



CATÓLICA

ESCOLA SUPERIOR DE BIOTECNOLOGIA

PORTO

SISTEMA *COOK-CHILL* EM RESTAURAÇÃO COLETIVA:

LIMITES AO LONGO DO PROCESSO

Por

Ana Isabel de Almeida Roseira

Setembro 2019



CATOLICA

ESCOLA SUPERIOR DE BIOTECNOLOGIA

PORTO

SISTEMA *COOK-CHILL* EM RESTAURAÇÃO COLETIVA:

LIMITES AO LONGO DO PROCESSO

Tese apresentada à Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica Portuguesa
para obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia e Inovação

por

Ana Isabel de Almeida Roseira

Local: Eurest Portugal

Orientação: Dra. Beatriz Oliveira

Coorientação: Prof. Doutora Maria Conceição Hogg

Setembro 2019

À minha filha, que me acompanhou todos os dias na escrita desta dissertação! ♥

Resumo

O *cook-chill* é um sistema simples e controlado de preparação de alimentos, especialmente desenhado para aumentar a flexibilidade de um serviço clássico de restauração. O sistema permite que as refeições sejam confeccionadas antecipadamente, submetidas de imediato a um arrefecimento rápido, mantidas a temperatura controlada (durante a validade atribuída) e regeneradas apenas quando necessário, permitindo alargar a oferta, ao mesmo tempo que se mantém a capacidade operacional de resposta.

A nível global, existem diversos referenciais que definem os limites das várias fases do processo, oscilando entre limites mais estreitos (emitidos pelas entidades europeias e *Codex*) e mais permissivos (emitidos pelas entidades americanas). Contudo, a possibilidade de ocorrência de desvios face às recomendações estabelecidas e a gama relativamente ampla de valores recomendados para esses limites nos vários referenciais sugerem, claramente, que não há consenso científico, abrindo margem para alguma flexibilidade na atribuição dos limites tempo/temperatura e do tempo de vida útil aos produtos *cook-chill*.

Para validar essa hipótese, procedeu-se à análise microbiológica de 748 amostras de produtos alimentares, servindo três propósitos diferentes: a avaliação do tempo de vida útil dos produtos; o estudo do comportamento dos alimentos que sofrem desvios na etapa de pré-arrefecimento; e a observação do que sucede aos produtos sujeitos a temperaturas não controladas no armazenamento. Assim, os resultados das análises microbiológicas efetuadas durante o tempo de vida útil dos produtos estudados permitiram validar o seu comportamento durante 14 dias após produção (D+14). Por outro lado, os testes microbiológicos indicam que uma exposição à temperatura ambiente durante três horas no período de pré-arrefecimento não afeta a qualidade microbiológica de nenhum dos produtos analisados, independentemente do momento da vida útil em que foi feita a análise. Finalmente, quanto às condições de armazenamento, uma exposição accidental a 12° C durante 12 horas não implica a destruição dos produtos.

Através da análise quantitativa de dados e considerando as recomendações globalmente emitidas sobre o tema, é possível admitir a adoção de novos limites a implementar nos procedimentos internos da empresa onde decorreu a presente investigação, com vantagens ao nível da tomada de decisões mais sustentadas sobre os produtos que sofrem desvios, resultando num eventual menor desperdício alimentar.

Palavras-chave: *Cook-chill*; Limites recomendados; Segurança alimentar; Vida útil.

Abstract

Cook-chill is a simple and controlled system, specially designed to increase the flexibility of traditional food service. It allows the cooking meals in advance, which are subsequently rapidly cooled, stored at controlled refrigeration temperature and heated when required for use. This permits the presentation of a wider range of meals without further complicating the procedures applied at the point of use. This approach is applied to food service all across the globe and subsequently many entities have provided recommended procedures for key steps in the process. Where the recommendations concern specific temperature and time regimes for processes, some of these are more restrictive (such as those from the European Union and Codex Alimentarius) and others generally more permissive (the United States recommendations). The relatively wide range of values for these limits in the various recommendation documents, clearly suggests that there is not a clear scientific consensus as to the food safety protection that compliance with these offers. In the light of the consequences of non-compliance with specific process parameters that some commercial operators adopt, often destruction of batches of product, it might be useful to analyze in more detail whether a more flexible approach, offering equivalent safety protection, might be more appropriate.

In order to explore this possibility, a microbiological analysis was made on 748 food samples aiming to: assessing products' shelf life; understanding what happens to products that exceed recommended exposure time in the pre-cooling stage; and observing product behavior when subject to uncontrolled storage temperatures. Thus, microbiological tests allow a validation of product behavior during 14 days after production (day+14). On the other hand, microbiological results show that when a product is exposed to room temperature for three hours during pre-cooling stage, this does not influence the microbiological food safety of any of the products studied, regardless of the shelf life moment at which microbiological test was performed. Finally, concerning storage conditions, this study proved that an accidental exposure at 12°C for 12 hours didn't compromise food safety, and product destruction is not really necessary.

Through a quantitative data analysis and considering worldwide cook-chill recommendations, it is possible to redefine new limits to be considered on internal procedures of the company where the present investigation took place. That will help to support decision process of what to do to a product that didn't meet recommendations, resulting on a food waste reduction.

Keywords: Cook-chill; Recommended limits; Food safety; Shelf life.

Agradecimentos

A realização da presente dissertação não seria possível sem a colaboração da empresa Eurest, a quem deixo o meu agradecimento pela colaboração com este projeto.

Agradeço especialmente àquelas que foram as minhas mentoras para este trabalho, à Dra. Beatriz Oliveira, que aceitou prontamente a orientação deste mestrado e disponibilizou todos os meios que fossem necessários ao seu desenvolvimento, e à Prof. Doutora M^a Conceição Hogg por todo o apoio e contributos para a sua execução.

Não poderia deixar de agradecer toda a ajuda incondicional da colega Rita Amaral, que foi incansável na resposta às diversas dúvidas e problemas que surgiram no decorrer deste trabalho.

Ao meu priminho Zé, por todo o apoio nas revisões linguísticas e gramaticais.

Por fim, mas não menos importante, um grande obrigada à família, que foi o grande pilar em todos os momentos.

Índice

<i>Resumo</i>	7
<i>Abstract</i>	9
<i>Agradecimentos</i>	11
<i>Considerações Introdutórias</i>	17
1. O sistema <i>cook-chill</i>	20
1.1 Princípios básicos	22
1.2 Segurança alimentar e microrganismos expectáveis.....	22
1.3 Etapas do sistema e recomendações	24
1.3.1 Confeção.....	24
1.3.1 Tempo de pré-arrefecimento e arrefecimento rápido.....	26
1.3.2 Armazenamento refrigerado	28
1.3.3 Distribuição dos alimentos refrigerados.....	29
1.3.4 Regeneração.....	29
1.4 Vida útil dos produtos.....	30
1.5 Recomendações emitidas globalmente	31
1.6 Vantagens e desvantagens do sistema <i>cook-chill</i>	34
2 Metodologia	36
2.1 Estudo do tempo de vida útil.....	37
2.2 Desvios no tempo de pré-arrefecimento.....	38
2.3 Desvios da temperatura de armazenamento.....	38
3 Apresentação e discussão dos resultados	40
3.1 Estudo do tempo de vida útil.....	40
3.1.1 Microrganismos indicadores	45
3.1.2 Microrganismos patogénicos.....	52
3.2 Desvios no tempo de pré-arrefecimento.....	64
3.3 Desvios na temperatura de armazenamento.....	65
4 Conclusões gerais	68
5 Trabalhos futuros	72
<i>Apêndices</i>	75
<i>Referências bibliográficas</i>	81

Lista de abreviaturas

a_w – atividade da água (*water activity*)

B. Cereus – *Bacillus cereus*

C – Conforme

CFIA – *Canadian Food Inspection Agency*

C. botulinum – *Clostridium botulinum*

C. perfringens – *Clostridium perfringens*

E. coli – *Escherichia coli*

FAO – *Food and Agriculture Organization of the United Nations*

FDA – *Food and Drugs Administration*

FSAI - *Food Safety Authority of Ireland*

HACCP- *Hazard Analysis and Critical Control Point*

L. monocytogenes – *Listeria monocytogenes*

NC – Não conforme

UFC – unidades formadoras de colónias

USDA – *United States Department of Agriculture*

S. aureus – *Staphylococcus aureus*

Considerações Introdutórias

O calor e o frio são os processos físicos mais antigos utilizados para a preservação dos alimentos. O aquecimento é, certamente, o método clássico de conservação, pois é mais fácil aquecer do que remover calor para produzir temperaturas baixas. Contudo, para conservar alimentos através do frio, já nos tempos primitivos se recorria à utilização de gelo nos locais geográficos onde este existisse. (Gould, 1996)

Variados estudos sustentam que o processo de confecção de alimentos desempenha um papel fundamental no controlo dos perigos microbiológicos, desde que sejam atingidos 75°C no seu centro térmico (ou outras combinações de tempos/temperaturas equivalentes), contribuindo para o aumento da segurança num consumo imediato. (European Chilled Food Federation, 2006; Fédération Européenne de la Restauration Collective Concédée, 2009; Food Safety Authority of Ireland, n.d.; Great Britain Department of Health, 1989; World Health Organization, 2006) No entanto, desde há muito tempo que a necessidade de conservar alimentos por períodos de tempo cada vez mais alargados se tornou num dos fatores primordiais que moveram os avanços na área da tecnologia alimentar. (Fellows, 2000)

Nos últimos 30 anos foram desenvolvidos diversos tipos de processamento alimentar, não só com o objetivo de prolongar o tempo de vida útil dos produtos, mas também de reduzir custos operacionais e melhorar a gestão de *stocks*. (Creed, 2001)

Em resposta a essas novas realidades surge o *cook-chill*, um sistema simples e controlado de preparação de alimentos, especialmente desenhado para aumentar a flexibilidade de um serviço clássico de restauração. O sistema possibilita que as refeições sejam confeccionadas antecipadamente, submetidas de imediato a um arrefecimento rápido, mantidas a temperatura controlada (durante a validade atribuída) e regeneradas apenas quando necessário, permitindo alargar a oferta ao mesmo tempo que se mantém a capacidade operacional de resposta. (Azevedo, 2008; Lacey, 1989)

Este sistema prevê a utilização de diferentes métodos de arrefecimento dos alimentos. Para grandes quantidades é praticamente impossível cumprir com as velocidades de arrefecimento recomendados sem o recurso a equipamentos específicos, designados por células de arrefecimento rápido, ou também conhecidos como abatedores de temperatura. Para pequenas quantidades, e sempre que os alimentos o permitam, a utilização de gelo é também um método

muito utilizado, possibilitando arrefecimentos rápidos a um custo muito mais baixo. (Azevedo, 2008)

A nível global, existem diversos referenciais que definem os limites das várias fases do processo, estabelecendo, por exemplo, o período máximo de pré-arrefecimento, a velocidade de arrefecimento recomendada e a temperatura de armazenamento. No que diz respeito à atribuição do tempo de vida útil dos produtos armazenados em refrigeração, as recomendações também fixam limites díspares entre elas. Importa salientar que é em função do tipo de alimento e do prazo de validade desejados que se deve identificar o patogénico alvo para o tratamento térmico, de modo a garantir a segurança do alimento durante toda a vida útil. (Holdsworth, 2004)

Quer o produto se mantenha armazenado, quer seja distribuído, a temperatura de refrigeração deve ser mantida até ao momento em que se dá início à etapa da regeneração. Nesta etapa, e por questões microbiológicas, o centro térmico do alimento deve atingir a temperatura mínima recomendada. Após a regeneração, os alimentos devem ser consumidos imediatamente. (Edwards & Hartwell, 2006)

É tido como certo que, na área específica da restauração (seja pública ou coletiva), o ritmo de trabalho nos momentos que antecedem o serviço é um dos principais fatores que potencia erros com possível impacto direto na segurança alimentar e na qualidade dos produtos. (Azevedo, 2008) O sistema *cook-chill* minimiza o efeito destes erros e cria, assim, um contexto propício a uma tomada de decisões rápida e com convicção, tão necessária neste tipo de ambientes profissionais. Contudo, a possibilidade de ocorrência de desvios face às recomendações estabelecidas mantém-se, o que nos leva a colocar algumas questões para investigação:

- Em questões de segurança, como se comporta o produto que sofreu desvios de tempos/temperatura nas diferentes etapas face às recomendações?
- Qual o comportamento microbiológico do produto ao longo do tempo?
- A destruição do produto é realmente obrigatória quando existem desvios aos limites definidos?

A presente dissertação pretende equacionar as respostas a estas questões e estruturar-se-á a partir do trabalho desenvolvido na empresa de restauração *Eurest*.

Em Portugal, a *Eurest* foi fundada em 1974 pela *Nestlé* e pela *Compagnie Internationale des Wagons-Lits et du Tourisme*, tendo sido integrada no Grupo *Accor* em 1989 e posteriormente adquirida pelo *Compass Group* em 1995, ao qual pertence atualmente.

Iniciando a sua atividade com as primeiras unidades de restauração na área empresarial, a sua vasta experiência no ramo alimentar permitiu a expansão para outros segmentos de mercado. Atualmente, está presente nas áreas da restauração coletiva (áreas de saúde, ensino e empresarial), restauração pública (áreas de serviço em autoestradas, cafetarias em estações de caminho-de-ferro e barcos, cafetarias e restaurantes em centros comerciais), *catering* e *vending*. (Eurest, 2015) Anualmente, serve mais de 27 milhões de refeições e conta com a colaboração de 3508 funcionários. (“Eurest Portugal,” 2019)

Em Portugal e nos últimos 15 anos, tem produzido milhares de refeições em diversas unidades com sistema *cook-chill*, com especial destaque para a sua Unidade Central de Produção industrial (UCP). Também designada internamente de “Cozinha Central”, a UCP tem uma capacidade máxima de produção de 15 000 refeições/dia e serve desde escolas, a hospitais, empresas e serviços de *catering* em sistema *cook-chill*. Além desta unidade, foram selecionadas mais duas unidades do segmento hospitalar com o sistema *cook-chill* implementado, o que permite a confeção e distribuição a frio ou a quente de refeições completas, embaladas e transportadas de acordo com as normas de higiene e segurança alimentar. Foi nestas três unidades que decorreram os testes referidos neste estudo.

Esta dissertação centrar-se-á numa reflexão acerca das diversas recomendações emitidas a nível global e no estudo do comportamento microbiológico dos produtos em caso de desvios, tendo por base o histórico de análises efetuadas nas três unidades referenciadas. Tem como objetivos principais a validação de novos limites de tempo/temperatura nas etapas de pré-arrefecimento e armazenamento, bem como de novos prazos de validade das refeições produzidas em *cook-chill*, na área da restauração coletiva. Pretende-se com este estudo aumentar o grau de confiança no processo e redefinir ou reajustar os atuais procedimentos internos da empresa relacionados com o sistema, que assentam essencialmente nas recomendações emitidas pelo *Codex Alimentarius*. (FAO/WHO, 2015) Adicionalmente, pretende-se redefinir o plano de ações corretivas em resposta a desvios, sublinhando as medidas de controlo essenciais para cada etapa.

