

Controlo microbiológico e inovação na indústria alimentar

Sara Patrícia Morais de Oliveira Jorge
Dias

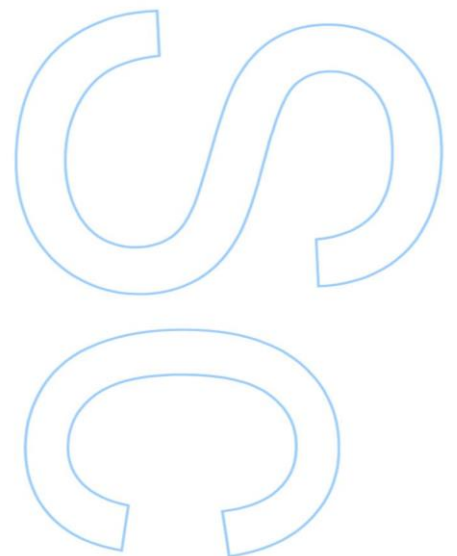
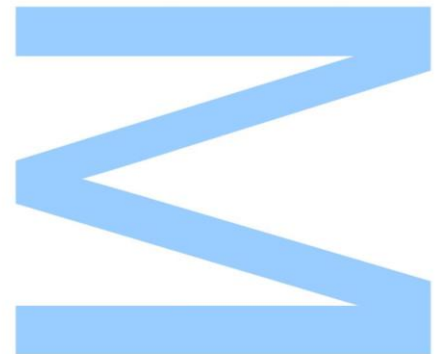
Mestrado em Tecnologia e Ciência Alimentar
Departamento de Química e Bioquímica
2020

Orientador

Sandra Maria Basílio Quinteira, Professora Auxiliar Convidada,
Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

Supervisora

Marta Gonçalves, Diretora Industrial da NUTRIVA

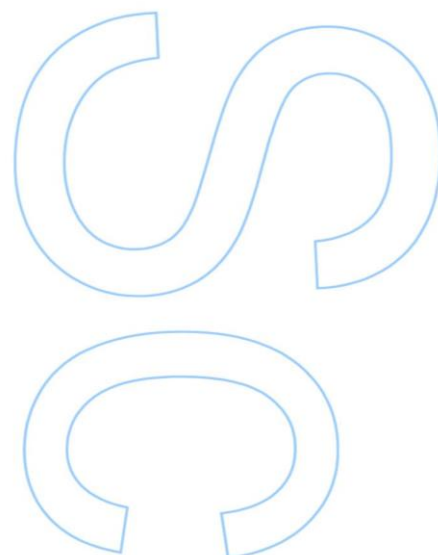
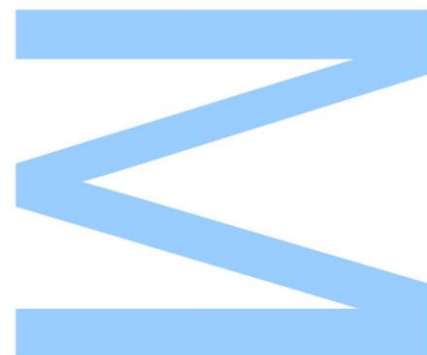




Todas as correções determinadas
pelo júri, e só essas, foram efetuadas.

O Presidente do Júri,

Porto, ____/____/____



Agradecimentos

É com enorme satisfação que expresso o meu agradecimento a todos os que tornaram a realização deste trabalho possível.

À Professora Doutora Sandra Quinteira, minha orientadora científica, por todo o apoio e disponibilidade prestados ao longo deste ano, pelo incentivo e pelos conhecimentos transmitidos.

À Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, e à NUTRIVA, por me terem possibilitado a entrada no mercado de trabalho e integração no dia-a-dia de uma empresa.

À Engenheira Marta Gonçalves, supervisora na empresa, pelo desafio proposto e por me ter dado a liberdade de realizar as atividades autonomamente na empresa. Agradeço também à direção e a todos os colaboradores da NUTRIVA, que me receberam carinhosamente e sempre se mostraram disponíveis para me ajudar.

Aos laboratórios de microbiologia alimentar que aceitaram a realização de visitas às suas instalações e me permitiram discutir alguns aspetos relacionados com o funcionamento deste tipo de laboratório.

A todas as empresas aqui não mencionadas, que disponibilizaram os seus serviços, os orçamentos, e todo o apoio, contribuindo para o desenvolvimento deste projeto.

Ao Coro Misto da Universidade de Coimbra e à Tuna Académica da Universidade de Coimbra, pelos excelentes momentos que vivemos, desde o primeiro dia.

Aos meus amigos, que me acompanharam ao longo desta jornada académica, sempre curiosos com este projeto, que de alguma forma, contribuíram para a realização do mesmo.

À tia Fina e ao tio Zé, por tão bem me terem acolhido em casa deles, no Porto, durante o mestrado, e pela amizade que cresceu ao longo destes dois anos.

Aos meus pais, ao meu irmão e à minha avó, a eles em especial, pelo amor incondicional, apoio, incentivo, por estarem sempre ao meu lado, desde sempre. Não há palavras para definir!

Resumo

O presente relatório foi desenvolvido no âmbito do Estágio Curricular, realizado em ambiente empresarial na empresa NUTRIVA - Produção e Distribuição Alimentar, Lda, para obtenção do grau de Mestre em Tecnologia e Ciência Alimentar, pela Faculdade de Ciências da Universidade do Porto. Os principais objetivos deste estágio foram a realização de um projeto de laboratório de microbiologia interno e a integração e participação na rotina do departamento de inovação e desenvolvimento de novos produtos (I&D).

As empresas da indústria alimentar encontram-se profundamente regulamentadas, de modo a garantir o provimento de produtos seguros para a saúde humana. Assim, o controlo da qualidade microbiológica é não só uma obrigatoriedade legal, como também representa uma prática necessária para o correto funcionamento dos sistemas de gestão da segurança alimentar, implementados pelas empresas deste setor. Na NUTRIVA, os gastos em análises microbiológicas são já bastante elevados, pelo que surgiu por parte da empresa a proposta de realizar um estudo de projeto para implementação de um laboratório de análises microbiológicas interno. Para a realização do estudo, elaborou-se um plano de construção e montagem, onde se abrangeu a planta de construção, a descrição de todo o mobiliário, equipamentos, materiais, e consumíveis necessários para o laboratório em funcionamento, bem como os respetivos custos. Determinaram-se os valores do investimento inicial e os custos anuais, de acordo com a previsão de análises a realizar ao longo do ano 2020. De acordo com os orçamentos e pela análise de custos realizada, comparando igual volume de análises, verificou-se que, no imediato, os gastos do laboratório interno em funcionamento serão superiores aos custos associados ao atual serviço externo. No entanto, o estudo foi concretizado e os resultados permitirão aos responsáveis da NUTRIVA uma análise fundamentada quanto à viabilidade económica e logística da construção de um laboratório próprio.

Para além deste projeto, o estágio também teve como principal objetivo, a integração e participação no departamento de inovação e desenvolvimento de novos produtos da NUTRIVA. Os avanços na tecnologia e o aumento de fluxo de informação e conhecimento são, cada vez mais, vistos como um condutor para o crescimento económico e inovação. Efetivamente, para que uma empresa seja competitiva num setor com muitos concorrentes, esta deve apostar tanto na inovação como na qualidade de produtos e processos. Ao longo deste Estágio Curricular foi possível participar no desenvolvimento e lançamento de novas referências para o mercado nacional e internacional. Diariamente foram solicitados novos

desenvolvimentos, tendo sido possível participar em todas as etapas inerentes ao processo de desenvolvimento de um novo produto, desde a conceção do produto até à sua expedição para o cliente, atividades que abrangeram os departamentos de qualidade, produção e comercial.

A realização deste estágio representou uma experiência bastante enriquecedora, uma excelente oportunidade de contacto/integração com a realidade da indústria alimentar, e uma ótima ocasião para o desenvolvimento de competências e aplicação de conhecimentos teóricos e práticos adquiridos no primeiro ano do Mestrado em Tecnologia e Ciência Alimentar. Todas as atividades desenvolvidas, no decurso do Estágio Curricular, enquadram-se nos objetivos fundamentais deste Mestrado, agregando diferentes componentes científicas e tecnológicas, como a importância da Segurança Alimentar e a criação/desenvolvimento de novos produtos.

Palavras-chave: qualidade e segurança alimentar, microbiologia alimentar, laboratório de microbiologia, inovação, desenvolvimento de novos produtos

Abstract

The present report was developed within the scope of an internship carried out in a business environment at NUTRIVA - Produção e Distribuição Alimentar, Lda., as a part of the Master's degree in Food Science and Technology, administered by Faculty of Sciences, Porto University. The main objectives of this internship were the development of an internal microbiology laboratory project and the integration/participation in the daily routine of the department of innovation and development of new products.

Food industry companies are heavily regulated to ensure the provision of safe products for human health. Thus, the control of microbiological quality is not only a legal requirement, but also represents a necessary practice for the correct operation of food safety management systems, implemented by companies within this sector. At NUTRIVA, the costs with microbiological analysis are already quite high, which was why the company came up with a proposal to carry out a project study for the implementation of an internal microbiological analysis laboratory. In order to carry out the study, a construction and assembly plan was prepared, covering the construction plan, the description of all furniture, equipment, materials, and consumables necessary for the laboratory in operation, as well as the respective costs. In that regard, the values of the initial investment and the annual costs were determined, according to the analyses forecast to be carried out during the year 2020. According to the budgets and the cost analysis carried out, comparing an equal volume of analyses, it was found that, in the short term, the costs of the internal laboratory in operation would be higher than the costs associated with the current external service. Regardless, the study was completed and produced results which will allow NUTRIVA managers to have an improved in-depth analysis on the economic and logistical feasibility of building their own laboratory.

In addition to this project, the internship also aimed for the integration and participation in the department of innovation and development of new products from NUTRIVA. Advancements in technology and increased flow of information and knowledge are increasingly seen as a driver for economic growth and innovation. Indeed, to be competitive in an industry with many competitors, a company must invest in innovation as well as quality of products and processes. Throughout this Curricular Internship, it was possible to participate in the development and launch of new references for the national and international market. New developments were requested on a daily basis, and it was possible to participate in all stages inherent to the process of new product development, from product

design to customer delivery, activities that covered the quality, production and commercial departments.

This internship represented a very enriching experience, an excellent opportunity for contact/integration with the reality of the food industry, and a great occasion for skills development and application of theoretical and practical knowledge acquired on the first year of the Master's degree in Food Science and Technology. All the developed activities, during the Curricular Internship, fall within the fundamental objectives of this Master, gathering different scientific and technological components, such as the importance of Food Safety and the creation/development of new products.

Keywords: food quality and safety, food microbiology, microbiology laboratory, innovation, development of new products

Índice

Agradecimentos	III
Resumo	IV
Abstract	VI
Índice de tabelas.....	XI
Índice de figuras.....	XII
Abreviaturas e siglas	XIII
1. Introdução	1
1.1. Enquadramento.....	1
1.2. NUTRIVA - Produção e Distribuição Alimentar, Lda	2
2. Revisão Bibliográfica.....	4
2.1. Importância da Segurança Alimentar	4
2.2. Perigos de origem alimentar	5
2.3. Quadro legal aplicável à Qualidade e Segurança Alimentar	6
2.4. Doenças de origem alimentar.....	8
2.5. Critérios microbiológicos	11
2.6. Parâmetros de análise microbiológica	12
2.6.1. Microrganismos indicadores de higiene e alteração	12
2.6.1.1. Contagem de microrganismos totais a 30 °C.....	12
2.6.1.2. Contagem de bolores e leveduras	13
2.6.1.3. Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	13
2.6.1.4. Contagem de coliformes.....	14
2.6.1.5. Contagem de <i>Escherichia coli</i>	15
2.6.1.6. Contagem de bactérias sulfito-redutoras	16
2.6.2. Organismos patogénicos.....	16
2.6.2.1. Contagem de <i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	17
2.6.2.2. Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	18
2.6.2.3. Pesquisa de <i>Salmonella</i>	18
2.6.2.4. Outros microrganismos patogénicos	19
2.7. Valores-guia	20
2.8. Avaliação da qualidade microbiológica do ambiente de preparação e distribuição alimentar	22
2.9. Controlo microbiológico em contexto industrial	22

2.9.1.	Construção de um laboratório de microbiologia interno	23
2.10.	Inovação e desenvolvimento no setor alimentar	24
3.	Atividades desenvolvidas no estágio.....	27
3.1.	Projeto de laboratório de microbiologia.....	27
3.1.1.	Qualidade e Segurança Alimentar na NUTRIVA.....	28
3.1.2.	Funções do laboratório e métodos a seguir	29
3.1.3.	Plano de construção e montagem	31
3.1.3.1.	Planta.....	32
3.1.3.2.	Mobiliário.....	33
3.1.3.3.	Equipamentos e materiais.....	35
3.1.3.4.	Sistema de aquecimento, ventilação e ar condicionado	38
3.1.3.5.	Consumíveis	40
3.1.3.5.1.	Materiais descartáveis	41
3.1.3.5.2.	Diluentes, meios de cultura, suplementos e testes.....	41
3.1.3.5.3.	Estirpes de referência	43
3.1.3.6.	Gestão de resíduos	44
3.1.4.	Análise de custos.....	45
3.1.5.	Relação custos-benefícios	48
3.2.	Integração e participação no departamento de I&D.....	49
3.2.1.	Desenvolvimento estruturado de novos produtos	50
3.2.2.	Atividades desenvolvidas no departamento de I&D.....	53
3.2.3.	Participação no evento TRENDS 2020 – 9ª Edição	54
4.	Considerações finais	57
5.	Referências bibliográficas	58
6.	Anexos.....	67
	Anexo A - Descrição dos custos respetivos a cada ensaio microbiológico a amostras alimentares.	67
	Anexo B - Descrição dos custos respetivos a cada ensaio microbiológico a superfícies... ..	71
	Anexo C - Descrição dos custos respetivos a cada ensaio microbiológico ao ar.	73
	Anexo D - Custos pormenorizados de análises microbiológicas exigidas para controlo de produto final.....	75
	Anexo E - Custos pormenorizados de análises microbiológicas de acordo com o Plano de Controlo Analítico.	78
	Anexo F - Custos pormenorizados de análises microbiológicas no desenvolvimento de novos produtos em 2019.....	82

Anexo G - Custos pormenorizados de análises microbiológicas exigidas para controlo de produto final, com os preços praticados pelo laboratório externo.	83
Anexo H - Custos pormenorizados de análises microbiológicas de acordo com o Plano de Controlo Analítico, com os preços praticados pelo laboratório externo.....	86
Anexo I - Custos pormenorizados de análises microbiológicas no desenvolvimento de novos produtos em 2019, com os preços praticados pelo laboratório externo.	89
Anexo J – Formulário para solicitação de desenvolvimento de novos produtos.....	90
Anexo L – Documento de registo do desenvolvimento de receitas.....	91
Anexo M – Documento de registo para apuramento de custos	93
Anexo N – Ficha de especificações técnicas de produto (Exemplo)	94
Anexo O – Ficha de fabrico do produto	96
Anexo P – Documento de registo do desenvolvimento de novos produtos.....	98

Índice de tabelas

Tabela 1. Lista de ensaios a realizar no laboratório e respetivos métodos de referência.	30
Tabela 2. Mobiliário a instalar nas salas do laboratório.	35
Tabela 3. Lista de equipamentos para a sala de receção e armazenamento de amostras...36	
Tabela 4. Lista de equipamentos e materiais para a sala de preparação e esterilização de meios.	36
Tabela 5. Lista de equipamentos e materiais para a sala de análises.....	37
Tabela 6. Lista de equipamentos para a sala de descontaminação.	38
Tabela 7. Lista de itens para a aquisição do sistema AVAC e respetivos custos.	39
Tabela 8. Lista de materiais descartáveis.	41
Tabela 9. Descrição de diluentes, meios de cultura desidratados, meios prontos em placa, suplementos e testes de confirmação necessários para cada ensaio e respetivos custos. ..	42
Tabela 10. Investimento inicial e custos de funcionamento do laboratório.	45
Tabela 11. Estimativa de custos associados às determinações laboratoriais.	46
Tabela 12. Custos anuais estimados em consumíveis.	47
Tabela 13. Custos estimados em água, gás, eletricidade, um colaborador e material de escritório.....	47
Tabela 14. Gastos anuais em análises microbiológicas, de acordo com os preços praticados pelo laboratório externo.....	48
Tabela 15. As 4 megatendências e 10 tendências-chave em alimentação, nutrição e saúde para o ano 2020.	55

Índice de figuras

Figura 1. Unidade fabril NUTRIVA, Lda., em Vila Nova de Poiares	3
Figura 2. Números registados e taxas de zoonoses humanas confirmadas na União Europeia em 2018. (Retirado de EFSA & ECDC: The European Union One Health 2018 Zoonoses Report).....	9
Figura 3. Impulsionadores de inovação alimentar na Europa (%). (Retirado de FoodDrinkEurope: Data & Trends of the European Food and Drink Industry 2019).....	25
Figura 4. Tendências de inovação alimentar. (Adaptado de FoodDrinkEurope: Data & Trends of the European Food and Drink Industry 2019).	26
Figura 5. Planta do laboratório, a. Sala de receção e armazenamento de amostras; b. Sala de preparação e esterilização de meios; c. Sala de análises; d. Sala de descontaminação. 33	
Figura 6. Representação do mobiliário do laboratório, a. Sala de receção e armazenamento de amostras; b. Sala de preparação e esterilização de meios; c. Sala de análises; d. Sala de descontaminação.	34

Abreviaturas e siglas

ASAE - Autoridade de Segurança Alimentar e Económica

HACCP - *Hazard Analysis and Critical Control Point*

I&D – Inovação e Desenvolvimento

IFS - *International Featured Standard*

INSA - Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge

ISO - *International Organization for Standardization*

PNCA - Plano Nacional de Colheita de Amostras

EFSA – *European Food Safety Authority*

AVAC - Aquecimento, ventilação e ar condicionado

1. Introdução

1.1. Enquadramento

O presente relatório descreve todas as atividades desenvolvidas no âmbito do Estágio Curricular realizado, em ambiente empresarial, para obtenção do grau de Mestre em Tecnologia e Ciência Alimentar, pela Faculdade de Ciências da Universidade do Porto em parceria com a Universidade do Minho. Este Estágio Curricular, com duração de 8 meses, teve lugar na instalação fabril da empresa de Produção e Distribuição Alimentar NUTRIVA, em Vila Nova de Poiares.

A Segurança Alimentar é, atualmente, considerada uma área de importância extrema e de intervenção fundamental no contexto da saúde pública, principalmente quando estão envolvidos grupos de risco como as crianças, idosos, grávidas e indivíduos imunocomprometidos. São inúmeras as possibilidades de contaminação ao longo da cadeia de valor dos alimentos. Efetivamente, a cadeia alimentar é longa e cada vez mais complexa e global, com várias etapas, desde a produção, abate ou colheita, processamento, armazenamento, transporte e distribuição, antes de chegar ao consumidor. Assim, torna-se essencial o controlo da higiene, de modo a inibir a deterioração dos alimentos, prevenir as doenças por eles veiculadas, minimizando consequências para a saúde pública e para a economia. Na indústria alimentar, o sistema HACCP (*Hazard Analysis of Critical Control Points*) permite identificar, avaliar e controlar os perigos significativos para a segurança dos alimentos (CAC, 2003). Assim como este, outros sistemas de gestão da Segurança Alimentar se baseiam em medidas preventivas. Para tal, as análises microbiológicas constituem uma ferramenta extremamente importante, podendo ser realizadas em todas as etapas da produção alimentar, desde as matérias-primas, produtos em processamento, produto final, amostras de ambiente de produção, de preparação e de distribuição.

Garantir a qualidade e a segurança dos alimentos produzidos, constitui um importante objetivo da marca NUTRIVA. De facto, diariamente são solicitadas diversas análises laboratoriais para o controlo de qualidade, as quais são totalmente realizadas por um laboratório externo acreditado. No entanto, o recurso a este serviço externo acarreta constrangimentos que se relacionam essencialmente com os avultados custos envolvidos. Recentemente, com o intuito de diminuir as despesas associadas a este serviço, surgiu a hipótese de se construir um laboratório, nas dependências da unidade fabril, de modo a que as análises microbiológicas de rotina para a avaliação da qualidade dos produtos alimentares sejam realizadas, na sua totalidade, intramuros. Neste contexto, um dos

objetivos principais do presente estágio consistiu no estudo da viabilidade da implementação de um laboratório interno de análises microbiológicas, com levantamento de todo o equipamento, material/reagentes, recursos humanos, e restantes infraestruturas necessárias, bem como de todos os custos associados.

O desenvolvimento e lançamento de novos produtos constitui um fator impulsionador do sucesso das empresas da indústria alimentar. Esta área tem representado uma aposta constante da empresa NUTRIVA que, há cerca de 3 anos, criou o departamento de inovação e desenvolvimento de novos produtos (I&D), permitindo, desta forma, dar resposta às, cada vez maiores, e mais diversas, solicitações e exigências dos clientes. Assim, a integração na rotina de trabalho da fábrica, em todo o processo de desenvolvimento de novos produtos, desde a conceção ou ideia do produto até à sua comercialização, abrangendo os departamentos de qualidade, produção e comercial, representou um outro objetivo importante do presente estágio, com oportunidade de participação nos vários processos inerentes ao desenvolvimento dos novos produtos solicitados por clientes, ou pela própria empresa.

1.2. NUTRIVA - Produção e Distribuição Alimentar, Lda

A empresa NUTRIVA - Produção e Distribuição Alimentar, Lda, fundada em 2005, dedica-se à produção e distribuição de uma larga gama de produtos alimentares que compreende as secções de padaria, pastelaria, salgados, sobremesas, croissanteria e gelados. A empresa atua no mercado interno e externo, estando constantemente a adequar os seus produtos às necessidades específicas de cada mercado, sendo bastante ativa a área de inovação e desenvolvimento de novos produtos. A gama de produtos da NUTRIVA é transversal e está preparada para satisfazer as necessidades do canal tradicional, padarias, hipermercados e supermercados e do canal HORECA (Hotel/Restaurante/Catering ou Café ou Cantina), tanto no mercado nacional como internacional. A NUTRIVA procura aliar o tradicional à inovação. Baseando-se em receitas tradicionais, procura aliar rigorosos processos de fabrico, tecnologia adequada e atual, uma criteriosa seleção de todos os ingredientes, utilizando a ultracongelção, de modo a garantir a qualidade dos seus produtos e a essência dos sabores.

Esta empresa possui a sua única instalação fabril em Vila Nova de Poiares (Figura 1). Esta unidade está equipada e preparada para a produção de todos os produtos da sua gama, mantendo elevados padrões de qualidade e de controlo. É uma unidade de produção certificada pela norma IFS Food (*International Featured Standard Food*). O centro logístico e

administrativo da NUTRIVA está localizado em Coimbra. Possui ainda uma frota de distribuição de frio negativo adequada e capaz ao abastecimento de toda a sua rede de clientes no mercado nacional. No mercado internacional, as entregas são garantidas com operadores logísticos.



Figura 1. Unidade fabril NUTRIVA, Lda., em Vila Nova de Poiares

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Importância da Segurança Alimentar

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, uma doença de origem alimentar é uma doença de natureza infecciosa ou tóxica causada pela ingestão de alimentos ou água contaminados com bactérias, vírus, parasitas ou substâncias químicas (WHO, 2019). As doenças de origem alimentar abrangem um largo espectro de doenças e são um crescente problema de saúde pública a nível mundial, tendo implicações no desenvolvimento das sociedades (Haagsma *et al.*, 2013; Thibier & Vallat, 2014).

A Segurança Alimentar representa um *hot topic* da extremamente atual e importante abordagem *One Health*, o conceito de que a saúde dos seres humanos, dos animais e do ambiente está estritamente ligada. De modo a obter alimentos seguros para a população mundial, preservar os recursos naturais e melhorar a saúde através da salvaguarda da Segurança Alimentar, há a necessidade de consciencializar académicos, consumidores, produtores e as agências governamentais através de várias iniciativas, criando-se uma rede *One Health* para enfrentar estes desafios (Garcia *et al.*, 2020)

Nos últimos anos, tem-se observado uma maior exigência com a segurança microbiológica dos alimentos, muito em resposta às ocorrências de surtos de origem alimentar. De facto, as doenças transmitidas por alimentos assumem cada vez mais um fardo importante, não só nos países em desenvolvimento, mas também, e cada vez mais, nos países industrializados. Vários são os fatores que têm vindo a contribuir para esta situação como: o rápido crescimento da população mundial; a alteração de hábitos alimentares, levando a um aumento do número de refeições fora de casa, refeições pré-preparadas ou refeições prontas a consumir; o mercado global, que possibilita a transação de produtos alimentares entre países, facilitando a disseminação de agentes patogénicos; as alterações climáticas, com o aumento do nível de poluição do ar, da água, do solo, que trazem implicações nos produtos alimentares; novos métodos de produção alimentar em massa em resposta ao crescimento e aumento da exigência da população (Newell *et al.*, 2010). As falhas nas regras de higiene (sobretudo por parte dos manipuladores) e o fenómeno da contaminação cruzada, favorecida por equipamentos e utensílios com higienização deficiente, são também importantes fatores promotores das doenças de origem alimentar. Este conjunto de situações colocou um novo desafio a nível de segurança sanitária dos alimentos, tendo os processos de produção de ser orientados de forma a garantir a proteção e promoção da saúde dos consumidores.

2.2. Perigos de origem alimentar

A Segurança Alimentar está relacionada com a presença de perigos nos produtos alimentares no ato do consumo. Perigo é um agente biológico, químico ou físico presente no alimento ou situação por ele causada que tenha um efeito adverso na saúde (CAC, 2003).

Os perigos físicos podem ser de origem vasta, desde objetos presentes em matérias-primas, até objetos introduzidos nos produtos alimentares pelos processos a que estão sujeitos, ou pelos próprios manipuladores. Esta contaminação física do alimento pode ocorrer através de madeiras, metais, pedras, materiais de revestimento ou isolamento, plásticos, limalhas de alumínio, palitos, cabelos, objetos de uso pessoal, ossos e espinhas (Viegas, 2014).

Os perigos químicos englobam aditivos alimentares, usados em concentrações excessivas, pesticidas, antibióticos, metais pesados, toxinas naturais (produzidas por exemplo por cogumelos, peixes exóticos, marisco), alergénios, desinfetantes ou detergentes (Carmona *et al.*, 2019; Viegas, 2014).

Os perigos biológicos incluem as bactérias, fungos, vírus, parasitas e toxinas microbianas. Alguns destes organismos vivem e desenvolvem-se nos manipuladores, podendo ser transmitidos aos alimentos por processos de contaminação cruzada. Outros ocorrem naturalmente no ambiente onde os alimentos são produzidos. A maior parte destes perigos é destruída por processamentos térmicos e muitos podem ser controlados por práticas adequadas de armazenamento e manipulação, boas práticas de higiene e fabrico, controlo adequado do tempo e temperatura de confeção (Carmona *et al.*, 2019; Willey *et al.*, 2008). Os riscos originados pelos perigos microbiológicos constituem um problema sério e imediato à saúde humana. Deste modo, os alimentos ou a água podem ser o veículo de transmissão de agentes patogénicos, podendo permitir o crescimento até à dose infecciosa, originando as infeções alimentares, ou então permitir o seu crescimento e a produção de toxinas que afetam o consumidor, provocando uma intoxicação alimentar (Willey *et al.*, 2008). Nestes casos, o objetivo da análise microbiológica consiste em identificar os microrganismos e/ou toxinas de interesse no alimento. Através de controlos de tempo e temperatura de produção e armazenamento, os níveis destes contaminantes podem variar. Mas, em casos de desvios deste binómio, podem ocorrer aumentos para valores inadequados, tornando o alimento impróprio para consumo (Carmona *et al.*, 2019). Os métodos analíticos atuais permitem identificar os microrganismos patogénicos causadores de doenças de origem alimentar e determinar a sua sobrevivência nos alimentos. Deste modo também é possível desenvolver medidas de controlo na produção dos alimentos e diminuir o risco de toxinfecções alimentares.

