção o valor verificado é superior devido ao aquecimento verificado durante o funcionamento da injetora. Assim, para além de caracterizar a viscosidade das salmouras é importante registar o momento da recolha das mesmas e compreender a alteração da viscosidade que ocorre ao longo do processo. Estas análises permitirão caracterizar as salmouras em termos de viscosidade e integrar este parâmetro no plano de controlo da qualidade.

Ao nível do controlo da qualidade são realizados vários testes que exercem a função de indicadores de higiene e segurança alimentar, nomeadamente os testes de alergénios, ATP, pesquisa de *Listeria* spp. em superfícies e análise dos microrganismos nas mãos dos manipuladores de alimentos.

No que diz respeito ao controlo da higienização, é fundamental o controlo da presença de alergénios após higienização e anterior à produção de algum produto isento de alergénios. O limite de deteção dos métodos utilizados é de 5 ppm embora se verifique que a presença de alergénios em

concentrações inferiores a 5 ppm possam desencadear uma resposta alérgica. Assim, o limite de quantificação poderá não ser suficiente para garantir a ausência de alérgenos na amostra analisada embora a obtenção de um teste negativo aliada ao cumprimento de todos os procedimentos e boas práticas no que respeita à produção dos produtos isentos de alérgenos permita controlar eficazmente o processo de produção e qualidade do produto final. De igual modo, a realização do teste de ATP permite determinar a presença de adenosina trifosfato, uma substância presente na matéria orgânica quer esteja viva ou morta. Assim, é um indicador de contaminação biológica embora não seja possível distinguir a origem desta contaminação. A quantificação do ATP é um bom indicador no que respeita à eficácia da higienização uma vez que a obtenção de níveis de ATP elevados em superfícies indicam que a limpeza e a desinfeção no local da análise não foram eficazes. No entanto, apesar de ser um indicador de limpeza não permite garantir a ausência de alérgenos, uma vez que não existe uma forma de diferenciar o ATP de uma matriz alimentar com alérgenos de uma matriz alimentar isenta de alérgenos. Para além disso, alguns alérgenos contêm níveis de ATP muito baixos o que pode levar a falsos negativos no caso de ser utilizado apenas a medição do ATP.

Por outro lado, as zanganas de *Listeria* spp. permitem realizar a pesquisa de *Listeria* spp. em superfícies durante o processamento ou após a higienização das superfícies. No entanto, não é um método específico para a determinação de *Listeria monocytogenes*, microrganismo patogénico, que é fundamental garantir a sua ausência durante todo o processo.

Finalmente, ao nível das análises sensoriais não foram apresentados os resultados neste relatório devido ao facto do estudo ainda se encontrar em curso.

O trabalho realizado diariamente permite analisar eventuais oportunidades de melhoria que têm como objetivo otimizar as tarefas comuns a todos os procedimentos nomeadamente a emissão dos resultados. Assim, é fundamental acompanharmos o avanço tecnológico e conhecermos as ofertas disponíveis no mercado que permitam garantir a rastreabilidade das amostras e emissão de boletins de uma forma mais eficiente. Como potencial solução, destaca-se a existência do software Accept micro. Este software automatiza a recolha de registos e permite a rastreabilidade das amostras ao longo de todo o fluxo de análises anulando a possibilidade de erros de identificação. Para além do auxílio na receção das amostras, permite a impressão de etiquetas em todas as fases do ensaio permitindo assim que a amostra adquira a mesma identificação ao longo das várias etapas. Para além disso, este software está conectado com o sistema de requisições, permitindo automatizar a construção do boletim. Deste modo, a única tarefa manual seria a introdução dos resultados permitindo uma resposta mais rápida e minimizando as possíveis fontes de erro associadas à construção manual dos boletins analíticos.

6. Conclusões Gerais

O estágio realizado na Primor Charcutaria no âmbito do mestrado de Engenharia Alimentar permitiu-me a aplicação de conhecimentos teóricos adquiridos durante os três semestres de aulas, bem como a aquisição de novos. Para além da aplicabilidade de todos os conhecimentos adquiridos, este estágio permitiu-me uma enorme evolução pessoal nomeadamente no sentido de organização, liderança, responsabilidade, trabalho em equipa e trabalho em contexto empresarial que são competências transversais em qualquer área de trabalho e que serão fundamentais para o meu futuro.

O principal objetivo deste estágio-Implementação do laboratório interno- foi cumprido com sucesso, uma vez que o laboratório se encontra em funcionamento e é um elemento fundamental no apoio ao controlo operacional e ao desenvolvimento de novos produtos e processos. A validação dos métodos foi bem-sucedida o que comprova o bom funcionamento do laboratório.

A par disso, foram estabelecidos vários objetivos que permitirão dar continuidade ao trabalho realizado.

7. Trabalho futuro

Após a conclusão do estágio curricular iniciei as minhas funções com Analista na Primor Charcutaria Prima com um contrato que me permitirá dar continuidade ao trabalho realizado durante o estágio curricular. Neste trabalho desempenharei as funções de responsável pelo laboratório e realização das análises. Para além das funções inerentes ao laboratório, faço parte da equipa da Qualidade o que permite uma ação mais crítica face às análises realizadas no laboratório permitindo a observação de desvios ao processo e análise das suas causas, possíveis consequências e eventuais correções e ações preventivas.