Assim, na secção 1, procurar-se-á apresentar o sistema *cook-chill*, tendo em consideração os seus princípios básicos, as etapas subjacentes ao processo e as vantagens e inconvenientes da

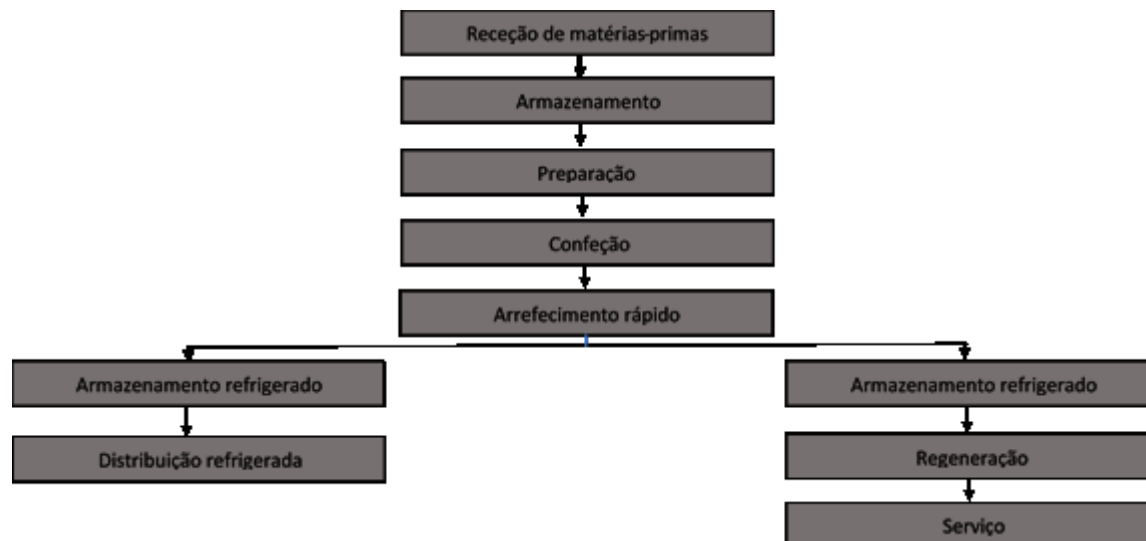
sua utilização. Seguidamente, dar-se-á conta da metodologia adotada no presente estudo, cujos resultados serão enunciados e discutidos na secção 3.

1. O sistema *cook-chill*

O sistema *Cook-chill* necessita de equipamentos adequados para o arrefecimento rápido, para o armazenamento refrigerado e para a regeneração das refeições, de modo a permitirem assegurar a segurança alimentar do produto final. No entanto, é necessário garantir o cumprimento das boas práticas de higiene, o controlo de tempos e temperaturas e que o *design* das instalações e equipamentos seja adequado, especialmente para evitar riscos de possíveis contaminações durante as diversas etapas do processo.

O fluxograma da figura 1 pretende sistematizar estas etapas, aplicadas a uma unidade de restauração coletiva.

Figura 1: Fluxograma-tipo do processo *cook-chill* (adaptado de *Food Safety Authority of Ireland*, 2006)



O *cook-chill* visa superar os problemas da escassez de mão de obra qualificada, garantindo simultaneamente a segurança alimentar dos produtos servidos, já que permite que pessoal com menos habilitações ocupe as funções de regenerar e de servir refeições em unidades recetoras. A produção de refeições através do sistema *cook-chill* permite a centralização do processo de fabrico, permitindo um trabalho de equipa mais eficiente, já que a produção é planeada, com

um controlo dos tamanhos das porções mais rigoroso e podendo contribuir para a redução do desperdício alimentar (as refeições são regeneradas apenas quando necessário). (Creed, 2001)

Conforme acima referido, um dos aspetos valorizados neste âmbito prende-se com o *design* das instalações e dos equipamentos. O desenho do processo de *cook-chill* tem como objetivo sistematizar e controlar as etapas da produção de alimentos para que decorram da forma mais ágil e constante possível, ao invés das oscilações de picos produtivos existentes no processo tradicional. Por isso, torna-se essencial que a projeção das instalações seja adequada a este processo específico de preparação de alimentos. O *layout* e o *design* das instalações devem ser concebidos de forma a permitir um fluxo de trabalho que facilite a circulação de pessoas e de produtos. Idealmente, os alimentos devem ser movimentados na menor distância possível e cruzando o menor número de vias de circulação. (Siddiqui, 2015)

As câmaras de armazenamento de uma cozinha tradicional não permitem o arrefecimento rápido dos alimentos, pelo que não devem ser utilizadas para esse fim. Os equipamentos especificamente desenhados para o arrefecimento rápido são habitualmente um requisito essencial em grandes unidades de *cook-chill*. Nestes locais, é recomendado que haja um investimento num equipamento especializado (ex.: abatedores de temperatura), com um desempenho adequado ao volume de produção nas horas de pico. De forma a atingir os tempos de arrefecimento recomendados, o equipamento, totalmente carregado, deve ter capacidade de reduzir a temperatura dos alimentos de 70°C para $\leq 3^\circ\text{C}$ em menos de 150 minutos. (Food Safety Authority of Ireland, 2006)

Além das dimensões do equipamento, a sua seleção deve ser baseada em especificações técnicas e deve fornecer um controlo preciso, robustez, durabilidade, facilidade na higienização (*hygienic design*), baixa necessidade de manutenção e eficiência no consumo energético. É importante ter em consideração que a potência do equipamento terá de ser tanto maior quanto mais rápido tiver que ser o arrefecimento. A escolha do equipamento deverá garantir uma velocidade de arrefecimento adequada às recomendações e não necessariamente a mais rápida de todas, que aumentaria o impacto ambiental e poderia fazer disparar desnecessariamente os custos energéticos e, conseqüentemente, os custos financeiros.

Deste modo, os cuidados a ter com os equipamentos e as instalações são apenas uma das preocupações de quem se dedica a colocar em funcionamento o sistema *cook-chill*, cujos princípios básicos serão explicitados na subsecção seguinte.

1.1 Princípios básicos

Todos os procedimentos adotados seguem alguns princípios basilares, sem os quais não é possível garantir as melhores condições de conservação dos alimentos. É altamente recomendado que qualquer sistema *cook-chill* suporte a sua abordagem de segurança alimentar com a adoção de metodologias baseadas nos princípios do HACCP (*Hazard Analysis and Critical Control Point*). Devem ser implementadas várias medidas de controlo a fim de reduzir ou eliminar as contaminações dos alimentos nas etapas iniciais do processamento. A seleção de matérias-primas é o primeiro passo para obter um produto de alta qualidade. O processo de confeção assegurará desejavelmente a redução ou destruição dos microrganismos e o processo de arrefecimento rápido terá como propósito controlar o seu crescimento. O armazenamento, a temperatura de refrigeração, a regeneração (choque térmico) e o serviço devem garantir a manutenção da qualidade e da segurança alimentar dos produtos. As boas práticas de fabrico, nomeadamente a prevenção de contaminações cruzadas (particularmente entre crus e confeccionados), e as boas práticas de higiene dos manipuladores, das instalações e dos equipamentos devem ser integradas nos sistemas de produção *cook-chill*. Todos os procedimentos do sistema terão de ser cuidadosamente monitorizados. (Azevedo, 2008; FAO/WHO, 2015; Food Safety Authority of Ireland, 2006; Great Britain Department of Health, 1989; Siddiqui, 2015)

1.2 Segurança alimentar e microrganismos expectáveis

A segurança é, como acabámos de ver, uma prioridade no âmbito do sistema *cook-chill*. Por isso, é utilizada uma combinação de tecnologias que contribuem para a garantia da segurança alimentar, ao mesmo tempo que se visa preservar ao máximo a qualidade dos produtos. Os alimentos refrigerados podem ser produzidos recorrendo a uma ampla variedade de ingredientes, processos e sistemas de embalagem. De modo a cumprir esta prioridade, torna-se necessário conhecer um pouco melhor quais os elementos suscetíveis de ameaça.

Os perigos microbiológicos, químicos ou físicos são bastante variáveis de um produto para outro. (European Chilled Food Federation, 2006) Os microrganismos patogénicos podem estar presentes devido a más condições de higiene, à carga inicial da matéria-prima, a contaminações pré-confeção, a procedimentos inadequados de confeção ou de arrefecimento (que permitem a

sua sobrevivência ou o seu crescimento) e à recontaminação do alimento confeccionado. (Food Safety Authority of Ireland, 2006; Rodgers, 2003)

Tanto a sua ativação como a inativação dependem das suas próprias características, da vida útil e das características intrínsecas e extrínsecas do produto alimentar. (Siddiqui, 2015) As particularidades físico-químicas dos alimentos, as condições de armazenamento, a interação entre os microrganismos transmitidos e os fatores de processamento, como o pH, a atividade da água (a_w), a fonte de nutrientes (do próprio produto alimentar), o tempo e a temperatura de processamento, têm impacto na presença e crescimento destes microrganismos. (Rodgers, 2003)

Os mais comumente associados a surtos com alimentos refrigerados são *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* (*E. coli*) produtora de toxina, *Salmonella spp.*, *Clostridium perfringens* (*C. perfringens*) e *Clostridium botulinum* (*C. botulinum*). Cada um destes microrganismos representa uma preocupação a nível de segurança em cada uma das etapas do processo *cook-chill* (figura 2).

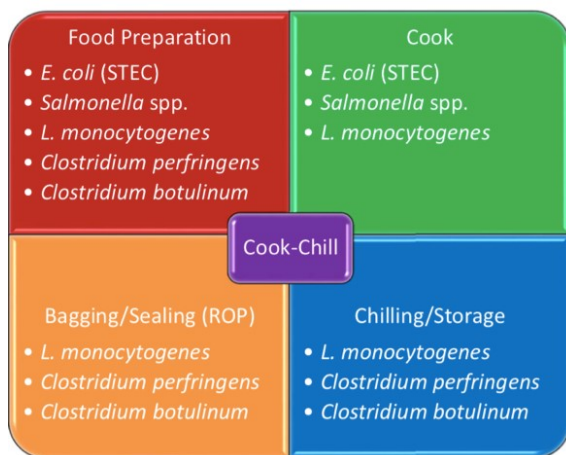


Figura 2: Principais microrganismos patogênicos associados a cada uma das etapas do *cook-chill*. Adaptado de (Stratton & Bianchini, 2014)

Além dos microrganismos referidos, importa também analisar microbiologicamente os alimentos *cook-chill* no que respeita à carga microbiológica de outros patogênicos que possam constituir uma ameaça em alimentos, tais como *Bacillus cereus* (*B.cereus*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) e *Campylobacter spp.*

De seguida, serão enunciados os cuidados e os procedimentos adotados em cada uma dessas fases, de modo a garantir a segurança dos produtos e a evitar ou neutralizar uma eventual contaminação.

1.3 Etapas do sistema e recomendações

É fundamental que a validação do processo *cook-chill* tenha em consideração as etapas de receção de matérias-primas, preparação, confeção, arrefecimento rápido, armazenamento em refrigeração, transporte refrigerado e regeneração dos alimentos antes do serviço. (Poumeyrol, Morelli, Noel, & Cornu, 2012)

Antes de se proceder à apresentação dessas fases, importa sublinhar que a etapa significativamente mais relacionada com surtos causados por esporos de *C. perfringens* em alimentos processados em *cook-chill* é o arrefecimento rápido. (Golden, Crouch, Latimer, Kadry, & Kasue, 2009; Poumeyrol et al., 2012) Segundo Olds *et al.* (2006), no setor da restauração, o processo de arrefecimento rápido é habitualmente pouco controlado e esse controlo é efetuado de forma pouco eficiente, devido essencialmente ao desenho inadequado do equipamento e à sua fraca capacidade de arrefecimento. Um arrefecimento lento pode resultar na germinação de esporos e no crescimento de células vegetativas. (Olds, Mendonca, Sneed, & Bisha, 2006) Para dar resposta a estes perigos, foram desenvolvidos vários códigos de boas práticas e recomendações por diversas entidades e em diferentes países. Estas diretrizes, apresentadas com mais pormenor em 1.5, embora com algumas diferenças entre si, incidem essencialmente no controlo dos desvios de temperatura no processo de *cook-chill*.

1.3.1 Confeção

O processo de confeção deve ser desenhado de forma a conservar ao máximo o valor nutricional dos alimentos. É essencial que o binómio tempo/temperatura permita garantir a redução ou destruição de microrganismos patogénicos e de deterioradores da qualidade do produto. (Baptista et al., 2010; FAO/WHO, 2003; Food and Drug Administration, 2017)

A FSA recomendada que o alimento seja cozinhado até atingir 70° C no seu centro térmico (temperatura instantânea), ou outras combinações de tempo/temperatura equivalentes (tabela 1). (Food Standards Agency, 2018) A eficácia do processo de confeção deve ser regularmente

verificada pela monitorização da temperatura nas partes mais críticas do produto (nas porções maiores e o mais interior possível). (FAO/WHO, 2003)

Tabela 1: Combinações equivalentes de tempos/temperaturas de confeção. Adaptado de (Food and Drug Administration, 2017)

Temperatura (°C)	Tempo (min)	Temperatura (°C)	Tempo (seg)
54,4	112	66,1	54
55,0	89	67,2	34
56,1	56	68,3	22
57,2	36	69,4	14
57,8	28	70,0	0
58,9	18		

Os microrganismos patogénicos cuja redução da carga microbiana é crucial durante a etapa da confeção são *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* e *Listeria monocytogenes*. No entanto, o tratamento térmico não é eficaz na eliminação dos esporos de *C. botulinum*, de *C. perfringens* ou de outras bactérias formadoras de esporos, sendo fundamental evitar a sua formação através da aplicação de boas práticas de fabrico.