2.3. Quadro legal aplicável à Qualidade e Segurança Alimentar

O setor alimentar encontra-se profundamente regulamentado, isto com o objetivo de garantir o provimento de produtos seguros para a saúde humana minimizando as doenças veiculadas por alimentos.

O *Codex Alimentarius*, isto é, o código ou lei dos alimentos, é um documento reconhecido internacionalmente, e deve ser aplicado aos governos, à indústria e aos consumidores. Descreve os princípios gerais para assegurar a qualidade dos alimentos. Estes princípios devem ser aplicados a todas as fases da cadeia alimentar e devem ser tidos em conta em conjunto com o sistema HACCP (CAC, 2003). Este sistema baseia-se numa metodologia de prevenção, de modo a evitar riscos para o consumidor, através da eliminação ou redução de perigos, assegurando também que os produtos alimentares não seguros não cheguem ao consumidor.

Em 2006, com a entrada em vigor do Regulamento (CE) n.º 853/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de abril relativo à higiene dos géneros alimentícios, estipulou-se que todos os operadores do setor alimentar devem criar, aplicar e manter um processo ou processos permanentes baseados nos 7 princípios do sistema HACCP. As empresas produtoras de alimentos de origem animal devem também seguir o exposto no Regulamento (CE) n.º 853/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de abril que estabelece regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal, complementando o exposto no Regulamento (CE) n.º 852/2004.

O controlo de qualidade microbiológica é uma obrigatoriedade legal e uma prática necessária para o correto funcionamento dos sistemas de gestão da Segurança Alimentar implementada pelas empresas da área alimentar. Assegurar a segurança microbiológica dos alimentos, nomeadamente a grupos suscetíveis, e fornecer informação sobre alimentos de risco e Segurança Alimentar são medidas essenciais para minimizar as doenças de origem alimentar (Lund & O'Brien, 2011). Os resultados obtidos nas análises microbiológicas podem ser utilizados na gestão do risco e controlo de perigos com finalidades diversas: avaliação de um lote de determinado produto, cumprimento das boas práticas de higiene e fabrico, determinação do tempo de vida útil e/ou do prazo de validade da matéria-prima e/ou produto final (Saraiva *et al.*, 2019). Neste contexto deve-se ter em conta o Regulamento (CE) n.º 1441/2007 da Comissão de 5 de dezembro de 2007 que altera o Regulamento (CE) n.º 2073/2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios. Outras alterações a este Regulamento já foram efetuadas e estão fixadas nos Regulamento (CE) n.º 365/2010 da Comissão de 28 de abril que altera o Regulamento (CE) n.º 2073/2005 relativo aos critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios no que diz respeito

a *Enterobacteriaceae* no leite pasteurizado e noutros produtos lácteos líquidos pasteurizados e a *Listeria monocytogenes* no sal alimentar, e o Regulamento (CE) n.º 1086/2011 da Comissão de 27 de outubro que altera o anexo II do Regulamento (CE) n.º 2160/2003 do Parlamento Europeu e do Conselho e o anexo I do Regulamento (CE) n.º 2073/2005 da Comissão no que diz respeito a *Salmonella* em carne fresca de aves de capoeira.

Para além destes, existem outros regulamentos estruturantes para a Segurança Alimentar, como o Regulamento (CE) n.º 178/2002 de 28 de janeiro, que determina os princípios e normas gerais da legislação alimentar, cria a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos e estabelece procedimentos em matéria de segurança dos géneros alimentícios.

Relativamente aos aditivos alimentares e respetivos teores máximos permitidos, deve ser seguido o Regulamento (CE) n.º 1333/2008 do Parlamento Europeu e do Conselho de 16 de dezembro relativo aos aditivos alimentares e o Regulamento (CE) n.º 1129/2011 da Comissão de 11 de novembro que altera o anexo II do Regulamento (CE) n.º 1333/2008 do Parlamento Europeu e do Conselho mediante o estabelecimento de uma lista da União de aditivos alimentares.

Em relação aos contaminantes presentes nos géneros alimentícios, deve-se obedecer aos teores máximos para diferentes tipos de alimentos tendo em conta os consumidores a que se destinam. Estes limites estão fixados no Regulamento (CE) n.º 1881/2006 da Comissão de 19 de dezembro que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios.

No que respeita a rotulagem, existem informações obrigatórias que devem constar no rótulo dos produtos alimentares. Para tal deve-se ter em conta o exposto no Regulamento (CE) n.º 1169/2011 do Parlamento Europeu e do Conselho de 25 de outubro relativo à prestação de informação aos consumidores sobre os géneros alimentícios.

Embora os programas de gestão e da qualidade alimentar por intermédio do cumprimento das boas práticas de higiene (medidas básicas de higiene para os estabelecimentos) e das boas práticas de fabrico (princípios e procedimentos fundamentais para a existência de um ambiente adequado à produção de alimentos com qualidade aceitável) diminuam significativamente a ocorrência de perigos para o consumidor, o risco de doenças veiculadas pelo consumo de alimentos inseguros, continua a representar um relevante e preocupante problema de saúde pública. O avanço da tecnologia, a globalização e os novos métodos de processamento tornam-se um desafio para a Segurança Alimentar.

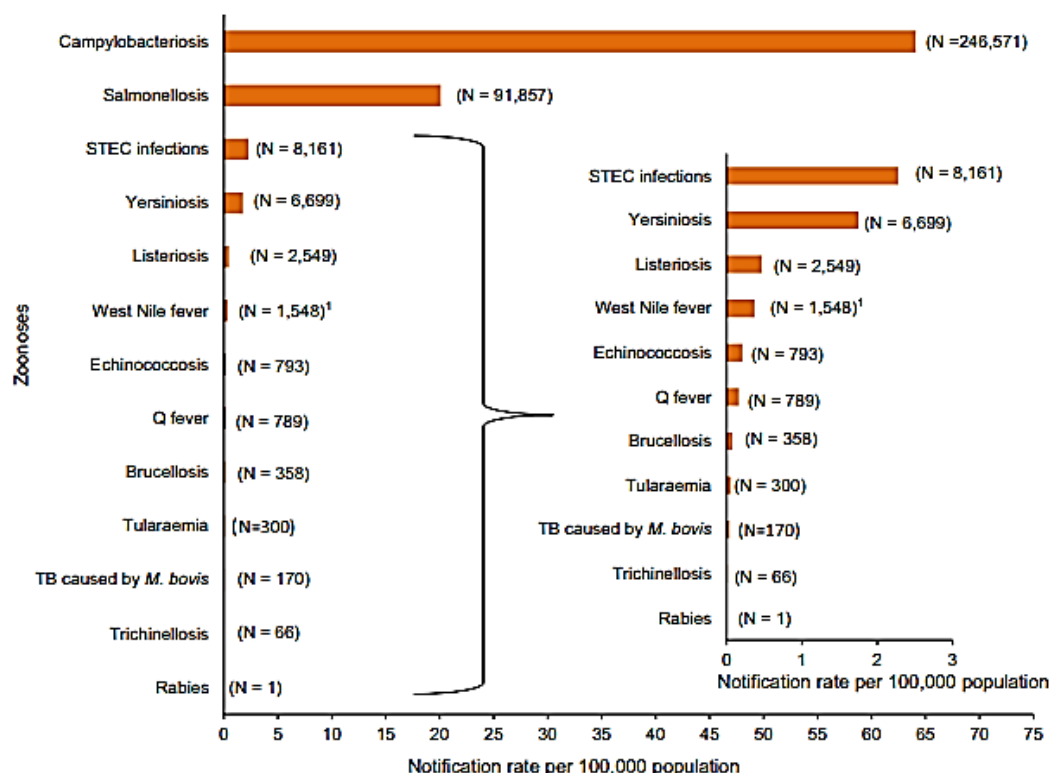
Estes avanços levam a que o sistema HACCP deva ser continuamente revisto e adequado aos novos sistemas de produção e distribuição (CAC, 2003).

2.4. Doenças de origem alimentar

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde, estima-se que anualmente 600 milhões de pessoas, ou seja 10% da população mundial, adoece por ingerir alimentos contaminados. Este número resulta em 420 000 mortes. São as crianças, com menos de 5 anos, as mais suscetíveis, morrendo cerca de 125 000 crianças por ano devido a doenças transmitidas por alimentos. O síndrome diarreico associado ao consumo de alimentos contaminados é o mais comum, afetando 550 milhões de pessoas e levando à morte de 230 000, todos os anos (WHO, 2019). A apresentação clínica mais comum de doenças alimentares resulta em sintomas gastrointestinais (náuseas, vômitos e diarreia), no entanto também podem levar a sintomas crónicos, que podem colocar a vida em risco, incluindo distúrbios neurológicos, falência de vários órgãos e até cancro. Estas doenças podem ser mais graves em crianças, grávidas e em pessoas idosas ou com o sistema imunitário enfraquecido. Crianças que sobrevivam a algumas das doenças alimentares mais sérias poderão sofrer de um atraso no desenvolvimento físico e psíquico, causando um impacto permanente na sua qualidade de vida (Haagsma *et al.*, 2013; WHO, 2015).

As doenças zoonóticas são um grupo de doenças que podem ser transmitidas de animais para os humanos, representando cerca de 75% das doenças infecciosas que afetam os humanos (Bidaisee & Macpherson, 2014; Graham *et al.*, 2008). Anualmente, a EFSA (*European Food Safety Authority*) publica um relatório onde resume as tendências e fontes de zoonoses, agentes zoonóticos e surtos de origem alimentar na Europa. O relatório relativo ao ano de 2018 apresenta resultados de 36 países europeus, dos quais 28 Estados-membros e 8 não Estados-membros (EFSA & ECDC, 2019). A Figura 2 representa o número de zoonoses registadas e confirmadas na União Europeia no ano 2018. Segundo os dados, observou-se que a infeção por *Campylobacter* foi a zoonose mais comum, representando 70% de todos os casos reportados. Em 30% destes casos, os pacientes foram hospitalizados, tendo-se concluído que a taxa de letalidade foi de 0,03%. Campilobacteriose é a zoonose mais reportada desde 2005, com o número de casos a aumentar desde 2008 até 2013, quando começou a estabilizar. As fontes mais comuns que levaram a esta doença de origem alimentar em 2018 foram o leite e a carne de frango. A salmonelose foi a segunda doença mais reportada, e é uma causa importante de doenças de transmissão alimentar na Europa. A maioria dos surtos por *Salmonella* é causada por *Samonella Enteritidis*, associada ao consumo de ovos e seus derivados. De entre as

doenças de origem alimentar mais reportadas, seguem-se as infeções por *Escherichia coli* produtora da toxina Shiga e por *Yersinia enterocolitica*. A listeriose foi a quinta doença de origem alimentar no *ranking* das treze mais reportadas, no entanto foi a que causou maior número de mortes (15,6%), fazendo desta uma das doenças alimentares mais sérias a ter sob vigilância na União Europeia.



Note: The total number of confirmed cases is indicated between parentheses at the end of each bar.
¹Exception: West Nile fever where the total number of cases was used.

Figura 2. Números registados e taxas de zoonoses humanas confirmadas na União Europeia em 2018. (Retirado de EFSA & ECDC: The European Union One Health 2018 Zoonoses Report).

De notar que foram as frutas e os vegetais os veículos mais comuns responsáveis por listeriose na União Europeia e a nível internacional (EFSA & ECDC, 2019). Neste contexto, os produtos de origem animal representaram os principais alimentos envolvidos em surtos em 2018. Os alimentos mais frequentemente implicados em doenças de origem alimentar, causadas por diferentes agentes, pertencem ao grupo dos ovos e produtos derivados de ovos (20,2%), grupo das carnes e seus derivados (17,9%) e o grupo do peixe e produtos derivados (15,9%) (EFSA & ECDC, 2019). De salientar que, em alguns casos reportados, não se conseguiu determinar o agente causador, ou o alimento consumido responsável por ter causado a doença. Esta é uma falha crítica na colheita de dados, que pode ter implicações nas conclusões dos resultados obtidos. Várias são as razões que podem

explicar o desconhecimento sobre o agente causador da doença: o reportar tarde do acontecimento da doença pelo consumidor, falha na deteção do agente causador da doença através da análise ao paciente e/ou ao alimento, indisponibilidade de amostras alimentares ou clínicas, ou atrasos na colheita de amostra. Esta falta de informação dificulta sem dúvida a compreensão da epidemiologia dos surtos de origem alimentar. Contudo, os dados relativos a 2018 indicam que a exposição a alimentos contaminados ocorreu maioritariamente em “casa”, tendo-se verificado uma grande variabilidade de agentes responsáveis pelos surtos ocorridos, o que vem reforçar a importância e necessidade de informar e educar a população para a adoção de boas práticas na manipulação, confeção e conservação de alimentos (EFSA & ECDC, 2019).

A nível nacional, de forma a assegurar que os programas de prevenção são cumpridos, as autoridades competentes portuguesas fazem regularmente controlos. Neste sentido, a ASAE (Autoridade de Segurança Alimentar e Económica) elabora e coordena anualmente o PNCA (Plano Nacional de Colheita de Amostras) de modo a verificar que os operadores do setor alimentar cumprem os critérios de segurança microbiológicos estabelecidos no Regulamento (CE) nº 2073/2005 de 15 de novembro. Neste contexto, são, anualmente, colhidas cerca de 1800 amostras pertencentes a 13 grupos de géneros alimentícios, para controlo da segurança microbiológica (Carmona, *et al.*, 2019). Relativamente aos dados obtidos entre 2013 e 2018, verificou-se um predomínio de amostras pertencentes ao grupo das carnes/preparados de carnes e queijos. Esta proporção deve-se ao facto de estas matrizes alimentares pertencerem a grupos de alimentos com maior risco associado ao seu consumo. Os principais parâmetros microbiológicos analisados nas amostras colhidas foram a pesquisa de *Salmonella* spp. e contagem de *L. monocytogenes*. Desde 2013, com a entrada em vigor o Regulamento (UE) n.º 209/2013 de 11 de março, relativo a requisitos de rebentos e sementes para produção de rebentos, incluiu-se no PNCA a colheita de rebentos para deteção de *E. coli* produtora de toxina Shiga (Reto *et al.*, 2019). Durante o período de 2013 a 2018 observou-se uma conformidade microbiológica das amostras analisadas sempre superior a 96%, o que indica que do ponto de vista microbiológico, as práticas estão a ser cumpridas ao longo da cadeia alimentar. No entanto, observaram-se algumas não conformidades, nomeadamente em 2013, com um surto de listeriose associado ao consumo de queijo fresco. Efetivamente, um dos maiores riscos associados ao consumo de queijos à base de leite cru é a presença de *L. monocytogenes*, pelo que é o parâmetro avaliado neste tipo de produtos. No ano de 2015 houve um aumento de resultados não conformes na contagem de *E. coli* em moluscos bivalves na sequência de alterações detetadas no circuito de produção e distribuição dos moluscos bivalves, e em 2017, à presença de *Salmonella* spp. em amostras de carne e preparados cárneos. Esta última bactéria foi o agente mais imputado aos surtos alimentares associados ao consumo de produtos de origem animal

(Reto *et al.*, 2019). De referir que o relatório da EFSA de 2018 menciona que a maioria dos surtos de origem alimentar está associado ao consumo de produtos de origem animal, o que vai ao encontro dos resultados apresentados pelo PNCA.

2.5. Critérios microbiológicos

Nos últimos anos, tem sido reconhecida a importância e a preocupação com a segurança microbiológica dos alimentos na prevenção das doenças de origem alimentar. De facto, os perigos microbiológicos nos alimentos constituem um importante risco de doenças de transmissão alimentar. Em resposta à crescente preocupação com a saúde pública houve necessidade de estabelecer critérios microbiológicos. Segundo o Regulamento (CE) n.º 2073/2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios, critério microbiológico é: *“um critério que define a aceitabilidade de um produto, de um lote de géneros alimentícios ou de um processo, baseado na ausência ou na presença de microrganismos, ou no seu número, e/ou na quantidade das suas toxinas/metabólitos, por unidade (s) de massa, volume, área ou lote”*. Os critérios microbiológicos foram criados com o principal objetivo de proteger a saúde do consumidor. Estes devem servir de suporte para tomar decisões com base em evidência gerada a partir de determinações microbiológicas, seja para verificar a segurança de um género alimentício ou para avaliar a eficácia de um sistema de gestão da Segurança Alimentar (Saraiva *et al.*, 2019). Assim sendo, segundo o regulamento acima mencionado, todos os operadores das empresas alimentares, em cada etapa da cadeia alimentar, devem assegurar que os géneros alimentícios cumprem os critérios microbiológicos estabelecidos.

Os alimentos contêm uma variedade de microrganismos, a maioria deles, inofensivos. No entanto, há outros que estando presentes, mesmo que em baixa concentração, podem causar doenças. Existem ainda alimentos cuja presença de determinados microrganismos é desejável e até benéfica, como é o caso dos produtos fermentados. Deste modo, quando se pretende fazer uma análise microbiológica é importante saber de que tipo de produto se trata, o tipo de ingredientes presentes no produto final, o processamento a que este foi submetido, o estado dos ingredientes (cru, pré-cozido, totalmente cozido), o nível de manuseamento depois de cozinhado, a presença de conservantes, o tipo de embalagem e a distribuição e armazenamento do produto final, de modo a seleccionar os microrganismos integrantes nos critérios e estabelecer os limites microbiológicos (Saraiva *et al.*, 2019).

2.6. Parâmetros de análise microbiológica

Alimentos com boa aparência, sem qualquer alteração visível das características de cor, sabor e cheiro, podem, por vezes, estar contaminados com agentes patogénicos, indiciando que, em alguma fase da cadeia alimentar, o alimento sofreu contaminação, não estando seguro para o consumidor. A nível industrial torna-se essencial a realização de análises microbiológicas a alimentos, superfícies, manipuladores e água, seja para controlos de qualidade e Segurança Alimentar, para determinar o tempo de vida de um produto, para avaliar o cumprimento de boas práticas de higiene e fabrico, ou para determinar uma via de contaminação em linhas de produção (Mossel *et al.*, 1995).

De seguida vão ser apresentados e descritos microrganismos e grupos de microrganismos normalmente alvo de análise microbiológica.

2.6.1. Microrganismos indicadores de higiene e alteração

Em análises de rotina a nível industrial não é praticável realizar a pesquisa de todos os organismos patogénicos, visto que geralmente estes estão presentes nos alimentos em baixa concentração e a sua identificação exige a utilização de numerosos testes bioquímicos e fisiológicos. Assim, generalizou-se a pesquisa e quantificação de determinados grupos e/ou espécies de microrganismos, que quando presentes e em determinada concentração, indiciam a exposição a condições que podem levar à proliferação de microrganismos patogénicos (Loureiro & Querol, 1999). Os microrganismos indicadores são componentes essenciais dos programas de análise microbiológica levados a cabo pelas entidades reguladoras e pela indústria alimentar.

2.6.1.1. Contagem de microrganismos totais a 30 °C

A contagem de microrganismos totais a 30 °C ou contagem de aeróbios mesófilos é um parâmetro que pode fornecer uma avaliação geral da qualidade microbiológica do alimento. Trata-se de um método de contagem, por técnica de incorporação, de microrganismos capazes de crescer e formar colónias em meio sólido depois de incubação aeróbia a 30 °C (ISO 4833-1:2013). Inclui todas as células vegetativas, esporos de bactérias, leveduras e bolores. Esta determinação não diferencia entre a microflora natural do alimento, microrganismos deterioradores, patogénicos, ou adicionados a alimentos fermentados (NSWFA, 2009).

O resultado deste parâmetro deve ser interpretado tendo em conta o processamento e manuseamento do alimento, o seu embalamento e tempo de prateleira. Geralmente, um valor elevado de contagem pode indicar incumprimento das boas práticas de higiene e fabrico, armazenamento inapropriado do produto, ocorrência de contaminação cruzada ou quebra da cadeia de frio (Saraiva *et al.*, 2019).

2.6.1.2. Contagem de bolores e leveduras

Os bolores e leveduras são organismos mesófilos aeróbios, no entanto têm a capacidade de se desenvolverem em diferentes condições de temperatura, de pH e de atividade de água, pelo que se conseguem desenvolver em qualquer tipo de alimento (Tournas *et al.*, 2001). Estes microrganismos estão presentes no meio ambiente, podendo facilmente propagar-se aos alimentos por contacto com equipamentos contaminados, por exposição ao ar, ou por outros ingredientes contaminados utilizados na preparação do produto alimentar (Saraiva *et al.*, 2019). Certos bolores podem produzir micotoxinas, substâncias que podem ser perigosas para o consumidor. Muitas micotoxinas são compostos estáveis que podem continuar ativos após o processamento do alimento (Tournas *et al.*, 2001).

A contagem de bolores e leveduras é um método de contagem por técnica de espalhamento, diferenciando a técnica com base na atividade da água do produto, consoante seja menor ou igual que 95%, ou maior que 95%, através da técnica de contagem de colónias a 25 °C (ISO 21527-2:2008; ISO 21527-1:2008).

É importante realçar que, no caso de produtos alimentares fermentados, a contagem de leveduras será naturalmente mais elevada que em outros alimentos não fermentados, pois a levedura é introduzida propositadamente para funções tecnológicas. No caso de se determinar este parâmetro é necessário ter atenção à interpretação do resultado e diferenciar a contagem de bolores e de leveduras (Saraiva *et al.*, 2019). Em placa é possível distinguir estes dois microrganismos, uma vez que as leveduras dão origem a colónias redondas que podem ser brilhantes ou não, enquanto que os bolores originam propágulos planos ou de aspeto aveludado, apresentando cores variadas (ISO 21527-1:2008).

2.6.1.3. Contagem de *Enterobacteriaceae*

Enterobacteriaceae representa uma importante família de bactérias com distribuição ubíqua em vários ambientes. Encontram-se no trato intestinal de humanos e de animais, no

solo, em matéria vegetal e em ambientes marinhos (Hocking & AIFST, 2003). Esta família inclui espécies não patogénicas e patogénicas. Inclui, por exemplo, bactérias comensais do intestino como é o caso de algumas estirpes de *E. coli*. Inclui igualmente bactérias patogénicas, como é o caso de *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica*, estirpes patogénicas de *E. coli*, *Shigella* spp. e *Cronobacter* spp. (Baylis et al., 2011).

No método para deteção e enumeração de *Enterobacteriaceae* utiliza-se técnica de incorporação e a incubação é feita a 37 °C num meio contendo glucose, com leitura do resultado depois de 24h (ISO 21528-2:2017). Segundo este mesmo método, deve ser feito o teste da oxidase como teste de confirmação que permita distinguir bactérias da família *Enterobacteriaceae* de outras bactérias que também conseguem utilizar a glucose. Todas as bactérias desta família são fermentadoras de glucose, razão pela qual se utiliza a glucose como nutriente do meio de cultura previsto na norma respetiva para a sua enumeração. No entanto, também inclui géneros que fermentam a lactose, como o grupo dos coliformes, um grupo também muito utilizado com indicador da qualidade microbiológica de alimentos e águas (Baylis et al., 2011).

Dada a sua distribuição ubíqua no ambiente, a presença de bactérias da família *Enterobacteriaceae* em alimentos crus, ou em outros que contenham ingredientes crus, não indica propriamente uma falha de higiene nos processos. As bactérias pertencentes a esta família são destruídas quando submetidas a correto tratamento térmico. Assim, a sua presença em alimentos cozinhados indica práticas menos corretas no que respeita a limpeza e desinfecção, ou confeção inadequada, ou ainda contaminação pós confeção do alimento (Saraiva et al., 2019).

2.6.1.4. Contagem de coliformes

O grupo coliformes é constituído por bactérias que pertencem à família *Enterobacteriaceae* e inclui alguns géneros específicos: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia* e *Klebsiella* (Jay et al., 2005). Deste grupo, não definido taxonomicamente, fazem parte bactérias que fermentam a lactose em 24h (Baylis et al., 2011). Historicamente o grupo dos coliformes foi o grupo de indicadores mais testado pela indústria alimentar, particularmente no setor dos produtos frescos para monitorização da eficácia das medidas de higiene após a pasteurização. Este grupo de microrganismos pode estar presente em vários alimentos e não indica necessariamente erros nas medidas de higiene. Dada a sua ubiquidade na natureza, os coliformes costumam estar presentes em alimentos crus incluindo cereais, vegetais, carnes e também está presente em alimentos fermentados

(FSANZ, 2018). Dado que estes organismos são facilmente destruídos por calor, o parâmetro de contagem de coliformes é particularmente útil como parte dos critérios microbiológicos para indicar contaminação dos alimentos pós-processamento (calor, irradiação). Em contexto industrial, este grupo de bactérias é igualmente um indicador útil na aplicação dos procedimentos inerentes ao sistema HACCP nomeadamente nas fases identificadas como pontos críticos de controlo, particularmente após processamento térmico (National Research Council, 1985).

O método para a enumeração de coliformes é feito por incorporação e utiliza um meio com lactose com incubação à temperatura de 30 °C ou 37 °C durante 24h. Este método exige ainda um teste de confirmação da fermentação da lactose com produção de gás (ISO 4832:2006).

Nos últimos anos, a técnica de contagem de coliformes tem vindo a ser substituída pela técnica de contagem de *Enterobacteriaceae*, que abrange uma família determinada e específica com propriedades comuns na sua deteção e enumeração e com significado taxonómico (Gilbert *et al.*, 2000). Inclusivamente, na recente publicação “Valores-guia 2019” do INSA, o parâmetro coliformes foi eliminado e substituído pelo parâmetro *Enterobacteriaceae*.

2.6.1.5. Contagem de *Escherichia coli*

Escherichia coli pertence à família *Enterobacteriaceae*. Existem vários grupos de *E. coli*, sendo que alguns fazem parte da flora comensal intestinal do Homem e de outros seres vivos, enquanto que outros apresentam características de patogenicidade (Baylis *et al.*, 2011). Esta bactéria é destruída por processos térmicos ou pode ser eliminada dos alimentos e das superfícies com os procedimentos de limpeza adequados (Saraiva *et al.*, 2019). A sua determinação faz-se pela técnica de contagem por incorporação para enumeração de *Escherichia coli* beta-glucuronidase-positiva, incubando a 44 °C, usando meio de cultura com 5-Bromo-4-Cloro-3-indolil-beta-D-glucuronida (ISO 16649-2:2001).

A presença de *E. coli* no alimento pode indicar contaminação direta com matéria fecal ou contaminação indireta a partir de equipamento, utensílios ou outros alimentos contaminados, sugerindo incumprimento das boas práticas de higiene e fabrico, ou do ineficiente processo térmico. Esta bactéria é considerada um indicador de contaminação fecal mais específico que as restantes bactérias da família *Enterobacteriaceae* e/ou do grupo coliformes (FSANZ, 2018). Apesar de ser um bom indicador do cumprimento de boas práticas de higiene, a deteção de *E. coli* não é um indicador fiável de que agentes

patogénicos fecais estejam presentes nos alimentos, e a sua ausência não garante a ausência de patogéneos entéricos, dado que as características de crescimento e sobrevivência de diferentes estirpes de *E. coli* e de patogéneos entéricos poderem variar (FSANZ, 2018; Saraiva *et al.*, 2019).