Ao nível do trabalho futuro a realizar no laboratório é fundamental o aperfeiçoamento dos métodos e aquisição de novos tendo já em vista a implementação do método de pesquisa de *Salmonella* spp. em matérias-primas, procedimento diferente do utilizado para produtos processados, bem como a aquisição de um texturómetro que permitirá caracterizar a textura dos produtos, bem como medição da força de abertura de embalagens e sua resistência. De igual modo, é fundamental analisar os vários parâmetros nutricionais que caracterizam um produto, nomeadamente ácidos gordos saturados e insaturados parâmetros estes possíveis de determinar com recurso a novas calibrações para o aparelho FoodScan potenciando, deste modo, a sua utilização. Para além da caracterização da viscosidade das salmouras, será importante analisar estes parâmetros nos preparados de carne, nomeadamente naqueles que possuem duas fases o que permite antecipar desvios ao processo.

Tendo em conta a visão global da Primor-Charcutaria enquadrada num grupo de três empresas, um dos principais objetivos do Primor Lab passa por realizar análises a todos os setores do grupo o que permitirá acompanhar todas as etapas do processo, garantir uma maior rapidez na obtenção de resultados e tomada de decisões. No entanto, este é um objetivo ambicioso e desafiante que fará parte do trabalho futuro que será desenvolvido.

8. Elementos pós-textuais

8.1. Apêndices

8.1.1. Produção de fiambres

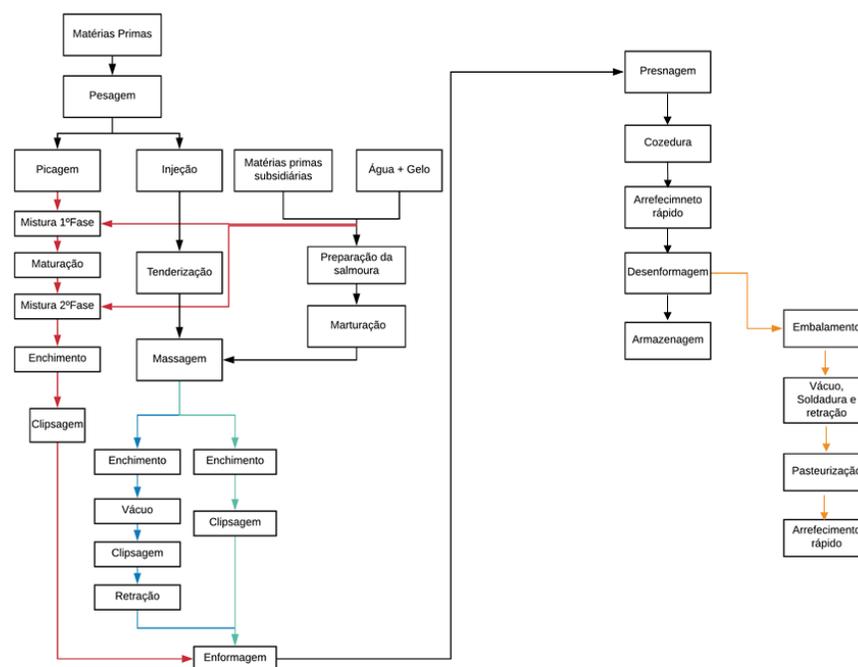


Figura 24: Produção de fiambres (Setas a vermelho indicam a produção de fiambre sem injeção; Setas a azul indicam a produção de fiambre em peça; Setas a verde indicam a produção de fiambres com destino a serem fatiados; Setas a laranja indicam a produção de fiambres em peça.

