



# CATÓLICA

## ESCOLA SUPERIOR DE BIOTECNOLOGIA

---

PORTO

ESTUDOS DE TEMPO DE VIDA ÚTIL DE BOLOS INDIVIDUAIS  
EM FRASCO EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE CONSERVAÇÃO

por

Ângela Filipa Osório Azeredo de Sousa

Novembro 2022





# CATÓLICA

## ESCOLA SUPERIOR DE BIOTECNOLOGIA

PORTO

### ESTUDOS DE TEMPO DE VIDA ÚTIL DE BOLOS INDIVIDUAIS EM FRASCO EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE CONSERVAÇÃO

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

por

Ângela Filipa Osório Azeredo de Sousa

Supervisora: Mestre Raquel Soares

Orientadora: Professora Doutora Conceição Hogg

Novembro 2022



## Resumo

Tempo de vida útil é o período de tempo durante o qual o alimento conserva todas as suas características, previamente definidas e adequadas ao seu modo de consumo do ponto de vista da segurança e da qualidade. Assim, o propósito deste trabalho focou-se na determinação do tempo de vida de produtos de pastelaria refrigerados e congelados na empresa Artiframi e consequente determinação de qual o método de conservação mais favorável no que toca a tempo de vida mais longo.

Os produtos estudados foram bolos embalados em frasco de vidro, a maioria em camadas, com diferentes recheios, em doses individuais. Antes da determinação do tempo de vida, procedeu-se ao desenvolvimento do fluxograma e respetiva análises de perigos. De seguida, efetuaram-se análises físico-químicas a cada um dos componentes dos bolos, mais especificamente a atividade de água e pH. Com estes valores determinados, utilizou-se a plataforma *ComBase* para utilizar a microbiologia preditiva e aferir quanto à possibilidade de crescimento microbiano nos componentes. Após esta previsão realizaram-se análises microbiológicas a microrganismos totais e a *Enterobacteriaceae* aos bolos refrigerados para comprovar os resultados obtidos com a microbiologia preditiva. Como se trata de produtos de pastelaria, as características sensoriais são de grande importância e, por isto realizaram-se análises sensoriais, com recurso à escala hedónica, aos bolos refrigerados durante 7 dias e aos congelados durante 90 dias. A análise dos resultados foi efetuada com recurso à plataforma *DATAtab* e à ANOVA de medidas repetidas.

Determinou-se que a congelação seria a melhor opção para a grande maioria dos bolos, exceto para o bolo de chocolate com framboesa que apresentou melhor resultados com armazenamento refrigerado durante 3 dias e o bolo de crumble de maçã ao qual é sugerido fazer uma mudança de processo produtivo e/ou ingredientes devido à baixa avaliação sensorial, mesmo no dia de produção.

**Palavras-Chave:** tempo de vida útil; produtos de pastelaria; qualidade organolética; controlo de qualidade; segurança alimentar.



## Abstract

Shelf life is the period of time during which the food retains all its characteristics, previously defined and suitable for the way it is consumed from the point of view of safety and quality. Thus, the purpose of this work focused on the determination of the shelf life of refrigerated and frozen bakery products in the company Artiframi and consequent determination of which is the most favorable conservation method in terms of longer shelf life.

The products studied were cakes packaged in glass jars, most in layers, with different fillings, in individual doses. Before determining the lifetime, the flowchart and respective hazard analysis were developed. Then, physicochemical analyzes were performed on each of the cake components, more specifically the water activity and pH. With these values determined, the *ComBase* platform was used to use predictive microbiology and assess the possibility of microbial growth in the components. After this prediction, microbiological analyzes were carried out on total microorganisms and *Enterobacteriaceae* on refrigerated cakes to prove the results obtained with the predictive microbiology. As these are pastry products, sensory characteristics are of great importance and, for this reason, sensory analyzes were carried out, using the hedonic scale, on cakes refrigerated for 7 days and frozen for 90 days. Results were analyzed using the *DATAtab* platform and ANOVA with repeated measures.

It was determined that freezing would be the best option for the vast majority of cakes, except for the raspberry chocolate cake which showed better results with refrigerated storage for 3 days and the apple crumble cake to which it is suggested to make a change of production process and/or ingredients due to low sensory evaluation, even on the day of production.

**Keywords:** shelf-life; pastry products; organoleptic quality; quality control; food safety.



## Agradecimentos

A realização deste relatório representa a finalização do meu percurso académico, de 5 anos muito importantes. Como não podia deixar de ser, apresento de seguida um agradecimento muito especial a todos aqueles que para isto contribuíram.

À Escola Superior de Biotecnologia e todos os seus professores por me terem apoiado e auxiliado durante estes dois anos de mestrado. À professora Conceição Hogg por ter aceite ser minha orientadora e me ter apoiado durante a realização deste relatório e estágio.

À Artiframi e, especialmente, à Dr.<sup>a</sup> Raquel Soares por me ter acolhido e dado a oportunidade de estagiar na sua empresa. A todos os colaboradores da Artiframi, Ana, Cláudia, Eduardo, Joana, Luísa, Natália, Sara, Sr. Lino, Susana e Vanessa, por me terem recebido tão bem durante estes meses e me terem ajudado em tudo o que puderam.

À Anabela, Beatriz e Iriani por terem sido as melhores companheiras de estágio que podia pedir.

Aos meus amigos mais próximos, João e Ana, por nunca reclamarem da minha falta de disponibilidade e, à Inês, por ter sido o meu pilar desde a licenciatura, mas, principalmente, durante o mestrado.

Ao meu namorado, pelo apoio e paciência incondicional e por me acalmar em todos os momentos de maior ansiedade.

Por último, à minha família, em especial aos meus pais, por possibilitarem este meu caminho e por sempre se mostrarem orgulhosos.

Muito obrigada a todos, de coração!



## Índice

Resumo .....	III
Abstract.....	V
Agradecimentos .....	VII
Lista de Figuras .....	XI
Lista de Tabelas .....	XIII
Lista de Abreviaturas.....	XV
1. Contextualização de estágio e objetivos.....	1
1.1. Introdução .....	1
1.2. Apresentação do local de estágio.....	1
1.3. Objetivos.....	3
2. Enquadramento Teórico .....	4
2.1. Caracterização dos produtos .....	4
2.2. Deteriorações Possíveis no Produto.....	5
2.2.1. Deteriorações Físicas .....	6
2.2.2. Deteriorações Químicas.....	6
2.2.3. Deteriorações Microbiológicas.....	7
2.3. Microbiologia Preditiva .....	9
2.4. Tempo de Vida Útil .....	9
2.4.1. Análises Físico-Químicas .....	11
2.4.2. Análises Microbiológicas .....	11
2.4.3. Análises Sensoriais .....	12
2.5. Metodologia HACCP.....	14
3. Material e Métodos.....	16
3.1. Caracterização das Amostras .....	16
3.2. Sistema HACCP .....	18
3.3. Análises Físico-Químicas .....	21

3.4.	Microbiologia Preditiva .....	21
3.5.	Análises Microbiológicas .....	23
3.6.	Análise Sensorial .....	25
3.7.	Análise de Resultados .....	26
4.	Resultados e Discussão.....	28
4.1.	Metodologia HACCP.....	28
4.1.1.	Fluxograma e descrição de etapas .....	28
4.1.2.	Análise de Perigos .....	31
4.2.	Análises Físico-Químicas .....	35
4.3.	Microbiologia Preditiva .....	36
4.4.	Análises Microbiológicas .....	38
4.5.	Análise Sensorial e Análise de Resultados .....	39
4.5.1.	Bolos Refrigerados .....	40
4.5.2.	Bolos congelados.....	44
5.	Conclusão .....	48
6.	Trabalho Futuro/Possibilidade de Melhoria .....	49
	Apêndices .....	50
	Apêndice 1 - Exemplo de ficha de análise sensorial .....	50
	Apêndice 2 – PCC’s, PPRO’s e respectivos limites críticos, processos de monitorização e ações corretivas.....	51
	Apêndice 3 – Resultados de microbiologia preditiva para os componentes dos bolos refrigerados.....	53
	Referências Bibliográficas.....	63

## Lista de Figuras

Figura 1-Figuras representativas de produtos comercializados pela empresa. (Artiframi.pt) .....	2
Figura 2-Esquemas representativos da visão e missão da empresa. (Artiframi.pt).....	2
Figura 3-Secção do rótulo do bolo de chocolate com framirocher. (recurso interno da empresa).....	16
Figura 4-Secção do rótulo do bolo de chocolate com framboesa. (recurso interno da empresa).....	16
Figura 5-Secção do rótulo do bolo de coco com rafaelloframi. (recurso interno da empresa).....	17
Figura 6-Secção do rótulo do bolo de noz com ovos moles. (recurso interno da empresa) .....	17
Figura 7-Secção do rótulo do bolo de crumble de maçã. (recurso interno da empresa)	17
Figura 8-Secção do rótulo do bolo de chocolate com amendoim. (recurso interno da empresa).....	18
Figura 9-Secção do rótulo do bolo de cenoura com brigadeiro. (recurso interno da empresa).....	18
Figura 10-Árvore de decisão para classificação de perigos. (ISO 22000:2018) .....	20
Figura 11-Embalagens dos meios PCA e "Rapid'Enterobacteriaceae Agar" .....	23
Figura 12-Meios de cultura prontos a serem utilizados.....	24
Figura 13-Diluições feitas a partir da solução inicial com a amostra.....	24
Figura 14-Fluxograma do processo produtivo com identificação de PCC's e PPRO's ..	30
Figura 15-Reultados de microbiologia preditiva para o bolo de chocolate. (Plataforma ComBase) .....	37



## Lista de Tabelas

Tabela 1-Classificação dos produtos de pastelaria de acordo com o pH. (Smith et al., 2004).....	4
Tabela 2-Classificação dos produtos de pastelaria de acordo com a atividade da água.(Smith et al., 2004).....	4
Tabela 3-Classificação dos vários tipos de análise sensorial. (Lawless & Heymann, 2010) .....	13
Tabela 4-Características dos testes discriminativos.(Lawless & Heymann, 2010).....	13
Tabela 5-Características dos testes de análises descritiva.(Kemp et al., 2011).....	14
Tabela 6-Características dos testes afetivos.(Kemp et al., 2011)(Lawless & Heymann, 2010).....	14
Tabela 7-Metodologia HACCP.(CODEX ALIMENTARIUS, 2020).....	15
Tabela 8-Probabilidades para avaliação de risco. (Recurso interno da empresa) .....	19
Tabela 9-Severidades para a avaliação de risco. (Recurso interno da empresa) .....	19
Tabela 10-Escala hedônica utilizada nas análises sensoriais.....	26
Tabela 11-Efeito de diferentes processos produtivos em variados microrganismos.(New Zealand Ministry for Primary Industries, 2016).....	31
Tabela 12-Identificação e classificação de perigo como PCC. ....	32
Tabela 13-Identificação e classificação de perigos como PPRO .....	32
Tabela 14-Identificação e classificação de perigos como PPRO .....	33
Tabela 15-Identificação e classificação de perigos como PPRO .....	34
Tabela 16-Resultados das análises físico-químicas.....	35
Tabela 17-Condições mínimas de crescimento de vários microrganismos.(T. K. Singh & Cadwallader, 2004).....	36
Tabela 18-Resultados das análises microbiológicas.....	38
Tabela 19-Valores guia de análises microbiológicas.(Saraiva et al., 2019).....	39
Tabela 20-Resultados de análises sensoriais para bolo de chocolate com amendoim refrigerado. ....	40
Tabela 21-Resultados de análises sensoriais para bolo de chocolate com framboesa refrigerado. ....	40
Tabela 22-Resultados de análises sensoriais para bolo de chocolate com framirocher refrigerado. ....	41

Tabela 23-Resultados de análises sensoriais para bolo de cenoura com brigadeiro refrigerado. ....	41
Tabela 24-Resultados de análises sensoriais para bolo de crumble de maçã refrigerado. ....	42
Tabela 25-Resultados de análises sensoriais para bolo de coco com rafaelloframi refrigerado. ....	42
Tabela 26-Resultados de análises sensoriais para bolo de noz com ovos moles refrigerado. ....	43
Tabela 27-Resultados de análises sensoriais para bolo de chocolate com amendoim congelado.....	44
Tabela 28-Resultados de análises sensoriais para bolo de chocolate com framboesa congelado.....	44
Tabela 29-Resultados de análises sensoriais para bolo de chocolate com framirocher congelado.....	45
Tabela 30-Resultados de análises sensoriais para bolo de cenoura com brigadeiro congelado.....	45
Tabela 31-Resultados de análises sensoriais para bolo de crumble de maçã congelado.	46
Tabela 32-Resultados de análises sensoriais para bolo de coco com rafaelloframi congelado.....	46
Tabela 33-Resultados de análises sensoriais para bolo de noz com ovos moles congelado. ....	47

## Lista de Abreviaturas

APCER – Associação Portuguesa de Certificação

ASAE – Autoridade de segurança alimentar e económica

$a_w$  – Atividade da água

BPW – Água peptonada tamponada

CAE – Classificação Portuguesa das Atividades Económicas

DAEC – *Escherichia Coli* difusivamente aderente

EAEC – *Escherichia Coli* enteroagregativa

EHEC – *Escherichia Coli* enterohemorrágica

EIEC – *Escherichia Coli* enteroinvasiva

EPEC – *Escherichia Coli* enteropatogénica

ETEC – *Escherichia Coli* enterotoxigénica

g – Grama

HACCP – *Hazard Analysis and Critical Control Point*

INE – Instituto Nacional de Estatística

PCA – *Plate Count Agar*

PCC – Ponto crítico de controlo

pH – Potencial de hidrogénio

PPRO – Programa de pré-requisito operacional

UFC – Unidades formadoras de colónias



# **1. Contextualização de estágio e objetivos**

## **1.1. Introdução**

Atualmente o comportamento humano em relação à alimentação é condicionado por vários fatores como, por exemplo, sociais e psicológicos, para além de que é fundamental para a manutenção da vida humana através da preservação dos níveis de nutrientes necessários e do fornecimento de prazer através do ato de comer pela libertação de serotonina e dopamina. (Köster, 2009)(Cardoso et al., 2020) Para além disto, o consumo de certos alimentos está, muitas vezes, associado a situações específicas, por exemplo, bolos em festas e gelados na época do verão. (Silva, 2012)

As vendas de empresas produtoras deste tipo de produtos têm vindo a aumentar de forma geral ao longo dos últimos anos e, portanto, a preocupação com a sua segurança aumenta também. (INE, 2017, 2018, 2020, 2021) Assim, a determinação do tempo de vida deste tipo de produtos alimentares torna-se imprescindível para garantir a segurança e a satisfação do consumidor e assim permitir e facilitar a sua comercialização.

O tempo de vida útil de um produto alimentar é dependente de muitos fatores, como a composição química, a embalagem, método de conservação, etc.

Principalmente, em produtos congelados, o tempo de vida não é tão dependente do crescimento de microrganismos, pois este não é expectável, mas sim da manutenção da qualidade ao longo dos meses de armazenamento. Mais especificamente em produtos de pastelaria, como bolos, esta qualidade passa pela garantia que os vários atributos sensoriais como o sabor, a textura e o olfato se mantêm pouco ao nada alterados no momento em que são degustados pelos consumidores.

## **1.2. Apresentação do local de estágio**

No âmbito do estágio curricular para finalização de mestrado em Engenharia Alimentar na Escola Superior de Biotecnologia, foi-me apresentada a oportunidade de estagiar na Empresa Artiframi. Produz maioritariamente gelados artesanais, sendo que produz também picolés, brigadeiros, bombons e bolos gelados.



Figura 1-Figuras representativas de produtos comercializados pela empresa. (Artiframi.pt)

A criação da Artiframi começou quando uma professora de educação física se juntou a um enólogo. A marca nasceu da junção da palavra ARTesanal e dos nomes dos gémeos do casal FRAncisco e MIguel e, atualmente, possui várias atividades, nomeadamente:

- Fabricação de gelados e sorvetes (CAE 10520);
- Comércio a retalho em bancas, feiras e unidades móveis de venda, de produtos alimentares, bebidas e tabaco (CAE 47810);
- Fabricação de doces, compotas, geleias e marmelada (CAE 10393);
- Pastelaria (CAE 10712).

Principalmente na produção de gelados e sorvetes, a marca apresenta produtos capazes de satisfazer várias necessidades dos consumidores, com produtos sem lactose, sem adição de açúcar, sem glúten, vegan e, ainda, hiperproteicos.

Nas Figura 2, podemos observar a missão e a visão da marca.



Figura 2-Esquemas representativos da visão e missão da empresa. (Artiframi.pt)

Em relação à qualidade e segurança alimentar, a Artiframi cumpre os requisitos da norma ISO 22000:2018, certificada pela APCER. Quanto ao processo produtivo, a empresa foi distinguida em 2019 como uma Unidade Produtiva Artesanal.

O processo produtivo dos seus gelados, e também dos restantes produtos, passa pela realização cuidada e controlada de cada uma das etapas que o compõem, desde a seleção das matérias-primas até ao seu e tratamento. Todos estes produtos são embalados em embalagens

próprias para contacto alimentar e, de seguida, armazenada em equipamentos próprios de refrigeração e/ou congelação consoante o mais adequado.

Para a distribuição do produto acabado é utilizada uma carrinha, propriedade da empresa Artiframi, com capacidade de transporte a temperaturas negativas de forma a garantir que todos os produtos chegam com máxima qualidade e segurança até aos clientes.

### **1.3. Objetivos**

Para a realização deste estágio, objetivo principal foi determinar qual dos métodos de conservação/armazenamento (refrigeração ou congelação) seria mais vantajoso para bolos individuais em frasco em termos de tempo de vida.

Os bolos a analisar são, então, bolos com vários componentes, em doses individuais, a maioria deles em camadas, embalados em frasco de vidro. De modo a obter o tempo de vida dos produtos, foi necessário realizar uma série de tarefas, como:

- Familiarização com os produtos a estudar;
- Criação do fluxograma no processo produtivo e de análises de perigos;
- Realização de análises físico-químicas e previsão de segurança microbiológica;
- Realização de análises microbiológicas e sensoriais;
- Previsão do tempo de vida.

Como os produtos a analisar se tratam de produtos de pastelaria, os resultados sensoriais e a qualidade organolética são de extrema importância, pelo que, ao se garantir segurança microbiológica, a determinação do tempo de vida passou principalmente pela “escolha” do máximo de tempo possível que garantia os melhores resultados sensoriais.

## 2. Enquadramento Teórico

### 2.1. Caracterização dos produtos

Os produtos de pastelaria são um produto conhecido e consumido por, praticamente, todas as pessoas e, cada vez mais, são incentivados a fazer parte da alimentação de uma forma equilibrada. Portanto, com a evolução e o decorrer do tempo foram sendo criadas várias formas de os classificar e agrupar. Os produtos mencionados podem então ser classificados de três formas diferentes: salgados (pão, bagels, etc.), doces (*doughnuts*, bolachas, etc.) e, ainda, recheados (tartes, empadas, bolos com cremes, etc.). (Smith et al., 2004, p. 1) Para além deste tipo de classificação, também é possível classificar os produtos de pastelaria de acordo com o pH e a  $a_w$ , como se verifica nas tabelas 1 e 2. (Smith et al., 2004)

Tabela 1- Classificação dos produtos de pastelaria de acordo com o pH. (Smith et al., 2004)

CLASSIFICAÇÃO	PRODUTO	pH
Acidez alta	Pão de fermentação lenta	4.2 – 4.6
	Tarte de maçã	4.2
Acidez baixa	Pão branco	5.7
	Pão integral	5.6
	Pão de nozes e chocolate	6.2 – 6.6
Não ácido	Queque de cenoura	8.7
	Pão de nozes e banana	7.2 – 7.9

Tabela 2- Classificação dos produtos de pastelaria de acordo com a atividade da água. (Smith et al., 2004)

CLASSIFICAÇÃO	PRODUTO	$a_w$
Teor de humidade baixo	Bolachas	0.2 – 0.3
	<i>Crackers</i>	0.2 – 0.3
Teor de humidade intermédio	<i>Doughnuts</i> cobertos de chocolate	0.82 – 0.83
	Bolos com creme	0.78 -0.81
	Biscoitos macios	0.5 – 0.78
Teor de humidade elevado	Pão	0.96 – 0.98
	<i>Cheesecake</i>	0.91 – 0.95
	Tartes de fruta	0.95 – 0.98

## 2.2.Deteriorações Possíveis no Produto

Produtos de pastelaria, atualmente e cada vez mais, fazem parte do que é considerado uma dieta equilibrada, sendo que, ao mesmo tempo, tem sido crescente o interesse por produtos denominados como orgânicos e artesanais. Assim, é importante determinar o tempo de vida destes produtos, pois, tal como muitos outros produtos processados e presentes na alimentação de muitos consumidores, são suscetíveis a variadas alterações e diferentes naturezas.(Smith et al., 2004)

Os problemas de deterioração nos géneros alimentícios de pastelaria podem ser divididos em três categorias: (Smith et al., 2004)

- Deterioração física, como perda de humidade e “staling”;
- Deterioração química, como rancificação;
- Deterioração microbiológica, como crescimento de bolores, leveduras e bactérias.

