

ANA ALEXANDRA MARTINS PEREIRA

**CONSERVAÇÃO DE PRODUTOS CÁRNEOS:
AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE
MICROBIOLÓGICA DE FIAMBRES**

Orientador: Dr. Armindo Lourenço

Co-Orientadora: Prof. Doutora Laurentina Pedroso

**UNIVERSIDADE LUSÓFONA DE HUMANIDADES E
TECNOLOGIAS**

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

LISBOA

2012

ANA ALEXANDRA MARTINS PEREIRA

**CONSERVAÇÃO DE PRODUTOS CÁRNEOS:
AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE
MICROBIOLÓGICA DE FIAMBRES**

**Dissertação apresentada para a obtenção do Grau de Mestre
em Medicina Veterinária no curso do Mestrado Integrado
em Medicina Veterinária conferido pela Universidade
Lusófona de Humanidades e Tecnologias**

Orientador: Dr. Armindo Lourenço

Co-Orientadora: Prof. Doutora Laurentina Pedroso

**UNIVERSIDADE LUSÓFONA DE HUMANIDADES E
TECNOLOGIAS**

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

LISBOA

2012

Agradecimentos

Gostaria de agradecer a todos aqueles que de uma maneira ou de outra contribuíram para a realização desta dissertação de mestrado.

À indústria de transformação de carnes, pela forma como colocou à disposição todos os meios técnicos e humanos necessários à realização deste trabalho.

Ao Dr. Armindo Lourenço, orientador deste projecto, pela transmissão de conhecimentos e paciência manifestada e à Engenheira Paula Ferreira, pela disponibilidade e orientação.

Ao Sr. Rui Oliveira, à Selene Duarte, à Joana Mendes e à Ana Rita Ferreira, do Departamento de Qualidade, pela forma como me acolheram durante o estágio, pela ajuda que me prestaram, pela simpatia, pela amizade e apoio.

À Professora Doutora Laurentina Pedroso, pela preocupação, amabilidade e disponibilidade que sempre prestou aos seus alunos, e, pela determinação na abordagem aos assuntos relacionados com a Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.

Ao professor Ricardo Assunção, pelos conselhos preciosos, pela simpatia e paciência, apoio, amizade e disponibilidade que sempre prestou.

Ao professor Mauro Bragança, pela disponibilidade e ajuda na parte estatística deste trabalho.

Aos meus amigos, por todo o apoio e por acreditarem em mim.

Aos meus pais e irmã, porque sem vocês não seria o que sou hoje, por tudo...

Ao Rui, por ser o meu alicerce, o meu cúmplice... por tudo o que representa para mim.

Obrigada.

Resumo

Nas últimas décadas, a indústria alimentar tem demonstrado uma grande capacidade de desenvolvimento, quer nas metodologias de produção dos géneros alimentícios, quer nos meios de controlo da segurança dos alimentos.

A contaminação e desenvolvimento de microrganismos é uma preocupação sempre presente na indústria de produtos cárneos. De modo a controlar este problema garantindo a inocuidade microbiológica e a estabilidade comercial dos alimentos, o uso de boas práticas de fabrico associadas a tecnologias de conservação são essenciais. Dado que os produtos cárneos fatiados são alimentos mais susceptíveis ao desenvolvimento microbiano, influenciando a sua qualidade e segurança, neste estudo, visou-se comparar a evolução microbiológica do fiambre em peça e fatiado e a influência dos conservantes no prolongamento da vida útil garantindo a segurança do consumidor, para este efeito, avaliou-se a qualidade higiénico-sanitária do fiambre bem como o efeito do diacetato de sódio na estabilidade microbiológica do mesmo, durante o seu período de vida útil sob temperaturas de refrigeração diferenciadas.

Os resultados obtidos demonstraram que os fiambres analisados não demonstraram a presença de microrganismos patogénicos. No entanto, o fiambre fatiado revelou a presença de microrganismos de deterioração, não se verificando, contudo, diferenças significativas entre o fiambre teste e controlo.

Palavras-chave: microrganismos, fiambre, diacetato de sódio, conservação.

Abstract

In the last 2-3 decades, the food industry has shown a great capacity for developing new methods of food production and means for monitoring the safety status of food.

Microbial contamination and growth has been a subject of great concern in meat products industry. In order to mitigate the recurrence of outbreaks the microbiological safety of foods, the use of good manufacturing practices associated with preservation technologies are both essential.

Since sliced meat products are more susceptible to microbial contamination and growth, influencing their quality and safety condition, this study aimed to compare the microbiological evolution of cooked hams before and after being sliced and the influence of preservatives on shelf life. For these purposes, the hygienic/sanitary quality condition of both products influenced by sodium lactate and sodium diacetate addition and storage at different temperatures were evaluated.

The results showed that both preservatives were effective in inhibiting pathogenic microorganisms growth. However, sliced cooked hams presented higher number of deteriorating microorganisms, not showing significant differences between test and control cooked hams.

Keywords: microorganisms, cooked ham, sodium diacetate, conservation.

Abreviaturas, siglas e símbolos

% - Percentagem	EUA – Estados Unidos da América
® – Marca registada	FAO – Food and Agriculture Organization
ALOA – Agar Listeria Ottaviani & Agosti	FDA – Food and Drug Administration
APT – Água Peptonada Tamponada	FIPA – Federação das Indústrias Portuguesas Agro-Alimentares
a_w – actividade da água	FSAI – Food Safety Authority of Ireland
B ₁ – Tiamina	FSIS – Food Safety and Inspection Service
B ₁₂ – Cobalamina	g – Grama
B ₂ – Riboflavina	GAL – β -D-galactosidase
B ₃ – Niacina	GLUC – β -D-glucoronidase
B ₆ – Piridoxina	HACCP – <i>Hazards Analysis and Critical Control Points</i>
BHI – Brain Heart Infusion	IAL – Instituto Adolfo Lutz
BP – Baird Parker Agar	INE – Instituto Nacional de Estatística
CE – Comissão Europeia	ISO – International Organization for Standardization
CFSAN – Center for Food Safety Applied Nutrition	Kg – Quilograma
cm ² – centímetro quadrado	log – logaritmo
DAEC – Diffuse-adhering <i>Escherichia coli</i>	mg – Miligrama
DGS – Direcção Geral de Saúde	mL – mililitro
EAEC – Enteroaggregative <i>Escherichia coli</i>	MRS – Man, Rogosa, Sharpe Agar
EFSA – European Food Safety Authority	n.d. – não declarado
EHEC – Enterohaemorrhagic <i>Escherichia coli</i>	ng – Nanograma
EIEC – Enteroinvasive <i>Escherichia coli</i>	nº - Número
EPEC – Enteropathogenic <i>Escherichia coli</i>	NP – Norma Portuguesa
ETEC – Enterotoxigenic <i>Escherichia coli</i>	°C – Grau Celsius

OMS/WHO – Organização Mundial de Saúde/World Health Organization

ONU – Organização das Nações Unidas

PCA – Plate Count Agar

PCC – Ponto Crítico de Controlo

ppm – Partes por milhão

pH – Potencial Hidrogeniónico

RASFF – Rapid Alert System for Food and Feed

RVS – Rappaport Vassiliadis Broth

SPS – Sulfite Polymyxin Sulfadiazine Agar

TGE – Triptona Glucose Extract Agar

TM – Trademark

UE – União Europeia

ufc – unidades formadoras de colónia

ufc/cm² – unidades formadoras de colónia por centímetro quadrado

ufc/g – unidades formadoras de colónia por grama

WFP – World Food Programme

Índice Geral

Agradecimentos	1
Resumo	2
Abstract.....	3
Abreviaturas, siglas e símbolos	4
Índice geral	6
I INTRODUÇÃO	11
II REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
1.1 HACCP e segurança alimentar na indústria de produtos cárneos.....	13
1.1.1 Conceito de Qualidade e Segurança Alimentar	14
1.1.2 Conceito de vida útil ou <i>shelf-life</i>	16
1.1.2.1 Factores que influenciam a vida útil dos alimentos	17
1.2 Produtos cárneos e sua classificação.....	17
1.3 Conservação de carne e produtos cárneos	19
1.3.1 A carne como matéria-prima	20
1.3.1.1 Transformação do músculo em carne.....	23
1.3.2 Factores que afectam a conservação da carne e produtos cárneos.....	25
1.3.2.1 Principais microrganismos que afectam a vida útil de produtos cárneos....	27
1.3.3 Conservação de produtos cárneos por utilização de baixas temperaturas	37
1.3.4 Conservação de produtos cárneos por utilização de conservantes.....	40
1.4 Fiambre: definição e características.....	45
1.4.1 Processo tecnológico do fiambre	45
1.4.2 Fiambre fatiado: análise do risco, identificação de perigos e controlo dos pontos críticos.....	46
1.4.3 Critérios microbiológicos aplicáveis ao fiambre	49
III OBJECTIVOS	52
IV MATERIAL E MÉTODOS	52
1. Fabrico do fiambre e Linha de Fatiados	52
2. Determinação da estabilidade microbiológica do fiambre durante o armazenamento	55
3. Análises microbiológicas.....	56
3.1 Preparação da amostra.....	56

3.2 Contagem de microrganismos aeróbios a 30 °C.....	56
3.3 Contagem de microrganismos aeróbios psicotróficos	56
3.4 Contagem de coliformes e <i>Escherichia coli</i>	56
3.5 Contagem de bactérias ácido-láticas	57
3.6 Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	57
3.7 Pesquisa de esporos de clostrídios sulfito-redutores	58
3.8 Contagem de <i>Listeria monocytogenes</i>	58
3.9 Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.	58
4. Análise estatística	59
V RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	59
1. Análise estatística	59
VI CONCLUSÕES.....	68
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
ANEXOS.....	I
Anexo 1.....	II
Anexo 2.....	III
Anexo 3.....	IV
Anexo 4.....	VI
Anexo 5.....	VII
Anexo 6.....	VIII

Índice de Quadros

Quadro 1. Classificação de produtos cárneos transformados.

Quadro 2. Consumo de carne per capita (kg/hab.) por tipo de carnes, em Portugal.

Quadro 3. Tipo de carne consumida per capita (kg/hab.) em Portugal, no ano de 2010.

Quadro 4. Temperaturas de crescimento dos microrganismos.

Quadro 5. Média das contagens de microrganismos aeróbios a 30 °C (log ufc/g) no fiambre Teste (diacetato) e Controlo (lactato).

Quadro 6. Média das contagens de microrganismos aeróbios a 30 °C (log ufc/g) nas câmaras de refrigeração 1 e 2.

Quadro 7. Média das contagens de bactérias ácido-lácticas (log ufc/g) no fiambre Teste (diacetato) e Controlo (lactato).

Quadro 8. Média das contagens de bactérias ácido-lácticas (log ufc/g) nas câmaras de refrigeração 1 e 2.

Índice de Figuras

Figura 1. Desenho esquemático ilustrativo da organização do músculo estriado esquelético.

Figura 2. Efeito da temperatura no crescimento microbiano.

Figura 3. Fluxograma e fabrico do fiambre.

Figura 4. Fluxograma da linha de fatiados.

Figura 5. Esquema ilustrativo do procedimento de determinação da estabilidade microbiológica do fiambre durante o armazenamento.

Índice de Gráficos

- Gráfico 1.** Evolução das contagens de microrganismos aeróbios a 30 °C (log ufc/g) no fiambre em peça, durante o tempo de estudo.
- Gráfico 2.** Evolução das contagens de microrganismos aeróbios a 30 °C (log ufc/g) no fiambre fatiado, durante o tempo de estudo.
- Gráfico 3.** Contagens de microrganismos aeróbios a 30 °C (log ufc/g) no fiambre em peça Teste e no fiambre fatiado Teste, no 1º dia de tranchagem.
- Gráfico 4.** Contagens de microrganismos aeróbios a 30 °C (log ufc/g) no fiambre em peça Controlo e no fiambre fatiado Controlo, no 1º dia de tranchagem.
- Gráfico 5.** Contagens de microrganismos aeróbios a 30 °C (log ufc/g) no fiambre fatiado Teste e Controlo, ao longo do tempo de estudo.
- Gráfico 6.** Contagens de microrganismos aeróbios a 30 °C (log ufc/g) no fiambre fatiado Teste e Controlo, na câmara de refrigeração 2 (4 a 8 °C), ao longo do tempo de estudo.
- Gráfico 7.** Contagens de microrganismos aeróbios a 30 °C (log ufc/g) no fiambre fatiado Teste e Controlo, na câmara de refrigeração 1 (0 a 5 °C), ao longo do tempo de estudo.
- Gráfico 8.** Contagens de bactérias ácido-lácticas (log ufc/g) no fiambre fatiado Teste e Controlo, ao longo do tempo de estudo.
- Gráfico 9.** Contagens de bactérias ácido-lácticas no fiambre fatiado Teste e Controlo, nas câmaras de refrigeração 1 (0 a 5 °C) e 2 (4 a 8 °C), ao longo do tempo de estudo.

I. Introdução

Este projecto foi desenvolvido durante o estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, tendo decorrido numa indústria de transformação de produtos cárneos. Integrada no Departamento de Qualidade, acompanhei as tarefas aí desenvolvidas relacionadas com as linhas de produção, nomeadamente processos de fabrico, verificação das menções de rotulagem em embalagens e latas e colheitas de produtos para análise microbiológica.

Durante o estágio participei ainda na realização das provas de estabilidade das conservas alimentares, nomeadamente, salsichas, pasta de fígado e de carne. Estas provas têm como objectivo o controlo do processo de esterilização através da manutenção de amostras de cada ciclo a temperaturas diferentes, permitindo ainda testar a estanquicidade das embalagens.

O estudo relacionado com a avaliação do efeito do conservante diacetato de sódio na estabilidade microbiológica de fiambres em peça e fatiado ao longo do armazenamento sob distintas condições de temperatura ambiente, também realizado no âmbito deste estágio representa o assunto principal da presente dissertação.

Visando avaliar os padrões de qualidade e segurança dos fiambres produzidos, projectou-se a realização de um estudo relacionado com o efeito da adição do conservante diacetato de sódio na estabilidade microbiológica deste tipo de produto, apresentado em peça e em fatiado, ao longo do armazenamento efectuado sob diferentes temperaturas ambiente.

A análise e discussão dos resultados obtidos, bem como as conclusões associadas representam o motivo principal da presente dissertação.

II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1. HACCP e segurança alimentar na indústria de produtos cárneos

A salubridade dos alimentos é um requisito fundamental em qualquer processo utilizado na sua obtenção resultando aquela característica, essencialmente, da potencial presença de perigos para a saúde (Bernardo, 2006), sejam estes de natureza biológica, química ou física (Bernardo, 2006; *Codex Alimentarius*, 2006).

Respeitante à segurança alimentar de produtos cárneos, é obrigatória a implementação de um sistema de controlo, elaborado por forma a abranger todas as fases do processo de produção, baseado em princípios e conceitos preventivos (Toldrá, 2009). Com este tipo de sistemas, pretende-se basicamente a identificação de pontos ou etapas críticas onde se pode efectivamente controlar os perigos para a saúde dos consumidores através da implementação de medidas de controlo dos limites de aceitabilidade e da adopção das respectivas acções correctivas. A metodologia HACCP – *Hazards Analysis and Critical Control Points* (Análise de Perigos e Controlo dos Pontos Críticos) constitui actualmente uma referência internacionalmente aceite na implementação de sistemas de segurança alimentar. Esta é uma metodologia que possui uma base científica e que assenta numa abordagem sistemática, cuja implementação facilita o cumprimento das exigências legais, e permite o uso mais eficiente de recursos na resposta imediata a questões relacionadas com a inocuidade dos alimentos (Baptista *et al.*, 2003).

Na indústria alimentar é essencial identificar e controlar as fases do processo de fabrico que representem um perigo para saúde, desde a recepção das matérias-primas até ao consumidor final, por forma a prevenir, minimizar ou eliminar a probabilidade da sua ocorrência, mediante a aplicação de medidas preventivas. Contudo, o plano HACCP implementado não será efectivo na diminuição dos riscos, caso a análise de perigos não seja correcta e as medidas de controlo efectivamente aplicadas (Baptista *et al.*, 2003).

A realização de uma análise de perigos pressupõe a sua real identificação, ou seja, dos potencialmente associados a todas as fases do processo. Inerente a esta análise, está a avaliação da probabilidade de ocorrência e da severidade do perigo identificado, bem como a análise de eventuais medidas preventivas estabelecidas para o seu controlo, no sentido de determinar a relevância dos mesmos. Apenas os perigos considerados significativos serão levados à “árvore de decisão”, que consiste num protocolo constituído por uma sequência de questões estruturadas, aplicadas a cada passo do processo, que permite determinar se um dado

ponto de controlo, nessa fase do processo, constitui um Ponto Crítico de Controlo (PCC) (Baptista *et al.*, 2003). Nas etapas do processo de produção identificadas como pontos críticos são aplicadas medidas de controlo de modo a prevenir ou eliminar potenciais perigos para a segurança dos alimentos, ou reduzi-los para um nível aceitável (*Codex Alimentarius*, 2006).

Assim, o objectivo do sistema HACCP é eliminar ou reduzir o risco associado aos alimentos, garantindo a sua segurança. Neste contexto, são considerados seguros os géneros alimentícios que estejam em conformidade com as disposições gerais do Regulamento (CE) n° 178/2002, de 28 de Janeiro de 2002, que determina os princípios e normas gerais da legislação alimentar, cria a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) e estabelece procedimentos gerais em matéria de segurança dos géneros alimentícios, e, dos Regulamentos (CE) n° 852/2004 e n° 853/2004, ambos de 29 de Abril, relativos à higiene dos géneros alimentícios e à higiene dos géneros alimentícios de origem animal, respectivamente. Em Portugal, a publicação destes regulamentos é complementada pelo Decreto-Lei n° 113/2006, de 12 de Junho, que estabelece as regras de execução, na ordem jurídica nacional, dos Regulamentos (CE) n° 852/2004 e n° 853/2004, do Parlamento e do Conselho Europeu (Sá & Magalhães, 2009).

O Sistema Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controlo (HACCP) é compatível com outros sistemas de controlo da qualidade, nomeadamente a Norma ISO 22000, publicada a 1 de Setembro de 2005 pela *International Organization for Standardization* (ISO). A NP EN ISO 22000 foi desenvolvida com objectivo de harmonizar, a um nível global os requisitos para a gestão da segurança alimentar de todos os elos da cadeia alimentar. Este padrão internacional especifica os requisitos necessários para organizações da cadeia de distribuição de produtos alimentares que pretendam demonstrar a sua aptidão para fornecer produtos seguros, permitindo a certificação por terceira parte independente (NP EN ISO 22000:2005). Possibilita ainda o cumprimento dos requisitos legais, nomeadamente do Regulamento (CE) n.º 852/2004, destacando a definição dos objectivos a atingir em matéria de segurança dos géneros alimentícios, deixando aos empresários do sector alimentar a responsabilidade de adoptar as medidas de segurança a aplicar a fim de garantir a inocuidade dos géneros alimentícios (Queirós, 2006).

Uma Norma para Certificação de um Sistema de Segurança Alimentar traz valor acrescentado por proporcionar os critérios para a estruturação, implementação e funcionamento do sistema de gestão, algo que carece da legislação nacional e europeia aplicável, por ser de carácter geral; uniformizar critérios entre países, o que possibilita que se

fale a mesma linguagem, eliminando barreiras à comercialização de produtos por problemas técnicos relativos a falta de higiene ou de segurança alimentar; proporcionar elementos de organização que permitam gerir a segurança alimentar de forma eficaz; manter a confiança dos consumidores através de uma gestão eficaz dos perigos associados aos diferentes processos produtivos; e poder ser comunicado a todos os elos da cadeia alimentar, incluindo o consumidor, em consequência da gestão eficaz do sistema (Queirós, 2006). Isto significa que inocuidade, qualidade e produtividade podem ser abordadas em conjunto, resultando em benefícios para os consumidores, o que se expressa no crescente benefício para a saúde dos consumidores e o desenvolvimento das organizações e da economia em geral (Baptista *et al.*, 2003).

1.1.1. Conceito de Qualidade e Segurança Alimentar

O conceito de Segurança Alimentar surge, pela primeira vez, após o fim da Primeira Guerra Mundial (1914 – 1918) em que um país poderia dominar o outro se tivesse o controlo sobre o seu fornecimento de alimentos, vinculando o conceito de potência económica e militar à capacidade de produção (Burity *et al.*, 2010).

A partir da Segunda Guerra Mundial (1939 – 1945), principalmente com a constituição da Organização das Nações Unidas (ONU), em 1945, este conceito é fortalecido, quando grande parte da Europa não possuía auto-suficiência alimentar, sendo então incorporado o princípio de suficiência ao conceito de Segurança Alimentar (Nascimento & Sousa de Andrade, 2010), o qual associa a insegurança alimentar à produção insuficiente de alimentos nos países pobres. Em resposta, foram instituídas iniciativas de promoção de assistência alimentar, a partir dos excedentes de produção dos países ricos. Neste sentido, foram avaliadas formas de aumentar a produtividade agrícola em países menos desenvolvidos, associada ao uso de novas variedades genéticas, fortemente dependentes de elementos químicos, incluídas na chamada Revolução Verde (Burity *et al.*, 2010).

Em 1974, durante a Conferência Mundial de Alimentação, discute-se a crise mundial de produção de alimentos, sendo proposto que todos os países assumissem uma política de armazenamento estratégico a fim de garantir a estabilidade de oferta de alimentos (Florentino, 2010), garantindo assim, a regularidade do abastecimento (Burity *et al.*, 2010). Na década de 80, com a superação da crise de alimentos, concluiu-se que os problemas da fome e da desnutrição eram decorrentes de problemas de distribuição e não só de produção (Florentino, 2010), assim, o conceito de segurança alimentar, passou a estar relacionado com a garantia de

acesso físico e económico, em quantidades suficientes de alimentos, a todos os países (Burity *et al.*, 2010).

No final da década de 80 e início da década de 90 do século XX, o conceito foi amplificado, incluindo questões referentes às vertentes sanitária, biológica e nutricional (Nascimento & Sousa de Andrade, 2010), sendo consolidado nas declarações da Conferência Internacional de Nutrição, em 1992, pela *Food and Agriculture Organization* (FAO) e pela Organização Mundial de Saúde (OMS), e passa a ser denominado Segurança Alimentar e Nutricional (Burity *et al.*, 2010).

A evolução deste conceito ocorre a nível internacional e nacional e caracteriza-se como um processo contínuo que acompanha as diferentes necessidades de cada povo e de cada época (Burity *et al.*, 2010), no entanto, o conceito de segurança alimentar, centra-se nos riscos para a saúde, sendo definido como “garantia que um alimento não causará dano ao consumidor – através de perigos biológicos, químicos ou físicos – quando é preparado e ou consumido de acordo com o uso esperado.” (Araújo, 2007).

O entendimento de segurança alimentar como sendo a garantia, a todos, de condições de acesso a alimentos básicos de qualidade com base em práticas de produção, processamento, distribuição e comercialização que não comprometam a saúde do consumidor, é, actualmente uma das principais preocupações da indústria alimentar. Tal decorre da evolução da sociedade e da crescente preocupação em consumir produtos seguros e saudáveis; em resposta, a indústria procura produzir alimentos adaptados às exigências do consumidor actual, garantindo a salubridade e aperfeiçoamento da composição nutricional dos alimentos produzidos (Federação das indústrias Portuguesas Agro-Alimentares, 2002).

Os conceitos de segurança alimentar e qualidade são indissociáveis, uma vez que, sendo a qualidade definida como o conjunto de características que irão influenciar a aceitabilidade de um alimento por parte dos consumidores (Gava, 2008), integra, naturalmente, a exigência da sua inocuidade, sendo esta a garantia da segurança alimentar. Contudo, um alimento que seja inócuo, se não corresponder às características sensoriais apreciadas pelo consumidor, ou se não preencher os requisitos nutricionais, da embalagem, conservação, ou outras expectáveis, não será aceite por este (FIPA, 2002).