8.1.2. Produção de Bacon

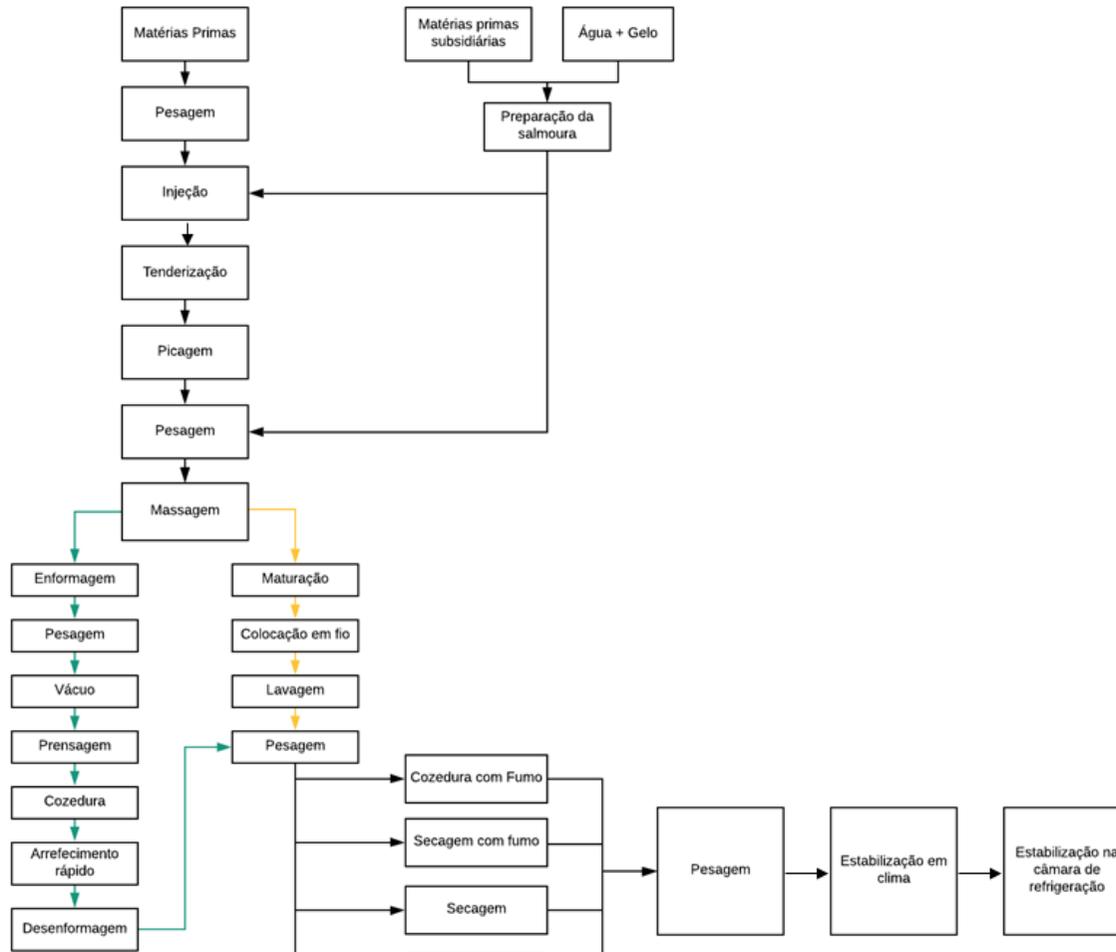


Figura 25: Produção de bacon (As setas verde indicam a produção de bacon enformado sob vácuo; Setas a amarelo indicam a produção de bacon que não é enformado sob vácuo).