2.6.1.6. Contagem de bactérias sulfito-redutoras

Outro parâmetro comumente utilizado como indicador de higiene em alimentos é a contagem de bactérias sulfito-redutoras. Estas bactérias são anaeróbias e capazes de formar esporos. Os esporos destas bactérias estão amplamente distribuídos na natureza, fazendo parte da flora intestinal de animais e humanos. Quando os esporos são excretados nas fezes, chegam ao ambiente aquático onde persistem por longos períodos devido à sua elevada resistência a condições ambientais mais adversas. Assim, estas bactérias podem funcionar como indicadores de contaminação remota e intermitente, em condições em que os indicadores habituais, como *E. coli* e coliformes já não encontrariam presentes (Toranzos & McFeters, 1997).

A norma ISO 15213:2003 explicita o método para a enumeração de bactérias sulfito-redutoras sob em condições anaeróbias, no qual, a inoculação é feita por incorporação e a incubação é feita em placa com meio contendo sulfito. Nesta determinação poderá ser necessário submeter a suspensão inicial a tratamento térmico para eliminar formas vegetativas de bactérias esporulantes e/ou bactérias não esporulantes. Neste caso, os resultados poderão ser dados como o número de esporos de bactérias sulfito-redutoras sob condições anaeróbias (ISO 15213:2003).

2.6.2. Organismos patogénicos

Os agentes patogénicos veiculados por alimentos contaminados podem afetar o trato intestinal e causar gastroenterites, mas também podem causar problemas mais graves, colocando a vida em risco. Alguns microrganismos estão presentes no ambiente (solo e água), e outros são comensais da pele, ou do intestino. As fontes de contaminação são, portanto, variadas.

De seguida são apresentados e descritos alguns microrganismos patogénicos pesquisados e/ou quantificados em alimentos prontos a consumir.

2.6.2.1. Contagem de *Staphylococcus coagulase positiva*

Staphylococcus representa um género de bactérias ubíquas no ambiente, estando presentes naturalmente na pele e nas membranas mucosas de animais (FDA, 2012; Lowry, 1998). As enterotoxinas produzidas por *Staphylococcus aureus*, e outras espécies de *Staphylococcus* coagulase positiva, são responsáveis por uma das intoxicações alimentares mais comuns (Fusco *et al.*, 2018). Os sintomas associados à intoxicação por *S. aureus* incluem náuseas, vômitos, dores abdominais e diarreia (Jay *et al.*, 2005).

Staphylococcus aureus cresce entre os 7 °C e os 48 °C, sendo a temperatura ótima de crescimento entre os 35 °C e os 40 °C. A temperatura ótima de produção da enterotoxina é entre os 40–45°C, sendo que não é produzida a temperaturas menores que 10 °C (FSANZ, 2018). Esta bactéria é destruída por processos térmicos, no entanto, as toxinas poderão permanecer ativas. Para inativar as toxinas é essencial decidir o binómio tempo/temperatura a submeter o alimento (Jay *et al.*, 2005). Sendo uma bactéria comensal de grande parte dos indivíduos, esta pode propagar-se por manuseamento direto com alimentos ou durante o manuseamento de animais. Os alimentos maioritariamente associados a potencial contaminação são os manuseados durante a sua preparação ou que não são guardados a temperatura própria de refrigeração. Alguns exemplos são os bolos, pão, tartes, sanduíches, carne e produtos à base de carne, leite e produtos frescos, produtos à base de ovos, saladas de batata, frango ou atum e massa (FDA, 2012). De modo a minimizar a contaminação por esta bactéria, é essencial que se cumpram as normas de boas práticas de produção e fabrico. Assim sendo, quando se manuseiam alimentos deve-se lavar bem as mãos, separar alimentos cozinhados de alimentos crus ou de equipamentos e superfícies sujas, e manter os alimentos em refrigerado, a uma temperatura de 4 °C ou abaixo (FDA, 2012).

Para a contagem de *Staphylococcus coagulase positiva* existe a norma ISO 6888, constituída por 2 partes. A parte 1 da referida norma explicita o método para enumeração usando o meio de cultura Baird-Parker agar. Seguindo esta norma, será necessário realizar um teste de confirmação de colónias, prova da coagulase (ISO 6888-1:1999/AMD 1:2003). A parte 2 explicita o método para a sua enumeração usando o meio Baird-Parker agar suplementado com fibrinogénio de plasma de coelho, não sendo necessário realizar o teste de confirmação de colónias (ISO 6888-2:1999/AMD 1:2003).

2.6.2.2. Pesquisa de *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes está amplamente disseminada no ambiente, em animais selvagens e domésticos. Está também presente no trato intestinal dos seres humanos (CAC, 2007). Os produtos alimentares mais associados à infeção por esta espécie bacteriana são alimentos prontos a consumir, carne refrigerada e produtos de dia (Zhu *et al.*, 2017). Também os alimentos com tempo de vida longo em refrigerado, ou a composição do próprio produto alimentar, podem favorecer o crescimento da bactéria. Alguns exemplos são os queijos de pasta mole, frango, saladas pré-preparadas e patês, leite cru, leite incorretamente pasteurizado, gelados, vegetais crus, carnes cruas e peixe fumado (FDA, 2012). Atualmente, alimentos frescos como legumes e frutas têm sido muitas vezes associados a listeriose, pelo que se conclui que estes produtos frescos podem ser contaminados pelo solo e/ou água onde são produzidos (Zhu *et al.*, 2017). De facto, as fezes dos animais podem contaminar o solo e a água, transportando a bactéria para produtos frescos, como legumes e frutas, razão que estará na origem desta contaminação. A ingestão de alimentos contaminados por esta bactéria pode resultar em listeriose. A forma mais leve de listeriose são as gastroenterites. Na sua forma mais severa pode conduzir a meningite, aborto, nascimento prematuro e septicemia. Em populações imunodeprimidas pode resultar em elevada taxa de letalidade (Swaminathan & Gerner-Smidt, 2007).

O processamento térmico e medidas de minimização da contaminação cruzada são fulcrais na prevenção da contaminação dos alimentos por *L. monocytogenes*. Em alimentos não sujeitos a processamento térmico, é importante a prevenção da contaminação cruzada e, assim, minimizar o risco de ocorrer listeriose (CAC, 2007).

O método horizontal para a pesquisa e enumeração de *L. monocytogenes* e *Listeria* spp. é dado pelas normas ISO 11290. A parte 1 para pesquisa inclui quatro passos sucessivos, com um passo de enriquecimento como descrito nas normas convencionais standard (ISO 11290-1:2017). Existem métodos alternativos para avaliar este parâmetro, validados por entidades competentes, que já são adotados por laboratórios de microbiologia alimentar. Um exemplo é o COMPASS® *Listeria* para pesquisa e enumeração de *L. monocytogenes* e *Listeria* spp (Biokar Diagnostics – COMPASS® *Listeria* agar, 2016).

2.6.2.3. Pesquisa de *Salmonella*

Salmonella é um género pertencente à família *Enterobacteriaceae* (Baylis *et al.*, 2011). Encontra-se amplamente distribuída na natureza, sendo os humanos e animais o seu

reservatório primário. As fezes dos animais colonizados por esta bactéria levam à contaminação do ambiente, solo e água (Jay *et al.*, 2005).

Na indústria alimentar, as medidas de higienização normalmente adotadas mantêm *Salmonella* em baixos níveis. No entanto, alterações na rotina das limpezas podem levar à proliferação deste microrganismo nos equipamentos e superfícies. A contaminação cruzada é responsável por um elevado número de surtos envolvendo *Salmonella*. Para muitos destes surtos a causa mais mencionada é a não limpeza ou limpeza e desinfecção ineficazes de equipamentos e superfícies (Møretrø *et al.*, 2012).

As salmoneloses de origem alimentar são derivadas normalmente de produtos de origem animal, como ovos, carne de aves, carne crua, leite e seus derivados, vegetais, sementes, farinhas compostas para bolos, sobremesas com cremes e que contenham ovos crus, gelatina em pó e alimentos secos como especiarias, manteiga de amendoim e chocolate (FDA, 2012). Os sintomas consistem em náuseas, vômitos, dores abdominais e diarreia. Estes sintomas são normalmente acompanhados de fraqueza muscular, febre e sonolência (Jay *et al.*, 2005). De modo a prevenir doenças alimentares causadas por *Salmonella*, deve-se incluir um passo de processamento térmico, tendo em atenção o binómio tempo e temperatura, que pode variar entre os diferentes tipos de alimentos, ter o cuidado de manter alimentos crus separados de alimentos cozinhados, e no que respeita ao armazenamento, os alimentos devem ser mantidos a temperatura igual ou inferior a 4 °C (FDA, 2012).

O método horizontal para a pesquisa, enumeração e serotipagem de *Salmonella*, é dado pela norma ISO 6579. A parte 1 para pesquisa deste género de bactérias contempla quatro passos sucessivos, sendo necessário um passo de enriquecimento para fomentar o seu crescimento, quando presente, mesmo em muito baixa quantidade (ISO 6579-1:2017). Existem atualmente métodos alternativos, como por exemplo IRIS *Salmonella*®, para a pesquisa deste género de bactérias patogénicas em alimentos. São métodos mais rápidos, que exigem menos passos, e estão oficialmente validados pelas entidades oficiais competentes (Biokar Diagnostics - IRIS *Salmonella*®, 2016).

2.6.2.4. Outros microrganismos patogénicos

Para além dos microrganismos descritos anteriormente existem outros que usualmente fazem parte do conjunto de análises microbiológicas, conduzidas no contexto da indústria alimentar, e que podem implicar técnicas de contagem (nomeadamente *Bacillus cereus*, outros *Bacillus* spp. patogénicos e *Clostridium perfringens*) ou técnicas de pesquisa

(e.g. *Campylobacter* spp., *Cronobacter* spp., estirpes patogénicas de *E. coli*, *Shigella* spp., *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* e *Yersinia enterocolitica*). Nos alimentos prontos a consumir, em técnicas de pesquisa, o resultado considerado satisfatório é a ausência do microrganismo em análise. A presença de microrganismos patogénicos deve ser sempre analisada, de modo a perceber o motivo da contaminação e adotar as medidas de controlo mais adequadas (Saraiva *et al.*, 2019).

2.7. Valores-guia

O Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) publicou em setembro de 2019 um documento intitulado “Interpretação de resultados de ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo e em superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar: valores-guia”, que representa a versão atualizada e consolidada do documento divulgado em 2005 cujo título era “Valores guia para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos a comer preparados em estabelecimentos de restauração”. A legislação europeia define alimentos prontos a consumir como: “alimentos destinados pelo produtor ou fabricante ao consumo humano direto, sem necessidade de cozedura ou outra transformação, eficazes para eliminar ou reduzir para um nível aceitável os microrganismos perigosos”.

Os valores-guia fornecidos pelo INSA são critérios microbiológicos que ajudam a indústria alimentar a definir limites aceitáveis e não aceitáveis dos seus produtos. Os valores-guia mencionados apresentam uma divisão dos alimentos prontos a consumir por categorias. Nomeadamente, identificam-se 4 grupos:

Grupo 1 – Alimentos que sofreram tratamento térmico

Grupo 2 – Alimentos compostos de alimentos totalmente cozinhados/pasteurizados, adicionados de componentes crus, ou carne ou peixe crus, prontos para consumo

Grupo 3 – Frutos e produtos hortícolas crus

Grupo 4 – Alimentos ou seus componentes contendo flora específica própria

Estes grupos dividem-se em subgrupos, tendo em conta o manuseamento, a presença de certos componentes, e os consumidores a que se destinam. Para cada grupo ou subgrupo de alimento, estão identificados os microrganismos indicadores de higiene e alteração a considerar para análises microbiológicas e respetiva interpretação dos

resultados. No caso dos microrganismos patogénicos e toxinas estão apresentados os limites e a respetiva interpretação de resultados.

A definição dos valores limite é determinada avaliando vários parâmetros, como o histórico de resultados de ocorrências, pelos resultados da avaliação do risco e através da informação de novas infeções ou intoxicações alimentares, constante em relatórios do INSA, da ASAE, da EFSA, do RASFF (*Rapid Alert System for Food and Feed*) e/ou de bibliografia. Para a determinação destes valores, considerou-se também a experiência dos laboratórios de microbiologia de alimentos e a interpretação de resultados de ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo, bem como a investigação de surtos de toxinfecção alimentar de grupos de trabalho, e o contacto com empresas da área alimentar (Saraiva *et al.*, 2019).

Os limites referidos no documento “Valores-guia INSA 2019” (Saraiva *et al.*, 2019) têm em conta parâmetros físico-químicos, como a atividade da água e o pH, o binómio tempo e temperatura a que são submetidos e conservados os alimentos, assim como a existência de eventuais procedimentos de manipulação após processamento. Os alimentos prontos a consumir, abrangidos pelos “Valores-guia INSA 2019”, são produtos que são servidos ao consumidor tal como são vendidos, não sendo submetidos a qualquer processo posterior.

A amostra a ser analisada deve conter proporções iguais de cada constituinte do alimento. Os resultados obtidos nas análises microbiológicas dependem do número de unidades formadoras de colónias por grama ou mililitro de amostra analisada e/ou a deteção de microrganismo patogénico e/ou toxina. De acordo com o documento do INSA, a interpretação dos resultados pode ser classificada em 3 níveis:

- Satisfatório, quando o resultado se encontra dentro dos valores previstos, igual ou inferior ao valor máximo admissível;
- Questionável, quando o resultado é superior ao valor máximo admissível e indica que há probabilidade de haver falhas nos processos. Nestes casos devem analisar-se as causas;
- Não satisfatório e não satisfatório/potencialmente perigoso, quando o valor obtido é superior ao valor máximo admissível. Neste caso devem-se analisar e esclarecer as causas mais prováveis. Esta análise vai facultar a implementação de ações corretivas para aperfeiçoamento do sistema de gestão de Segurança Alimentar implementado na empresa.

2.8. Avaliação da qualidade microbiológica do ambiente de preparação e distribuição alimentar

Assim como é importante avaliar a qualidade microbiológica dos géneros alimentícios, também se torna fundamental conduzir a avaliação da qualidade higiénica do ambiente dos locais de preparação, nomeadamente das superfícies de contacto, dos utensílios de manipulação, dos manipuladores (mãos com e sem luvas), fardamento e até mesmo o ar.

Os “Valores-guia INSA 2019” especificam o valor máximo admissível para indicadores de higiene em superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar. Os indicadores de higiene especificados são microrganismos a 30 °C, *Enterobacteriaceae*, *E. coli* e *Staphylococcus* coagulase positiva. Os microrganismos patogénicos também devem ser analisados, sendo que neste caso, a sua presença dará origem a um resultado não satisfatório, devendo ser tomadas as devidas ações corretivas (Saraiva *et al.*, 2019). A monitorização ambiental é uma ferramenta importante para estimar o nível de contaminação durante a produção, para avaliar a eficácia de limpeza e os protocolos de desinfeção. Poderá também ajudar a investigar os motivos pelos quais os níveis estabelecidos nos critérios não tenham sido cumpridos. A inclusão de parâmetros microbiológicos para superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar é bastante pertinente. No contexto da qualidade e segurança, é uma excelente forma de avaliar, validar e se necessário aperfeiçoar os sistemas de gestão de Segurança Alimentar implementados em empresas alimentares.

2.9. Controlo microbiológico em contexto industrial

Em contexto industrial, o controlo de qualidade microbiológica pode ser realizado por via interna ou externa. Isto é, os ensaios microbiológicos podem ser realizados pelo laboratório interno da empresa, caso este exista, ou então por um laboratório externo. Normalmente, as empresas recorrem a laboratórios externos para realização das análises microbiológicas. No entanto, por vezes acontece que a empresa possui o seu próprio laboratório, onde tem autonomia para realizar os ensaios microbiológicos. A existência de um laboratório de análises interno poderá compensar financeiramente, a partir de certo volume de análises.

De acordo com Lightfoot & Maier (1998), todos os laboratórios que realizam análises microbiológicas para cumprimento de regulamentos, como acontece na indústria alimentar,

deveriam ser acreditados por uma entidade certificadora apropriada. No entanto, não é ainda uma obrigação legal.

Ao longo dos últimos anos, são cada vez mais as empresas que pretendem ser reconhecidas por entidades competentes, para certificar a segurança e a qualidade dos seus produtos e processos alimentares. A norma IFS Food é uma das normas reconhecida mundialmente pela *Global Food Safety Initiative* (GFSI), que tem como objetivos principais estabelecer um padrão comum com um sistema de avaliação uniforme, trabalhar com organismos de certificação acreditados e auditores qualificados e aprovados pela IFS, assegurar a comparabilidade e transparência em toda a cadeia de abastecimento e reduzir custos e tempo para fornecedores e para compradores. Na referida norma, parte 2, ponto 5.6, referente à análise de produto, lê-se que “devem existir procedimentos assegurando que todos os requisitos específicos dos produtos são conhecidos, incluindo requisitos legais e especificações. Análises microbiológicas, físicas e químicas necessárias para esse fim devem ser realizadas internamente e/ou por subcontratados” (IFS Food, 2017). A norma refere ainda que as análises devem ser de preferência realizadas por laboratórios com os seus métodos e programas acreditados pela norma ISO/IEC 17025, que estabelece os requisitos gerais de competência para laboratórios de ensaio e calibração. No entanto, se as análises a realizar não tiverem os seus programas acreditados, os resultados devem ser regularmente verificados por laboratórios acreditados. Devem existir procedimentos de modo a assegurar a confiabilidade dos resultados das análises internas com base em métodos oficialmente reconhecidos. Este processo é demonstrado por monitorização independente da qualidade do laboratório ou por outros testes. Deve ser elaborado um plano de teste para as análises tanto internas como externas, com base na análise do perigo e na avaliação dos riscos associados, que abranja as matérias-primas, produtos semi-preparados, produtos finais, equipamentos de produção, materiais de embalagem e testes ambientais onde seja necessário. Todos os resultados devem estar documentados. A norma documenta também que quando são realizadas análises internas deve ser disponibilizado pessoal treinado e qualificado, com equipamentos e instalações apropriadas (IFS Food, 2017).

2.9.1. Construção de um laboratório de microbiologia interno

Na projeção de um laboratório de análises microbiológicas alimentares existe um conjunto de exigências e recomendações a ter em conta. A norma ISO 7218:2007 - “Microbiology of food and animal feeding stuffs — General requirements and guidance for microbiological examinations” - é a norma de referência que disponibiliza os requisitos gerais

e orientações para análises microbiológicas de alimentos. O propósito desta norma é ajudar a assegurar a validação das determinações microbiológicas, garantir que as técnicas utilizadas para realizar as determinações são as mesmas em todos os laboratórios, ajudar na obtenção de resultados homogéneos em diferentes laboratórios e contribuir para a segurança dos colaboradores do laboratório prevenindo o risco de infeção. Os requisitos patentes nesta norma apresentam três importantes utilidades, a salientar: i) implementação da ISO/TC 34/SC 9 – “*Microbiology - Horizontal methods in the field of microbiological analysis of the food chain from primary production stage to food and animal feed products, including the environment of food production and handling*”; ii) implementação das boas práticas laboratoriais em microbiologia alimentar; iii) guia para acreditação de laboratórios de microbiologia alimentar, uma vez que descreve as premissas de acordo com a norma ISO/IEC 17025:2007 – “*General requirements for the competence of testing and calibration laboratories*”, para a acreditação de laboratórios de microbiologia por organizações nacionais (ISO 7218:2007).

2.10. Inovação e desenvolvimento no setor alimentar

Num tempo em que o mercado, os produtos, as tecnologias, a legislação e as próprias sociedades se encontram em constante mudança, o desenvolvimento de conhecimento e a inovação contínua constituem elementos chave para a continuidade e sucesso das empresas. O fenómeno da globalização tem, nos últimos anos, conduzido a um aumento dramático na facilidade de acesso a informação e a novos mercados, o que resultou num incremento da competição a nível internacional, e em novas formas de organização, para gerir as cadeias de fornecimento. Os avanços na tecnologia e o aumento de fluxo de informação e conhecimento são, cada vez mais, vistos como um condutor para o crescimento económico e inovação (OECD, 2005). A inovação representa, assim, uma importante ferramenta que permite às empresas diferenciação e competitividade em relação aos seus concorrentes, permanecendo num mercado cada vez mais exigente e em constante mudança.

Inovação é a implementação de um produto (bem ou serviço), novo ou significativamente melhorado, um novo processo, um novo método de *marketing*, ou um novo método de comercialização ou organização aplicado às práticas de negócio, no espaço de trabalho ou nas relações externas (OECD, 2005). Gerir inovação, no contexto da indústria alimentar, é uma competência necessária para todas as empresas produzirem novas matérias-primas, novos ingredientes ou novos produtos a consumir. O crescimento de

uma empresa, e mesmo a sua sobrevivência, depende da introdução de novos produtos de sucesso para velhos e novos mercados (Earle *et al.*, 2001).

A *FoodDrinkEurope*, uma associação independente com sede em Bruxelas, que representa a indústria tradicional e o seu potencial, publica anualmente um relatório com dados e tendências no setor alimentar. O mais recente relatório, *Data & Trends of the European Food and Drink Industry 2019*, relativamente à inovação e tendências do consumidor, mostra que o setor dos refrigerantes foi o setor alimentar mais inovador a nível mundial, em 2017 e 2018, seguido do setor dos produtos salgados congelados, e das refeições prontas (FoodDrinkEurope, 2019).

Os impulsionadores da inovação podem dividir-se em 15 tendências, derivadas de 5 eixos, de acordo com as expectativas do consumidor: prazer, saúde, físico, conveniência e ética. De acordo com o relatório mencionado, das vertentes de inovação, o prazer foi o impulsionador líder na Europa, em 2017 e 2018, apesar do ligeiro decréscimo, como se pode ver na figura 3. A vertente da saúde tem ficado em segundo lugar, apresentando um ligeiro aumento entre 2017 e 2018, chegando aos 33,7%. A ética é o mais baixo impulsionador de inovação, no entanto tornou-se o mais dinâmico em termos de crescimento, devido ao aumento acentuado com as preocupações ecológicas (FoodDrinkEurope, 2019). A figura 4 esquematiza as tendências de inovação alimentar apresentadas pela *FoodDrinkEurope*.

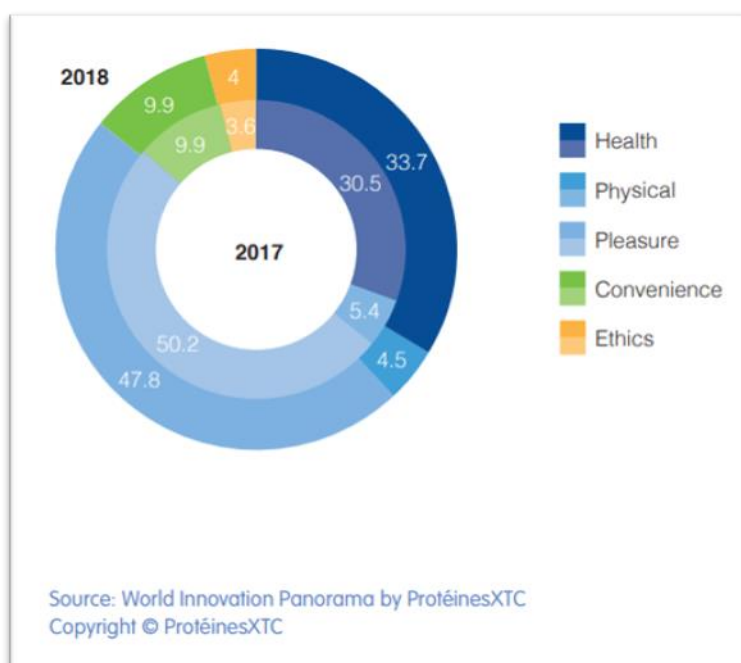


Figura 3. Impulsionadores de inovação alimentar na Europa (%). (Retirado de FoodDrinkEurope: *Data & Trends of the European Food and Drink Industry 2019*).

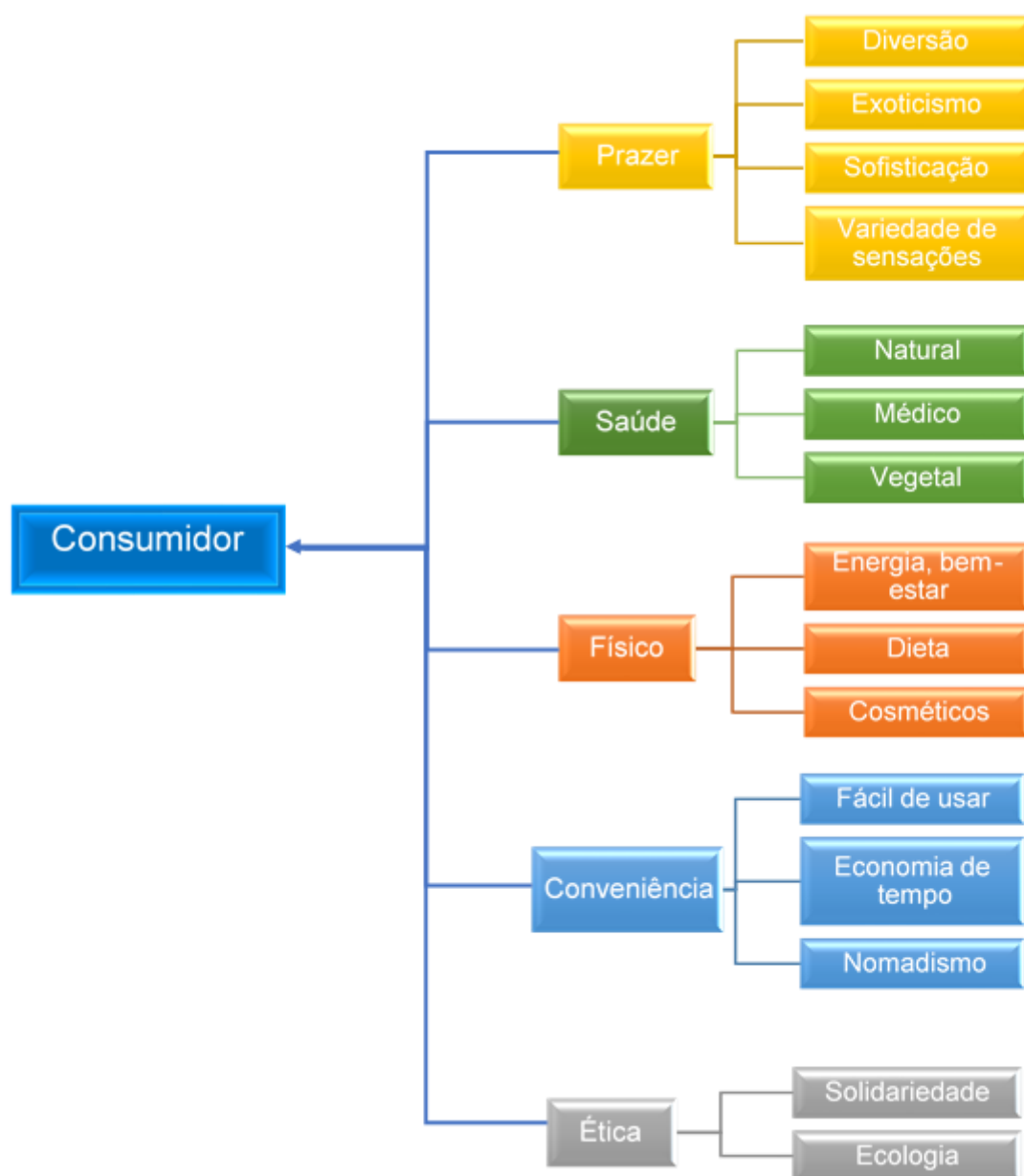


Figura 4. Tendências de inovação alimentar. (Adaptado de FoodDrinkEurope: *Data & Trends of the European Food and Drink Industry* 2019).