A indústria alimentar tem promovido a qualidade de forma integrada sem descuidar a segurança alimentar através da implementação de sistemas de controlo de potenciais perigos, e no desenvolvimento de novos produtos, é indispensável o estudo da *shelf-life* ou vida útil do mesmo, de modo a averiguar a conformidade dos seus produtos com os critérios

microbiológicos (Food Safety Authority of Ireland, 2005). Esta avaliação é conduzida para um produto em específico e consiste na determinação objectiva ou preditiva do período de conservação esperado para o alimento, durante o qual não se verifica qualquer alteração que ultrapasse o limite de aceitabilidade comercial, permanecendo apto para consumo (Zoller, 2008).

1.1.2. Conceito de vida útil ou *shelf-life*

Os consumidores estão cada vez mais exigentes relativamente à qualidade dos alimentos e têm a expectativa de que tal qualidade será mantida a nível elevado durante o período entre a compra e o consumo, sendo este período entendido como *shelf-life*, vida útil ou validade de um alimento (Corradini et al., 2007; Ledauphin et al., 2006).

A vida útil ou *shelf-life* de um alimento corresponde ao período de tempo em que este pode ser armazenado sob determinadas condições, permanecendo em condições ideais e adequadas para o consumo (World Food Programme, 2009). Segundo o *Institute of Food, Science & Technology* (2009), durante a *shelf-life* de um alimento este mantém as características sensoriais, físicas, químicas e microbiológicas e cumpre com as alegações nutricionais e de segurança alimentar descritas na respectiva rotulagem, sob as condições de armazenamento recomendadas. O alimento enquanto estiver dentro da validade terá de cumprir duas condições essenciais, a segurança e, conseqüentemente, a qualidade.

O *Codex Alimentarius* (1999) define vida útil de um alimento como “o período durante o qual um alimento conserva a sua segurança microbiológica e a qualidade sensorial, a uma dada temperatura de armazenamento”.

A vida útil de um alimento processado é normalmente determinada pela análise da degradação e decomposição microbiana em função do tempo, condições de armazenamento e do tratamento a que o alimento foi submetido (Ledauphin et al., 2006). Durante esse período de tempo, são observadas as alterações apresentadas pelo alimento e determina-se o tempo que este leva para se alterar/ deteriorar até ao limite que o torna impróprio para o consumo (Corradini et al., 2007).

A vida útil de um produto é estabelecida, essencialmente, tendo em conta as condições de conservação adequadas. No entanto, se estas não forem cumpridas na prática, o alimento perde qualidade e vida útil.

1.1.2.1. Factores que influenciam a vida útil dos alimentos

A vida útil de um alimento pode ser influenciada por diversos factores, condicionando a sua qualidade e sanidade. As alterações que podem ocorrer nos alimentos têm origem biológica, química ou física, nomeadamente:

- a) Multiplicação e actividade dos microrganismos;
- b) Acção enzimática inerente ao alimento;
- c) Reacções químicas não enzimáticas;
- d) Alterações provocadas por pragas;
- e) Mudanças físicas ocasionadas por acção mecânica (Gava *et al.*, 2008).

Os alimentos podem sofrer alterações de qualidade sem perder o nível de segurança, indicando que o produto deixou de satisfazer determinados requisitos (FSAI, 2005), por exemplo, deformações, cortes ou outras alterações provocadas por falhas operacionais como queimaduras ou subprocessamento que podem ocasionar alterações organolépticas e na aparência do alimento, que os tornam inaceitáveis para consumo (Gava *et al.*, 2008).

As alterações de origem biológica são de extrema importância, uma vez que, para além de influenciarem as características organolépticas do alimento, podem afectar a saúde do consumidor (Gava *et al.*, 2008). A sobrevivência e o crescimento da maioria dos microrganismos são directa ou indirectamente influenciados pelas características intrínsecas e extrínsecas dos produtos alimentares. Assim, a vida útil dos produtos alimentares também é significativamente influenciada por essas características (FSAI, 2005).

A vida útil dos produtos alimentares é afectada pela qualidade microbiológica das matérias-primas, formulação do produto, pela observância ou não de requisitos das boas práticas que as caracterizam, embalagem utilizada e das subseqüentes temperaturas utilizadas durante o transporte, armazenamento e uso doméstico, sendo que, nenhuma destas etapas deve ser descurada na determinação da vida útil (FSAI, 2005).

1.2. Produtos cárneos e sua classificação

De acordo com o Regulamento (CE) nº 853/2004 de 29 de Abril de 2004, os produtos cárneos são “os produtos à base de carne, fabricados a partir de carnes ou com carne, que tenham sofrido um tratamento tal que a superfície de corte à vista, permita verificar o desaparecimento das características da carne fresca”.

Os produtos cárneos são preparados com carnes de animais abatidos sob inspecção veterinária, ou outros tecidos animais comestíveis, submetidos a processos tecnológicos

adequados, crus ou cozidos. São classificados segundo a forma, o tamanho, o sistema de acondicionamento, o processo ou a técnica de fabrico e condimentos adicionados, devendo traduzir a utilização da tecnologia adequada para a sua elaboração (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

As características sensoriais devem ser distintas e a superfície deve apresentar-se com características típicas para cada produto. Situações como o invólucro danificado ou superfície húmida ou viscosa indicam alteração. A coloração deve ser rosada no produto curado cozido e avermelhada no curado cru, sem manchas ou alterações da cor característica. A consistência deve ser própria, com maior ou menor firmeza consoante o tipo de produto. O odor e o sabor devem ser característicos e a fracção lipídica não deve apresentar-se com odor ou sabor a ranço (IAL, 2008).

Segundo Vandendriessche (2008), os produtos cárneos podem ser classificados nas categorias apresentadas no Quadro 1.

Quadro 1. Classificação de produtos cárneos transformados (adaptado de Vandendriessche, 2008)

	Músculo Inteiro	Carne picada
Com tratamento térmico	I – Fiambre cozido	II – Merenda de carne
Sem tratamento térmico	III – Presunto Curado	IV – Salsichas

Consideram-se produtos cárneos sujeitos a tratamento térmico, aqueles que durante o seu processamento atingem temperaturas superiores a 50 °C, enquanto que na ausência de tratamento térmico a temperatura de processamento é inferior ao valor indicado, não ocorrendo nestas situações desnaturação significativa das proteínas miofibrilares da carne pelo calor.

Nos produtos cárneos pertencentes à categoria I e II, a tecnologia de conservação é essencialmente o tratamento térmico, que contribui para a destruição de microrganismos. Na categoria III e IV, os produtos possuem um período de vida útil mais extenso uma vez que são submetidos a métodos de conservação tais como a salga e secagem obtendo assim valores de a_w (actividade da água) baixos, ou, devido ao efeito combinado da diminuição dos valores de a_w e pH, induzido pela fermentação (Vandendriessche, 2008).

1.3. Conservação de carne e produtos cárneos

Em França, em 1809, Nicolas Appert, encorajado com a recompensa de 12 mil francos oferecidos por Napoleão para quem desenvolvesse um método de conservação de alimentos, descobriu um processo que consistia em acondicionar alimentos em jarras de vidro fechadas hermeticamente com rolhas que eram aquecidas por um tempo e temperatura definidos, intitulado-o de Apertização (Gava, 2008; Pilcher, 2006).

Em 1890, o inglês Peter Durand desenvolveu um processo idêntico em que eram utilizadas latas metálicas recobertas com estanho. O processo de esterilização utilizado era bastante rudimentar baseando-se em colocar os alimentos enlatados num banho de água a elevadas temperaturas de modo arbitrário (Gava, 2008), sendo inclusivamente, adoptado pela Marinha Inglesa. Em meados de 1830, eram comercializados produtos como peixe e carne enlatados bem como frutas e verduras conservadas pelo método de apertização nos Estados Unidos da América e na Europa (Pilcher, 2006). Ainda durante a Revolução Industrial, em 1861, Winslow, introduziu o uso da salmoura de cloreto de sódio e Raymond Chevalier Appert desenvolveu a autoclave, que esterilizava utilizando vapor, mais tarde aperfeiçoada por Shriver, em 1874, nos EUA (Gava, 2008).

Inerentes a estas evoluções tecnológicas de conservação dos alimentos, surge a possibilidade do consumidor actual, usufruir e armazenar os produtos em sua casa por maiores períodos de tempo (Hulse, 2004).

A conservação dos alimentos, incluindo a da carne e dos produtos cárneos, é conseguida através da aplicação de condições desfavoráveis ao crescimento de microrganismos e/ou do desenvolvimento de reacções químicas/enzimáticas, procurando atrasar ou eliminar as alterações responsáveis pela sua deterioração, que lhes retiram qualidade ou inviabilizam mesmo o seu consumo (Aymerich *et al.*, 2008).

A carne pode sofrer alterações que condicionam a sua qualidade tornando-a inaceitável para consumo humano. Estas alterações ocorrem devido à decomposição química *post-mortem*, rancificação da gordura ou pelo crescimento de microrganismos (Warriss, 2009), pelo que as tecnologias que visam a conservação da carne e produtos cárneos têm em consideração o controlo destes factores.

As alterações de ordem biológica, isto é, relativas à multiplicação e acção de microrganismos, ocorrem essencialmente devido a contaminação *post-mortem*, uma vez que a carne é exposta a microrganismos desde o abate do animal até ao seu consumo. Por estas razões é de suma importância o controlo da higiene e dos factores que condicionam o

desenvolvimento de microrganismos e que afectam a qualidade da carne e dos produtos cárneos (Amerling, 2003).

De modo a garantir que um produto reúne os requisitos de qualidade e segurança e de modo a controlar o crescimento de microrganismos para manter e incrementar a sua vida útil sem que as suas características organolépticas e nutricionais sejam afectadas, a forma de conservação dos produtos é muito importante (Warriss, 2009). A conservação da carne é conseguida através do controlo de parâmetros tais como temperatura, potencial de oxidação-redução, actividade da água (a_w) e uso de conservantes (Amerling, 2003).

1.3.1. A carne como matéria-prima

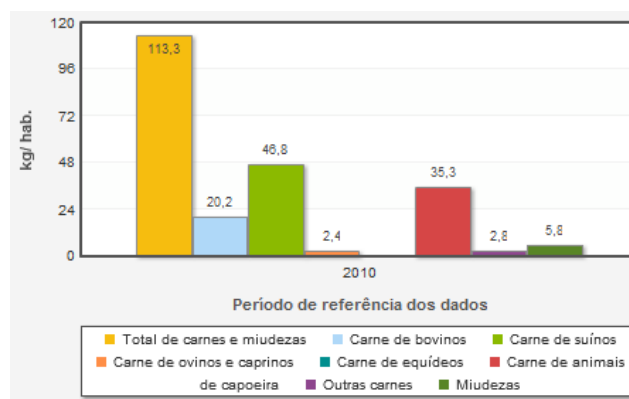
Os hábitos alimentares da população portuguesa alteraram-se, tendo o consumo de carne *per capita* aumentado significativamente (Istituto Nacional de Estatística, 2011), possivelmente, como consequência do desenvolvimento económico e do maior poder de compra das famílias portuguesas.

De acordo com os dados publicados pelo Instituto Nacional de Estatística (INE), o Balanço de Aprovisionamento de Produtos Animais, indica que no período de 2006 a 2010 assistiu-se a um aumento do consumo de carne em Portugal, sendo consumidos cerca de 113,3 kg de carne *per capita* e por ano, em 2010 (Quadro 2), sendo que 46,8 kg correspondem ao consumo de carne de suíno (Quadro 3) (INE, 2011). Esta informação demonstra a preferência dos portugueses por este tipo de carne, a mais utilizada no fabrico da maioria dos produtos cárneos comercializados no nosso país. Os factores associados a este comportamento são o preço e o sabor da carne de suíno (Warriss, 2009), sendo estes os critérios que definem a aceitabilidade dos produtos cárneos.

Quadro 2. Consumo de carne *per capita* (kg/hab.) por tipo de carnes, em Portugal (INE, Balanço de Aprovisionamento de Produtos Animais, 2011).

Período de referência dos dados	Tipo de carnes	Consumo humano de carne per capita (kg/hab.) por Tipo de carnes; Anual
		Local de residência Portugal kg/ hab.
2010	Total de carnes e miudezas	113,3
2009	Total de carnes e miudezas	113,3
2008	Total de carnes e miudezas	112,1
2007	Total de carnes e miudezas	108,9
2006	Total de carnes e miudezas	104,5

Quadro 3. Tipo de carne consumida *per capita* (kg/hab.) em Portugal, no ano de 2010 (INE, Aproveitamento de Produtos Animais, 2011).



Face a esta realidade e de forma a corresponder às exigências do mercado consumidor, é necessário que o sector da indústria alimentar que se dedica á produção de produtos cárneos conheça os factores que interferem nas características físicas e químicas da carne, sendo estes que determinam a sua qualidade e aceitabilidade (Martínez-Cerezo *et al.*, 2005).

O Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal, revisto em 1977, define carnes como “massas musculares maturadas e demais tecidos que as acompanham, incluindo ou não, a massa óssea correspondente, que procede de animais abatidos sob inspeção veterinária” (Araújo & Montebello, 2006).

Muitas das propriedades gastronómicas e nutricionais da carne, bem como, textura, aparência e cor, estão relacionadas com a composição do sistema proteico muscular e com as reacções químicas e bioquímicas que nele ocorrem (Amerling, 2003).

A carne não apresenta uma quantidade significativa de carboidratos, contendo apenas aproximadamente 0,8 a 1% de glicogénio e menores quantidades de outros carboidratos. O conteúdo vitamínico depende muito da espécie, idade e alimentação. A carne é rica em vitaminas, tais como, tiamina (B1), riboflavina (B2), niacina (B3), piridoxina (B6) e cobalamina (B12), contudo é pobre em vitaminas E e K, contendo, no entanto, um teor muscular de vitamina A superior, em relação às outras vitaminas lipossolúveis. Relativamente a minerais, a carne é fonte de ferro e fósforo (100mg por 100g), apresenta entre 60 a 90mg de sódio, e, aproximadamente 300mg de potássio por 100g; contudo, é pobre em cálcio (Araújo *et al.*, 2009).

Apesar de qualquer tipo de carne poder ser utilizada no fabrico do fiambre, a carne de porco continua a ser a mais utilizada neste tipo de produto cárneo (Toldrá, 2010). Esta,

classificada como carne vermelha, é rica em nutrientes, tais como, proteína de alto valor biológico, ácidos gordos monoinsaturados, minerais e vitaminas do complexo B, contendo cinco vezes mais tiamina que as carnes de outras espécies (Araújo *et al.*, 2009). O teor de gordura e o respectivo valor calórico depende da raça, cruzamento e da localização anatómica da carne do animal. Actualmente a composição da carne suína consiste em 72% de água, 20% de proteínas, 7% de gordura, 1% de minerais e menos de 1% de carboidratos (Sarcinelli *et al.*, 2007).

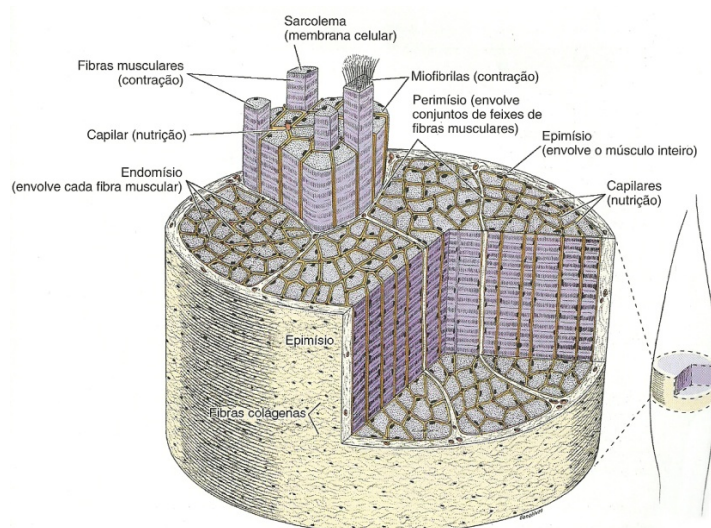
As carnes vermelhas de forma genérica, caracterizam-se pela cor que varia de intensidade dependendo da espécie, da raça, da idade, do exercício que a massa muscular desenvolve e da quantidade de mioglobina presente no tecido muscular. A mioglobina é composta por uma porção proteica denominada globina e uma porção não proteica denominada grupo heme. A cor típica da carne de suíno é rosa avermelhada (Araújo & Montebello, 2006).

A carne consiste em tecido muscular esquelético e é composto por gordura, tecido conjuntivo e fibras musculares. Estas estão organizadas em grupos de feixes envolvidos por uma camada de tecido conjuntivo chamada epimísio, que envolve a totalidade do músculo. Do epimísio partem finos septos de tecido conjuntivo que se dirigem para o interior do músculo, separando os feixes de fibras, que constituem o perimísio. Cada fibra muscular, é envolvida individualmente pelo endomísio, formado por tecido conjuntivo associado a fibras reticulares (Figura 1). O tecido conjuntivo mantém as fibras musculares unidas, permitindo que a força de contracção gerada por cada fibra individualmente actue sobre todo o músculo (Junqueira & Carneiro, 2008).

Cada fibra muscular contém muitos feixes cilíndricos de filamentos, as miofibrilhas. Estas são constituídas por filamentos finos de actina e filamentos grossos de miosina dispostos longitudinalmente e organizados numa distribuição simétrica e paralela (Junqueira & Carneiro, 2008). A actina e a miosina correspondem a 55% das proteínas que compõem as miofibrilhas. São insolúveis em água e em soluções salinas diluídas (Araújo *et al.*, 2009), sendo solúveis em soluções salinas concentradas, em que o sal permite solubilizar estas proteínas, exercendo portanto, uma função importante nas emulsões de enchidos.

Os filamentos de actina constituem 15 a 30% das proteínas contrácteis miofibrilares, enquanto os de miosina representam 50 a 60% (Araújo & Montebello, 2006).

Figura 1. Desenho esquemático ilustrativo da organização do músculo estriado esquelético (Junqueira & Carneiro, 2008).



As proteínas miofibrilhares são muito importantes na indústria alimentar porque influenciam características sensoriais devido à elevada capacidade de retenção de água e de emulsificação, especialmente nos processos de congelamento, descongelamento e coacção entre proteínas. Estes efeitos influenciam a maciez e suculência das carnes. Sob o ponto de vista económico, as proteínas miofibrilhares são muito importantes porque a perda da capacidade de reter moléculas de água pode significar menor rendimento nos cortes (Araújo *et al.*, 2009).

As diferenças na composição e na estrutura muscular influenciam a textura do alimento, como tal, o abate e as reacções *post-mortem* são relevantes, pois a textura muscular é decorrente do nível de contracção das proteínas miofibrilhares, responsáveis pela contracção dos músculos (Araújo *et al.*, 2009).

1.3.1.1. Transformação do músculo em carne

O processo de transformação do músculo em carne compreende uma série de reacções bioquímicas responsáveis por alterações nas características físico-químicas do tecido muscular, que dependem do manuseio *ante-mortem*, do processo de abate e das técnicas de armazenamento da carne (Araújo *et al.*, 2009).

Após o abate do animal por sangria, ocorre interrupção do fluxo sanguíneo e, com isto, é interrompido o aporte de energia e nutrientes, assim como a excreção de metabolitos celulares. Contudo, as funções vitais do sistema muscular não cessam no momento da morte

do animal, continuando a exercer as suas funções metabólicas na tentativa de manter a homeostase (Prändl *et al.*, 1994).

Tornam-se disponíveis três fontes de energia: ATP (adenosina trifosfato), fosfocreatina e o glicogénio. Tanto o ATP como a fosfocreatina estão presentes em pequenas quantidades no músculo, fazendo com que o glicogénio seja a principal fonte de energia para a glicólise. Assim, o teor de glicogénio a nível muscular momentos antes do abate, irá definir significativamente a formação do ácido láctico e a consequente queda do pH (Prändl *et al.*, 1994).

Aquando da morte, com a interrupção do aporte de oxigénio aos músculos, ocorre hidrólise do ATP, o qual numa primeira fase pós morte é ressintetizado devido à fosfocreatina e glicogénio. A metabolização da glicose em condições de anaerobiose produz ácido láctico que provoca a descida do pH muscular para valores entre os 5.5 e 5.7. Nesses valores de pH ocorre desnaturação proteica e inibição do sistema enzimático, cessando a glicólise. O complexo actina-miosina estabelece-se de maneira irreversível, instalando-se o *rigor mortis* (Hui, 2006).

Rigor mortis, ou rigidez cadavérica, consiste na rigidez muscular caracterizada pela interacção permanente entre os filamentos de actina e miosina, provocando a perda de elasticidade, o encurtamento do músculo e o aumento de tensão, tornando a carne rija (Hui, 2006).

Após o *rigor mortis*, a capacidade de retenção de água aumenta devido à reorganização da estrutura das miofibrilhas, sem alteração do pH. Essa capacidade é também influenciada por factores *ante-mortem*, tais como *stress*, temperatura, luz, ruído, maneo e nutrição. Estes factores conduzem à redução parcial da reserva de glicogénio nos músculos e provocam o aumento na capacidade de retenção de água (Araújo *et al.*, 2009).

Assim, na conversão do músculo em carne, a queda do pH muscular e a resolução do *rigor-mortis*, são fenómenos de extrema importância.

O pH final da carne influencia a conservação e as propriedades tecnológicas da carne, isto é, valores de pH entre 5.4 e 5.8 correspondem a uma acidificação adequada da carne (Araújo *et al.*, 2009) valores superiores de pH final podem comprometer a conservação da carne e aumentar a retenção de água favorecendo o crescimento de microrganismos.

1.3.2. Factores que afectam a conservação da carne e produtos cárneos

Graças à descoberta de Louis Pasteur, em 1857, que provou que o processo fermentativo resulta da acção de organismos vivos, os métodos utilizados na conservação dos alimentos baseiam-se sobretudo na destruição dos microrganismos ou na criação de condições desfavoráveis para a sua multiplicação (Gava, 2008).

A deterioração dos alimentos, tal como a carne e produtos cárneos, é influenciada pela presença de microrganismos, sendo crucial minimizar a sua quantidade através da aplicação de boas práticas durante a manipulação dos alimentos.

A rapidez de multiplicação microbiana nas carnes depende do seu teor em microrganismos psicrotróficos, dos aumentos de temperatura de armazenamento e do aumento da a_w (Warriss, 2009).

A flora de degradação das carnes armazenadas em aerobiose e em ambientes refrigerados é essencialmente constituída por bactérias Gram negativas psicrotróficas aeróbias, e, quando atingem teores da ordem dos 10^7 ufc/cm², surgem sinais de decomposição, caracterizados pelo aparecimento de odores desagradáveis (sulfídrico-amoniacal) e formação de colónias na superfície, representando a putrefacção superficial. A contaminação da carne pode ocorrer em todas as fases das operações de abate, armazenamento e distribuição e a sua intensidade dependerá da eficiência das medidas de higiene adoptadas (Warriss, 2009).

Os métodos de processamento e conservação dos alimentos, sejam de carácter físico ou químico, alteram as características do produto e vão determinar a microflora associada a cada tipo de alimento (Hui, 2006). Assim, de modo a aumentar a vida útil de um alimento deve-se actuar nos factores que influenciam a sobrevivência e o crescimento microbiano, sendo que a quantidade e espécies pré-existentes e o seu posterior crescimento são influenciados por factores intrínsecos e extrínsecos (Warriss, 2009).

Os factores intrínsecos estão relacionados com o produto, correspondendo às propriedades físicas, composição química e propriedades biológicas do mesmo, sendo importantes a actividade da água (a_w), o pH, potencial redox, os nutrientes disponíveis e os constituintes antimicrobianos. Os factores extrínsecos, relacionados com o meio ambiente, correspondem à temperatura, humidade relativa e a composição da atmosfera (Gava, 2008; Warriss, 2009; Hui, 2006).

A actividade da água (a_w) é definida como a quantidade de água livre ou disponível nos alimentos. Estes podem ter um valor de a_w elevado (>0.92), intermédio (0.85-0.92) ou baixo (<0.85) (FSAI, 2005).

A maioria das bactérias patogénicas necessita de valores de a_w elevados, entre 0.97 e 0.99, sendo que, quando os valores de a_w rondam os 0.90, a produção de toxinas é inibida, e o seu crescimento encontra-se controlado com valores de 0.85, exceptuando *Staphylococcus aureus* que consegue crescer e produzir toxinas a valores de a_w inferiores a 0,90 (Baptista & Linhares, 2005).