Produtos de pastelaria são reconhecidos como tendo um tempo de vida limitado devido a rápidas alterações físico-químicas e/ou alterações microbiológicas após produção. De forma a tirar partido de crescente globalização dos mercados e de forma a reduzir perdas devido a produtos deteriorados, são necessários tempos de vida mais longos. Assim, a qualidade e a segurança deste tipo de produtos são uma preocupação, não só dos produtores, mas também das autoridades de controlo e dos consumidores de produto final. (Cook & Johnson, 2009, p. 223)

Alterações físico-químicas estão mais presentes em produtos de pastelaria com um teor de humidade mais baixo e/ou intermédio enquanto alterações a nível microbiológico ocorrem com maior facilidade em produtos com um teor de humidade intermédio a elevado.(Smith et al., 2004)

Condições de armazenamento como congelação e refrigeração contribuem para o aumento de controlo de deterioração microbiana em produtos de pastelaria. Temperaturas típicas de refrigeração, entre 2°C e 10°C, retardam o crescimento microbiano, no entanto, reações químicas continuam a ocorrer ainda que a uma taxa muito lenta. Um certo número de microrganismos deteriorativos e bactérias tolerantes ao frio, crescem ativamente a temperaturas de refrigeração ainda que a uma taxa mais reduzida do que a temperatura ambiente. (New Zealand Ministry for Primary Industries, 2016) Ainda que algumas reações químicas como a oxidação ocorram a uma taxa reduzida a temperaturas de congelação (2°C a -20°C), o crescimento de quase todos os microrganismos é completamente inibido. (Cook & Johnson,

2009, p. 232) Para além disto, a estas temperaturas, formam-se cristais de gelo que alteram a disponibilidade da água para participar em reações no produto. (R. P. Singh & Heldman, 2014, p. 521)

A temperatura e as condições de armazenamento influenciam significativamente a qualidade de alimentos congelados. Quaisquer flutuações nas temperaturas podem ser prejudiciais para o produto. (R. P. Singh & Heldman, 2014, p. 522)

### *2.2.1. Deteriorações Físicas*

Uma das principais alterações a nível físico dos produtos de pastelaria é a perda ou o ganho de humidade, pois podem levar a várias mudanças texturais e pode também promover degradação química e microbiológica de produtos de moderado a elevado teor de humidade. (Smith et al., 2004)

Outra alteração física possível é, então o chamado “staling”, isto é, uma redistribuição da humidade, a retrogradação do amido, um aumento de firmeza e perda de aroma e sabor. Estas mudanças ocorrem, principalmente, devido migração da água presente no “miolo” até à “crosta”, especificamente do amido para o glúten. Produtos de pastelaria como bolachas e biscoitos, que possuem maior teor lipídico, passam por este processo mais devagar. (Smith et al., 2004)

Queimadura de gelo é um importante defeito em termos de qualidade em alimentos congelados que é provocado pela exposição destes alimentos a temperaturas flutuantes. Se estas flutuações foram consideráveis podem existir alterações ainda mais predominantes como, por exemplo, quando um alimento é descongelado e congelado novamente. De forma idêntica, a mudança de fase, como derretimento e solidificação de gorduras são importantes para a qualidade de doces e outros produtos lipídicos. (R. P. Singh, 1994)

### *2.2.2. Deteriorações Químicas*

Produtos que possuam um maior teor lipídico, são mais suscetíveis de sofrer degradação química ou rancificação, que é caracterizado por resultar em odores e sabores desagradáveis diminuindo o tempo de vida. Existem dois tipos de rancificação que podem ocorrer no produto: oxidativa e hidrolítica. A primeira resulta na quebra dos ácidos gordos insaturados dando

origem a um processo que termina com a destruição de certas vitaminas e degradação de proteínas. A segunda ocorre na ausência de O<sub>2</sub>, resulta na hidrólise dos triglicéridos e, conseqüentemente, na liberação de glicerol e ácidos gordos de mau odor. (Smith et al., 2004)

Para além disto, pode-se afirmar que a oxidação lipídica ocorre a taxas mais elevadas para alimentos com atividades de água mais reduzidas. (R. P. Singh, 1994)

### 2.2.3. Deteriorações Microbiológicas

Crescimento microbiano em alimentos resulta na sua deterioração e no desenvolvimento de características sensoriais indesejadas e, em certos casos, o alimento pode mesmo se tornar inseguro para consumo. (R. P. Singh, 1994)

O fator mais importante e determinante para existirem alterações microbiológicas é a atividade da água, sendo que para alimentos com  $a_w$  inferior a 0,6, não é expectável existirem alterações microbiológicas. No entanto, para produtos com  $a_w$  entre 0,6 e 0,85, é possível o crescimento e desenvolvimento de bolores e leveduras osmofílicos, e com  $a_w$  de 0,94 – 0,99, praticamente todas as bactérias, bolores e leveduras são capazes de se desenvolver. (D. A. L. Seiler, 1998)

#### 2.2.3.1. Deterioração Bacteriana

A maioria das bactérias requer uma atividade da água elevada para conseguir crescer e, portanto, os problemas de origem bacteriana limitam-se a produtos com um alto teor de humidade. (Smith et al., 2004)

A patogenicidade de certos microrganismos é uma grande preocupação durante o processamento e manuseamento de alimentos. Após ingestão, certas espécies de *Salmonella* e algumas estirpes de *Escherichia coli* causam infeção, enquanto microrganismos como *Clostridium botulinum* e *Staphylococcus aureus* produzem químicos nos alimentos que possuem propriedades tóxicas para os humanos. (R. P. Singh, 1994)

Um dos microrganismos preocupantes é o *Bacillus Subtilis*, uma bactéria formadora de esporos. Geralmente, está presente em ingredientes crus como farinhas e açúcares, sobrevive à cozedura e germina durante o arrefecimento. Para além disto, a bactéria é capaz de crescer em condições de embalamento aeróbicas e anaeróbicas. (Smith et al., 2004)

Produtos de pastelaria recheados com cremes à base de ovo e/ou leite estão sujeitos ao crescimento de microrganismos como *Bacillus Cereus* e *Staphylococcus aureus*.(D. Seiler, 1978)

Se existir a possibilidade destas bactérias formadoras de esporos e/ou tolerantes a baixas temperaturas estarem presentes no alimento após o seu processamento, é necessário ter isto em conta no momento de estabelecer o tempo de vida. (New Zealand Ministry for Primary Industries, 2016)

#### 2.2.3.2.Deterioração por Leveduras

Ao contrário da deterioração bacteriana, a deterioração por leveduras pode ocorrer em produtos de pastelaria com humidade média a alta. (Smith et al., 2004)

Crescimento à superfície de leveduras está geralmente associado a produtos com elevada atividade de água e menor tempo de vida enquanto deterioração fermentativa associa-se a menor atividade de água e maior tempo de vida. (Legan & Voysey, 1991)(Kilcast & Subramaniam, 2016, p. 4)

O limite mais baixo de temperatura de crescimento pode ser alguns graus abaixo de 0°C para psicrófilos em meios em que a água continua fluida. Um certo número de leveduras é considerado como psicotrópicos com temperaturas de crescimento entre os 0 e os 25°C. (Deak, 2006)

Os principais géneros de leveduras responsáveis por deterioração de alimentos de baixo pH e  $a_w$ , são *Candida*, *Lachancea*, *Saccharomyces*, *Torulaspóra*, and *Zygosaccharomyces*. (Kilcast & Subramaniam, 2016, p. 4)

#### 2.2.3.3.Deterioração por Bolores

Um dos principais problemas que limita o tempo de vida de produtos de pastelaria com alto teor de humidade é o crescimento de bolores que são capazes de se desenvolver com atividades de água superiores a 0,8 e, alguns, a partir de valores como 0,65. Para além disto, os bolores tornam-se mais problemáticos nos meses de verão devido a contaminação no ar e às condições de armazenamento mais quentes e húmidas. (Smith et al., 2004)

As principais espécies de bolores isoladas deste tipo de produtos são *Aspergillus*, *Penicillium* e *Eurotium*. (Kontominas, 2014) (Kilcast & Subramaniam, 2016, p. 4)

Apesar de produtos recém-cozidos não conterem bolores vegetativos e/ou esporos, eles podem ser rapidamente contaminados pelo ambiente que os rodeia como o ar, os manipuladores, as superfícies e até ingredientes crus que sejam adicionados como é o caso de alguns recheios e coberturas. (D. Seiler, 1978)(D. A. L. Seiler, 1988)(Jarvis, 1972)(Food Safety Authority of Ireland, 2019)

A maioria dos bolores cresce a uma temperatura entre 18 e 29°C. Alguns bolores são psiocotróficos, ou seja, crescem a temperaturas de refrigeração, sendo que alguns crescem a temperaturas tão baixas como -10°C. (Frazier & Westhoff, 1988)

### **2.3. Microbiologia Preditiva**

A microbiologia preditiva pode ser considerada como o ramo da microbiologia alimentar com função de avaliar quantitativamente o comportamento microbiano em alimentos para obter modelos matemáticos adequados. (Pérez-Rodríguez & Valero, 2013, p. 1)

Fundamentalmente, a microbiologia preditiva é a junção do conhecimento da microbiologia tradicional com o conhecimento obtido nas disciplinas de matemática, estatística e sistemas de informação e tecnologia de modo a descrever as respostas dos microrganismos a fatores intrínsecos e extrínsecos e, assim, prevenir a deterioração e doenças de origem alimentar. Isto é possível através das propriedades dos alimentos e métodos de conservação, como pH e temperaturas. (Md et al., 2011, p. 1) (Food Safety Authority of Ireland, 2019)

A microbiologia preditiva é útil durante o desenvolvimento de novos produtos e/ou alterações de processamento/formulações, visto que permite avaliar a sua segurança e estabilidade, através da identificação de alterações no tempo de vida do produto em questão. (Food Safety Authority of Ireland, 2019)

### **2.4. Tempo de Vida Útil**

Tempo de vida útil é o período de tempo, desde a sua confeção, durante o qual o alimento conserva todas as suas características, previamente definidas e adequadas ao seu modo de consumo do ponto de vista da segurança e da qualidade. (T. K. Singh & Cadwallader, 2004)

Isto significa que o alimento se mantém seguro para consumo durante este tempo, isto é, que não há perigo de ocorrência de doença de origem alimentar devido a crescimento de microrganismos patogénicos e/ou toxinas, que não existe perda de qualidade a um nível que o consumidor considere inaceitável e que não existe perda significativa de nutrientes. (New Zealand Ministry for Primary Industries, 2016)

Existem duas formas distintas de classificar o tempo de vida útil consoante a sua forma de interpretação, ou seja, os produtos alimentícios podem ser acompanhados de uma data de durabilidade mínima ou de uma data-limite de consumo. Data de durabilidade mínima é a data até à qual se considera que os géneros alimentícios conservam as suas propriedades específicas seguindo as recomendações de conservação apresentadas no rótulo. A data-limite de consumo é a data a partir da qual não se consegue garantir a segurança do consumo dos alimentos, a nível microbiológico. (Autoridade de Segurança Alimentar e Económica, 2015)

Para a eficaz determinação do tempo de vida de um produto, existem várias etapas/passos que devem ser seguidos: (Food Safety Authority of Ireland, 2019)(T. K. Singh & Cadwallader, 2004)

- Descrever o produto alimentar com detalhe;
- Considerar todas as características do produto, incluindo condições de armazenamento, distribuição, uso e, ainda, possíveis fontes de contaminação;
- Consultar bibliografia sobre possível sobrevivência e crescimento de microrganismos pertinentes;
- Recorrer à microbiologia preditiva para estimar o tempo de vida;
- Realizar testagens laboratoriais como:
  - análises microbiológicas (Ex: "challenge testing");
  - análises químicas (Ex: atividade de água e pH);
  - análises físicas (Ex: análises reológicas e observação microscópica);
  - avaliação sensorial.
- Aplicar uma margem de segurança aos resultados obtidos;
- Rotular o produto com uma alegação acerca do tempo de vida;
- Implementar monitorização e verificação regular do tempo de vida.

#### 2.4.1. Análises Físico-Químicas

O pH, a atividade da água e a temperatura são os fatores mais importantes no que toca a alterações de deterioração e a crescimento microbiano. (T. K. Singh & Cadwallader, 2004) Em específico o pH, é uma característica muito importante que afeta a sobrevivência e desenvolvimentos de microrganismos nos alimentos. (Food Safety Authority of Ireland, 2019)

A escala de pH é logarítmica, ou seja, cada alteração de um ponto na escala significa uma mudança dez vezes superior ou inferior consoante o sentido desta alteração. O intervalo de pH que possibilita o crescimento microbiano é definido por um valor máximo e mínimo com um valor definido como ótimo. Geralmente, o pH é medido em alimentos macerados e/ou homogeneizados obtendo um valor médio. Em alimentos com vários componentes podem existir vários valores e, portanto, pode ser necessário fazer a medição em cada um dos componentes separadamente de forma a aferir se algum deles possibilita o crescimento ou não de microrganismos. (Food Safety Authority of Ireland, 2019)

A atividade da água é uma medida da quantidade de água livre/disponível num produto alimentar. Descreve a propriedade de energia termodinâmica da água, a capacidade de agir como solvente e de participar em reações químicas. (Food Safety Authority of Ireland, 2019) (T. K. Singh & Cadwallader, 2004)

As taxas de deterioração e crescimento microbiano depende também do teor e atividade de água. (T. K. Singh & Cadwallader, 2004)

Na maioria dos casos, a homogeneização não é recomendada pois pode causar aquecimento do produto alimentar e, conseqüentemente perder e alterar a atividade da água. Em alimentos com vários componentes, tal como o pH, a atividade da água pode também variar e, assim, pode ser necessário fazer a medição a cada um dos componentes presentes. Quando esta característica é controladora do tempo de vida e segurança do produto, deve ser monitorizada regularmente. (Food Safety Authority of Ireland, 2019)

#### 2.4.2. Análises Microbiológicas

Para além de outros importantes, a carga microbiana do início do armazenamento é um dos principais fatores que controla o crescimento de microrganismos. Espécies com *Salmonella* e *Listeria monocytogenes* não resultam obrigatoriamente em alterações no aspeto, sabor ou

textura, dificultando assim a sua deteção. (Kilcast & Subramaniam, 2016) Daí a importância da realização de análises microbiológicas de rotina e monitorização.

Os testes microbiológicos são primariamente utilizados para tomar decisões de forma crítica acerca da segurança e tempo de vida dos alimentos. (Food Safety Authority of Ireland, 2019)

Existem dois tipos de testes laboratoriais que podem ser aplicados:

- Estudos de durabilidade;
- “Challenge testing”.

Os estudos de durabilidade determinam o crescimento de microrganismos no alimento tal como foi produzido, nas condições previstas de distribuição, armazenamento e uso. (Food Safety Authority of Ireland, 2019) O tempo de vida pode ser determinado medindo a carga microbiana em vários intervalos. É aconselhado deixar uma margem de segurança ao determinar a validade de um produto. Geralmente 70% do tempo que é necessário para deteriorar é considerado o tempo de vida. (Kilcast & Subramaniam, 2016)

Quando estamos perante um produto alimentar com características intrínsecas e extrínsecas únicas, utiliza-se o “challenge testing”. Este teste é utilizado para determinar se microrganismos podem sobreviver e se desenvolver no alimento. Para isto, inocula-se o produto com várias estirpes de um microrganismo patogénico. É recomendado utilizar pelo menos três estirpes com características de crescimento conhecidas, duas isoladas de alimentos semelhantes e a terceira de um humano. Após isto, é armazenado nas condições previstas e, assim, analisa-se o eventual crescimento dos microrganismos. (Food Safety Authority of Ireland, 2019) (New Zealand Ministry for Primary Industries, 2016)

#### *2.4.3. Análises Sensoriais*

Quando a deterioração de um produto é devida a alterações de textura ou desenvolvimento de sabores estranhos, causadas por reações físico-químicas, bioquímicas ou microbianas, o mecanismo através do qual estas reações acontecem pode ser difícil de identificar. Assim, a avaliação desta deterioração passará sempre, também, por uma avaliação sensorial. (T. K. Singh & Cadwallader, 2004)

A avaliação sensorial passa, tal como o nome indica, pela utilização dos sentidos humanos para a avaliação da qualidade do produto e, durante séculos, isto tem sido feito. Todos os consumidores utilizam os seus sentidos de alguma forma quando formam opiniões acerca daquilo que consomem. (Lawless & Heymann, 2010)

O primeiro passo numa avaliação sensorial, é garantir que o método escolhido é adequado para responder às questões sobre o produto analisado. Posto isto, geralmente, os testes são classificados de acordo com o seu objetivo principal e principal uso. Na tabela 3 encontram-se os três principais tipos de análise sensorial, os seus objetivos e as principais características do painel. (Lawless & Heymann, 2010)

*Tabela 3-Classificação dos vários tipos de análise sensorial. (Lawless & Heymann, 2010)*

<b>Classificação</b>	<b>Questão a responder</b>	<b>Tipo de teste</b>	<b>Características do painel</b>
Discriminatório	Os produtos são percecionados como diferentes em algum aspecto?	Analítico	Escolhido para precisão sensorial. Possibilidade de ser treinado.
Descritivo	Como diferem os produtos em características sensoriais específicas?	Analítico	Escolhido para precisão sensorial e motivação. Painel altamente treinado.
Afetivo	Quão apreciados são os produtos ou quais são os preferidos	Hedónico	Escolhido consoante o produto. Painel não treinado.

Os testes apresentados podem ser divididos em dois grupos: objetivos e subjetivos. Os objetivos são os testes discriminatórios/diferenciativos e os descritivos. Os testes subjetivos são os afetivos que nos dão informação sobre aceitação, gostos e preferências e que são geralmente feitos por painéis de provadores não treinados. (Kemp et al., 2011)

Testes diferenciativos/discriminatórios: Estes testes caracterizam-se por determinar se existe alguma diferença perceptível entre dois produtos. A análise geralmente é feita com base nas proporções de respostas certas e erradas. Os testes discriminatórios são rápidos e podem ser realizados por um painel treinado ou não, mas nunca uma combinação dos dois. (Kemp et al., 2011) (T. K. Singh & Cadwallader, 2004)

*Tabela 4- Características dos testes discriminativos. (Lawless & Heymann, 2010)*

<b>Classificação</b>	<b>Tipo de Teste</b>	<b>Características</b>
Diferenciativos/ Discriminatórios	Triangular	Conjunto de três produtos em que um é diferente dos restantes. O provador deve identificar o que difere.
	Duo-trio	É fornecida uma amostra de referência acompanhada de outras duas amostras, uma idêntica e outra distinta. O provador deve identificar a semelhante à referência.
	Comparação em pares	Aos provadores é pedido que, de um par de amostras, escolham a mais intensa/forte num dado atributo.

Testes de análise descritiva: Estes testes quantificam as intensidades experienciadas e caracterizam as propriedades sensoriais de um determinado produto. Ou seja, ao medir as qualidades sensoriais, as suas intensidades e ocorrências é possível criar uma descrição sensorial do produto e, ao mesmo tempo, descrever e quantificar eventuais diferenças entre produtos. (Kemp et al., 2011)

Tabela 5-*Características dos testes de análises descritiva.*(Kemp et al., 2011)

Classificação	Tipo de Teste	Características
Análise Descritiva	Perfil em consenso	Provadores trabalham em grupo de forma a chegar a um consenso nos atributos e avaliações de intensidade.
	Perfil de sabores	Aroma, sabor e "sensação de boca" são avaliados em termos de qualidade. Um painel treinado avalia cada amostra individualmente e, de seguida, discute de forma a chegar a um consenso quanto ao valor a atribuir.
	Análise descritiva quantitativa	O grupo de provadores decide os atributos a analisar e avalia-os individualmente. Este teste permite obter uma avaliação sensorial qualitativa e quantitativa e os dados podem ser analisados estatisticamente.

Teste afetivo: Quantificam o grau de satisfação ou insatisfação transmitido por um determinado produto, através do método hedónico ou afetivo. (Lawless & Heymann, 2010)

Tabela 6-*Características dos testes afetivos.*(Kemp et al., 2011)(Lawless & Heymann, 2010)

Classificação	Tipo de Teste	Características
Afetivo	Escolha	Como o nome indica, a pessoa escolhe a amostra que prefere de entre várias alternativas. Não é possível aferir quanto à intensidade de gostar ou não de cada provador.
	Hedónico	Utiliza uma escala de nove pontos equilibrada com advérbios que representam alterações a nível hedónico. Permite modelar a perda progressiva de qualidade ao longo do tempo.