3. Atividades desenvolvidas no estágio

Ao longo do Estágio Curricular realizado na empresa de Produção e Distribuição Alimentar NUTRIVA, com duração de 8 meses, foram desenvolvidas várias atividades que incluíram a integração na rotina diária da fábrica (acompanhamento da produção nas diferentes secções da fábrica, acompanhamento da realização de vários procedimentos de qualidade ao longo do processo de produção, análise sensorial dos produtos produzidos diariamente para controlo de qualidade), integração e participação no departamento de I&D e a elaboração de um projeto de laboratório de análises microbiológicas nas dependências da empresa. Assim, ao longo do presente capítulo, serão descritas todas as atividades realizadas, com destaque para aquelas que representaram os dois principais objetivos do estágio: i) Projeto de laboratório de microbiologia; ii) Integração e participação no departamento de I&D.

3.1. Projeto de laboratório de microbiologia

Ao longo deste capítulo será apresentado o plano de construção e montagem do laboratório de microbiologia, seguido da análise e discussão dos custos e benefícios inerentes à sua implementação e funcionamento.

Numa fase inicial, a estagiária contactou alguns laboratórios de análises microbiológicas alimentares, solicitando a visita às suas instalações. Algumas empresas aceitaram a realização da visita, a qual se revelou uma atividade bastante enriquecedora, ao possibilitar a aquisição de conhecimentos sobre espaços e organização dos laboratórios de microbiologia alimentar, bem como o contacto com profissionais desta área que contribuíram para o esclarecimento de algumas dúvidas acerca do funcionamento deste tipo específico de laboratório.

Para a realização deste estudo, foi necessário solicitar orçamentos, contactando empresas especializadas em diferentes áreas, nomeadamente na venda de equipamentos e materiais de laboratório e meios de cultura, no desenvolvimento, produção e instalação de mobiliário de laboratório, na instalação e manutenção de sistemas de climatização e ventilação e também na recolha e gestão de resíduos.

3.1.1. Qualidade e Segurança Alimentar na NUTRIVA

A NUTRIVA é uma empresa certificada pela IFS, desde março de 2019. De modo a cumprir com os requisitos da referida norma, a empresa NUTRIVA possui um Plano de Controlo Analítico Anual, onde lista todas as análises laboratoriais que devem ser realizadas ao longo do ano.

A unidade fabril da NUTRIVA é constituída atualmente por 6 secções distintas que abrangem a produção de croissanteria, gelados, padaria, pastelaria, sobremesas e salgados. Em cada secção existem várias categorias de produtos, que dão origem a diferentes tipos de amostra (produto cru, produto pré-cozido e produto pronto a consumir). Assim, de acordo com o Plano de Controlo Analítico Anual, ao longo do ano 2020, irão ser realizadas análises microbiológicas a 196 amostras, de acordo com a seguinte categorização:

- “produto acabado” (seja produto cru, pré-cozido ou pronto a consumir), incluindo todas as secções e as diferentes categorias de produtos produzidos, num total de 96 amostras;
- superfícies que contactam diretamente com os alimentos: manipuladores (com luvas e sem luvas), utensílios, bancadas, tabuleiros e fardamento. Estas validações do sistema somam um total de 87 amostras;
- material de embalagem do produto final, que compreende 4 amostras;
- matérias-primas num total de 3 amostras;
- ambiente de preparação dos produtos, com 6 análises ao ar.

Para além deste plano de atividades, que respeita ao controlo de qualidade interno da fábrica, alguns clientes exigem que sejam realizadas análises microbiológicas ao produto final que comprem, por cada lote de produção. Atualmente, são apenas 2 clientes a exigir este controlo para um total de 9 referências. Uma das referências é produzida 5 dias por semana, e por cada lote de produção são enviadas 5 amostras para análise. Outras 3 referências são produzidas cerca de 2 vezes por mês, sendo por cada lote de produção retiradas também 5 amostras para análise. A quinta referência é produzida uma vez por mês, retirando-se apenas 1 amostra por lote para análise. As restantes 4 referências são produzidas cerca de 4 vezes por mês, sendo retiradas para análise 3 amostras por lote de produção. De acordo com estes dados, contabilizam-se no total 2292 amostras por ano para o controlo de produto final.

É importante referir que a empresa se encontra em crescimento, com grande destaque para a área da inovação e desenvolvimento de novos produtos. Regularmente,

são desenvolvidos novos produtos, para os quais são exigidas análises microbiológicas ao produto final e respetivas validações. Uma análise ao produto final é realizada no dia de produção do produto. As validações estão associadas ao tempo de vida do produto depois de descongelado, isto é, enquanto guardado em refrigerado. Em produtos prontos a consumir a validade em refrigerado é no máximo 5 dias, sendo que para se obter uma validação de 5 dias é necessário que todos os parâmetros microbiológicos ao 6º dia estejam conformes. Para tal, o departamento de qualidade e segurança alimentar estipulou que nestas validações se enviem para análise analisem 4 amostras não sequenciais desde o dia 1 até ao dia 6. Por exemplo, pode solicitar-se a análise microbiológica de amostras guardadas em refrigerado para os dias 2, 4, 5 e 6. O tempo de vida em refrigerado do produto será até ao último dia cujos resultados se apresentem conformes. Ao longo do ano de 2019 foram desenvolvidos 175 produtos, dos quais 52 foram aprovados e lançados para o mercado. Tendo em conta este volume de análises, por cada nova referência a lançar para o mercado são analisadas 5 amostras (1 amostra para análise ao produto final e 4 amostras para determinar a validade em refrigerado), o que se traduziu no ano de 2019 em 260 amostras analisadas.

Neste contexto, fruto de uma necessidade premente, de uma vontade crescente e de uma estratégia competitiva, surgiu por parte da empresa a proposta de realização de um projeto de criação de um laboratório de análises microbiológicas interno, que permita, futuramente, dar resposta às várias exigências de controlo de qualidade analítico. Os resultados emanados deste estudo permitirão aos responsáveis da NUTRIVA uma análise fundamentada e uma melhor reflexão quanto à viabilidade económica e logística da construção de um laboratório próprio.

3.1.2. Funções do laboratório e métodos a seguir

Tendo em conta os parâmetros alvo de análise na NUTRIVA, foi feito um levantamento das atividades a realizar pelo futuro laboratório. A tabela 1 apresenta os ensaios laboratoriais a realizar ao produto final e ambiente de preparação e distribuição alimentar (superfícies e ar), bem como os respetivos métodos a seguir para a sua determinação.

Tabela 1. Lista de ensaios a realizar no laboratório e respetivos métodos de referência.

Grupo	Ensaio	Método
Produto final	Contagem de microrganismos a 30 °C	ISO 4833-1:2013
	Contagem de bolores e leveduras	ISO 21527-1:2008
	Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	ISO 21528-2:2017
	Contagem de coliformes	ISO 4832:2006
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	ISO 16649-2:2001
	Contagem de bactérias sulfito-redutoras	ISO 15213:2003
	Contagem de <i>Staphylococcus coagulase</i> positiva	ISO 6888-2:1999/Amd 1:2003
	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	Compass® <i>Listeria</i>
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	IRIS <i>Salmonella</i> ®
Superfícies	Contagem de microrganismos a 30 °C	ISO 18593:2018; ISO 4833-1:2013
	Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	ISO 18593:2018; ISO 21528-2:2017
	Contagem de coliformes	ISO 18593:2018; ISO 4832:2006
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	ISO 18593:2018; ISO 16649-2:2001
	Contagem de <i>Staphylococcus coagulase</i> positiva	ISO 18593:2018; ISO 6888-2:1999/Amd 1:2003
Ar	Contagem de bactérias	BS EN 13098:2019
	Contagem de fungos	

Na escolha dos métodos a seguir para realização dos ensaios, foram considerados os já utilizados pelo laboratório externo e igualmente outras opções. Assim, alguns ensaios serão realizados seguindo as normas ISO convencionais, vigentes atualmente. Outros serão realizados através de métodos rápidos e/ou alternativos, validados pela entidade AFNOR Certification. Neste contexto, para *Listeria monocytogenes* considera-se o método COMPASS® *Listeria*, que permite a deteção e enumeração de *Listeria monocytogenes* e *Listeria* spp. em produtos alimentares e amostras ambientais. Encontra-se validado com as referências BKR 23/02-11/02 (deteção) e BKR 23/05-12/07 (enumeração) (Biokar Diagnostics – COMPASS® *Listeria* agar, 2016). Como método de pesquisa alternativo de

Salmonella considera-se o método IRIS *Salmonella*®, que permite a sua deteção em humanos, alimentos e amostras ambientais. Trata-se de um método validado com a referência BKR 23/07-10/11 (Biokar Diagnostics - IRIS *Salmonella*®, 2016).

No que respeita à análise de superfícies, a norma ISO 18593:2018 – “*Microbiology of the food chain — Horizontal methods for surface sampling*” especifica o método de amostragem de superfícies do ambiente da indústria alimentar usando placas de contacto, zaragatoas, esponjas e panos de superfícies, para pesquisa e/ou enumeração de bactérias, leveduras e fungos patogénicos ou não patogénicos (ISO 18593:2018). Para o laboratório projetado optou-se por utilizar zaragatoas para análise de superfícies. Depois de feita a amostragem das superfícies com zaragatoas, seguem-se os passos para a enumeração dos microrganismos, cujos métodos serão iguais aos métodos especificados para a análise a alimentos.

Para a análise à qualidade do ar, existe a norma europeia 13098:2019 – “*Workplace exposure — Measurement of airborne microorganisms and microbial compounds — General requirements*”, que fornece orientações para avaliação da exposição no local de trabalho a microrganismos existentes no ar, bem como a determinação do número total, número cultivável de microrganismos e presença de compostos microbianos no ambiente de trabalho (BS EN 13098:2019). No presente projeto foi prevista a realização de análises microbiológicas ao ar, para controlo do ambiente de produção (atualmente já conduzido) e para o controlo do ambiente do futuro laboratório de microbiologia.

3.1.3. Plano de construção e montagem

O projeto executado teve em conta as recomendações previstas na norma ISO 7218:2007, que refere as exigências gerais e guia para análises microbiológicas em contexto de microbiologia de alimentos, de modo a poder também usufruir de futuras validações e/ou acreditações. A presente proposta de laboratório foi projetada de acordo com as normas de segurança necessárias para a deteção e manipulação de microrganismos pertencentes à categoria de risco 2 para análises microbiológicas (WHO, 2004; HHS *et al.*, 2009).

3.1.3.1. Planta

O projeto de laboratório aqui apresentado terá de ser construído num edifício autónomo, dada a necessidade de uma separação física entre a instalação fabril e o laboratório. Como já foi referido, o centro logístico e administrativo da NUTRIVA está localizado em Coimbra, e a sua única instalação fabril está situada em Vila Nova de Poiares. O local decidido para a edificação do laboratório será ao lado da instalação fabril. No entanto, para este projeto, não foi tido em conta o custo associado à construção do edifício.

Na estrutura de um laboratório de análises microbiológicas é imprescindível assegurar que o ambiente não afeta a fiabilidade dos resultados. Assim, existem uma série de premissas que ajudam a evitar o risco de contaminação cruzada, entre as quais, a construção do laboratório seguindo o princípio da “marcha em frente”, a separação das atividades no espaço ou no tempo e a realização dos procedimentos de forma sequencial usando precauções apropriadas de modo a garantir a integridade dos testes e das amostras (ISO 7218:2007).

O espaço para o laboratório projetado compreende uma área total de 90 m². Esta será constituída por 4 salas, ligadas por um corredor principal. Cada sala tem ligação direta para o corredor principal e entre salas. Na figura 5 encontra-se a proposta de *layout* para o laboratório projetado. A entrada para o laboratório será sempre feita passando pela sala de receção e armazenamento de amostras. Esta é uma sala de apoio ao laboratório. Neste espaço as amostras são rececionadas e guardadas, procedendo-se ao respetivo registo no sistema informático. Na sala de preparação e esterilização de meios, serão preparados todos os materiais necessários ao processamento das amostras, incluído os meios para a cultura de microrganismos. Segue-se a sala onde serão realizadas as análises propriamente ditas. Para tal, começa-se por preparar a amostra, homogeneizando-a no diluente apropriado. É preparada a suspensão inicial e as diluições necessárias. É realizada a inoculação das diluições preparadas nos meios de cultura apropriados, seguindo-se para incubação à temperatura respetiva. Após o período de incubação é feita a leitura e análise dos resultados. Em alguns casos poderá ser necessário fazer testes de confirmação e/ou controlos positivos. É também nesta sala que serão armazenadas as estirpes de referência para fazer o controlo dos meios de cultura. A última sala servirá para a descontaminação e lavagem de material utilizado.

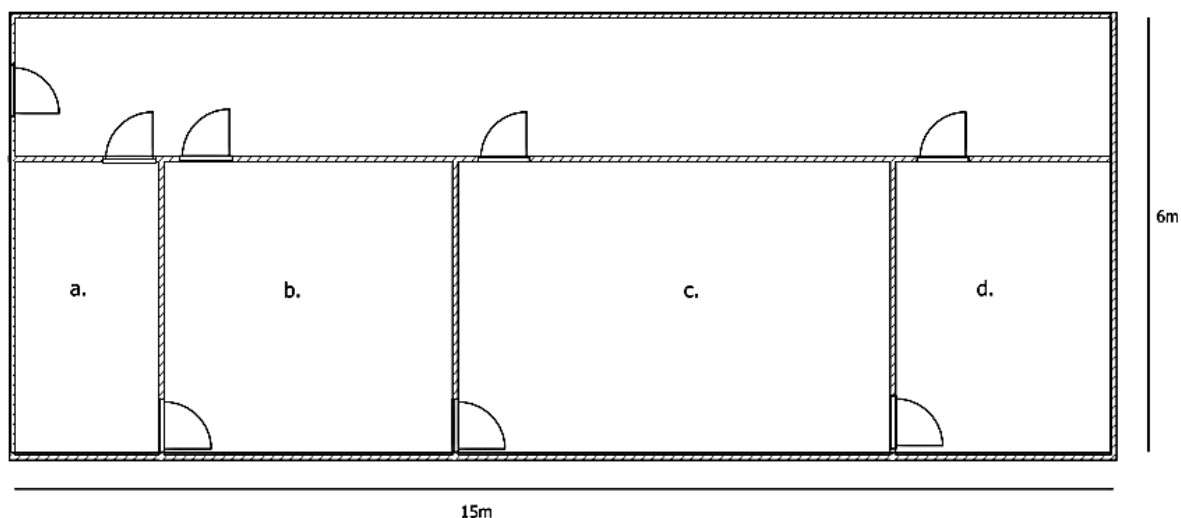


Figura 5. Planta do laboratório, a. Sala de receção e armazenamento de amostras; b. Sala de preparação e esterilização de meios; c. Sala de análises; d. Sala de descontaminação.

3.1.3.2. Mobiliário

O mobiliário projetado foi dimensionado tendo em conta as necessidades de espaço, de trabalho e de arrumação. O orçamento do mobiliário próprio para o laboratório foi solicitado a uma empresa especializada na montagem de laboratórios, pelo que, os materiais constituintes do laboratório terão as caraterísticas técnicas e apropriadas à atividade laboratorial de microbiologia. O mobiliário terá superfícies lisas, sem porosidade, de fácil limpeza, de cor branca, com resistência a produtos de limpeza, bem como resistência mecânica ao peso dos materiais e equipamentos armazenados. Os custos do mobiliário de escritório, nomeadamente o armário, secretária e cadeira da sala de receção e armazenamento de amostras foram obtidos no *website* de uma grande superfície comercial. A figura 6 mostra a representação do mobiliário a instalar em cada sala do laboratório projetado. De seguida, a tabela 2 descreve todo o mobiliário necessário e o respetivo custo associado.

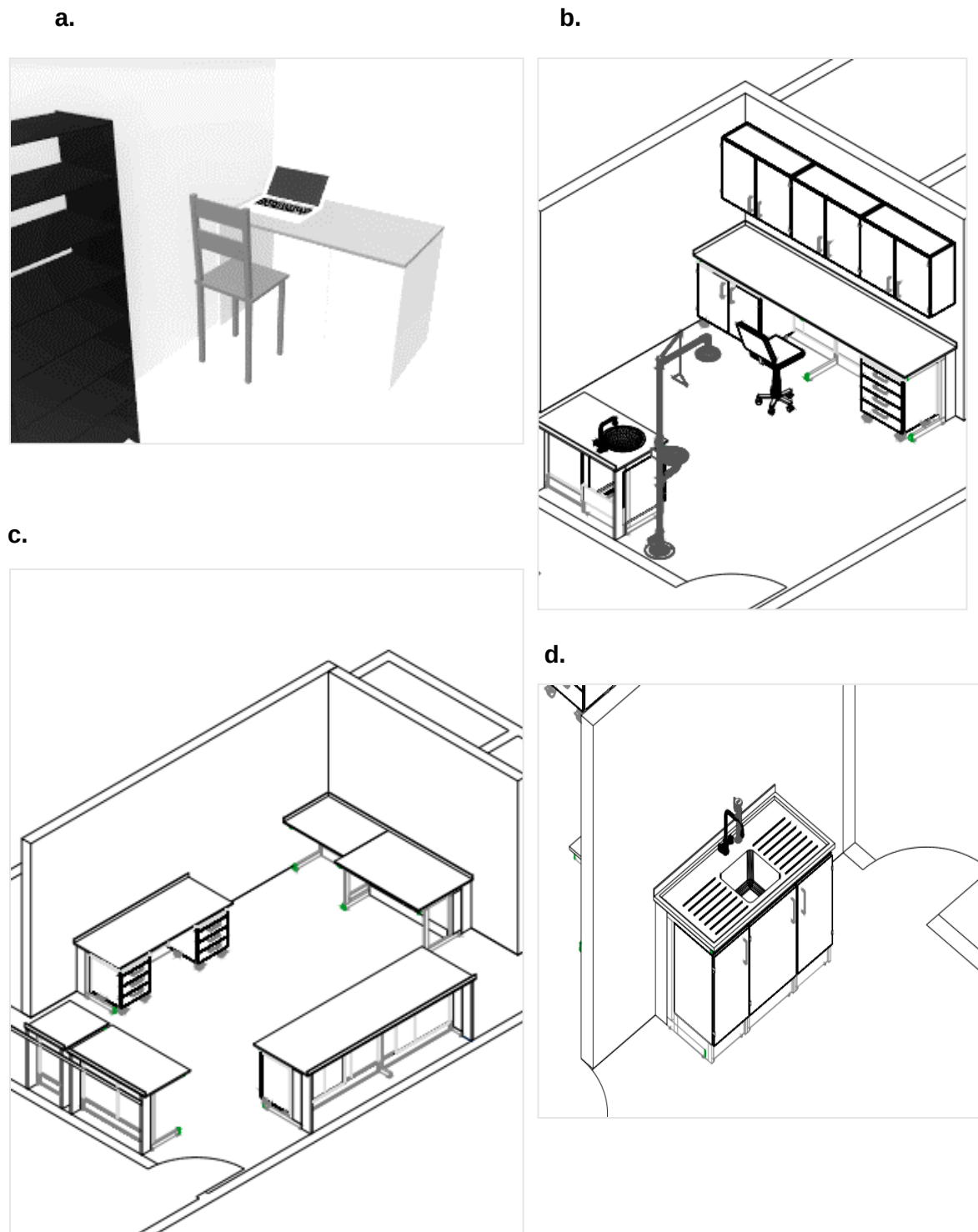


Figura 6. Representação do mobiliário do laboratório, **a.** Sala de receção e armazenamento de amostras; **b.** Sala de preparação e esterilização de meios; **c.** Sala de análises; **d.** Sala de descontaminação.

Tabela 2. Mobiliário a instalar nas salas do laboratório.

Sala	Mobiliário	Utilidade	Total (€)
Receção e armazenamento de amostras	Secretária	Material de escritório	113,00
	Cadeira		48,69
	Armário		137,40
Preparação e esterilização de meios	Bancada mural 3050x750x900 mm	Equipamento de suporte e de arrumação	1 733,85
	Cadeira	Equipamento de suporte	115,00
	Módulo de lavagem 1200x750x900 mm	Lavagem de mãos	805,60
	Chuveiro de emergência com lava-olhos	Sistema de segurança	932,75
Análises	Bancada 650x750x900 mm	Suporte do <i>stomaker</i>	232,20
	Bancada 1300x750x900 mm	Preparação das amostras	372,00
	Bancada 1900x750x750 mm	Inoculação das amostras	889,30
	Bancada 2800x900x900 mm	Suporte das incubadoras	1 255,60
	Bancada 1000x750x750 mm	Leitura e análise de resultados	400,50
	Bancada 1400x900x750 mm	Suporte de câmara de fluxo laminar	460,20
Descontaminação	Módulo de lavagem com lava-olhos de emergência 1500x750x900 mm	Lavagem de material	1 743,00

3.1.3.3. Equipamentos e materiais

Para a montagem do laboratório foi equacionada a aquisição de equipamentos eletrónicos, bem como de materiais úteis à realização dos vários ensaios a conduzir no laboratório. Os valores dos equipamentos apresentados foram obtidos através da solicitação de orçamentos a várias empresas especializadas na venda de equipamentos de laboratório. Mediante os vários orçamentos obtidos, e após algumas reuniões com os comerciais representantes das várias empresas, selecionaram-se os fornecedores, tendo em conta

fatores de qualidade, financeiros e de adequabilidade às necessidades do projeto. O valor apresentado para o computador na tabela 3 foi obtido no *website* de uma grande superfície comercial.

As tabelas 3, 4, 5 e 6 listam os equipamentos e/ou materiais necessários adquirir para cada sala, estando identificados os equipamentos e materiais, a quantidade necessária, a respetiva utilidade e o valor monetário associado. O valor está apresentado por total de unidades necessárias por cada equipamento ou material.

Tabela 3. Lista de equipamentos para a sala de receção e armazenamento de amostras.

Equipamento	Quantidade	Utilidade	Total (€)
Frigorífico	1	Armazenamento de amostras	875,00
Congelador	1	Armazenamento de amostras	750,00
Termómetro	2	Monitorização de temperaturas	19,50
Computador	1	Equipamento de escritório	812,20

Tabela 4. Lista de equipamentos e materiais para a sala de preparação e esterilização de meios.

Equipamento/ material	Quantidade	Utilidade	Total (€)
Frigorífico	1	Armazenamento em refrigerado	875,00
Termómetro	1	Monitorização de temperaturas	9,75
Balança	1	Pesagem	350,00
Autoclave	1	Esterilização	4 200,00
Medidor de pH	1	Controlo/acerto do pH dos meios de cultura preparados	427,00
Banho-maria	1	Estabilização de temperatura dos meios de cultura	550,00
Espátula/colher	8	Preparação de meios de cultura	21,00
Microondas	1	Fusão de meios de cultura	500
Agitador magnético	1	Preparação de meios de cultura	250,00
Frascos	41	Preparação de meios (5 L, 1 L, 0,5 L e 0,1 L)	138,25
Provetas graduadas	25	Medição de volumes (25 mL, 100 mL, 500 mL, 1 L, 2 L)	219,92

Tabela 4. Lista de equipamentos e materiais para a sala de preparação e esterilização de meios. (Continuação)

Equipamento/ material	Quantidade	Utilidade	Total (€)
Pipeta graduada	11	Medição de volumes (5 mL e 10 mL)	17,66
Aspirador de pipetas	2	Aspiração de líquidos para a pipeta graduada	8,28
Sistema de água ultrapura	1	Purificação de água	4 750,00
Bata	1	Equipamento de proteção individual	25,00
Óculos	1	Equipamento de proteção individual	6,00

Tabela 5. Lista de equipamentos e materiais para a sala de análises.

Equipamento/ material	Quantidade	Utilidade	Total (€)
Stomaker	1	Homogeneização da amostra no diluente	2 410,00
Tesoura, pinça, espátula	17	Preparação da amostra	94,00
Diluidor gravimétrico	1	Preparação da suspensão inicial; balança incorporada	4 095,00
Banho-maria	2	1. Choque térmico para bactérias esporulantes; 2. Manutenção do meio de cultura liquefeito – para técnica de incorporação	1 100,00
Câmara de fluxo laminar	1	Inoculação /trabalho em condições asséticas	6 500,00
Vortex	1	Preparação de diluições	175,00
Micropipeta	2	Medição de volumes e inoculação (100 µL e 1000 µL)	412,50
Tubos de ensaio	100	Preparação de culturas em meio líquido; preparação de diluições.	95,50
Suporte para tubos de ensaio	5	Suporte de tubos	20,00

Tabela 5. Lista de equipamentos e materiais para a sala de análises. (Continuação)

Equipamento/ material	Quantidade	Utilidade	Total (€)
Bico de Bunsen	1	Manutenção da esterilidade do material /trabalho em condições de assépsia	42,71
Incubadora	1	Incubação de culturas a 25 °C (123 L)	3 980,00
	4	Incubação de culturas a 30 °C, 37 °C, 41,5 °C e 44 °C (130 L)	5 600,00
Congelador	1	Armazenamento de estirpes de referência	170,00
Frigorífico	1	Manutenção de culturas stock	875,00
Termómetro	1	Monitorização de temperaturas	9,75
Contador de colónias manual	1	Instrumento de auxílio na contagem de colónias	780,00
Cabo de ansa	1	Inoculação e repicagem	18,81
Ponta de ansa	10	Inoculação e repicagem	60,00

Tabela 6. Lista de equipamentos para a sala de descontaminação.

Equipamento	Quantidade	Utilidade	Total (€)
Autoclave	1	Descontaminação	6 000,00
Máquina de lavagem de material	1	Lavagem	5 539,00

3.1.3.4. Sistema de aquecimento, ventilação e ar condicionado

O sistema de ar condicionado é importante no sentido de controlar a temperatura do laboratório garantindo a temperatura ambiente, entre 18 e 27 °C (ISO 7218:2007). Certos aparelhos do laboratório são calibrados a determinada temperatura, pelo que se a temperatura não for adequada, corre-se o risco de as determinações não serem confiáveis.

A qualidade do ar também é importante, em termos do conteúdo em microrganismos e taxa de disseminação de poeiras, pelo que, na montagem de um laboratório de microbiologia, é recomendado um sistema de ventilação para o ar que entra e o ar que sai (ISO 7218:2007). Assim, solicitou-se um orçamento para um sistema de aquecimento, ventilação e ar condicionado (AVAC) a uma empresa especializada no setor, tendo em conta a planta do laboratório, a área de cada sala, e as atividades a realizar em cada uma destas. De acordo com estes pressupostos, a empresa apresentou o orçamento, apresentado na tabela 7.

Tabela 7. Lista de itens para a aquisição do sistema AVAC e respetivos custos.