Relativamente aos valores de pH, os alimentos são classificados em ácidos (<4.5), em pouco ácidos (4.6-7.0) onde são incluídos a carne e produtos cárneos, neutros (=7.0) e em alcalinos (>7.0) (Baptista & Linhares, 2005; FSAI, 2005).

A maioria dos microrganismos não consegue multiplicar-se a valores de pH de 4.5 (Baptista & Linhares, 2005), sendo o pH óptimo de crescimento situado entre 6.0 e 8.0. Contudo, é de salientar que o pH dos alimentos é variável, devido à actividade microbiana e à composição ou formulação do produto (FSAI, 2005).

Nutrientes como a água, proteínas, lípidos, carboidratos, vitaminas e sais minerais, promovem o desenvolvimento de microrganismos e a manutenção das suas funções metabólicas (Baptista & Linhares, 2005; FSAI, 2005).

Algumas formas de processamento, tais como a fumagem de carnes, processos térmicos e fermentativos resultam na formação de substâncias antimicrobianas em produtos alimentares (Baptista & Linhares, 2005; FSAI, 2005).

Relativamente aos factores extrínsecos que influenciam o crescimento de microrganismos e consequentemente afectam a conservação dos alimentos, a temperatura é especialmente importante, na medida em que pode potenciar, retardar ou inibir a sobrevivência e o crescimento microbiano, estando a vida útil do produto dependente da temperatura de armazenamento (FSAI, 2005). A maioria das bactérias patogénicas possui uma temperatura óptima de crescimento de cerca de 37 °C (Quadro 4.), contudo, segundo a *World Health Organization*, temperaturas entre os 5 e 60 °C são propícias ao desenvolvimento rápido de microrganismos (WHO, 2008), a temperaturas inferiores a 5°C o seu desenvolvimento é retardado e acima dos 60 °C as bactérias são eliminadas (Baptista & Linhares, 2005), exceptuando os microrganismos termófilos que conseguem crescer a temperaturas até 90 °C.

Quadro 4. Temperaturas de crescimento dos microrganismos (adaptado de Adams & Moss, 2006).

Grupo	Temperatura (°C)		
	Mínima	Óptima	Máxima
Termófilos	40-45	55-75	60-90
Mesófilos	5-15	30-40	40-47
Psicrófilos (psicrófilos obrigatórios)	-5 a +5	12-15	15-20
Psicrotróficos (psicrófilos facultativos)	-5 a +5	25-30	30-35

Outro factor importante é a humidade relativa, que consiste na quantidade de vapor de água presente na atmosfera. Este factor influencia a actividade da água presente no alimento, aumentando o seu valor quando armazenado num ambiente com elevada humidade relativa e é dependente da temperatura, uma vez que quanto maior for a temperatura, menor será a humidade relativa (Baptista & Linhares, 2005).

Em relação à composição da atmosfera envolvente, esta tem influência no crescimento de microrganismos nos alimentos. Assim, foram desenvolvidas alterações da composição dos gases da embalagem do produto alimentar, tais como a embalagem a vácuo e em atmosfera modificada, permitindo alargar o seu período de vida útil. Para carnes e produtos cárneos recorre-se a atmosferas ricas em dióxido de carbono de modo a prolongar o tempo de armazenamento dos mesmos (Baptista & Linhares, 2005; FSAI, 2005). Contudo, a eficácia das atmosferas protectoras dos produtos pode ser comprometida pela temperatura, nível de contaminação e tipo de microrganismo presente inicialmente, bem como as propriedades da embalagem e a composição bioquímica do alimento (Baptista & Linhares, 2005).

Devido à elevada percibibilidade das carnes, é necessário recorrer à utilização de tecnologias de conservação que inibam o crescimento microbiano, tais como o arrefecimento rápido, a congelação, a secagem, a salga, a fumagem e a conservação química com recurso a aditivos (Toldrá, 2010).

1.3.2.1. Principais microrganismos que afectam a vida útil de produtos cárneos

Os microrganismos determinam a qualidade higio-sanitária dos alimentos, pelo que o seu controlo dos microrganismos presentes nos alimentos é um procedimento de extrema importância, tendo em vista a garantia da saúde dos consumidores (Doyle & Beuchat, 2007).

O número e tipo de microrganismos presentes num alimento permitem avaliar a qualidade microbiológica de um alimento (Doyle & Beuchat, 2007).

De entre os microrganismos que intervêm nos alimentos as bactérias são o grupo de maior relevância. Estas multiplicam-se no alimento em determinadas condições favoráveis ao seu desenvolvimento, alterando a composição química do produto, provocando, conseqüentemente, modificações na aparência, no cheiro e no sabor (Gava *et al.*, 2008).

A importância das bactérias em relação à carne reside principalmente no facto destas estarem intimamente ligadas a processos de deterioração e de intoxicação/infecção alimentar. A carne é um substrato de excelência para o desenvolvimento de microrganismos, principalmente devido à sua elevada actividade da água (0.99) e aos seus componentes de baixo peso molecular (hidratos de carbono, lactatos e aminoácidos) (Velo, 2005). Podem existir dois tipos de contaminação microbiana: a que é causada por bactérias patogénicas e a provocada por microrganismos que alteram a carne, provocando a sua deterioração (Warriss, 2009). Relativamente à contaminação a cargo de microrganismos patogénicos, das bactérias que mais especificamente são transmitidas pela carne destacam-se a *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella spp.*, *Campylobacter*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* e *Clostridium spp.*. Comparativamente, as bactérias Gram-negativas pertencentes aos géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter* e *Psychrobacter*, surgem frequentemente associadas a alterações nas suas características, assim como as bactérias Gram-positivas dos géneros *Micrococcus*, *Bacillus* e *Bronchotrix* (Velo, 2005).

A contaminação por ambos os grupos de microrganismos, patogénicos ou de decomposição, pode ocorrer em todas as fases de produção, armazenamento e distribuição, e o seu nível depende da eficiência das medidas de higiene aplicadas (Warriss, 2009).

1.3.2.1.1. Microrganismos indicadores de higiene

A presença de bactérias nos alimentos, além de favorecer a deterioração e/ou redução da vida útil desses produtos, acarreta potenciais riscos para a saúde dos consumidores (Carvalho, 2005).

A designação de microrganismos indicadores atribui-se aos grupos ou espécies de microrganismos cuja avaliação irá facultar informações sobre as condições higio-sanitárias do processamento e armazenamento, possível presença de microrganismos patogénicos da mesma origem ecológica e indicação da potencial deterioração do alimento (Hajdenwurcel, 2004).

De forma a minimizar a preocupação dos consumidores, é indispensável assegurar uma adequada higiene dos alimentos de modo a garantir a segurança dos mesmos, em todas as

etapas de produção até ao produto final (Carvalho, 2005). A presença de microrganismos indicadores em níveis elevados poderá indicar matéria-prima contaminada, limpeza e desinfecção de superfícies inadequadas ou condições impróprias de tempo e temperatura durante a produção e/ou conservação dos alimentos (Forsythe, 2010).

O seu crescimento e presença em número elevado prejudica a qualidade do produto, devendo ser facilmente detectado e enumerado e ser facilmente distinguível de outros microrganismos, deve poder ser enumerado num curto espaço de tempo e o seu crescimento não deve ser afectado de forma adversa por outros componentes da flora do alimento (Jay *et al.*, 2005).

Nos produtos cárneos, a presença de microrganismos indicadores é comercialmente significativa se se obtiver contagens superiores a 10^7 ufc/g resultando habitualmente em alterações sensoriais, condicionando a aceitabilidade por parte do consumidor e a vida útil do produto (Lund *et al.*, 2000).

A pesquisa de microrganismos indicadores é utilizada para avaliar a qualidade microbiológica dos alimentos e apontar possíveis riscos de contaminação de origem fecal com a provável presença de agentes patogénicos que acarretem perigos para a saúde dos consumidores (Carvalho *et al.*, 2005) sendo que os considerados relevantes para a qualidade dos produtos cárneos são inseridos nos critérios de higiene dos processos.

1.3.2.1.1.1. Microrganismos aeróbios mesófilos e psicotróficos

Os microrganismos aeróbios mesófilos são indicadores da qualidade higiénica dos géneros alimentícios, fornecendo indicações relativamente ao seu prazo de validade (Cardoso *et al.*, 2005).

A pesquisa deste tipo de microrganismos tem por objectivo determinar a carga microbiana total do alimento detectando os microrganismos viáveis cujo intervalo de temperatura óptima de crescimento se situa entre os 20 e 37 °C em condições de aerobiose (Hajdenwurcel, 2004).

Contagens elevadas de microrganismos mesófilos indicam falhas ao nível da qualidade das matérias-primas, na limpeza e desinfecção de equipamentos e locais, na higiene do pessoal ou nas condições de armazenamento, uma vez que existiram condições abusivas de tempo e temperatura que permitiram o desenvolvimento destes microrganismos (Cardoso *et al.*, 2005).

Os microrganismos com capacidade de crescimento a temperaturas de refrigeração designam-se microrganismos psicotróficos, possuindo temperaturas de crescimento entre os 0 e os 7 °C, sendo normalmente responsáveis por grande parte das alterações dos produtos pasteurizados (Warriss, 2009). No entanto, para alguns destes microrganismos, a temperatura óptima situa-se entre 25°C e 30°C e a temperatura máxima normalmente é de 30°C a 42°C. Devido à utilização cada vez mais frequente, na cadeia alimentar de tecnologias de conservação pelo frio, os psicotróficos têm ganho destaque na indústria alimentar (Adams & Moss, 2008) sendo também microrganismos indicadores de higiene dos processos, as boas práticas sanitárias e de produção são determinantes na prevenção do crescimento de importantes patogénicos psicotróficos como *Listeria monocytogenes* e a *Yersinia enterocolitica* (Silva *et al.*, 2010).

Os resultados obtidos numa contagem de microrganismos mesófilos e psicotróficos são úteis para avaliar as condições de processamento dos alimentos. Contagens elevadas destes microrganismos podem resultar na deterioração dos alimentos com consequente diminuição do período de vida útil do produto (Hajdenwurcel, 2004).

1.3.2.1.1.2. Coliformes totais e *Escherichia coli*

A presença de coliformes totais e *Escherichia coli* em alimentos processados é considerada uma indicação de contaminação pós-processamento, sugerindo a ocorrência de falhas nas práticas de higiene, sendo assim indicadores da sua qualidade higio-sanitária e da potencial presença de microrganismos patogénicos (Silva *et al.*, 2010).

Segundo Hajdenwurcel (2004), o grupo coliformes totais compreende as bactérias anaeróbias facultativas, bastonetes Gram-negativos, não esporulados, com capacidade para fermentar lactose com produção de gás a 32 – 35 °C em de 48 horas. Estão incluídos neste grupo géneros como *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, no entanto, o principal microrganismo representante do grupo é a *Escherichia coli*, sendo o indicador específico de contaminação fecal (Forsythe, 2010).

Escherichia coli é um bastonete Gram negativo móvel, predominantemente anaeróbio facultativo, pertencente à família *Enterobacteriaceae*. Desenvolve-se entre os 7-10 °C demonstrando uma temperatura óptima de crescimento a 37 °C e máxima a 50 °C (Adams & Moss, 2008; Forsythe, 2010). A maioria das estirpes de *E. coli* não são patogénicas sendo comensais da flora intestinal normal do homem e de alguns animais (Adams & Moss, 2008). No entanto, existem estirpes oportunistas que detêm factores de virulência que podem

provocar gastroenterite, infecções do tracto urinário e septicémia/meningite em humanos (Weintraub, 2007). Dependendo da estirpe envolvida, as infecções provocadas por *E. coli* patogénica podem traduzir-se em diferentes síndromas, considerando-se seis tipos: *E. coli* enteropatogénica (EPEC), *E. coli* enterotoxinogénica (ETEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* aderente de forma difusa (DAEC) e *E. coli* enteroagregativa (EAEC) (Forsythe, 2010).

Os ruminantes podem ser vectores assintomáticos de estirpes virulentas desempenhando um factor importante na origem de infecções por *E. coli*, sendo mais frequentemente colonizados por EHEC do que outros animais (Holko *et al.*, 2006). Têm sido registados surtos provocados pelo serotipo EHEC O157:H7 em produtos de carne picada (Adams & Moss, 2008).

1.3.2.1.1.3. Bactérias ácido lácticas

As bactérias ácido-lácticas são classificadas como Gram positivas, aeróbias e anaeróbias facultativas, não esporuladas e podem produzir uma variedade de compostos antagónicos ao crescimento de outras bactérias (Jones, 2004), apresentando o ácido láctico como principal produto da fermentação de carboidratos (Adamberg *et al.*, 2003). A presença destes organismos fermentativos é indicativa da possibilidade de alteração da qualidade do produto final, uma vez que a actividade metabólica das bactérias ácido-lácticas provoca a deterioração dos produtos cárneos embalados a vácuo ou em atmosfera modificada, que se evidencia através de odor e aroma azedos, desvanecimento da cor, exsudado leitoso e viscoso, e embalagem opada (Mataragas *et al.*, 2007).

Este grupo de microrganismos é utilizado no processamento de carnes, bebidas alcoólicas e vegetais, nomeadamente produtos fermentados, presunto curado, vinhos, cerveja e pickles. Apesar de serem considerados microrganismos não patogénicos e de possuírem efeitos benéficos na indústria alimentar podem provocar alterações organolépticas nos alimentos, como referido anteriormente (Carr *et al.*, 2002).

As bactérias ácido-lácticas constituem parte da microflora natural de muitos produtos cárneos armazenados a temperaturas de refrigeração (Cayré *et al.*, 2003; Hugas, 1998). As estirpes geralmente consideradas como naturais em carnes e produtos cárneos são: *Carnobacterium piscicola* e *C. divergens*, *Lactobacillus (Lb.) sakei*, *Lb. viridescens*, *Lb. curvatus* e *Lb. plantarum*, *Leuconostoc (Lc.) mesenteroides subsp. mesenteroides*, *Le. gelidum* e *Le. carnosum*. Os produtos derivados da actividade metabólica destes microrganismos são

importantes na preservação dos alimentos, no entanto, algumas espécies podem provocar deterioração em carnes e produtos cárneos (Hugas, 1998).

O género *Lactobacillus* é um componente essencial da população microbiana em carnes e produtos cárneos, com influência na sua qualidade, provocando odores e sabores ácidos e azedos, causadores de deterioração (Carr *et al.*, 2002) quando a sua população atinge 8.3-8.9 log ufc/g (Mataragas *et al.*, 2006).

1.3.2.1.2. Microrganismos patogénicos

A presença de microrganismos patogénicos nos alimentos representa um risco directo e potencialmente grave para o consumidor, indicando ainda uma falha nas práticas de higiene durante o processamento do produto.

A utilização de temperaturas de armazenamento inadequadas, entre outros factores, podem aumentar significativamente o risco potencial associado a estes agentes (Food and Drug Administration/Center of Food Safety and Applied Nutrition, 2005).

As doenças de origem alimentar são caracterizadas como, infecções alimentares associadas à ingestão e multiplicação de um determinado microrganismo patogénico, podendo ou não libertar toxinas; e por intoxicações alimentares, resultantes da ingestão de toxinas pré-formadas no alimento ingerido (Adams & Moss, 2008).

Os casos notificados em 2010 pelo *Rapid Alert System for Food and Feed* (RASFF), comparativamente com os anos anteriores, indicam a carne e produtos cárneos como os principais implicados na ocorrência de doenças de origem alimentar. No mesmo ano, foram referenciados em Portugal 3 ocorrências de perigos de origem biológica em géneros alimentícios, relativos a microrganismos patogénicos.

Assim, de modo a controlar o desenvolvimento destes microrganismos nos produtos cárneos, é crucial conhecer-se as suas características, permitindo um melhor controlo dos perigos que constituem para o consumidor.

1.3.2.1.2.1. *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes é uma de seis espécies do género *Listeria*, incluindo também *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri* e *L. grayi*. São bastonetes móveis, Gram-positivos, não esporulados, anaeróbios facultativos e psicrotróficos podendo crescer entre 1 e os 44 °C (Ray & Bhunia, 2007). O pH óptimo situa-se entre os 6 e 8 e possui capacidade de crescimento sob valores de a_w inferiores a 0.93 (Jay *et al.*, 2005).

É um microrganismo ubiqüitário, sendo isolado do solo, da água, de esgotos e vegetais em decomposição, de silagem e das fezes de vários animais selvagens e domésticos (Adams & Moss, 2008; Ray & Bhunia, 2007). Os alimentos envolvidos em surtos de infecção por *Listeria monocytogenes* são principalmente aqueles sem processamento antes do respectivo consumo, tais como, leite cru, os laticínios produzidos com leite cru, peixe fumado, fiambre e alguns enchidos. Estão também implicados os queijos de pasta mole, patés, marisco e peixe, vegetais, leite pasteurizado e gelados (Ray & Bhunia, 2007). A dose infecciosa ainda não está determinada, mas estima-se ser superior a 10^3 ufc por grama de alimento (Adams & Moss, 2008).

L. monocytogenes afecta o indivíduo através do consumo de alimentos contaminados, provocando Listeriose, estando relacionada com a ocorrência de meningite, encefalite e septicémia, com uma taxa de mortalidade entre os 20 e os 40%. Em mulheres grávidas pode provocar o aborto e em recém-nascidos, infecções generalizadas e meningite. O consumo de alimentos com elevada concentração de *L. monocytogenes* pode originar sintomas semelhantes aos de outras gastroenterites de origem alimentar, estando também relacionados com alimentos refrigerados durante longos períodos sob temperaturas abusivas. A maioria dos casos, atinge indivíduos imunocomprometidos (Ray & Bhunia, 2007). Dos casos notificados de *Listeria monocytogenes*, o relatório anual de 2010 do RASFF, indicou a sua presença essencialmente em produtos à base de peixe, em produtos pronto-a-comer e em queijos.

O facto de existirem portadores assintomáticos de *L. monocytogenes*, poderá ser a razão para a elevada taxa de contaminação dos géneros alimentícios de origem animal (Ray & Bhunia, 2007). Este microrganismo pode tornar-se endémico em ambientes de processamento alimentar, como biofilme, colonizando superfícies, utensílios, salmouras, entre outros; sendo associada à principal causa de contaminação dos produtos finais em algumas linhas de processamento (Chambel *et al.*, 2007).

A detecção de *L. monocytogenes* nos alimentos sugere a existência de contaminação pós-processamento, podendo ocorrer contaminação cruzada devida ao contacto com matérias-primas não processadas (Chambel *et al.*, 2007), pelo que o cumprimento das boas práticas de higiene e fabrico é fulcral para o controlo da contaminação.

1.3.2.1.2.2. *Salmonella* spp.

O género *Salmonella* compreende duas espécies: *S. bongori* e *S. enterica*, esta última é dividida em seis subespécies, sendo a mais frequente *S. enterica subsp. enterica*. São bacilos Gram-negativos, da família *Enterobacteriaceae*, não esporogénicos, anaeróbios facultativos, catalase positivo e oxidase negativo, produtores de ácido e gás a partir da glucose, utilizam o citrato como fonte de carbono, geralmente produzindo sulfureto de hidrogénio (Adams & Moss, 2008; Montville & Matthews, 2008). Existem cerca de 2400 serótipos, cuja classificação é efectuada em função da estrutura dos antígenos somáticos – parede celular (O), flagelares (H) e capsulares (Vi) (Adams & Moss, 2008).

Salmonella spp. é uma bactéria ubiqüitária, que se encontra difundida no ambiente, tendo como principal reservatório o tracto gastrointestinal de animais homeotérmicos (Adams & Moss, 2008). Assim, produtos de origem animal, como carne, leite e ovos, são frequentemente contaminados, durante a sua produção, devido a práticas de higiene incorrectas, sendo possível a contaminação de superfícies, equipamentos e utensílios. A contaminação pode ocorrer quando são introduzidos microrganismos nas zonas de preparação de géneros alimentícios, nas quais encontram condições de multiplicação, tais como, temperaturas de armazenamento incorrectas, processamento inadequado ou ainda, por contaminação cruzada com outros produtos prontos-a-comer.

A temperatura de crescimento óptima dos microrganismos pertencentes ao género *Salmonella* situa-se nos 37 °C, podendo no entanto fazê-lo entre os 5 e os 47 °C, em condições de a_w de cerca de 0.93 e pH de 7 (Adams & Moss, 2008).

A dose infecciosa de *Salmonella* spp. é elevada, cerca de 10^6 , no entanto, a incidência de Salmonelose é influenciada por factores como a virulência do serótipo, a susceptibilidade do indivíduo e o alimento envolvido. A forma clínica da Salmonelose pode corresponder à febre tifóide e paratifóide ou a enterocolite. A sintomatologia caracteriza-se essencialmente, por náuseas, dores abdominais, diarreia, vómitos e febre (Adams & Moss, 2008).

Foram notificadas 345 situações em com a detecção de *Salmonella* no ano de 2010, segundo o relatório efectuado pelo RASFF. Foi ainda notificada a presença de *Salmonella* Typhimurium em hambúrgueres congelados provenientes de Itália, representando o maior surto no total de casos relatados pelo RASFF em 2010.

O relatório de Doenças de Declaração Obrigatória 2004-2008 da Direcção Geral de Saúde (DGS) refere que em Portugal, no ano de 2008 foram notificados 46 casos de febre tifóide e paratifóide e 347 casos de outras salmoneloses (Direcção Geral de Saúde, 2010).

Tendo em conta as fontes de infecção, a prevenção da contaminação por *Salmonella* spp. implica o controlo na produção, processamento e distribuição dos produtos alimentares.

1.3.2.1.2.3. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus é uma bactéria pertencente ao género *Staphylococcus* e inclui cocos Gram-positivos, anaeróbios facultativos e mesófilos com uma temperatura óptima de crescimento a 37 °C, pH óptimo entre 7,0 e 7,5. Fermentam glicose com produção de ácido e produzem toxinas em condições de aerobiose (Adams & Moss, 2008; Ray & Bhunia, 2007).

A intoxicação estafilocócica é provocada pela ingestão de alimentos com enterotoxinas produzidas por algumas espécies de *Staphylococcus*, sendo associadas a estirpes de *S. aureus* que produzem coagulase (Jay *et al.*, 2005). Estas toxinas são proteínas hidrossolúveis e termorresistentes resistentes a valores de a_w tão baixos como 0.85 (Adams & Moss, 2008). Os alimentos mais frequentemente implicados em intoxicações por *Staphylococcus aureus* são os produtos de pastelaria com creme ou recheio, recheios de carne, saladas e queijos. A quantidade mínima de enterotoxina necessária para desencadear a doença é de 100 a 200 ng produzidos por 10^{6-7} ufc/g (Jay *et al.*, 2005; Ray & Bhunia, 2007) sendo caracterizada por náuseas, vómitos, dores abdominais e diarreia. Estão descritos também sudorese, tremores, dores de cabeça e desidratação, manifestando-se 2 a 8 horas após a ingestão dos alimentos contaminados (Ray & Bhunia, 2007).

De acordo com o relatório anual de 2010 do RASFF, foi detectada a presença de *S. aureus* em cereais e produtos de pastelaria e em frutas e vegetais em menos de 20 casos reportados.

S. aureus é um microrganismo ubíquo e comensal da pele e mucosas de animais homeotérmicos (Adams & Moss, 2008; Jay *et al.*, 2005). É também resistente à humidade podendo instalar-se em equipamentos usados no processamento de alimentos (Ray & Bhunia, 2007).

A presença de *S. aureus* nos géneros alimentícios resulta essencialmente da contaminação após o processamento térmico, pelos manipuladores portadores do microrganismo, pelos biofilmes nas superfícies ou quando matérias-primas contaminadas são

armazenadas em contacto ou nas proximidades de alimentos já processados ou de superfícies de trabalho (Adams & Moss, 2008).

A presença de valores elevados de *Staphylococcus* coagulase positiva num determinado alimento, é indicativa de higienização inadequada e controlo de temperaturas incorrecto, e da potencial presença de enterotoxina de *Staphylococcus aureus*, sendo indicador de segurança e inocuidade do alimento (Jay *et al.*, 2005).