8.1.3. Produção de enchidos

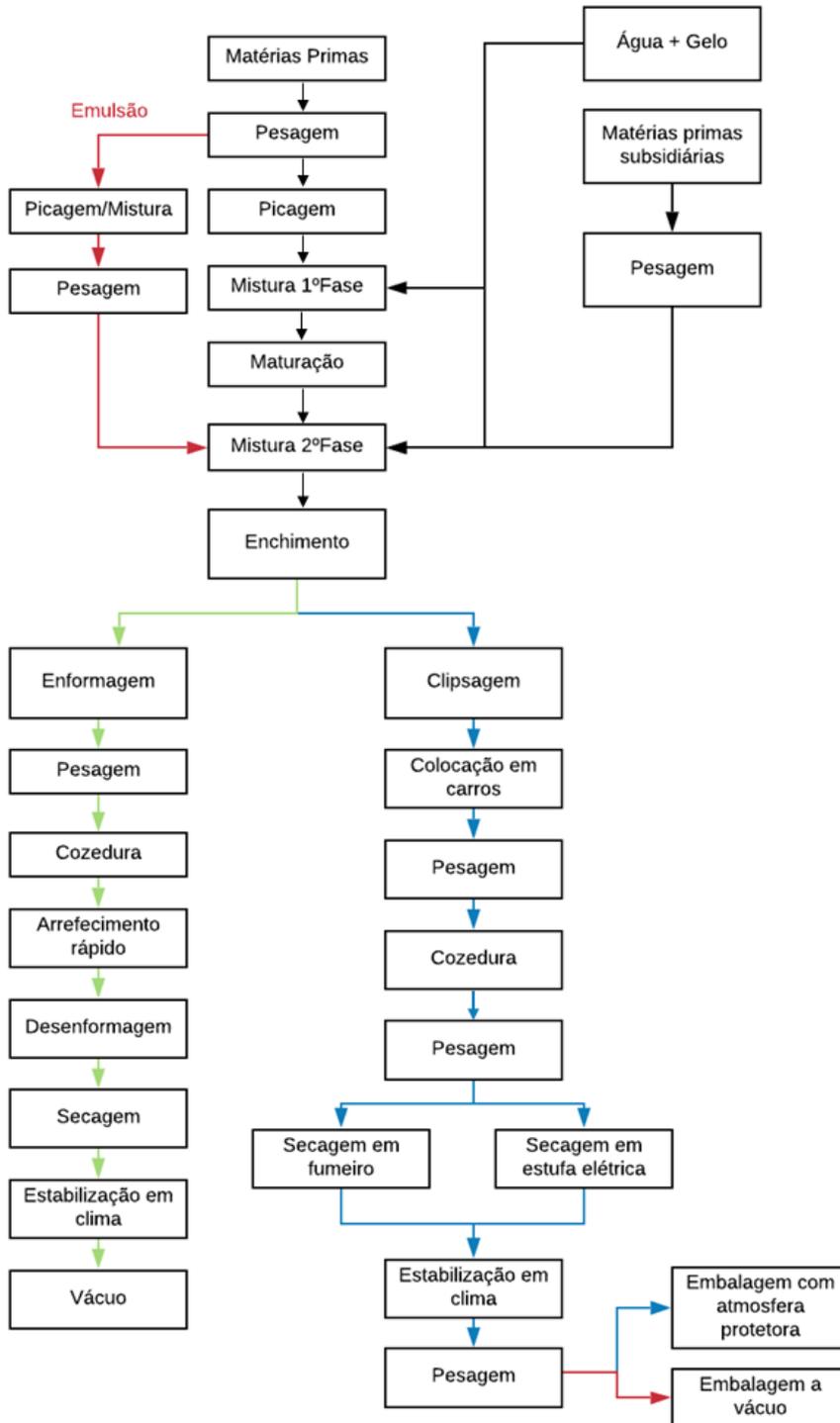


Figura 26: Produção de enchidos fumados (Setas a verde indicam a produção de enchidos apenas embalados a vácuo; Setas a azul indicam a produção de enchidos que sofrem a etapa de secagem em fumeiro ou em estufa eléctrica e que podem ser embalados em atmosfera protetora).

8.1.4. Instrução de trabalho para a preparação de meios de cultura



Instrução de Trabalho

Actividade: Preparação de meios de cultura

Modo de preparação dos meios de cultura e suas utilizações.

Preparação de Demi Fraser

Para um volume final de 1 L:

1a) Adicionar 55g de Demi Fraser a 1 L de água destilada;

Para um volume final de 225 mL;

1b) Adicionar 12,375 g de Demi Fraser a 225 mL de água destilada.

2) Fechar o frasco (Não enroscar completamente) e colocar uma fita indicadora de esterilização na tampa;

3) Colocar o frasco no esterilizador e realizar o ciclo de esterilização.

Utilização: Método Listeria VIP Gold.



Preparação de água peptonada tamponada

Para um volume final de 1 L:

1a) Adicionar 20g de água Peptonada tamponada a 1 L de água destilada;

Para um volume final de 250 mL;

1b) Adicionar 5 g de água Peptonada tamponada a 250 mL de água destilada.

2) Fechar o frasco (Não enroscar completamente) e colocar uma fita indicadora de esterilização na tampa;

3) Colocar o frasco no esterilizador e realizar o ciclo de esterilização.

Utilização: Método 1-2 Test (Salmonella) e Simplate (Contagem total).



Preparação água esterilizada

1) Perfazer o volume de 250 mL ou 1 L com água destilada.

2) Fechar o frasco (Não enroscar completamente) e colocar uma fita indicadora de esterilização na tampa;

3) Colocar o frasco no esterilizador e realizar o ciclo de esterilização

Utilização: Simplate (Contagem total).



8.1.5. Instrução de trabalho para a Pesquisa de Salmonella



Instrução de Trabalho

Atividade: Pesquisa de *Salmonella* spp.

O método de detecção de salmonela móvel 989.13 1-2Test imunodifusão tem como base a presença e observação de salmonela imobilizada num meio de mobilidade com anticorpos polivalente flagelares.

Fase A-Preparação da amostra

- 1)Na Câmara de fluxo laminar, cortar a amostras em pequenos fragmentos;
- 2)Pesar 25 g da amostra num copo de amostra e colocá-la no **saco Bag Filter**;
- 3)Adicionar 225 mL de **Água peptonada tamponada**;
- 4)Colocar o saco de amostra no **Bag mixer** durante 120 segundos.

Incubar a 35-37 °C por 24 ± 2 horas.



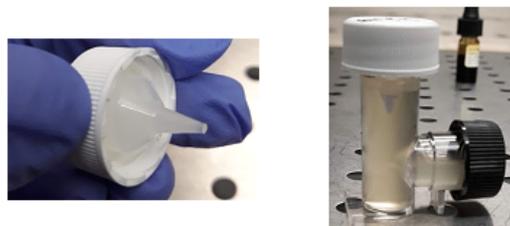
Fase B

- 5)Adicionar 1 gota de Reagente 1 (Solução de Iodo Iodado) na câmara de tampa preta.
- 6)Retirar o plug branco de plástico;
- 7)Adicionar 0,1 mL de amostra e homogeneizar ligeiramente;



Fase C

- 8)Na câmara de tampa branca, retirar a tampa e cortar a ponta de gel;
- 9)Colocar 1 gota de reagente 2 (Preparação de anticorpo). Verificar a formação de uma coloração roxa.
- 10)Colocar novamente a tampa branca. Incubar durante 14 a 30h a 35-37 °C.



Leitura dos Resultados

Resultado Positivo

Observa-se a formação de uma banda na zona assinalada.



Resultado Negativo

Não se observa a formação de uma banda na zona assinalada.