	Descrição (modelo e caraterísticas)	Unidades	Total (€)
Ar condicionado	KAY-35 DR – Cap arref/aquecimento:3,52-4,1 KW-Sala a.	1	549,12
	KAY-52 DR – Cap arref/aquecimento:5,57-5,57 KW-Sala b.	1	826,32
	KAY-571DR – Cap arref/aquecimento:7,33-7,33 KW-Sala c.	1	1 037,52
	KAY-52 DR – Cap arref/aquecimento:5,57-5,57 KW-Sala d.	1	826,32
	Tubagens de interligação frigorífica das unidades, ligações elétricas e de esgoto de condensados (até 10 metros)	4	1 092,96
Renovação de ar	Caixa de ventilação com ventilador de insuflação de ar tipo PLUG EC com filtro de ar M5 e F9, caudal de ar de 1.500 m³/h a 450 Pa incluindo interruptor de corte, teto intempérie e bico de pato	1	2 296,14
	Caixa de ventilação com ventilador de extração de ar tipo PLUG EC com filtro de ar M5, caudal de ar de 1.800 m³/h a 200 Pa incluindo interruptor de corte, teto intempérie e bico de pato	1	1 080,42
	Comandos dos ventiladores caudal constante e on/off	2	682,44
	Pressostato para indicação de filtros colmatados e sua ligação elétrica	2	271,92
	Conduatas de insuflação e extração se ar em tubo spiro de diversos diâmetros incluindo acessórios de ligação e suspensões	40 m	1 188,00

Tabela 7. Lista de itens para a aquisição do sistema AVAC e respetivos custos. (Continuação)

Descrição (modelo e caraterísticas)		Unidades	Total (€)
Renovação de ar	Caixas contentoras de filtros H13 incluindo também o filtro de ar e grelha difusora	4	3 057,12
	Grelhas de extração em alumínio simples fiada com registo de regulação de caudal e pleno em chapa galvanizada	4	241,84
	Quadro elétrico de comando dos ventiladores e alimentação elétrica dos mesmos	1	778,80

Na climatização considerou-se um sistema com unidades murais para controlo individual da temperatura de cada sala. A renovação de ar considerada de 10 renovações por hora em pressão negativa e será levada a efeito com ventilador de insuflação e ventilador de extração com redes de tubagens comuns às várias salas. Contudo, em cada divisão a insuflação será feita por caixa com filtro hepa 13, de modo a que o ar insuflado não sofra a influência da eventual sujidade ou contaminação das condutas. A humidade deve manter-se dentro de valores aceitáveis pelo que não foi previsto nenhum sistema específico de humidificação/desumidificação.

Os trabalhos descritos serão realizados por técnicos devidamente qualificados/credenciados, pelas entidades competentes, nomeadamente Agência Portuguesa do Ambiente e/ou Centro Tecnológico para a Indústria Térmica, Energia e Ambiente, de acordo com o enquadramento legal em vigor (respetivamente Decreto-Lei n.º 35/2008 de 27 de fevereiro e Decreto-Lei n.º 56/2011 de 21 de abril). O orçamento apresentado exclui os trabalhos de construção civil.

3.1.3.5. Consumíveis

A realização das atividades laboratoriais propostas neste projeto implicam adquirir materiais de uso único. Os valores apresentados foram obtidos por orçamentação a empresas especializadas na venda de materiais para laboratórios. Para os consumíveis ou descartáveis não há uma quantidade específica a adquirir ou um valor total associado, uma vez que estes vão ser continuamente utilizados consoante a necessidade. O valor associado aos consumíveis será apresentado na análise de custos, onde se faz uma previsão dos ensaios que se realizarão mensalmente. Acerca dos consumíveis, podem-se distinguir 3 grupos: i) materiais descartáveis; ii) diluentes, meios de cultura desidratados e suplementos; iii) estirpes de referência.

3.1.3.5.1. Materiais descartáveis

Na tabela 8 estão designados todos os materiais consumíveis necessários ao laboratório e o respetivo valor unitário.

Tabela 8. Lista de materiais descartáveis.

Materiais consumíveis	Utilidade	Valor unitário (€)
Fita indicadora de esterilização	Controlo da eficácia do processo de esterilização em autoclave (50 m)	5,50
Pontas de micropipeta	Medição de volumes (1 mL)	0,0085
Pontas de micropipeta	Medição de volumes (0,2 mL)	0,006
Placas de Petri	Cultura de microrganismos	0,06
Parafilm	Selar (38 m)	19,00
Sacos para stomaker	Preparação da suspensão mãe homogeneizada no stomaker	0,07
Bolsas	Esterilização de material	0,062
Espalhadores	Técnica de espalhamento à superfície	0,06
Saquetas de anaerobiose	Garantir condições de anaerobiose	2,98
Ansas	Inoculação e repicagens (1 µL)	0,02
Sacos para esterilização	Acondicionamento de material de risco biológico	0,26
Luvas	Equipamento de proteção individual	4,90
Máscaras	Equipamento de proteção individual	5,50

3.1.3.5.2. Diluentes, meios de cultura, suplementos e testes

Durante a realização do estudo, equacionaram-se duas possibilidades em relação aos meios de cultura necessários à execução das análises microbiológicas: comprar o meio já pronto em placa, ou preparar o meio de cultura no laboratório. Por motivos de gestão e financeiros, optou-se por preparar a maior parte dos meios de cultura no laboratório, a partir de meio desidratado, adicionando, quando necessário, o suplemento adequado. Tendo em conta os ensaios microbiológicos atualmente vigentes na NUTRIVA, foram identificados os compostos necessários adquirir e o respetivo valor, como mostra a tabela 9. O diluente

Buffered Peptone Water, mencionado nesta tabela, será o meio utilizado para separar os microrganismos do produto sólido para a fase líquida e para realizar as respetivas diluições. O meio *Tryptic Soy Agar*, mencionado na mesma tabela, será o meio a utilizar na preparação das culturas stock a partir das estirpes de referência, no contexto da norma ISO 11133. Em relação ao controlo de qualidade do ambiente fabril e controlo do ambiente de laboratório foram escolhidos os meios de cultura, tendo em conta as indicações da norma BS EN 13098:2019 e a Nota Técnica NT-SCE-02 que descreve a metodologia para auditorias periódicas de qualidade do ar interior em edifícios de serviços existentes no âmbito do RSECE (Regulamento de Sistemas Energéticos de Climatização em Edifícios). Assim, a contagem de bactérias será feita utilizando meio de cultura *Plate Count Agar* e a contagem de fungos será realizada utilizando meio de cultura *Malt Extract Agar* com adição de suplemento (BS EN 13098:2019; SCE, 2009).

Tabela 9. Descrição de diluentes, meios de cultura desidratados, meios prontos em placa, suplementos e testes de confirmação necessários para cada ensaio e respetivos custos.

Ensaio/Utilização	Descrição	Custo
Contagem de microrganismos a 30 °C	<i>Plate Count Agar</i>	24 €/500 g
Contagem de bolores e leveduras	<i>Dichloran-Rose Bengal Chloramphenicol Agar</i>	60 €/500 g
Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Violet Red Bile Glucose Agar</i>	34 €/500 g
	<i>Nutrient Agar</i>	40 €/500 g
	(Confirmação) <i>Oxidase test</i>	0,5 €/teste
	<i>OF glucose</i>	55 €/500 g
Contagem de coliformes	<i>Violet Red Bile Lactose Agar</i>	27 €/500 g
	<i>Brilliant Green Lactose Bile Broth</i>	77 €/500 g
Contagem de <i>E. coli</i>	<i>Tryptone Bile X-Glucuronide Agar</i>	92 €/500 g
Contagem de bactérias sulfito-redutoras	<i>Iron Sulfite Agar</i>	39 €/500 g
Contagem de <i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	<i>Baird-Parker Agar</i>	46 €/500 g
	<i>Rabbit Plasma Fibrinogen Agar supplement</i>	41 €/comprimido
Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i> COMPASS®	<i>Half Fraser Broth</i>	41 €/500 g
	<i>Sterile 5% solution Ferric Ammonium Citrate</i>	2,14 €/tubo
	COMPASS® <i>Listeria Agar</i>	1,5 €/placa pronta
	(Confirmação) CONFIRM® <i>L.mono</i>	2,94 €/tubo pronto
	<i>PALCAM Agar</i>	0,75 €/placa pronta

Tabela 9. Descrição de diluentes, meios de cultura desidratados, meios prontos em placa, suplementos e testes de confirmação necessários para cada ensaio e respetivos custos. (Continuação)

Ensaio/Utilização	Descrição	Custo
Pesquisa de Salmonella IRIS®	<i>Salmonella Enrichment</i>	21 €/500 g
	<i>IRIS Salmonella® supplement</i>	0,45 €/comprimido
	<i>IRIS Salmonella® Agar</i>	60,7 €/500 g
	(Confirmação) <i>Latex agglutination test CONFIRM® Salmonella</i>	3,52 €/teste
Contagem de bactérias (ar)	<i>Plate Count Agar</i>	24 €/500 g
Contagem de fungos (ar)	<i>Malt Extract Agar</i>	39 €/500 g
	<i>Lactic Acid</i>	2,1 €/ 5 mL
Diluyente	<i>Buffered Peptone Water</i>	19 €/500 g
Preparação de culturas de referência	<i>Tryptic Soy Agar</i>	37 €/500 g

3.1.3.5.3. Estirpes de referência

A preparação de meios de cultura é um dos passos fundamentais para assegurar a integridade das determinações microbiológicas, pelo que se lhe deve dar especial atenção. A norma ISO 11133:2014 – “*Microbiology of food, animal feed and water — Preparation, production, storage and performance testing of culture media*” define os termos relativos à garantia de qualidade dos meios e especifica os requisitos para preparação de meios de cultura usados nas análises microbiológicas alimentares (ISO 11133:2014). Descreve também as regras para preparação, produção, armazenamento e testes de desempenho dos meios de cultura para microbiologia de alimentos.

No caso do futuro laboratório, os meios vão ser preparados a partir de formulações comerciais desidratadas, seguindo as instruções do fornecedor. É importante documentar os dados relevantes de cada lote de meio que é aberto e utilizado, tais como, o código do produto, lote, pH, data de preparação, condições de esterilização e operador. As condições de armazenamento e o tempo de vida do meio preparado devem estar de acordo com as instruções do fornecedor (ISO 11133:2014).

Os procedimentos com análises microbiológicas dependem da capacidade que os meios de cultura têm de fornecer resultados consistentes e reprodutíveis. Assim, é necessário fazer o controlo de qualidade do meio utilizado, como forma de assegurar a

consistência de resultados entre lotes, laboratórios e operadores. A norma ISO 11133:2014 inclui um anexo com as estirpes de referência utilizadas para avaliar meios de cultura a nível de produtividade, seletividade e especificidade. De acordo com os ensaios microbiológicos previstos realizar, fez-se um levantamento, e observou-se que será necessário adquirir 21 estirpes de referência: *Bacillus subtilis subsp. spizizenii*; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*; *Saccharomyces cerevisiae*; *Aspergillus brasiliensis*; *Candida albicans*; *Mucor racemosus*; *Clostridium perfringes*; *Salmonella typhimurium*; *Salmonella enteritidis*; *Enterococcus faecalis*; *Yersinia enterocolitica*; *Citrobacter freundii*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Staphylococcus saprophyticus*; *Staphylococcus epidermis*; *Listeria monocytogenes*; *Bacillus cereus*; *Wallemia sebi*; *Aspergillus restrictus*; *Eurotium rubrum*.

No futuro laboratório, o método de conservação das estirpes será por cultivo contínuo e por congelação. Através do cultivo contínuo, é possível manter a cultura de trabalho disponível para a realização dos ensaios. Estas culturas são armazenadas a temperatura de refrigeração (5 °C), por um período máximo de 30 dias. A congelação (-18 °C) das culturas de referência permite a sua conservação pelo período máximo de 2 anos. O valor obtido, do orçamento de uma das empresas fornecedoras, por cada estirpe de referência ATCC (*American Type Culture Collection*) foi de 164,05€. Estes microrganismos são vendidos como um conjunto de 5 *pellets* com durabilidade de 2 anos em congelado (-18 °C). Assim, de acordo com os dados, é necessário investir 3 445,05 € a cada 2 anos.

3.1.3.6. Gestão de resíduos

Em laboratórios de microbiologia, todo o material potencialmente infeccioso deve ser descontaminado, por esterilização, por processos químicos ou por incineração. A gestão de resíduos é feita de modo a minimizar a libertação e proliferação de microrganismos viáveis. Esta gestão envolve a classificação, triagem, acondicionamento e tratamento específico de resíduos. Assim, será possível manter as condições de higiene e segurança dos colaboradores, dos equipamentos e instalações, bem como a proteção e preservação do meio ambiente. Os materiais consumíveis utilizados nas várias atividades analíticas deste laboratório, como placas de Petri contendo culturas microbianas, ansas, pontas e espalhadores, serão descontaminados por esterilização no autoclave da sala de descontaminação para poderem ser depois colocados no lixo comum. Dependendo do volume de amostras, e por razões de gestão, estes materiais consumíveis depois de usados poderão ser diretamente acondicionados em contentores apropriados para serem posteriormente recolhidos por uma empresa de recolha e gestão de resíduos hospitalares, evitando assim o passo de esterilização. Neste projeto foram tidas em conta as duas

opções, considerando-se a contratação de uma empresa de recolha e gestão dos resíduos, que apresentou o valor de 9,6€ por cada contentor cheio que venha recolher.

3.1.4. Análise de custos

Os custos associados à implementação do laboratório de microbiologia estão designados na tabela 10. Nesta tabela estão apresentados os custos totais relativos ao investimento inicial de montagem e os custos anuais de funcionamento do laboratório.

Tabela 10. Investimento inicial e custos de funcionamento do laboratório.

Descrição	Investimento inicial (€)	Custo anual (€)
Mobiliário	9 239,09	-
Equipamentos e materiais	52 781,83	-
Sistema AVAC	13 928,92	-
Consumíveis	-	38 503,04
Gestão de resíduos	-	998,40
Outros custos	-	23 100,00
Total	75 949,84	62 601,44

Os custos relativos à aquisição de todo o mobiliário, dos equipamento e materiais e do sistema AVAC representam o somatório dos valores parcelares apresentados nos pontos 3.1.3.2., 3.1.3.3. e 3.1.3.4., respetivamente. De acordo com os dados obtidos, o investimento inicial para a montagem do laboratório será de 75 949,84 €.

De acordo com os orçamentos obtidos para os materiais consumíveis, mencionados ao longo dos pontos 3.1.3.5.1. e 3.1.3.5.2., e tendo em conta as normas, e/ou métodos ponderados seguir, apresentadas no ponto 3.1.2., calculou-se o custo de cada ensaio a realizar no laboratório projetado, apresentado na tabela 11. Os custos pormenorizados das análises a produto final, superfícies e ar encontram-se nos anexos A, B e C, respetivamente. Os valores apresentados nestes anexos e na tabela seguinte não têm em conta o passo de realização da suspensão inicial e respetivas diluições, pois este passo realiza-se por amostra, e não por ensaio. O mesmo sucede no caso da análise a superfícies, em que também não se teve em conta o custo da zaragatoa, porque com uma única zaragatoa no meio neutralizador, realizam-se vários ensaios. Estes valores parcelares são tidos em conta no conjunto dos ensaios a realizar, por amostra, discutidos a seguir.

Tabela 11. Estimativa de custos associados às determinações laboratoriais.

Tipo de amostra	Ensaio	Custo (€)
Produto final	Contagem de microrganismos a 30 °C	0,71
	Contagem de bolores e leveduras	1,10
	Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	3,93
	Contagem de coliformes	1,22
	Contagem de <i>E. coli</i>	0,52
	Contagem de bactérias sulfito-redutoras	0,87
	Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	9,00
	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	4,66*
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	2,86**
Superfícies	Contagem de microrganismos a 30 °C	0,25
	Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	3,73
	Contagem de coliformes	1,03
	Contagem de <i>E. coli</i>	0,52
	Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	5,41
Ar	Contagem de bactérias	0,28
	Contagem de fungos	0,92

*Se a pesquisa de *Listeria* der resultado positivo, é necessário fazer 2 testes de confirmação de colónias, que têm o custo adicional de 3,89 €.

**Se a pesquisa de *Salmonella* der resultado positivo, é necessário fazer um teste de confirmação de colónias, que tem o custo adicional de 3,62 €.

Os gastos em consumíveis estimados por ano totalizam 38 503,04 €. Este valor foi calculado tendo em conta todos os ensaios previstos realizar ao longo do ano 2020, nomeadamente, em controlos de produto final atualmente exigido por alguns clientes da NUTRIVA (ver anexo D), em análises microbiológicas para cumprimento do Plano de Controlo Analítico Anual da empresa previsto para o ano 2020 (ver anexo E), e em análises microbiológicas associadas ao processo de desenvolvimento de novos produtos tendo em conta os dados de 2019 (ver anexo F), como já foi mencionado no ponto 3.1.1 deste relatório. Na parcela dos consumíveis incluiu-se também a aquisição de estirpes de referência, necessárias para realizar o controlo de qualidade dos meios de cultura, em que o valor apresentado foi calculado tendo em conta a aquisição de 21 microrganismos, já mencionadas no ponto 3.1.3.5.3. Estas estirpes em congelado têm a durabilidade prevista de 2 anos, pelo que o custo de aquisição das respetivas estirpes divide-se sempre por 2. Consideraram-se ainda alguns materiais descartáveis que se utilizam no decorrer das

atividades laboratoriais, que não foram contabilizados nos custos das análises. Entre estes materiais, incluem-se a fita indicadora de esterilização, rolo de *parafilm*, bolsas de esterilização, saquetas de anaerobiose, sacos para esterilização, luvas e máscaras, mencionados no ponto 3.1.3.5.1. A tabela 12 apresenta a descrição dos custos em todos os consumíveis para concluir o valor anual estimado total.

Tabela 12. Custos anuais estimados em consumíveis.

Descrição	Custo anual estimado (€)
Controlo de produto final	27 107,78
Plano de Controlo Analítico Anual	2 904,44
Desenvolvimento de novos produtos	6 528,29
Estirpes de referência	1 722,53
Outros materiais descartáveis	240,00
Total	38 503,04

A parcela relativa à gestão de resíduos já mencionada no ponto 3.1.3.6. foi calculada tendo em conta que semanalmente serão recolhidos 2 contentores pela empresa de recolha e gestão de resíduos hospitalares. Considerando as 52 semanas do ano, serão 104 contentores recolhidos anualmente, o que corresponde a um custo anual previsto de 988,40€.

O laboratório em funcionamento acarreta “outros custos” que devem ser tidos em conta, nomeadamente os gastos em água, gás, eletricidade, um colaborador e materiais de escritório. Os custos estimados para estes gastos estão descritos na tabela 13.

Tabela 13. Custos estimados em água, gás, eletricidade, um colaborador e material de escritório.

Descrição	Custo mensal estimado (€)	Custo anual estimado (€)
Água	150,00	1800,00
Gás	20,00	240,00
Eletricidade	150,00	1800,00
Colaborador	1 600,00	19 200,00
Material de escritório	5,00	60,00
Total	1925,00	23 100,00

3.1.5. Relação custos-benefícios

Após a análise dos custos associados à implementação deste projeto, fez-se a comparação com os custos associados ao respetivo serviço externo, com base no levantamento dos valores praticados pelo laboratório externo. Assim, a estagiária teve acesso ao contrato de serviços realizado entre a NUTRIVA e o laboratório prestador do serviço, onde consta o custo por ensaio. A partir daqui, foi possível comparar os gastos em análises ao ano, tendo em conta igual volume de análises ao do projeto apresentado. Observou-se que os gastos calculados em análises microbiológicas ao ano para a realização das atividades propostas, de acordo com os preços praticados atualmente pelo laboratório externo totalizam 55 558,55 €. Os gastos anuais previstos para o ano de 2020 respeitantes a controlo de produto final, cumprimento do Plano de Controlo Analítico Anual e em desenvolvimento de novos produtos representam o somatório das parcelas relativas ao custo total de análises por ano, apresentados nos anexos G, H e I, respetivamente. A tabela 14 mostra os gastos anuais relativos a cada uma das referidas parcelas.

Tabela 14. Gastos anuais em análises microbiológicas, de acordo com os preços praticados pelo laboratório externo.

Descrição	Custo anual (€)
Controlo de produto final	42 013,20
Plano de Controlo Analítico Anual	4 016,35
Desenvolvimento de novos produtos	9 529,00
Total	55 558,55

De acordo com a análise dos dados, obteve-se um custo anual previsto de 62 601,44 € com o laboratório interno, contra um gasto anual de 55 558,55 € com o laboratório externo, o que gera uma diferença de 7 042,89 € em benefício do laboratório externo. Assim, e tendo em consideração os dados obtidos, conclui-se que, atualmente, a implementação de um laboratório interno não trará vantagens económicas à empresa. Para além de serem maiores os gastos associados à realização de análises internas, acrescem os custos do investimento inicial na montagem do laboratório, que de acordo com os orçamentos obtidos, serão de 75 949,84 €. É necessário ter ainda em conta os custos de edificação do laboratório, que não foram considerados neste trabalho, e têm um peso considerável no investimento inicial. Em relação a equipamentos deve-se ter em conta custos na calibração a realizar por entidades competentes e na eventual manutenção de equipamentos, encargos que não foram considerados neste estudo.

Como já foi referido, o projeto executado teve sempre em conta normas internacionais, de modo a poder usufruir de futuras validações e/ou acreditações. O processo de acreditação é importante para o laboratório, pois transmitirá confiança na execução das atividades, ao confirmar a existência de competência técnica a um nível reconhecido internacionalmente. A médio prazo este poderá ser um foco do laboratório. O processo de acreditação é um processo moroso e dispendioso, pelo que também é um aspeto importante a ter em conta aquando da decisão de implementar um laboratório de análises interno.

A NUTRIVA encontra-se em pleno crescimento. Novos produtos são lançados continuamente, e os clientes que exigem controlo microbiológico por lote de produção encontram-se bastante satisfeitos com os produtos desenvolvidos na empresa, pelo que já têm vindo continuamente a solicitar outros novos produtos. No caso de mais produtos serem lançados, aumenta o volume de análises, o que pode levar a uma diminuição da diferença de gastos entre laboratório interno e externo. Dado que o custo por ensaio praticado pelo laboratório externo é consideravelmente mais elevado na maioria dos parâmetros do que o custo calculado para o laboratório interno, e o aumento do volume de análises a realizar não irá alterar os custos fixos deste último, a existência de um laboratório interno poderá começar a compensar em termos económicos. Na comparação entre os dois laboratórios é importante ter em conta que a empresa externa presta serviços a outras empresas e o volume de análises é enorme. Ou seja, os custos fixos do laboratório estão diluídos nas análises que realizam. O mesmo poderá acontecer no laboratório interno com o aumento progressivo de volume de ensaios. Dada a dificuldade em prever o número de análises, sobretudo em contexto da situação atípica em que nos encontramos, fruto da pandemia COVID-19, torna-se difícil fazer uma avaliação da viabilidade económica deste projeto, a longo prazo. No entanto, a empresa fica já com uma série de documentação e dados importantes, adquiridos e trabalhados pela estagiária, para realizar de forma fundamentada essa análise e decidir quanto à viabilidade do projeto.

3.2. Integração e participação no departamento de I&D

O departamento de I&D da NUTRIVA surgiu em meados de 2018. Com o aumento sucessivo de solicitações de novos produtos por parte do departamento de marketing e pelo departamento comercial houve a necessidade de criar um serviço para este efeito, com os respetivos objetivos, procedimentos de qualidade e responsabilidades delineados. O desenvolvimento de novos produtos é uma das grandes apostas desta empresa, pelo que o

departamento comercial e o departamento de marketing trabalham diariamente no sentido de satisfazer as exigências e necessidades dos seus clientes.

Ao longo do presente Estágio Curricular, a par do estudo de implementação do laboratório de análises interno, foram diariamente realizadas tarefas respeitantes ao departamento de I&D. Desde o início, a estudante foi integrada e participou na rotina de trabalho da fábrica, a nível de processos de desenvolvimento, desde a conceção ou ideia do produto até à sua comercialização, atividades que abrangeram os departamentos de qualidade, de produção e comercial.

3.2.1. Desenvolvimento estruturado de novos produtos

Muitas atividades no setor alimentar estão dedicadas a melhorar produtos e processos já existentes, bem como a desenvolver novos produtos, com a finalidade de satisfazer as preferências e as necessidades do consumidor. O desenvolvimento de novos produtos é um processo que envolve uma série de etapas sequenciais que devem ser planeadas. Este processo inicia-se com uma ideia ou conceito, que é avaliada, desenvolvida e testada, e só depois lançada. À medida que se avança nas etapas do processo de desenvolvimento, a avaliação ou reavaliação do conceito fornece informação acerca do potencial de sucesso, ou não, e permite recuar para fortalecer as bases. Na NUTRIVA, o processo de desenvolvimento de um produto distingue 5 etapas principais, em que cada uma engloba um conjunto de tarefas, como se descreve em seguida.

1. Produto a desenvolver

A ideia para um novo produto, ou reformulação/melhoria de um produto já existente no cardex, pode chegar por solicitação de um cliente ou por iniciativa da própria empresa NUTRIVA. O pedido é normalmente realizado por meio do departamento comercial, podendo também provir do departamento de *marketing*, em formato próprio (ver anexo J).

2. Desenvolvimento

Esta fase inicia-se com a investigação de receitas. São então criadas receitas, procedimentos base que poderão sofrer alterações ao longo do processo. Todas as versões de receitas criadas vão sendo documentadas (ver anexo L). Com a criação de receitas é também definido o embalamento. Verifica-se a necessidade de aquisição de algum

equipamento e, caso seja necessário, inicia-se o processo da procura do mesmo. Esta situação repete-se para as matérias-primas e materiais de embalagem. Os novos materiais são testados e aprovados, caso se enquadrem nas necessidades do produto em desenvolvimento. A aprovação das novas matérias-primas, materiais de embalagem e fornecedores é responsabilidade do departamento de qualidade e segurança alimentar, pelo que é necessário solicitar antecipadamente ao fornecedor a ficha técnica da nova matéria-prima ou do novo material de embalagem, bem como os boletins analíticos (análises físico-químicas, análises microbiológicas, pesquisa de OGM's, entre outros), declaração de origem da matéria-prima, declaração de conformidade legal para matéria-prima de fora da União Europeia, declaração de conformidade e utilização na indústria alimentar, onde se declare que este novo material é fornecido à NUTRIVA, que se destina a ultracongelados e qual a gama de produtos a que se destina (padaria, pastelaria, salgados, croissanteria), declaração da ausência de OGM's, declaração de alergénios, declaração de migração/testes de migração, certificados (exemplos: ISO, BRC, IFS) e licença de exploração. O fornecedor tem ainda de preencher um questionário que será utilizado para o processo de avaliação/seleção de fornecedores, atualmente da responsabilidade do departamento de qualidade e segurança alimentar. Com base nesta informação o departamento de qualidade decide a aprovação ou não aprovação da nova referência.

Inicia-se igualmente, nesta fase, o estudo HACCP ao produto, bem como ao fluxograma do processo. Conduz-se a avaliação e categorização dos perigos e respetivas medidas de controlo a implementar. Criam-se os procedimentos de monitorização dos Pontos de Controlo (PC's) e Pontos Críticos de Controlo (PCC's), se aplicável. A elaboração e aprovação do estudo HACCP é responsabilidade do departamento de qualidade.

3. Testes ao produto

As amostras começam por ser testadas organoleticamente. A prova é realizada habitualmente por um mínimo de três pessoas pertencentes ao quadro interno da empresa (anexo L). Desta prova, poderão surgir situações a melhorar e outras a corrigir. Pode haver necessidade de outro tipo de matérias-primas, alteração da receita ou acerto de ingredientes.