1.3.2.1.2.4. *Clostridium perfringens*

Os microrganismos pertencentes ao género *Clostridium spp.* são bastonetes Gram-positivos, produtores de esporos, sulfito redutores, imóveis e anaeróbios estritos. A temperatura óptima de crescimento ocorre aos 45 °C, podendo crescer entre os 10 e os 52 °C (Ray & Bhunia, 2007), em condições de a_w mínimo de crescimento de 0.95 a 0.97 e pH entre 5.5-8.0 (Adams & Moss, 2008).

O género *Clostridium spp.* é composto por várias espécies e cada uma delas é caracterizada por ter um conjunto de factores de virulência distinto. Dentro dessas espécies destaca-se o grupo dos clostrídios sulfito redutores que se caracterizam por reduzir o sulfito a sulfureto de hidrogénio a 46 °C. A sua determinação na análise de alimentos dá indicação simples e rápida da potencial presença de *Clostridium perfringens* nos alimentos (Adams & Moss, 2008).

Estes microrganismos podem ser isolados no solo, poeira, água, vegetais e especiarias, e no trato intestinal do Homem e outros animais (Jay *et al.*, 2005; Ray & Bhunia, 2007). Sendo um habitante normal do intestino dos animais, *C. perfringens* pode contaminar as carcaças durante o abate, ou posteriormente, através de recipientes, manipuladores ou poeira (Jay *et al.*, 2005) pelo que os alimentos de origem animal são os reservatórios mais comuns deste microrganismo.

Alimentos proteicos de origem animal, carne e produtos cárneos, são os que mais frequentemente se encontram contaminados com células vegetativas ou esporos de *C. perfringens*, sendo geralmente implicados na ocorrência de surtos de intoxicação (Toldrá, 2010). Dado tratar-se de um microrganismo amplamente distribuído pode ser encontrado em quase todos os alimentos (Jay *et al.*, 2005).

As toxinfecções por *Clostridium perfringens* são geralmente causadas pela ingestão de alimentos preparados com antecedência e arrefecidos lentamente e/ou inadequadamente refrigerados, tal como corrobora o relatório anual emitido pelo RASFF, que, no ano de 2010,

os casos notificados foram devidos à presença de esporos de *Clostridium* spp. em alimentos confeccionados e *snacks*. Sendo as enterotoxinas produzidas responsáveis pela intoxicação alimentar (Jay *et al.*, 2005). Os sintomas aparecem em 8 a 24 horas após a ingestão de cerca de 10^6 ufc por grama presentes no alimento (Adams & Moss, 2008) sendo caracterizados por dor abdominal e diarreia aguda, e menos frequentemente, náuseas, febre e vômitos. A sintomatologia desaparece em 24 horas, excepto em crianças, idosos ou indivíduos imunocomprometidos (Ray & Bhunia, 2007).

De modo a prevenir a ocorrência de intoxicações alimentares por *Clostridium perfringens* os alimentos devem ser cozinhados a temperaturas superiores a 75 °C assegurando a destruição de células vegetativas. O arrefecimento deve ser imediato e rápido com posterior conservação a temperaturas de refrigeração e posterior reaquecimento no mínimo a 75 °C e manutenção da temperatura superior a 65 °C, prevenindo a multiplicação de microrganismos eventualmente presentes (Jay *et al.*, 2005; Ray & Bhunia, 2007).

Dada a distribuição ubiqüitária deste microrganismo, as boas práticas de manipulação e higiene pessoal são requisitos fundamentais para prevenir a contaminação dos alimentos por *C. perfringens*.

1.3.3. Conservação de produtos cárneos por utilização de baixas temperaturas

Em 1803, nos EUA, Thomas Moore recebeu a patente para um sistema de refrigeração, possibilitando a produção do frio por meios mecânicos. Em 1840 foram concebidas carruagens refrigeradas, e mais tarde, o primeiro navio refrigerado, para transporte de carnes da Nova Zelândia para a Inglaterra, surgindo assim a primeira companhia de exportação de carnes (Pilcher, 2006).

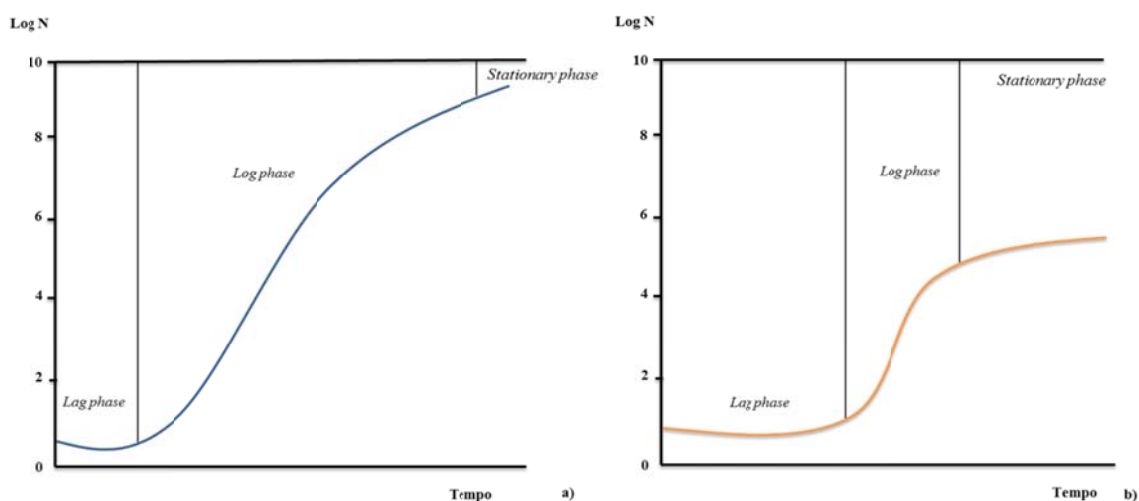
A refrigeração influencia a qualidade dos alimentos recorrendo a baixas temperaturas para a sua conservação, com o objectivo principal de minimizar as reacções bioquímicas de degradação dos produtos e limitar o desenvolvimento microbiano (Brennan, 2006; Hui, 2006), sendo portanto um processo com acção bacteriostática. Os alimentos refrigerados representam um dos sectores da indústria alimentar com maior índice de crescimento, sendo possível a sua distribuição global através da cadeia de frio (Ovca & Jevsnik, 2009), que assegura a inocuidade e qualidade dos mesmos.

A conservação da carne a baixas temperaturas, pode reduzir consideravelmente a sua velocidade de decomposição bem como o crescimento das bactérias incluindo as patogénicas, prolongando o seu período de vida útil. A quantidade de água presente nos alimentos é um

dos factores de influência na deterioração dos alimentos. Assim, ao diminuir a quantidade de água da superfície das carnes através da refrigeração, é inibida também a sua deterioração, por parte dos microrganismos. A valores de a_w inferiores a 0.75, a água fica indisponível para as bactérias, impedindo assim o seu desenvolvimento (Hui 2006; Warriss, 2009).

Os efeitos das temperaturas baixas sobre os microrganismos incluem a diminuição da sua taxa de crescimento, a sua fase de latência (*Lag phase*) é prolongada e a sua taxa de crescimento na fase exponencial (*Log phase*) é reduzida (Figura 2b) (Adams & Moss, 2006; Hui, 2006).

Figura 2. Efeito da temperatura no crescimento microbiano: a) curva de crescimento microbiano sob efeito de altas temperaturas, b) curva de crescimento microbiano sob efeito de baixas temperaturas (adaptado de Adams & Moss, 2006).



A temperatura a que os microrganismos são submetidos altera a sua fisiologia e tem um efeito selectivo na microflora do alimento, prevenindo o crescimento dos microrganismos mesófilos, com temperatura óptima de crescimento entre os 30 e os 40 °C, e conduzem a uma microflora dominada por psicrotóficos, isto é, com capacidade de crescimento entre -5 e +20 °C, com temperatura óptima de crescimento entre os 12 e 15 °C (Adams & Moss, 2008; Hui, 2006).

A refrigeração permite ainda retardar as reacções químicas e enzimáticas, permitindo controlar a perda de qualidade dos alimentos decorrente da actividade fisiológica ou de outras reacções químicas, como a oxidação dos lípidos, a degradação dos pigmentos e vitaminas, desnaturação enzimáticas entre outras (Brennan, 2006; Gava, 2009).

Na conservação da carne, é recomendado o uso de temperaturas entre 0 e 1°C, uma vez que, a temperaturas superiores e até 5 °C, o crescimento de microrganismos presentes é

cessado, no entanto, a maioria não é eliminado pelo efeito das baixas temperaturas, como tal, a presença de potenciais agentes patogénicos não poderá ser descurada. Assim, estas temperaturas devem ser mantidas durante todo o período de vida útil do produto, devendo ser controladas as oscilações térmicas que possam ocorrer. Quando são atingidas temperaturas superiores a 10 °C, os microrganismos presentes, até então em fase de latência, começam a multiplicar-se, embora de forma lenta, possibilitando assim, o crescimento de microrganismos psicrotróficos e potencialmente patogénicos tais como *Listeria monocytogenes* (Hui, 2006).

Portanto, deve ser assegurado que a temperatura dos alimentos perecíveis atinja no máximo 5 °C, durante toda a sua permanência na cadeia de refrigeração, uma vez que a temperatura de armazenamento determina a qualidade do produto final (Likar & Jevsnik, 2006).

Refrigerar significa armazenar os alimentos a temperaturas entre -2,2 °C e 10 °C. A temperatura de armazenamento recomendada para os produtos cárneos situa-se entre os 0 e os 5 °C. A esta temperatura, o tempo de vida útil é prolongado e é inibido o crescimento de mesófilos patogénicos. No entanto, os psicrotróficos são viáveis e desenvolvem-se entre os 0 e 7 °C, sendo que, quanto mais baixa for a temperatura, menor será a sua velocidade de multiplicação (Adams & Moss, 2008; Hui, 2006), tendo por isso, impacto sobre a qualidade e sobre a segurança do produto.

Comparativamente a outros sistemas de conservação de alimentos, a conservação a baixas temperaturas obriga à existência de uma cadeia de frio que acompanha obrigatoriamente o produto desde a sua origem ao consumidor final, não ficando asseguradas nem a estabilização química nem a estabilização microbiológica do alimento, pois o efeito do frio é efectivo na conservação dos produtos, apenas enquanto os mesmos se encontra refrigerado ou congelado (Hui, 2006).

A cadeia de frio permite o correcto armazenamento do produto a temperaturas adequadas, desde o momento da sua produção até ao consumidor final. Devido à ocorrência de temperaturas abusivas durante a distribuição e armazenamento de produtos perecíveis conservados pelo frio, é frequente a inscrição na rotulagem das temperaturas de armazenamento recomendadas para o prazo de validade considerado, alertando assim o consumidor (Hui, 2006; Likar & Jevsnik, 2006).

A temperatura de refrigeração deve ser definida em função da natureza dos produtos e do tempo de armazenamento pretendido, devendo permanecer o mais constante possível (Hui, 2006).

A adequada circulação de ar no interior da câmara frigorífica é essencial para garantir uma boa taxa de arrefecimento e uma eficiente homogeneização da temperatura e da humidade relativa ambiente, devendo o seu caudal garantir um eficiente intercâmbio térmico (Hui, 2006).

Uma falha no controlo da temperatura do ar nos espaços refrigerados pode resultar no crescimento de microrganismos e dos potenciais perigos que possam advir do mesmo, afectando assim a qualidade, a segurança e a vida útil dos alimentos (Ovca & Jevsnik, 2009).

De facto, a temperatura do ar de uma câmara frigorífica é crítica para o controlo do crescimento microbiano, sendo considerada um PCC num sistema de HACCP, devendo ser efectuado um registo e controlo periódico das temperaturas em todas as câmaras de refrigeração usadas na conservação dos alimentos (*Codex Alimentarius*, 2006).

Um inadequado controlo da temperatura dos alimentos é uma das causas mais comuns de deterioração e de doenças com origem nos alimentos, uma vez que, quando armazenados a temperaturas superiores à recomendada o crescimento significativo de microrganismos responsáveis por doença alimentar é favorecido, nomeadamente *Staphylococcus aureus* e *Salmonella spp.* Contudo, alimentos armazenados a temperaturas de refrigeração por longos períodos de tempo podem proporcionar o crescimento de microrganismos psicrótróficos patogénicos como *Listeria monocytogenes* e *Yersinia enterocolitica*, aumentando-os para números expressivos, passíveis de causar doença (Jackson *et al.*, 2007).

1.3.4. Conservação de produtos cárneos por utilização de conservantes

A adição de conservantes aos alimentos remonta aos tempos da Pré-história, em que o Homem, com a descoberta do fogo, criou o processo de fumagem, usado até hoje na preservação de alimentos. Mais tarde, aprendeu a utilizar o sal na conservação de carnes, condimentos para melhorar a palatabilidade de certos alimentos e a realizar fermentações de produtos vegetais e animais (Gava, 2008).

A Revolução Industrial permitiu também grandes avanços na indústria química contribuindo para o desenvolvimento de aditivos com o objectivo de retardar a deterioração dos géneros alimentícios, bem como, melhorar as características organolépticas e nutricionais dos mesmos (Gava, 2008; Pilcher, 2006).

A utilização de conservantes alimentares na prevenção da deterioração e na garantia da inocuidade microbiológica dos alimentos tem evoluído consideravelmente nos últimos

anos, principalmente devido a uma crescente preferência dos consumidores por alimentos prontos a consumir, naturais e com menos aditivos químicos (Chemital, n.d.).

A combinação de processos tecnológicos de conservação no processamento de géneros alimentícios tem sido uma estratégia no controlo dos microrganismos de deterioração. Estes microrganismos alteram a composição do produto, diminuindo a sua vida útil. A actuação sinérgica entre o uso de baixas temperaturas, processamento térmico, secagem, embalagens em atmosfera modificada ou adição de conservantes químicos, permite atingir um nível superior de segurança e estabilidade do produto (Brennan, 2006; Marwaha, 2010),

Os microrganismos reagem homeostaticamente a factores de *stress* que perturbem as suas condições de desenvolvimento. Os conservantes, bem como outros processos de conservação, actuam perturbando um ou mais desses mecanismos de homeostase dos microrganismos, impedindo assim, o seu desenvolvimento (Marwaha, 2010). Os conservantes químicos podem ser adicionados aos produtos alimentares para prevenir o crescimento de microrganismos patogénicos e de deterioração (Brennan, 2006).

De acordo com o Regulamento (CE) nº 1130/2011 da Comissão de 11 de Novembro de 2011, os aditivos alimentares são utilizados com o objectivo de exercerem uma função tecnológica. No caso dos conservantes, a sua incorporação nos produtos cárneos tem como principal objectivo evitar ou minimizar a deterioração microbiana e aumentar o tempo de vida útil dos mesmos.

De modo a harmonizar as normas da indústria alimentar em todo o espaço da União Europeia, os aditivos alimentares, são identificados através de códigos, incluindo a letra seguida de E a um número com 3 ou 4 algarismos, de acordo com a função que desempenham nos alimentos. Assim, os corantes são identificados como E-1..., os conservantes como E-2..., os antioxidantes com E-3..., os emulsionantes, estabilizantes, espessantes e gelificantes como E-4... e os intensificadores de sabor e edulcorantes como E-5....

Para otimizar a eficácia dos conservantes é importante não descurar factores relacionados com os alimentos que podem influenciar a sua função, como o pH, a_w , temperatura de conservação, atmosfera modificada, outros conservantes, entre outros (Chemital, n.d.).

Muitos produtos ou ingredientes utilizados na conservação de carnes processadas desenvolvem também outras propriedades específicas como aromatizante, antioxidante, aumento da coesão e melhoria da textura do produto final (VanDeWalle, 2010).

Actualmente, as indústrias de transformação de carne têm optado pela utilização de conservantes com características naturais, como os derivados do ácido láctico (lactato de sódio e potássio). Estes compostos em particular possuem a capacidade de reduzir a actividade da água (a_w) do produto e desenvolvem propriedades antimicrobianas contra patogénicos, tais como, *Escherichia coli*, *Clostridium botulinum* e *Listeria monocytogenes* (Freixanet, n.d. b).

Recentemente, em alguns países, foi comprovada a função antimicrobiana do diacetato de sódio em produtos cárneos principalmente contra *L. monocytogenes*. Este conservante pode ser utilizado isoladamente ou em combinação com outros compostos como o lactato de sódio ou de potássio (Freixanet, n.d. b).

De um modo geral, o crescimento bacteriano em produtos cárneos é inibido através de práticas como a utilização de sal, tratamento térmico e refrigeração adequados. No entanto, *Listeria monocytogenes* é resistente ao sal e tem a capacidade de crescimento a temperaturas de refrigeração (Seman, 2001).

A eficácia dos conservantes lactato de sódio e diacetato de sódio no controlo de *Listeria monocytogenes* tem sido demonstrada, por exemplo, em salsichas *frankfurt*, salsichas *bratwurst*, mortadela, terrine de frango enlatada e em fiambre. Os resultados destes estudos permitiram concluir que o máximo das potencialidades destes conservantes, em concentrações autorizadas, são atingidas se associados ao uso de temperaturas de refrigeração recomendadas. Concluíram também que a eficácia dos conservantes lactato de sódio e diacetato de sódio é conseguida através de formas de actuação distintas, sendo exercida acção bactericida e bacteriostática, respectivamente (Toldrá, 2009).

A eficácia bactericida ou bacteriostática de qualquer ácido orgânico nos alimentos depende do tipo utilizado, da concentração e do método de aplicação do mesmo. As suas potencialidades podem ser afectadas por a_w , pH do alimento, temperatura, pressão atmosférica, conteúdo em gordura e pela presença de outros agentes antimicrobianos, como sal ou nitrito. Outros factores importantes incluem o número e tipo de microrganismos presentes e as suas reacções metabólicas. De modo a amplificar a eficácia destes conservantes, os ácidos orgânicos são geralmente utilizados em combinação com outros processos tecnológicos de modo a inibir o crescimento dos microrganismos (VanDeWalle, 2010).

A incorporação de lactato de sódio em produtos cárneos é normalmente devida à sua capacidade de retenção de água, controlo de pH e enquanto intensificador de sabor. Tem sido

demonstrada também a sua capacidade em inibir *Clostridium spp.* e o crescimento bacteriano em geral (Seman, 2001).

Os mecanismos pelos quais o lactato actua como agente antimicrobiano incluem a alteração da actividade da água (a_w), capacidade de penetração através da membrana celular e diminuição do pH intracelular afectando o metabolismo celular (Seman, 2001), limitando assim a fonte de energia necessária ao desenvolvimento dos microrganismos.

Um dos objectivos principais das indústrias da carne é prolongar a vida útil dos produtos cárneos sem alteração das características organolépticas. Em resposta a isto, várias moléculas têm sido desenvolvidas. Um exemplo é o Purasal[®]S (lactato de sódio) que foi especialmente desenvolvido para garantir a inocuidade microbiológica dos produtos cárneos, acrescentando uma melhoria na estabilidade da cor e intensificando o sabor. Graças às suas propriedades higroscópicas, retém água, reduzindo as perdas por exsudação na embalagem e possuindo portanto, efeitos sobre as características microbianas, sensoriais e físicas dos produtos cárneos (Ferreira, 2008).

O conservante Purasal[®]S, é largamente usado na indústria de processamento de carne como um agente antimicrobiano natural e que aumenta o período de conservação (Ferreira, 2008). É um sal do ácido L-láctico natural, produzido por fermentação do açúcar. Possui um suave sabor salgado, propriedades antimicrobianas e pH neutro (Anexo 1).

Para avaliar os efeitos da utilização do lactato de sódio (Purasal[®]S) em associação com diacetato sódico e citrato de sódio, na qualidade sensorial e desenvolvimento de *Lactobacillus curvatus* e *Listeria monocytogenes* em fiambre, Stekelenburg & Kant-Muermans (2001) sublinha que o crescimento de *L. monocytogenes* foi observado no produto com incorporação apenas de citrato de sódio verificando-se ainda que o conservante Purasal[®]S em concentrações de 2,5% e 3,3% inibiu o crescimento de *L. monocytogenes*. No mesmo estudo, ficou comprovada a eficácia do lactato de sódio (Purasal[®]S) no prolongamento da vida útil de fiambre, inibindo o crescimento de microrganismos patogénicos sem evidências de alterações sensoriais. A adição de diacetato de sódio, a concentrações superiores ou até 0.1%, não inibiu o crescimento de *L. curvatus* sendo observadas 8 log ufc/g a 4°C, demonstrando efeitos negativos na qualidade sensorial do produto, e possuindo portanto, pouco efeito no prolongamento da vida útil do fiambre.

No processamento de produtos cárneos, a avaliação do risco bem como a validação de estratégias de controlo necessitam de dados científicos relativos à probabilidade de crescimento e inactivação de microrganismos patogénicos (nomeadamente *Listeria*

monocytogenes) sob determinadas condições que possam ocorrer desde a produção até ao consumo, sejam durante o processamento de fabrico ou distribuição, nas grandes superfícies comerciais ou durante o armazenamento nos frigoríficos domésticos (Toldrá, 2009).

Face a esta necessidade, a realização de estudos e o desenvolvimento de modelos preditivos possibilita expressar quantitativamente a eficácia das medidas de controlo aplicadas, incluindo a eficácia dos conservantes químicos utilizados (Toldrá, 2009).

Conscientes deste facto, a indústria Química desenvolve conservantes com comprovada eficácia na inibição bacteriostática de *L. monocytogenes*, como é exemplo o Inbac-ADL, à base de diacetato de sódio (E-262 ii), mono e diglicéridos de ácidos gordos (E-471) e ácido láctico (E-270). Este conservante actua sobre a membrana citoplasmática, actuando na sua estrutura e alterando a sua funcionalidade (Anexo 2). Para testar a sua eficácia foi realizado um estudo que consistiu no desenvolvimento de um modelo matemático preditivo da evolução de *L. monocytogenes* em produtos cárneos cozidos, armazenados entre 5 e 10 °C, com concentrações de Inbac-ADL entre 0-5000 ppm e 0-150 ppm de nitrito, durante 30 dias. A partir dos dados obtidos concluiu-se que a presença deste conservante tem um efeito inibitório no crescimento de *L. monocytogenes* nas condições testadas. Foi também observado que quanto mais baixas a temperatura de conservação maior o nível de inibição alcançado, permitindo que menores teores de Inbac-ADL proporcionaram períodos prolongados de inibição (Chemital, n.d.).

As principais propriedades destacadas do Inbac-ADL são a acção bacteriostática para amplo espectro de microrganismos, nomeadamente na microbiota psicrotrofica e bactérias ácido lácticas capazes de se desenvolver a temperaturas de refrigeração e condicionar a qualidade do produto. O ácido láctico não produz nenhum impacto sensorial mantendo as características organolépticas do produto final. Com esta combinação de potencialidades permite prolongar o período de vida útil dos produtos cárneos (Chemital, 2011).

Têm sido desenvolvidos outros modelos preditivos para expressar a inactivação de *L. monocytogenes* em produtos cárneos em função da temperatura do processamento térmico (55-73.9 °C), da utilização do lactato de sódio (0-4.8%) e de diacetato de sódio (0-0.25%), simulando a redução deste microrganismo durante a cozedura de produtos (Toldrá, 2009).

Relativamente às diferenças entre os conservantes lactato de sódio e diacetato de sódio, referidas em alguns estudos, foi demonstrado o efeito do lactato na redução da cor em salsichas *bratwurst*, causada por contagens elevadas de microrganismos durante o armazenamento, contrariando os resultados divulgados pela empresa que fabrica o mesmo

conservante - Purasal[®]S. O mesmo efeito foi demonstrado em mortadela, bem como um aumento na intensidade do sabor a sal. Em análises sensoriais realizadas em fiambre, não houve evidências significativas na escolha entre o produto controlo e o teste que continha lactato e diacetato sem, portanto, alterações organolépticas perceptíveis pelos provadores. No entanto, na prova de salsichas fumadas, o produto controlo, sem incorporação destes conservantes, foi o preferido pressupondo assim, uma alteração sensorial provocada por aqueles ingredientes ou pelo processamento tecnológico, em associação a lactato de sódio e diacetato de sódio (Seman, 2001).