Recorde-se que os esporos são uma forma de resistência nos quais as bactérias produzem uma estrutura inativa que sobrevive na ausência de nutrientes e desenvolve mecanismos de resistência às condições adversas do meio. Caso haja desvios de temperatura no período pós-confeção, os esporos podem desenvolver-se e evoluir para a forma bacteriana. (Food and Drug Administration, 2012) A sua oportunidade de crescimento é ainda potenciada pelo facto de outros microrganismos competidores terem sido anteriormente eliminados pela ação do calor. As condições não refrigeradas e anaeróbias são propícias à sua multiplicação. (Food and Drug Administration, 2017) O arrefecimento rápido dos alimentos após confeção, que será detalhado de seguida, é um passo crucial, pois evita a multiplicação de bactérias. Caso seja necessário dividir em porções, é sugerido que o processo seja feito logo após confeção (pré-arrefecimento), num ambiente o mais higiénico possível. É recomendado o uso de recipientes limpos, desinfetados e com tampa (ou devidamente selados), por forma a proteger o alimento de eventuais contaminações. (FAO/WHO, 2015)

1.3.1 Tempo de pré-arrefecimento e arrefecimento rápido

Após o término da confeção, o arrefecimento deverá ocorrer o mais rapidamente possível a fim de preservar as características sensoriais, a qualidade nutricional e a segurança dos alimentos, evitando a multiplicação de microrganismos formadores de esporos. (Food and Drug Administration, 2017)

A velocidade do arrefecimento aplicada deve ser eficaz na inibição do crescimento de patogénicos. O arrefecimento lento dos alimentos pode representar um perigo se, durante esse período, os microrganismos vegetativos patogénicos, bactérias formadoras de esporos ou de toxinas tiverem condições de tempo e temperatura suficientes para proliferar até níveis perigosos. (Coorey et al., 2018; Food Safety Authority of Ireland, 2006) Em alimentos refrigerados, os microrganismos psicrófilos são, obviamente, o principal motivo de preocupação. Importa, assim, avaliar quais os efeitos que diferentes microrganismos podem ter sobre os alimentos nesta etapa, deixando, conseqüentemente, subentendidas algumas indicações para evitar a contaminação.

Clostridium perfringens é uma bactéria anaeróbia (mas aerotolerante), formadora de esporos e de enterotoxinas. A bactéria é relativamente resistente a temperaturas de refrigeração e os seus esporos são termorresistentes. *Clostridium botulinum* é uma bactéria anaeróbia, formadora de esporos e produtora de uma potente neurotoxina. Os seus esporos são igualmente resistentes ao calor e podem sobreviver em alimentos que foram incorreta ou minimamente processados. Qualquer alimento que permita o crescimento da bactéria e produção de toxinas pode estar associado ao botulismo. Isto pode ocorrer quando o processamento permite a sobrevivência dos esporos ou quando os alimentos não são devidamente submetidos a altas temperaturas antes do consumo, não garantindo a eliminação das células vivas. (Food and Drug Administration, 2012) Assim, a presença em número suficiente de *C. botulinum*, *C. perfringens* ou de outras bactérias formadoras de esporos pode levar à produção de toxinas prejudiciais. Por isso, inviabilizar a multiplicação destes microrganismos, nomeadamente através do processo de confeção, é a melhor forma de garantir elevados níveis de segurança. (Food and Drug Administration, 2017)

Listeria monocytogenes é uma bactéria resistente, halo-tolerante, não só capaz de sobreviver em temperaturas abaixo de 1°C, mas também de crescer nessas condições, contrariamente a muitos outros microrganismos patogénicos. (Food and Drug Administration, 2012) A sua resistência térmica e as suas características psicrófilas tornam este microrganismo numa preocupação para a indústria dos alimentos refrigerados, em especial nas etapas de

arrefecimento rápido e armazenamento. (K. Keer; S. Dealler; R. Lacey, 1987) *L. monocytogenes* pode persistir durante meses, ou mesmo anos, nas instalações e equipamentos da indústria alimentar, incluindo nos ralos dos sistemas de escoamento. Isto deve-se à sua capacidade de adaptação a condições extremas, que são hostis para outras bactérias. Além de conseguir sobreviver e crescer a baixas temperaturas, *L. monocytogenes* sobrevive também a altas concentrações de sal, a baixa disponibilidade de água ($a_w < 0,93$) e possui a capacidade de formar biofilmes. A aplicação de procedimentos ineficazes de limpeza e desinfecção em ambientes de processamento de alimentos, particularmente em locais de difícil acesso, também aumenta o risco de fixação e crescimento de *L. monocytogenes* e, portanto, potencia a contaminação contínua de produtos alimentares. (Miranda, 2017; Rodríguez-López, Rodríguez-Herrera, Vázquez-Sánchez, & López Cabo, 2018)

Não obstante a listeriose ser relativamente rara, a sua elevada taxa de mortalidade e o envolvimento frequente de alimentos industrialmente processados nos surtos fazem com que o impacto social e económico desta doença seja um dos maiores entre as toxinfecções alimentares (Food and Drug Administration, 2012; Mateus et al., 2017; Mena et al., 2004) *L. monocytogenes* causa listeriose, que pode ser não invasiva (uma forma leve de doença) ou invasiva (pode causar septicemia e meningite). A listeriose invasiva é uma doença relativamente rara, mas frequentemente grave, cujas taxas de letalidade rondam os 20% a 30%, especialmente nos grupos de risco (grávidas, recém-nascidos, idosos, imunodeprimidos e indivíduos com doenças crónicas como diabetes, cancro, SIDA, desnutrição...). (*Compendium of Microbiological Criteria for Food*, 2018)

A nível mundial, são diversas as recomendações respeitantes ao tempo de pré-arrefecimento e aos tempos e temperaturas de arrefecimento dos produtos submetidos ao processo de *cook-chill*. Genericamente, as entidades europeias sugerem que o arrefecimento ocorra no máximo 30 minutos após a confeção (FAO/WHO, 2015; Fellows, 2000; Great Britain Department of Health, 1989), enquanto as entidades americanas são mais permissivas, recomendando que o tempo decorrido até ao arrefecimento (tempo de pré-arrefecimento) não exceda os 90 minutos (USDA, 2001). É globalmente aceite que o processo de confeção seja seguido de um arrefecimento rápido para temperaturas situadas entre 10°C e os 3°C, num período que pode variar entre 90 minutos (Reino Unido) e seis horas e meia (EUA).

A temperatura do alimento na altura em que se inicia a etapa de arrefecimento rápido é um dos fatores determinantes na velocidade média do arrefecimento. Contudo, esta velocidade é

influenciada por alguns fatores intrínsecos ao próprio alimento ou relacionados com o seu acondicionamento. Assim, entre os fatores inerentes ao alimento destacam-se a dimensão, a forma, a densidade e a sua condutividade térmica. No que diz respeito à embalagem de acondicionamento, importa considerar o tipo de material, a sua capacidade e se possui ou não tampa ou se está selado, sendo de sublinhar que a forma como o equipamento foi desenhado e concebido irá também afetar a velocidade de arrefecimento. (Great Britain Department of Health, 1989; Proença, 1999)

Durante esta operação, os alimentos devem ser protegidos de qualquer contaminação, sendo para tal necessário que estejam acondicionados em embalagens ou recipientes fechados ou revestidos com material apropriado. (Baptista et al., 2010)

1.3.2 Armazenamento refrigerado

Assim que termina a etapa de arrefecimento rápido, os alimentos devem ser guardados em câmaras de refrigeração logo que possível. O principal objetivo deste armazenamento é garantir a manutenção da segurança dos géneros alimentícios durante o seu tempo de vida útil. Por outras palavras, a refrigeração permite atrasar os processos de deterioração, mas não consegue travá-los, nem tão pouco contribuir para melhorar a qualidade de um produto. (Brown, 2008)

Ao longo do processo de armazenamento refrigerado, torna-se fundamental garantir que todos os alimentos anteriormente sujeitos à etapa de arrefecimento rápido sejam mantidos a temperaturas adequadas, sendo altamente recomendado que o equipamento usado para o arrefecimento não funcione como local de armazenamento destes produtos. A temperatura da zona de armazenamento deve ser controlada através de um equipamento de monitorização de temperatura calibrado e deve estar entre -1°C e 5°C (Food Safety Authority of Ireland, 2006) ou entre 3°C e 5°C, segundo as várias recomendações a nível mundial (Baptista et al., 2010; European Chilled Food Federation, 2006; FAO/WHO, 2015; FDA; CDC; HHS; USDA, 2013; Fellows, 2000; Great Britain Department of Health, 1989; NSW, 2011; Siddiqui, 2015). Eventuais desvios à temperatura parametrizada poderão ser detetados através de um sistema de monitorização contínua equipado com alarme sonoro, pelo que a sua instalação é claramente aconselhável.

O controlo e a manutenção apropriados da temperatura de refrigeração são importantes para minimizar alterações na qualidade organolética e travar o crescimento microbiológico. (Stanley, 1997)

1.3.3 Distribuição dos alimentos refrigerados

Esta operação segue-se habitualmente à etapa do armazenamento. Nesta fase, a flutuação da temperatura pode ser difícil de controlar, o que contribuirá para um eventual comprometimento da segurança das refeições a nível microbiológico.

É essencial que a temperatura do alimento não exceda a temperatura de distribuição recomendada (4°C), particularmente se o armazenamento se prolongar até ao fim do seu prazo de validade. Quando a distribuição é feita num curto prazo de tempo (inferior a 60 minutos) e é imediatamente seguida pela regeneração e consumo, os recipientes isotérmicos podem ser adequados para a preservação da temperatura, embora estas situações exijam uma monitorização regular. Estes recipientes devem ser refrigerados antes de serem usados. (Baptista, 2007)

Em alturas em que a temperatura ambiente se encontra elevada e a distribuição é feita num longo período de tempo (superior a quatro horas), os veículos de transporte deverão ser refrigerados. Estes veículos devem ser construídos e adequadamente isolados de forma a, quando equipados com unidades de refrigeração apropriadas, serem capazes de manter temperaturas de produtos entre -1°C e 4°C ao longo da carga. A temperatura do ar do veículo de distribuição deve ser monitorizada, devendo situar-se entre -1°C e 5°C, de forma a manter dentro dos parâmetros desejáveis a temperatura do produto. O destinatário dos produtos alimentares deve assegurar, à receção dos produtos alimentares transportados, que os alimentos são seguros e foram mantidos à temperatura apropriada durante o transporte. (Baptista, 2007; Food Safety Authority of Ireland, 2006)

1.3.4 Regeneração

Para que o crescimento microbiano e as perdas de qualidade nutricional e sensorial sejam minimizados, a regeneração dos alimentos deverá ocorrer o mais brevemente possível, e,

preferencialmente, ocorrer no local de consumo. (Food Safety Authority of Ireland, 2006; Great Britain Department of Health, 1989) Enquanto a *Food Safety Authority of Ireland* (FSAI) recomenda que o processo de regeneração se inicie no máximo 30 minutos após a saída do armazenamento refrigerado, a *Codex Comition* (doravante *Codex*) permite que este intervalo se estenda até 1 hora. (FAO/WHO, 2015; Food Safety Authority of Ireland, 2006)

A maioria dos autores consultados no âmbito do processo de regeneração recomenda uma temperatura de regeneração de 70°C (Food Safety Authority of Ireland, 2006; Great Britain Department of Health, 1989; NSW, 2011), embora sejam também encontradas indicações que sugerem que 65°C serão suficientes. (Baptista et al., 2010) No entanto, e em contraste com uma posição mais tolerante face aos limites na etapa de arrefecimento, as referências americanas estabelecem como valor recomendado 74°C durante 15 segundos. (Food and Drug Administration, 2017)

As refeições devem ser regeneradas durante o tempo adequado, de forma a que a qualidade nutricional e sensorial dos alimentos não seja prejudicada pelo seu sobreaquecimento, sendo obrigatório manter a temperatura dos alimentos regenerados fora do intervalo de risco, podendo recorrer a sistemas de manutenção da temperatura, como por exemplo, estufas ou banhos-maria.

As ameaças verificadas nesta etapa da conservação dos alimentos são menores, uma vez que a temperatura recomendada de regeneração irá destruir a maioria dos patogénicos. Contudo, as toxinas e os esporos não serão eliminados. Por este motivo, a regeneração não deve ser usada como um procedimento para minimizar os efeitos de uma confeção ou refrigeração inadequadas ou de más práticas de higiene. (Food Safety Authority of Ireland, 2006)

1.4 Vida útil dos produtos

O tempo de vida útil é definido como o período durante o qual um produto permanece seguro ao mesmo tempo que garante as especificações de qualidade, desde que armazenado sob condições adequadas e usado com o fim com o qual foi desenvolvido. (European Chilled Food Federation, 2006)

O fabricante é o responsável por determinar o prazo de validade e deve ter em conta não só a segurança microbiológica, como também a estabilidade do produto e as características

organoléticas. É por este motivo que, na atribuição da vida útil dos produtos, é importante considerar tanto os microrganismos patogénicos, como os psicrófilos deterioradores. Nos casos em que o prazo de validade aceitável para a qualidade organolética exceda o limite de segurança microbiológica, a vida útil atribuída deve ser determinada com base na segurança do alimento.

Por questões de segurança e qualidade, os produtos *cook-chill* dependem do armazenamento a temperaturas de refrigeração durante todo o seu prazo de validade. (European Chilled Food Federation, 2006) Encontram-se recomendações distintas para a atribuição da vida útil destes produtos, que oscilam entre os cinco e os 10 dias. O *Codex* e a FSAI definem como prazo máximo cinco dias, incluindo o dia de produção, enquanto que a *Food and Drugs Administration* (FDA) permite atingir os sete dias. (FAO/WHO, 2015; Food Safety Authority of Ireland, 2006) Já a *Australia and New Zeland Food Authority* (NSW) refere que o prazo de validade se pode estender até aos 10 dias. No entanto, para uma vida útil superior a cinco dias, são exigidas validações que suportem este prazo de validade (por exemplo, análises microbiológicas no final da validade). (NSW, 2011)

1.5 Recomendações emitidas globalmente

Existem, como referido nas subsecções precedentes, diversas recomendações a nível mundial para os limites de tempo e temperatura das diferentes etapas ao longo do processo. Depois de analisadas algumas recomendações relativas ao tempo útil de vida dos produtos e a diferentes etapas do processo de *cook-chill*, importa, agora, sistematizar as indicações mais importantes, registadas na tabela 2 com o objetivo de compilar orientações de diversas entidades face a estes limites, facilitando a comparação das similaridades e discrepâncias entre elas. A referida tabela servirá de base à análise que se segue.