Quando o desenvolvimento do novo produto é solicitado pelo cliente, as amostras são também provadas e aprovadas por este, sendo o *feedback* dado através do departamento comercial. Nesta fase é também preenchido um documento para apuramento de custos do produto final (ver anexo M). O cliente poderá requerer melhorias no produto, a nível organolético, ao nível do embalamento ou mesmo de preço, e nestes casos será necessário

rever a receita a fim de satisfazer as necessidades/exigências do cliente. Sempre que há alterações no produto, revê-se também o apuramento de custos, definindo-se o custo de produção do produto e seguinte proposta de negócio. Assim, a passagem à fase seguinte está condicionada pela apreciação do cliente em relação aos requisitos exigidos para o produto em desenvolvimento. No caso de ser um desenvolvimento por iniciativa da NUTRIVA é necessária a articulação com o departamento de marketing para aprovação do produto final.

4. *Scaling up*

Após a decisão de lançamento do produto, inicia-se a fase de industrialização do mesmo. Nesta etapa podem surgir alterações das características sensoriais do produto. Quando tal acontece, volta-se à etapa anterior para realização de mais testes de forma a corrigir os problemas encontrados. São realizadas análises nutricionais e análises microbiológicas ao produto final e, caso seja necessário, também análises para validação microbiológica, para decisão do prazo máximo de consumo do produto após a sua descongelação/preparação.

Quando o *scaling up* é validado inicia-se a produção da rotulagem do produto e definem-se as informações logísticas. Para tal é criada a ficha de especificações técnicas de produto, onde constam todas as informações do produto: características do produto (ultracongelado pré-cozido, ultracongelado cozido e pronto a consumir, ultracongelado pronto a consumir ou ultracongelado cru), características organoléticas, descrição do produto, fotografia, composição e listagem de ingredientes, condições de utilização/consumo (tempo e temperatura de descongelação, tempo, temperatura e humidade de fermentação, tempo e temperatura de cozedura, e ainda sugestões), o prazo máximo de consumo após a preparação ou descongelação, os alergénios (presentes, vestigiais e ausentes), informações gerais do produto e embalagem (embalagem primária, secundária e paletização), a validade do produto, condições de conservação e de distribuição/transporte, codificação do lote, especificações microbiológicas e químicas, informação nutricional e legislação aplicável (ver anexo N). A aprovação da rotulagem é efetuada pelo departamento de I&D e departamento de qualidade em concertação com o cliente quando se trata de marca própria.

5. Produção e comercialização

Quando todos os aspetos relacionados com o produto estiverem validados é iniciada a produção. É então realizada uma formação aos colaboradores das secções afetas, em que

são explicadas as etapas de produção, montagem e embalamento do novo produto. É construída também a ficha de fabrico com os ingredientes e respetivas quantidades, procedimentos e informações de embalamento (ver anexo O). A cada produção, esta ficha é entregue na respetiva secção para que os colaboradores preencham o lote de cada ingrediente adicionado e dos materiais de embalagem que contactem diretamente com o produto. A ficha inclui ainda campos para preenchimento do número de unidades obtidas, do número de quebras geradas, controlo de peso do produto final, bem como teste de verificação do detetor de metais. É obrigação do responsável do departamento de I&D e do responsável de produção a supervisão e acompanhamento de todo o processo. Por fim, procede-se ao preenchimento do documento de registo do desenvolvimento de novos produtos, onde se resume toda a informação acerca do processo de desenvolvimento do produto (ver anexo P). Cabe à Administração da empresa o início da comercialização do produto.

3.2.2. Atividades desenvolvidas no departamento de I&D

No início do estágio, foi apresentado à estagiária o modo de funcionamento do departamento e a explicação de documentos associados ao desenvolvimento de um novo produto, e a quem deveria ser enviado cada documento. Para tal, foram-lhe disponibilizados um computador e um e-mail, de modo a poder realizar as atividades do departamento, enviar documentação, contactar com outros colaboradores da empresa e com eventuais fornecedores, quando necessário. As atividades realizadas foram sendo corrigidas pelos responsáveis, de modo a assegurar a exatidão dos procedimentos.

As várias atividades desenvolvidas pela estagiária, no departamento de I&D, tiveram por base o processo descrito no ponto 3.2.1. Desde o início, a estagiária acompanhou todos os desenvolvimentos em curso e os que foram surgindo. Após a solicitação chegar, a estagiária acompanhou os dois cozinheiros/pasteleiros deste departamento na discussão de receitas e no desenvolvimento de um procedimento adequado. A partir dos ingredientes e processos utilizados, documentou o desenvolvimento das receitas. A partir daqui foi possível à estagiária efetuar todas as etapas do processo de desenvolvimento, tanto de realização de toda a documentação associada ao processo, como de acompanhamento da produção do novo produto, dentro da área de produção. A par deste acompanhamento, foi necessário organizar a documentação associada a cada processo de desenvolvimento, à medida que foi sendo lançado. Como já foi referido, a NUTRIVA tem certificação IFS *Food*, pelo que anualmente é auditada pelas entidades competentes. Desta forma, foi solicitado à estagiária que fosse também organizando toda a documentação referente a cada lançamento, de

modo a ser possível aceder facilmente a toda a informação sobre cada novo produto desenvolvido. Os anexos J, L, M, N, O e P são os documentos associados ao processo de desenvolvimento de um novo produto, de acordo com o procedimento já descrito. Por motivos de confidencialidade, apenas o anexo N está preenchido, mostrando a ficha de especificações técnicas de um dos produtos desenvolvidos e lançado para o mercado durante o período de estágio. Trata-se de uma “Bola de Berlim de Pistachio com Creme”, um desenvolvimento solicitado por um dos clientes da NUTRIVA.

No decurso do presente Estágio Curricular, foram vários os produtos criados e lançados para o mercado. Alguns processos encontravam-se já em desenvolvimento, mas outros produtos foram solicitados após o início do estágio, tendo sido, desta forma, possível participar em todas as etapas inerentes ao processo. Considerando o número de produtos que já se encontravam em curso, e os desenvolvidos com a participação da estagiária, foram aprovadas e lançadas para o mercado 33 novas referências, ao longo de todo o período de estágio.

3.2.3. Participação no evento TRENDS 2020 – 9ª Edição

No dia 30 de janeiro de 2020, a estudante esteve presente na 9ª Edição do evento TRENDS 2020, organizado pela Portugal Foods, que decorreu no Parque de Ciência e Tecnologia da Maia. Neste evento foram apresentadas as tendências de inovação no setor agroalimentar para 2020. Foi um importante momento de atualização e debate entre profissionais do setor, em prol da aplicação das tendências de inovação no desenvolvimento de novos produtos e/ou serviços por parte da indústria e das entidades do sistema científico e tecnológico nacional. Nesta conferência, uma representante da empresa *New Nutrition Business* apresentou as tendências em alimentação, nutrição e saúde. Destacaram-se 4 megatendências e 10 tendências chave para 2020, identificadas na tabela 15.

O estilo de vida atual tem levado o consumidor a preferir alimentos práticos de consumir, com uma preocupação em aliar o prático ao saudável. Assim, abre-se aqui uma janela de oportunidades para a indústria alimentar desenvolver produtos adequados a este público. Alguns produtos já têm sido lançados no mercado, e novos produtos continuam a surgir. Um exemplo, apresentado na conferência, foi desenvolvido por uma empresa do setor da charcutaria, que decidiu renovar o conceito da carne, desenvolvendo um *snack* à base de carne de peru e frango. Este produto é uma combinação de várias tendências, em que se salienta a origem nacional da carne, o teor em proteína de origem natural da carne, a ausência de lactose e glúten e a não adição de aromas. É um produto com efeito estaladiço,

mas a sua confeção é por secura lenta, pelo que o conteúdo em gorduras não se deverá à fritura do produto, mas sim à gordura da própria carne.

A sustentabilidade é um tópico fulcral a nível global. No contexto da indústria alimentar existem várias formas de conseguir um produto sustentável, seja pela embalagem, pela redução de desperdício na cadeia de produção, pela adoção de práticas agrícolas com recurso a energias renováveis ou agricultura regenerativa.

A fragmentação é outro ponto bastante pertinente no que respeita à alimentação. Com a evolução da tecnologia, a informação espalha-se rápida e globalmente. O consumidor atualmente é bastante informado. Um mesmo produto pode causar reações diferentes consoante a informação a que o consumidor teve acesso. Assim, não sendo possível ter um produto que agrade a todos, torna-se necessário dividir o público em nichos de mercado.

Com a crescente preocupação com a saúde, o consumidor inclui cada vez mais produtos vegetais nas suas refeições, de modo a ingerir naturalmente as vitaminas, proteínas e minerais de que necessita diariamente, razão pela qual se inclui o naturalmente funcional numa das megatendências da atualidade.

Tabela 15. As 4 megatendências e 10 tendências-chave em alimentação, nutrição e saúde para o ano 2020.

Alimentação, nutrição e saúde em 2020	
Megatendências	Tendências-chave
<i>Snackificação</i> - Naturalmente funcional - Fragmentação - Sustentabilidade	- Bem-estar digestivo - Hidratos de carbono bons e maus - À base de plantas - Açúcar - Proteína - Renascimento da gordura - Reimaginar a carne - Origem e autenticidade - Energia 2.0 - Humor

Deste evento há a reter que o consumidor continua crítico e consciente em relação a aspetos de saúde e nutrição, e a escolha dos produtos alimentares vai muito para além do

paladar. As suas escolhas passam pela preocupação com a saúde, sustentabilidade e preservação do meio ambiente e ainda pelos momentos de consumo e conforto emocional. O consumidor procura benefícios para a saúde digestiva, produtos virados para o humor, saúde mental, revolução na indústria da carne em resposta às dietas de base vegetal.

Estas tendências são uma inspiração e orientação para o desenvolvimento de novos produtos e posicionamento da empresa junto ao consumidor. A combinação de várias tendências poderá aumentar a probabilidade de um novo produto ter sucesso, permitindo, assim, aumentar a competitividade no mercado a nível nacional e internacional. Todas estas quatro megatendências se encontram interligadas e estritamente associadas às dez “tendências chave” apresentadas e discutidas no evento (tabela 15).

4. Considerações finais

O Estágio Curricular desenvolvido na empresa NUTRIVA constituiu uma excelente oportunidade para a aquisição de conhecimentos sobre a indústria alimentar e desenvolvimento de competências/aptidões profissionais, em contexto real de trabalho, permitindo a integração numa empresa com considerável dimensão, que trabalha com os maiores *players* do mercado e com clientes internacionais. As tarefas realizadas no departamento de inovação e desenvolvimento de novos produtos permitiram a perceção e o envolvimento na realidade do negócio a nível global, o ganho de conhecimento acerca das necessidades dos clientes e possibilidade de contacto com diversas entidades, fornecedores e clientes. Também permitiu conhecer e participar em todo o processo de desenvolvimento, desde a conceção ou ideia do produto até à sua comercialização, abrangendo a articulação com vários departamentos da empresa, especialmente, qualidade, produção e comercial. O estudo da viabilidade de implementação, nas dependências da fábrica, de um laboratório de análises microbiológicas revestiu-se igualmente de grande importância, exigência e responsabilidade. Permitiu a aplicação de conhecimentos teóricos e práticos da área da microbiologia, e também da parte comercial, de gestão e de recursos humanos, através do contacto e diálogo com várias empresas e potenciais fornecedores, para escolha das melhores opções para o dimensionamento do laboratório. Este estudo potenciou uma visão concreta, detalhada e minuciosa, necessária para avaliação dos pequenos detalhes de um laboratório de análises microbiológicas, mas também uma visão do todo, do seu funcionamento global.

Quer o desenvolvimento de trabalho de forma independente e autónomo, quer o desenvolvimento da capacidade de trabalho em grupo, interagindo com equipas multidisciplinares, com demonstração da capacidade de transmissão/receção de ideias/informações, constituíram fatores que permitiram aperfeiçoar competências, desenvolver capacidades e enriquecer o perfil profissional. Por fim, o presente Estágio Curricular encontrou-se perfeitamente enquadrado e alinhado com os objetivos do Mestrado em Tecnologia e Ciência Alimentar, agregando e integrando diferentes componentes científicas e tecnológicas. Por um lado, a importância da Segurança Alimentar, seguindo a amplamente disseminada estratégia “*from farm to plate*” (do prado ao prato), temática emergente no contexto da Saúde Pública e do cada vez mais difundido conceito de “One Health”, e por outro lado, a aplicação tecnológica na criação, inovação e de desenvolvimento de novos produtos, num claro processo de melhoria continua e satisfação do cliente.

5. Referências bibliográficas

Baylis, C., Uyttendaele, M., Joosten, H. & Davies, A. (2011). *The Enterobacteriaceae and their significance to the food industry*. International Life Sciences Institute (ILSI) Europe Report Series.

Bidaisee, S. & Macpherson, C.N. (2014). Zoonoses and one health: a review of the literature. *Journal of Parasitology Research*. **2014**: 874345.

Biokar Diagnostics. (2016). COMPASS® LISTERIA AGAR. Acedido a 17 de junho de 2020 em: http://www.solabia.com/Produto_278,9/BIOKAR-Diagnostics/COMPASS-LISTERIA-AGAR.html?lang=WW

Biokar Diagnostics. (2016). IRIS SALMONELLA®. Acedido a 17 de junho de 2020 em: http://www.solabia.com/Produto_218,9/BIOKAR-Diagnostics/IRIS-SALMONELLA.html

BS EN 13098:2019. *Workplace exposure — Measurement of airborne microorganisms and microbial compounds — General requirements*. British Standards Institution. United Kingdom.

CAC (Codex Alimentarius Commission). (2003). *Código de práticas internacionais recomendadas – princípios gerais de higiene alimentar*: CAC/RCP 1-1969. Rev. 4-2003. 56 pp. Acedido a 10 janeiro 2020 em: https://www.actionlive.pt/docs/actionalimentar/codex_alimentarius_VersaoPortuguesa_2003.pdf

CAC (Codex Alimentarius Commission). (2007). *Guidelines on the application of general principles of food hygiene to the control of listeria monocytogenes in foods*: CAC/GL 61 – 2007. 28 pp. Acedido a 2 de janeiro de 2020 em: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/guidelines/en/>

Carmona, P., Nabais, P. & Vasconcelos, F.M. (2019). PNCA: evolução histórica até à atualidade. *Riscos e alimentos*. **17**:6-30. Acedido a 17 de junho de 2020 em: <https://www.asae.gov.pt/espaco-publico/publicacoes/riscos-e-alimentos/2019.aspx>

Earle, M., Earle, R. & Anderson, A. (2001). *Food product development*. Woodhead Publishing. 1st Ed. Cambridge.

EFSA (European Food Safety Authority) & ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). (2019). The European Union One Health 2018 Zoonoses Report.

EFSA Journal. **17**: 5926. Acedido a 26 março 2020 em: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5926>

FDA (Food and Drug Administration). (2012). *Bad bug book: Foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins handbook*. 2nd Ed. FDA. United States. Acedido a 5 de abril de 2020 em: <https://www.fda.gov/food/foodborne-pathogens/bad-bug-book-second-edition>

FoodDrinkEurope. (2019). *Data & Trends of the European Food and Drink Industry 2019*. Acedido a 17 de junho de 2020 em: <https://www.fooddrinkeurope.eu/publication/data-trends-of-the-european-food-and-drink-industry-2019/>

FSANZ (Food Standards Australia New Zealand). (2018). *Compendium of Microbiological Criteria for Food*. FSANZ. Acedido a 29 de junho de 2020 em: <https://www.foodstandards.gov.au/publications/Pages/Compendium-of-Microbiological-Criteria-for-Food.aspx>

Fusco, V., Blaiotta, G. & Becker, K. (2018). *Staphylococcal Food Poisoning*. In Grumezescu, A.M. & Holban, A.M. (Eds.), *Food Safety and Preservation: Modern Biological Approaches to Improving Consumer Health*. 1st Ed. Academic Press. Cambridge.

Garcia, S.N., Osburn, B.I., Jay-Russell, M.T. (2020). One Health for food safety, food security, and sustainable food production. *Frontiers in Sustainable Food Systems*. **4**: 1-9.

Gilbert, R.J., de Louvois, J., Donovan, T., Little, C., Nye, K., Ribeiro, C.D., Richards, J., Roberts D. & Bolton, F.J. (2000). Guidelines for the microbiological quality of some ready-to-eat foods sampled at the point of sale. PHLS Advisory Committee for Food and Dairy Products. *Communicable Disease and Public Health*. **3**: 163-167.

Graham, J.P., Leibler, J.H., Price L.B., Otte J.M., Pfeiffer D.U., Tiensin T. & Silbergeld, E.K. (2008). The animal-human interface and infectious disease in industrial food animal production: rethinking biosecurity and biocontainment. *Public Health Reports*. **123**: 282–299.

Haagsma J.A., Polinder, S., Stein, C.E. & Havelaar, A.H. (2013). Systematic review of foodborne burden of disease studies: quality assessment of data and methodology. *International Journal of Food Microbiology*. **166**:34-47.

HHS (U.S. Department of Health and Human Services), CDC (Centers for Disease Control and Prevention) & NIH (National Institutes of Health). (2009). *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*. Chosewood L.C. & Wilson D.E. (Eds.). 5th Ed.

U.S. Government Printing Office. Washington, DC. Acedido a 17 de junho de 2020 em: <https://www.cdc.gov/labs/BMBL.html>

Hocking, A.D. & AIFST (Australian Institute of Food Science and Technology). (2003). *Foodborne microorganisms of public health significance*. 6th Ed. Australian Institute of Food Science and Technology, New South Wales Branch, Food Microbiology Group. Waterloo, N.S.W.

IFS Food (International Featured Standard Food). (2017). *Standards for auditing quality and food safety of food products*. Version 6.1. International Featured Standards (IFS). Berlin.

ISO 4832:2006. *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of coliforms — Colony-count technique*. International Organization for Standardization (ISO). Switzerland.

ISO 4833-1:2013. *Microbiology of the food chain — Horizontal method for the enumeration of microorganisms — Part 1: Colony count at 30 °C by the pour plate technique*. International Organization for Standardization (ISO). Switzerland.

ISO 6579-1:2017. *Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella — Part 1: Detection of Salmonella spp.* International Organization for Standardization (ISO). Switzerland.

ISO 6888-1:1999/AMD 1:2003. *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (Staphylococcus aureus and other species) — Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium — Amendment 1: Inclusion of precision data*. International Organization for Standardization (ISO). Switzerland.

ISO 6888-2:1999/AMD 1:2003. *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (Staphylococcus aureus and other species) — Part 2: Technique using rabbit plasma fibrinogen agar medium — Amendment 1: Inclusion of precision data*. International Organization for Standardization (ISO). Switzerland.

ISO 7218:2007. *Microbiology of food and animal feeding stuffs — General requirements and guidance for microbiological examinations*. International Organization for Standardization (ISO). Switzerland.

ISO 11133:2014. *Microbiology of food, animal feed and water — Preparation, production, storage and performance testing of culture media*. International Organization for Standardization (ISO). Switzerland.

ISO 11290-1:2017. *Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. — Part 1: Detection method*. International Organization for Standardization (ISO). Switzerland.

ISO 15213:2003. *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of sulfite-reducing bacteria growing under anaerobic conditions*. International Organization for Standardization (ISO). Switzerland.

ISO 16649-2:2001. *Microbiology of the food chain — Horizontal method for the enumeration of β -glucuronidase positive *Escherichia coli*, part 2: Colony-count technique at 44 degrees C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide*. International Organization for Standardization (ISO). Switzerland.

ISO 18593:2018. *Microbiology of the food chain — Horizontal methods for surface sampling*. International Organization for Standardization (ISO). Switzerland.

ISO 21527-1:2008. *Microbiology of the food chain — Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds — Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0.95*. International Organization for Standardization (ISO). Switzerland.

ISO 21527-2:2008. *Microbiology of the food chain — Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds — Part 1: Colony count technique in products with water activity less than or equal to 0.95*. International Organization for Standardization (ISO). Switzerland.

ISO 21528-2:2017. *Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae* — Part 2: Colony-count technique*. International Organization for Standardization (ISO). Switzerland.

Jay, J.M., Loessner, M.J. & Golden, D.A. (2005). *Modern food microbiology*. 7th Ed. Springer US. New York.

Lightfoot, N.F. & Maier, E.A. (Eds.) (1998). *Microbiological analysis of food and water: Guidelines for quality assurance*. 1st Ed. Elsevier. Amsterdam.

Loureiro, V. & Querol, A. (1999). The prevalence and control of spoilage yeasts in food and beverages. *Trends in Food Science and Technology*. **10**: 356-365.

Lowry F.D. (1998). *Staphylococcus aureus* infections. *The New England journal of medicine*. **339**: 520-532.

Lund, B. M., & O'Brien, S. J. (2011). The occurrence and prevention of foodborne disease in vulnerable people. *Foodborne Pathogens and Disease*. **8**: 961–973.

Møretrø, T., Heir, E., Nesse, L. L., Vestby, L. K., Langsrud, S. (2012). Control of *Salmonella* in food related environments by chemical disinfection. *Food Research International*. **45**: 532-544.

Mossel, D.A.A., Corry, J.E.L., Struijk, C.B. & Baird, R.M. (1995). *Essentials of the microbiology of foods: a textbook for advanced studies*. John Wiley & Sons. Chichester.

National Research Council (US) Subcommittee on Microbiological Criteria. (1985). *An Evaluation of the Role of Microbiological Criteria for Foods and Food Ingredients*. National Academies Press (US). Washington, DC.

Newell, D. G., Koopmans, M., Verhoef, L., Duizer, E., Aidara-Kane, A., Sprong, H., Opsteegh, M., Langelaar, M., Threlfall, J., Scheutz, F., van der Giessen, J., & Kruse, H. (2010). Food-borne diseases - the challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge. *International Journal of Food Microbiology*. **139**: S3–S15.

NSWFA (New South Wales Food Authority). (2009). *Microbiological quality guide for ready-to-eat foods – A guide to interpreting microbiological results*. NSWFA. New South Wales. Acedido a 24 de dezembro de 2019 em: [http://www.foodauthority.nsw.gov.au/Documents/scienceandtechnical/microbiological_quality_guide_for RTE food.pdf](http://www.foodauthority.nsw.gov.au/Documents/scienceandtechnical/microbiological_quality_guide_for_RTE_food.pdf)

OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development). (2005). *Oslo Manual: guidelines for collecting and interpreting innovation data*. 3rd Ed. OECD Publishing. Paris. Acedido a 17 de junho e 2020 em: <https://doi.org/10.1787/9789264013100-en>

Regulamento (CE) n.º 178/2002 do Parlamento Europeu e do Conselho de 28 de janeiro de 2002 que determina os princípios e normas gerais da legislação alimentar, cria a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos e estabelece procedimentos em matéria de segurança dos géneros alimentícios. *Jornal Oficial nº L 31 de 01/02/2002, p. 1–24*. Acedido a 24 de março de 2020 em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/ALL/?uri=CELEX:32002R0178>

Regulamento (CE) n.º 365/2010 da Comissão de 28 de abril de 2010 que altera o Regulamento (CE) n.º 2073/2005 relativo aos critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios no que diz respeito a *Enterobacteriaceae* no leite pasteurizado e noutros produtos lácteos líquidos pasteurizados e a *Listeria monocytogenes* no sal alimentar. *Jornal Oficial* n.º L 107 de 29/04/2010, p. 9-11. Acedido a 24 de março de 2020 em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32010R0365&from=EN>

Regulamento (CE) n.º 852/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 29 de abril de 2004 relativo à higiene dos géneros alimentícios. *Jornal Oficial* n.º L 139 de 30/04/2004, p. 1. Acedido a 25 de novembro de 2019 em: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2004:139:0001:0054:PT:PDF>

Regulamento (CE) n.º 853/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 29 de abril de 2004, que estabelece regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal. *Jornal Oficial* n.º L 139 de 30/04/2004, p. 55. Acedido a 25 de novembro de 2019 em: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2004R0853:20081028:PT:PDF>

Regulamento (CE) n.º 1086/2011 da Comissão de 27 de outubro de 2011 que altera o anexo II do Regulamento (CE) n.º 2160/2003 do Parlamento Europeu e do Conselho e o anexo I do Regulamento (CE) n.º 2073/2005 da Comissão no que diz respeito a *Salmonella* em carne fresca de aves de capoeira. *Jornal Oficial* n.º L 281 de 28/10/2011, p. 7-11. Acedido a 24 de março de 2020 em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32011R1086&from=IT>

Regulamento (CE) n.º 1129/2011 da Comissão de 11 de novembro de 2011 que altera o anexo II do Regulamento (CE) n.º 1333/2008 do Parlamento Europeu e do Conselho mediante o estabelecimento de uma lista da União de aditivos alimentares. *Jornal Oficial* n.º L 304 de 22/11/2011, p. 18–63. Acedido a 24 de março de 2020 em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/pt/TXT/?uri=CELEX%3A32011R1169>

Regulamento (CE) n.º 1169/2011 do Parlamento Europeu e do Conselho de 25 de outubro de 2011 relativo à prestação de informação aos consumidores sobre os géneros alimentícios, que altera os Regulamentos (CE) n.º 1924/2006 e (CE) n.º 1925/2006 do Parlamento o Europeu e do Conselho e revoga as Directivas 87/250/CEE da Comissão, 90/496/CEE do Conselho, 1999/10/CE da Comissão, 2000/13/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, 2002/67/CE e 2008/5/CE da Comissão e o Regulamento (CE) n.º 608/2004 da

Comissão. *Jornal Oficial* nº L 304 de 22/11/2011, p. 18–63. Acedido a 24 de março de 2020 em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/pt/TXT/?uri=CELEX%3A32011R1169>

Regulamento (CE) n.º 1333/2008 do Parlamento Europeu e do Conselho de 16 de dezembro de 2008 relativo aos aditivos alimentares. *Jornal Oficial* nº L 354 de 31/12/2008, p. 16–33. Acedido a 24 de março de 2020 em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32008R1331&from=EN>

Regulamento (CE) n.º 1441/2007 da Comissão de 5 de dezembro de 2007 que altera o Regulamento (CE) n.º 2073/2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios. *Jornal Oficial* nº L 322 de 07/12/2007, p. 12-29. Acedido a 24 de março de 2020 em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/ALL/?uri=CELEX%3A32007R1441>

Regulamento (CE) n.º 1881/2006 da Comissão de 19 de dezembro de 2006 que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios. *Jornal Oficial* nº L 364 de 20/12/2006, p. 5–24. Acedido a 24 de março de 2020 em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=celex%3A32006R1881>

Regulamento (CE) n.º 2073/2005 da Comissão de 15 de novembro de 2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios. *Jornal Oficial* nº L 338 de 22/12/2005, p. 1-26. Acedido a 25 de novembro de 2019 em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:02005R2073-20060101&from=NL>

Regulamento (UE) n.º 209/2013 da Comissão, de 11 de março de 2013, que altera o Regulamento (CE) n.º 2073/2005 no que diz respeito aos critérios microbiológicos aplicáveis a rebentos e às regras de amostragem de carcaças de aves de capoeira e carne fresca de aves de capoeira. *Jornal Oficial* nº L 68 de 12/03/2013, p. 19-23. Acedido a 19 de janeiro de 2020 em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32013R0209&from=EN>

Reto, M., Mendes, R. e Sol M. (2019). O Plano Nacional de Colheita de Amostras 2013-2018 – seis anos de análise microbiológica. *Riscos e alimentos*. **17**: 31-36. Acedido a 17 de junho de 2020 em: <https://www.asae.gov.pt/espaco-publico/publicacoes/riscos-e-alimentos/2019.aspx>

Saraiva, M., Correia, C.B., Cunha, I.C., Maia, C., Bonito, C.C., Furtado, R. & Calhau, M.A. (2019). *Interpretação de resultados de ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo e em superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar: valores-guia*. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP. Lisboa. Acedido a 17 de junho de 2020 em: <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/5610>

SCE (Sistema Nacional de Certificação Energética e Qualidade do Ar interior nos Edifícios). (2009). Acedido a 14 de junho de 2020 em: <http://www.enviro.pt/index.php/documentos?view=document&id=14>

Swaminathan, B. & Gerner-Smidt, P. (2007). The epidemiology of human listeriosis. *Microbes and Infection*. **9**:1236–1243.