## 2.5. Metodologia HACCP

Para o desenvolvimento de um produto alimentar ou processo produtivo é fundamental perceber como os ingredientes, características, processo, embalagem e armazenamento afetam o produto final e, desta forma, melhor entender e controlar a segurança e deterioração do alimento. Isto implica conhecer quais os perigos biológicos que podem estar presentes, a eficácia das medidas de controlo presentes em matar ou inibir o crescimento de patogénicos. (New Zealand Ministry for Primary Industries, 2016)

O Sistema HACCP (*hazard analysis and critical control point*), sistemático e baseado em ciência, tem a capacidade de identificar perigos e respetivas medidas de controlo de forma a garantir a segurança dos alimentos. Estas medidas são aplicadas ao longo de toda a cadeia e

não apenas no produto final. Ao desenvolver um sistema HACCP é possível se sentir a necessidade de fazer alterações no processo produtivo, nas características do produto final, na forma de distribuição, uso ou até nas Boas Práticas de Higiene e Fabrico implementadas. O principal objetivo de um sistema HACCP é focar nos pontos críticos de controlo. Ao especificar limites críticos para medidas de controlo aos PCC (ponto crítico de controlo) e ações corretivas quando os limites não são cumpridos, e, ao produzir registos que são revistos antes da saída do produto, o HACCP fornece um controlo consistente e verificável para além do conseguido com as Boas Práticas de Higiene e Fabrico. (CODEX ALIMENTARIUS, 2020)

A aplicação da metodologia HACCP passa por realizar treze passos que se baseiam em sete princípios. Na tabela 7 encontra-se esta informação compilada.

*Tabela 7-Metodologia HACCP.(CODEX ALIMENTARIUS, 2020)*

<b>Metodologia HACCP</b>	
<b>Aplicação</b>	<b>Princípios</b>
Reunir a equipa HACCP e identificar o âmbito	–
Descrever o produto	–
Identificar os usos pretendidos e respetivos utilizadores	–
Construir o diagrama de fluxo/fluxograma	–
Confirmação “on-site” do diagrama construído	–
Listar todos os potenciais perigos associados a cada passo, conduzir uma análise de riscos para identificar os mais significativos e considerar todas as medidas para controlar os perigos identificados	Conduzir uma análise de perigos
Determinar os pontos críticos de controlo (PCC)	Determinar os pontos críticos de controlo
Estabelecer limites críticos válidos para cada PCC	Estabelecer os limites críticos
Estabelecer um sistema de monitorização para cada PCC	Estabelecer um sistema de monitorização de controlo dos pontos críticos de controlo
Estabelecer ações corretivas	Estabelecer as medidas corretivas a tomar quando a monitorização indica que o PCC não está controlado
Validar o plano HACCP e procedimentos de verificação	Estabelecer procedimentos de verificação para confirmar o correto funcionamento do sistema HACCP
Estabelecer documentação e registos	Estabelecer a documentação e registos acerca destes princípios e a sua aplicação
Treinar todo o pessoal envolvido	–

### 3. Material e Métodos

#### 3.1. Caracterização das Amostras

Os produtos, para os quais foi necessário o estudo de vida útil, são apresentados de seguida com a sua composição e declaração nutricional, bem como uma imagem representativa da etiqueta que acompanha o topo de cada frasco.

##### – Bolo de Chocolate com Framirocher

Ingredientes: Açúcar, farinha de **trigo**, cacau em pó (11%), **creme de cacau e wafer** (açúcar, óleo vegetal (girassol), soro de **leite** em pó, **avelãs**, cacau magro com 10/12% de manteiga de cacau, grãos de **avelã**, **wafer** (farinha de **trigo**, óleo vegetal (palma), sal, extrato de malte de cevada, agente de fermentação: bicarbonato de sódio), **leite** em pó desnatado, emulsificante de lecitina (**soja**), aromatizantes, antioxidante: extrato de alecrim) (11%), **leite**, **ovo líquido**, **manteiga** e fermento em pó.

Alergénios: Contém **ovo**, **glúten**, **leite**, **avelã** e **soja**. Pode conter vestígios de **amendoim** e **outros frutos de casca rija**.

Declaração nutricional (/100g produto): 369,4kcal Valor Energético; 30,9g Lípidos; 36,8g Hidratos de Carbono; 5,4g Proteínas; 0,1g Sal; 1,5g Fibras.

##### – Bolo de Chocolate com Framboesa

Ingredientes: Açúcar, farinha de **trigo**, cacau em pó (11%), recheio de framboesa (11%), **leite**, **ovo líquido**, **manteiga** e fermento em pó.

Alergénios: Contém **ovo**, **glúten** e **leite**.

Declaração nutricional (/100g produto): 331,5kcal Valor Energético; 28,0g Lípidos; 32,7g Hidratos de Carbono; 6,7g Proteínas; 0,1g Sal; 1,0g Fibras.



Figura 3-Secção do rótulo do bolo de chocolate com framirocher. (recurso interno da empresa)



Figura 4-Secção do rótulo do bolo de chocolate com framboesa. (recurso interno da empresa)

– Bolo de Coco com Raffaelloframi

Ingredientes: Farinha de **trigo**, **ovo**, **manteiga**, côco ralado (11%), **leite de côco** (extrato de côco, água, emulsionantes: E412, E471, E435 e E466, espessante: E415, conservante: E223) (11%), **creme de chocolate branco e côco com côco e wafer** (açúcar, óleo vegetal (girassol), **leite** em pó desnatado, soro de **leite** em pó, flocos de côco, waffer (farinha de **trigo**, óleo vegetal (palma), sal, extrato de malte de **cevada**, agente de levedante: bicarbonato de sódio), emulsificante: lecitina (de **soja**), aromatizantes, antioxidante: extrato de alecrim) (11%), açúcar, fermento em pó e flor de sal.



Figura 5-Secção do rótulo do bolo de coco com raffaelloframi. (recurso interno da empresa)

Alergênios: Contém **ovo**, **glúten**, **leite**, **sulfitos**, **amendoim** e **soja**. Pode conter vestígios de **outros frutos de casca rija**.

Declaração nutricional (/100g produto): 424,9kcal Valor Energético; 45,0g Lípidos; 13,3g Hidratos de Carbono; 5,6g Proteínas; 0,7g Sal; 2,1g Fibras.

– Bolo de Noz com Ovos Moles

Ingredientes: **Ovo líquido**, **noz** (26%), açúcar, farinha de **trigo**, creme de **ovos moles** (gema de **ovo** (47%), açúcar e água) (5%) e fermento em pó.

Alergênios: Contém **ovo**, **glúten** e **nozes**. Pode conter vestígios de **outros frutos de casca rija**.



Figura 6-Secção do rótulo do bolo de noz com ovos moles. (recurso interno da empresa)

Declaração nutricional (/100g produto): 376,7kcal Valor Energético; 28,5g Lípidos; 30,2g Hidratos de Carbono; 9,2 g Proteínas; 0,1g Sal; 1,7g Fibras.

– Bolo de Crumble de Maçã

Ingredientes: Maçã (39%), farinha de **trigo**, **manteiga**, açúcar, açúcar mascavado, limão e canela.

Alergênios: Contém **leite (lactose)** e **glúten**.

Declaração nutricional (/100g produto): 287,3kcal Valor Energético; 32,7g Lípidos; 21,5g Hidratos de Carbono; 2,8 g Proteínas; 0,0g Sal; 1,9g Fibras.



Figura 7-Secção do rótulo do bolo de crumble de maçã. (recurso interno da empresa)

– Bolo de Chocolate com Amendoim

Ingredientes: Açúcar, farinha de **trigo**, cacau em pó (11%), **amendoim** (11%), **leite**, **ovo líquido**, **manteiga**, **amendoim crocante** (1%) e fermento em pó.

Alergénios: Contém **ovo**, **glúten**, **leite** e **amendoim**. Pode conter vestígios de **outros frutos de casca rija**.

Declaração nutricional (/100g produto): 348,1kcal Valor Energético; 29,4g Lípidos; 32,9g Hidratos de Carbono; 7,6 g Proteínas; 0,1g Sal; 1,1g Fibras.



Figura 8-Secção do rótulo do bolo de chocolate com amendoim. (recurso interno da empresa)

– Bolo de Cenoura com Brigadeiro

Ingredientes: Farinha de **trigo**, cenoura (18%), **ovo**, açúcar, brigadeiro chocolate de leite (água, sacarose, **leite** gordo em pó, **cobertura de chocolate negro** (pasta de cacau, açúcar, manteiga de cacau, emulsionante: lecitina de **soja**, aroma natural de baunilha) (17%), **granulado de chocolate de leite** (1%) e fermento em pó.

Alergénios: Contém **ovo**, **leite**, **glúten** e **soja**. Pode conter vestígios de **outros frutos de casca rija**.

Declaração nutricional (/100g produto): 289,6kcal Valor Energético; 26,3g Lípidos; 27,2g Hidratos de Carbono; 5,1g Proteínas; 0,1g Sal; 1,2g Fibras.



Figura 9-Secção do rótulo do bolo de cenoura com brigadeiro. (recurso interno da empresa)

Todos os bolos individuais em copo aqui mencionados têm como público-alvo todas as faixas etárias desde crianças a adultos.

### 3.2.Sistema HACCP

Para a realização do estudo HACCP destes produtos, foi elaborado primeiramente o fluxograma dos mesmos, de seguida a sua confirmação *in loco* e só depois se procedeu então à análise de riscos.

O fluxograma desenvolvido engloba todas as etapas produtivas dos bolos em frasco, as entradas de matérias-primas e ingredientes, e, ainda, eventuais recirculações/reprocessamento e saída de produtos.

Na elaboração da análise de riscos tiveram-se em conta várias etapas como a descrição de todos os perigos possíveis de ocorrer em cada etapa do processo, as suas causas e respetivas medidas preventivas, a avaliação do grau de risco onde se tem em conta a probabilidade e a severidade, a determinação dos limites críticos, dos respetivos procedimentos de monitorização e registo e, finalmente, as medidas corretivas.

Para a avaliação do grau de risco utilizaram-se métodos de avaliação de severidade e probabilidade já anteriormente usados pela empresa. Apresentam-se nas tabelas 8 e 9 os referidos métodos.

*Tabela 8-Probabilidades para avaliação de risco. (Recurso interno da empresa)*

	<b>Probabilidade</b>
<b>Elevada</b>	Ocorre frequentemente (mais de 5 vezes ano)
<b>Média</b>	Ocorre com alguma frequência (2 a 5 vezes por ano)
<b>Baixa</b>	Ocorre com pouca frequência (1 vez por ano)
<b>Muito baixa</b>	Nunca ocorreu, mas pode ocorrer

*Tabela 9-Severidades para a avaliação de risco. (Recurso interno da empresa)*

<b>Severidade</b>	<b>Exemplo de perigos</b>	<b>Justificação</b>	<b>Bibliografia</b>
<b>Elevada</b>	Alergénios	Provoca efeitos muito graves para a saúde do consumidor. Originam casos que obrigam a internamento hospitalar e podem provocar a morte	Regulamento 1169/2011 e alterações
	Patogénicos (E.coli, Listéria monocytogenes, Salmonela, etc)		www.asae.pt (riscos alimentares)
	Corpos estranhos dimensão superior a 7mm (vidros, metais, etc).		FDA
<b>Média</b>	Microorganismos (Bolores, leveduras, Bacillus cereus, Clostridium perfringens tipo A, Campylobacter jejuni, Yersinia enterocolitica, toxina do Staphylococcus aureus, a maioria dos parasitas)	O consumo de produtos contendo o perigo identificado pode afectar ligeiramente a saúde do consumidor, especialmente se se tratar de um grupo sensível ou ter algum impacto na mesma por exposições prolongadas ao perigo.	www.asae.pt (riscos alimentares)
	Corpos estranhos dimensão inferior a 7mm e não cortantes plásticos, pedaços do material de embalagem, etc).		FDA
<b>Baixa</b>	Resíduos de detergentes e de lubrificantes	Causa uma pequena lesão no consumidor	n.a.
<b>Muito baixa</b>	Pragas	Não causa danos ao consumidor	n.a.

Para a classificação de cada risco significativo utilizou-se a árvore de decisão apresentada na figura 10, retirada da norma ISO 22000:2018.

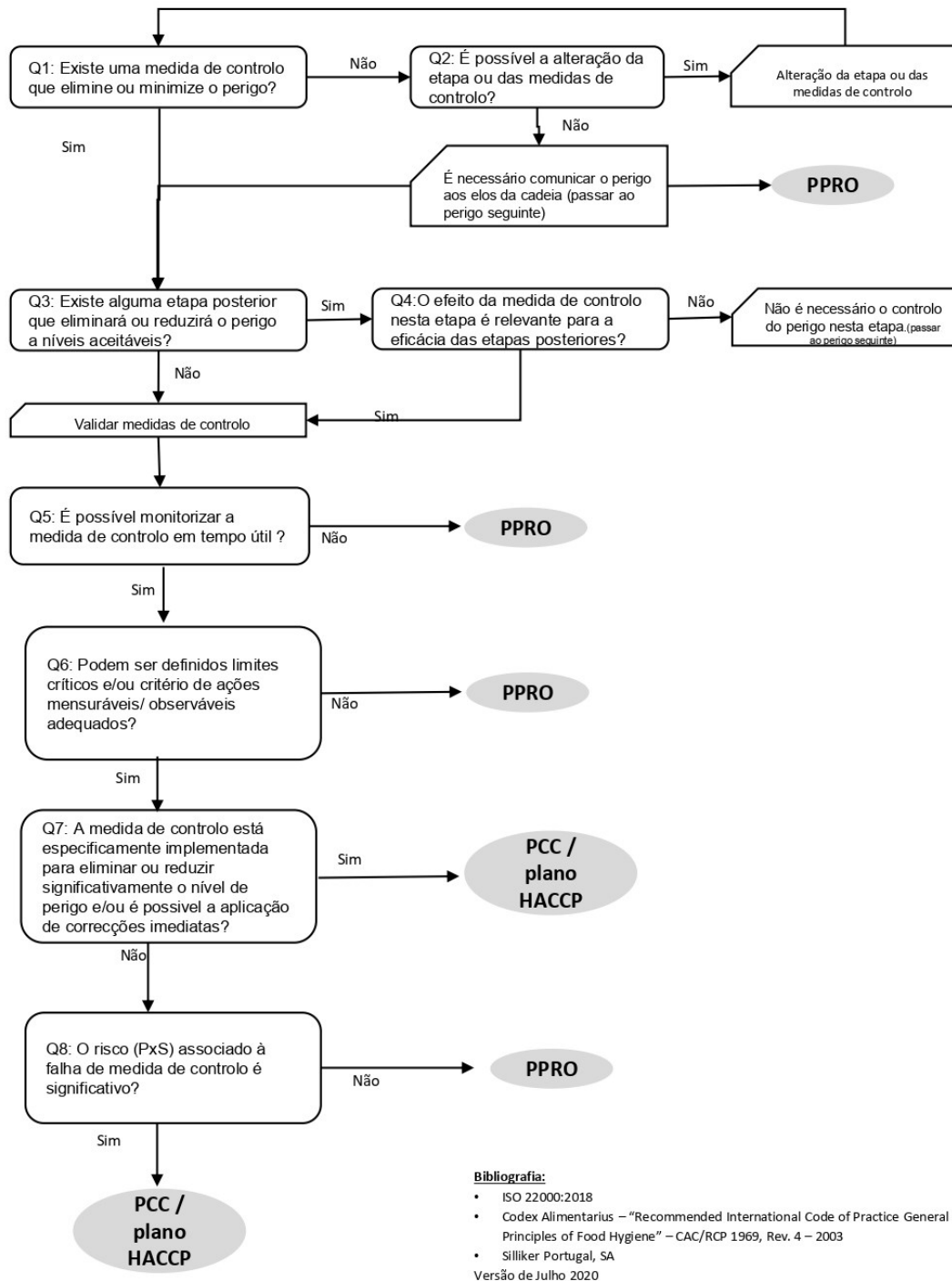


Figura 10-Árvore de decisão para classificação de perigos. (ISO 22000:2018)

Esta árvore de decisão permite-nos classificar cada perigo identificado segundo a sua severidade e a facilidade de controlo em tempo útil. Assim, os perigos com grau de risco igual ou superior a 4, podem ser classificados como:

- PCC (ponto crítico de controlo) – ponto do processo onde as medidas de controlo são aplicadas para prevenir ou reduzir um perigo alimentar significativo para um nível aceitável e onde o limite crítico definido e medido permitem a aplicação de correções;
- PPRO (programa de pré-requisitos operacionais) – medida de controlo (ou conjunto de medidas) aplicadas para prevenir ou reduzir um perigo alimentar para um nível aceitável e onde certas medidas ou observações permitem um controlo eficaz do processo e/ou produto. (CODEX ALIMENTARIUS, 2020)

### 3.3. Análises Físico-Químicas

Para todos os bolos analisados, realizaram-se medições de atividade da água ( $a_w$ ) e pH para cada um dos seus componentes. Por exemplo, para o bolo em frasco de chocolate com amendoim, as medições foram feitas ao bolo de chocolate, ao brigadeiro de amendoim e ao crocante de amendoim.

Para a medição de pH utilizou-se “Sension+ PH 31 Lab pH meter” que foi calibrado para os valores 4, 7 e 9 de pH antes da sua utilização, e para a atividade da água usou-se “LabMaster-aw neo”. Também este equipamento estava calibrado. Em algumas medições e, devido à natureza do produto, mais especificamente ao crocante de amendoim e às escamas de chocolate de leite, não foi possível obter o pH com nenhum tipo de leitor de pH nem com tiras medidoras. Quanto ao recheio de rafaello (creme de chocolate branco e coco com coco e wafer) e de ferrero (creme de cacau e wafer) nenhum dos leitores disponíveis conseguiu obter uma leitura pelo que os valores apresentados no ponto 4.2. foram obtidos através de tiras medidoras de pH.

### 3.4. Microbiologia Preditiva

De modo a fazer uma previsão da segurança das várias amostras analisadas, recorreu-se à microbiologia preditiva, mais especificamente à plataforma *ComBase*, para estimar o crescimento de certos microrganismos tendo em conta as condições de armazenamento e as características de cada componente da amostra.

Para utilizar esta plataforma e, mais especificamente, o *ComBase Predictor*, foram considerados os valores de atividade da água ( $a_w$ ) e de pH determinados nas análises físico-químicas e os valores de temperatura de 3°C e -18°C. Observou-se que, para muitos

microrganismos, os valores característicos das amostras, encontravam-se fora dos limites de predição, pois considera-se não haver crescimento microbiano para esses valores. As temperaturas referidas também não eram sempre possíveis de se aplicar pelo que se optou por fazer as previsões com as menores temperaturas disponíveis para cada microrganismo.

Dos microrganismos disponíveis na plataforma, escolheu-se analisar *Bacillus Subtilis*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* e, ainda, *Salmonella*. Escolheram-se estes microrganismos, uma vez que, dos microrganismos recomendados a analisar no documento “Interpretação de resultados de ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo e em superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar” do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, estes eram aqueles que se encontravam disponíveis e mencionados nas duas ferramentas. Estes microrganismos são, também, característicos e indicadores de segurança em alimentos prontos a consumir.

O *Bacillus Subtilis*, uma bactéria gram-positiva formadora de esporos, encontra-se maioritariamente em matérias-primas cruas, como é o caso das farinhas e açúcar. (Smith et al., 2004) Os esporos de *Bacillus* são resistentes ao calor e conseguem sobreviver ao processo de cozimento, podendo germinar durante o arrefecimento do produto.(Kontominas, 2014)

A *Escherichia coli* é uma bactéria gram-negativa normalmente presente no trato intestinal de indivíduos de sangue quente. Esta bactéria apresenta benefícios para o hospedeiro pois evita que microrganismos patogénicos colonizem neste local. No entanto, existem algumas estirpes destes microrganismos que são patogénicas, como é o caso da ETEC, EPEC, EHEC, EIEC, EAEC e DAEC. Assim, esta bactéria é ótimo indicador de higiene. (Food and Drug Administration, 2012)

A *Listeria monocytogenes* é uma bactéria flagelada capaz de sobreviver e até se desenvolver a temperaturas negativas e, portanto, de bastante preocupação. Alimentos que contenham grandes números destes microrganismos podem causar listeriose quando consumidos, sendo fatal em 20 a 30% dos casos. (New Zealand Ministry for Primary Industries, 2016)(Food and Drug Administration, 2012)(Chan & Wiedmann, 2008)

O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria gram-positiva, altamente tolerante a sais e açúcares que, em condições favoráveis, produz toxinas hidrossolúveis e termorresistentes (causadoras de gastroenterites em humanos) que se mantêm ativas mesmo após a pasteurização. (Autoridade de Segurança Alimentar e Económica, n.d.-b). A sua presença está associada à contaminação de matéria-prima crua ou à contaminação cruzada que pode ocorrer como

consequência de mau manuseamento do alimento durante o processamento ou armazenamento. (Pérez-Rodríguez et al., 2007)

A *Salmonella* é uma bactéria gram-negativa em forma de bastonete responsável por grande parte das infecções transmitidas pelos alimentos, mais especificamente a salmonelose. Esta bactéria não se multiplica a temperaturas de refrigeração, mas é bastante resistente à congelação. Os principais alimentos associados a estas infecções são a carne de animais de consumo, os ovos e o leite. (Food and Drug Administration, 2012) (Autoridade de Segurança Alimentar e Económica, n.d.-a)

### 3.5. Análises Microbiológicas

De modo a confirmar a segurança dos bolos estudados, foram realizadas análises microbiológicas aos bolos individuais refrigerados ao fim de 7 dias. Realizaram-se análises a microrganismos totais a 30°C, incubados durante 72h, e, também, a *Enterobacteriaceae* a 37°C, incubadas durante 24h.

Primeiramente, preparam-se os meios de cultura a utilizar. Preparou-se meio PCA e meio “Rapid’Enterobacteriaceae Agar” de acordo com as instruções presentes em cada uma das embalagens que se encontram representadas nas figuras 11 e 12, respetivamente.