A grande parte dos autores ou entidades consultados não refere valores-limite para todas as etapas do processo, constituindo este aspeto, desde já, uma limitação da revisão bibliográfica efetuada. As três únicas entidades que permitem preencher com orientações todos os campos da tabela são a *Food Safety Authority of Ireland* (FSAI), a *Food and Drugs Administration* (FDA) e o *Great Britain Department of Health*. (Food and Drug Administration, 2017; Food Safety Authority of Ireland, 2006; Great Britain Department of Health, 1989) Contudo, importa referir que o *Codex* estabelece recomendações para todas as etapas do processo exceto a da confeção. (FAO/WHO, 2015)

Tabela 2: Limites de tempo/temperatura das várias etapas e tempo de vida útil dos alimentos de acordo com várias entidades; (ND = Dados não disponíveis)

Local de origem	Entidade	Recomendações							Observações complementares
		Cozedura (temperatura/ tempo)	Pré-arrefecimento (tempo máximo)	Arrefecimento rápido (temperaturas)	Arrefecimento rápido (tempo máximo)	Armazenamento (temperatura)	Regeneração (temperatura/ tempo)	Tempo de vida (em refrigeração)	
Mundial	Codex Comition	ND	30 min	De 60°C a 10° C	2 horas	4°C	70°C *	5 dias	*no max 1 hora após retirar derefrigeração
Europa	European Chilled Food Federation (ECFF)	>70°C/ 2min ou <90°C/ 10min	ND	<5°C	ND	5°C	ND	ND	
	Great Britain Department of Health	70-75°C/ 2 min	30 min	0°C-3°C	90 min	3°C	70°C-75°C	5 dias	
	French Ministry for Food, Agriculture and Fisheries	ND	ND	De 63°C a 10°C	2 horas	ND	ND	ND	
	Food safety authority of Ireland (FSAI)	≥ 70°C /2 min (ou equivalente)	30 min	≤ 3°C	120 min	≤ 3°C	70°C no maximo 30 min após retirar de refrigeração	5 dias*	*exceto se a segurança do produto, segundo as condições de armazenamento expectáveis, tenha sido determinada e validada pelo produtor
	Food Safty Authority (FSA)	70°C /2 min (ou equivalente)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
	Fédération Européenne de la Restauration Collective Concédée (FERCO)	75°C	ND	65°C a 10°C	1 horas	1°C a 4°C	10°C a 75°C / 1 hora	3 dias *	* se o tempo de vida for superior, o fornecedor deve fazer a sua própria análise de risco
	Associação da Hotelaria, Restauração e Similares de Portugal (AHRESP)	65°C	ND	5°C	2 horas	1°C - 4 °C	65°C	ND	
	Fellows, 2000	ND	30 min	3°C	90 min	0°C - 3°C	ND	ND	
Austrália	Australian and New Zealand Food Standards Code (NSW)	70°C/ 2 min (ou equivalente)	ND	De 60°C a 21°C	2 horas	5°C	> 70°C por 2 min (ou equivalente) *.	10 dias **	* ou no menor tempo possível sabendo que o tempo para atingir 60°C está limitado a 1h30 ** após os 5 dias deve existir validação
				E de 21°C a 5°C	4 horas				
América	United Sates Department of Agriculture (USDA)	ND	ND	De 54°C a 26°C	90 min	ND	ND	ND	
	E de 26°C a 4°C			5 horas					
	Food and Drugs Administration (FDA)	70°C / <1 seg ou 66°C/ 1 min ou 63°C/ 3 min	90 min	De 57°C a 21°C	2 horas	5°C	74°C / 15 seg	7 dias	*desde que 57,2 a 21,1°C ocorra no max. nas primeiras 2 horas
	E de 57°C a 5°C			6 horas					
Canadian Food Inspection Agency (CFIA)*	ND	90 min	48,8°C a 26,6°C	1 hora	4°C	ND	ND	*Recommendations for cooling heat processed meat products	
12,7°C a 4,4°C			7 horas						
Ásia	Siddiqui, 2015	65-80°C	ND	De 10°C a 3°C	90 min a 4 horas	0°C - 3°C	ND	ND	

É consensual para todas as entidades que a etapa de confecção deve garantir a eliminação de microrganismos patogênicos e de microrganismos deterioradores da qualidade do produto. As recomendações de tempo/temperatura estão já bem estudadas e todas as entidades descrevem tempos e temperaturas equivalentes entre si. O intervalo das recomendações de temperatura oscila entre os 63°C e os 90°C. Algumas das referências não especificam o tempo durante o qual a temperatura recomendada deve ser atingida no centro térmico do alimento.

Foram encontradas apenas seis entidades que estabelecem um tempo máximo entre o término da confecção e o início do arrefecimento rápido (tempo de pré-arrefecimento). Esta fase do processo torna-se crítica quando a produção não é bem planeada e o equipamento não tem capacidade de resposta para o número de refeições produzidas, forçando um compasso de espera a temperaturas não controladas. É interessante observar que as recomendações americanas (USDA e CFIA) são mais permissivas neste tempo de espera, sugerindo que não deve ser superior a 90 minutos. (Canadian Food Inspection Agency, 2013; USDA, 2001) Em contraste, as restantes entidades limitam-no a 30 minutos. Os resultados do presente estudo aproximam-se mais das recomendações americanas, já que foi possível validar um tempo de exposição à temperatura ambiente de três horas.

É na segunda etapa, referente ao arrefecimento rápido, que se encontram as maiores discrepâncias no binómio tempo/temperatura, tratando-se, como afirmado em 1.3, da etapa mais propícia à existência de surtos causados por esporos de *Clostridium perfringens* em alimentos processados em *cook-chill*. O *Codex*, o *French Ministry of Food, Agriculture and Fishes* e a *Fédération Européenne de la Restauration Collective Concédée* (FERCO) são as referências que admitem a temperatura final do produto mais elevada (10°C). (FAO/WHO, 2015; Fédération Européenne de la Restauration Collective Concédée, 2009) As restantes entidades e autores recomendam um arrefecimento do produto entre os 3°C e 5°C. (ECFF; GBDH; FSAI; AHRESP; Fellows, 2000; NSW; USDA; FDA; CFIA; Siddiqui, 2015).

Quanto ao tempo máximo que deve demorar o processo de arrefecimento, as orientações variam entre os 90 minutos e as oito horas. O *Codex* e as entidades europeias definem apenas um intervalo de tempo para que a temperatura de refrigeração seja alcançada. Por outro lado, há um maior detalhe nas recomendações americanas e australianas, que assumem que a maior redução da temperatura (para 21°C a 26°C) deve ocorrer rapidamente, nos primeiros 90 minutos a duas horas. Após esse período, sugerem que os valores de refrigeração sejam atingidos nas

horas seguintes (entre quatro a seis horas). Os dados recolhidos para a presente investigação (seção 3) não foram suficientes para fazer qualquer validação destes tempos e temperaturas.

Parece haver um maior consenso entre as recomendações encontradas relativas ao armazenamento, que variam entre 0°C e 5°C. Neste caso, não se consegue estabelecer nenhuma relação entre as temperaturas recomendadas e os locais de origem. As entidades que recomendam limites mais tolerantes são a ECFF (Europa), a NSW (Austrália e Nova Zelândia) e a FDA (América). (European Chilled Food Federation, 2006; Food and Drug Administration, 2017; NSW, 2011) Os resultados obtidos nesta dissertação (seção 3) validam a conformidade dos produtos estudados face a desvios a todas estas recomendações, assumindo que uma exposição de 12 horas a 12°C não altera a qualidade microbiológica dos mesmos.

Apenas sete das entidades emitem orientações para o processo de regeneração (última etapa), que deve atingir temperaturas semelhantes às da confeção. No entanto, apesar de o intervalo das temperaturas recomendadas pela maioria das entidades variar pouco (70°C a 75°C), verificase uma discrepância com as recomendações da *Associação da Hotelaria, Restauração e Similares de Portugal* (ARHESP), que sugere que deve ser superior a 65°C. (Baptista et al., 2010)

O tempo de vida útil é referido também apenas por seis das entidades, oscilando entre três e 10 dias. As recomendações europeias e as do *Codex* atribuem prazos de validade mais curtos (três a cinco dias), enquanto as americanas e australianas são mais tolerantes (sete a 10 dias). A análise dos resultados obtidos nesta investigação (seção 3) permitiu validar o comportamento dos produtos com 14 dias de validade, superando o limite de 10 dias estabelecido pela *Australia and New Zeland Food Standards Code* (NSW).

1.6 Vantagens e desvantagens do sistema cook-chill

Apesar da existência de certas limitações, o sistema *cook-chill* apresenta inúmeros benefícios que permitem equacionar alguns contributos para melhorar o seu funcionamento, designadamente no que diz respeito aos limites de tempo e de temperaturas previstos ao longo das diferentes etapas do processo. Devido à conveniência das refeições prontas-a-servir e à natureza dos setores da restauração que requerem o fornecimento de um elevado volume de

refeições no menor tempo possível, o *cook-chill* responde mais eficazmente a essas necessidades face ao sistema tradicional de serviço de refeições.

O *cook-chill* está especialmente desenhado para conferir uma maior flexibilidade no serviço e para melhorar a gestão de tempo e de recursos. O sistema possibilita a produção em maior quantidade, melhorando o custo e a eficiência da produção. As refeições produzidas têm uma validade mais alargada, o que permite aumentar a oferta mantendo a capacidade operacional de resposta. A extensão do tempo de vida dos produtos faz com que seja possível a sua distribuição para mercados mais distantes. Aliada a esta possibilidade, a concentração da produção nos períodos mais convenientes leva a um aumento da produtividade e, conseqüentemente, à escalabilidade da produção e da distribuição. O desfasamento temporal entre a produção e o serviço permite um cuidado mais rigoroso na preparação e acabamento das refeições, bem como no cumprimento dos requisitos de higiene alimentar. De uma forma geral, pode considerar-se que a qualidade global dos produtos é potencialmente melhorada. (Azevedo, 2008; Siddiqui, 2015)

Apesar das numerosas vantagens deste sistema, existem também alguns constrangimentos, essencialmente relacionados com questões financeiras e de qualidade. A implementação do processo requer um investimento inicial em equipamentos especializados, necessários para o arrefecimento dos produtos, bem como em câmaras de frio que permitam o cumprimento rigoroso dos requisitos de armazenamento dos produtos acabados. Obviamente, os consumos energéticos destes equipamentos, o espaço que requerem nas instalações e os custos com a sua manutenção constituem também um inconveniente. (Lacey, 1989)

O sistema *cook-chill* pode não ser adequado para todos os tipos de alimentos e de confeções. Por exemplo, a qualidade organolética dos grelhados, batatas fritas ou produtos caramelizados submetidos a este processamento fica comprometida. Ao longo do processo, ocorrem ainda perdas de alguns nutrientes, com especial destaque para as vitaminas com oscilações marcadas nas etapas de arrefecimento, armazenamento e regeneração. (Williams, 1996) A maior limitação do tempo de prateleira dos produtos *cook-chill* é a degradação das características sensoriais e o crescimento microbiológico. Estas características dependem essencialmente das condições de armazenamento (tempo e temperatura). (Siddiqui, 2015)

2 Metodologia

Tratados os aspetos principais relativos ao funcionamento do sistema *cook-chill*, procede-se, agora, à apresentação do estudo realizado com vista a dar resposta às questões de investigação levantadas nas *Considerações Introdutórias* e que agora se retomam:

- Em questões de segurança, como se comporta o produto que sofreu desvios de tempos/temperatura nas diferentes etapas face às recomendações?
- Qual o comportamento microbiológico do produto ao longo do tempo?
- A destruição do produto é realmente obrigatória quando existem desvios aos limites definidos?

A elaboração do presente trabalho passou pela reunião de todas as análises microbiológicas já realizadas em três unidades de restauração com *cook-chill* implementado e pela avaliação de toda a informação recolhida por forma a validar as várias etapas do processo e o tempo de vida útil dos produtos.

Procedeu-se, assim, à análise microbiológica de um total de 748 amostras de produtos alimentares com três diferentes propósitos: a avaliação do tempo de vida útil dos produtos (597 amostras); o estudo do comportamento dos alimentos que sofrem desvios na etapa de pré-arrefecimento (11 amostras); e a observação do que sucede aos produtos sujeitos a temperaturas não controladas no armazenamento (140 amostras). Uma vez que este estudo assenta nestes três grandes objetivos, serão adiante abordados separadamente os três temas.

Antes ainda, importa referir que os procedimentos *cook-chill* implementados pela Eurest no momento destas recolhas, e até à data, assentam nas recomendações do *Codex Alimentarius*: os produtos são confeccionados a temperaturas $>75^{\circ}\text{C}$, rapidamente arrefecidos dos 60°C a $<10^{\circ}\text{C}$ em menos de 2h00 e conservados a temperaturas entre 0°C e 5°C durante um prazo máximo de sete dias (dia de produção +6). O período de pré-arrefecimento não deve exceder os 30 minutos e o embalamento das refeições produzidas decorre nesta etapa e é feito em embalagens de polipropileno, devidamente seladas. Em função do número de doses necessário para cada pedido, o peso da embalagem pode variar. Por este motivo, e para que o arrefecimento seja mais rápido e uniforme, definiu-se que os produtos deverão ter proporções semelhantes e, sempre que possível, não exceder uma profundidade de 5 cm. Quanto aos produtos em peça, limitou-se a um peso de 2,5 kg e a uma espessura máxima de 10 cm.

2.1 Estudo do tempo de vida útil

O estudo do tempo de vida útil dos alimentos baseou-se em 5727 ensaios microbiológicos, efetuados a 597 amostras de produtos alimentares. Os ensaios microbiológicos realizados incidiram em diversos produtos alimentares, nos diferentes dias de armazenamento refrigerado após produção (dia 0 a dia 14). Destes 597 produtos analisados, 584 eram refeições e 13 eram sopas.

Este estudo assentou na avaliação do histórico dos boletins de análises microbiológicas, realizadas desde 2012 até 2018, a produtos submetidos a este processo, em diferentes unidades e em diferentes momentos do seu tempo de vida útil. Dado que se pretende estudar o comportamento microbiológico do produto ao longo do seu armazenamento em refrigeração, as análises microbiológicas foram efetuadas no intervalo entre o dia da produção (D=0) e o 14º dia após produção (D+14). Importa esclarecer a recolha deste histórico não permite a avaliação do mesmo produto ao longo da sua vida útil, uma vez que os ensaios foram realizados de acordo com o plano de análises definido para cada uma das unidades, o que torna a frequência, a seleção dos produtos e o momento da sua vida útil variáveis de unidade para unidade. As análises avaliadas correspondem a pratos e sopas que se encontravam armazenados em câmaras de refrigeração. Para cada produto, foram analisadas cinco amostras distintas, recolhidas de diferentes embalagens do mesmo lote de produção. Foram registadas, pelos técnicos do laboratório contratado, as temperaturas dos produtos no momento da recolha, a sua composição e a data de produção. Foram apenas selecionadas as amostras que apresentavam informações para todos estes campos, o que constituiu uma limitação a este estudo.