Atendendo que ambos os conservantes são considerados eficazes na inibição de microrganismos patogénicos como *Listeria monocytogenes*, a incorporação de lactato de sódio e diacetato em produtos cárneos é entendida como uma opção de garantia da segurança dos mesmos. Uma desvantagem na utilização combinada destes conservantes consiste na alteração do sabor do produto, dependendo da dose de ingredientes utilizados. Uma concentração elevada de diacetato pode provocar um sabor ácido, tipo vinagre, enquanto que um sabor metálico e salgado pode ser perceptível em presença de elevadas concentrações de lactato (Seman, 2001).

Todos estes estudos têm sido realizados para determinar a concentração mínima de lactato de sódio e diacetato de sódio necessária à inibição dos microrganismos de deterioração e patogénicos, isoladamente ou em combinação com outros factores, tais como pH e temperatura (Toldrá, 2009) de modo a garantir a qualidade e a segurança dos produtos cárneos.

1.4. Fiambre: definição e características

1.4.1. Processo tecnológico do fiambre

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

A produção industrial do fiambre é realizada de modo a obter um produto que garanta ao consumidor qualidade nutricional e segurança alimentar.

Após a recepção, escolha e desmancha das matérias-primas cárneas, segue-se uma etapa crucial no processo tecnológico do fiambre, que consiste na preparação da salmoura. A salmoura é preparada por dissolução aquosa dos condimentos e aditivos necessários em

quantidades adequadas às características pretendidas no produto final, de acordo com as especificações da formulação do fiambre (Toldrá, 2010).

De seguida, procede-se à introdução e difusão homogénea da salmoura na carne, através do sistema de injeção e massagem, favorecendo a solubilização e extracção das proteínas, actina e miosina (Toldrá, 2010).

Este último processo é muito importante no fabrico de fiambre porque influencia a capacidade de retenção de água e conseqüente rendimento e textura do produto final. Durante a massagem, a carne deve ser mantida, idealmente, a temperaturas entre os 4 e os 8 °C para prevenir o crescimento e multiplicação de microrganismos (Xargayó, n.d.).

De seguida é realizado o enchimento a vácuo da massa em invólucros de plástico termoretrátil apropriados, sucedendo-se a enformagem em moldes de alumínio ou aço inoxidável (Freixanet, n.d.).

O processamento térmico, ou cozedura, é uma etapa delicada que requer um rigoroso controlo do tempo e temperatura, definindo a qualidade e garantindo a salubridade do produto (Toldrá, 2010). Durante este processo, o fiambre é submetido a uma temperatura entre os 74-80 °C até que o centro térmico do produto atinja os 72 °C (Toldrá, 2010), promovendo assim a desnaturação das proteínas da carne, melhorando a coesão, consistência e firmeza do produto acabado, bem como o desenvolvimento das características organolépticas típicas do fiambre (Toldrá, 2006).

Posteriormente, o fiambre é arrefecido rapidamente através de imersão em água fria seguido de refrigeração em ventilação forçada até atingir temperatura inferior a 20 °C, seguindo-se a etapa final até valores entre os -4 °C. Esta etapa concede estabilidade e consistência acrescida ao produto final (Toldrá, 2010).

1.4.2. Fiambre fatiado: análise do risco, identificação de perigos e controlo dos pontos críticos

O sistema HACCP é entendido como parte integrante do sistema de segurança das indústrias de processamento de carnes. Este baseia-se na identificação dos perigos que podem ocorrer ao longo do processamento dos produtos alimentares, na avaliação desses perigos e, para os perigos considerados significativos, no estabelecimento de processos de controlo e medidas correctivas por forma a garantir a segurança dos alimentos (Baptista *et al.*, 2003).

Esta metodologia de garantia da segurança alimentar constitui uma abordagem sistemática direccionada a perigos biológicos, químicos e físicos, sendo portanto, um sistema

de carácter preventivo, através do qual, pela identificação de potenciais perigos, são estabelecidas medidas preventivas que possibilitem reduzir a probabilidade de ocorrência desses perigos que possam comprometer a segurança dos produtos e consequentemente dos consumidores (Baptista *et al.*, 2003).

Sendo o fiambre fatiado um produto potencialmente mais perecível e uma vez que é pronto a consumir, o processo de fatiagem é uma etapa crucial no controlo da estabilidade microbiológica do mesmo, visto poder representar uma importante fonte contaminação microbiológica (patogénicos e/ou de deterioração) da superfície das fatias produzidas. Superfícies de corte incorrectamente higienizadas podem constituir o contacto inicial necessário para a adesão microbiana no alimento (Serio *et al.*, 2009). Conforme é referido por Ray & Bhunia (2007), a maioria das contaminações nos produtos cárneos fatiados está directamente relacionada com a formação de biofilmes na linha de processamento.

Os biofilmes constituem uma associação celular microbiana envolvida por uma matriz polimérica produzida pelos microrganismos, aderente a uma superfície sólida (Pommerville, 2011).

Neste contexto, na avaliação do risco associado a produtos como o fiambre, são considerados os seguintes factores com impacto na segurança alimentar:

- Controlo de temperaturas incorrecto e potencial presença de microrganismos patogénicos;
- Contaminação cruzada devido a condições de manipulação e higienização incorrectas durante a fatiagem.

Os principais microrganismos a considerar são a *Listeria monocytogenes* resistente a temperaturas baixas, resistindo portanto, a temperaturas de refrigeração durante o armazenamento, e o desenvolvimento de *Staphylococcus aureus*, anaeróbios facultativos e mesófilos. (Buncic, 2006).

Devido à perecibilidade dos produtos cárneos cozidos fatiados, isto é, devido à sua composição e elevado a_w , potencial ocorrência de contaminação cruzada durante a manipulação associada ao corte e embalagem, o período de vida útil fica comprometido, uma vez que, durante o armazenamento, as temperaturas de refrigeração favorecem o desenvolvimento dos microrganismos psicrotróficos. Assim, o período de vida útil destes produtos depende de boas práticas de higiene durante o seu processamento e manipulação (Toldrá, 2009).

A contaminação alimentar por microrganismos pós-processamento pode ocorrer através dos manipuladores, do equipamento, da água e do ar. O fiambre é fatiado antes do embalamento favorecendo a contaminação da superfície do produto a partir do equipamento e do meio ambiente. Os microrganismos maioritariamente implicados na deterioração deste tipo de produtos são bactérias psicotróficas anaeróbias facultativas e anaeróbias restritas. Em condições de armazenamento em aerobiose (produtos fatiados por embalar ou envoltos em película aderente), pode ocorrer colonização de bactérias ácido lácticas, nomeadamente *Lactobacillus spp.*, produzindo peróxido de hidrogénio (H₂O₂) ocasionando oxidação e degradação dos produtos (Ray & Bhunia, 2007).

Existem ainda referências à presença de uma grande quantidade de gás em embalagens de rolo de Perú fatiado, produzida por *Leuconostoc carnosum* a partir do metabolismo da glicose utilizada na formulação, sem alteração do pH, devido à elevada concentração em fosfatos. Na avaliação das instalações de produção constatou-se que o produto foi contaminado a partir da fatiadora até ao embalamento, justificando as contagens elevadas de microrganismos alcançadas durante o armazenamento (Ray & Bhunia, 2007). O processo de tranchagem é descrito como a maior fonte de contaminação de bactérias ácido lácticas em fiambre fatiado, uma vez que durante o armazenamento, a actividade metabólica destes microrganismos sob vácuo ou atmosfera modificada resulta em acidificação, produção de gás e de odores e alteração da cor do produto (Toldrá, 2010).

Surtos e casos de listeriose têm sido associados a produtos cárneos fatiados, sendo classificados pela FDA e pela FSIS - *Food Safety and Inspection Service*, no ano de 2003, como o veículo de infecção de maior risco (Endrikat *et al.*, 2010).

Para controlar a contaminação por *L. monocytogenes* foi realizado um estudo relativo ao efeito do lactato de potássio e da combinação entre lactato de potássio e diacetato de sódio na inibição deste microrganismo patogénico em presunto fatiado e embalado em atmosfera modificada. Neste estudo concluiu-se que ambos os produtos demonstraram um efeito bacteriostático e que a utilização conjunta dos conservantes com a tecnologia de conservação em atmosfera modificada inibiu o crescimento de *L. monocytogenes* bem como a microflora aeróbia e bactérias ácido lácticas (Mellefont & Ross, 2007).

Outros casos de presença de *Listeria monocytogenes* em produtos cárneos prontos a consumir foram referidos, nomeadamente em paio fatiado embalado a vácuo (Di Pinto *et al.*, 2010; Ray & Bhunia, 2007).

Face à análise de perigos da linha de fatiados, são identificados como PCC a câmara de refrigeração de produtos cozidos fumados e curados por fatiar, nomeadamente o controlo da sua temperatura, pois caso ocorram alterações sensíveis e poderá daí resultar um produto não seguro.

No processo de tranchagem é identificada a potencial ocorrência de contaminação por *Listeria monocytogenes*, sendo o controlo do processo de higienização uma medida preventiva, uma vez que este microrganismo patogénico é ubiqüitário e resistente a condições adversas, considerando, portanto, esta fase da linha de fatiados, um PCC.

A armazenagem dos produtos fatiados é também considerada um Ponto Crítico de Controlo, uma vez que sendo produtos perecíveis, na eventualidade de uma variação na temperatura de armazenamento, pode ocorrer o desenvolvimento de microrganismos patogénicos. A medida de controlo para este PCC consiste no controlo da temperatura da câmara de armazenagem (Anexo 3).

1.4.3. Critérios microbiológicos aplicáveis ao fiambre

As crises ocorridas no sector alimentar no início da década de 90 do século XX, afectaram fortemente a confiança dos consumidores europeus nas instituições nacionais e comunitárias responsáveis pelo controlo dos perigos e gestão dos riscos.

Com o objectivo de restabelecer a confiança do público, a União Europeia elaborou o Livro Branco para a segurança dos alimentos, que contém propostas sobre um conjunto de acções necessárias para completar e modernizar a legislação alimentar até então em vigor. O seu princípio orientador assenta na plena responsabilidade dos operadores do sector alimentar, na aplicação dos requisitos necessários para a segurança alimentar na União Europeia (UE) (Gonçalves, 2006).

Os perigos associados aos alimentos podem ser de natureza física, química ou biológica, sendo estes últimos, em especial os microbiológicos, os que acarretam maior risco, uma vez que constituem uma das principais causas de doenças transmitidas pelos alimentos, podendo surgir em qualquer ponto da cadeia alimentar.

De modo a garantir a segurança alimentar foi estabelecido que os géneros alimentícios não devem conter microrganismos nem as suas toxinas e/ou metabolitos em quantidades que representem um risco inaceitável para a saúde do consumidor (Gomes, 2007).

Neste contexto, a Comissão Europeia (CE) estabeleceu critérios de segurança harmonizados em relação à aceitabilidade dos alimentos, relativamente à presença de determinados microrganismos patogénicos, definindo assim, critérios microbiológicos para os géneros alimentícios sob a forma de regulamento, de modo a contribuir para a protecção da saúde pública evitando interpretações divergentes (Gomes, 2007).

Desta forma, foi publicado o Regulamento (CE) 2073/2005, que providencia os critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios, posteriormente alterado pelo Regulamento (CE) 1441/2007.

Assim sendo, um critério microbiológico para um alimento, define a aceitabilidade de um produto, de um lote de géneros alimentícios ou de um processo, baseado na ausência ou presença, ou no seu número e/ou na quantidade das suas toxinas/metabolitos, por unidade de massa, volume, área ou lote. São imprescindíveis na interpretação dos resultados de análises microbiológicas relativamente à aceitabilidade dos géneros alimentícios e dos seus processos de fabrico e distribuição (Gomes, 2007). Estes critérios fixam um limite acima do qual um género alimentício deve ser considerado inaceitavelmente contaminado com os microrganismos a que os critérios se referem. Relativamente aos produtos cárneos cozidos, nomeadamente o fiambre, deve ser assegurada a ausência de *Listeria monocytogenes* em 25 g, antes do mesmo deixar de estar sob o controlo imediato do operador da empresa do sector alimentar que o produziu. Para produtos colocados no mercado e na vigência do seu período de vida útil, foram definidos como valor máximo, 100 ufc/g de alimento de *Listeria monocytogenes*. Os produtos cárneos cozidos, segundo este Regulamento (CE) nº1441/2007, encontram-se na categoria dos alimentos prontos para consumo, susceptíveis de permitir o crescimento de *L. monocytogenes*, excepto os destinados a lactentes e a fins medicinais específicos. Relativamente à *Salmonella*, são inseridos na categoria de produtos à base de carne destinados a serem consumidos crus. Os limites aceitáveis correspondem à ausência de *Salmonella* em 25 g de produto, quando colocados no mercado durante o seu período de vida útil.

Relativamente a microrganismos indicadores de qualidade higiénica, o limite microbiológico estabelecido de acordo com o que é possível conseguir quando se aplicam boas práticas de fabrico e os princípios do HACCP, segue os critérios de higiene internos, relativos a produtos à base de carne, pré-estabelecidos pela indústria de transformação de produtos cárneos.

Assim, os critérios microbiológicos permitem avaliar se um determinado alimento é seguro, se foram aplicadas boas práticas de higiene durante o seu fabrico, se um determinado ingrediente é adequado para esse alimento, e ainda, estimar a manutenção da qualidade em alimentos perecíveis, isto é, estimar o seu prazo de validade.

III. OBJECTIVOS

Do ponto de vista global, o objectivo do presente estudo consiste em verificar a influência de diferentes conservantes na estabilidade microbiológica de um produto cárneo cozido, durante o seu período de vida útil sob temperaturas de refrigeração. Para o efeito foram delineados os seguintes objectivos específicos:

- Avaliar a implicação do conservante diacetato de sódio na estabilidade microbiológica do produto final;
- Comparar a estabilidade microbiológica do fiambre fatiado;
- Comparar a estabilidade microbiológica do fiambre durante o armazenamento a temperaturas diferenciadas de refrigeração;
- Validar o impacto da implementação do sistema de segurança alimentar baseado nos princípios do HACCP no controlo de microrganismos patogénicos.

IV. MATERIAL E MÉTODOS

1. Fabrico do fiambre e Linha de Fatiados

Os fiambres utilizados neste estudo foram fabricados no laboratório piloto de ensaios da empresa de produtos cárneos de acordo com o processo de fabrico resumido na Figura 3. No fiambre Controlo foram adicionados 0.7% de lactato de sódio – Purasal[®]S e no fiambre Teste, na sua fórmula, continha 0.4% de diacetato de sódio – Inbac-ADL.

A fim de facilitar o transporte para o laboratório interno de microbiologia, foram produzidas barras de 1,5 kg de fiambre.

As unidades para fatiar foram arrefecidas até os 0°C, de modo a facilitar a esta operação, levada a cabo em fatiadoras automáticas *Weber 604*.

A fatiagem e o acondicionamento do produto foram realizados em sala climatizada, tal como demonstrado na Figura 4.

As fatias de fiambre, com cerca de 1 mm de espessura, foram pesadas e sobrepostas em embalagem de atmosfera modificada com 70% N₂ e 30% CO₂ (Anexo 4) por uma embaladora termoformadora com aposição superior de película de polietileno de baixa densidade (de reduzida permeabilidade aos gases) por termosoldagem, que injecta a mistura de gases após realizar um ciclo de vácuo. As análises microbiológicas para avaliação da estabilidade microbiológica das amostras tiveram início no próprio dia em que o fiambre foi fatiado e embalado.

Figura 3. Fluxograma e fabrico de fiambre.

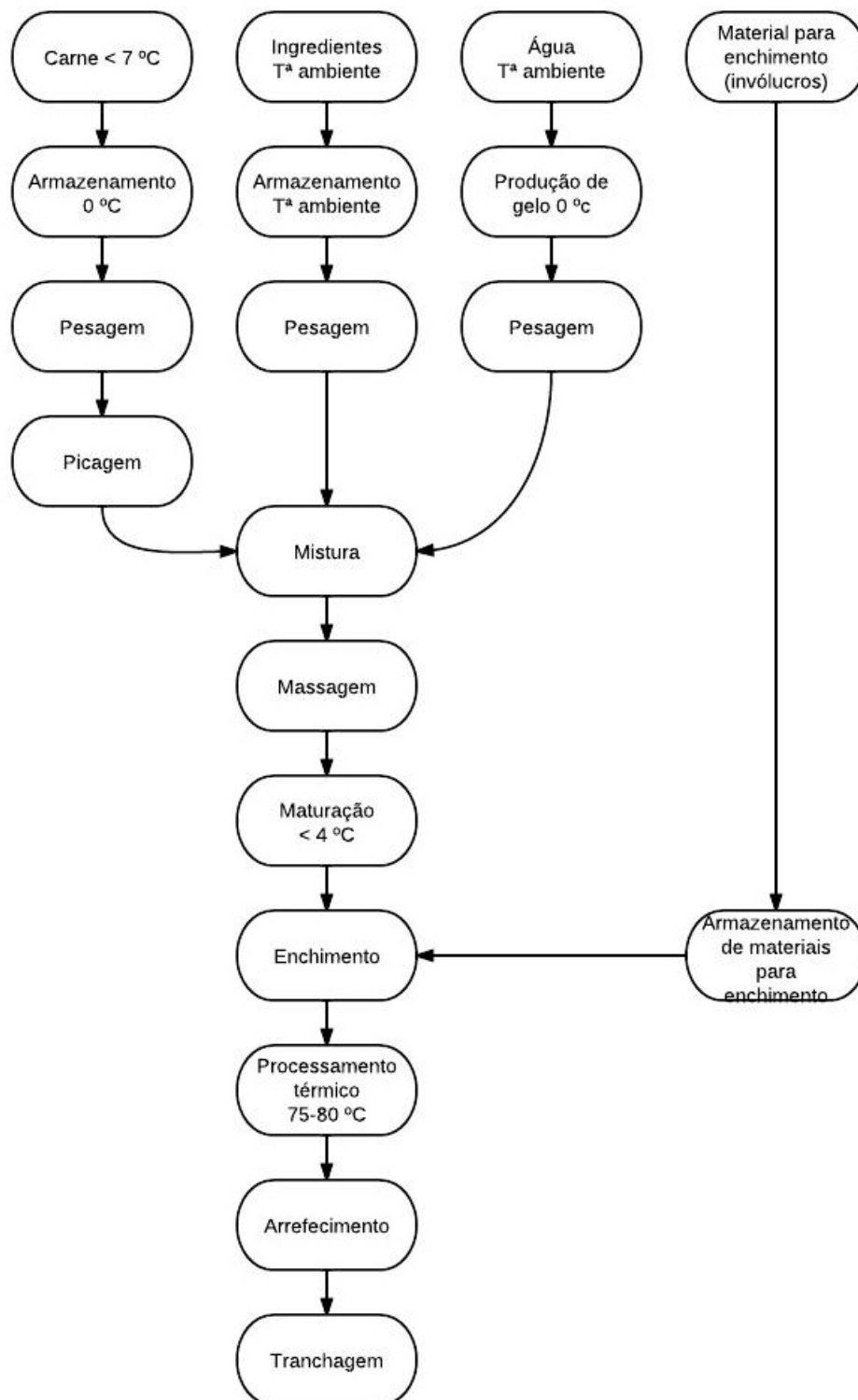
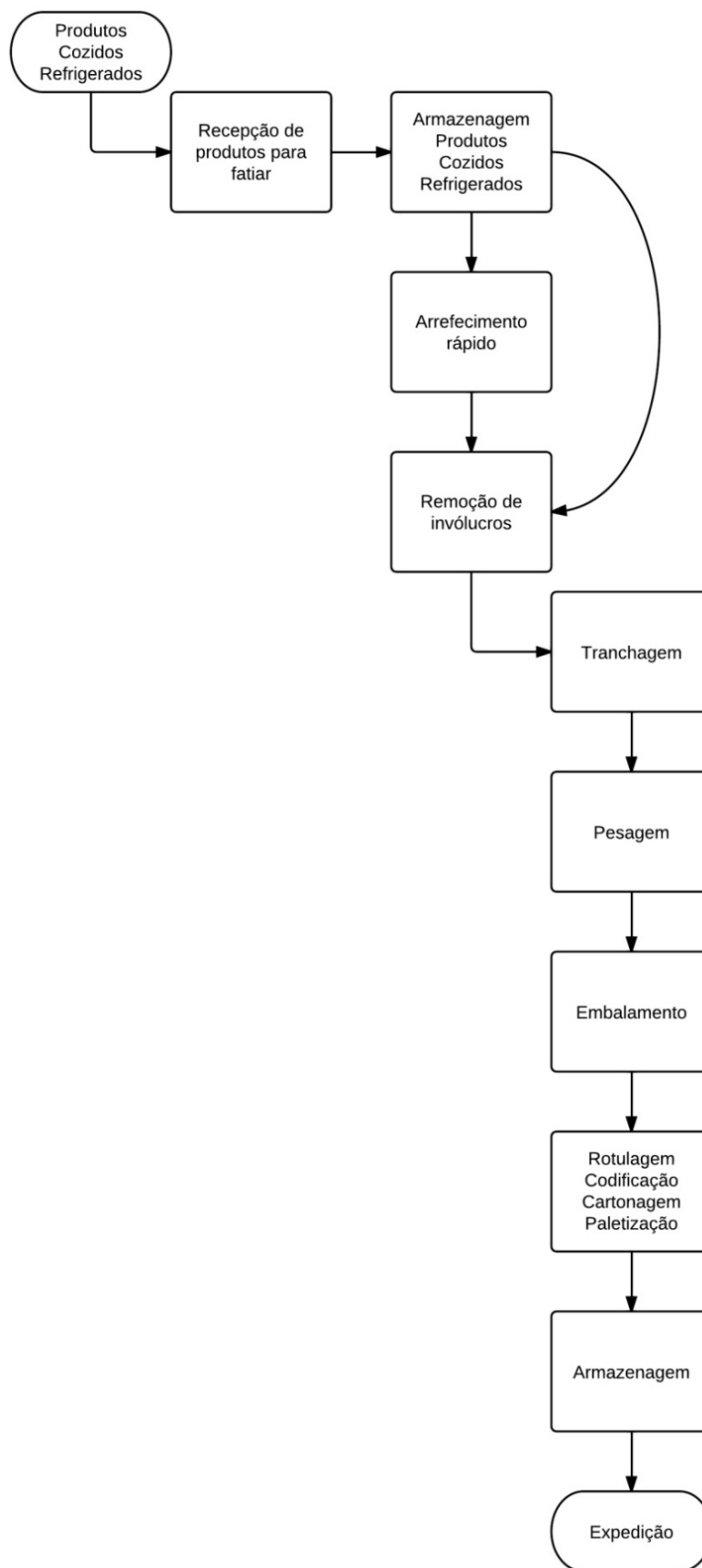


Figura 4. Fluxograma da linha de fatiados.



2. Determinação da estabilidade microbiológica do fiambre durante o armazenamento.

Após tranchagem e embalagem as amostras foram armazenadas em câmaras de refrigeração durante 6 semanas, correspondendo aos 45 dias estabelecidos para a validade comercial do fiambre fatiado.

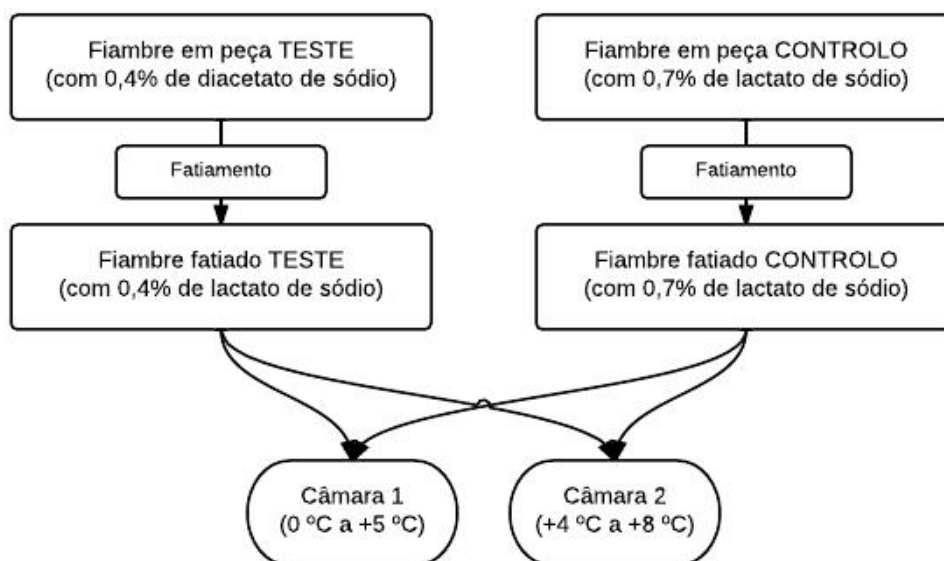
As câmaras de refrigeração escolhidas, designadas Câmara 1 e Câmara 2, correspondem aos pontos de armazenamento da linha de fatiados. A Câmara de refrigeração 1, cujas temperaturas se situaram entre os 0 e os 5 °C é destinada ao armazenamento de produtos fatiados. A Câmara de refrigeração 2, para armazenamento de produtos em peça, com regime de temperaturas de 4 a 8 °C, cujas condições são aproximadas às utilizadas nos equipamentos dos consumidores e portanto teve como finalidade simular os frigoríficos domésticos. Os registos das temperaturas foram feitos 3 vezes por dia.