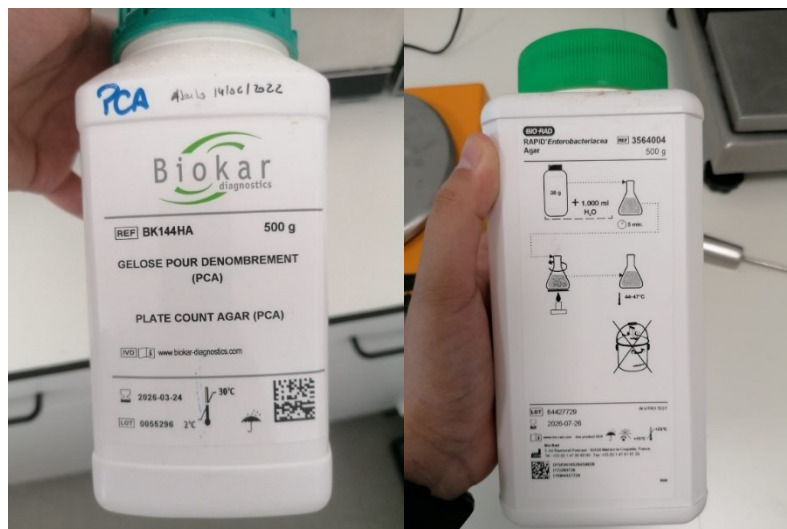


Figura 11-Embalagens dos meios PCA e "Rapid'Enterobacteriaceae Agar"



*Figura 12-Meios de cultura prontos a serem utilizados.*

De seguida, enquanto se procedeu à preparação das amostras, colocaram-se os meios prontos em banho-maria a 50°C de modo a manterem a sua temperatura e não solidificarem.

Para a preparação das amostras, começou-se por pesar 10g de cada amostra de bolo e, de seguida, juntou-se 90g de BPW num saco próprio para o efeito que se levou a um “BagMixer” de forma a homogeneizar bem a solução. A partir desta solução realizaram-se várias diluições como se mostra na imagem 13.



*Figura 13-Diluições feitas a partir da solução inicial com a amostra.*

Finalmente, plaqueou-se 1ml de cada diluição para placas de Petri e adicionou-se os meios de cultura utilizando a técnica de incorporação.

A contagem dos microrganismos foi conduzida de acordo com a norma ISO 7218:2007 e considerando a fórmula 4.5.1 para o cálculo das unidades formadoras de colónias por grama de alimento:

$$N = \frac{\sum c}{V \times 1,1 \times d} \quad (4.5.1)$$

$\sum c$  = somatório de colónias contadas em duas

V = volume do inóculo (em ml)

d = diluição correspondente

Considerou-se que, quanto aos bolos individuais congelados, não existiam condições para crescimento microbiano pelo que não se realizaram análises microbiológicas a estes. Desta forma, optou-se então por apenas analisar os bolos refrigerados, de forma a confirmar apenas as conclusões tiradas através da microbiologia preditiva.

### 3.6. Análise Sensorial

Sendo o principal objetivo deste trabalho a determinação do tempo de vida dos bolos mencionados anteriormente, considerou-se de extrema importância estudar e avaliar as mudanças sensoriais que ocorrem nos produtos, principalmente, tendo em conta que, sendo produtos refrigerados e congelados, as alterações microbiológicas são pouco expectáveis. Para além disso, como este tipo de produtos alimentar não são considerados essenciais, mas sim produtos que são ingeridos por “prazer”, foi fundamental avaliar os atributos sensoriais durante um certo período de tempo.

Quando é necessário determinar um estado afetivo de um produto, isto é, quão gostado é, um teste de aceitação é a escolha mais indicada. (Meilgaard et al., 1999)

Desta forma, para os 7 bolos em frasco diferentes, realizaram-se análises sensoriais aos dias 0, 3 e 7 para os bolos refrigerados e aos dias 0, 30, 60 e 90 para os bolos congelados. É importante referir todos os bolos foram avaliados quer em condições de refrigeração, quer de congelação. Os bolos refrigerados foram retirados do frigorífico algum tempo antes da prova de modo a ficarem à temperatura ambiente. Os bolos congelados foram previamente descongelados à temperatura de refrigeração e colocados à temperatura ambiente antes de serem avaliados sensorialmente.

O painel de provadores de cada prova foi composto pelos colaboradores da Artiframi que, em cada prova, avaliaram os atributos dos bolos (aspeto, cor, odor, sabor, textura e

frescura) com base numa escala hedónica de 1 a 9, apresentada de seguida na tabela 10, com o intuito de avaliar a aceitabilidade de cada um dos bolos.

*Tabela 10-Escala hedónica utilizada nas análises sensoriais.*

Valor a atribuir	Significado correspondente
9	Extremamente agradável
8	Muito agradável
7	Agradável
6	Ligeiramente agradável
5	Nem agradável nem desagradável
4	Ligeiramente desagradável
3	Desagradável
2	Muito desagradável
1	Extremamente desagradável

Desde o seu desenvolvimento que a escala de nove pontos tem sido muito usada e com sucesso. Para além disto, a escala caracteriza-se por ser facilmente entendida por pessoas não treinadas em análise sensorial e requerem pouca instrução para serem entendidas. (Stone et al., 2020)

Em cada prova foi apenas avaliada uma amostra de cada tipo de bolo, sendo que, na mesma prova se avaliaram diferentes tipos de bolos. As amostras foram codificadas com três algarismos aleatórios, pelo que, cada bolo em cada dia diferente após produção, apresentam códigos diferentes.

Assim sendo, definiu-se como limite o valor 7 da escala hedónica (agradável), isto é, o valor mínimo que um atributo pode ter de forma a ser considerado aceitável.

No Apêndice 1, apresenta-se um exemplo de uma das fichas de análise sensorial desenvolvidas especificamente para as provas.

### **3.7. Análise de Resultados**

Para a elaboração da análise de resultados obtidos com as respostas das análises sensoriais, procedeu-se à realização da ANOVA (análise de variância) com medidas repetidas, de forma a analisar se foram detetadas diferenças significativas nos atributos analisados durante os 7 dias de refrigeração e os 90 dias de congelação.

Para fazer esta análise, considerou-se o nível de significância igual a 0,05.

Foi também necessário definir duas hipóteses quanto às possíveis conclusões a retirar que se apresentam de seguida:

- H0 (hipótese nula) = não existem diferenças significativas entre as médias das avaliações dos vários tempos analisados.
- H1 (hipótese alternativa) = existem diferenças significativas entre as médias das avaliações dos vários tempos analisados.

Com esta análise obtém-se o valor  $p$ , que é comparado com o nível de significância. Se  $p < 0.05$  rejeita-se a hipótese nula, ou seja, anui-se a hipótese alternativa.

Para a realização destes cálculos recorreu-se à plataforma online *DATAtab*.

## 4. Resultados e Discussão

### 4.1. Metodologia HACCP

#### 4.1.1. Fluxograma e descrição de etapas

No âmbito da determinação dos tempos de vida dos bolos em frasco foi também desenvolvido o fluxograma dos mesmos, visto ser algo que a empresa ainda tinha em falta. Posto isto, apresenta-se na figura 14, o fluxograma dos bolos individuais em frasco.

De seguida, apresenta-se a descrição de cada uma das etapas apresentadas no fluxograma com informações relevantes ao processo como, por exemplo, temperaturas de operação e materiais utilizados.

- Receção de MP – embalagem: São rececionadas as matérias-primas de embalagem, nomeadamente copos de vidro, tampas e material de rotulagem.
- Receção de MP – à temperatura ambiente: Nesta etapa são rececionadas todas as matérias-primas à temperatura ambiente, nomeadamente, sacarose, leite, óleo, coberturas, entre outros.
- Receção de MP – à temperatura de refrigeração: À temperatura de refrigeração são rececionadas matérias-primas como os ovos, frutas, entre outros a temperaturas aproximadamente de 4°C +/- 3°C.
- Armazenamento de MP – embalagem: Esta matéria-prima é armazenada no armazém de Matérias-primas à temperatura ambiente de cerca de 21°C.
- Armazenamento de MP – à temperatura ambiente: As matérias-primas são armazenadas no armazém de matérias-primas à temperatura ambiente de aproximadamente 21°C em local fresco, ventilado e seco.
- Armazenamento de MP – à temperatura de refrigeração: As matérias-primas são armazenadas no interior do armazém de matéria-prima em câmara de refrigeração a temperatura controlada de 4°C +/- 3°C.
- Desinfecção das frutas – as frutas são desinfetadas de acordo com as especificações do fabricante do desinfetante em causa.
- Preparação e pesagem dos ingredientes para a massa de bolo: Os ingredientes são pesados nas bancadas destinadas a esse fim com recurso a balanças disponíveis nessas bancadas, segundo as formulações específicas de cada bolo em frasco.
- Mistura dos ingredientes e homogeneização: A mistura dos ingredientes é feita de forma

manual com possível auxílio de batedeira, espátula e/ou varinha mágica num recipiente destinado a este fim.

- Enformagem: A mistura obtida é enformada numa forma específica para os bolos em questão, sendo que, o bolo de crumble de maçã é enformado numa outra forma diferente também especificada.
- Processamento térmico (cozedura): Nesta etapa as formas com a mistura são processadas termicamente de acordo com um binómio de tempo e temperatura conhecido de forma a garantir, tanto qualidade microbiológica como qualidade sensorial.
- Arrefecimento e desenformagem: O arrefecimento e desenformagem ocorrem à temperatura ambiente na área destinada a este fim.
- Corte e moldagem: Nesta etapa a massa de bolo já cozida, é cortada de uma forma específica e adequada à embalagem que irá ser utilizada em etapas mais à frente.
- Preparação, pesagem e adição dos ingredientes para recheio/cobertura: Os ingredientes são pesados nas bancadas destinadas a esse fim com recurso a balanças disponíveis nessas bancadas, segundo as formulações específicas de cada bolo em frasco.
- Acondicionamento: Durante esta etapa de finalização, tanto o bolo já cortado como os recheios e respetivas coberturas são colocados, em camadas, nas embalagens (frascos de vidro). No caso do bolo de crumble de maçã não existe a formação de camadas.
- Rotulagem: A rotulagem é sempre feita imediatamente após o acondicionamento, garantindo assim a presença de informações importantes como validade e lote.
- Armazenamento em câmara de refrigeração: Os bolos em frasco finalizados são armazenados em câmara de refrigeração à temperatura de 4°C +/- 3°C.
- Armazenamento em câmara de congelação: Os bolos em frasco finalizados são armazenados em câmara de refrigeração à temperatura de -18°C.
- Expedição: Este passo consiste na retirada do produto necessário das respetivas câmaras e colocação nas carrinhas de transporte.
- Distribuição: A distribuição/transporte de produto final é sempre feita em carrinha com sistema de refrigeração com temperaturas adequadas aos produtos em causa.



#### 4.1.2. Análise de Perigos

Após o desenvolvimento do fluxograma, procedeu-se à análise de riscos através do método e tabelas apresentadas anteriormente no ponto 3.2.

Na tabela 11, encontram-se os efeitos dos principais processos presentes no processo produtivo dos produtos estudados e o respetivo efeito nos principais microrganismos e consequentemente no tempo de vida. Estas informações são importantes para proceder então à análise perigos de forma correta e de forma a compilar as medidas de controlo mais adequadas.

*Tabela 11-Efeito de diferentes processos produtivos em variados microrganismos. (New Zealand Ministry for Primary Industries, 2016)*

Processo	Efeito em bactérias vegetativas, esporos de bolores e	Efeito em esporos bacterianos	Impacto na segurança alimentar	Impacto no tempo de vida
Cozimento (incluindo assar)	Reduzido para quantidades muito baixas	Não existe diminuição de quantidades e o processo pode ativar a germinação dos esporos	Bactérias patogénicas vegetativas são inativadas ao usar um processo validado. Esporos sobrevivem e podem germinar se o produto não for arrefecido ou consumido imediatamente. Algumas das toxinas pré-formadas são inativadas.	Tempo de vida estendido
Arrefecimento de alimentos cozinhados	Redução mínima das quantidades	Germinação e crescimento potencial se o arrefecimento for incontrolado	Bactérias patogénicas formadores de esporos podem germinar se o arrefecimento não for realizado de forma correta.	Diminuído se o processo não for controlado e houver germinação de esporos
Temperatura de armazenamento	Refrigerada (<5°C) - diminui o crescimento Congelado - para o crescimento da maioria dos microrganismos	Refrigerada (<5°C) - para o crescimento exceto para tolerantes Congelado - para a germinação e crescimento da maioria dos esporos bacterianos, para outros diminui as quantidades	Refrigerado (<5°C) - bactérias patogénicas resistentes ao frio são uma preocupação se presentes Congelado - para o crescimento da maioria das bactérias patogénicas e a quantidade de algumas diminui ao longo do tempo	Estendida para refrigerado e estendido significativamente para congelado

Nesta análise de perigos identificaram-se, então, os perigos presentes em cada etapa de produção, a sua descrição e classificação, as causas e respetivas medidas preventivas e, ainda, o grau de risco. Com estas informações, utilizou-se a árvore de decisão também apresentada na imagem 4.1.2 e, de seguida, identificaram-se PCC's e PPRO's. Após esta identificação, estipularam-se limites críticos, métodos de monitorização e ainda ações corretivas.

Na tabela 12 a 15 apresentam-se, os perigos identificados como PCC's e PPRO's.

No Apêndice 2, é possível encontrar as tabelas relativas a estes perigos com os respetivos limites críticos, processos de monitorização e ações corretivas.

Tabela 12-Identificação e classificação de perigo como PCC.

Etapa	Análise de Perigos				Grau de Risco			Árvore de Decisão								
	Classificação do perigo	Descrição do perigo	Causas	Medidas preventivas	P	S	Nível de Risco	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	Q7	Q8	PCC/PPRo
Processamento térmico (cozedura)	Biológico	Proliferação de microrganismos patogénicos	Cozedura a temperatura e tempo insuficiente.	Controlo contínuo e registos de tempo/temperatura.	1	4	4	S	-	N	-	S	S	S		PCC1

Tabela 13-Identificação e classificação de perigos como PPRO

Etapa	Análise de Perigos				Grau de Risco			Árvore de Decisão								
	Classificação do perigo	Descrição do perigo	Causas	Medidas preventivas	P	S	Nível de Risco	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	Q7	Q8	PCC/PPRo
Receção de MP - à temperatura ambiente	Químico	Presença de alergénios não identificados	Matérias-primas com este componente em identificação em falta.	Qualificação de fornecedores. Atualização de listas de alergénios.	1	4	4	S	-	N	-	N	-	-	-	PPRo
	Físico	Presença de corpos estranhos	Más práticas de fabrico por parte do fornecedor. Contaminação.	Qualificação de fornecedores. Formação do pessoal envolvido.	1	4	4	S	-	N	-	N	-	-	-	PPRo
Receção de MP - à temperatura de refrigeração	Químico	Presença de alergénios não identificados	Matérias-primas com este componente em identificação em falta.	Qualificação de fornecedores. Atualização de listas de alergénios.	1	4	4	S	-	N	-	N	-	-	-	PPRo
	Físico	Presença de corpos estranhos	Más práticas de fabrico por parte do fornecedor. Contaminação.	Qualificação de fornecedores. Formação do pessoal envolvido.	1	4	4	S	-	N	-	N	-	-	-	PPRo
Receção de MP - material de embalagem	Físico	Presença de corpos estranhos	Produto contaminado durante o transporte. Deficientes práticas de fabrico.	Inspeção visual da mercadoria. Qualificação e formação do pessoal/fornecedores.	2	4	8	S	-	N	-	N	-	-	-	PPRo

Tabela 14-Identificação e classificação de perigos como PPRO

Etapa	Análise de Perigos				Grau de Risco			Árvore de Decisão								
	Classificação do perigo	Descrição do perigo	Causas	Medidas preventivas	P	S	Nível de Risco	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	Q7	Q8	PCC/PPRo
<b>Preparação e pesagem dos ingredientes para a massa de bolo</b>	Químico	Contaminação com alergénios	Realização de procedimentos de limpeza inadequados. Troca de ingredientes/uso do utensílio errado.	Formação do pessoal envolvido. Utilização de boas práticas de higiene.	1	4	4	S	-	N	-	N	-	-	-	PPRo
<b>Preparação dos ingredientes para recheio/cobertura</b>	Químico	Contaminação com alergénios	Realização de procedimentos de limpeza inadequados. Troca de ingredientes/uso do utensílio errado (não cumprimento do código de cores).	Formação do pessoal envolvido. Utilização de boas práticas de higiene.	1	4	4	S	-	N	-	N	-	-	-	PPRo
<b>Mistura dos ingredientes e homogeneização</b>	Químico	Contaminação com alergénios	Realização de procedimentos de limpeza inadequados. Uso do utensílio errado (não cumprimento do código de cores).	Formação do pessoal envolvido. Utilização de boas práticas de higiene.	1	4	4	S	-	N	-	N	-	-	-	PPRo
<b>Acondicionamento</b>	Físico	Contaminação por corpos estranhos (vidro das embalagens em caso de quebra)	Incorreto manuseamento das embalagens.	Cumprimento de boas práticas de produção. Qualificação e formação do pessoal.	1	4	4	N	N	-	-	-	-	-	-	PPRo
<b>Rotulagem</b>	Físico	Lote e validade inexistente ou mal colocadas Alergénios mal identificados	Etiquetas elegíveis. Rotulagem mal realizada.	Inspeção visual do procedimento e dos rótulos. Qualificação e formação do pessoal.	1	4	4	S	-	N	-	S	N	-	-	PPRo

Tabela 15-Identificação e classificação de perigos como PPRO

Etapa	Análise de Perigos				Grau de Risco			Árvore de Decisão								
	Classificação do perigo	Descrição do perigo	Causas	Medidas preventivas	P	S	Nível de Risco	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	Q7	Q8	PCC/PPRo
Armazenamento em câmara de refrigeração	Biológico	Desenvolvimento de patogénicos	Incorreto armazenamento. Falha na cadeia de frio. Temperaturas inadequadas de armazenamento.	Registos de temperatura durante o armazenamento refrigerado.	2	3	6	S	-	N	-	S	N	-	-	PPRo
Armazenamento em câmara de congelação	Biológico	Desenvolvimento de patogénicos	Incorreto armazenamento. Falha na cadeia de frio. Temperaturas inadequadas de armazenamento.	Registos de temperatura durante o armazenamento refrigerado.	2	3	6	S	-	N	-	S	N	-	-	PPRo
Distribuição	Biológico	Desenvolvimento de patogénicos	Temperaturas elevadas durante o transporte do produto. Falha na cadeia de frio.	Registos de temperatura durante o transporte	2	3	6	S	-	N	-	S	N	-	-	PPRo

## 4.2. Análises Físico-Químicas

Para a medição do pH e da atividade da água utilizaram-se, então, os equipamentos “Sension+ PH 31 Lab pH meter” e “LabMaster-aw neo” e os resultados obtidos, para os vários componentes dos bolos analisados, encontram-se na tabela 16 apresentada de seguida.

Tabela 16-Resultados das análises físico-químicas.

Componente	pH	aw
Bolo de chocolate	6,6	0,9261
Brigadeiro de amendoim crocante	5,99	0,7566
Crocante de amendoim	-	0,3032
Recheio de frutos vermelhos	3,99	0,9192
Recheio de ferrero	5 (tiras medidoras)	0,2907
Bolo de cenoura	6,59	0,8704
Brigadeiro de chocolate de leite	5,79	0,8482
Escamas de chocolate de leite	-	0,5236
Crumble de maçã	3,69	0,9493
Bolo de côco	6,68	0,928
Recheio de rafaello	4,5 (tiras medidoras)	0,3547
Ovos moles	6,47	0,8767
Bolo de noz	6,31	0,8993

Como se pode observar na tabela 16, existem alguns componentes para os quais não foi possível obter um valor de pH devido à natureza do produto, como é o caso do crocante de amendoim e das escamas de chocolate de leite. Os valores do recheio de ferrero e de rafaello foram obtidos com recurso a tiras medidoras de pH, pela mesma razão.

A maioria dos microrganismos possui um crescimento ótimo para valores de pH próximos do neutro, ou seja, de 6.0 a 7.5. Bolores e leveduras têm uma maior tolerância a pH ácido, sendo que leveduras crescem melhor em pH entre 4.0 e 6.0 e bolores entre 3.5 e 5.0. (“Factors Affecting Microbial Growth in Foods,” 2016)

Sabe-se que para valores de  $a_w < 0.6$  não é expectável deterioração do produto alimentar devido a crescimento de microrganismos, no entanto podem ainda ocorrer reações químicas a valores bastante mais baixos. (T. K. Singh & Cadwallader, 2004)

Em relação a valores de  $a_w$ , geralmente bactérias Gram-negativas requerem um valor mais elevado – 0.93 – em relação a bactérias Gram-positivas – 0.90. A maioria das bactérias deteriorativas não crescem abaixo de 0.90. Certas espécies de leveduras (*Debaryomyces hansenii*, *Hansenula anomala*, and *Candida pseudotropicalis*) são capazes de crescer a valores

de 0,93, e outras (*Zygosaccharomyces rouxii*, *Zygosaccharomyces bailii*, and *Zygosaccharomyces bisporus*), em alimentos como compotas e xaropes, com valores mais baixos até 0,60. O valor mínimo para o crescimento de bolores é de 0,85, sendo que a germinação de esporos é inibida a 0,93. (“Factors Affecting Microbial Growth in Foods,” 2016)

Na tabela 17, encontra-se o principal desta informação compilado.