Adicionalmente, e para colmatar a já referida impossibilidade de avaliar exatamente o mesmo produto ao longo do seu tempo de vida útil, recorreu-se a um conjunto de análises especificamente efetuadas aos mesmos produtos em dois momentos da sua validade. Foram selecionadas seis categorias de produtos, representativas da produção: sopa de legumes, canja, prato composto de carne, componente de carne, componente de peixe, guarnição. As amostras de cada um dos produtos foram recolhidas em D0 (dia de produção) e D+7 (sete dias após data de produção). As amostras foram mantidas na câmara de produto acabado, respeitando as temperaturas de armazenamento definidas (0°C a 5°C). Foi solicitado ao laboratório a contagem de *E. coli* e a análise de patogénicos, tais como contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, pesquisa de *L. monocytogenes* e pesquisa de *Salmonella spp.*

2.2 Desvios no tempo de pré-arrefecimento

Para o estudo de questões relativas ao pré-arrefecimento, foram recolhidos dados de análises microbiológicas de seis produtos, propositadamente expostos à temperatura ambiente (20°C) durante esta etapa (após confeção e antes do arrefecimento rápido). As amostras estiveram expostas durante 30 minutos e durante três horas até entrarem na célula de arrefecimento, tendo sido posteriormente enviadas para análise laboratorial (análise ao dia 0). Estes produtos seguiram o restante processo, tendo sido arrefecidos e conservados em câmara refrigerada durante sete dias, recolhendo novas amostras dos mesmos produtos para análise microbiológica (ao dia 7). Foram seleccionadas diferentes categorias de produtos, representativas da variedade da produção (sopa de legumes, canja, carne, peixe, guarnição). Foram solicitadas ao laboratório as contagens de *E. coli* e de *Staphylococcus* coagulase positiva, pesquisa em 25g de *Listeria monocytogenes* e de *Salmonella spp.*

2.3 Desvios da temperatura de armazenamento

Foram recolhidos dados de 140 análises microbiológicas realizadas a produtos armazenados em câmaras de refrigeração que se encontravam fora da temperatura recomendada devido a avaria, em duas situações distintas. Numa das situações, os produtos foram analisados após a etapa da regeneração e na outra foram analisados antes da regeneração.

No primeiro cenário, foram analisados os boletins correspondentes a 66 refeições que se encontravam acondicionadas numa câmara refrigerada que sofreu uma avaria durante 39 horas, deixando os produtos expostos a temperaturas que chegaram a atingir os 18,4°C em armazenamento. Foram recolhidas cinco amostras de cada lote de produção, após regeneração das mesmas. Os dias de validade dos produtos recolhidos oscilaram entre do dia 1 (D+1) e o dia 7 (D+7). O facto de não terem sido registadas as temperaturas dos produtos no momento da recolha constitui uma limitação a este estudo, pois apenas se conhece a temperatura da câmara em que se encontravam armazenados no momento da recolha (18,4°C).

No segundo cenário, e em complemento a esta validação, aproveitando outra situação de avaria de uma câmara de produto acabado, foram analisadas 74 amostras de refeições que estiveram conservadas no interior de uma câmara avariada durante 14 horas, atingindo temperaturas de 12°C. Os produtos foram recolhidos durante a etapa da armazenagem, desta vez sem terem sido regenerados. Também neste caso, o momento da vida útil dos produtos na altura da recolha

oscilou entre o dia 1 (D+1) e o dia 7 (D+7). No momento da recolha, a câmara encontrava-se a 12°C, desconhecendo-se os valores referentes à temperatura dos produtos à semelhança do caso anterior.

Para qualquer um dos ensaios realizados ao longo deste estudo, foram utilizados os parâmetros microbiológicos e respetivos valores de referência indicados na tabela 3. As recolhas de amostras e as análises laboratoriais foram efetuadas por técnicos qualificados de laboratórios acreditados, parceiros da empresa. Todas as temperaturas referidas neste estudo foram monitorizadas pelos técnicos que procederam às recolhas.

Tabela 3: Parâmetros analisados e respetivos valores de referência (*definidos pela Eurest com base na bibliografia consultada) (Debevere, 2006; INSA, n.d.; RJ Gilbert et al., 2000); ufc/g = unidades formadoras de colónias/ grama.

Parâmetro analítico	Observações	Valores de referência *
Contagem de microrganismos a 30°C	-	<1x10 ⁴ ufc/g
Contagem de microrganismos psicrofílos		<1x10 ⁵ ufc/g
Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>		<1x10 ⁴ ufc/g
Contagem de <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>)		<1x10 ¹ ufc/g
Pesquisa de genes produtores de verotoxina de <i>E. coli</i> (pesquisa de <i>E. coli</i> O157 H7, Real-Time PCR)	Aplicável a produtos com resultado não satisfatório para contagem de <i>E. coli</i>	Ausência em 25g
Contagem de bolores e leveduras		<1x10 ⁴ ufc/g
Contagem de <i>Bacillus cereus</i>		<1x10 ³ ufc/g
Contagem de <i>Clostridium perfringens</i>		<1x10 ³ ufc/g
Contagem de <i>Staphylococcus coagulase</i> +		<1x10 ² ufc/g
Pesquisa de <i>Campylobacter</i> em 25g	Aplicável a pratos com aves ou porco	Ausência em 25g
Pesquisa de <i>Salmonella spp.</i> em 25g		Ausência em 25g
Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i> em 25g		Ausência em 25g
Contagem de <i>Listeria monocytogenes</i>	Aplicável a produtos com resultados não satisfatórios para pesquisa de <i>L. monocytogenes</i> em 25g	<1x10 ² ufc/g

3 Apresentação e discussão dos resultados

3.1 Estudo do tempo de vida útil

Recorde-se que, tendo em vista o estudo do tempo de vida útil, foram consideradas 597 amostras, sendo 584 refeições e 13 sopas. No momento da recolha, as temperaturas do produto registadas oscilaram entre -1,4°C e 13,3°C.

A presença de microrganismos nos alimentos, além de favorecer a sua deterioração e/ou a redução da sua vida útil, possibilita a veiculação de patogénicos, acarretando potenciais riscos para a saúde do consumidor. Nos 5727 ensaios microbiológicos, verificaram-se 2% de não conformidades (n=132), que incluem desvios aos valores de referência de microrganismos (indicadores e patogénicos) que, mais à frente, serão detalhados. A categoria com maior percentagem de resultados não satisfatórios corresponde às sopas, com 19% dos resultados NC (n=19), conforme representado na tabela 4.

Tabela 4: Distribuição do número e percentagem de resultados conformes (C) e não conformes (NC) por categoria do produto.

	Resultado	n	%
Refeição	C	5512	98%
	NC	113	2%
Sopa	C	83	81%
	NC	19	19%
Total	C	5595	98%
	NC	132	2%

Para o estudo da vida útil, foram ensaiados os parâmetros microbiológicos de acordo com o anteriormente descrito na secção 2 (tabela 3).

O gráfico da figura 3 pretende representar a percentagem de resultados conformes (C) e não conformes (NC) em função do dia em que foi efetuada a análise microbiológica.

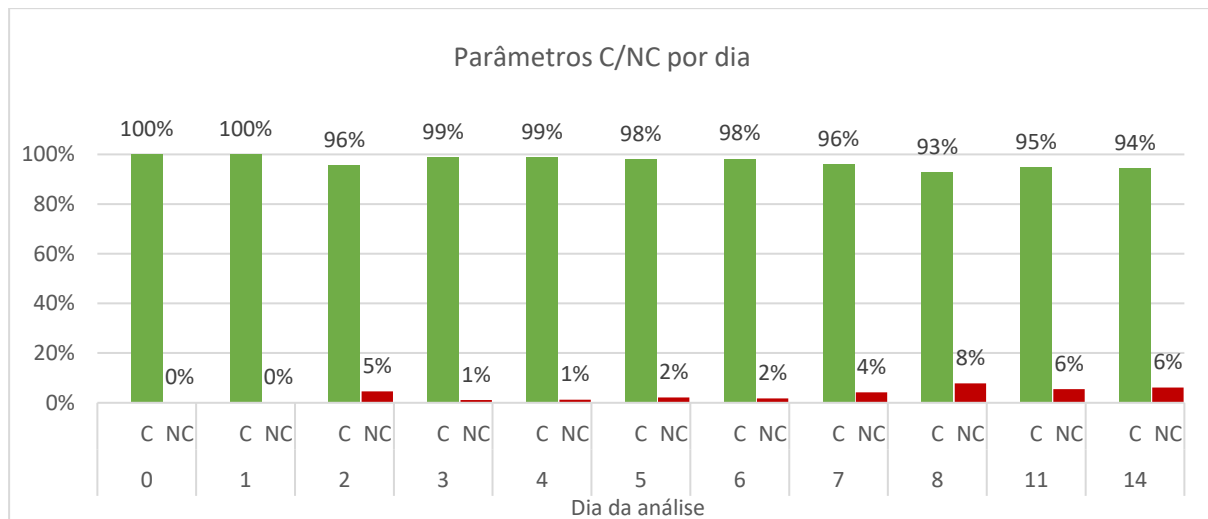


Figura 3: Percentagem de resultados conformes (C) e não conformes (NC), expressos em função do dia da vida útil do produto no qual foi efetuada a análise microbiológica (dia da análise).

Observa-se que a maioria das não conformidades ocorrem a partir do oitavo dia após produção (D+8), embora também se verifiquem resultados NC nos restantes dias, excetuando D 0 e D+1. Esta tendência crescente de não conformidades ao longo do tempo poderia levar a crer que os valores encontrados estariam relacionados com os dias de armazenamento. Desta forma, importa perceber melhor que tipo de microrganismos foram encontrados para que se possa associar a possíveis causas, conforme se fará de seguida.

Uma análise mais detalhada, baseada na tabela 5 permite concluir que maioria das não conformidades incide nos microrganismos indicadores de higiene. Observam-se 13% (n=71) de valores não satisfatórios para a contagem de microrganismos a 30°C; 5% para a contagem de microrganismos psicrófilos (n=29); 2% (n=13) para a contagem de bolores e leveduras; e 1% (n=5) para a contagem de *Enterobacteriaceae*. Consta-se que o único microrganismo patogénico que apresenta resultados não conformes é a pesquisa de *Listeria monocytogenes* em 25g. Este microrganismo foi detetado em 2% das amostras analisadas (n=14).

Tabela 5: Número (n) e percentagem (%) de resultados conformes (C) e não conformes (NC) para cada parâmetro microbiológico analisado.

Microrganismo (indicador)	Resultado	(%)	(n)	Microrganismo (patogénico)	Resultado	(%)	(n)
Contagem de Microrganismos a 30°C				Contagem de Bacillus cereus			
	C	87%	485		C	100%	381
	NC	13%	71		NC	0%	0
Contagem de microrganismos psicotróficos				Contagem de Clostridium perfringens			
	C	95%	533		C	100%	572
	NC	5%	29		NC	0%	0
Contagem de Enterobacteriaceae				Pesquisa de Listeria monocytogenes em 25g			
	C	99%	562		C	98%	565
	NC	1%	5		NC	2%	14
Contagem de E. coli				Contagem de Staphylococcus coagulase +			
	C	100%	584		C	100%	584
	NC	0%	0		NC	0%	0
Contagem de Bolores e Leveduras				Pesquisa de Campylobacter em 25g			
	C	98%	561		C	100%	165
	NC	2%	13		NC	0%	0
				Pesquisa de Salmonella em 25g			
					C	100%	584
					NC	0%	0

A tabela 6 pretende sistematizar os resultados obtidos neste estudo, evidenciando o número e respetiva percentagem de resultados conformes e não conformes para cada um dos parâmetros microbiológicos analisados ao longo do tempo decorrido desde o dia da produção (D) e o 14º dia de armazenamento refrigerado (D+14). De forma a facilitar a leitura e interpretação dos resultados, optou-se também por representar graficamente estes resultados para cada um dos microrganismos, ao longo da exposição textual que se segue.

Tabela 6: Resultados conformes (C) e não conformes (NC) para cada microrganismo, expressos em número absoluto (n) e em percentagem (%) em função do dia da vida útil em que foi efetuada a análise; NA=Não aplicável.

Dia da Análise	Apreciação	Contagem Microrganismos a 30°C		Contagem microrganismos psicrófilos		Contagem <i>Enterobacteriaceae</i>		Contagem <i>E.coli</i>		Contagem Bolores e leveduras		Contagem de <i>B.cereus</i>		Contagem <i>C. perfringens</i>		Pesquisa <i>L.monocytogenes</i> 25g		Contagem <i>L.monocytogenes</i>		Contagem <i>Staphylococcus Coagulase+</i>		Pesquisa <i>Campylobacter</i> 25g		Pesquisa <i>Samonella</i> 25g	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	NA	%	n	%	n	%	Total	%
0	C	5	100%	5	100%	5	100%	5	100%	5	100%	1	100%	5	100%	5	100%	NA	NA	5	100%	5	100%	5	100%
	NC	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	NA	NA	0	0%	0	0%	0	0%
1	C	11	100%	11	100%	12	100%	18	100%	14	100%	11	100%	12	100%	18	100%	NA	NA	18	100%	NA	NA	18	100%
	NC	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	NA	NA	0	0%	NA	NA	0	0%
2	C	16	76%	15	75%	21	100%	21	100%	23	100%	21	100%	21	100%	21	100%	NA	NA	21	100%	15	100%	21	100%
	NC	5	24%	5	25%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	NA	NA	0	0%	0	0%	0	0%
3	C	24	89%	26	100%	27	100%	27	100%	29	100%	21	100%	27	100%	27	100%	NA	NA	27	100%	10	100%	27	100%
	NC	3	11%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	NA	NA	0	0%	0	0%	0	0%
4	C	25	100%	25	100%	25	100%	25	100%	25	100%	20	100%	25	100%	22	88%	3	100%	25	100%	5	100%	25	100%
	NC	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	3	12%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
5	C	59	84%	66	94%	70	100%	75	100%	70	100%	55	100%	75	100%	75	100%	NA	NA	75	100%	25	100%	75	100%
	NC	11	16%	4	6%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	NA	NA	0	0%	0	0%	0	0%
6	C	260	89%	281	95%	296	100%	296	100%	290	98%	191	100%	296	100%	290	100%	1	100%	296	100%	85	100%	296	100%
	NC	31	11%	14	5%	1	0%	0	0%	5	2%	0	0%	0	0%	1	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
7	C	75	82%	84	93%	86	96%	97	100%	85	91%	46	100%	91	100%	94	97%	3	100%	97	100%	15	100%	97	100%
	NC	16	18%	6	7%	4	4%	0	0%	8	9%	0	0%	0	0%	3	3%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
8	C	1	20%	5	100%	5	100%	5	100%	5	100%	5	100%	5	100%	5	100%	NA	NA	5	100%	5	100%	5	100%
	NC	4	80%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	NA	NA	0	0%	0	0%	0	0%
11	C	5	100%	10	100%	10	100%	10	100%	10	100%	5	100%	10	100%	5	50%	5	100%	10	100%	NA	NA	10	100%
	NC	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	5	50%	0	0%	0	0%	NA	NA	0	0%
14	C	4	80%	5	100%	5	100%	5	100%	5	100%	5	100%	5	100%	3	60%	2	100%	5	100%	NA	NA	5	100%
	NC	1	20%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	2	40%	0	0%	0	0%	NA	NA	0	0%
TOTAL ENSAIOS		556		562		567		584		574		381		572		579		14		584		165		584	