Thibier, M & Vallat, B. (2014). Institutions involved in food safety: World Organisation for Animal Health (OIE). In Y. Motarjemi (Ed.), *Encyclopedia of Food Safety: Food Safety Management*. **4**: 365-368. 1st Ed. Academic Press.

Toranzos, G. A. & McFeters, G. A. (1997). *Detection of indicator microorganisms in environmental freshwaters and drinking waters*. In: Hurst, C. J., Knudsen, G. R., McInerney, M. J., Stetzenbach, L. D. & Walter, M. V. (Eds.), *Manual of Environmental microbiology*. American Society for Microbiology Press. Washington, D.C.

Tournas, V., Stack, M.E., Mislivec, P.B., Koch, H.A. & Bandler, R. (2001). *Yeasts, moulds and mycotoxins*. In *Bacteriological Analytical Manual* online. 8th Ed, Revision A. Acedido a 02 de abril de 2020 em: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-yeasts-molds-and-mycotoxins>

Viegas, S. (2014). *Segurança alimentar: guia de boas práticas do consumidor*. 1^a Ed. INSA (Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge). Lisboa. Acedido a 17 de junho de 2020 em: <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/2371>

WHO (World Health Organization). (2004). *Laboratory Biosafety Manual*. 3rd Ed. WHO. Geneva. Acedido a 17 de junho de 2020 em: https://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/WHO_CDS_CSR_LYO_2004_11/en/

WHO (World Health Organization). (2015). *WHO's first ever global estimates of foodborne diseases find children under 5 account for almost one third of deaths*. Acedido a 14 de junho de 2020 em: <https://www.who.int/en/news-room/detail/03-12-2015-who-s-first-ever-global-estimates-of-foodborne-diseases-find-children-under-5-account-for-almost-one-third-of-deaths>

WHO (World Health Organization). (2019). *Food safety*. Acedido a 27 de novembro 2019 em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>

Willey, J.M., Sherwood, L.M. & Woolverton, C.J. (2008). *Prescott, Harley and Klein's Microbiology*. 7th Ed. McGraw Hill. Boston.

Zhu, Q., Gooneratne, R. & Hussain, M.A. (2017). *Listeria monocytogenes* in fresh produce: outbreaks, prevalence and contamination levels. *Foods*. **6**: 21.

6. Anexos

Anexo A - Descrição dos custos respetivos a cada ensaio microbiológico a amostras alimentares.

Tabela A.1. Descrição dos custos respetivos a cada ensaio microbiológico a amostras alimentares.

Ensaio ^a	Compostos ^b	Função ^c	Instruções de preparação ^d	Quantidade por placa ^e	Nº de diluições	Duplicado	Controlo negativo	Número total de placas por ensaio	Quantidade de compostos ^b por ensaio ^f	Custo em consumíveis por ensaio (€)		Custo total ^h (€)
										Compostos ^b	Descartáveis ^g	
Vários	BPW	Diluyente ⁱ	20 g/L	-	-	-	-	-	2,52 g ^j	0,10	0,14	0,24
Contagem de microrganismos a 30 °C	PCA	Incorporação	20,5 g/L	0,41 g	4	Sim	Sim	9	3,69 g	0,18	0,53	0,71
Contagem de bolores e leveduras	DRBC	Espalhamento	30 g/L	0,60 g	3	Sim	Sim	7	4,20 g	0,50	0,60	1,10
Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	VRBG	Incorporação	35,9 g/L	0,72 g	2	Sim	Sim	5	3,59 g	0,24	0,30	3,93
	NA	Repicagem	20 g/L	0,40 g	-	Não	Não	5	2,00 g	0,16	0,30	
	Teste	Confirmação	-	-	-	Não	Não	-	5 uni.	2,50	0,10	
	OF glucose	Confirmação	21,38 g/L	0,43 g	-	Não	Não	5 ^k	2,14 g	0,24	0,10	
Contagem de coliformes	VRBL	Incorporação	38,5 g/L	0,77 g	2	Sim	Sim	5	3,85 g	0,21	0,30	1,22
	BGLBB	Confirmação	40 g/L	0,80 g	-	Não	Não	5 ^k	4,00 g	0,62	0,10	
Contagem de <i>Escherichia coli</i>	TBX	Incorporação	30,6 g/L	0,61 g	1	Sim	Sim	3	1,84 g	0,34	0,18	0,52
Contagem de bactérias sulfito-redutoras	ISA	Incorporação	42 g/L	0,84 g	3	Sim	Sim	7	5,88 g	0,46	0,42	0,87

Tabela A.1. Descrição dos custos respetivos a cada ensaio microbiológico a amostras alimentares. (Continuação)

Ensaio ^a	Compostos ^b	Função ^c	Instruções de preparação ^d	Quantidade por placa ^e	Nº de diluições	Duplicado	Controlo negativo	Número total de placas por ensaio	Quantidade de compostos ^b por ensaio ^f	Custo em consumíveis por ensaio (€)		Custo total ^h (€)
										Compostos ^b	Descartáveis ^g	
Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	BP	Incorporação	54,9 g/L	1,10 g	2	Sim	Sim	5	5,49 g	0,51	0,30	9,00
	RPF	Suplemento	2 cpm/L	0,04 cpm					0,20 cpm	8,20		
Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	Diluyente	Enriquecimento	55 g/L	-	-	-	-	-	12,38 g	1,01	0,09	4,66
	Suplemento para diluyente	Suplemento	10 mL/L	-	-	-	-	-	2,25 mL	0,48		
	Placa pronta	Espalhamento	-	-	1	Sim	Não	2	2 uni.	3,00	0,07	
	Placa pronta	Confirmação L. mono	-	-	-	Não	Não	1	1 uni.	2,94	0,10	3,89
	Placa pronta	Confirmação L. spp	-	-	-	Não	Não	1	1 uni.	0,75	0,10	
Pesquisa de <i>Salmonella</i>	Diluyente	Enriquecimento	20 g/L	-	-	-	-	-	4,5 g	0,19	0,09	2,86
	Suplemento para diluyente	Suplemento	1cpm/225 mL diluyente	-	-	-	-	-	1 cpm	0,45		
	Salmonella agar	Espalhamento	60,7 g/L	1,21 g	1	Sim	Não	2	2,43 g	1,94	0,19	
	Teste	Confirmação	-	-	-	Não	Não	-	1 uni.	3,52	0,10	3,62

Notas da tabela A.1:

- a. Os ensaios descritos seguem as norma/métodos apresentados na tabela A.2.
- b. O termo “compostos” inclui diluentes, meios desidratados, meios prontos em placa, suplementos para meios e testes de confirmação. Os nomes completos dos compostos encontram-se descritos na tabela A.2. O custo de cada composto está discriminado no ponto 3.1.3.5.2. deste relatório.
- c. A função diz respeito à utilidade do composto em cada passo do respetivo método. A preparação da suspensão-mãe e respetivas diluições corresponde à função diluente, a técnica de inoculação poderá ser por espalhamento ou incorporação. Em alguns casos poderá ser necessário fazer repicagem de colónias para testes de confirmação de colónias. Nos ensaios de pesquisa é necessário um primeiro passo de enriquecimento, substituindo a utilização da suspensão-mãe e respetivas diluições (diluente). Alguns meios necessitam de adição de suplemento, pelo que também está contemplada esta função.
- d. Os valores apresentados para a concentração dos compostos foram extraídos das respetivas fichas técnicas do fabricante, de acordo com as instruções de preparação.
- e. A quantidade de reagentes (g) ou quantidade de comprimido (cpm) foram calculadas por unidade de placa de cultura, considerando um volume de 20 mL de meio pronto por placa/tubo.
- f. A quantidade de compostos por ensaio foi calculada tendo em conta o número de diluições, a existência de duplicados e de controlos negativos.
- g. Consideram-se materiais descartáveis: placas de cultura, espalhadores, pontas de micropipetas, sacos de *stomaker* e ansas. O custo do material está discriminado no ponto 3.1.3.5.1. deste relatório.
- h. O custo total não inclui a parcela associada ao diluente BPW (no caso das contagens). O diluente é preparado por amostra. Assim, a parcela do diluente BPW foi tida em conta no custo da análise por amostra.
- i. Diluente utilizado para os ensaios de contagem. Este diluente será para realizar a suspensão mãe e as respetivas diluições. Nos ensaios de pesquisa de *Listeria* e de *Salmonella* utilizam-se diluentes específicos.
- j. No caso do diluente BPW teve-se em conta o volume total necessário para a preparação da suspensão-mãe (90 mL) e 4 diluições (4*9 mL=36 mL).
- k. O teste de confirmação é realizado em tubos de vidro.

Uni. Unidades

Cpm. Comprimido. Este termo designa os suplementos que vêm na forma de comprimido.

Tabela A.2. Termos abreviados para compostos usados na tabela A.1 e respetivas normas e métodos.

Ensaio	Nome abreviado	Nome completo	Método/Norma
Vários	BPW	Buffered Peptone Water	ISO 6887-1:2017
Contagem de microrganismos a 30 °C	PCA	Plate Count Agar	ISO 4833-1:2013
Contagem de bolores e leveduras	DRBC	Dichloran-Rose Bengal Chloramphenicol Agar	ISO 21527-1:2008
Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	VRBG	Violet Red Bile Glucose Agar	ISO 21528-2:2017
	NA	Nutrient Agar	
	Teste	(Confirmação) Oxidase test	
	OF glucose	OF glucose	
Contagem de coliformes	VRBL	Violet Red Bile Lactose Agar	ISO 4832:2006
	BGLBB	Brilliant Green Lactose Bile Broth	
Contagem de <i>Escherichia coli</i>	TBX	Tryptone Bile X-Glucuronide Agar	ISO 16649-2:2001
Contagem de bactérias sulfito-redutoras	ISA	Iron Sulfite Agar	ISO 15213:2003
Contagem de <i>Staphylococcus coagulase</i> positiva	BP	Baird-Parker Agar	ISO 6888-2:1999/Amd 1:2003
	RPF	Rabbit Plasma Fibrinogen supplement	
Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	Diluyente	Half Fraser Broth	Compass® <i>Listeria</i>
	Suplemento para diluyente	Sterile 5% solution Ferric Ammonium Citrate	
	Placa pronta	COMPASS® <i>Listeria</i> Agar	
	Placa pronta	CONFIRM' <i>L.mono</i>	
	Placa pronta	PALCAM Agar	
Pesquisa de <i>Salmonella</i>	Diluyente	IRIS <i>Salmonella</i> Enrichment	IRIS <i>Salmonella</i> ®
	Suplemento para diluyente	IRIS <i>Salmonella</i> ® supplement	
	<i>Salmonella</i> agar	IRIS <i>Salmonella</i> ® Agar	
	Teste	Latex agglutination test CONFIRM' <i>Salmonella</i>	

Anexo B - Descrição dos custos respetivos a cada ensaio microbiológico a superfícies.

Tabela B.1. Descrição dos custos respetivos a cada ensaio microbiológico a superfícies.

Ensaio ^a	Compostos ^b	Função ^c	Instruções de preparação ^d	Quantidade por placa ^e	Nº de diluições	Duplicado	Controlo negativo	Número total de placas por ensaio	Quantidade de compostos ^b por ensaio ^f	Custo em consumíveis por ensaio (€)		Custo total ^h (€)
										Compostos ^b	Descartáveis ^g	
Contagem de microrganismos a 30 °C	PCA	Incorporação	20,5 g/L	0,41 g	1	Sim	Sim	3	1,23 g	0,06	0,19	0,25
Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	VRBG	Incorporação	35,9 g/L	0,72 g	1	Sim	Sim	3	2,15 g	0,15	0,19	3,73
	NA	Repicagem	20 g/L	0,40 g	-	Não	Não	5	2,00 g	0,16	0,30	
	Teste	Confirmação	-	-	-	Não	Não	-	5 uni.	2,50	0,10	
	OF glucose	Confirmação	21,38 g/L	0,43 g	-	Não	Não	5 ⁱ	2,14 g	0,24	0,10	
Contagem de coliformes	VRBL	Incorporação	38,5 g/L	0,77 g	1	Sim	Sim	3	2,31 g	0,12	0,19	1,03
	BGLBB	Confirmação	40 g/L	0,8 g	-	Não	Não	5 ⁱ	4,00 g	0,62	0,10	
Contagem de <i>Escherichia coli</i>	TBX	Incorporação	30,6 g/L	0,61 g	1	Sim	Sim	3	1,84 g	0,34	0,19	0,52
Contagem de <i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	BP	Incorporação	54,9 g/L	1,10 g	1	Sim	Sim	3	3,29 g	0,30	0,19	5,41
	RPF	Suplemento	2 cpm/L	0,04 cpm					0,12 cpm	4,92		

Notas da tabela B.1:

a. Os ensaios descritos seguem as normas apresentadas na tabela B.2.

- b.** O termo “compostos” inclui os meios desidratados, suplementos para meios e testes de confirmação. Os nomes completos dos compostos encontram-se descritos na tabela B.2. O custo de cada composto está discriminado no ponto 3.1.3.5.2. deste relatório.
- c.** A função diz respeito à utilidade do composto em cada passo do respetivo método. A técnica de inoculação é por incorporação. Em alguns casos poderá ser necessário fazer repicagem de colónias para testes de confirmação de colónias. Alguns meios necessitam de adição de suplemento, pelo que também está contemplada esta função.
- d.** Os valores apresentados para a concentração dos compostos, foram extraídos das respetivas fichas técnicas do fabricante, de acordo com as instruções de preparação.
- e.** A quantidade de reagentes (g) ou quantidade de comprimido (cpm) foram calculadas por unidade de placa de cultura, considerando um volume de 20 mL de meio pronto por placa/tubo.
- f.** A quantidade de compostos por ensaio foi calculada tendo em conta o número de diluições, a existência de duplicados e de controlos negativos.
- g.** Consideram-se materiais descartáveis: placas de cultura, espalhadores, pontas de micropipetas e ansas. O custo do material está discriminado no ponto 3.1.3.5.1. deste relatório.
- h.** O custo total não inclui a zaragatoa com 10 mL de meio neutralizador necessária para fazer a recolha da amostra. Usa-se uma zaragatoa por amostra. Assim, o custo da zaragatoa foi tido em conta no custo da análise por amostra.
- i.** O teste de confirmação é realizado em tubos de vidro.

Uni. Unidades

Cpm. Comprimido. Este termo designa os suplementos que vêm na forma de comprimido.

Tabela B.2. Termos abreviados para compostos usados na tabela B.1 e respetivas normas e métodos.

Ensaio	Nome abreviado	Nome completo	Método/Norma
Contagem de microrganismos a 30 °C	PCA	Plate Count Agar	ISO 18593:2018; ISO 4833-1:2013
Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	VRBG	Violet Red Bile Glucose Agar	ISO 18593:2018; ISO 21528-2:2017
	NA	Nutrient Agar	
	Teste	(Confirmação) Oxidase test	
	OF glucose	OF glucose	
Contagem de coliformes	VRBL	Violet Red Bile Lactose Agar	ISO 18593:2018; ISO 4832:2006
	BGLBB	Brilliant Green Lactose Bile Broth	
Contagem de <i>Escherichia coli</i>	TBX	Tryptone Bile X-Glucuronide Agar	ISO 18593:2018; ISO 16649-2:2001
Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	BP	Baird-Parker Agar	ISO 18593:2018; ISO 6888-2:1999/Amd 1:2003
	RPF	Rabbit Plasma Fibrinogen supplement	

Anexo C - Descrição dos custos respetivos a cada ensaio microbiológico ao ar.

Tabela C.1. Descrição dos custos respetivos a cada ensaio microbiológico ao ar.

Ensaio ^a	Compostos ^b	Função ^c	Instruções de preparação ^d	Quantidade por placa ^e	Nº de diluições	Duplicado	Controlo negativo	Número total de placas por ensaio	Quantidade de compostos ^b por ensaio ^f	Custo em consumíveis por ensaio (€)		Custo total (€)
										Compostos ^b	Descartáveis ^g	
Contagem de bactérias	PCA	Exposição	20,5 g/L	0,41 g	1	Sim	Sim	3	1,23 g	0,10	0,18	0,28
Contagem de fungos	ME agar	Exposição	50 g/L	1,00 g	1	Sim	Sim	3	3,00 g	0,23	0,18	0,92
	Ácido láctico	Suplemento	20 mL/L	0,40 mL					1,20 mL	0,50		

Notas da tabela C.1:

- a.** Os ensaios descritos seguem as normas apresentadas na tabela C.2.
- b.** O termo “compostos” refere-se aos meios desidratados e suplementos. Os nomes completos dos compostos encontram-se descritos na tabela C.2. O custo de cada composto está discriminado no ponto 3.1.3.5.2. deste relatório.
- c.** A função diz respeito à utilidade do composto em cada passo do respetivo método. Para análise ao ar, a amostragem será feita por exposição da placa ao ar. Alguns meios necessitam de adição de suplemento, pelo que também está contemplada esta função.
- d.** Os valores apresentados para a concentração dos compostos, foram extraídos das respetivas fichas técnicas do fabricante, de acordo com as instruções de preparação.
- e.** A quantidade de reagentes (g) ou quantidade de comprimido (cpm) foram calculadas por unidade de placa de cultura, considerando um volume de 20 mL de meio pronto por placa/tubo.
- f.** A quantidade de compostos por ensaio foi calculada tendo em conta o número de diluições, a existência de duplicados e de controlos negativos.
- g.** Consideram-se materiais descartáveis: placas de cultura. O custo do material está discriminado no ponto 3.1.3.5.1. deste relatório.

Tabela C.2. Termos abreviados para compostos usados na tabela C.1 e respetivas normas e métodos.

Ensaio	Nome abreviado	Nome completo	Método/Norma
Contagem de bactérias	PCA	Plate Count Agar	BS EN 13098:2019
Contagem de fungos	ME agar	Malt Extract Agar	BS EN 13098:2019

Anexo D - Custos pormenorizados de análises microbiológicas exigidas para controlo de produto final.

Tabela D. Custos pormenorizados de análises microbiológicas exigidas para controlo de produto final.

Produto final ¹	Ensaio	Custo por ensaio (€)	Custo por amostra (€)	Descrição das análises a produto final	Número total de amostras por mês	Custo total de análises por mês (€)	Custo total de análises por ano (€)
Referência 1 (análise completa)	Diluyente BPW	0,24	25,11	Esta referência é produzida nos dias úteis da semana. As análises microbiológicas ao produto final são realizadas por lote de produção. De cada lote retiram-se 5 amostras, das quais 1 é para análise completa e 4 são para análises parciais. Em cada mês são analisados 22 lotes deste produto.	22	552,39	6 628,73
	Contagem de microrganismos a 30°C	0,71					
	Contagem de bolores e leveduras	1,10					
	Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	3,93					
	Contagem de coliformes	1,22					
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	0,52					
	Contagem de bactérias sulfito-redutoras	0,87					
	Contagem de <i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	9,00					
	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	4,66					
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	2,86					
Referência 1 (análise parcial)	Diluyente BPW	0,24	8,27		88	727,48	8 729,79
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	0,52					
	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	4,66					
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	2,86					

Tabela D. Custos pormenorizados de análises microbiológicas exigidas para controlo de produto final. (Continuação)

Produto final ¹	Ensaio	Custo por ensaio (€)	Custo por amostra (€)	Descrição das análises a produto final	Número total de amostras por mês	Custo total de análises por mês (€)	Custo total de análises por ano (€)
Referências 2, 3 e 4 (análise completa)	Diluyente BPW	0,24	25,11	Estas 3 referências são produzidas cerca de 2 vezes por mês. As análises microbiológicas ao produto final são realizadas por lote de produção. De cada lote retiram-se 5 amostras, das quais 1 é para análise completa e 4 são para análises parciais. Em cada mês são analisados 2 lotes de cada produto.	6	150,65	1 807,84
	Contagem de microrganismos a 30°C	0,71					
	Contagem de bolores e leveduras	1,10					
	Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	3,93					
	Contagem de coliformes	1,22					
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	0,52					
	Contagem de bactérias sulfito-redutoras	0,87					
	Contagem de <i>Staphylococcus coagulase</i> positiva	9,00					
	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	4,66					
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	2,86					
Referências 2, 3 e 4 (análise parcial)	Diluyente BPW	0,24	8,27		24	198,40	2 380,85
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	0,52					
	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	4,66					
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	2,86					
Referência 5	Diluyente BPW	0,24	11,68	Esta referência é produzida cerca de 3 vezes por mês. As análises microbiológicas ao produto final são realizadas por lote de produção.	3	35,05	420,63
	Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	3,93					
	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	4,66					
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	2,86					

Tabela D. Custos pormenorizados de análises microbiológicas exigidas para controlo de produto final. (Continuação)

Produto final ¹	Ensaio	Custo por ensaio (€)	Custo por amostra (€)	Descrição das análises a produto final	Número total de amostras por mês	Custo total de análises por mês (€)	Custo total de análises por ano (€)
Referências 6, 7, 8 e 9	Diluyente BPW	0,24	12,40	Cada referência é produzida cerca de 4 vezes por mês. As análises microbiológicas ao produto final são realizadas por lote de produção, em triplicado. Por mês são analisados 4 lotes de cada produto.	48	595,00	7 139,95
	Contagem de microrganismos a 30°C	0,71					
	Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	3,93					
	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	4,66					
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	2,86					

¹ O produto final está apresentado por referência numérica por motivos de confidencialidade.

Anexo E - Custos pormenorizados de análises microbiológicas de acordo com o Plano de Controlo Analítico.

Tabela E. Custos pormenorizados de análises microbiológicas de acordo com o Plano de Controlo Analítico.

Tipo de amostra	Ensaio	Custo por ensaio (€)	Custo por amostra (€)	Descrição de amostras para controlo anual	Número total de amostras para controlo anual	Custo total de análises por ano (€)
Produtos de croissanteria crua, pastelaria crua e pré-cozida	Diluyente BPW	0,24	17,98	2 produtos de pastelaria crua, 3 produtos de pastelaria pré-cozida, 2 produtos de croissanteria sem cremes, 1 produto de croissanteria com creme	8	143,84
	Contagem de microrganismos a 30°C	0,71				
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	0,52				
	Contagem de <i>Staphylococcus coagulase</i> positiva	9,00				
	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	4,66				
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	2,86				
Produtos de salgados crus	Diluyente BPW	0,24	8,27	1 produto (preparado de carne)	1	8,27
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	0,52				
	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	4,66				
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	2,86				
Produtos de croissanteria crua, salgados crus com recheios de carne/peixe	Diluyente BPW	0,24	17,27	2 produtos de salgados em massa com recheios de carne ou peixe (cru), 3 produtos de croissanteria crus com recheios de carne	5	86,34
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	0,52				
	Contagem de <i>Staphylococcus coagulase</i> positiva	9,00				
	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	4,66				
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	2,86				

Tabela E. Custos pormenorizados de análises microbiológicas de acordo com o Plano de Controlo Analítico. (Continuação)

Tipo de amostra	Ensaio	Custo por ensaio (€)	Custo por amostra (€)	Descrição de amostras para controlo anual	Número total de amostras para controlo anual	Custo total de análises por ano (€)
Produtos de padaria pré-cozida com recheio (carne ou peixe) e sem recheio	Diluyente BPW	0,24	24,40	1 produto de padaria pré-cozida com recheio e 10 produtos de padaria pré-cozida sem recheios	11	268,37
	Contagem de bolores e leveduras	1,10				
	Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	3,93				
	Contagem de coliformes	1,22				
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	0,52				
	Contagem de bactérias sulfito-redutoras	0,87				
	Contagem de <i>Staphylococcus coagulase</i> positiva	9,00				
	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	4,66				
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	2,86				
Produtos prontos a consumir de pastelaria cozida, sobremesas, gelados e salgados	Diluyente BPW	0,24	25,11	38 produtos de sobremesas, 18 gelados, 12 produtos de pastelaria, 2 produtos de salgados, 1 produto de salgados confeccionado e pronto a regenerar	71	1 782,73
	Contagem de microrganismos a 30°C	0,71				
	Contagem de bolores e leveduras	1,10				
	Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	3,93				
	Contagem de coliformes	1,22				
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	0,52				
	Contagem de bactérias sulfito-redutoras	0,87				
	Contagem de <i>Staphylococcus coagulase</i> positiva	9,00				
	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	4,66				
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	2,86				

Tabela E. Custos pormenorizados de análises microbiológicas de acordo com o Plano de Controlo Analítico. (Continuação)

Tipo de amostra	Ensaio	Custo por ensaio (€)	Custo por amostra (€)	Descrição de amostras para controlo anual	Número total de amostras para controlo anual	Custo total de análises por ano (€)
Ar	Contagem de bactérias	0,28	1,19	6 amostras	6	7,16
	Contagem de fungos	0,92				
Superfícies (em contacto direto com alimentos)	Zaragatoa	0,44	7,40	8 amostras	8	59,21
	Contagem de coliformes	1,03				
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	0,52				
	Contagem de <i>Staphylococcus coagulase</i> positiva	5,41				
Superfícies (fardamento)	Zaragatoa	0,44	7,40	40 amostras	40	296,07
	Contagem de coliformes	1,03				
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	0,52				
	Contagem de <i>Staphylococcus coagulase</i> positiva	5,41				
Superfícies (manipuladores com ou sem luvas)	Zaragatoa	0,44	4,41	39 amostras	39	172,03
	Contagem de microrganismos a 30°C	0,25				
	Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	3,73				
Validação de matérias-primas	Diluyente BPW	0,24	17,98	3 amostras	3	53,94
	Contagem de microrganismos a 30°C	0,71				
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	0,52				
	Contagem de <i>Staphylococcus coagulase</i> positiva	9,00				
	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	4,66				
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	2,86				

Tabela E. Custos pormenorizados de análises microbiológicas de acordo com o Plano de Controlo Analítico. (Continuação)

Tipo de amostra	Ensaio	Custo por ensaio (€)	Custo por amostra (€)	Descrição de amostras para controlo anual	Número total de amostras para controlo anual	Custo total de análises por ano (€)
Validação do material de embalagem	Zaragatoa	0,44	6,62	4 amostras	4	26,48
	Contagem de microrganismos a 30°C	0,25				
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	0,52				
	Contagem de <i>Staphylococcus coagulase</i> positiva	5,41				

Anexo F - Custos pormenorizados de análises microbiológicas no desenvolvimento de novos produtos em 2019.

Tabela F. Custos pormenorizados de análises microbiológicas no desenvolvimento de novos produtos em 2019.

Tipo de amostra	Ensaio	Custo por ensaio (€)	Custo por amostra (€)	Descrição de amostras	Número total de amostras por ano	Custo total de análises por ano (€)
Produtos prontos a consumir de pastelaria cozida, sobremesas, gelados e salgados	Diluyente BPW	0,24	25,11	Para cada novo produto lançado são realizadas 5 análises, 1 para análise ao produto final e 4 para determinação da validade em refrigerado. Em 2019 foram lançados para o mercado 52 novas referências.	260	6 528,29
	Contagem de microrganismos a 30°C	0,71				
	Contagem de bolores e leveduras	1,10				
	Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	3,93				
	Contagem de coliformes	1,22				
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	0,52				
	Contagem de bactérias sulfito-redutoras	0,87				
	Contagem de <i>Staphylococcus coagulase</i> positiva	9,00				
	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	4,66				
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	2,86				

Anexo G - Custos pormenorizados de análises microbiológicas exigidas para controlo de produto final, com os preços praticados pelo laboratório externo.