Tabela 17-Condições mínimas de crescimento de vários microrganismos.(T. K. Singh & Cadwallader, 2004)

Tipo de microrganismo	Condições mínimas de crescimento	
	pH	a <sub>w</sub>
Maioria dos bolores	<0,2	0,8
Maioria das leveduras	1 a 5	0,88
<i>Bacillus subtilis</i>	4,2 a 5	0,95
<i>Escherichia coli</i>	4	0,95
<i>Listeria monocytogenes</i>	4,3	0,92
<i>Salmonella spp.</i>	4	0,94
<i>Staphylococcus aureus</i>	4 (4,5 para toxina)	0,86 (0,9 para toxina)

Posto isto, podemos observar que, a grande maioria dos componentes analisados apresenta valores de pH baixos que impossibilitam o crescimento da maioria dos microrganismos, no entanto ainda é possível o crescimento de bolores e alguns casos até leveduras. Em relação à atividade de água, apenas o crocante de amendoim, recheio de ferrero, escamas de chocolate de leite e o recheio de rafaello possuem valores que não permitem crescimento de microrganismos.

### 4.3.Microbiologia Preditiva

A título representativo, encontram-se, de seguida, na Figura 13, os resultados obtidos na plataforma mencionada para o bolo de chocolate refrigerado ao fim de 7 dias (168 horas), que se encontra em três bolos distintos: bolo de chocolate com amendoim, bolo de chocolate com frutos vermelhos e, ainda, bolo de chocolate Ferrero.

Na plataforma *ComBase*, é considerado que todos os microrganismos existem a uma carga microbiana inicial de 3 logCFU/g e este valor não foi alterado para a realização destas previsões, uma vez que o objetivo principal nesta fase era comprovar que esta carga não aumentava, ou seja, que não existia crescimento relevante dos respetivos microrganismos.

Na plataforma utilizada, as temperaturas mínimas possíveis de analisar são 10°C para os microrganismos *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis*, 7,5°C para *Staphylococcus aureus*, 7°C para *Salmonella spp.* e 1°C para *Listeria monocytogenes*. Assim, não é possível utilizar esta plataforma para obter uma previsão gráfica do crescimento dos microrganismos à temperatura de congelação. No entanto, tal como referido anteriormente no ponto 3.1., o crescimento de microrganismos à temperatura de congelação (-18°C) não é expectável.

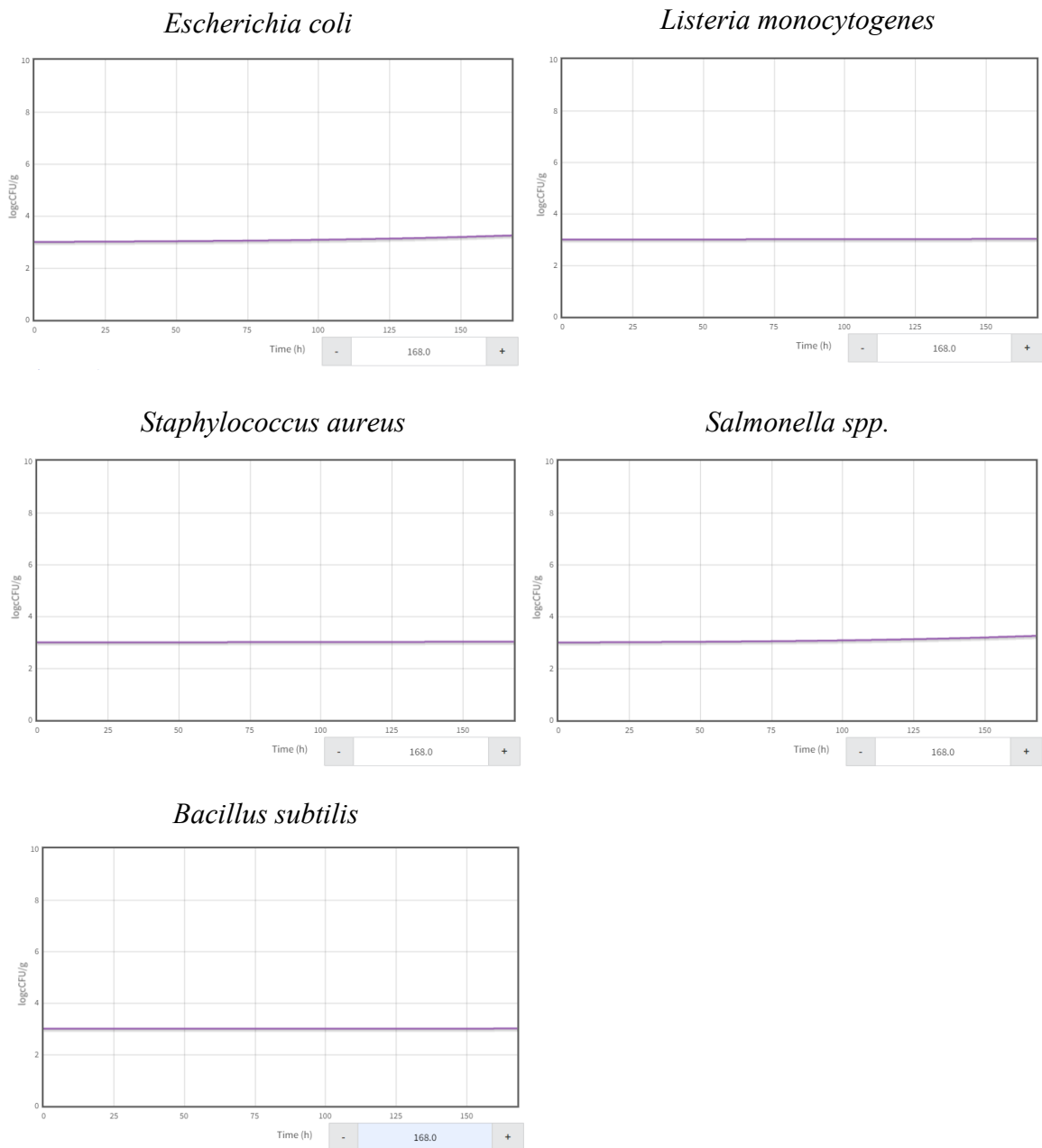


Figura 15-Resultados de microbiologia preditiva para o bolo de chocolate. (Plataforma ComBase)

Os resultados referentes aos restantes componentes de todos os restantes bolos encontram-se no Apêndice 3.

É possível verificar em alguns casos uma ligeira subida da curva que pode ser explicado pelo facto de os dados possíveis de inserir na plataforma não corresponderem à realidade, mas sim ao mínimo valor permitido pelo “ComBase”. Assim, numa perspetiva de melhoria futura seria importante realizar extensas análises microbiológicas aos vários microrganismos utilizados de forma a comprovar se efetivamente existe crescimento ou não.

Avaliando, então, todos os resultados obtidos é possível verificar que para os 7 dias de refrigeração considerados não é previsto um crescimento significativo dos microrganismos analisados, considerando assim os bolos seguros a nível microbiológico para este período de tempo quando conservado refrigerado a uma temperatura de 3°C.

#### 4.4. Análises Microbiológicas

Tal como foi referido anteriormente, realizaram-se análises microbiológicas a microrganismos totais e a *Enterobacteriaceae* às 7 amostras de bolos refrigerados.

Na tabela 18 seguinte, apresenta-se os resultados para todas as análises realizadas de acordo com a ISO 7218:2007(E).

Tabela 18-Resultados das análises microbiológicas

Amostras	Resultados da contagem (UFC/g)	
	Microrganismos totais a 30°C	<i>Enterobacteriaceae</i> a 37°C
Bolo de chocolate com framirocher	7,3x10 <sup>3</sup>	menos de 1/10 microrganismos por grama
Bolo de chocolate com framboesa	9,1x10 <sup>2</sup>	os microrganismos estão presentes mas em quantidade inferior a 4x10 <sup>2</sup>
Bolo de chocolate com amendoim	os microrganismos estão presentes mas em quantidade inferior a 4x10 <sup>3</sup>	menos de 1/10 microrganismos por grama
Bolo de coco com rafaelloframi	os microrganismos estão presentes mas em quantidade inferior a 4x10 <sup>3</sup>	menos de 1/10 microrganismos por grama
Bolo de crumble de maça	menos de 1/10 microrganismos por grama	menos de 1/10 microrganismos por grama
Bolo de cenoura com brigadeiro	os microrganismos estão presentes mas em quantidade inferior a 4x10 <sup>3</sup>	menos de 1/10 microrganismos por grama
Bolo de noz com ovos moles	3,2x10 <sup>4</sup>	6,2x10 <sup>3</sup>

De seguida, na tabela 19 apresenta-se uma compilação dos dados mais pertinentes retirados do documento “Interpretação de resultados de ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo e em superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar: valores-guia.” do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge.

Tabela 19-Valores guia de análises microbiológicas.(Saraiva et al., 2019)

Microrganismos	Resultado		
	Satisfatório	Questionável	Não Satisfatório
Microrganismos totais a 30°C	$<10^5$	$10^5 - \leq 10^6$	$>10^6$
<i>Enterobacteriaceae</i> a 37°C	$<10^4$	$10^4 - \leq 10^5$	$>10^5$

Fazendo, então, uma comparação das duas tabelas é possível observar que todos os resultados obtidos se encontram abaixo do limite máximo definido como satisfatório, isto é, inferior a  $10^5$  para microrganismos totais e inferior a  $10^4$  para *Enterobacteriaceae*. Assim sendo, pode-se afirmar que, microbiologicamente, os 7 bolos se mantêm seguros durante 7 dias quando mantidos a temperaturas de refrigeração.

#### 4.5. Análise Sensorial e Análise de Resultados

Tal como já foi referido anteriormente, foram realizadas análises sensoriais, de forma a avaliar a alteração dos atributos ao longo do tempo, quer de refrigeração quer de congelação, e, também, a determinar qual o máximo de tempo que podemos armazenar o produto sem existirem características sensoriais negativas ou menos positivas.

É importante referir que, durante a realização das avaliações sensoriais, foi mencionado, pelos provadores, o facto de ser importante uma melhoria generalizada de todos os bolos ao nível do aspeto de forma a facilitar a diferenciação das várias camadas. Isto implicaria uma alteração do processo produtivo e/ou do equipamento utilizado para realizar o enchimento/acondicionamento de todos os componentes na embalagem final.

Foi possível perceber pelos comentários dos provadores durante as provas que alguns dos bolos não correspondiam às suas preferências como é o caso do crumble de maçã e do bolo de chocolate com recheio de frutos vermelhos. Assim, é expectável que estes fatores tenham alguma influência nas avaliações e respostas obtidas aos vários bolos.

Posto isto, apresenta-se de seguida os resultados obtidos para as diferentes análises sensoriais, tanto para os bolos refrigerados como congelados.

#### 4.5.1. Bolos Refrigerados

##### – Bolo de Chocolate com Amendoim

Tabela 20-Resultados de análises sensoriais para bolo de chocolate com amendoim refrigerado.

		Bolo de chocolate com amendoim					
		Aspeto	Cor	Odor	Sabor	Textura	Frescura
Dia 0	média	8	9	9	8	8	9
	desvio-padrão	0,9	0,5	0,4	0,8	0,7	0,5
Dia 3	média	8	7	9	8	8	8
	desvio-padrão	0,9	1,1	0,7	1,2	1,3	0,7
Dia 7	média	8	8	8	8	8	7
	desvio-padrão	0,7	1,0	0,7	0,9	0,9	0,7
Valor <i>p</i> (ANOVA)		0,288	0,038	0,178	0,345	0,539	0,02

Como se pode observar, os atributos “aspeto”, “sabor” e “textura” mantiveram-se inalterados durante os 7 dias de avaliação com avaliação 8. Os atributos “cor” e “odor” começaram com avaliação 9 e terminaram com 8 e o atributo “frescura” foi o único que atingiu o valor 7 ao fim de 7 dias após produção.

Na última linha da tabela é possível encontrar os valores de *p* obtidos da análise ANOVA onde podemos ver que os atributos “cor” e “frescura” foram aqueles que apresentaram uma diferença significativa nos 7 dias em termos de avaliação sensorial.

##### – Bolo de Chocolate com Framboesa

Tabela 21-Resultados de análises sensoriais para bolo de chocolate com framboesa refrigerado.

		Bolo de chocolate com framboesa					
		Aspeto	Cor	Odor	Sabor	Textura	Frescura
Dia 0	média	8	7	8	8	8	9
	desvio-padrão	1,3	1,9	1,1	1,2	0,8	0,4
Dia 3	média	7	7	7	7	7	7
	desvio-padrão	1,2	0,9	1,3	1,2	1,4	1,3
Dia 7	média	7	7	7	6	7	7
	desvio-padrão	1,1	0,8	0,9	1,4	1,3	1,1
Valor <i>p</i> (ANOVA)		0,487	0,746	0,073	0,124	0,555	0,002

No caso do bolo de chocolate com framboesa praticamente todos os atributos diminuíram de avaliação para o valor 7 ao contrário da “cor” que manteve sempre este valor ao

longo dos 7 dias. O atributo “sabor” teve uma diminuição de dois valores na avaliação passando de 8 para 6 ficando, assim, abaixo do limite definido como crítico.

Ao analisar o valor de  $p$ , observa-se que apenas o atributo “frescura” apresenta diferenças estatisticamente significativas nos 7 dias de refrigeração.

– Bolo de Chocolate com Framirocher

*Tabela 22-Resultados de análises sensoriais para bolo de chocolate com framirocher refrigerado.*

		Bolo de chocolate com framirocher					
		Aspeto	Cor	Odor	Sabor	Textura	Frescura
Dia 0	média	8	8	9	9	8	9
	desvio-padrão	1,0	0,8	0,4	0,4	0,8	0,8
Dia 3	média	8	8	8	8	8	7
	desvio-padrão	1,2	0,9	1,1	0,9	0,9	1,4
Dia 7	média	8	8	8	8	7	8
	desvio-padrão	0,8	0,7	0,8	1,0	1,2	1,3
Valor $p$ (ANOVA)		0,96	0,824	0,328	0,196	0,113	0,103

Ao analisar os resultados apresentados na tabela 22, é possível observar que os atributos “aspeto” e “cor” mantêm as suas avaliações em 8 durante os 7 dias de refrigeração. Já os atributos “odor”, “sabor”, “textura” e “frescura” diminuíram todos 1 valor na escala. Ao fim de dia 7 todos os atributos apresentaram avaliação igual a 8, exceto o atributo “textura” com o valor 7.

Relativamente ao bolo de chocolate com framirocher, nenhum atributo apresentou diferenças estatisticamente significativas nos 7 dias.

– Bolo de Cenoura com Brigadeiro

*Tabela 23-Resultados de análises sensoriais para bolo de cenoura com brigadeiro refrigerado.*

		Bolo de cenoura com brigadeiro					
		Aspeto	Cor	Odor	Sabor	Textura	Frescura
Dia 0	média	8	8	8	8	8	8
	desvio-padrão	0,8	0,7	0,7	0,7	1,1	1,0
Dia 3	média	8	8	8	8	8	8
	desvio-padrão	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
Dia 7	média	8	8	8	8	8	7
	desvio-padrão	1,0	0,7	0,8	1,0	1,3	1,3
Valor $p$ (ANOVA)		0,711	0,259	0,277	0,644	0,64	0,3

No caso de bolo de cenoura com brigadeiro todos os atributos se mantêm inalterados durante 7 dias de refrigeração com uma avaliação de 8, exceto o atributo “frescura” que diminui de 8 para 7.

Em relação a diferenças significativas, estas não foram observadas para nenhum dos atributos durante o tempo de refrigeração estudado.

– Bolo de Crumble de Maçã

*Tabela 24-Resultados de análises sensoriais para bolo de crumble de maçã refrigerado.*

		Bolo de crumble de maçã					
		Aspetto	Cor	Odor	Sabor	Textura	Frescura
Dia 0	média	6	7	7	8	8	8
	desvio-padrão	1,7	1,3	1,2	1,3	0,8	0,9
Dia 3	média	5	6	7	7	6	7
	desvio-padrão	1,9	2,0	2,1	1,6	1,4	1,6
Dia 7	média	6	6	6	7	6	6
	desvio-padrão	1,4	1,3	1,0	1,4	1,4	1,9
Valor <i>p</i> (ANOVA)		0,679	0,321	0,238	0,23	0,015	0,095

No caso do crumble de maçã, o atributo “aspecto” manteve o valor inicial terminando os 7 dias com avaliação de 6. Os atributos “cor”, “odor” e “sabor” obtiveram uma avaliação menor em 1 valor, enquanto a “textura” e a “frescura” diminuíram dois valores ao fim do período de refrigeração. Posto isto, ao fim do tempo de teste, apenas o atributo “sabor” foi avaliado com um valor dentro do limite de aceitação.

Como se pode observar, mesmo no dia da produção, este bolo já apresentava um atributo com uma pontuação abaixo de limite definido como aceitável.

O atributo “textura” foi aquele que apresentou um valor de *p* inferior a 0.05 e, portanto, o único a apresentar diferenças estatisticamente significativas para os 7 dias armazenados a temperaturas de refrigeração.

– Bolo de Coco com Raffaelloframi

*Tabela 25-Resultados de análises sensoriais para bolo de coco com rafaelloframi refrigerado.*

		Bolo de coco com rafaelloframi					
		Aspetto	Cor	Odor	Sabor	Textura	Frescura
Dia 0	média	8	8	8	9	9	9
	desvio-padrão	1,0	1,0	1,2	0,9	0,4	0,3
Dia 3	média	7	7	8	8	8	8
	desvio-padrão	1,2	1,4	0,7	0,8	1,1	1,1
Dia 7	média	7	7	8	8	7	7
	desvio-padrão	1,6	1,1	1,1	1,3	1,3	1,3
Valor <i>p</i> (ANOVA)		0,752	0,496	0,092	0,335	0,028	0,033

Ao observar a tabela 25, observa-se que apenas o atributo “odor” se manteve inalterado durante do armazenamento refrigerado com o valor 8 da escala apresentada anteriormente. Os

restantes atributos diminuíram todos. O “aspecto” e o “odor” baixaram um valor, de 8 para 7, o sabor de 9 para 8. Os atributos “textura” e “frescura” diminuíram dois valores de 9 para 7.

Quanto ao bolo de coco com rafaelloframi, os atributos “textura” e “frescura” foram os que apresentaram diferenças significativas na avaliação obtida no tempo analisado.

– Bolo de Noz com Ovos Moles

*Tabela 26-Resultados de análises sensoriais para bolo de noz com ovos moles refrigerado.*

		Bolo de noz com ovos moles					
		Aspecto	Cor	Odor	Sabor	Textura	Frescura
Dia 0	média	8	8	8	9	9	9
	desvio-padrão	0,7	0,4	0,9	0,8	0,8	0,5
Dia 3	média	8	8	7	8	8	8
	desvio-padrão	0,8	0,8	1,6	1,0	0,8	1,1
Dia 7	média	7	7	7	8	7	6
	desvio-padrão	0,9	1,3	1,3	1,0	1,5	1,9
Valor <i>p</i> (ANOVA)		0,098	0,088	0,062	0,004	0,001	0,002

Ao observar a tabela 26, é possível observar que todos os atributos foram avaliados com valores menores ao longo dos 7 dias. Os atributos “aspecto”, “cor” e “odor” diminuíram de 8 para 7, o “sabor” diminuiu de 9 para 8, a “textura” de 9 para 7 e, por fim, a “frescura” de 9 para 6.

O atributo “frescura” ultrapassa, então, o limite crítico ao fim de 7 dias de armazenamento refrigerado.

Neste bolo, ao analisar o valor de *p*, os atributos “sabor”, “textura” e “frescura”, apresentaram todos diferenças estatisticamente significativas ao fim dos 7 dias de refrigeração.

#### 4.5.2. Bolos congelados

##### – Bolo de Chocolate com Amendoim

Tabela 27-Resultados de análises sensoriais para bolo de chocolate com amendoim congelado.

		Bolo de chocolate com amendoim					
		Aspetto	Cor	Odor	Sabor	Textura	Frescura
Dia 0	média	8	9	9	8	8	9
	desvio-padrão	0,9	0,5	0,4	0,8	0,7	0,5
Dia 30	média	8	7	7	8	7	7
	desvio-padrão	1,1	1,1	1,3	0,8	0,8	0,7
Dia 60	média	7	6	6	7	7	6
	desvio-padrão	2,0	2,2	1,7	1,2	1,8	1,6
Dia 90	média	7	7	7	7	7	6
	desvio-padrão	1,7	1,9	1,9	1,3	1,1	1,3
Valor <i>p</i> (ANOVA)		0,263	0,104	0,082	0,224	0,606	<0,001

Observando a tabela 27, é possível observar que todos os atributos diminuem durante os 3 meses de armazenamento congelado. Os atributos “cor”, “odor” e “frescura” diminuíram dois valores durante o tempo considerado, e os restantes atributos diminuíram apenas um valor. O atributo “frescura” é o único que termina os 3 meses com uma avaliação média de 6.