3.1.1 Microorganismos indicadores

Contagem de microrganismos a 30°C

Dado que o presente estudo incide em alimentos totalmente cozinhados, considerou-se como valor limite recomendado $<1 \times 10^4$ ufc/g. (Debevere, 2006; INSA, n.d.; RJ Gilbert et al., 2000) O gráfico da figura 4 mostra a percentagem de resultados conformes (C) e não conformes (NC) para microrganismos a 30°C, em função do momento da vida útil dos produtos em que foi efetuada a análise microbiológica. Foram identificadas 71 análises não satisfatórias para este parâmetro (tabela 6). A contagem de microrganismos a 30°C é habitualmente usada como indicador de higiene e ajuda a determinar problemas de qualidade. Como não permite identificar a presença de patogénicos, não deve ser utilizada como indicador para avaliar a segurança dos produtos. (*Compendium of Microbiological Criteria for Food*, 2018; Health Protection Agency, 2009)

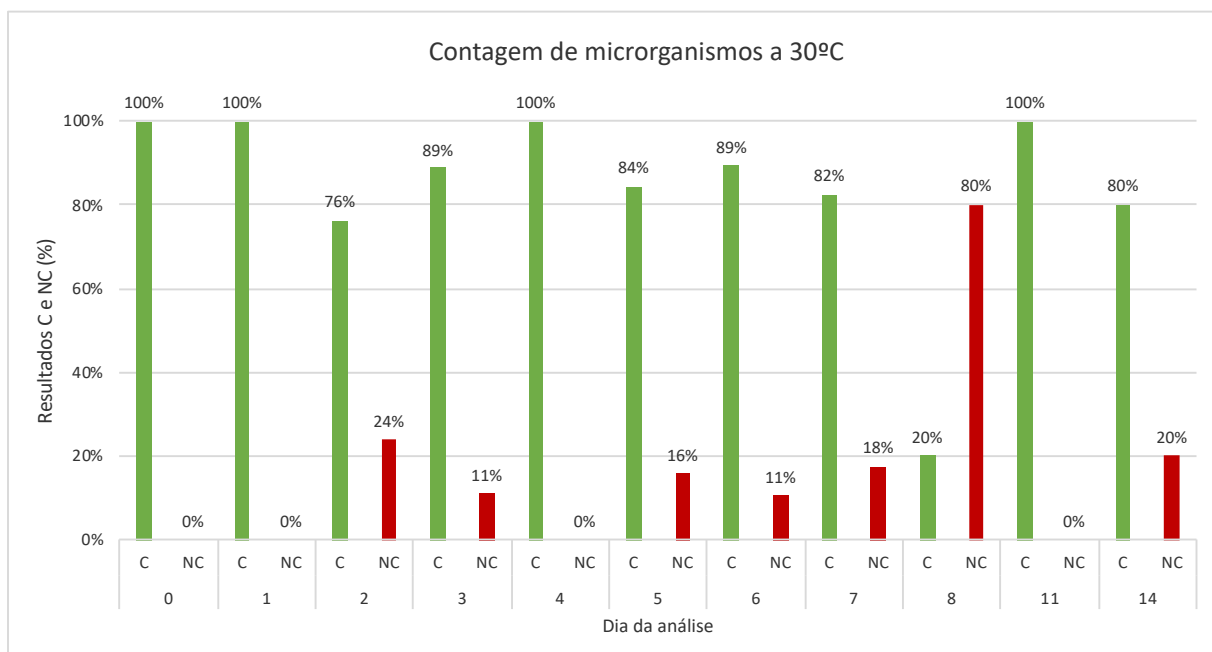


Figura 4: Gráfico representativo da percentagem de resultados conformes (C) e não conformes (NC) para a contagem de microrganismos a 30°C, em função do dia da vida útil em que foi efetuada a análise (dia da análise).

Das 71 NC relacionadas com este parâmetro, verifica-se que grande parte ocorre entre os quinto e sétimo dias de armazenamento (figura 4), maioritariamente nos pratos de carne (49%; n=35) e em especial pratos de aves (tabela A1 dos *apêndices*). Estudos como o de *Carvalho et al.*

(2005) mostram que as aves, logo na altura em que são encaminhadas para o abate, são já uma fonte inicial de contaminação, pelo que, se as condições de higiene durante o abate e processamento das carnes não forem as melhores, a qualidade e a segurança da matéria-prima estarão, à partida, comprometidas. (Carvalho, Cortez, Salott, Bürger, & Vidal-Martins A.M.C., 2005) Obviamente que o aparecimento de microrganismos mesófilos nos produtos *cook-chill* está fortemente relacionado com falhas no controlo do tempo/ temperatura ao longo do processo, sendo especialmente crítica a etapa do arrefecimento rápido.

Quando presentes em elevado número, os microrganismos mesófilos indicam falhas durante a produção, em especial possíveis falhas nos processos de controlo de temperaturas. Pela análise da tabela A1 dos *Apêndices*, observa-se que, no momento da recolha, os produtos que revelaram valores não conformes para estes microrganismos se encontravam a temperaturas que oscilavam entre 0,9°C e 11,4°C, pelo que se conclui que as eventuais falhas no controlo da temperatura terão ocorrido antes da etapa do arrefecimento e não durante o armazenamento. São recomendadas análises adicionais quando são encontradas contagens insatisfatórias de mesófilos, com o objetivo de identificar os microrganismos predominantes, pelo que se procedeu em conformidade com esta recomendação, conforme se observará posteriormente. (RJ Gilbert et al., 2000)

Para que o crescimento de microrganismos mesófilos esteja controlado no processo, é importante minimizar a exposição dos produtos preparados à temperatura ambiente, especialmente nas fases pós-confeção e pré-arrefecimento rápido, e garantir que as condições tempo-temperatura do arrefecimento são cumpridas. Estas medidas de controlo estão já refletidas nos procedimentos instituídos pela Eurest.

Contagem de microrganismos psicrófilos

A refrigeração dos alimentos produzidos através de *cook-chill* tem como objetivo controlar a multiplicação de microrganismos mesófilos. Contudo, os microrganismos psicrófilos são capazes de crescer a uma taxa relativamente rápida a temperaturas de refrigeração, com capacidade de se adaptarem a condições extremas de vida (-1°C a 5°C), pelo que constituem igualmente uma preocupação. Incluem vários microrganismos, como bactérias Gram-positivas e negativas, aeróbias e anaeróbias, bactérias formadoras de esporos e não formadoras de esporos, com ou sem capacidade de motilidade, *bacillus*, *vibrio* ou *coccobacillos*. (Vasut & Robeci, 2009; Witter, 2010)

Conforme representado no gráfico da figura 5, no presente estudo identificaram-se 29 amostras (5%) cujo resultado da análise deste parâmetro ultrapassa o valor de referência (1×10^5 ufc/g). (Debevere, 2006; INSA, n.d.; RJ Gilbert et al., 2000) No momento da recolha, os alimentos que revelaram estes valores não conformes encontravam-se a temperaturas que oscilaram entre 1,0°C e 4,3°C (tabela A2 dos *Apêndices*).

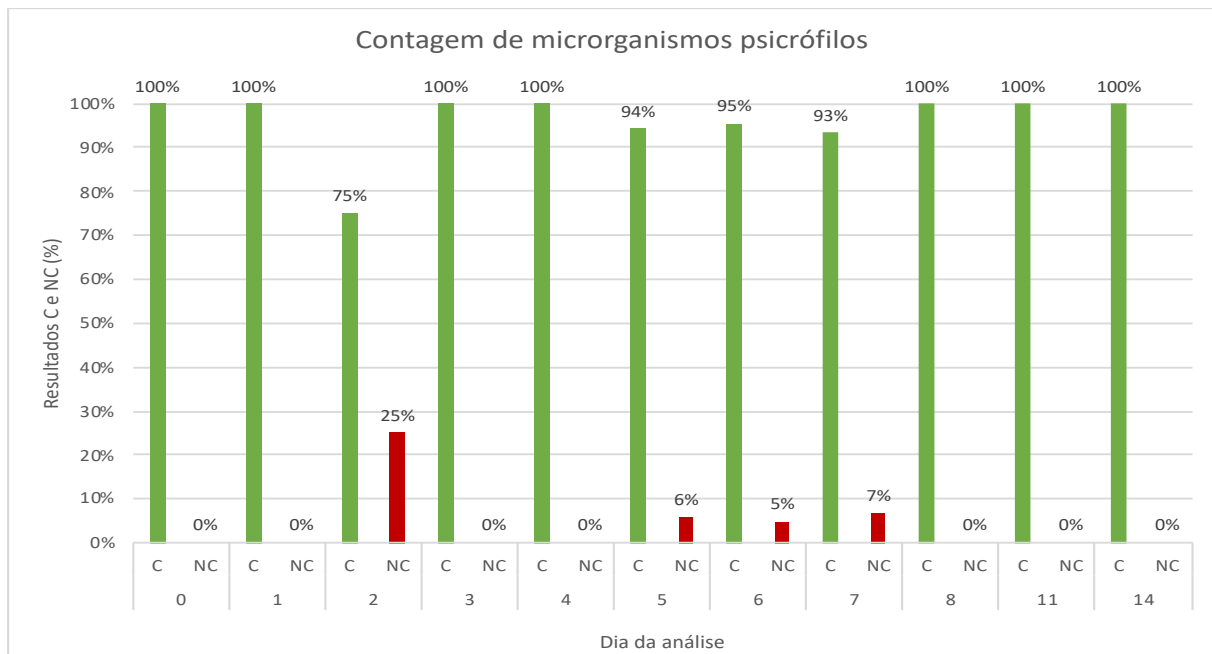


Figura 5: Gráfico representativo da percentagem de resultados conformes (C) e não conformes (NC) para a contagem de microrganismos psicrófilos, em função do dia da vida útil em que foi efetuada a análise (dia da análise).

Estudos, como os desenvolvidos por Vasut *et al* (2009), revelam que a contaminação de alimentos por microrganismos psicrófilos provoca alterações organolépticas (aspeto, coloração, consistência, cheiro e sabor), mesmo que estes sejam mantidos a temperaturas consideradas adequadas para a sua conservação. Em alguns casos, estas alterações do cheiro e sabor dos alimentos são mais complexas, difíceis de definir, como consequência do desenvolvimento de microrganismos com diferentes ações e efeitos.

A contaminação por psicrófilos ao longo da cadeia de frio é possível se as boas práticas de higiene não forem cumpridas. (Vasut & Robeci, 2009) Os microrganismos psicrófilos não constituem um problema de saúde pública, já que são apenas microrganismos indicadores e não são conhecidos por provocarem doença. (Witter, 2010) É, no entanto, importante que se realizem ensaios adicionais nestes alimentos para identificar a presença de microrganismos patogénicos, conforme se observará adiante.

Contagem de *Enterobacteriaceae*

Os resultados deste estudo revelam cinco ensaios não conformes para este parâmetro. Segundo o gráfico da figura 6 e a tabela 6, no sétimo dia de vida útil observa-se que 4% das amostras (n=4) apresentaram valores de contagens superiores ao limite de referência ($>1 \times 10^4$ ufc/g). (Debevere, 2006; INSA, n.d.; RJ Gilbert et al., 2000)

O grupo das *Enterobacteriaceae* inclui espécies originárias do trato intestinal de animais, humanos, plantas e meio ambiente. Esta família de bactérias inclui espécies patogénicas, como *Salmonella*, *E. coli* patogénica, *Shigella* e *Cronobacter*, bem como outras espécies não patogénicas. A contagem de *Enterobacteriaceae* é útil para avaliar a adequabilidade de práticas de processamento e higiene, especialmente nos alimentos com tratamento térmico. (Baylis, Uyttendaele, Joosten, & Davies, 2011; *Compendium of Microbiological Criteria for Food*, 2018)

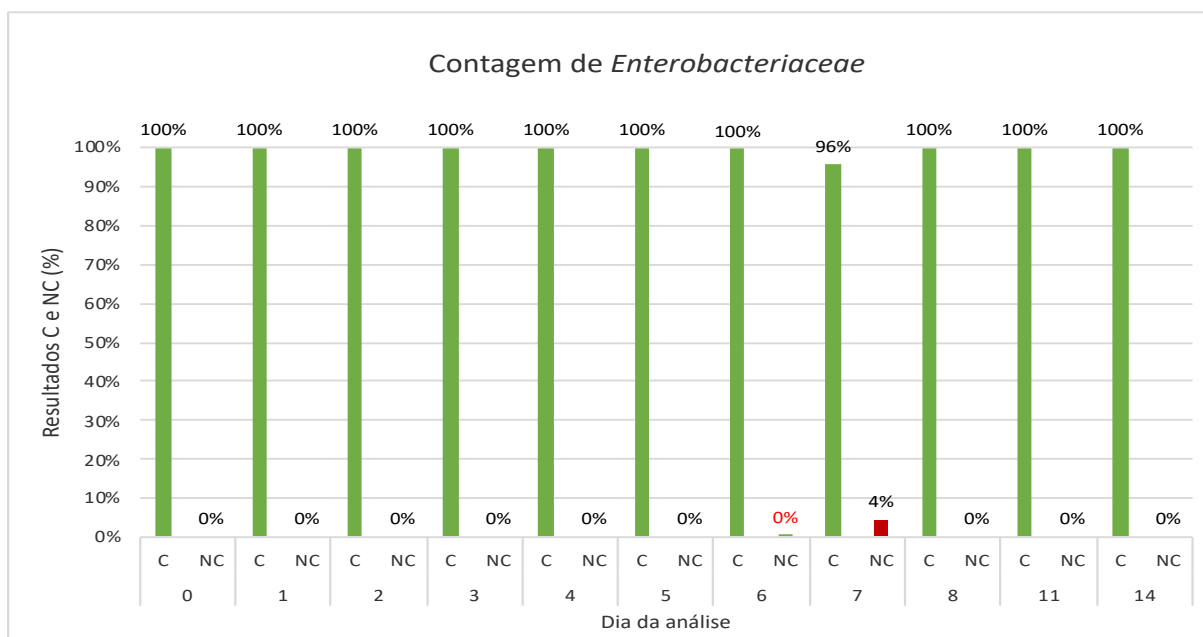


Figura 6: Gráfico representativo da percentagem de resultados conformes (C) e não conformes (NC) para a contagem de *Enterobacteriaceae*, em função do dia da vida útil em que foi efetuada a análise (dia da análise).

Dado que todas as *Enterobacteriaceae* são suscetíveis ao processamento pelo calor, a sua presença em alimentos cozinhados pode indicar falhas no processamento ou contaminações posteriores (contaminação cruzada com superfícies, produtos crus ou manipuladores).