Tabela G. Custos pormenorizados de análises microbiológicas exigidas para controlo de produto final, com os preços praticados pelo laboratório externo.

Produto final ¹	Ensaio	Custo por ensaio (€)	Custo por amostra (€)	Descrição das análises a produto final	Número total de amostras por mês	Custo total de análises por mês (€)	Custo total de análises por ano (€)
Referência 1 (análise completa)	Contagem de microrganismos a 30°C	3,00	36,65	Esta referência é produzida nos dias úteis da semana. As análises microbiológicas ao produto final são realizadas por lote de produção. De cada lote retiram-se 5 amostras, das quais 1 é para análise completa e 4 são para análises parciais. Por mês são analisados 22 lotes deste produto.	22	806,30	9 675,60
	Contagem de bolores e leveduras	5,95					
	Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	3,00					
	Contagem de coliformes	3,00					
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	3,00					
	Contagem de bactérias sulfito-redutoras	4,40					
	Contagem de <i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	3,00					
	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	6,40					
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	4,90					
Referência 1 (análise parcial)	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	3,00	14,30		88	1258,40	15 100,80
	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	6,40					
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	4,90					

Tabela G. Custos pormenorizados de análises microbiológicas exigidas para controlo de produto final, com os preços praticados pelo laboratório externo. (Continuação)

Produto final ¹	Ensaio	Custo por ensaio (€)	Custo por amostra (€)	Descrição das análises a produto final	Número total de amostras por mês	Custo total de análises por mês (€)	Custo total de análises por ano (€)				
Referências 2, 3 e 4 (análise completa)	Contagem de microrganismos a 30°C	3,00	36,65	Estas 3 referências são produzidas cerca de 2 vezes por mês. As análises microbiológicas ao produto final são realizadas por lote de produção. De cada lote retiram-se 5 amostras, das quais 1 é para análise completa e 4 são para análises parciais. Por mês são analisados 2 lotes de cada produto.	6	219,90	2 638,80				
	Contagem de bolores e leveduras	5,95									
	Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	3,00									
	Contagem de coliformes	3,00									
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	3,00									
	Contagem de bactérias sulfito-redutoras	4,40									
	Contagem de <i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	3,00									
	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	6,40									
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	4,90									
Referências 2, 3 e 4 (análise parcial)	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	3,00	14,30	Estas 3 referências são produzidas cerca de 2 vezes por mês. As análises microbiológicas ao produto final são realizadas por lote de produção. De cada lote retiram-se 5 amostras, das quais 1 é para análise completa e 4 são para análises parciais. Por mês são analisados 2 lotes de cada produto.	24	343,20	4 118,40				
	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	6,40									
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	4,90									
	Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	3,00									
	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	6,40									
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	4,90									
Referência 5	Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	3,00	11,68					Esta referência é produzida cerca de 3 vezes por mês. As análises microbiológicas ao produto final são realizadas por lote de produção.	3	42,90	514,80
	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	6,40									
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	4,90									

Tabela G. Custos pormenorizados de análises microbiológicas exigidas para controlo de produto final, com os preços praticados pelo laboratório externo. (Continuação)

Produto final ¹	Ensaio	Custo por ensaio (€)	Custo por amostra (€)	Descrição das análises a produto final	Número total de amostras por mês	Custo total de análises por mês (€)	Custo total de análises por ano (€)
Referências 6, 7, 8 e 9	Contagem de microrganismos a 30°C	3,00	17,30	Cada referência é produzida cerca de 4 vezes por mês. As análises microbiológicas ao produto final são realizadas por lote de produção, em triplicado. Por mês são analisados 4 lotes de cada produto.	48	830,40	9 964,80
	Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	3,00					
	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	6,40					
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	4,90					

¹ O produto final está apresentado por referência numérica por motivos de confidencialidade.

Anexo H - Custos pormenorizados de análises microbiológicas de acordo com o Plano de Controlo Analítico, com os preços praticados pelo laboratório externo.

Tabela H. Custos pormenorizados de análises microbiológicas de acordo com o Plano de Controlo Analítico, com os preços praticados pelo laboratório externo.

Tipo de amostra	Ensaio	Custo por ensaio (€)	Custo por amostra (€)	Descrição de amostras para controlo anual	Número total de amostras para controlo anual	Custo total de análises por ano (€)
Produtos de croissanteria crua, pastelaria crua e pré-cozida	Contagem de microrganismos a 30°C	3,00	20,30	2 produtos de pastelaria crua, 3 produtos de pastelaria pré-cozida, 2 produtos de croissanteria sem cremes, 1 produto de croissanteria com creme	8	162,40
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	3,00				
	Contagem de <i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	3,00				
	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	6,40				
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	4,90				
Produtos de salgados crus	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	3,00	14,30	1 produto (preparado de carne)	1	14,30
	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	6,40				
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	4,90				
Produtos de croissanteria crua, salgados crus com recheios de carne/peixe	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	3,00	17,30	2 produtos de salgados em massa com recheios de carne ou peixe (cru), 3 produtos de croissanteria crus com recheios de carne	5	86,50
	Contagem de <i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	3,00				
	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	6,40				
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	4,90				

Tabela H. Custos pormenorizados de análises microbiológicas de acordo com o Plano de Controlo Analítico, com os preços praticados pelo laboratório externo. (Continuação)

Tipo de amostra	Ensaio	Custo por ensaio (€)	Custo por amostra (€)	Descrição de amostras para controlo anual	Número total de amostras para controlo anual	Custo total de análises por ano (€)
Produtos de padaria pré-cozida com recheio (carne ou peixe) e sem recheio	Contagem de bolores e leveduras	5,95	33,65	1 produto de padaria pré-cozida com recheio e 10 produtos de padaria pré-cozida sem recheios	11	370,15
	Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	3,00				
	Contagem de coliformes	3,00				
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	3,00				
	Contagem de bactérias sulfito-redutoras	4,40				
	Contagem de <i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	3,00				
	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	6,40				
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	4,90				
Produtos prontos a consumir de pastelaria cozida, sobremesas, gelados e salgados	Contagem de microrganismos a 30°C	3,00	36,65	38 produtos de sobremesas, 18 gelados, 12 produtos de pastelaria, 2 produtos de salgados, 1 produto de salgados confeccionado e pronto a regenerar	71	2 602,15
	Contagem de bolores e leveduras	5,95				
	Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	3,00				
	Contagem de coliformes	3,00				
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	3,00				
	Contagem de bactérias sulfito-redutoras	4,40				
	Contagem de <i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	3,00				
	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	6,40				
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	4,90				

Tabela H. Custos pormenorizados de análises microbiológicas de acordo com o Plano de Controlo Analítico, com os preços praticados pelo laboratório externo. (Continuação)

Tipo de amostra	Ensaio	Custo por ensaio (€)	Custo por amostra (€)	Descrição de amostras para controlo anual	Número total de amostras para controlo anual	Custo total de análises por ano (€)
Ar	Contagem de bactérias	3,00	8,95	6 amostras	6	53,70
	Contagem de fungos	5,95				
Superfícies (em contacto direto com alimentos)	Contagem de coliformes	2,75	8,50	8 amostras	8	68,00
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	2,75				
	Contagem de <i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	3,00				
Superfícies (fardamento)	Contagem de coliformes	2,75	8,50	40 amostras	40	340,00
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	2,75				
	Contagem de <i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	3,00				
Superfícies (manipuladores com ou sem luvas)	Contagem de microrganismos a 30°C	2,75	5,75	39 amostras	39	224,25
	Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	3,00				
Validação de matérias-primas	Contagem de microrganismos a 30°C	3,00	20,30	3 amostras	3	60,90
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	3,00				
	Contagem de <i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	3,00				
	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	6,40				
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	4,90				
Validação do material de embalagem	Contagem de microrganismos a 30°C	2,75	8,50	4 amostras	4	34,00
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	2,75				
	Contagem de <i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	3,00				

Anexo I - Custos pormenorizados de análises microbiológicas no desenvolvimento de novos produtos em 2019, com os preços praticados pelo laboratório externo.

Tabela I. Custos pormenorizados de análises microbiológicas no desenvolvimento de novos produtos em 2019, com os preços praticados pelo laboratório externo.

Tipo de amostra	Ensaio	Custo por ensaio (€)	Custo por amostra (€)	Descrição de amostras	Número total de amostras por ano	Custo total de análises por ano (€)
Produtos prontos a consumir de pastelaria cozida, sobremesas, gelados e salgados	Contagem de microrganismos a 30°C	3,00	36,65	Para cada novo produto lançado são realizadas 5 análises, 1 para análise ao produto final e 4 para determinação da validade em refrigerado. Em 2019 foram lançados para o mercado 52 novas referências.	260	9 529,00
	Contagem de bolores e leveduras	5,95				
	Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	3,00				
	Contagem de coliformes	3,00				
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	3,00				
	Contagem de bactérias sulfito-redutoras	4,40				
	Contagem de <i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	3,00				
	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	6,40				
	Pesquisa de <i>Salmonella</i>	4,90				

Anexo J – Formulário para solicitação de desenvolvimento de novos produtos

	Documento de Registo		DR.042		
			Pág. Nº. 1/1		
	Solicitação de desenvolvimento de novos produtos		Revisão 0		
			Data: 09/10/2018		
		Aprovado por: DQSA			
Solicitado por:				Data:	
IDENTIFICAÇÃO DO PROJECTO/PRODUTO					
Produto:					
Tipo de cliente		Exportação?		Grandes contas?	
				Horeca?	
Cliente:					
Descrição do projeto/Produto					
Descrição do projeto pretendido:		Imagem ou fotografia base			
Gramagem:					
Dimensões (cm)	Comprimento/Diâmetro				
	Largura				
	Altura				
Unidades/caixa:					
Caixas/paleta:					
Tipo de Marca do produto:					
Preço/unidade:					
Data entrega amostras:					
Outros parâmetros solicitados pelo cliente:					
Estimativa de Vendas					
Unidades/ano:		Volume de vendas/ano:		Venda exclusiva?	
				Cardex Nutriva?	
Avaliação do projecto pela equipa de I+D					
Responsável Projeto:				Data de finalização:	

Anexo L – Documento de registo do desenvolvimento de receitas

	Documento de Registo		DR.071		
			Pág. Nº. 1/2		
	Desenvolvimento de receitas		Revisão 1		
			Data: 02/04/2019		
				Aprovado por: I&D	
NOME DO PRODUTO:			Peso unitário (g)		
			Comprimento (cm)		
CLIENTE:			Largura (cm)		
			Altura (cm)		
Data:			Versão:		
Motivo de alteração de versão:					
FORMULAÇÃO DO PRODUTO					
Designação	Ingredientes		Quant.	Observações	
PROCEDIMENTO					
PESOS COMPOSTOS					
Tabela - Pesos unitários					
Pesagens					
1					
2					
3					
4					
5					
Médias					

	Documento de Registo					DR.071
	Desenvolvimento de receitas					Pág. Nº. 2/2
						Revisão 1
						Data: 02/04/2019
					Aprovado por: I&D	

EMBALAMENTO

Nº de unidades / cuvete		Nºcaixas /palete	Base	Altura
Nº de cuvetes / caixa				
Nº de unidades / caixa		Tipo de palete		

Material de embalagem	Observações

TESTES ORGANOLÉTICOS

Provador	Aspecto visual	Tam anho	Cor	Aroma	Aprovado/ Reprovado	Observações

Notas: Escala de 1 a 3 (não gosto/gosto/gosto muito). O painel de provadores deve ser constituído no mínimo por 3 pessoas, do departamento de I&D. Abreviatura: A = aprovado / R = reprovado

Elaborado por:	
Desenvolvido / alterado por:	
Reprovado ou Aprovado por:	
Data:	
Observações do cliente:	

Anexo M – Documento de registo para apuramento de custos

	Documento de Registo		DR.044	
			Pág. Nº. 1/1	
	Apuramento de custos		Revisão 0	
			Data: 12/10/2018	
		Aprovado por: I&D		

NOME DO PRODUTO:		Peso unitário (g)	
		Comprimento (cm)	
CLIENTE:		Largura (cm)	
		Altura (cm)	

FORMULAÇÃO DO PRODUTO				
Ordem	Ingredientes	Quant.	Unid.	Observações

SUB-FORMULAÇÕES (ENTREMEIOS E/OU CREMES)				
Ordem	Ingredientes	Quant.	Unid.	Observações

PESOS COMPOSTOS						
Tabela - Pesos unitários						
Pesagens						
1						
2						
3						
4						
5						
Médias						

PRODUTIVIDADE	
CREMES E/OU ENTREMEIOS:	
MONTAGEM:	
EMBALAGEM:	

EMBALAMENTO			
Nº de unidades / cuvete		Nºcaixas /palete	Base
Nº de cuvetes / caixa			Altura
Nº de unidades / caixa		Tipo de palete	

Peças obtidas	Caixas obtidas	Paletes obtidas

Material de embalagem	Quant. (unid)	Observações

Anexo N – Ficha de especificações técnicas de produto (Exemplo)

	FICHA DE ESPECIFICAÇÕES TÉCNICAS DE PRODUTO					FT.01355
						Revisão 0
	Bola de Berlim Pistachio com Creme					Data: 31/01/2020
					Aprovado por: I&D	

Designação do produto		Bola de berlim Pistachio com Creme			Peso	110 g
Código	01355	EAN13	5600371329066	ITF14	15600371329063	
Identificação do fornecedor						
Denominação Social		Nutriva – Produção e Distribuição Alimentar, Lda.				
Morada (Sede)		Parque Empresarial de Eiras, lote 6. 3020 – 265 Coimbra - Portugal				
Nº de Contribuinte		504 051 881				
Contacto		Telefone: 239 497 170		Fax: 239 497 179		Nº Verde: 800 200 306
E-mail		info@nutriva.pt				
Website		www.nutriva.pt				
Características do produto		Ultracongelado pré-cozido				
		Ultracongelado cozido e pronto a consumir				
		Ultracongelado pronto a consumir		X		
		Ultracongelado cru				
Características organolépticas						
Cor	Verde					
Cheiro	Característico					
Sabor	Característico					
Textura	Fofa					
Aspecto	Redonda					
Descrição do Produto						
Bolo redondo com creme e açúcar granulado no topo.						
Composição				Listagem de ingredientes		
Massa: • Farinha de TRIGO T55 • Água • Gordura de palma parcialmente hidrogenada • Açúcar • Margarina • Farinha composta • Levedura • Sal • Pasta de pistachio • Corantes Recheio: • Água • Farinha composta • Pasta de pistachio Cobertura: • Açúcar granulado				Massa (63,6%): Farinha de TRIGO T55 (GLÚTEN); água; gordura de palma parcialmente hidrogenado; açúcar granulado; margarina (óleos e gorduras vegetais (palma, SOJA, girassol, em proporções variáveis), água, sal (1,3%), emulsionante (E471, E322), dextrose, acidificante (E330), corante (E160a), aroma natural); farinha composta (farinha de TRIGO (GLÚTEN), açúcar, dextrose, emulsionantes (E471, E472e E481), antiaglomerante (E170), corantes (E160a (I) e E160b), agente de tratamento da farinha (E300), aroma e enzimas); levedura; sal; pasta de pistachio (0,3%) (xarope de glicose-frutose, açúcar, pasta de pistachio (15%), água, concentrado de espinafre e urtiga, aroma natural); corantes (E102*, E131). Recheio (29,6%): Água; farinha composta (açúcar, LEITE magro em pó, amido modificado (E1414), gordura vegetal alimentar (coco), soro de LEITE, estabilizador (E401), aromas, conservante (E202), antiaglomerante (E170), corantes (E160a, E160c(paprika)); pasta de pistachio (2,7%) (xarope de glicose-frutose, açúcar, pasta de pistachio (15%), água, concentrado de espinafre e urtiga, aroma natural). Cobertura (6,8%): Açúcar granulado. *(E102): pode causar efeitos negativos na actividade e na atenção das crianças		
Condições de utilização/consumo						
Tempo descongelação	Temperatura descongelação (°C)	Temperatura fermentação (°C)	Humidade fermentação (%)	Tempo fermentação (min)	Temperatura cozedura (°C)	Tempo cozedura (min)
45-60 min	0-5°C	-	-	-	-	-
Sugestões:						
Após descongelação/preparação consumir no prazo máximo de				5 dias à temperatura de refrigeração (0-5°C)		
Produto Ultracongelado, uma vez descongelado não volte a congelar.						
Alergénios						
Cereais com glúten e produtos derivados				PRESENTE		
Crustáceos e produtos à base de crustáceos				PODE CONTER VESTÍGIOS		
Ovo e produtos à base de ovos				PODE CONTER VESTÍGIOS		
Peixe e produtos à base de peixe				PODE CONTER VESTÍGIOS		
Amendoins e produtos à base de amendoins				PODE CONTER VESTÍGIOS		
Soja e produtos à base de soja				PRESENTE		
Leite e produtos à base de leite				PRESENTE		
Frutos de casca rija e produtos à base desses frutos				PODE CONTER VESTÍGIOS		
Aipo e produtos à base de aipo				PODE CONTER VESTÍGIOS		
Mostarda e produtos à base de mostarda				PODE CONTER VESTÍGIOS		
Sementes de sésamo e produtos à base de sementes de sésamo				PODE CONTER VESTÍGIOS		
Dióxido de enxofre e sulfitos em concentrações superiores a 10mg/kg ou 10mg/l (SO ₂)				PODE CONTER VESTÍGIOS		
Tremoço e produtos à base de tremoço				PODE CONTER VESTÍGIOS		
Moluscos e produtos à base de moluscos				PODE CONTER VESTÍGIOS		
Público alvo				Público em geral à exceção dos alérgicos aos alérgenos presentes. Para quem não é alérgico ou intolerante, estas substâncias ou produtos são completamente inofensivos. *(E102): pode causar efeitos negativos na actividade e na atenção das crianças.		

Informações Gerais Produto/Embalagem													
Características do produto	Dimensões (cm)				Peso	Validade do Produto	180 dias após a data de produção						
	A	C	L	D	(g)								
	5	-	-	9	110		Codificada: Consumir de preferência antes de DD-MM-AA						
Embalagem primária	Tipo de material		Peso (g)		Dimensões (cm)				Nº peças/unidade de venda		Peso Bruto (g)	Peso Líquido (g)	
Bolsa interior	Polietileno		15		A	C	L	D	30		3326	3300	
Folha de Cartolina	Cartão		3		-	50	49,2	-					
Folha de Papel vegetal (2x)	Papel Vegetal		8		-	32	22	-					
Embalagem secundária	Tipo de material		Peso (g)		Dimensões (cm)				Nº unidades de venda/caixa		Peso Bruto (Kg)	Peso Líquido (Kg)	
Caixa	Cartão Canelado		257		A	C	L	D	30		3,58	3,30	
					23,1	36,1	23,1	-					
Palete	Tipo de material		Peso (Kg)		Dimensões (cm)				Nº caixas/paleta		Peso Bruto (kg)	Peso Líquido (Kg)	
Paleta fumigada	Madeira		25		A	C	L	D	Camada	Altura	Total		
					177	120	80	-	10	7	70	275,81	231,00
Condições de conservação: temperatura ≤ -18°C						Condições de distribuição/transporte: temperatura ≤ -18°C (+/-3°C)							
Codificação do lote		Código do produto + data de fabrico (XXXXXAAMMD)											
Especificações microbiológicas			Valor limite		Referência		Especificações químicas			Valor limite		Referência	
Pesquisa de Salmonella			Ausente		INSA		Fumonisin			NA		Reg. 1881/2006	
Contagem de Enterobacterias			≤1x10 ² ufc/g		REG. 1441/2007 (REG. 2073/2005)		Desoxinivalenol			≤ 500 µg/kg			
Contagem de Bolores e Leveduras			≤1x10 ⁴ ufc/g		INSA		Zearalenona			≤ 50 µg/kg			
Contagem de Coliformes			≤1x10 ² ufc/g		INSA		Acrilamida			NA		Reg. 2158/2017	
Contagem de E.Coli			≤1x10 ¹ ufc/g		INSA		Melamina			≤ 2,5 mg/kg		Reg. 594/2012	
Contagem de Estafilococos coagulase +			≤1x10 ² ufc/g		INSA								
Contagem de Clostrídios Sulfito Redutores			≤1x10 ³ ufc/g		INSA								
Pesquisa de Listeria monocytogenes			Ausente		REG. 1441/2007 (REG. 2073/2005)								
Informação nutricional (valores médios)			100g/Produto congelado		Unidades								
Energia			1417 338		KJ Kcal								
Lípidos			15,6		g								
dos quais saturados			7,95		g								
Hidratos de carbono			44,3		g								
dos quais açúcares			18,8		g								
Proteínas			4,6		g								
Sal			0,43		g								
Rotulagem relacionada com Segurança Alimentar													
•Número de controlo Veterinário (BPC 823) •Designação do Produto •Lista de Ingredientes •Alergénios •Informação Nutricional •Modo de Conservação •Modo de Preparação •Lote •Data de validade •Morada do Produtor/Distribuidor													
Organismos geneticamente modificados													
Com base nas informações cedidas pelos fornecedores de matéria-prima utilizada no fabrico, o produto é isento de OGM's de acordo com a legislação em vigor.													
Legislação aplicável													
Regulamento (CE) Nº. 852/2004 de 29 de Abril de 2004 Regulamento (CE) Nº. 853/2004 de 29 de Abril de 2004 Regulamento (CE) Nº. 2073/2005 de 15 de Novembro de 2005 Regulamento (CE) Nº. 1881/2006 da Comissão de 19 de Dezembro de 2006 (versão consolidada 2018) Regulamento (CE) Nº. 1441/2007 de 5 de Dezembro de 2007 Regulamento (UE) Nº. 1129/2011 da Comissão de 11 de Novembro de 2011 Regulamento (UE) Nº. 1169/2011 de 25 de Outubro de 2011 Asseguramos o cumprimento da legislação em vigor aplicada à atividade, sendo que disponibilizamos listagem atualizada sempre que solicitada pelo cliente.													

Anexo O – Ficha de fabrico do produto

	Ficha de fabrico		FF.código
	Código	Nome do produto	Pág. Nº. 1/2
			Revisão 0
			Data:
	Data	N.ºFabrico	Aprovado por: I&D

RECEITA

	Ingredientes	Receita	unid	Lote
1º				
2º				
3º				
4º				
5º				
6º				

Rubrica

Total matérias primas		kg
-----------------------	--	----

	Em massa	Congelado
Peso/unidade (g)		
Nº unidades obtidas		

PROCESSO

OBSERVAÇÕES

Unidades Obtidas	
Quebras	

	Ficha de fabrico		FF.código		
			Pág. Nº. 2/2		
	Código	Nome do produto	Revisão 0		
			Data:		
			Aprovado por: I&D		
EMBALAMENTO					
Unidades/caixa		Caixas/paleta			
Material de embalagem		Quant.	Lote		
Descrição embalagem		Descrição paletização			
Caixas embaladas		Quebras (unid)		Sobras (unid)	
Controlo de peso (g) produto final		Teste de verificação do detetor de metais			
OBSERVAÇÕES					
Verificado					
Data					

Anexo P – Documento de registo do desenvolvimento de novos produtos

	Documento de Registo	DR.035
		Pág. Nº. 1 / 4
	Desenvolvimento de Novos Produtos	Revisão 0
		Data: 26/10/2018
		Aprovado por: DQSA
Data:		
Nome do Produto:		Cliente/Marca:
Motivo de desenvolvimento/alteração de um novo produto:		
RECEITA		
Aprovação da receita:		
Alergénios:		
Introdução de novos alérgenos? Quais?		
MATÉRIAS-PRIMAS E MATERIAL DE EMBALAGEM		
Novas matérias-primas? Quais?		
Aprovação das novas matérias-primas:		
Novo material de embalagem?		
Aprovação do novo material de embalagem:		
Novos fornecedores? Quais?		
Aprovação do fornecedor?		
PROCESSO DE PRODUÇÃO		
Fluxograma:		
Aprovação do fluxograma:		
Implicações/Alterações com o processo?		
Quais?		
As implicações são no circuito/fluxo?		
Há novos equipamentos? Quais?		
Plano de manutenção:		
Plano de higienização:		

	Documento de Registo	DR.035	
		Pág. Nº. 2 / 4	
	Desenvolvimento de Novos Produtos	Revisão 0	
		Data: 26/10/2018 Aprovado por: DQSA	
ROTULAGEM			
Recomendações para preparação e ou utilização:			
Informação nutricional:	Informação Nutricional	100g/ produto	unidades
	Energia		KJ/Kcal
	Lípidos		g
	das quais saturados		g
	Hidratos de carbono		g
	dos quais açúcares		g
	Proteínas		g
	Sal		g
Aprovação da rotulagem			
LEGISLAÇÃO E REQUISITOS			
Há novos requisitos legais?			
Legislação Aplicável: Regulamento (CE) Nº. 852/2004 de 29 de Abril de 2004 Regulamento (CE) Nº. 853/2004 de 29 de Abril de 2004 Regulamento (CE) Nº. 2073/2005 de 15 de Novembro de 2005 Regulamento (CE) Nº. 1881/2006 da Comissão de 19 de Dezembro de 2006 Regulamento (CE) Nº. 1441/2007 de 5 de Dezembro de 2007 Regulamento (UE) Nº. 1129/2011 da Comissão de 11 de Novembro de 2011 Regulamento (UE) Nº. 1169/2011 de 25 de Outubro de 2011 Asseguramos o cumprimento da legislação em vigor aplicada à actividade, sendo que disponibilizamos listagem actualizada sempre que solicitada pelo cliente.			
Requisitos de cliente:			
Existe caderno de encargos?			

	Documento de Registo	DR.035
		Pág. Nº. 3 / 4
	Desenvolvimento de Novos Produtos	Revisão 0
		Data: 26/10/2018
		Aprovado por: DQSA
HACCP		
Descrição de etapas:		
Análise de perigos:		
Categorização das medidas de controlo		
Quadro de controlo de PC's e PCC's		
Há novos PCC's / PC's? Quais?		
Há novos registos?		
Fichas de fabrico/Registos de produção		
Necessidades de formação aos colaboradores?		
Responsável pela formação dos colaboradores:		
CARACTERISTICAS DO PRODUTO		
Fichas técnicas do novo produto:		
Parâmetros microbiológicos a analisar:		
Frequência de análise:		
Parâmetros químicos a analisar:		
Frequência da análise:		
VALIDADE		
Testes de vida útil do produto:		
Frequência:		
Testes organoléticos (relativos à definição da validade)		
Frequência:		
Aprovação da validade:		
APROVAÇÃO FINAL DO PRODUTO		
Data prevista de comercialização:		
Aprovação final do artigo:		

	Documento de Registo	DR.035
		Pág. Nº. 4 / 4
		Revisão 0
	Desenvolvimento de Novos Produtos	Data: 26/10/2018 Aprovado por: DQSA

Em anexo a este ficheiro ficará:

- ☐ Apuramento de custos
- ☐ Ficha técnica
- ☐ Ficha de fabrico
- ☐ Ficha(s) técnica(s) de novas matérias-primas (caso exista)
- ☐ Ficha(s) técnica(s) de novo material de embalagem (caso exista)
- ☐ Design de embalagem (caso exista)
- ☐ Etiqueta interior e exterior
- ☐ Análise Nutricional
- ☐ Análise Microbiológica
- ☐ Prova sensorial aprovação de amostra
- ☐ Formação de colaboradores para a produção do produto
- ☐ Ficha de fabrico primeira produção
- ☐ Testes organoléticos da primeira produção
- ☐ Caderno de encargos (caso exista)