Analisando o valor *p*, a “frescura” apresenta diferenças estatisticamente significativas como se observa pelo valor inferior a 0,05.

##### – Bolo de Chocolate com Framboesa

Tabela 28-Resultados de análises sensoriais para bolo de chocolate com framboesa congelado.

		Bolo de chocolate com framboesa					
		Aspetto	Cor	Odor	Sabor	Textura	Frescura
Dia 0	média	8	7	8	8	8	9
	desvio-padrão	1,3	1,9	1,1	1,2	0,8	0,4
Dia 30	média	7	7	7	7	7	6
	desvio-padrão	0,5	0,8	1,3	1,6	0,8	1,0
Dia 60	média	6	6	6	6	6	6
	desvio-padrão	1,8	1,7	2,1	2,3	1,9	2,0
Dia 90	média	6	6	6	6	6	6
	desvio-padrão	1,9	1,7	1,8	1,6	1,8	1,4
Valor <i>p</i> (ANOVA)		0,22	0,461	0,109	0,324	0,16	0,002

Em relação ao bolo de chocolate com framboesa, todos os atributos atingem os 90 dias com avaliação de 6, sendo que a “frescura” chega até a diminuir 3 valores. Os restantes atributos diminuem entre 1 e 2 valores.

Tal como o caso anterior, a “frescura” é também o atributo que apresenta diferenças estatisticamente significativas com um valor de  $p$  inferior a 0,05.

– Bolo de Chocolate com Framirocher

*Tabela 29-Resultados de análises sensoriais para bolo de chocolate com framirocher congelado.*

		Bolo de chocolate com framirocher					
		Aspetto	Cor	Odor	Sabor	Textura	Frescura
Dia 0	média	8	8	9	9	8	9
	desvio-padrão	1,0	0,8	0,4	0,4	0,8	0,8
Dia 30	média	8	8	8	8	7	7
	desvio-padrão	1,0	0,7	0,8	0,8	1,1	1,0
Dia 60	média	7	7	8	8	8	7
	desvio-padrão	1,9	1,9	1,2	1,0	1,0	1,4
Dia 90	média	8	8	8	8	8	7
	desvio-padrão	1,6	1,3	1,2	1,3	1,2	1,6
Valor $p$ (ANOVA)		0,771	0,266	0,124	0,1	0,141	0,014

No caso acima apresentado, alguns dos atributos começam e terminam os 90 dias com a mesma avaliação como é o caso do “aspetto”, “cor” e “textura”. Os atributos “odor” e “sabor” diminuem apenas um valor e a “frescura” diminui dois terminando o tempo analisado com uma avaliação de 7.

Como se pode observar, a “frescura” é o único atributo com um valor de  $p$  inferior a 0,05 pelo que é possível afirmar que apresenta diferenças estatisticamente significativas durante o período de congelação.

– Bolo de Cenoura com Brigadeiro

*Tabela 30-Resultados de análises sensoriais para bolo de cenoura com brigadeiro congelado.*

		Bolo de cenoura com brigadeiro					
		Aspetto	Cor	Odor	Sabor	Textura	Frescura
Dia 0	média	8	8	8	8	8	8
	desvio-padrão	0,8	0,7	0,7	0,7	1,1	1,0
Dia 30	média	8	8	7	8	7	7
	desvio-padrão	1,4	1,0	0,7	0,7	0,8	0,7
Dia 60	média	8	8	7	8	8	7
	desvio-padrão	1,1	1,1	0,8	0,8	1,1	0,9
Dia 90	média	8	8	8	8	8	7
	desvio-padrão	0,8	0,9	0,9	0,7	1,0	0,6
Valor $p$ (ANOVA)		0,855	0,727	0,265	0,546	0,732	0,031

Neste caso, todos os atributos estudados terminam o tempo avaliado com a mesma avaliação do dia 0, exceto o atributo “frescura” que desce apenas um valor. Observando os valores de  $p$  obtidos, verifica-se também que o atributo referido, por ter um valor de 0,031, ou seja, inferior a 0,05, é o único que apresenta diferenças estatisticamente significativas.

– Bolo de Crumble de Maçã

Tabela 31-Resultados de análises sensoriais para bolo de crumble de maçã congelado.

		Bolo de crumble de maçã					
		Aspetto	Cor	Odor	Sabor	Textura	Frescura
Dia 0	média	6	7	7	8	8	8
	desvio-padrão	1,7	1,3	1,2	1,3	0,8	0,9
Dia 30	média	6	6	6	6	6	6
	desvio-padrão	1,9	2,0	2,4	1,3	1,4	2,1
Dia 60	média	6	6	6	7	5	6
	desvio-padrão	1,8	2,4	2,1	1,7	1,6	1,8
Dia 90	média	6	6	6	7	6	7
	desvio-padrão	1,4	0,8	1,5	1,1	1,1	1,4
Valor $p$ (ANOVA)		0,414	0,198	0,276	0,542	0,013	0,101

Ao observar a tabela 31, todos os atributos, exceto o “aspecto”, diminuem de avaliação, sendo que a “textura” diminui 2 valores de 8 para 6. O atributo “aspecto” mantém-se inalterado com uma avaliação 6, ou seja, não é considerado aceitável logo no dia 0.

Quanto ao valor de  $p$ , o atributo “textura” é o único com um valor inferior a 0,05 e, assim, apresenta diferenças significativas a nível estatístico.

– Bolo de Coco com Raffaelloframi

Tabela 32-Resultados de análises sensoriais para bolo de coco com rafaelloframi congelado.

		Bolo de côco com rafaelloframi					
		Aspetto	Cor	Odor	Sabor	Textura	Frescura
Dia 0	média	8	8	8	9	9	9
	desvio-padrão	1,0	1,0	1,2	0,9	0,4	0,3
Dia 30	média	7	7	8	8	7	7
	desvio-padrão	1,2	1,6	1,1	1,1	1,4	1,2
Dia 60	média	7	7	7	8	7	7
	desvio-padrão	1,2	1,3	1,5	1,4	1,8	1,7
Dia 90	média	8	8	8	8	8	7
	desvio-padrão	1,2	1,0	0,9	0,8	2,0	1,8
Valor $p$ (ANOVA)		0,991	0,861	0,255	0,264	0,216	0,074

Em relação ao bolo de coco com rafaelloframi, os atributos “aspecto”, “cor” e “odor”, apresentam a mesma avaliação no início e no fim do período armazenado, tendo sofrido algumas flutuações durante este tempo. Os atributos “sabor”, “textura” e “frescura” diminuíram entre 1 e 2 valores. Como se observa, nenhum atributo atinge uma avaliação de 6 nem apresenta diferenças estatisticamente significativas.

– Bolo de Noz com Ovos Moles

*Tabela 33-Resultados de análises sensoriais para bolo de noz com ovos moles congelado.*

		Bolo de noz com ovos moles					
		Aspecto	Cor	Odor	Sabor	Textura	Frescura
Dia 0	média	8	8	8	9	9	9
	desvio-padrão	0,7	0,4	0,9	0,8	0,8	0,5
Dia 30	média	7	7	6	7	7	6
	desvio-padrão	1,9	1,9	1,9	1,5	2,1	1,5
Dia 60	média	7	7	7	7	7	6
	desvio-padrão	2,3	2,0	1,9	1,3	1,9	2,1
Dia 90	média	8	8	7	8	8	7
	desvio-padrão	0,8	0,7	0,4	0,6	0,9	0,7
Valor <i>p</i> (ANOVA)		0,6	0,439	0,31	0,077	0,138	0,013

Quanto ao bolo de noz com ovos moles, os atributos “aspecto” e “cor” diminuem ligeiramente, no entanto, no fim do tempo avaliado apresentam o mesmo valor que no início. Os restantes atributos diminuem todos, 1 valor, excluindo a “frescura” que diminui 2.

Em relação a diferenças significativas, a “frescura”, com um valor de *p* igual a 0,013, é a única que as apresenta.

## 5. Conclusão

Apesar das análises físico-químicas nos indicarem características intrínsecas aos vários produtos que possibilitam crescimento de alguns microrganismos, ao realizar as análises microbiológicas verificamos que tal não acontece, devido às temperaturas a que estes são armazenados (temperaturas de refrigeração e congelação).

A nível microbiológico, tanto os bolos refrigerados 7 dias como os congelados 90 dias são seguros, ou seja, a diferença vai passar pelos resultados sensoriais. O máximo de tempo que os bolos se mantiveram dentro de níveis aceitáveis foram então:

- Bolo de chocolate com amendoim: refrigerados 3 dias e congelados 30 dias;
- Bolo de chocolate com framboesa: refrigerados 3 dias e congelados com pontuação abaixo do aceitável ao fim dos primeiros 30 dias;
- Bolo de chocolate com framirocher: refrigerados 7 dias e congelados 90 dias;
- Bolo de cenoura com brigadeiro: refrigerados 7 dias e congelados 90 dias;
- Bolo de crumble de maçã: tanto os refrigerados como congelados com pontuação abaixo do aceitável no dia de produção;
- Bolo de coco com rafaelloframi: refrigerados 7 dias e congelados 90 dias;
- Bolo de noz com ovos moles; refrigerados 3 dias e congelados 90 dias;

Quanto ao bolo de chocolate com framboesa, a alternativa mais favorável será então optar por refrigeração durante 3 dias pois apresenta melhores resultados a nível sensorial. Se logisticamente não for viável, é aconselhada então uma mudança de processo produtivo ou ingredientes que possibilitem melhores resultados sensoriais. A mesma mudança é aconselhada para o bolo de crumble de maçã que, logo no dia de produção, não apresentou resultados satisfatórios.

Para o bolo de chocolate com amendoim a melhor opção seria o congelamento durante 30 dias garantindo assim os melhores atributos sensoriais.

Quanto aos restantes bolos, a melhor alternativa passará então por optar por armazenamento congelado durante 90 dias, pois sensorialmente continuam com avaliações bastante positivas, oferecem uma maior segurança a nível microbiológico e, logisticamente, são também mais favoráveis para a empresa a nível de produção e armazenamento.

## **6. Trabalho Futuro/Possibilidade de Melhoria**

Numa perspectiva de melhoria e observando os resultados obtidos, seria pertinente proceder à realização de análises microbiológicas mais intensivas. Ou seja, realizar análises microbiológicas também aos bolos congelados para comprovar efetivamente a sua segurança e testar a existência e/ou crescimento dos microrganismos analisados com a microbiologia preditiva e, também, bolores e leveduras.

Seria também interessante realizar análises sensoriais com um painel de maiores dimensões e representativo dos consumidores constituintes do grupo do alvo para além dos trabalhadores da empresa de forma a medir a aceitação do mercado onde se tenciona inserir o produto e, para isto, eventualmente contratar uma empresa externa para este serviço e obter resultados mais rigorosos.

Finalmente, como a maioria dos bolos congelados analisados obteve avaliações bastante positivas a nível sensorial, seria também relevante realizar estudos de tempo de vida mais longos, eventualmente até seis meses por exemplo, e de forma a ser possível obter uma margem de segurança no momento de definir a data de validade comunicada ao consumidor.

## Apêndices

### Apêndice 1 - Exemplo de ficha de análise sensorial

#### Análise Sensorial

Data: \_\_\_\_\_

Escala a utilizar:

9 – Extremamente agradável

8 – Muito agradável

7 – Agradável

6 – Ligeiramente Agradável

5 – Nem agradável nem desagradável

4 – Ligeiramente desagradável

3 – Desagradável

2 – Muito desagradável

1 – Extremamente desagradável

**Amostra:** \_\_\_\_\_

Antes de provar a amostra, avalie o aspeto, a cor e o odor, indicando o valor correspondente da escala apresentada.

Por favor, responda com máxima honestidade.

Aspeto: \_\_\_\_\_

Cor: \_\_\_\_\_

Odor: \_\_\_\_\_

De seguida, prove a amostra e avalie o sabor, a textura e a frescura, indicando o valor correspondente da escala apresentada.

Por favor, responda com máxima honestidade.

Sabor: \_\_\_\_\_

Textura: \_\_\_\_\_

Frescura: \_\_\_\_\_

**Muito obrigada pela participação!**

Apêndice 2 – PCC’s, PPRO’s e respetivos limites críticos, processos de monitorização e ações corretivas

Etapa	Análise de Perigos		Limite Crítico	Procedimentos de monitorização				Ações Corretivas
	Classificação do perigo	Descrição do perigo		Método	Frequência	Responsável	Registo	
<b>Processamento térmico (cozedura)</b>	Biológico	Proliferação de microrganismos patogénicos	tempo de cozedura = 40 minutos Temperatura da cozedura = 180 °C	Controlo do tempo e temperatura de cozedura	Todos os produtos.	Operador da produção	[A definir]	Submeter o produto a processamento térmico novamente se o tempo e a temperatura desejados não forem atingidos.

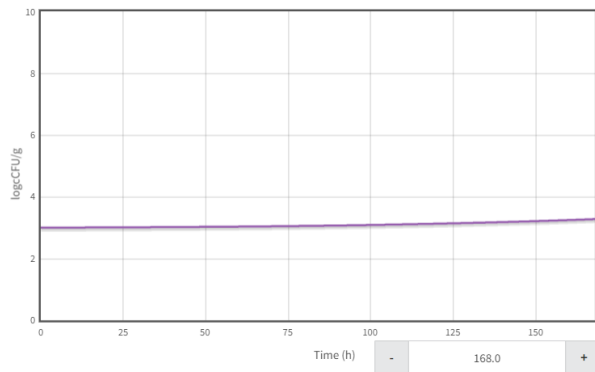
Etapa	Análise de Perigos		Limite Crítico	Procedimentos de monitorização				Ações Corretivas
	Classificação do perigo	Descrição do perigo		Método	Frequência	Responsável	Registo	
<b>Receção de MP - à temperatura ambiente</b>	Químico	Presença de alergénios não identificados	Identificação de TODOS os alergénios presentes Embalagens intactas	Verificação visual	Todas as matérias-primas/fichas técnicas	Técnico da qualidade	IMP34	Comunicação ao fornecedor. Descarte da matéria-prima. Eventual troca de fornecedor se aplicável.
	Físico	Presença de corpos estranhos	Embalagens intactas	Verificação visual	Todas as matérias-primas	Técnico da qualidade	IMP12	Comunicação ao fornecedor. Descarte da matéria-prima. Eventual troca de fornecedor se aplicável.
<b>Receção de MP - à temperatura de refrigeração</b>	Químico	Presença de alergénios não identificados	Identificação de TODOS os alergénios presentes Embalagens intactas	Verificação visual	Todas as matérias-primas/fichas técnicas	Técnico da qualidade	IMP34	Comunicação ao fornecedor. Descarte da matéria-prima. Eventual troca de fornecedor se aplicável.
	Físico	Presença de corpos estranhos	Embalagens intactas	Verificação visual	Todas as matérias-primas	Técnico da qualidade	IMP14	Comunicação ao fornecedor. Descarte da matéria-prima. Eventual troca de fornecedor se aplicável.
<b>Receção de MP - material de embalagem</b>	Físico	Presença de corpos estranhos	Embalagens intactas	Verificação visual	Todas as matérias-primas	Técnico da qualidade	IMP12	Comunicação ao fornecedor. Descarte da matéria-prima. Eventual troca de fornecedor se aplicável.

Etapa	Análise de Perigos		Limite Crítico	Procedimentos de monitorização				Ações Corretivas
	Classificação do perigo	Descrição do perigo		Método	Frequência	Responsável	Registo	
<b>Preparação e pesagem dos ingredientes para a massa de bolo</b>	Químico	Contaminação com alergénios	Ausência	Verificação visual da utilização do material correcto	Constante	Operador da produção	IMP11	Descarte da matéria prima contaminada. Realização de análises periódicas.
<b>Preparação dos ingredientes para recheio/cobertura</b>	Químico	Contaminação com alergénios	Ausência	Verificação visual da utilização do material correcto	Constante	Operador da produção	IMP11	Descarte da matéria prima contaminada. Realização de análises periódicas.
<b>Mistura dos ingredientes e homogeneização</b>	Químico	Contaminação com alergénios	Ausência	Verificação visual da utilização do material correcto	Constante	Operador da produção	IMP11	Descarte da matéria prima contaminada. Realização de análises periódicas.
<b>Acondicionamento</b>	Físico	Contaminação por corpos estranhos (vidro das embalagens em caso de quebra)	-	Verificação visual	Sempre que se realiza o enchimento	Operador da produção	IMP10	Rejeitar imediatamente o produto afetado.
<b>Rotulagem</b>	Físico	Lote e validade inexistente ou mal colocadas Alergénios mal identificados	Má colocação de lote e/ou validade Alergénios mal ou não identificados.	Verificação visual.	Um produto por batch.	Operador da produção	IMP04	Rotular novamente.
<b>Armazenamento em câmara de refrigeração</b>	Biológico	Desenvolvimento de patogénicos	$2^{\circ}\text{C} \leq \text{Temperatura da câmara} \leq 4^{\circ}\text{C}$	Controlo visual da Temperatura	Diária - 2 vezes por dia	Técnico da qualidade ou Responsável da produção.	IMP02	Repor os valores de temperatura. Verificação do produto e eventual rejeição.
<b>Armazenamento em câmara de congelação</b>	Biológico	Desenvolvimento de patogénicos	Temperatura da câmara $\leq -18^{\circ}\text{C}$	Controlo visual da Temperatura	Diária - 2 vezes por dia	Técnico da qualidade ou Responsável da produção.	IMP01	Repor os valores de temperatura. Verificação do produto e eventual rejeição.
<b>Distribuição</b>	Biológico	Desenvolvimento de patogénicos	Temperatura da carrinha de transporte $\leq -18^{\circ}\text{C}$	Registo da temperatura	A cada utilização da carrinha, no início e fim de cada viagem	Distribuidor	IMP03	Repor os valores de temperatura. Verificação do produto e eventual rejeição.

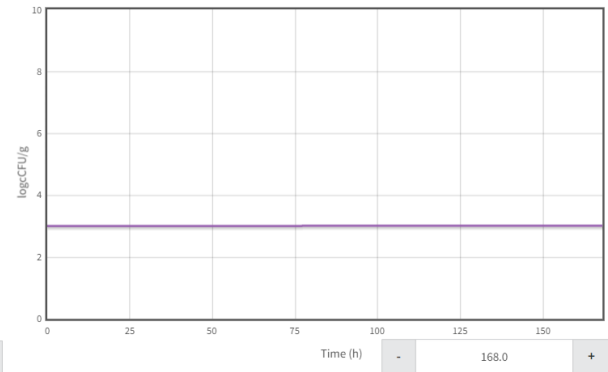
## Apêndice 3 – Resultados de microbiologia preditiva para os componentes dos bolos refrigerados.