As amostras de fiambre em peça Teste (diacetato de sódio – Inbac-ADL) foram armazenadas nas Câmaras 1 e as amostras de fiambre em peça Controlo (lactato de sódio - Purasal®S) na câmara 2.

Relativamente ao fiambre fatiado, foram armazenadas amostras de fiambre Controlo e de fiambre Teste na Câmara 1, e igualmente, na Câmara 2.

O esquema representativo deste trabalho encontra-se resumido na Figura 5.

Figura 5. Esquema representativa do procedimento de determinação da estabilidade microbiológica do fiambre durante o armazenamento



3. Análises microbiológicas

3.1. Preparação da amostra

Foram recolhidas aleatoriamente pequenas porções da amostra até perfazer um total de 10 g. De seguida, foram adicionados 90 mL de uma solução de Triptona¹ sal esterilizada, homogeneizando-se a mistura num aparelho *Stomacher Lab-Blender 400* durante cerca de 2 minutos.

A partir desta suspensão inicial efectuaram-se diluições decimais, também com a solução Triptona sal.

3.2. Contagem de microrganismos aeróbios a 30 °C

Para a contagem total dos microrganismos aeróbios a 30 °C, procedeu-se á incorporação de 1 mL de inóculo de cada uma das diluições consideradas convenientes em meio TGE - *Triptona Glucose Extract Agar* (Merck[®]). Este meio possui determinados ingredientes, tais como glucose, extracto de carne e peptona de caseína, que favorecem o crescimento da maioria dos microrganismos.

A contagem foi realizada após incubação das placas inoculadas a 30 °C ± 1 °C durante 72 horas ± 3 horas. Os resultados foram expressos em número de unidades formadoras de colónias por grama (ufc/g).

3.3. Contagem de microrganismos aeróbios psicotróficos

Neste ensaio, foi utilizada a gelose nutritiva *Standards Methods Agar* (PCA) (bioMérieux[™]) semeada por incorporação de 1 mL de inóculo de cada uma das diluições consideradas necessárias, incubando a 6,5 °C ± 0,5 °C durante 10 dias, de acordo com a Norma Portuguesa NP 2307:1987. A escolha deste meio de cultura prendeu-se com a sua composição nutricional (fontes proteicas, vitaminas e hidratos de carbono) que favorece o crescimento da maioria das bactérias. Os resultados foram expressos em log ufc/g.

3.4. Contagem de coliformes e *Escherichia coli*

Para a contagem em placa das bactérias pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, realizou-se sementeira por incorporação de 1 mL de inóculo de cada uma das diluições consideradas, em meio de cultura RAPID' E.coli 2 Agar[™] (Bio-Rad Laboratories). Este meio cromogénico é utilizado para detecção e enumeração de *E. coli* e outras bactérias coliformes, baseando-se na detecção simultânea das actividades enzimáticas β -D-glucuronidase (GLUC)

¹Composição: 1g triptona (Merck[®], Alemanha) e 8,5 g de cloreto de sódio (Merck[®], Alemanha) para um litro de água destilada.

e β -D-galactosidase (GAL). É constituído por dois substratos cromogénicos, em que um é específico para GAL, originando a cor verde das colónias positivas para esta enzima, e outro que origina a cor violeta das colónias positivas para a enzima GLUC, sendo que a diferenciação entre coliformes e *Escherichia coli* resulta da observação de uma simples reacção de mudança de coloração.

A contagem das colónias de coliformes de coloração verde e de *E. coli* (colónias azuis escuras a roxas com ou sem halo violeta) foi efectuada após incubação a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 18 a 24 horas. Os resultados foram expressos em log ufc/g.

3.5. Contagem de bactérias ácido-lácticas

Neste ensaio, a metodologia empregue foi a constante da Norma ISO 15214:1998. Esta contagem é efectuada inoculando 1 mL das diluições consideradas necessárias em meio MRS –*Man, Rogosa, Sharpe Agar* (Scharlau), por incorporação e com camada dupla. Este meio de enriquecimento possui ingredientes tais como, glucose, extracto de carne e levedura, e suplementos, nomeadamente ácidos gordos e magnésio para os requisitos de crescimento adicionais, sendo destinado ao isolamento e cultura de *Lactobacillus*. Após incubação a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 48 ± 4 horas, foi realizada a contagem das colónias características (pequenas, brancas e opacas) e os resultados expressos em log ufc/g.

3.6. Contagem de *Staphylococcus coagulase* positiva

Para a contagem de *Staphylococcus coagulase* positiva foram feitas sementeiras inoculando 0,1 mL das diluições em meio BP – *Baird Parker Agar* (Scharlau). Se após incubação a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 20 a 24 horas, surgirem colónias típicas, negras com halo transparente, deverão ser repicadas com o caldo BHI – *Brain Heart Infusion* (Scharlau) sendo incubadas novamente a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 ± 4 horas, efectuando-se, posteriormente a prova da coagulase, com plasma de coelho liofilizado (bioMérieux™).

O meio de cultura BP contém na sua composição peptonas, glicina e piruvato de sódio que favorecem o crescimento destes microrganismos. O cloreto de lítio é o agente selectivo utilizado, bem como o telurito de potássio que ao ser reduzido a telureto confere a coloração negra à colónia. A gema de ovo presente permite a detecção da actividade da lecitinase produzida por algumas estirpes, pelo aparecimento de um halo translúcido envolvendo a colónia. A passagem de estirpes suspeitas de *Staphylococcus coagulase* positiva pelo caldo BHI antes de se efectuar o teste da coagulase é importante evitando-se fazer testes

de identificação a partir de meios inibidores (ou indicadores), este teste é realizado através do plasma de coelho que, na detecção de estafilocagulase, forma estafilotrombina na presença de coagulase livre que em combinação com fibrinogénio de bovino presente também no suplemento, leva à polimerização e precipitação de um depósito de fibrina em torno da colónia de bactérias, adquirindo assim um halo branco opaco de precipitação, que é o resultado da reacção coagulase.

Os resultados foram expressos em log ufc/g.

3.7. Pesquisa de esporos Clostrídios sulfito redutores

Neste ensaio foram incubados 10 mL de solução mãe a 80 °C durante 10 minutos, de forma a eliminar células vegetativas eventualmente presentes, sendo posteriormente inoculados em meio de cultura SPS - *Sulfite Polymyxin Sulfadiazine Agar* (Scharlau). A incubação foi realizada a 45 °C ± 2 °C durante 72 ± 2 horas. Os resultados foram expressos em log ufc/g.

Este meio selectivo contém ingredientes tais como, peptona de caseína e extracto de levedura essenciais ao crescimento deste microrganismo e sulfito de sódio e citrato férrico, indicadores de sulfureto de hidrogénio.

3.8. Contagem de *Listeria monocytogenes*

A contagem de *Listeria monocytogenes* foi efectuada de acordo com a Norma ISO 11290-2:1998, inoculando 0,1 mL das diluições consideradas em meio de cultura ALOA - *Agar Listeria Ottaviani & Agosti* (bioMérieux™) por espalhamento à superfície. Este meio de cultura cromogénico, permite a detecção de β-glucosidase, através da presença de um halo opaco característico das colónias. A acção combinada de cloreto de lítio e dos antibióticos ácido nalidíxico, ceftazidima e polimixina B presentes, confere a selectividade deste meio.

Após incubação a 37 °C ± 1 °C durante 48 ± 2 horas, os resultados foram expressos em log ufc/g.

3.9. Pesquisa de *Salmonella spp.*

Nesste ensaio, realizado em laboratório externo, adicionou-se de 25 g de amostra a 225 mL de APT – Água Peptonada Tamponada, que consiste num diluente e meio de pré-enriquecimento para a detecção de *Salmonella*; seguindo-se incubação a 37 °C ± 1 °C durante 18 ± 2 horas. Posteriormente são recolhidos 0,1 mL de inóculo para o meio selectivo RVS –

Rappaport Vassiliadis Broth. Este caldo contém, para além de fontes de carbono e compostos azotados, cloreto de magnésio e verde de malaquite, que associados ao pH baixo, proporcionam a selectividade do meio para *Salmonella*.

Após incubação a $42\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 18 a 24 horas, são inoculados 0,01 mL em meio RAPID'Salmonella. Este meio cromogénico, permite a detecção de *Salmonella* através da detecção da enzima esterase lípase, identificada pela coloração magenta típica das colónias.

4. Análise Estatística

O tratamento estatístico dos dados obtidos a partir das análises microbiológicas foi efectuado recorrendo ao programa SPSS[®] Statistics Version 20.

Inicialmente foi feita a análise descritiva das amostras, sendo calculadas as médias e desvio padrão.

As análises inferenciais empregues com o intuito de confirmar ou refutar evidências encontradas na análise descritiva, foram o Teste *T-Student* na comparação das médias entre as variáveis numéricas e categóricas e, em caso de falha de normalidade para amostras independentes, recorreu-se ao Teste de *Mann Whitney*. Para o estudo da interacção entre duas variáveis categóricas, de modo a verificar a homogeneidade, foi realizado o Teste de Qui-Quadrado de *Pearson* e a extensão do teste *Exacto de Fisher*.

Para todos os resultados obtidos através das análises inferenciais foi utilizado o nível de significância α igual a 5%, isto é, com uma confiança de 95%.

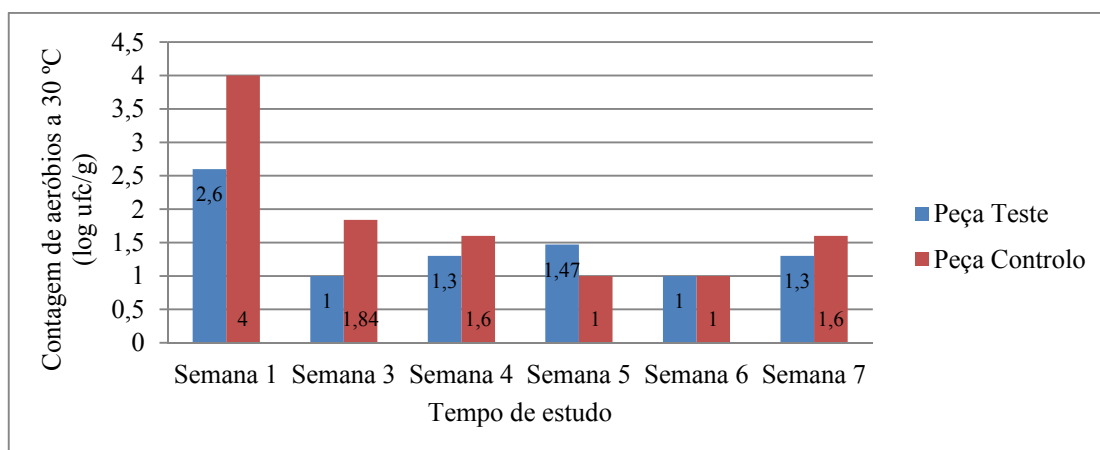
V. RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Análise Estatística

1.1. Contagem de microrganismos aeróbios a 30 °C

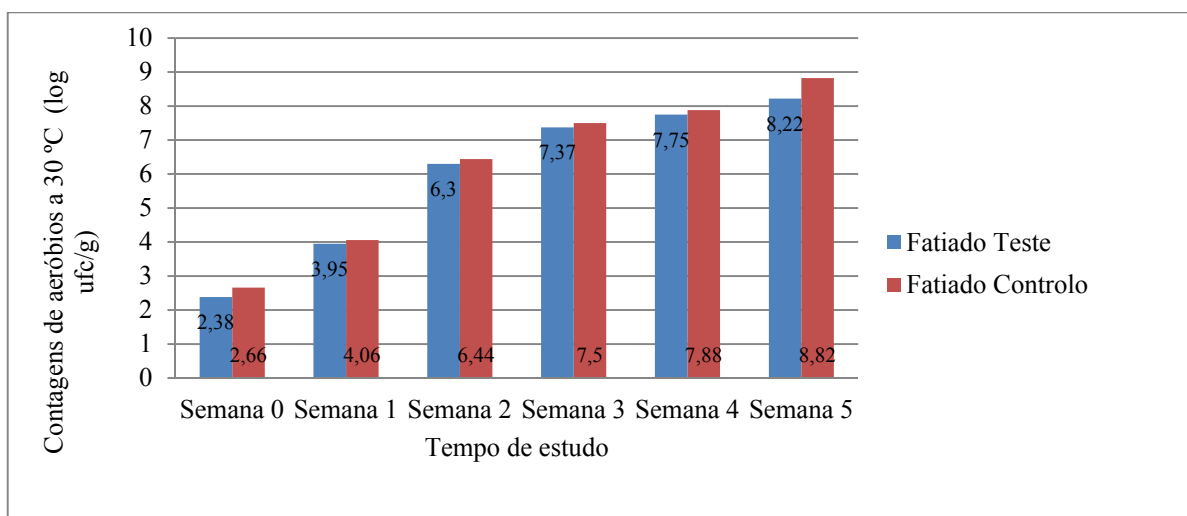
Os resultados das análises realizadas ao fiambre em peça evidenciaram a multiplicação de microrganismos mesófilos ao longo do período de vida útil, conforme observado no Gráfico 1.

Gráfico 1. Evolução das contagens de microrganismos aeróbios a 30 °C (log ufc/g) no fiambre em peça, durante o tempo de estudo.



Relativamente ao fiambre fatiado, o Gráfico 2 demonstra a evolução das contagens de microrganismos aeróbios a 30 °C no total das amostras analisadas ao longo do tempo de estudo.

Gráfico 2. Evolução das contagens de microrganismos aeróbios a 30 °C (log ufc/g) no fiambre fatiado, durante o tempo de estudo.



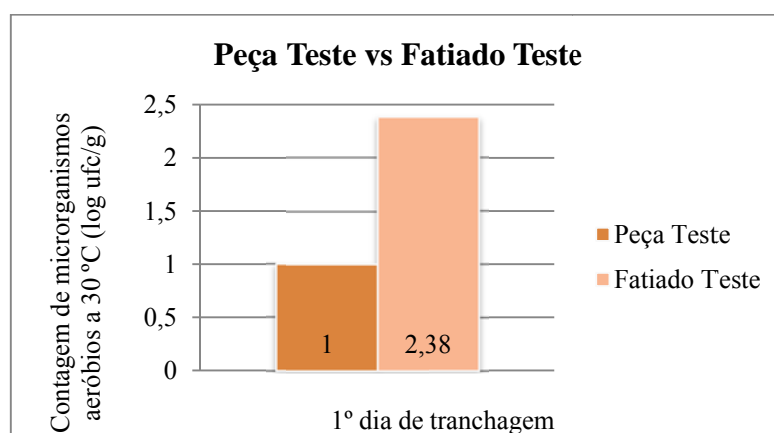
Analisando o Gráfico 1 e 2 é possível verificar que existem diferenças significativas entre as contagens de microrganismos aeróbios a 30 °C no fiambre em peça e fatiado, pressupondo que o processo de fatiamento torna o produto vulnerável à contaminação.

É de salientar a elevada susceptibilidade dos produtos cárneos após o processo de tranchagem, sendo a fatiadora e o manipulador as principais potenciais fontes de contaminação. As contagens destes microrganismos nos fiambres analisados podem indicar

condições higiénicas inadequadas ou contaminação cruzada durante o processo de tranchagem (Cardoso *et al.*, 2005).

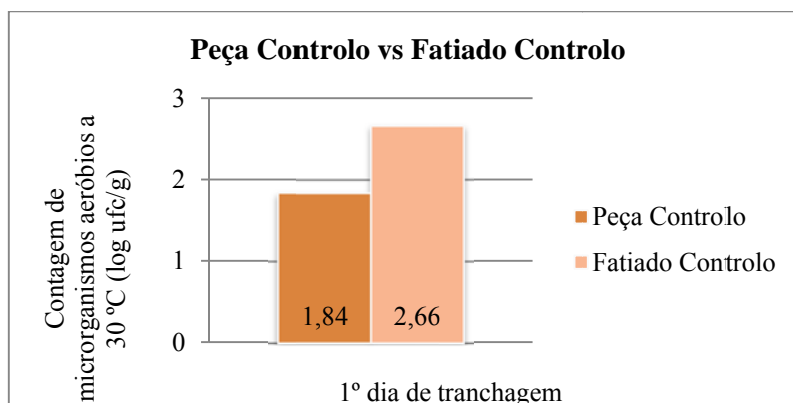
Assim, através do Gráfico 3 é possível comparar as contagens de microrganismos aeróbios mesófilos a 30 °C no fiambre em peça Teste, com adição de 0,4% de diacetato de sódio, e após a sua tranchagem, pressupondo a ocorrência de contaminação durante este processo, uma vez que o fiambre fatiado Teste apresentou contagens de microrganismos superiores relativamente à peça imediatamente após o seu fatiamento.

Gráfico 3. Contagens de microrganismos aeróbios a 30 °C (log ufc/g) no fiambre em peça Teste e no fiambre fatiado Teste no 1º dia de tranchagem.



O mesmo se constatou ao comparar o fiambre em peça Controlo e o fiambre fatiado Controlo, no próprio dia de tranchagem, constatando-se, neste último, uma contagem de microrganismos aeróbios a 30 °C superior (Gráfico 4).

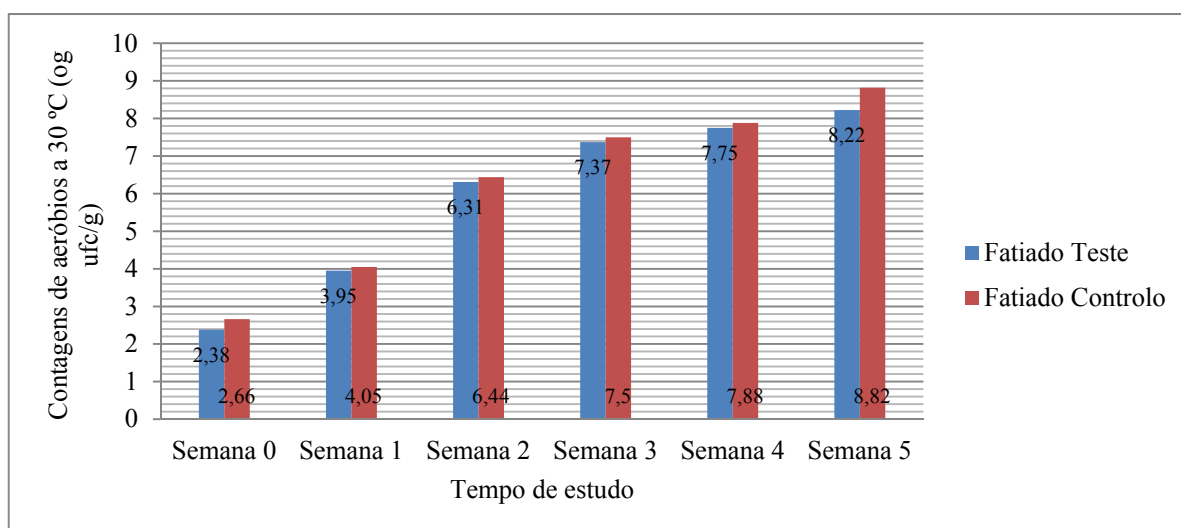
Gráfico 4. Contagens de microrganismos aeróbios a 30 °C (log ufc/g) no fiambre em peça Controlo e no fiambre fatiado Controlo no 1º dia de tranchagem.



É importante referir que no dia da tranchagem, os fiambres em peça, Teste e Controlo, contam já com 3 semanas de armazenamento após o seu fabrico. O fiambre em peça Teste permaneceu durante todo o tempo de estudo (7 semanas) armazenado a temperaturas compreendidas entre os 0 e os 5 °C na Câmara 1, e o fiambre em peça Controlo, na Câmara 2, a temperaturas entre os 4 e os 8 °C.

Analisando o Gráfico 5 e o Quadro 5 referentes às contagens de microrganismos mesófilos no fiambre fatiado Teste e Controlo, não existem diferenças significativas entre os conservantes diacetato de sódio e lactato de sódio ($p\text{-value} = 0,0537$ [$p\text{-value} > 0,005$]) na inibição destes microrganismos de deterioração.

Gráfico 5. Contagens de microrganismos aeróbios a 30 °C (log ufc/g) no fiambre fatiado Teste e Controlo, ao longo do tempo de estudo.



Quadro 5. Média das contagens de microrganismos aeróbios a 30 °C (log ufc/g) no fiambre Teste (diacetato) e Controlo (lactato).

	Microrganismos mesófilos	
	Média	Desvio padrão
Teste (diacetato de sódio – Inbac-ADL)	4,48	2,867
Controlo (lactato de sódio - Purasal®S)	4,77	2,878

Sendo microrganismos indicadores de qualidade dos alimentos, contagens elevadas de bactérias aeróbias mesófilas em alimentos perecíveis, pode indicar que houve variações de temperatura durante o tempo de armazenamento (Silva *et al.*, 2010).

Assim, para analisar se ocorreram diferenças no crescimento de mesófilos entre as câmaras de refrigeração, efectuou-se o Teste *T-Student*, revelando que não existem diferenças estatisticamente significativas ($p\text{-value} = 0,744$ [$p\text{-value} > 0,05$]), tal como demonstrado no

Quadro 6, contudo, o Gráfico 6 revela que as amostras de fiambre fatiado, Teste e Controlo, armazenadas na Câmara 2 a temperaturas entre 4 e 8 °C, apresentaram contagens superiores de microrganismos aeróbios a 30 °C, relativamente às amostras na Câmara 1 com temperaturas entre 0 e 5 °C (Gráfico 7).

Quadro 6. Média das contagens de microrganismos aeróbios a 30 °C (log ufc/g) nas câmaras de refrigeração 1 e 2.

Microrganismos mesófilos		
	Média	Desvio padrão
Câmara de refrigeração 1	4,47	2,831
Câmara de refrigeração 2	4,78	2,911

Gráfico 6. Contagens de microrganismos aeróbios mesófilos (log ufc/g) no fiambre fatiado Teste e Controlo, na Câmara de refrigeração 2 (4 a 8 °C), ao longo do tempo de estudo.