Importa observar que as NC detetadas no dia 7 correspondem a quatro das cinco amostras analisadas ao mesmo produto (“sopa de nabos”). Tal significa que a falha ocorrida terá afetado

todo o produto, que foi produzido e refrigerado sob as mesmas condições de tempo/ temperatura (mesmo lote), mas acondicionado em embalagens distintas.

Importa acrescentar que o significado dos resultados analíticos de *Enterobacteriaceae* depende do tipo de alimento que está a ser analisado (por exemplo, é expectável a sua presença em vegetais e frutas cruas). (RJ Gilbert et al., 2000) Existem também *Enterobacteriaceae* psicrófilas capazes de se multiplicar em alimentos refrigerados. Estas estão amplamente distribuídas e encontram-se numa grande variedade de alimentos, incluindo leite, carne e aves. Este fator dificulta a interpretação dos níveis encontrados durante toda a vida útil de um alimento refrigerado, pois não reflete necessariamente os níveis iniciais de contaminação ou se o controlo da temperatura foi adequado. *Enterobacteriaceae* fornecem uma indicação de processamento e boa higiene no dia da produção. É, portanto, fundamental que as boas práticas de confeção e de regeneração dos alimentos *cook-chill* sejam cumpridas, bem como as contaminações pós-processamento sejam evitadas. (Baylis et al., 2011; *Compendium of Microbiological Criteria for Food*, 2018)

Cada um destes alimentos, com valores NC para contagem de *Enterobacteriaceae*, foi também avaliado para a contagem de *E. coli* e pesquisa de *Salmonella spp.*, não tendo sido encontrado qualquer desvio (figura 7 e figura 14). Dado que não foram encontradas estirpes patogénicas de *Enterobacteriaceae* em nenhuma das amostras, podemos afirmar que, desde que as medidas de controlo sejam cumpridas, este microrganismo se encontra controlado no processo *cook-chill* ao longo da validade estudada.

Escherichia coli

Os resultados deste estudo e a observação do gráfico da figura 7 mostram que não se verifica nenhum caso de *E. coli* com valores superiores ao limite de referência (1×10^1 ufc/g) ao longo dos 14 dias de validação. (Debever, 2006; INSA, n.d.; RJ Gilbert et al., 2000)

Este microrganismo, pertencente a família *Enterobacteriaceae*, faz parte da flora intestinal normal dos seres humanos e de outros animais de sangue quente. Como tal, a contagem de *E. coli* é um indicador de contaminação fecal mais específico que a contagem de *Enterobacteriaceae* ou de coliformes. *E. coli* pode ser detetada em ambientes de processamento e possui a capacidade de crescer em superfícies inadequadamente limpas e em alimentos. (Baylis et al., 2011; *Compendium of Microbiological Criteria for Food*, 2018)

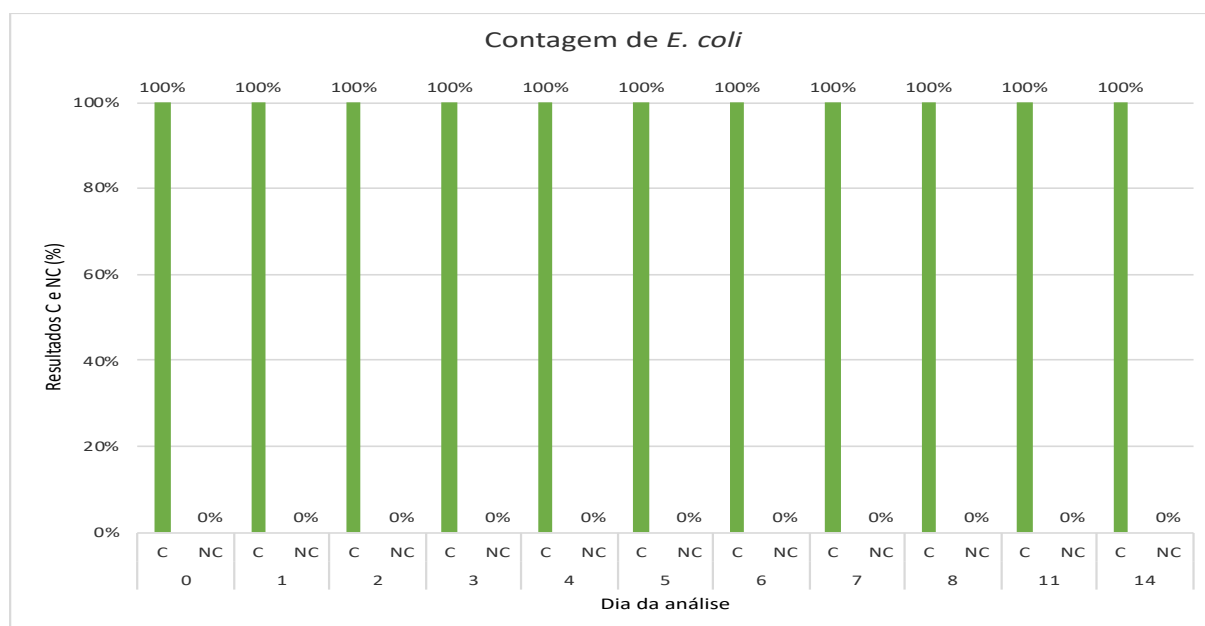


Figura 7: Gráfico representativo da percentagem de resultados conformes (C) e não conformes (NC) para a contagem de *E. coli*, em função do dia da vida útil em que foi efetuada a análise (dia da análise).

A sua presença em alimentos pode ter origem em más práticas de higiene (contaminação cruzada de superfícies, de alimentos crus ou por manipuladores) ou a falhas no processamento. No entanto, *E. coli* é destruída pelo processamento térmico e pode ser facilmente removida de equipamentos e superfícies através de procedimentos de limpeza apropriados. (Baylis et al., 2011; *Compendium of Microbiological Criteria for Food*, 2018)

Dado que *E. coli* não é um microrganismo patogénico e tendo em consideração os resultados obtidos, pode considerar-se que, cumprindo as boas práticas e procedimentos anteriormente referidos, este microrganismo se encontra controlado no processo.

Contagem de bolores e leveduras

No presente estudo, e conforme representado na tabela 6, em 574 análises foram encontrados 13 desvios aos valores-limite recomendados (1×10^4 ufc/g), correspondendo a 1% dos resultados. (Debever, 2006; INSA, n.d.; RJ Gilbert et al., 2000) O gráfico da figura 8 permite observar que no dia 6 e no dia 7, ocorreram não conformidades em 2% e 9% das amostras, respetivamente.

O grande e diversificado grupo de bolores e leveduras inclui várias centenas de espécies. A capacidade destes microrganismos atacarem muitos alimentos deve-se aos seus requisitos

ambientais relativamente versáteis. A sua presença está habitualmente associada a processos de deterioração da qualidade dos alimentos. Embora a maioria dos bolores e leveduras seja aeróbia obrigatória, estes microrganismos são capazes de crescer em amplas gamas de pH ácido e alcalino (entre 2 e 9). Apresentam igualmente uma grande versatilidade no que respeita à temperatura de crescimento, que pode oscilar entre os 10°C e os 35°C, existindo algumas espécies capazes de crescer acima ou abaixo desse intervalo. Os bolores podem inclusivamente crescer no interior dos equipamentos de refrigeração, já que são mais tolerantes ao frio que ao calor. Também os requisitos de humidade dos bolores de origem alimentar são relativamente baixos. A maioria das espécies de bolores pode crescer a uma atividade de água (a_w) de 0,85 ou menos, embora as leveduras exijam, geralmente, uma maior atividade de água. Tanto as leveduras como os bolores causam vários graus de deterioração e decomposição dos alimentos, produzindo algumas vezes cheiros e sabores anormais. (Tournas, Stack, Mislivec, Koch, & Bandler, 2015; USDA & Food Safety and Inspection Service, 2012)

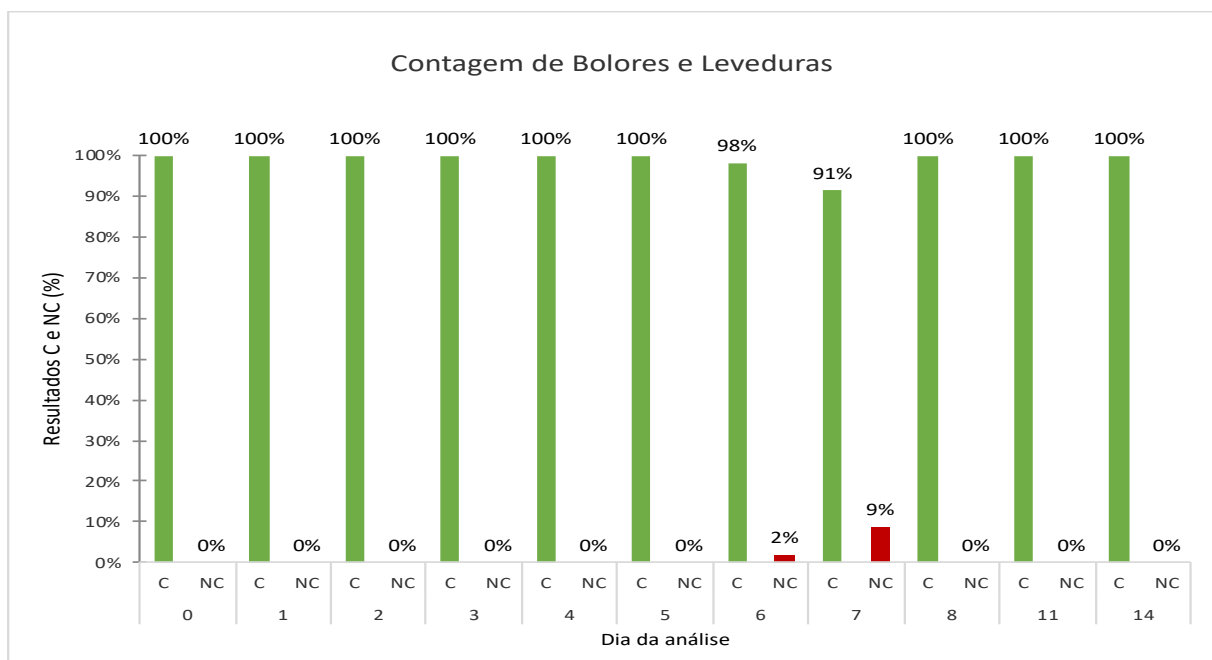


Figura 8: Gráfico representativo da percentagem de resultados conformes (C) e não conformes (NC) para a contagem de bolores e leveduras em função do dia da vida útil em que foi efetuada a análise (dia da análise).

Importa clarificar que, no sexto dia, dois dos cinco ensaios não conformes correspondem a “massinha de salmão” e no sétimo dia, cinco dos oito ensaios correspondem a “sopa de nabos” e os restantes três correspondem a “tirinhas de porco com batata corada e cenoura cozida”. Isto significa que, nestes casos, o mesmo produto foi processado e acondicionado sob as mesmas

condições, mas distribuído em embalagens distintas, de onde foram recolhidas as diferentes amostras.

Dagnas *et al* (2014) referem que os bolores e leveduras ocorrem naturalmente no ambiente e as diversas vias de contaminação incluem o próprio ar (através dos sistemas de ventilação), a água (sistema de abastecimento de água com falta de manutenção), os equipamentos com higienização inadequada (especialmente os de difícil limpeza) e as próprias matérias-primas. Consequentemente, a contaminação de um produto nos locais de produção deve ser controlada através das boas práticas de higiene e fabrico e reduzida por práticas de processamento específicas, como a instalação de sistema adequado de renovação de ar. (Dagnas & Membre, 2014)

Segundo a USDA, e até ao momento, quer as leveduras que crescem nos alimentos, quer o crescimento de bolores em alimentos termicamente processados, comercialmente estéreis e de “tempo de prateleira” estável não se revelaram um problema de saúde pública. (USDA & Food Safety and Inspection Service, 2012) Segundo estas considerações, defende-se que estes microrganismos se encontram controlados no processo de produção de refeições em *cook-chill* na área da restauração.

3.1.2 Microrganismos patogénicos

Contagem de *Bacillus cereus*

Nas amostras analisadas, não se verificou nenhum desvio ao limite de referência (1×10^3 ufc/g) em nenhum dos dias da validade estudada, conforme representado no gráfico da figura 9. (Debevere, 2006; INSA, n.d.; RJ Gilbert et al., 2000)

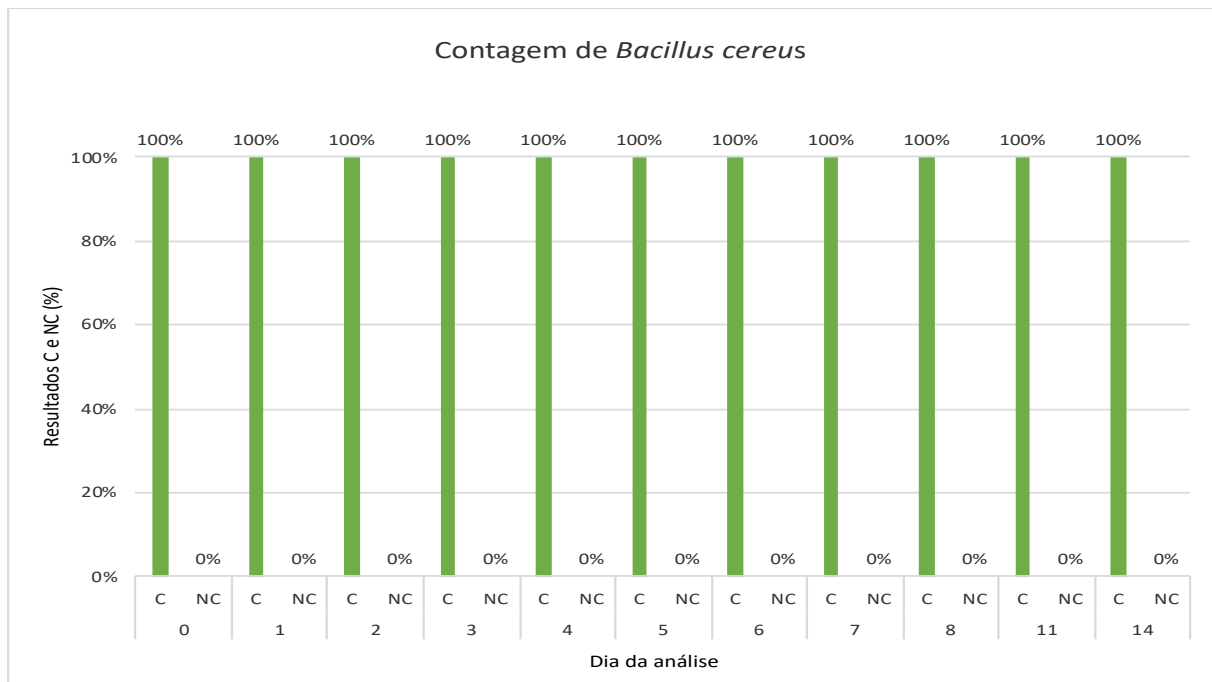


Figura 9: Gráfico representativo da percentagem de resultados conformes (C) e não conformes (NC) para a contagem de *Bacillus cereus* em função do dia da vida útil em que foi efetuada a análise (dia da análise).