### 1. Brigadeiro de amendoim crocante

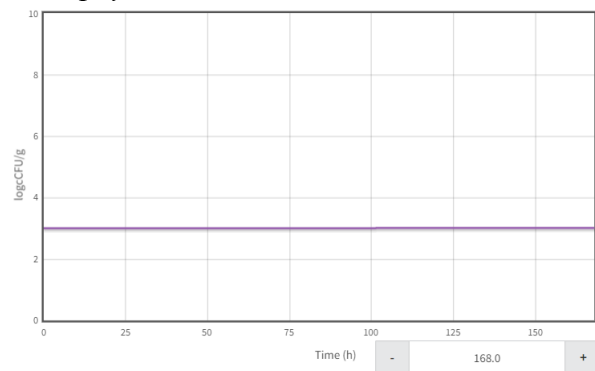
*Escherichia coli*



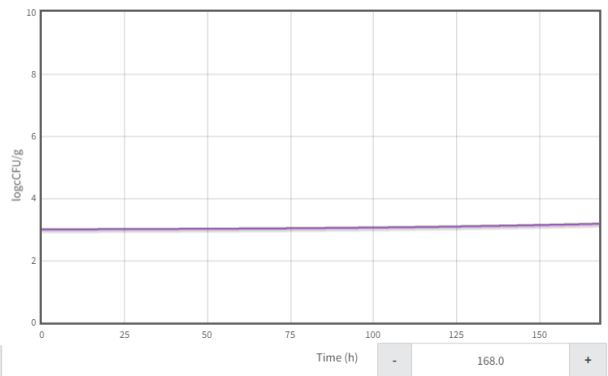
*Listeria monocytogenes*



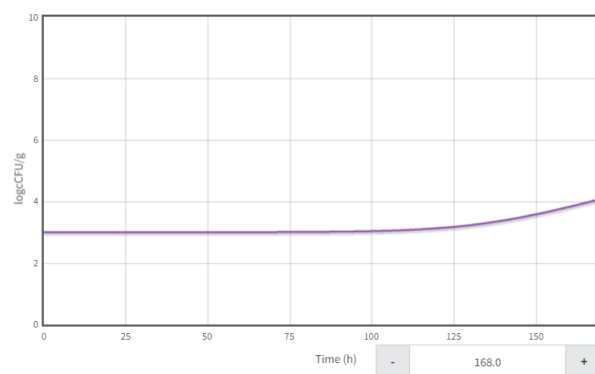
*Staphylococcus aureus*



*Salmonella spp*

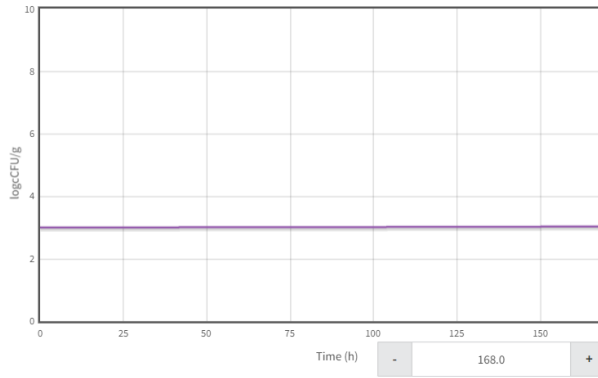


*Bacillus subtilis*

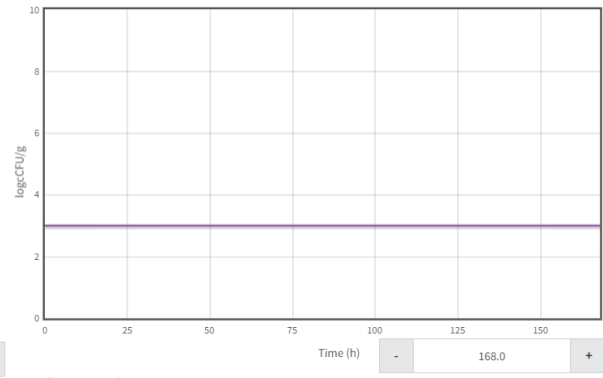


## 2. Recheio de frutos vermelhos

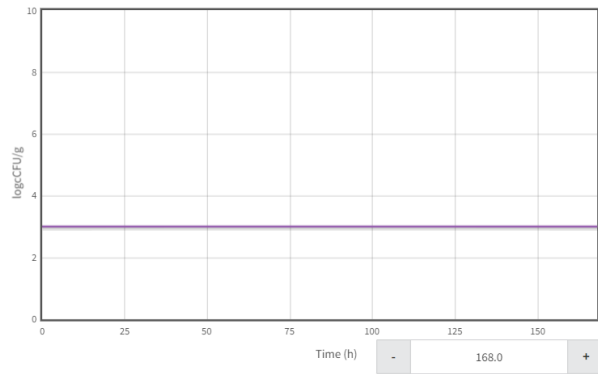
*Escherichia coli*



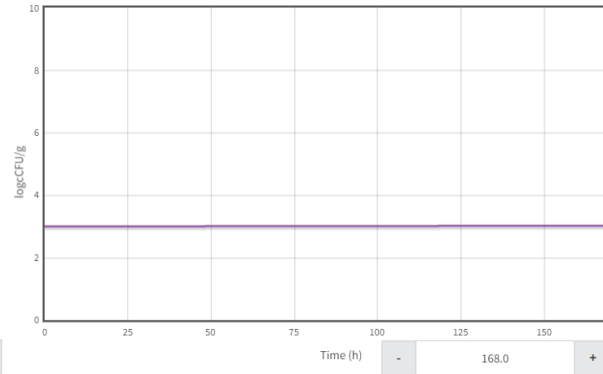
*Listeria monocytogenes*



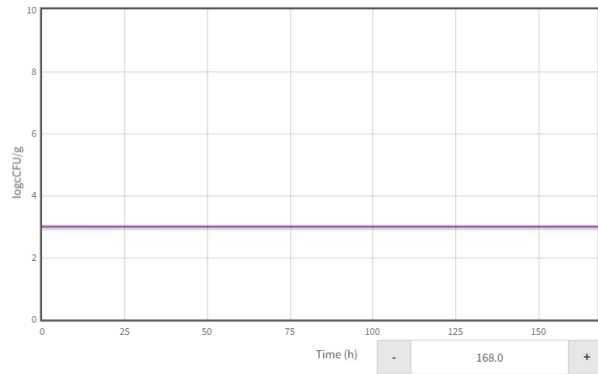
*Staphylococcus aureus*



*Salmonella spp*

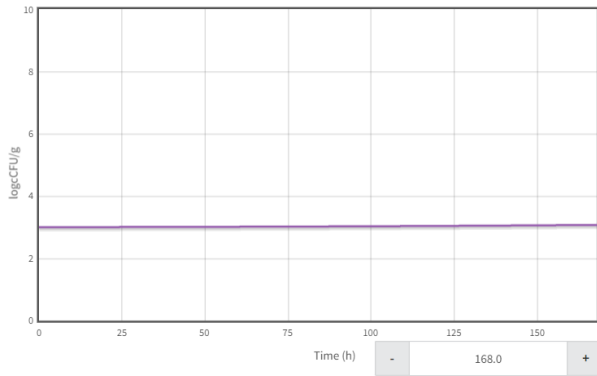


*Bacillus subtilis*

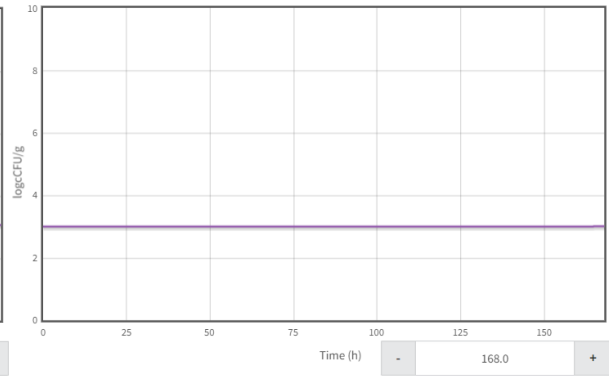


### 3. Recheio de ferrero (Framirocher)

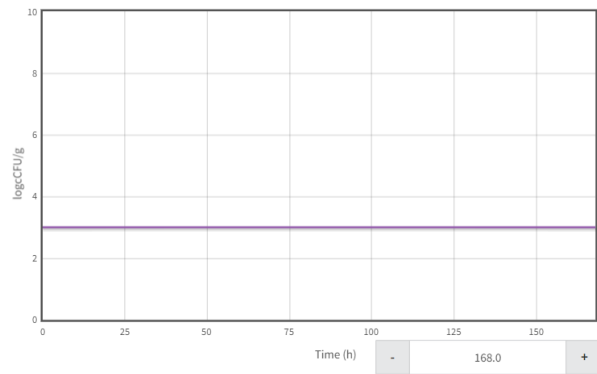
*Escherichia coli*



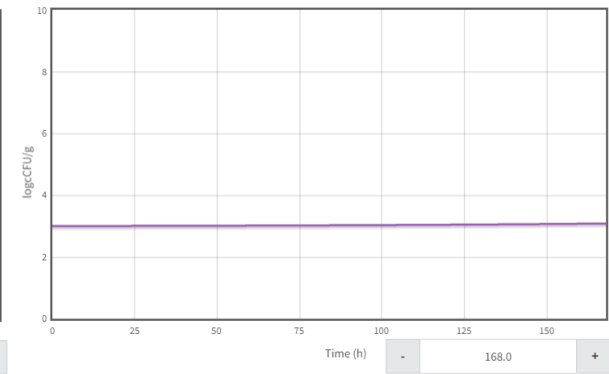
*Listeria monocytogenes*



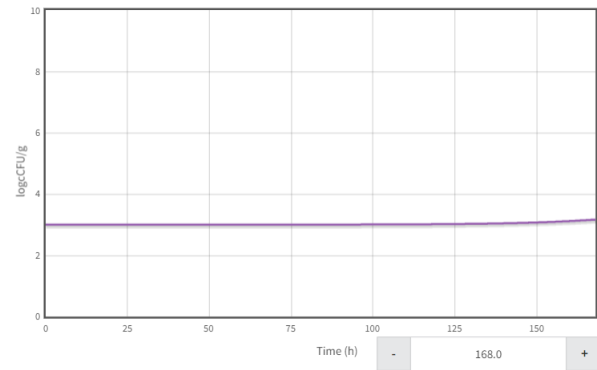
*Staphylococcus aureus*



*Salmonella spp*

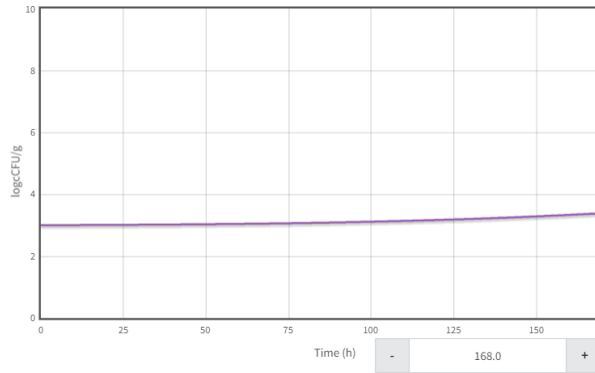


*Bacillus subtilis*

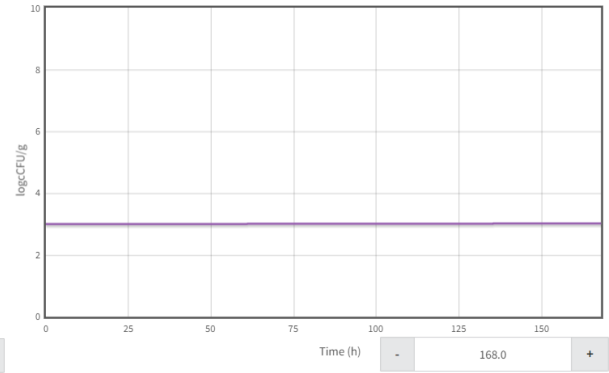


#### 4. Bolo de cenoura

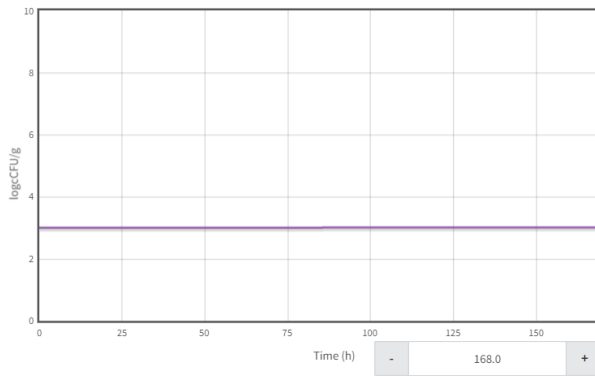
*Escherichia coli*



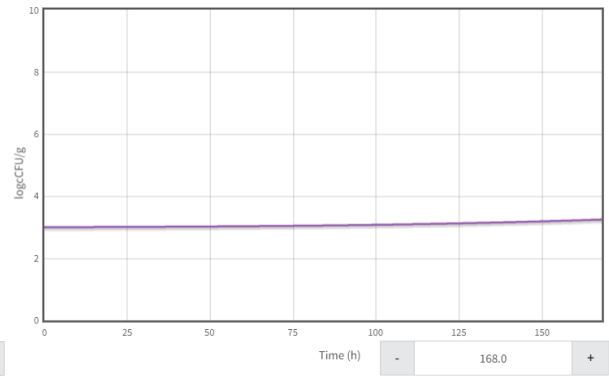
*Listeria monocytogenes*



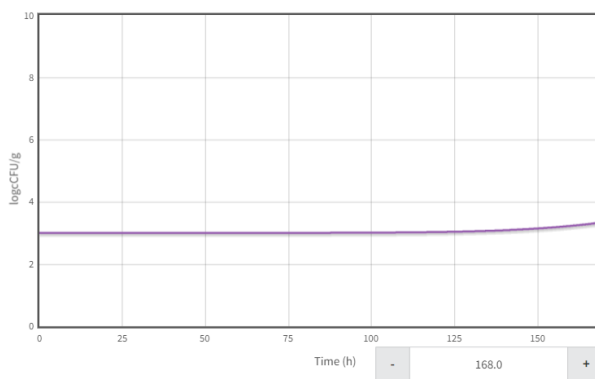
*Staphylococcus aureus*



*Salmonella spp*

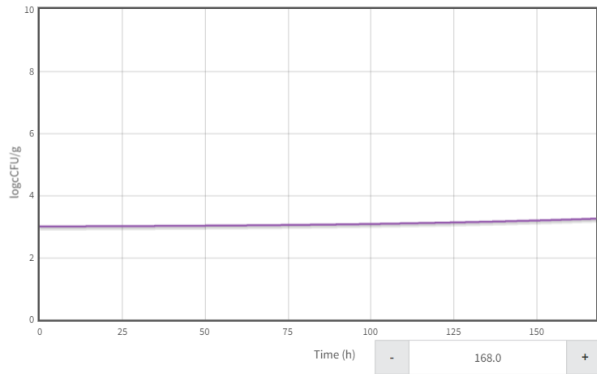


*Bacillus subtilis*

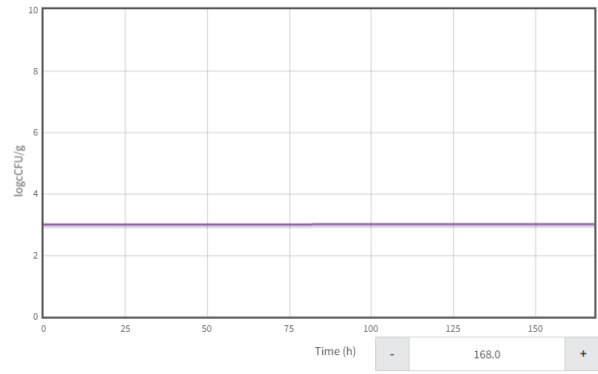


## 5. Brigadeiro de chocolate de leite

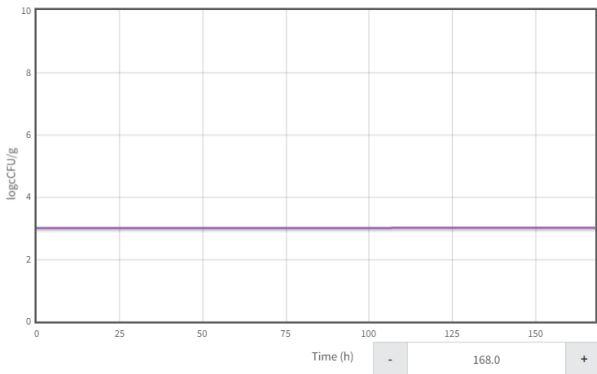
*Escherichia coli*



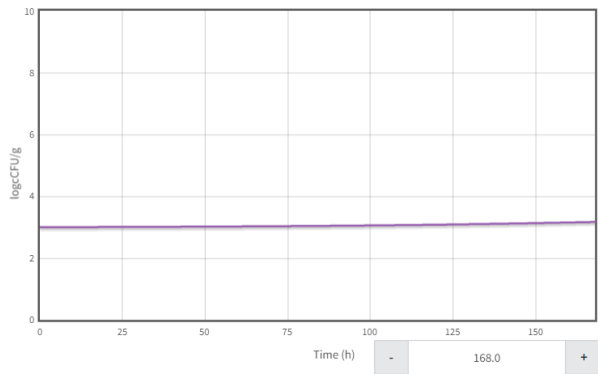
*Listeria monocytogenes*



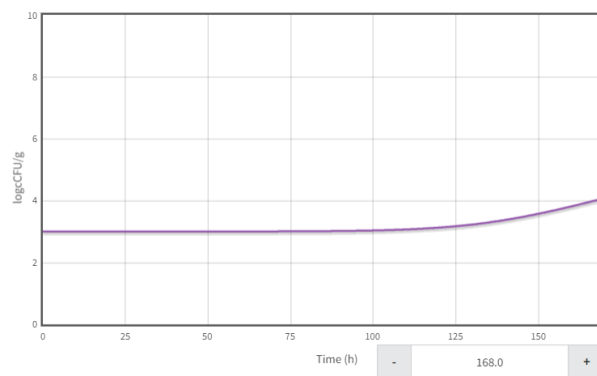
*Staphylococcus aureus*



*Salmonella spp*

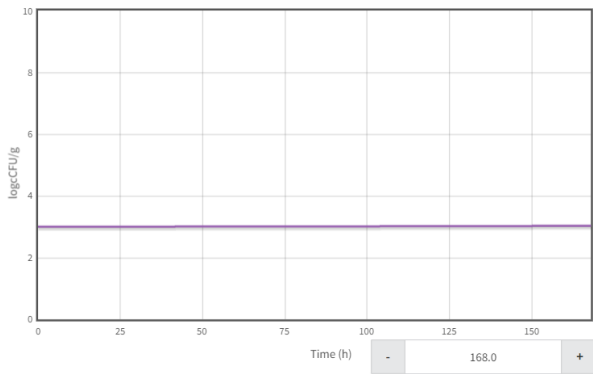


*Bacillus subtilis*

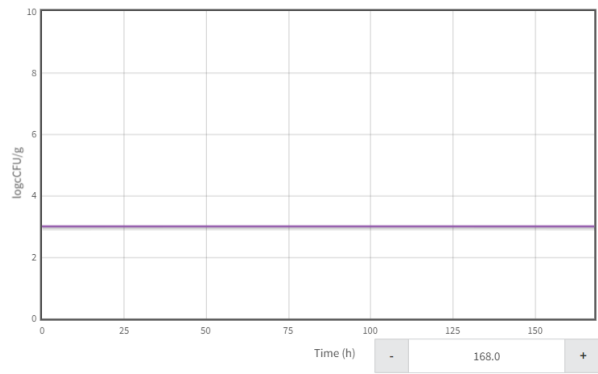


## 6. Crumble de maçã

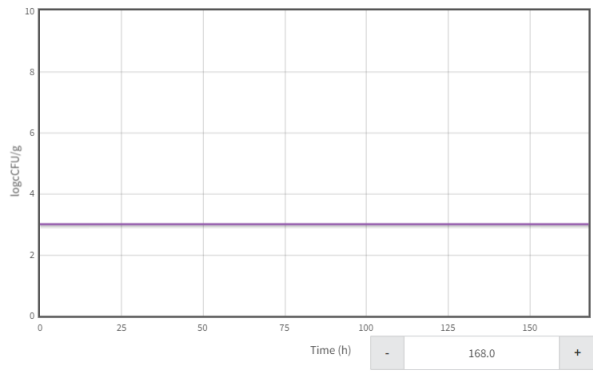
*Escherichia coli*



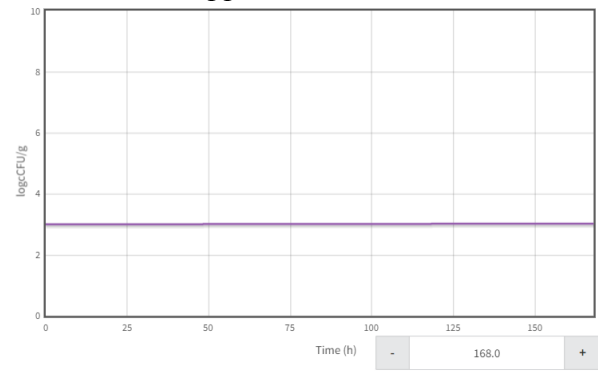
*Listeria monocytogenes*



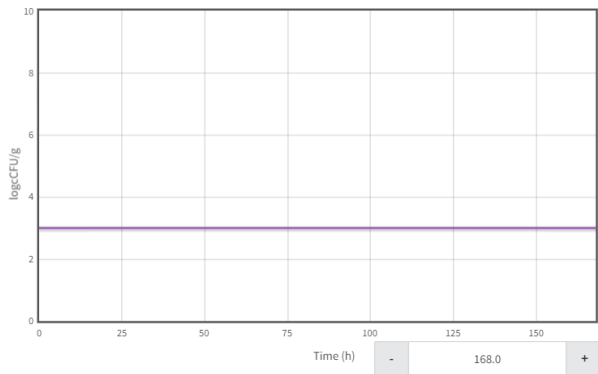
*Staphylococcus aureus*



*Salmonella spp*

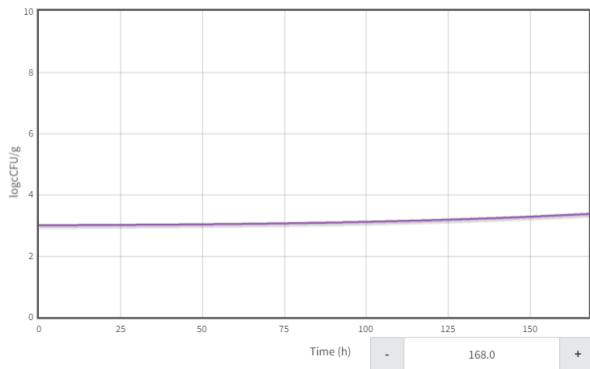


*Bacillus subtilis*

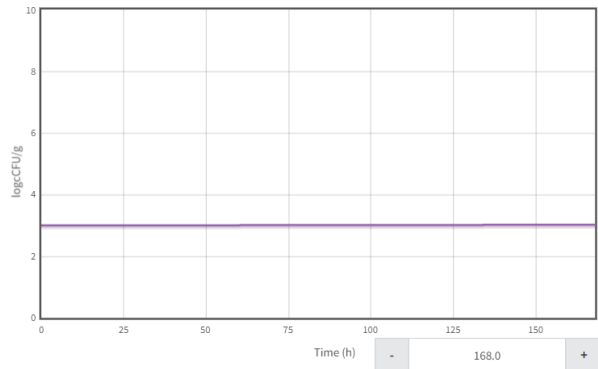


## 7. Bolo de coco

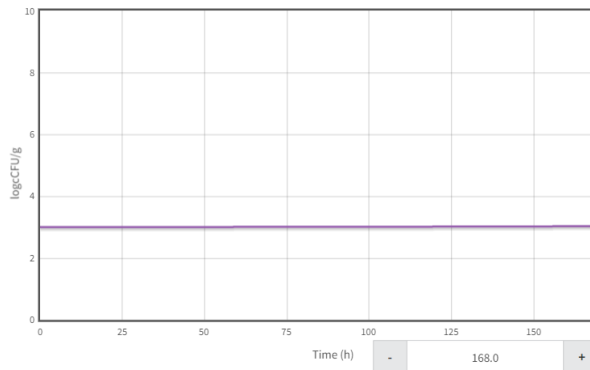
### *Escherichia coli*



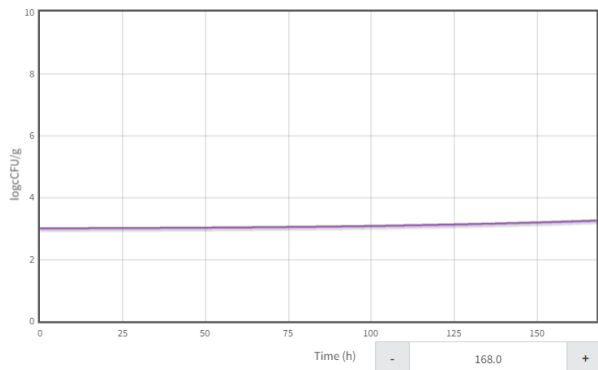
### *Listeria monocytogenes*



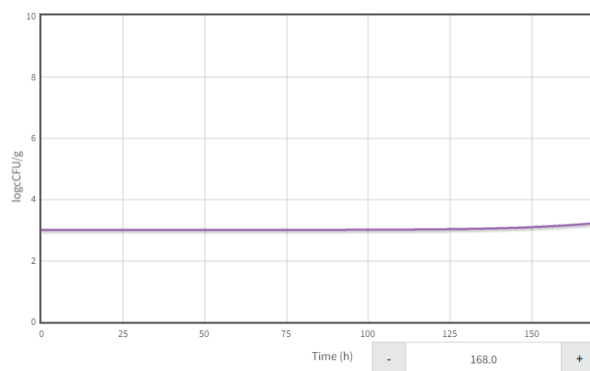
### *Staphylococcus aureus*



### *Salmonella spp*

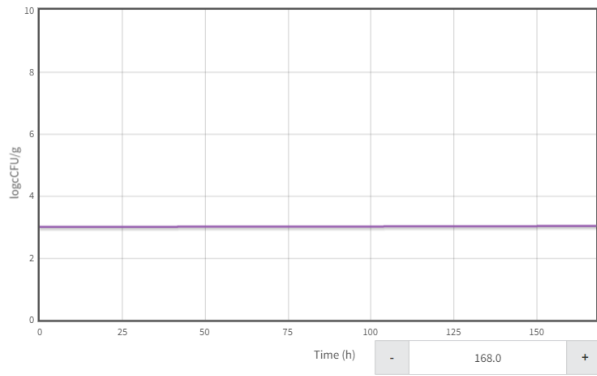


### *Bacillus subtilis*

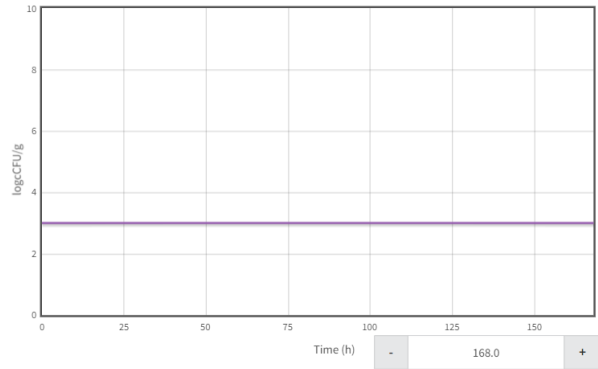


## 8. Recheio de rafaello (rafaelloframi)

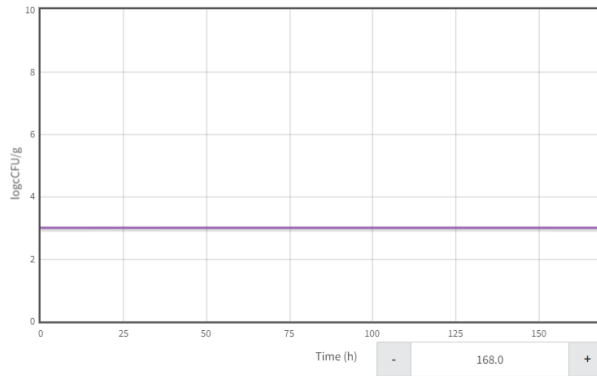
*Escherichia coli*



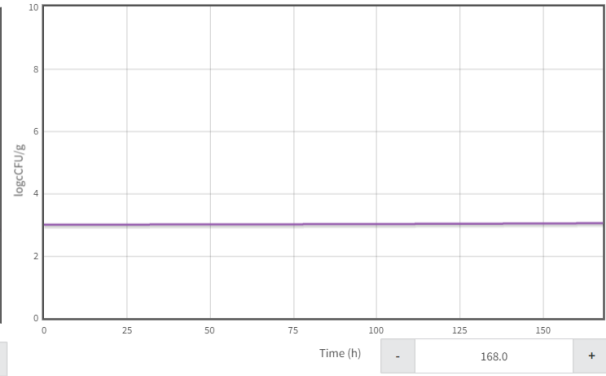
*Listeria monocytogenes*



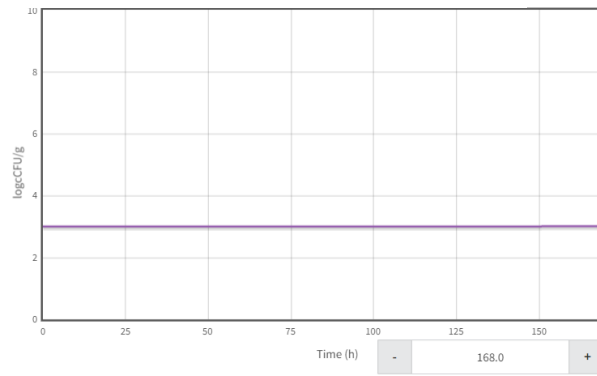
*Staphylococcus aureus*



*Salmonella spp*

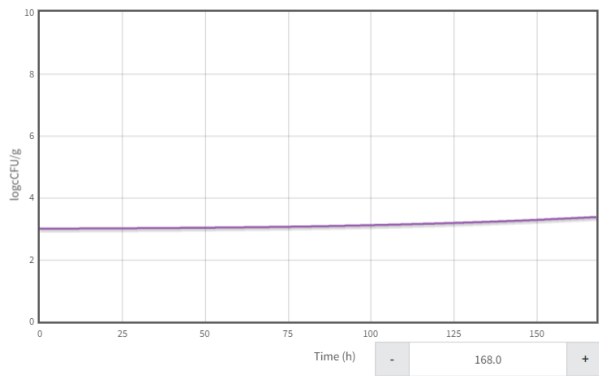


*Bacillus subtilis*

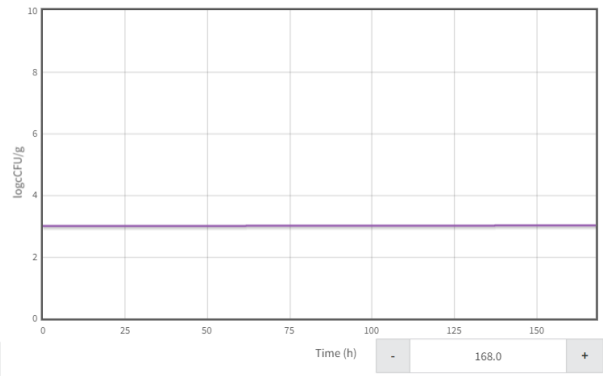


## 9. Ovos moles

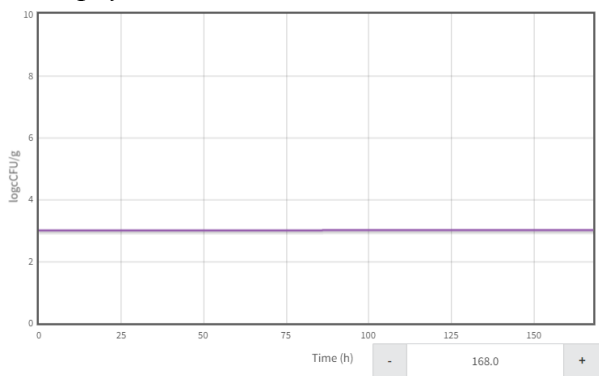
### *Escherichia coli*



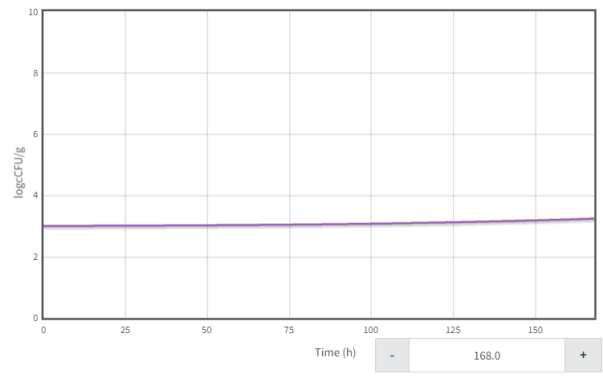
### *Listeria monocytogenes*



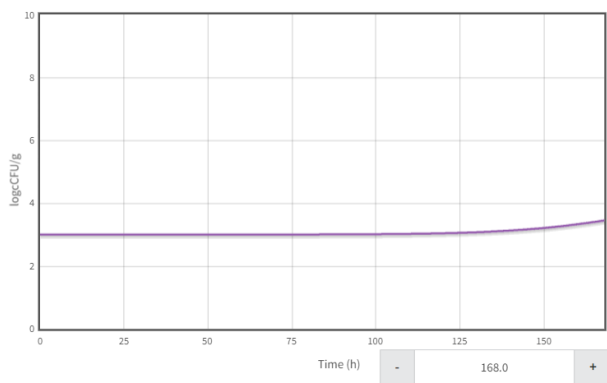
### *Staphylococcus aureus*



### *Salmonella spp*

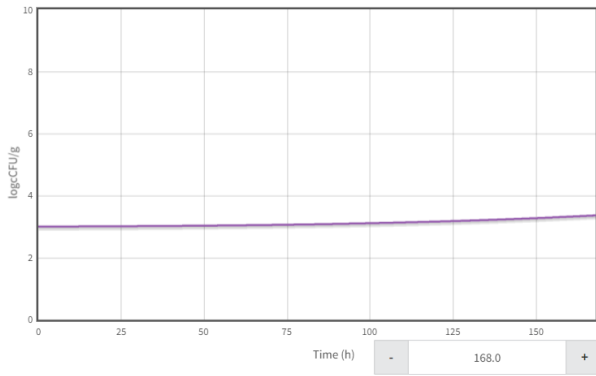


### *Bacillus subtilis*

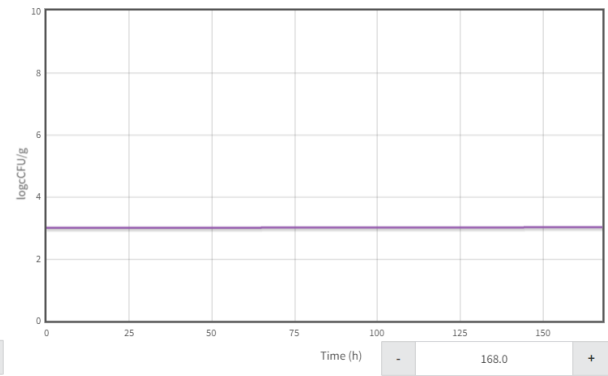


## 10. Bolo de noz

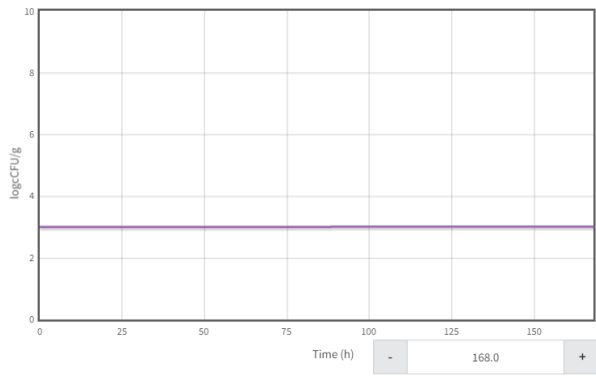
*Escherichia coli*



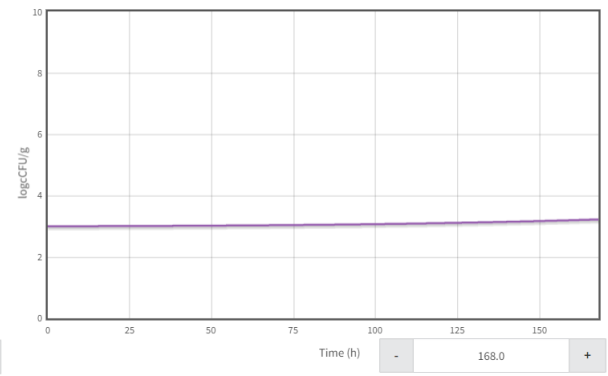
*Listeria monocytogenes*



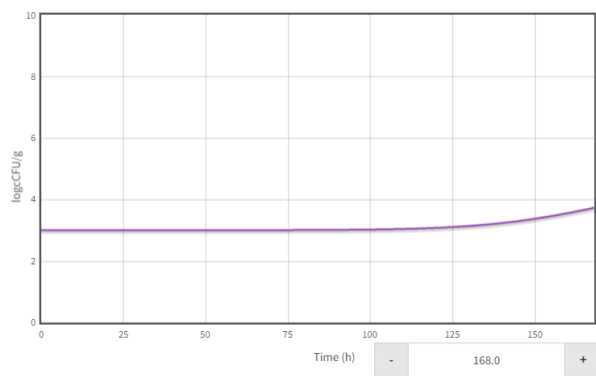
*Staphylococcus aureus*



*Salmonella spp*



*Bacillus subtilis*



## Referências Bibliográficas

- Autoridade de Segurança Alimentar e Económica. (n.d.-a). *Salmonella*.  
<https://www.asae.gov.pt/seguranca-alimentar/riscos-biologicos/salmonella.aspx>
- Autoridade de Segurança Alimentar e Económica. (n.d.-b). *Staphylococcus aureus*.  
<https://www.asae.gov.pt/seguranca-alimentar/riscos-biologicos/staphylococcus-aureus.aspx>
- Autoridade de Segurança Alimentar e Económica. (2015, December). *Rotulagem Alimentar - A Importância da Informação na Defesa do Consumidor*.  
<https://www.asae.gov.pt/newsletter2/asaenews-n-92-dezembro-2015/rotulagem-alimentar-a-importancia-da-informacao-na-defesa-do-consumidor.aspx>
- Cardoso, A. P., Ferreira, V., Leal, M., Ferreira, M., Campos, S., & Guiné, R. P. F. (2020). Perceptions about Healthy Eating and Emotional Factors Conditioning Eating Behaviour: A Study Involving Portugal, Brazil and Argentina. *Foods*, 9(9), 1236.  
<https://doi.org/10.3390/foods9091236>
- Chan, Y. C., & Wiedmann, M. (2008). Physiology and Genetics of *Listeria Monocytogenes* Survival and Growth at Cold Temperatures. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49(3), 237–253. <https://doi.org/10.1080/10408390701856272>
- CODEX ALIMENTARIUS. (2020). *GENERAL PRINCIPLES OF FOOD HYGIENE*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Cook, F. K., & Johnson, B. L. (2009). Microbiological Spoilage of Cereal Products. In *Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages* (pp. 223–244). Springer New York. [https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0826-1\\_8](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0826-1_8)