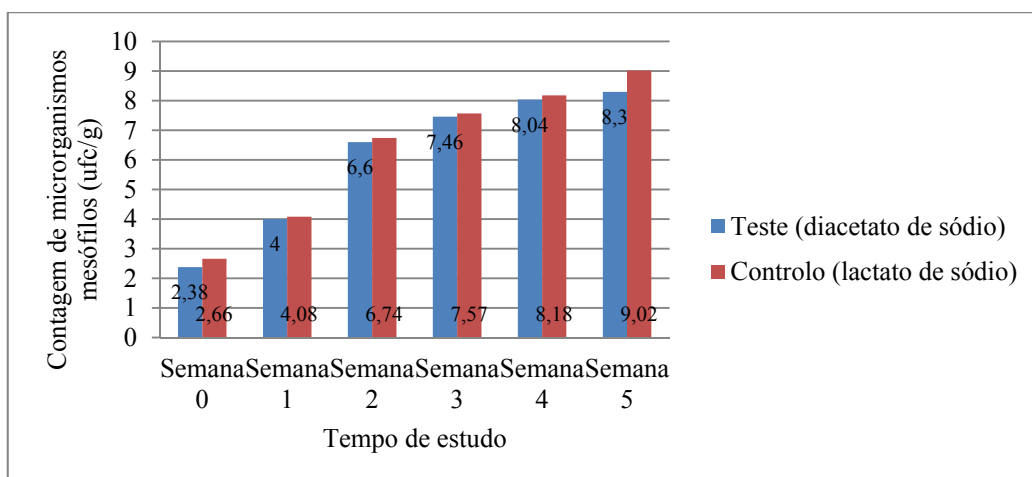
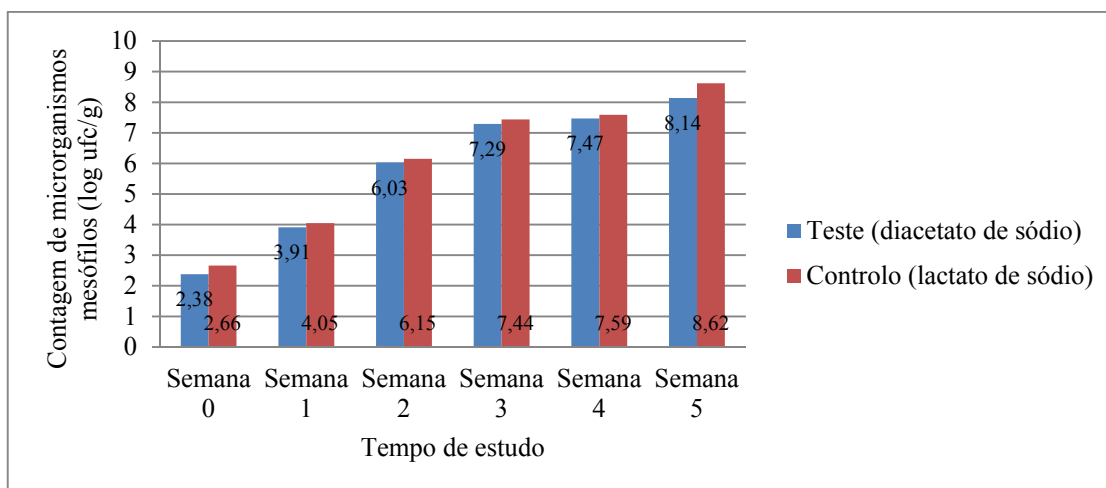


Gráfico 7. Contagens de microrganismos aeróbios mesófilos (log ufc/g) no fiambre fatiado Teste e Controlo, na Câmara de refrigeração 1 (0 a 5 °C), ao longo do tempo de estudo.



1.2. Contagem de microrganismos aeróbios psicrotróficos

Estes microrganismos de deterioração, presentes em carnes processadas e embaladas em atmosfera modificada e com capacidade de se desenvolver em condições de refrigeração, provocam a deterioração de produtos cárneos quando a sua população atinge valores entre 4.3 e 5.1 log ufc/g (Mataragas *et al.*, 2007). Nos resultados das análises microbiológicas realizadas segundo a Norma Portuguesa NP 2307:1987, nenhuma amostra revelou a presença de microrganismos aeróbios psicrotróficos, indicando a eficiência dos conservantes lactato de sódio, no fiambre Controlo, e de diacetato de sódio no fiambre Teste, na conservação e prolongamento da vida útil de produtos cárneos, bem como a indicação de boas práticas de higiene e de produção durante o processamento dos fiambres analisados.

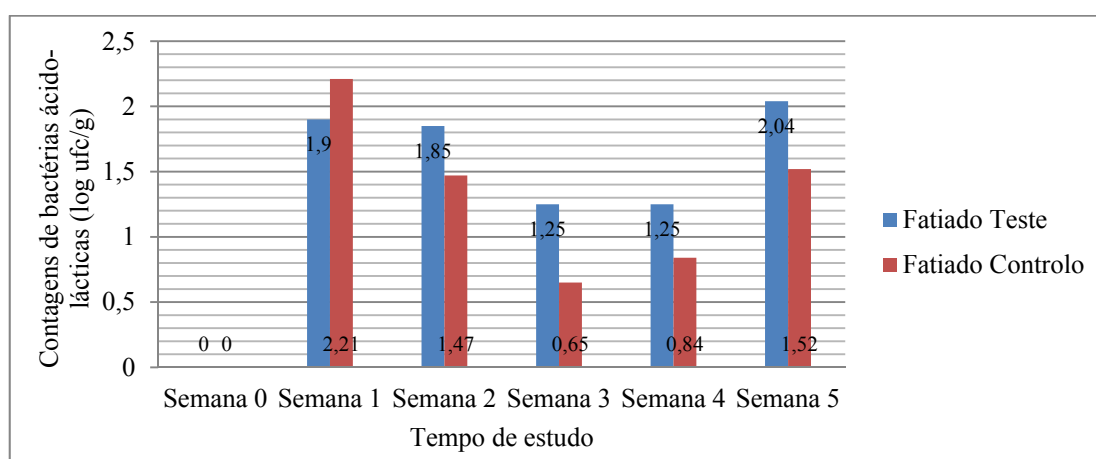
1.3. Contagem de coliformes e *Escherichia coli*

Após análise microbiológica, de acordo com a Norma Portuguesa NP 4137:1991, não foi detectada a presença de microrganismos coliformes e *Escherichia coli* em nenhuma amostra Teste e Controlo, revelando assim a eficácia do tratamento térmico, o cumprimento das boas práticas de higiene e inexistência de contaminações cruzadas durante o processamento dos fiambres a analisar (Silva *et al.*, 2010).

1.4. Contagem de bactérias ácido-lácticas

De acordo com os resultados apresentados no Gráfico 8, é possível verificar que não ocorreram diferenças significativas no crescimento de bactérias ácido-lácticas, no fiambre fatiado, Teste e Controlo, entre as semanas decorridas no tempo de estudo.

Gráfico 8. Contagens de bactérias ácido-lácticas (log ufc/g) no fiambre fatiado Teste e Controlo, ao longo do tempo de estudo.



Sendo os produtos cárneos fatiados alimentos perecíveis, e uma vez que as bactérias ácido-lácticas fazem parte da microflora natural dos produtos cárneos armazenados a temperaturas de refrigeração, constatou-se que o facto de o fiambre estar fatiado predispõe ao desenvolvimento de bactérias ácido-lácticas, uma vez que o fiambre em peça não demonstrou contagens.

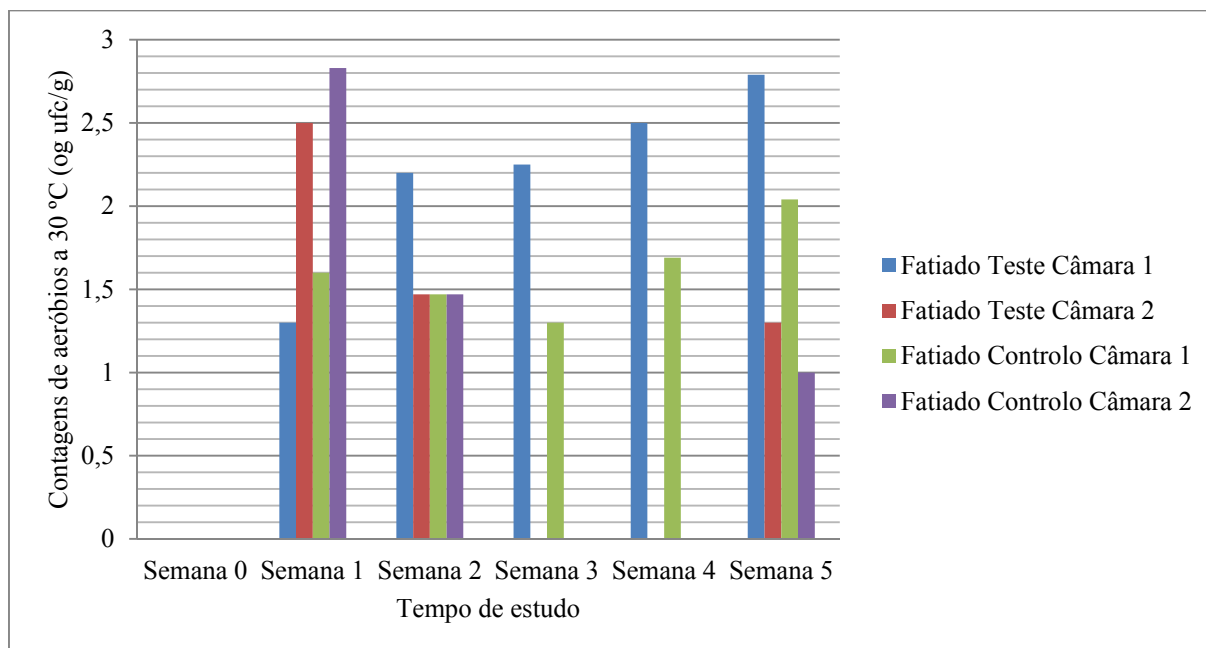
Segundo Mataragas *et al.*, (2006), as bactérias ácido lácticas provocam deterioração de produtos cárneos quando a sua população atinge entre 8.3-8.9 log ufc/g. As populações encontradas nunca atingiram valores tão elevados, no entanto, na semana 4 e 5 de análise microbiológica, algumas embalagens encontravam-se opadas devido à presença de gás, especialmente do fiambre Teste, com diacetato de sódio, revelando a presença de actividade metabólica exercida por estes microrganismos e potencial alteração das características organolépticas dos fiambres. No entanto, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre o fiambre Teste e Controlo ($p\text{-value} = 0,754$ [$p\text{-value} > 0,05$]), tal como se pode verificar nos resultados apresentados no Quadro 7.

Quadro 7. Média das contagens de bactérias ácido-lácticas (log ufc/g) no fiambre Teste (diacetato) e Controlo (lactato).

	Bactérias ácido-lácticas	
	Média	Desvio padrão
Teste (diacetato de sódio – Inbac-ADL)	0,91	1,11
Controlo (lactato de sódio - Purasal®S)	0,74	0,927

As bactérias ácido-lácticas constituem parte da microflora natural de muitos produtos cárneos armazenados sob refrigeração. O crescimento destes microrganismos de deterioração não foi influenciado pelas temperaturas observadas nas câmaras, uma vez que não foram notadas diferenças significativas no crescimento de bactérias ácido-lácticas entre as câmaras 1 e 2 ($p\text{-value} = 0,14$ [$p\text{-value} > 0,05$]), tal como se verifica nos resultados expressos no Gráfico 9 e no Quadro 8.

Gráfico 9. Contagens de bactérias ácido-lácticas no fiambre fatiado Teste e Controlo, nas Câmaras de refrigeração 1 (0 a 5 °C) e 2 (4 a 8 °C), ao longo do tempo de estudo.



Quadro 8. Média das contagens de bactérias ácido-lácticas (log ufc/g) nas câmaras de refrigeração 1 e 2.

	Bactérias ácido-lácticas	
	Média	Desvio padrão
Câmara de refrigeração 1	1,06	1,049
Câmara de refrigeração 2	0,59	0,941

1.5. Contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva

A presença de estafilococos coagulase positiva nos alimentos indica que os manipuladores do produto e/ou o estabelecimento de produção, não adopta boas práticas de higiene, sugerindo um produto com risco potencial à saúde do consumidor (Adams & Moss, 2008; Jay *et al.*, 2005). Neste estudo, no total das 36 amostras analisadas segundo a Norma Portuguesa NP 4400-2:2002, todas apresentaram contagens inferiores a $1,0 \times 10^2$ ufc/g deste microrganismo.

1.6. Pesquisa de esporos de clostrídios sulfito-redutores

Nenhuma das amostras analisadas, demonstrou a presença de clostrídios sulfito-redutores, indicando que o processamento térmico utilizado na produção dos fiambres é adequado para a eliminação destes microrganismos (Jay *et al.*, 2005; Ray & Buhnia, 2007).

1.7. Contagem de *Listeria monocytogenes*

A contagem de *Listeria monocytogenes*, utilizando a técnica descrita, não apresenta crescimento de colônias em nenhum dos ensaios realizados às amostras Teste e Controle, ou seja, o resultado foi em todos os casos inferior a $1,0 \times 10^2$ ufc/g indo de encontro aos critérios microbiológicos estabelecidos no Regulamento (CE) nº 1441/2007.

A ausência de microrganismos potencialmente patogênicos no fiambre após estes processos é indicativa da eficiência do tratamento térmico, do cumprimento de boas práticas de higiene e inexistência de contaminações cruzadas durante todo o processo de fabrico (Chambel *et al.*, 2007). Permite constatar também que a concentração utilizada na fórmula de fabrico de fiambre, de lactato de sódio a 0.7% e diacetato de sódio a 0.4% foi eficiente na inibição de *Listeria monocytogenes*.

1.8. Pesquisa de *Salmonella spp.*

Para a pesquisa de *Salmonella spp.*, realizada em laboratório externo, todas as amostras de fiambre fatiado Teste e Controle, apresentaram ausência deste microrganismo patogênico. Segundo o Regulamento (CE) nº 1441/2007, este produto apresenta, portanto, uma qualidade microbiológica satisfatória para *Salmonella*, uma vez que todos os valores observados indicaram a ausência desta bactéria.

VI. CONCLUSÕES

Dos resultados obtidos foi possível concluir:

- Não existem diferenças significativas entre as amostras Teste (com 0,4% de diacetato de sódio) e Controlo (com 0,7% de lactato de sódio), para os parâmetros microbiológicos avaliados. Ambos os conservantes garantiram a segurança dos fiambres analisados durante o seu período de vida útil através da inibição de microrganismos patogénicos;
- O fiambre fatiado apresentou contagens superiores de aeróbios a 30 °C no primeiro dia de tranchagem, bem como contagens de bactérias ácido-lácticas, patenteando a inevitabilidade da contaminação associada a esta operação e a perecibilidade deste tipo de produtos;
- As amostras armazenadas na câmara de refrigeração 2 apresentaram valores ligeiramente superiores de microrganismos aeróbios a 30 °C devido às oscilações de temperatura ocorridas durante o tempo de estudo (Anexo 5). Não se constatara o mesmo na câmara de refrigeração 1, cuja temperatura se manteve praticamente sempre entre 0 e 5°C (Anexo 6);
- As contagens de bactérias aeróbias mesófilas apresentadas no fiambre fatiado, Teste e Controlo, logo após o seu fatiamento indicam a necessidade de melhorar os níveis de higiene da linha de fatiados e monitorizar as condições da cadeia de frio durante o armazenamento;
- Apesar das contagens de microrganismos mesófilos verificadas, não se registaram microrganismos patogénicos tais como *Salmonella* spp. e *Staphylococcus aureus* em nenhuma das amostras, demonstrando que a segurança do produto, durante o tempo de estudo, não foi comprometida, permitindo concluir a eficácia do sistema de segurança alimentar implementado no controlo de microrganismos patogénicos.

Como recomendações, sugere-se a realização de mais estudos e investigações em relação à qualidade de alimentos submetidos a processos pós-fabrico, nomeadamente alimentos fatiados, tendo em vista as poucas publicações referentes a estes produtos e a garantia da inocuidade dos mesmos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adamberg, K., Kask, S., Laht, T.M. & Paalme, T. (2003). The effect of temperature and pH on the growth of lactic acid bacteria: a pH-auxostat study. *International Journal of Food Microbiology*, 85, 171-183.

Adams, M. R. & Moss, M. O. (2008). *Food Microbiology*. (3^a ed). Londres: RSC Publishing. p. 21-51, 96-98, 212-231, 237-246, 256-258.

Amerling, C. (2003) *Tecnología de la Carne: antología*. Costa Rica: EUNED. p. 4-10, 15-18, 30, 36-42.

Araújo, W.M.C. & Montebello, N.P. (2006). *Carne & CIA*. Brasília: Editora Senac-DF. p. 30-43, 65-68.

Araújo, M. (2007). Safety e Security. Conceitos diferentes. *Segurança e Qualidade Alimentar*, Nº 3, Novembro 2007. p. 62 e 63.

Araújo, W.M.C., Montebello, N.P., Botelho, R.B.A. & Borgo, L.A. (2009). *Alquimia dos Alimentos*. Brasília: Editora Senac-DF p.220-230.

Aymerich, T.; Picouet, P. & Monfort, J. (2008). Decontamination technologies for meat products. *Meat Science*, Volume 78, Issue 1-2, January-February, p. 114-129.

Baptista, P. & Linhares, M. (2005). *Higiene e Segurança Alimentar na Restauração: Volume I – Iniciação*. Guimarães: Forvisão. p.14-21, 77-83.

Baptista, P., Pinheiro, G. & Alves, P. (2003). *Sistemas de Gestão de Segurança Alimentar. 1ª Edição*. Guimarães: Forvisão. p.5,6, 32-34, 43-49.

Bernardo, F. (2006). Perigos sanitários nos alimentos. *Segurança e Qualidade Alimentar*, Nº 1, Novembro 2006, p. 6-8.

Brennan, J.G. (2006). *Food Processing Handbook*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. pp. 11, 125-136, 167 e 354.

Buncic, S. (2006). *Integrated Food Safety and Veterinary Public Health*. London: CABI, p.253.254.

Burity, V., Franceschini, T., Valente, F., Recine, E., Leão, M. & Carvalho, M.F. (2010). *Direito Humano à alimentação adequada no contexto da segurança alimentar e nutricional*. Brasília, DF: ABRANDH. p.11-13.

Cardoso, A.L.S.P., Castro, A.G.M., Tessari, E.N.C., Baldassi, L. & Pinheiro, E.S. (2005). Pesquisa de Salmonella spp, coliformes totais, coliformes fecais, mesófilos, em carcaças e cortes de frango. *Higiene Alimentar*, v.19, n.128, p.144-150.

Carr, F.J., Chill, D. & Maida, N. (2002). *The lactic acid bacteria: a literature survey*. Critical Reviews in Microbiology, 28, 281-370.

Carvalho, A.C.F.B., Cortez, A.L.L., Salotti, B.M., Bürger, K.P. & Vidal-Martins, A.M.C. (2005). Presença de microrganismos mesófilos, psicrotróficos e coliformes em diferentes amostras de produtos avícolas. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, V.72, n.3, p.303-307.

Cayré, M. E., Judis, M.A. & Garro, O. (1999). Efeito de la proliferacion de bacterias lácticas sobre la calidad de las salsichas tipo viena. *Actas de la Reunion de Comunicaciones Cientificas y Tecnologicas*, VIII, 139-142.

Cayré, M.E., Vignolo, G. & Garro, O. (2003). Modeling lactic acid bacteria growth in vacuum-packaged cooked meat emulsions stored at three temperatures. *Food Microbiology*, 20, 561-566.

Chambel, L., Sol, M., Fernandes, I., Barbosa, M., Zilhão, I., Barata, B., Jordan, S., Perni, S., Shama, G., Adrião, A., Faleiro, L., Requena, T., Peláez, C., Andrew, P. W. & Tenreiro, R. (2007). Occurrence and persistence of *Listeria* spp. in the environment of ewe and cow's milk cheese dairies in Portugal unveiled by an integrated analysis of identification, typing and spatial-temporal mapping along production cycle. *International Journal of Food Microbiology*, 116, 52-63.

Chemital (2011). *INBAC: Antimicrobiano para elaborados cárnicos – Descripción*. Acedido a 9 de Maio de 2012 em http://www.chemital.es/familias/chemital_inbac_es.html

Chemital (n.d.). *Modelos predictivos para la evaluación de conservantes frente a Listeria monocytogenes*. Acedido a 9 de Maio de 2012 em http://www.ainia.es/web/acerca-de-ainia/experiencia/analisis-laboratorio/-/articulos/Nzx3/content/chemital:-modelos-predictivos-para-la-evaluacion-conservantes-frente-a-listeria-monocytogenes?p_r_p_564233524_tag=an%C3%A1lisis+laboratorio

Codex Alimentarius (1999). *Code Of Hygienic Practice for Refrigerated Packaged Foods With Extended Shelf Life*. CAC/RCP 46-(1999). Acedido em 6 de Janeiro de 2012 em http://www.codexalimentarius.net/download/standards/347/CXP_046e.pdf

Codex Alimentarius (2006). *Higiene dos Alimentos – Textos Básicos*. Brasília: Organização da Saúde. p.19, 23.

Corradini, M. G. & Peleg, M. (2007). Shelf-life estimation from accelerated storage data. *Trends in Food Science & Technology*, 18, 37 – 47.

Decreto-Lei nº 113/2006 de 12 de Junho de 2006. Diário da República – I Série-A. p.41-43.

DGS – Direcção Geral de Saúde. Doenças de Declaração Obrigatória 2010. Direcção de Serviços de Epidemiologia e Estatísticas da Saúde. Divisão de Epidemiologia. Lisboa: 2010. Acedido em 2 de Maio de 2012 em http://www.portaldasaude.pt/NR/rdonlyres/1FE557EF-97D1-4C6F-9C40-36529B45538C/0/DoencasDeclaracaoObrigatoria_DGS.pdf

Di Pinto, A.; Novello, L.; Montemurro, F.; Bonerba, E. & Tartillo, G. (2010). Occurrence of *Listeria Monocytogenes* in ready-to-eat foods from supermarkets in Southern Italy. *New Microbiol.* Jul;33(3):249-52

Doyle, M.P. & Beuchat L.R. (2007). *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. Washington: ASM Press. p.112-116

Endrikat, S.; Gallagher, D.; Pouillot, R.; Hicks Quesenberry, H.; Labarre, D.; Schroeder, C.M. & Kause, J. (2010). A comparative risk assessment for *Listeria monocytogenes* in prepackaged versus retail-sliced deli meat. *J. Food Prot.* Apr.73(4):612-9

Ferreira, J. (2008). *Aditivos Ingredientes – Especial Carnes*. Nº57 Junho/Agosto. São Paulo: Editora Insumos. p.70-74.

FIPA – Federação das Indústrias Portuguesas Agro – Alimentares (2002). *Segurança Alimentar*. Lisboa: FIPA. Acedido a 5 de Março de 2012 em <http://www.fipa.pt/artigos/art2QSA.pdf>

Florentino, A.M. (2010). Segurança Alimentar e Nutricional e Sustentabilidade: Histórico e Desafios. *Revista de Nutrição Profissional* - Edição 18. Atualizada em Setembro de 2010. Brasília: Grupo Racine. Acedido a 12 de Abril de 2012 em http://www.racine.com.br/index.php?option=com_k2&view=item&id=347:seguran%C3%A7a-alimentar-e-nutricional-e-sustentabilidade-hist%C3%B3rico-e-desafios&Itemid=9&tmpl=component&print=1

Forsythe, S.J. (2010). *The Microbiology of Safe Food*. (2ª ed). Oxford: Wiley-Blackwell. p.71-75, 105,110-115,151-195,283.

Freixanet, L. (n.d.). *Proceso de fabricación de productos cárnicos cocidos de músculo entero IV: Embutición y moldeo*. España: Metalquimia. p.127-133.

Freixanet, L. (n.d. b). *Aditivos e ingredientes en la fabricación de produtos cárnicos cocidos de músculo entero*. España: Metalquimia. p.36.

FSAI – Food Safety Authority of Ireland (2005). *Guidance note no. 18: Determination of food shelf-life*. Dublin: Food Safety Authority of Ireland, 1-41.

Gava, A.J., Silva, C.A.B. & Frias, J.R.G. (2008) *Tecnologia de alimentos. Princípios e ações*. São Paulo: Nobel. p.82-114, 129-133, 342-352.

Gomes, C.P. (2007). Critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios – Nova legislação de União Europeia. *Segurança e Qualidade Alimentar*, Nº2, Maio 2007.p.48-51

Gonçalves, M.L. (2006). Novas exigências legais e controlo oficial dos géneros legias e controlo oficial dos géneros alimentícios. *Segurança e Qualidade Alimentar*, Nº1, Novembro 2006.p.20-23

Hajdenwurcel, J.R. (2004) *Atlas de Microbiologia dos Alimentos*. (2ª ed). São Paulo: Fonte Comunicações e Editora. p.23-57.

Holko, I., Bisova, T., Holkova, Z. & Kmet, V. (2006). Virulence markers of *Escherichia coli* strains isolated from traditional cheeses made from unpasteurised sheep milk in Slovakia. *Food control*, 17, 393-396

Hugas, M. (1998). Bacteriocinogenic lactic acid bacteria for the biopreservation of meat and meat products. *Meat Science*, 49, S139-S150.