8.1.6. Instrução de trabalho para a Pesquisa de Listeria



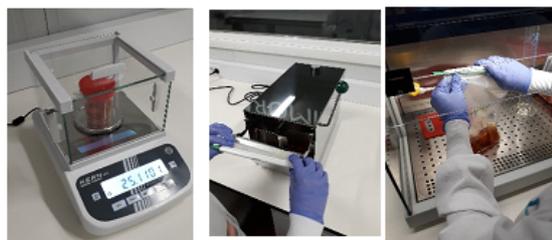
Instrução de Trabalho

Atividade: Pesquisa de *Listeria* spp.

O VIP Gold Listeria consiste num imunoensaio visual de uma única etapa para a deteção de *Listeria* em alimentos. Caso se verifique a presença de *Listeria* é formado um complexo antígeno-anticorpo.

Fase A-Preparação da amostra

- 1) Na Câmara de fluxo laminar, cortar a amostras em pequenos fragmentos.
- 2) Pesar 25 g da amostra num copo de amostra e colocá-la no **saco Bag Filter**.
- 4) Colocar o saco de amostra no **Bag mixer** durante 120 segundos.
- 5) Incubar a 30°C por 48 horas.



Fase B- Inativação

- 6) Ligar o banho a 100 °C
- 7) Transferir 1 mL da amostra preparada na **Fase A** para um tubo de ensaio.
- 8) Colocar o tubo de ensaio no banho e inativar a 100 °C durante 5 minutos.



Fase C-Teste

- 9) Arrefecer o tubo de ensaio até 25-37 °C antes da etapa seguinte.
- 10) Adicionar 0,1 mL de preparada inativado da **Fase B** na cavidade de adição da amostra do teste VIP *Listeria*.
- 11) Incubar por 10 minutos a 15-25 °C (Temperatura ambiente)



Leitura dos Resultados

Resultado Positivo (2 bandas)



Resultado Negativo (1 banda)



8.1.7. Instrução de trabalho para a Contagem Total



Instrução de Trabalho

Atividade: Método Simplate

Deteção e quantificação de microorganismos aeróbios através da mudança de cor do meio na presença de microorganismos aeróbios.

Fase A-Preparação da amostra

- 1) Na Câmara de fluxo laminar, cortar a amostras em pequenos fragmentos.
- 2) Pesar 20 g da amostra num copo de amostra e colocá-la no **saco Bag Filter** (Figura 1A).
- 3) Adicionar 180 mL de **Água peptonada tamponada** (Figura 1B).
- 4) Colocar o saco de amostra no **Bag mixer** durante 120 segundos (Figura 1C).



Figura 1A

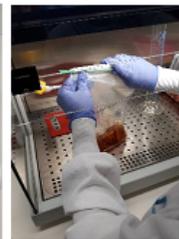


Figura 1B

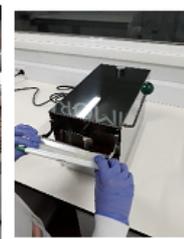


Figura 1C

Fase B-Hidratação do meio

Para a diluição de 1:10

- 5) Adicionar 9,0 mL de água destilada esterilizada num frasco com o meio de cultura (Figura 2A).
 - 6) Adicionar 1 mL de amostra preparada na fase A (Figura 2B).
- Homogeneizar no vortex até observar que o meio está todo dissolvido.



Figura 2A



Figura 2B

Fase C-Plaqueamento

- 7) Verter o preparado na Fase B no centro da placa de cultura (Figura 3A).
- 8) Distribuir o preparado sobre todos os poços através de movimentos circulares suaves na placa (Figura 3B).

O excesso de líquido da placa deve ser recolhido para a esponja branca localizada numa das superfícies da placa (Figura 3C).

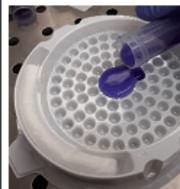


Figura 3A



Figura 3B



Figura 3C

Leitura dos Resultados



Neste caso dois poços mudaram de cor pelo que de acordo com a tabela de conversão o resultado é 4×10^3 ufc/g. (Tendo em conta que a diluição utilizado foi de 1:10).

8.1.8. Boletim analítico Food Scan



Primor Charcutaria-Prima,S.A
Av.Santiago de Gavião, 1142
4760-003 Vila Nova de Famalicão

**Boletim
analítico
nº136/19**

Nome do Produto: Bacon

Código Material: AmTest

Departamento: Qualidade

Data de receção: 05/04/2019

Lote:

Requisição: 362/19

Período de ensaios:04/04/2019 a 04/04/2019

Análise Físico-Química					
Parâmetros analisados	Método	Resultado médio	Desvio Padrão	Intervalo especificado*	Avaliação*
Proteína	Food Scan	2,244	0,188		
Humidade relativa	Food Scan	20,502	1,198		
Colagénio	Food Scan	56,49	0,723		
Gordura	Food Scan	18,114	0,595		
Sal	Food Scan	2,164	0,047		

Observações:

*Caso aplicável

Data de emissão: 04/04/2019

Ensaio realizado por: Patrícia Soares

Patrícia Soares

8.1.8.1. Boletim analítico microbiológico



Primor Charcutaria-Prima,S.A
Av.Santiago de Gavião, 1142
4760-003 Vila Nova de Famalicão

**Boletim
analítico
nº66/19**

Nome do Produto: PEITO DE PERU
Código Material:
Departamento: Qualidade
Data de receção: 07/08/19

Lote:
Validade: 15/08/2019
Requisição: 281/19
Período de ensaios: 07/08/19 a 08/08/19

Análise Microbiológica				
Parâmetros analisados	Método	Resultado	Intervalo especificado	Avaliação
Pesquisa de <i>Salmonella</i> /25g	1-2Test	Negativo	Ausência/25g	Conforme
Pesquisa de <i>Listeria</i> / 25g	VIP Gold	Negativo	Ausência/25g	Conforme
Contagem Total	Simplate	$4,0 \times 10^1$	$\leq 1 \times 10^4$	Conforme

Observações:

Data de emissão: 08/08/2019
Ensaio realizado por: Patrícia Soares

Patrícia Soares

8.2. Anexos

8.2.1. Exemplar de Requisição de análises

	<h1>REQUISIÇÃO DE ANÁLISES</h1>	SAL.IM09.02
---	---------------------------------	-------------

Data: 23-08-2019

Laboratório: PrimorLab

Nº: DQ 318/19

Código SAP	Descrição Produto	Lote	Parâmetros analíticos
21000327	Salmoura Pá Extra (80%) (3 unidades)	7083675	67;
21000326	Salmoura Perna Extra (86%) (2 unidades)	7083662	67;
21000344	Salmoura Perna Extra (70%) (3 unidades)	7083666	67;
21000327	Salmoura Pá Extra (80%) (3 unidades)	7083674	67;

Observações:

Código dos parâmetros analíticos					
Análises Microbiológicas		Análises químicas		Análises Nutricionais	
Contagem de microrganismos a 30°C	1	Proteína	16	Energia	37
Contagem de Estafilococos coag. Pos.	2	Humidade	17	Ac. Gordos Monoinsaturados	38
Contagem de Enterobacteriaceas	3	Lípidos	18	Ac. Gordos Saturados	39
Contagem E. Coli	4	Hidratos de Carbono	19	Ac. Gordos Polinsaturados	40
Contagem de esp. Clost. Sulif.-Red.	5	Fosfatos	20	Ac. Gordos Livres (% de ácido oleico)	41
Contagem de Coliformes a 45°C	6	Índice de Peróxidos	21	Colesterol	42
Contagem de Bolores e Leveduras	7	Acidez	22	Sódio	43
Listeria Monocytogenes	8	Cloretos	23	Fibra Alimentar	44
Pesquisa de Salmonella spp	9	Açúcares	24	DHA	45
Clostridium perfringens	10	Aw	25	Fibra Ref. AOAC 997.38	46
Contagem de Bactérias-Láticas	11	Nitritos	26	Sal	47
Benzo(a)pireno + Soma benzo(a)pireno, benzo(a)antraceno, benzo(a)fluoranteno e criseno	12	Nitratos	27	Colagénio	48
		Impurezas	28	Arsénio	49
Pesquisa de melamina	13	Dioxinas e PCB's	29	Cádmio	50
Amido	14	Chumbo	30	Mercúrio	51
Det. Ácido Eritórbico	15	Determinação de pH	31	Nitrosaminas (NDMA e NDEA)	52
Contagem de coliformes fecais a 44°C (ufc/g)	59	Pesquisa Alergêneo - Leite	32	Estudo Vida Útil	53
		Pesquisa Alergêneo-Lactose	33	Pesquisa ADN	54
Análise ao AR/Ambiente	63	Pesquisa Alergêneo-Glúten	34	Análise Organoléptica	55
Contagem Listeria Monocytogenes	801	Pesquisa Alergêneo - Soja	35	Ácidos gordos trans (transoleicos) (%)	56
Pesquisa Listeria Primor Lab	64	Pesquisa Alergêneo-Sulfito	36	Ácidos gordos	57
Pesquisa Salmonella Primor Lab	65	Viscosímetro Primor Lab	67	trans(translinoleicos+translinolenicos) (%)	
Contagem Total Primor Lab	66			Cinza total (g/100g)	58
				Food Scan Primor Lab	68

Departamento Qualidade
Patricia Soares

8.2.2. Tabela de Conversão do método simplate

Tabela de Conversão método Simplate					
1=2	15=32	29=70	43=120	57=190	71=312
2=4	16=36	30=74	44=124	58=196	72=324
3=6	17=38	31=76	45=128	59=202	73=338
4=8	18=40	32=80	46=132	60=208	74=354
5=10	19=42	33=84	47=136	61=216	75=372
6=12	20=46	34=86	48=142	62=224	76=392
7=14	21=48	35=90	49=146	63=232	77=414
8=16	22=50	36=94	50=150	64=240	78=440
9=18	23=54	37=96	51=156	65=248	79=470
10=22	24=56	38=100	52=160	66=256	80=508
11=24	25=58	39=104	53=166	67=266	81=556
12=26	26=62	40=108	54=172	68=276	82=624
13=28	27=64	41=112	55=178	69=288	83=738
14=30	28=68	42=116	56=184	70=298	84≥738