- Deak, T. (2006). Environmental Factors Influencing Yeasts. In *Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts* (pp. 155–174). Springer-Verlag. [https://doi.org/10.1007/3-540-30985-3\\_8](https://doi.org/10.1007/3-540-30985-3_8)
- Factors Affecting Microbial Growth in Foods. (2016). In *Food Microbiology: Principles into Practice* (pp. 91–106). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119237860.ch5>
- Food and Drug Administration. (2012). *Bad Bug Book, Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins*. (K. A. Lampel, A.-K. Sufian, & S. M. Cahill, Eds.; Second Editions).

- Food Safety Authority of Ireland. (2019). *Guidance Note No. 18 Validation of Product Shelf-life*.
- Frazier, W. C., & Westhoff, D. C. (1988). *Food Microbiology* (4th ed.).
- INE. (2017). *Estatísticas do Comércio 2016*.
- INE. (2018). *Estatísticas do Comércio 2017*.
- INE. (2020). *Estatísticas do Comércio 2019*.
- INE. (2021). *Estatísticas do Comércio 2020*.
- Jarvis, B. (1972). Mold spoilage of foods. *Proc. Biochem.*, 7–11.
- Kemp, S., Hollowood, T., & Hort, J. (2011). *Sensory Evaluation: A Practical Handbook*. John Wiley & Sons.
- Kilcast, D., & Subramaniam, P. (2016). *The Stability and Shelf Life of Food* (P. Subramaniam & P. Wareing, Eds.; Second). Woodhead Publishing.
- Kontominas, M. G. (2014). PACKAGING | Modified Atmosphere Packaging of Foods. In *Encyclopedia of Food Microbiology* (pp. 1012–1016). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00432-8>
- Köster, E. P. (2009). Diversity in the determinants of food choice: A psychological perspective. *Food Quality and Preference*, 20(2), 70–82. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2007.11.002>
- Lawless, H. T., & Heymann, H. (2010). *Sensory Evaluation of Food*. Springer New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6488-5>
- Legan, J. D., & Voysey, P. A. (1991). Yeast spoilage of bakery products and ingredients. *The Journal of Applied Bacteriology*, 70(5), 361–371. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1991.tb02950.x>
- Md, F., Mazumdar, R., & Mannan, S. (2011). Predictive microbiology: Modeling microbial responses in food. *Ceylon Journal of Science (Biological Sciences)*, 40, 121–131. <https://doi.org/10.4038/cjsbs.v40i2.3928>
- Meilgaard, M. C., Carr, B. T., & Civille, G. V. (1999). *Sensory Evaluation Techniques*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781003040729>

- New Zealand Ministry for Primary Industries. (2016). *Guidance Document: How to Determine the Shelf Life of Food*.
- Pérez-Rodríguez, F., & Valero, A. (2013). Predictive Microbiology in Foods. In *Predictive Microbiology in Foods* (pp. 1–10). Springer New York. [https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5520-2\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5520-2_1)
- Pérez-Rodríguez, F., Valero, A., Todd, E. C. D., Carrasco, E., García-Gimeno, R. M., & Zurera, G. (2007). Modeling transfer of Escherichia coli O157:H7 and Staphylococcus aureus during slicing of a cooked meat product. *Meat Science*, 76(4), 692–699. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.02.011>
- Saraiva, M., Correia, C. B., Cunha, I. C., Maia, C., Bonito, C. C., Furtado, R., & Calhau, M. A. (2019). *Interpretação dos resultados de ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo e em superfícies do ambiente de produção e distribuição alimentar: valores-guia*. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP.
- Seiler, D. (1978). The microbiology of cake and its ingredients. *Food Trade Review*, 48(6), 339–344.
- Seiler, D. A. L. (1988). Microbiological problems associated with cereal based foods. *Food Sci. Technol. Today*, 2–37.
- Seiler, D. A. L. (1998). Bakery products. In B. A. Blakistone (Ed.), *Principles and Applications of Modified Atmosphere Packaging of Foods* (pp. 135–157). Springer US. [https://doi.org/10.1007/978-1-4757-6252-5\\_7](https://doi.org/10.1007/978-1-4757-6252-5_7)
- Silva, R. F. F. M. e. (2012). *Determinação da vida útil de dois produtos de pastelaria armazenados sob diferentes condições de conservação* [Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária ]. Universidade Técnica de Lisboa.
- Singh, R. P. (1994). Scientific principles of shelf life evaluation. In *Shelf Life Evaluation of Foods* (pp. 3–26). Springer US. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2095-5\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2095-5_1)
- Singh, R. P., & Heldman, D. R. (2014). Food Freezing. In *Introduction to Food Engineering* (pp. 521–563). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398530-9.00007-3>
- Singh, T. K., & Cadwallader, K. R. (2004). Ways of measuring shelf-life and spoilage. In *Understanding and Measuring the Shelf-Life of Food* (pp. 165–183). Elsevier. <https://doi.org/10.1533/9781855739024.2.165>

Smith, J. P., Daifas, D. P., El-Khoury, W., Koukoutsis, J., & El-Khoury, A. (2004). Shelf Life and Safety Concerns of Bakery Products—A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(1), 19–55. <https://doi.org/10.1080/10408690490263774>

Stone, H., Bleibaum, R., & Thomas, H. (2020). *Sensory Evaluation Practices* (5th ed.). Academic Press.