Hui, Y. H. (2006). *Handbook of Food Science, Technology, and Engineering*. Volume 1 e 2. New York: CRC Press. p.21-35, 32-56, 83-126, 513-519.

Hulse, J. (2004). Biotechnologies: past history, presente state and future prospects. *Trends in Food Science & Technology*. Volume 15, Issue 1, January, p. 3-18

IAL – Instituto Adolfo Lutz (2008). *Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos (4ªed) – 1ª edição digital. Cap. XIII – carnes e Produtos Cárneos*. Brasil: Editora Anvisa. p.510

INE - Instituto Nacional de Estatística. (2011) Consumo humano de carne per capita (kg/hab.) por Tipo de carnes; Anual - INE, Balanço de Aprovisionamento de Produtos Animais. Acedido a 22 de Março de 2012 em http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0000211&contexto=bd&selTab=tab2

Institute of Food Science and Technology (2009). *Shelf-Life Prediction of Chilled Foods by Gudmundsson, G. & Kristbergsson, K. In: Costa, R & Kristbergsson, K. (2009). Predictive*

Modeling and Risk Assessment, Vol. 4. Springer. Reykjavík, Iceland. Acedido em 6 de Janeiro de 2012 em <http://www.springerlink.com/content/t8855416k01288j6>

ISO 11290-2:1998 (1998). *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes – Part 2: Enumeration method*. International Organization for Standardization. Geneve.

ISO 15214:1998 (1998). *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria – Colony-count technique at 30 °C*. International Organization for Standardization. Geneve.

ISO 6579:2002 (2002). *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of Salmonella spp.*

Jackson, V.; Blair, I.S.; McDowell, D.A.; Kennedy, J. & Bolton, D.J. (2007). The incidence of significant foodborne pathogens in domestic refrigerators. *Food Control*, 18: 346-351.

Jay, J.M., Loessner, M.J. & Golden, D.A. (2005). *Modern Food Microbiology – Seventh Edition. Food Science Text Series*. New York: Springer. p.39-56,103-108,404-406,545-611,620-629,637-650.

Jones, R.J. (2004). Observations on the succession dynamics of lactic acid bacteria populations in chilled-stored vacuum-packaged beef. *International Journal of Food Microbiology*, 90, 273-282.

Junqueira, L.C. & Carneiro, J. (2008). *Histologia Básica. (11ª ed)*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, S.A. p.185-196.

Ledauphin, S., Pommeret, D. & Qannari, E. M. (2006). A Markovian model to study products shelf-lives. *Food Quality and Preference*, 17, pp. 598 – 603

Likar, K. & Jevsnik, M. (2006). Cold Chain maintaining in food trade. *Food Control*, 17: 108-113.

Lund, B.M, Baird-Parker, T.C. & Gould, G.W. (2000). *The Microbiology Safety and Quality of Food – Volume II*. Aspen Publishers, Inc. p.377.

Martínez-Cerezo, S., Sañudo, C., Panea, B. *et al.* (2005). Breed, Slaughter weight and ageing time effects on consumer appraisal of three muscles of lamb. *Meat Science*, v.69, p.795-805, 2005

Marwaha, K. (2010). *Control and analysis for Food and Agricultural Products*. New Delhi: Gene-Tech Books. P.59,236.

Mataragas, M., Drosinos, E.H., Vaidanis, A & Metaxopoulos, I. (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, 157-167.

Mataragas, M., Skandanis, P., Nychas, G.J.E & Drosinos, E.H. (2007). Modeling and predicting spoilage of cooked, cured meat products by multivariate analysis. *Meat Science*, 77, 348-356.

Mellefont, L.A. & Ross, T. (2007). Effect of Potassium Lactate and a Potassium Lactate-Sodium Diacetate Blend on *Listeria monocytogenes* Growth in Modified Atmosphere Packaged Sliced Ham. *Journal of Food Protection*, Vol.70, N.10,p.2297-2305.

Montville, T.J. & Matthews, K.R. (2008). *Food Microbiology: An Introduction*. (2^a ed). Washington: ASM Press p.100-103

Nascimento, A.L. & Sousa de Andrade, S.L.L. (2010). Segurança Alimentar e Nutricional: pressupostos para uma nova cidadania? *Cienc. Cult.*, vol.62, n.4. São Paulo Oct. 2010

NP 2307:1987 (1987). *Norma Portuguesa: Microbiologia Alimentar – Regras gerais para a contagem de microrganismos psicrófilos*. Instituto Português da Qualidade. Lisboa.

NP 4137:1991 (1991). *Norma Portuguesa: Microbiologia Alimentar – Regras gerais para a determinação de Enterobacteriaceae sem revitalização*. Instituto Português da Qualidade. Lisboa

NP 4393 (2001). *Fiambre. Definição e características*. Instituto Português da Qualidade. Lisboa.

NP 4400-2:2002 (2002). *Norma Portuguesa: Microbiologia Alimentar - Regras gerais para contagem de Estafilococos coagulase positiva (Staphylococcus aureus e outras espécies) Parte 2: Técnica sem confirmação de colónias (Método corrente)*. Instituto Português da Qualidade. Lisboa.

NP EN ISO 22000:2005 (2005). *Sistemas de Gestão da Segurança Alimentar*. Instituto Português da Qualidade. Lisboa.

Ovca, A. & Jevsnik, M. (2009). Maintaining a cold chain from purchase to the home and t home: consumer opinions. *Food Control*, 20: 167-172.

Pilcher, J.M. (2006). *Food In World History*. New York: Routledge. p.56

Pommerville, J.C. (2011). *Alcamo's Fundamental's of Microbiology - 9th edition*. London: Jones na Bartlett Publishers. p.66

Prändl, O., Fischer, A., Schmidhofert, T. & Sinell, H. J. (1994). *Tecnología e higiene de la carne*. Zaragoza: Editorial Acribia, S.A. p.83-85.

Queirós, J. (2006). *Auditorías de Seguridad Alimentaria conforme al estándar BRC Global Standard-Food (v.4, 2005)*. Bureau Veritas Quality International.

RASFF – The Rapid Alert System for Food and Feed. Anual Report 2010. Acedido a 30 de Abril de 2012 em http://ec.europa.eu/food/food/rapidalert/docs/rasff_annual_report_2010_en.pdf

Ray, B. & Bhunia, A. (2007). *Fundamental Food Microbiology (4th Ed)*. Boca Raton, Fl: CRC Press p.21-30, 68-78, 125-127, 226-228, 261, 270-272, 290-301, 344, 362-374, 392-397, 401-403, 472, 473, 499, 500.

Regulamento (CE) nº 1130/2011 de 11 de Novembro de 2011. Jornal Oficial da União Europeia L 295/178. Comissão Europeia. Bruxelas.

Regulamento (CE) nº 178/2002 de 28 de Janeiro de 2002. Jornal Oficial da União Europeia L 31/1. Comissão Europeia. Bruxelas.

Regulamento (CE) nº 852/2004 de 29 de Abril de 2004. Jornal Oficial da União Europeia L 139/1. Comissão Europeia. Bruxelas.

Regulamento (CE) nº 853/2004 de 29 de Abril de 2004. Jornal Oficial da União Europeia L 139/55. Comissão Europeia. Bruxelas

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

Regulamento (CE) nº 1441/2007 de 5 de Novembro de 2007. Jornal Oficial da União Europeia L 322/12. Comissão Europeia. Bruxelas

Sá, J. & Magalhães, A. (2009). Referenciais de Certificação para a Segurança Alimentar. *Revista Ingenium*, II série, nº111.

Sarcinelli, M.F., Venturini, K.S. & Silva, L.C. (2007). *Características da Carne Suína*. Universidade Federal do Espírito Santo – UFES. Brasil.

Seman, D.L. (2001). Safety and Quality Concerns – Ingredients. Proceedings of the 54th Reciprocal Meat Conference. *American Meat Science Association*. p.68-72.

Serio, J.; Muniz, C.R.; Freitas, C.A.S.; Lima, J.R. & Souza Neto, J.A. (2009). Avaliação microbiológica e microscópica de presuntos fatiados refrigerados. *Alim. Nutr.* Araraquara.V.20, n.1. Jan/Mar. p.135-139.

Silva, N., Junqueira, V.C.A, Silveira, N.F.A., Taniwaki, M.H., Santos, R.F.S & Gomes, R.A.R. (2010). *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos*. (4ª ed). São Paulo: Livraria Varela

Stekelenberg, F.K. & Kant-Muermans, M.L.T. (2001). Effect of Purasal and acetate on *Lactobacillus curvatus* and *Listeria monocytogenes* in cooked ham. *International Journal of Food Microbiology* N°66. p.197-203.

Toldrá, F. (2006). *Meat: Chemistry and biochemistry*. In Handbook of Food Science, Technology and Engineering, vol. 1, edited by Y. H. Hui. Boca Raton : CRC Press 28-1-28-18

Toldrá, F. (2009). *Safety of Meat and Processed Meat*. Springer. Valencia, Espanha. p.199,279-286

Toldrá, F. (2010). *Handbook of Meat Processing*. USA: Wiley-Blackwell. P.301-309

Vandendriessche, F. (2008). Meat products in the past, today and in the future. *Meat Science*, N.78, p.104-113.

VanDeWalle, A.F. (2010). The effect of natural antimicrobial ingredients on the quality of roast beef and oven roasted turkey. *Theses and Dissertations in Animal Science*. p.17, 20.

Veloso, M. G. (2005). *Microbiologia das carnes: Parte I*. In Gil, J. I., *Manual de inspeção sanitária de carnes: I volume. (3ª ed)*. (pp. 251-279). Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian.

Warriss, P.D. (2009). *Meat Science an Introductory Text (2ª ed)*. London: Modular Texts p.26-48, 65-73, 130-142.

Weintraub, A. (2007). Enterogregative *Escherichia coli*: epidemiology, virulence and detection. *Journal of Medical Microbiology*, 56, 4-8

World Food Programme (2009). Acedido em 6 de Janeiro de 2012 em <http://foodquality.wfp.org/FoodSpecifications/Shelflifeoffoods/tabid/466/Default.aspx>

WHO – World Health Organization (2008). *Cinco chaves para uma alimentação mais segura*. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge.

Xargayó, M. (n.d.). *Proceso de fabricación de productos carnicos cocidos de músculo entero III: Masaje*. España: Metalquimia. p.101-105.

Zoller, J.P. (2008). Basic principles of shelf life assessment. Intertek Food Services. Dubai. Acedido a 18 de Março de 2012 em <http://www.foodsafetydubai.com/prevconf/files/3FSC06.pdf>

ANEXOS



INBAC- ADL



Especificaciones

Parámetro	Valor	Método
Aspecto	Polvo	ITC-09
Color	Blanco	ITC-14
pH	(2%) 4,5 ± 1	ITC-08
Solubilidad	En etanol y propilenglicol	ITC-13
Densidad aparente	0,9 ± 0,2 g / cm ³	ITC-11
Microorg. aerobios (30ºC)	< 10 ufc/g	ISO 4833
<i>Staphylococcus coagulasa</i> +	Ausencia en 1g	ISO 6888-3
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia en 1g	ISO 21528-1
<i>Salmonella</i>	Ausencia en 25g	ISO 6579
<i>Listeria monocytogenes</i>	Ausencia en 25g	ISO 11290-1
<i>Clostridium perfringens</i>	Ausencia en 1g	ISO 7937

Alérgenos (Directiva 2000/13/CE y sus modificaciones)

Cereales que contengan gluten (Trigo, centeno, cebada, avena, espelta, kamut o sus híbridos)	-
Huevo y productos a base de Huevo	-
Leche y sus derivados, incluida la Lactosa	-
Frutos de cáscara: Almonds, Avellanas, Nueces de nogal, Anacardos Píccana, Castañas de parrá, Pistacho, Nueces de macadamia, Nueces de Australia Productos derivados de los anteriores	-
Cebollines y productos a base de cebollines	-
Condensates y productos a base de condensates	-
Medicatos (gasteropodos, bivalvos y celatopodos) y sus derivados	-
Altrarnuz y sus derivados	-
Pescado y productos a base de pescado	-
Soja y Productos a base de Soja	-
Agu y productos derivados	-
Hestaza y productos derivados	-
Granos de Sésamo y productos a base de granos de Sésamo	-
Antibiódo sulfuroso y sulfitos en concentraciones superiores a 10 ppm expresado como SO2	-

ANEXO 2. Ficha técnica do conservante Inbac-ADL.

- Descripción**
Producto de acción bacteriostática, a base de diacetato sódico (E-262(ii)), mono y diglicéridos de ácidos grasos (E-471), ácido láctico (E-270) en sal como excipiente. **INBAC-ADL** actúa sobre la membrana citoplasmática, desorganizando su estructura y alterando su funcionalidad.
- Composición**
Diacetato sódico (E-262 ii), mono y diglicéridos de los ácidos grasos (E-471), ácido láctico (E-270) en sal como excipiente.
- Dosis**
Se recomienda una dosis de utilización de 2 a 4 g de **INBAC-ADL** por kg de producto acabado. También se recomienda aplicarlo, por baño o rociado, cuando se quiere inhibir el desarrollo de la contaminación en las superficies del producto acabado. En estos casos es aconsejable preparar una dispersión de agua con una concentración de un 1-5% de **INBAC-ADL**. Asimismo es recomendable la adición del producto en cualquier fase del proceso de elaboración que asegure un reparto uniforme.
- Presentación**
Sacos de 5 ó 25 kg
- Conservación**
Almacenar en lugar fresco y seco. Evitar temperaturas superiores a 35º C.
- Vida útil**
Un año a partir de su fecha de fabricación.
- GMO**
No se encuentra incluido en el Reglamento (CE) nº 1829/2003.
- Normativa**
Reglamento (CE) nº 1333/2008.
- Certificaciones**
Aprobado por: CE, FDA, FSIS y USDA, Kosher y Halal.



ANEXO 3. Plano HACCP implementado na linha de fatiados.

CAPITULO IX – Plano HACCP – Linha Fatiados										
SECÇÃO 5 – Plano HACCP / Controlo Processo (Fatiados)										
Edição: 07										
ETAPA	PC/ PCC	DESCRIÇÃO DA MEDIDA DE CONTROLO	LIMITES CRÍTICOS / OPERACIONAIS	MONITORIZAÇÃO			MEDIDA CORRECTIVA		REGISTOS Mod.	VERIFICAÇÃO CONTROLO
				PROCEDIMENTO	FREQUENCIA	RESPONSABILIDADE	MEDIDA	RESPONS.		
ARMAZENAGEM										
Câmara de Congelamento	PC	Controlo da temperatura da câmara de congelação	Temp. ≤ - 8° C	Verificar / registar temperatura	3 x dia	Operador	Repar temperatura	Manutenção	DQ 067 DP 172	DQ
							Inspeção do produto de acordo com a Instrução Trabalho IT Q 020	DQ	DQ 062 DQ 009	DQ
Câmara de Refrigeração	PCC (B1)	Controlo da temperatura da câmara de refrigeração	Temp. ≤ 7° C	Verificar / registar temperatura	3 x dia	Operador	Repar temperatura	Manutenção	DQ 067 DP 172	DQ
	PC		Temp. ≤ - 2° C						DQ 062 DQ 009	DQ
⤵										
PREPARAÇÃO PARA A TRANCHAGEM										
Preparação das condições de tranchagem	PC	Controlo do processo de higienização	Conformidade com Planos de Higiene respectivos	Execução correcta do procedimento de limpeza e desinfeção	Conforme descrito nos planos	Operador	Não iniciar o processo se não houver evidências de que foi higienizado	Encarregado	DP 176	DQ
	PC (presunção)	-	Temp. bloco presunto ≤ -10° C	Verificar e registar a temperatura do bloco	Por lote	Operador	Arefeçar o(s) bloco(s) antes de tranchar	Operador	DP 128	DQ
	PC (qdo aplicável)	-	Conformidade com IT 1 001	Verificar o cumprimento do procedimento	Todas as peças a tranchar	Operador	Arefeçar as peças antes de tranchar / alertar Manutenção (avaria)	Operador / Encarregado	DP 172	DQ
⤵										
CAPITULO IX – Plano HACCP – Linha Fatiados										
SECÇÃO 5 – Plano HACCP / Controlo Processo (Fatiados)										
Edição: 07										
ETAPA	PC/ PCC	DESCRIÇÃO DA MEDIDA DE CONTROLO	LIMITES CRÍTICOS / OPERACIONAIS	MONITORIZAÇÃO			MEDIDA CORRECTIVA		REGISTOS Mod.	VERIFICAÇÃO CONTROLO
				PROCEDIMENTO	FREQUENCIA	RESPONSABILIDADE	MEDIDA	RESPONS.		
TRANCHAGEM										
Desembalamento	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tranchagem	PC	Verificação do programa a utilizar no(s) fatiador(s)	Cumprimento do programa de acordo com a Instrução Trabalho IT 1 001	Verificar e registar o cumprimento dos parâmetros	No início de cada operação de tranchagem	Operador	Correcção do programa	Operador	DP 128	DQ
⤵										
EMBALAMENTO	PC	-	Cumprimento do programa de acordo com a Instrução Trabalho IT 002	Verificar e registar o cumprimento dos parâmetros da(s) embaladora(s)	No início de cada operação de embalamento	Operador	Correcção dos parâmetros	Manutenção	DP 128	DQ
	PC	-	Ausência de materiais estranhos e correcta disposição das fatias	Observação visual	Contínua	Operador	Separação, correcção e reembalamento	Operador	-	DQ
	PC	Verificação estado da soldadura	Ausência de defeitos de soldadura	Observação e registo visual da soldadura	De 30 min. em 30 min.	Operador	Separação e reembalamento	Operador	DP 157	DQ
	PC	Verificação aleatória do peso embalagem	Cumprimento dos valores definidos no Mod. DP 157	Pesagem das embalagens	De 30 min. em 30 min.	Operador	Rejeição das embalagens e confirmação das porções de tranchagem (ajuste da fat)	Operador	DP 157	DQ
	PC (Atmosfera modificada)	Controlo do teor de O ₂ na embalagem	< 0,5 %	Verificar e registar o teor de O ₂ na embalagem	De 30 min. em 30 min.	Operador	Paragem da operação de embalagem e verificação da embaladora	Manutenção	DP 157	DQ
							Separação e reembalamento	Operador		
⤵										

CAPITULO IX – Plano HACCP – Linha Fatiados

SECÇÃO 5 – Plano HACCP / Controlo Processo (Fatiados)	
Edição: 07	

ETAPA	PC/ PCC	DESCRIÇÃO DA MEDIDA DE CONTROLO	LIMITES CRÍTICOS / OPERACIONAIS	MONITORIZAÇÃO			MEDIDA CORRECTIVA		REGISTOS	VERIFICAÇÃO CONTROLO
				PROCEDIMENTO	FREQUENCIA	RESPONSABILIDADE	MEDIDA	RESPONS.	Mod.	
ROTULAGEM ETIQUETAGEM CARTONAGEM	PC	-	Cumprimento das Instruções Trabalho IT Di 003 e IT Di 004	Verificação das menções de rotulagem e da data de validade	No início de cada operação de rotulagem / etiquetagem	Operador	Correcção do rótulo / etiqueta	Operador	DP 158	DQ
↓										
ARMAZENAGEM	PCC (B2)	Controlo da temperatura da câmara de armazenagem	Temp. ≤ 5° C Temp. ≥ 0° C	Verificar /registar temperaturas	3 x dia	Operador	Repor temperatura Inspeção do produto de acordo com Instrução Trabalho IT Q 020	Manutenção DQ	DQ 067 DP 172 DP 175 DQ 062 DQ 009	DQ DQ

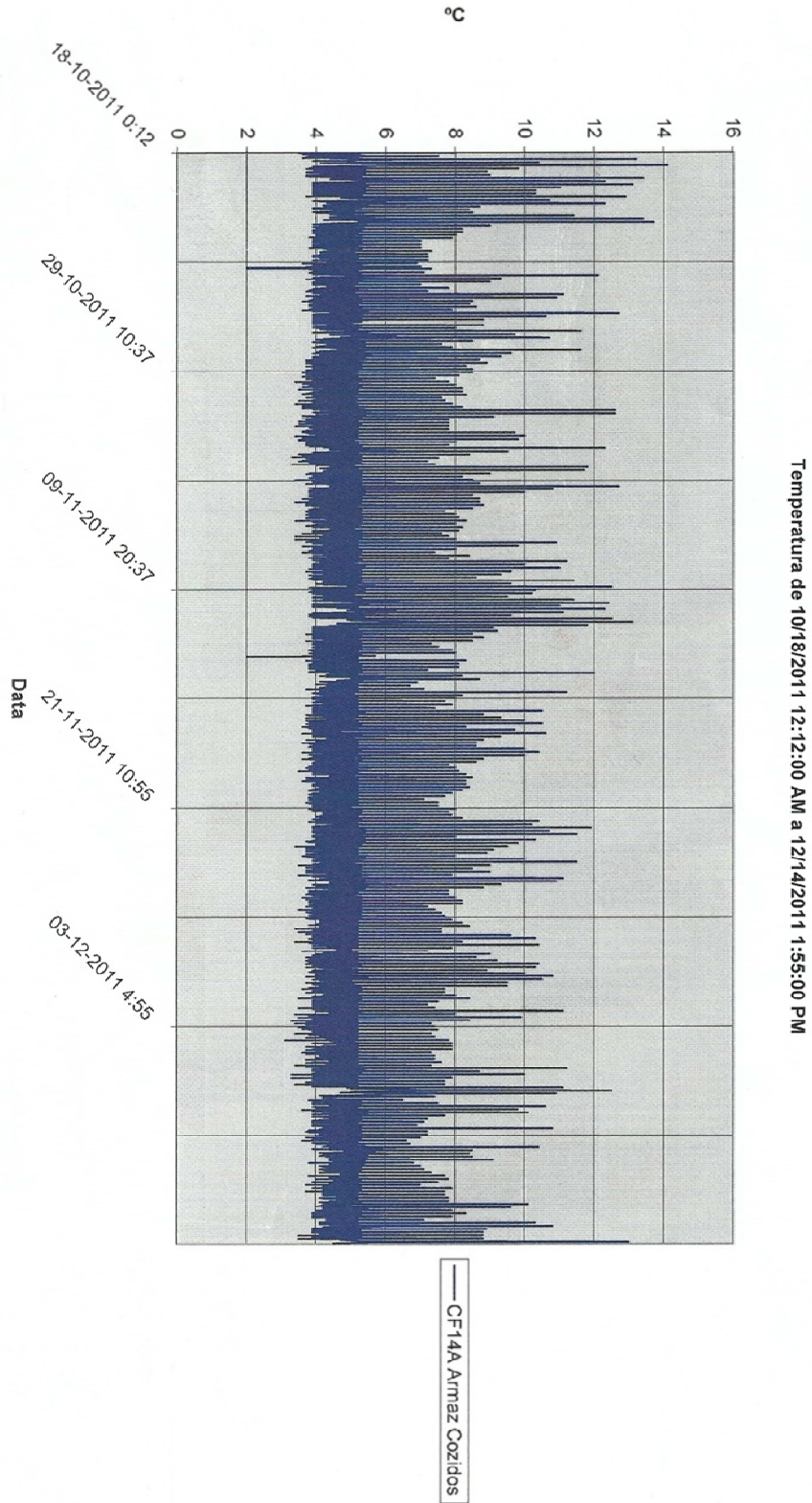
ANEXO 4. Ficha técnica da mistura de gases utilizada em embalagens de atmosfera modificada.

ESPECIFICAÇÕES DOS GASES *

* Conforme Catálogo de Gases S.P.A.L. (REV.8 de 22.07.2005)

NOME S.P.A.L.	COMPOSIÇÃO			TEOR DE IMPUREZAS		PRESSÃO MÁX. Condicionamento a 15° C (bar)
	constituintes	pureza (min.)		constituintes	ppm (máx.)	
ALIGAL 13	Azoto - N ₂ Dióxido de Carbono – CO ₂	70 % 30 %	± 3%	H ₂ O CnHm CH ₄ O ₂ CO NO + NO ₂ S total	50 30 20 20 10 10 0,5	200

ANEXO 5. Registos das temperaturas da câmara de refrigeração 2.



ANEXO 6. Registos das temperaturas da câmara de refrigeração 1.