8.2.3. Bibliografia

- Anderson, Shirley. 2007. 'Determination of fat, moisture, and protein in meat and meat products by using the FOSS FoodScan Near-Infrared Spectrophotometer with FOSS Artificial Neural Network Calibration Model and Associated Database: collaborative study', *Journal of AOAC International*, 90: 1073-83.
- Belitz, H. D., Werner Grosch, and P. Schieberle. 2004. *Food Chemistry*.
- Branen, A Larry, P Michael Davidson, Seppo Salminen, and John Thorngate. 2001. *Food additives* (CRC Press).
- Campbell, Gaylon S, and David P Lewis. 1998. "Water activity and dew point temperature measuring apparatus and method." In.: Google Patents.
- Carr, F. J., D. Chill, and N. Maida. 2002. 'The lactic acid bacteria: a literature survey', *Crit Rev Microbiol*, 28: 281-370.
- Carvalho, Rafael H., Adriana L. Soares, Danielle C. B. Honorato, Paulo D. Guarnieri, Mayka R. Pedrão, Fernanda G. Paião, Alexandre Oba, Elza I. Ida, and Massami Shimokomaki. 2014. 'The incidence of pale, soft, and exudative (PSE) turkey meat at a Brazilian commercial plant and the functional properties in its meat product', *LWT - Food Science and Technology*, 59: 883-88.
- Chevallier, I., S. Ammor, A. Laguet, S. Labayle, V. Castanet, E. Dufour, and R. Talon. 2006. 'Microbial ecology of a small-scale facility producing traditional dry sausage', *Food Control*, 17: 446-53.
- de Oliveira Vargas Culau, Paulete, Jorge Lopez, Jane Maria Rubensam, Rui Fernando Félix Lopes, and Sérgio Nicolaiewsky. 2002. 'Effect of the halothane gene on the quality of pork', *Revista Brasileira de Zootecnia*, 31: 954-61.
- Decreto – Lei nº 560/99 de 18 de Dezembro, Diário da República nº 293 de 18-12-1999, I Série-A.
- Farmer, Linda J., and Ronald L. S. Patterson. 1991. 'Compounds contributing to meat flavour', *Food Chemistry*, 40: 201-05.
- Feiner, Gerhard. 2006. *Meat products handbook: Practical science and technology* (Elsevier).
- Flanagan, Simon. 2014. *Handbook of food allergen detection and control* (Elsevier).
- Food, and Drug Administration. 2012. 'Bad bug book, foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins', *Gram-positive bacteria. Second edition. Lampel K, Al-Khaldi S, Cahill S, editors. Silver Spring: Center for Food Safety and Applied Nutrition of the Food and Drug Administration (FDA), US Department of Health and Human Services*.
- Fraqueza, MJ, and L Patarata. 2006. 'Recomendações Práticas de Higiene para enchidos tradicionais fermentados e secos', *Guia Prático de aulas. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária*.
- Freixanet, Llorenç. 2010. 'Aditivos e ingredientes en la fabricación de productos cárnicos cocidos de músculo entero', *Metalquimia SA Artículos tecnológicos. Editado por Metalquimia SA Gerona, España*.
- Goepfert, J. M., W. M. Spira, and H. U. Kim. 1972. 'BACILLUS CEREUS: FOOD POISONING ORGANISM. A REVIEW', *Journal of Milk and Food Technology*, 35: 213-27.
- Gomes, CP. 2007. 'Critérios Microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios', *Segurança e Qualidade Alimentar*: 48-51.

- Huynh Bach, Nguyen, Son Long, Robert Gál, and František Buňka. 2011. 'Use of phosphates in meat products', *African Journal of Biotechnology*, 10.
- Keenan, D. F. 2016. 'Pork Meat Quality, Production and Processing on.' in Benjamin Caballero, Paul M. Finglas and Fidel Toldrá (eds.), *Encyclopedia of Food and Health* (Academic Press: Oxford).
- Kramer, JOHN M, and RICHARD J Gilbert. 1989. 'Bacillus cereus and other Bacillus species', *Foodborne bacterial pathogens*, 19: 21-70.
- Ledward, D. A., and D. L. Hopkins. 2017. 'Meat science from 1976: A history of the journal', *Meat Sci*, 132: 29-34.
- Lund, Barbara M., Tony C. Baird-Parker, and G. W. Gould. 2000. 'The microbiological safety and quality of food'.
- Majou, D., and S. Christieans. 2018. 'Mechanisms of the bactericidal effects of nitrate and nitrite in cured meats', *Meat Sci*, 145: 273-84.
- Marshall, K. M., S. E. Niebuhr, G. R. Acuff, L. M. Lucia, and J. S. Dickson. 2005. 'Identification of Escherichia coli O157:H7 meat processing indicators for fresh meat through comparison of the effects of selected antimicrobial interventions', *J Food Prot*, 68: 2580-6.
- Mataragas, M., E.H. Drosinos, A. Vaidanis, and I. Metaxopoulos. 2006. 'Development of a Predictive Model for Spoilage of Cooked Cured Meat Products and Its Validation Under Constant and Dynamic Temperature Storage Conditions', *Journal of food science*, 71: M157-M67.
- Mead, GC. 2004. 'Microbiological quality of poultry meat: a review', *Brazilian Journal of Poultry Science*, 6: 135-42.
- Mrema, Neema, Sisai Mpuchane, and Berhanu A. Gashe. 2006. 'Prevalence of Salmonella in raw minced meat, raw fresh sausages and raw burger patties from retail outlets in Gaborone, Botswana', *Food Control*, 17: 207-12.
- Necas, Jiri, and L. Bartosikova. 2013. 'Carrageenan: A review', *Veterinarni Medicina*, 58: 187-205.
- NP-4393 (2001). Fiambre. Definição e características. Instituto Português da Qualidade.
- NP-589 (1969). Enchidos portugueses. Chouriço de carne. Definição, classificação e características.
- NP-590 (1989). Carnes, derivados e produtos cárneos. «Linguiça». Definição, características e acondicionamento.
- NP-591 (1969). Enchidos portugueses. Salpicão e características.
- NP-591 (1969).NP-592 (2008). Enchidos portugueses. Paio. Definição, classificação e características.
- NP-593 (1990). Carnes, derivados e produtos cárneos. Morcela. Definição, classificação e características.
- NP-598 (1969). Enchidos portugueses. Alheira. Definição e características.

- NP-720 (1983). Carnes, derivados e produtos cárneos. Mortadela. Definição, características e apresentação.
- NP-723 (1989). Norma portuguesa. Carnes, derivados e produtos cárneos. Salsicha fresca. Definição e características.
- Nunes-Halldorson, Vânia da Silva, and Norma Leticia Duran. 2003. 'Bioluminescent bacteria: lux genes as environmental biosensors', *Brazilian Journal of Microbiology*, 34: 91-96.
- Orsi, R. H., and M. Wiedmann. 2016. 'Characteristics and distribution of *Listeria* spp., including *Listeria* species newly described since 2009', *Appl Microbiol Biotechnol*, 100: 5273-87.
- Owens, C. M., E. M. Hirschler, S. R. McKee, R. Martinez-Dawson, and A. R. Sams. 2000. 'The characterization and incidence of pale, soft, exudative turkey meat in a commercial plant 1', *Poultry Science*, 79: 553-58.
- Prandl, Oskar, Albert Fischer, Thomas Schmidhofer, and Hans-Jurgen Sinell. 1994. *Tecnología e higiene de la carne* (Acribia Zaragoza).
- Price, J. F., and B. S. Schweigert. 1994. *Ciencia de la carne y de los productos carnicos* (Acribia: Zaragoza).
- Qu, Daofeng, Xu Zhou, Feng Yang, Shiyi Tian, Xiaojun Zhang, Lin Ma, and Jianzhong Han. 2017. 'Development of class model based on blood biochemical parameters as a diagnostic tool of PSE meat', *Meat Sci*, 128: 24-29.
- Ray, B, and A Bhunia. 2008. "Fundamental food microbiology, 4th edn. CRC." In.: Taylor and Francis, Boca Raton, FL.
- Regulamento Comissão Europeia (CE) nº 853/2004 do parlamento europeu e do conselho de 29 de Abril de 2004 que estabelece regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal.
- Sofos, John N. 2008. 'Challenges to meat safety in the 21st century', *Meat Sci*, 78: 3-13.
- Stock, K., and A. Stolle. 2001. 'Incidence of *Salmonella* in minced meat produced in a European Union-approved cutting plant', *J Food Prot*, 64: 1435-8.
- Toldrá, Fidel, Yiu H Hui, Iciar Astiasaran, Joseph Sebranek, and Regine Talon. 2014. *Handbook of fermented meat and poultry* (John Wiley & Sons).
- Tompkin, R. B. 1994. 'HACCP in the meat and poultry industry', *Food Control*, 5: 153-61.
- Trout, GR. 1994. "Contribution of the halothane gene to pse levels in australian pork." In *INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY*, 44.
- Velasco, Valeria, and Pamela Williams. 2011. 'Improving meat quality through natural antioxidants', *Chilean journal of agricultural research*, 71: 313-22.
- Warner, R. D., R. G. Kauffman, and M. L. Greaser. 1997. 'Muscle protein changes post mortem in relation to pork quality traits', *Meat Sci*, 45: 339-52.
- Warriss, P. D., S. N. Brown, S. J. M. Adams, and I. K. Corlett. 1994. 'Relationships between subjective and objective assessments of stress at slaughter and meat quality in pigs', *Meat Sci*, 38: 329-40.

Zhu, Meijun, Min Du, Joseph Cordray, and Dong Uk Ahn. 2005. 'Control of *Listeria monocytogenes* Contamination in Ready-to-Eat Meat Products', *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 4: 34-42.