Bacillus cereus é um patogénico formador de endósporos, que são difundidos no meio ambiente e podem estar presentes em ingredientes crus. Os esporos sobrevivem e são ativados pelo calor. O arrefecimento lento e o armazenamento de alimentos a temperaturas entre 10°C e 50°C são dois fatores que favorecem o crescimento das células vegetativas de *Bacillus cereus* (*B.cereus*). Este patogénico atinge cargas elevadas e produz enterotoxinas, responsáveis por dois tipos de patologias: síndrome diarreico e síndrome emético. Os alimentos habitualmente associados à toxina diarreica incluem carnes, peixe, leite, vegetais e os frequentemente associados à toxina emética são o arroz e produtos à base de arroz, embora possa também estar implicada em massas, batatas e produtos à base de queijo.

Para controlar o seu crescimento e a produção de toxinas, os alimentos processados devem ser rapidamente arrefecidos e acondicionados a temperaturas de refrigeração controladas (idealmente <5°C) ou mantidos a temperaturas >60°C. (*Compendium of Microbiological Criteria for Food*, 2018)

Tendo em conta os resultados obtidos neste estudo, pode afirmar-se que, desde que as medidas de controlo estejam devidamente implementadas, conforme definido nos procedimentos internos da empresa, este microrganismo se encontra devidamente controlado neste processo.

Contagem de *Clostridium perfringens*

Pela observação do gráfico da figura 10, constata-se que, ao longo dos 14 dias de estudo da vida útil dos produtos analisados, não existem contagens de *Clostridium perfringens* (*C. perfringens*) superiores aos valores de referência ($<10^3$ ufc/g). (Debever, 2006; INSA, n.d.; RJ Gilbert et al., 2000)

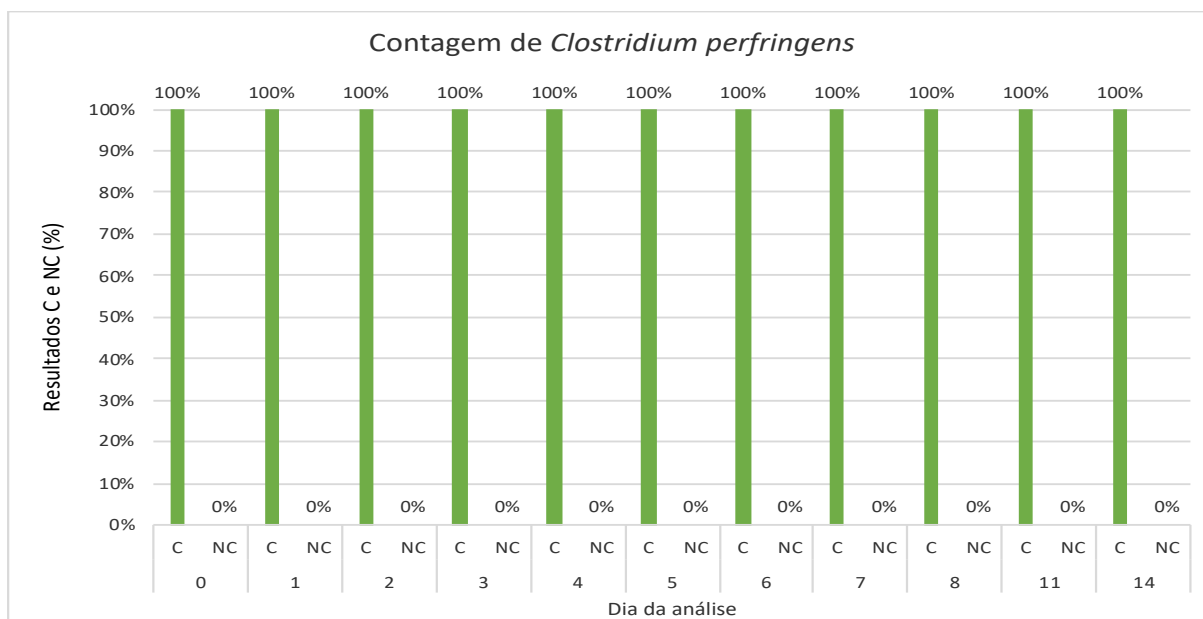


Figura 10: Gráfico representativo da percentagem de resultados conformes (C) e não conformes (NC) para a contagem de *C. perfringens* em função do dia da vida útil em que foi efetuada a análise (dia da análise).

Conforme já referido anteriormente, *Clostridium perfringens* (*C. perfringens*) é um bacilo formador de esporos, amplamente distribuído no ambiente, e cujos esporos sobrevivem no solo. A doença é causada pela ingestão de um elevado número de células vegetativas que se multiplicam e esporulam no intestino delgado, produzindo uma enterotoxina que provoca diarreia e cólicas abdominais. Um pequeno número de microrganismos está habitualmente presente devido à germinação de esporos, que resistem ao processamento térmico. A principal causa de intoxicação está associada à exposição de alimentos cozinhados à temperatura ambiente. (Compendium of Microbiological Criteria for Food, 2018; Food and Drug Administration, 2012)

A principal medida de controlo para *C. perfringens* em alimentos prontos a consumir é a manutenção de temperaturas que previnam a multiplicação de células vegetativas em alimentos cozinhados. O intervalo de temperaturas ideal para a proliferação deste microrganismo varia

entre 43°C e 47°C, pelo que o arrefecimento deve ser muito rápido. (*Compendium of Microbiological Criteria for Food*, 2018)

Cumprindo estas medidas de controlo, e com base nos resultados obtidos, pode considerar-se que este microrganismo se encontra controlado no processo.

Pesquisa de *Listeria monocytogenes* (em 25g)

Segundo o regulamento (CE) 2073/2005, os níveis aceitáveis de *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) nos alimentos prontos para consumo são a sua ausência em 25g e uma contagem inferior a 1×10^2 ufc/g (antes de o alimento deixar de estar sob o controlo imediato do operador da empresa do sector alimentar que o produziu). (Comissão Europeia, 2005)

Dos 579 ensaios para pesquisa de *L. monocytogenes* em 25g, foram encontrados 14 resultados não conformes (2%), de acordo com os resultados apresentados na tabela 6. Observa-se que a sua presença foi detetada em diferentes dias da vida útil do produto, não se verificando nenhuma tendência para o seu aparecimento em função do dia em que foi efetuada a análise. Verifica-se, no entanto, que a maior incidência de não conformidades acontece nos dias 11 e 14, correspondendo respetivamente a 50% e 40% das amostras analisadas em cada um desses dias (figura 11). Importa, portanto, perceber quais poderão ter sido as causas que estiveram na origem destes acontecimentos, como de seguida será detalhado.

L. monocytogenes é, como já referido, uma bactéria não formadora de esporos, ubiqüitária no ambiente natural e transportada por muitos animais domésticos e selvagens. A doença é causada pela ingestão de bactérias vivas. Este microrganismo existe em matérias-primas cruas e, conseqüentemente, pode contaminar a área de produção, especialmente os equipamentos de refrigeração, devido à sua capacidade de não só sobreviver como também crescer a temperaturas <1°C. (Food and Drug Administration, 2012; Mateus et al., 2017; Mena et al., 2004)

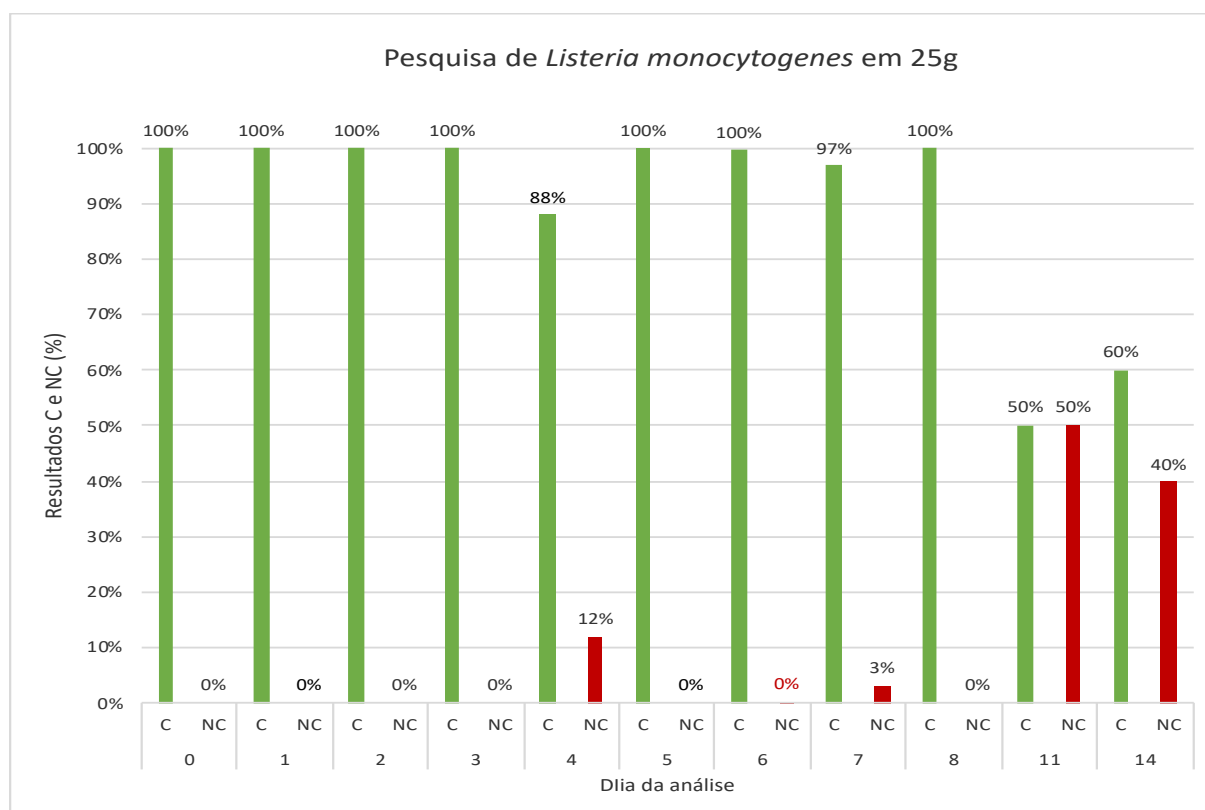


Figura 11: Gráfico representativo da percentagem de resultados conformes (C) e não conformes (NC) para a pesquisa de *Listeria monocytogenes* em 25g em função do dia da vida útil em que foi efetuada a análise (dia da análise).

L. monocytogenes foi já isolada de muitos alimentos: carne e produtos cárneos, queijos de pasta mole, gelados, vegetais, alimentos de origem marinha – peixe fresco, fumado e crustáceos – e refeições prontas a comer. A possibilidade de ocorrência de listeriose através de alimentos prontos a consumir aumenta com o grau de manipulação após o processamento e com o tempo de vida útil desse alimento. (Mateus et al., 2017)

Neste caso em concreto e com base na tabela A3 dos Apêndices, foi possível apurar que nos dias em que se observam NC, elas ocorrem nos mesmos produtos. Exemplificando, observa-se que as quatro NC verificadas no dia 4 correspondem à refeição “peixinho no forno à portuguesa”); no dia 7, as três NC ocorreram na refeição “roti de peru com massa esparguete”; no dia 11, as cinco análises NC correspondem ao produto “peixe à Brás” e no dia 14 as três análises acontecem também no “peixe à Brás”. Isto significa que cada uma destas refeições foi produzida e refrigerada sob as mesmas condições de tempo/ temperatura (mesmo lote), mas a recolha da amostra foi feita de embalagens diferentes. No dia 6 identificou-se a presença deste

microrganismo numa amostra de “massinha de peixe”. Ou seja, observa-se que a presença de *Listeria* ocorreu em cinco produtos diferentes, em cinco momentos distintos.

Observando as datas de produção na tabela A3 dos *apêndices*, consegue identificar-se que ocorreu uma contaminação por *L. monocytogenes* que persistiu por mais de um mês (entre 29/1/16 e 1/3/16). Dado que a selagem das embalagens era feita na etapa de pré-arrefecimento, a contaminação terá obrigatoriamente de ter ocorrido na etapa pós-confeção e, portanto, antes da selagem. Neste contexto, é de realçar a capacidade de formação de biofilmes por *L. monocytogenes* nos ambientes de processamento, quer em superfícies, quer nos equipamentos, o que dificulta a sua eliminação durante os processos de limpeza e de desinfeção. Além disso, *L. monocytogenes* tem sido igualmente encontrada em superfícies que não entram em contato com alimentos, tais como pavimentos, ralos e esgotos. A tolerância de *L. monocytogenes* a agentes desinfetantes tem sido um tópico atual de discussão no contexto da indústria alimentar e saúde pública. A presença de altas concentrações bacterianas e a interferência com a matéria orgânica devido à limpeza insuficiente antes da desinfeção diminuem a ação e, conseqüentemente, a eficácia dos desinfetantes comumente usados em instalações industriais. (Rodríguez-López et al., 2018)

Avaliando os resultados das restantes análises, verifica-se que ocorreram pontualmente em duas datas distintas (julho 2017 e agosto 2018). Não obstante, o tempo de armazenamento a que estes produtos estiveram sujeitos (sete e seis dias respetivamente) pode, obviamente, ter influenciado estes resultados. Importa referir que existem outros fatores que podem contribuir para o aparecimento de *L. monocytogenes*, que incluem a má qualidade das matérias-primas cruas, um deficiente processamento térmico dos alimentos e um deficiente controlo da relação tempo-temperatura.

É por isso importante garantir o cumprimento das medidas de controlo estabelecidas, que incluem o controlo das matérias-primas utilizadas, a implementação de boas práticas de higiene pessoal dos manipuladores, a correta higienização de utensílios, superfícies de trabalho e equipamentos, com particular atenção aos equipamentos de refrigeração, e a confeção completa dos alimentos, garantindo que atingem a temperatura recomendada no seu centro térmico. (Center for Food Safety and Applied Nutrition, 2017)

Para todos os ensaios NC anteriormente referidos, foi realizada a contagem de *L. monocytogenes*, obtendo-se resultados aceitáveis para todas as amostras ($<1 \times 10^2$ ufc/g), conforme evidenciado anteriormente na tabela 6. Tal significa que a carga microbiológica

existente nestes alimentos era baixa e, portanto, não suscetível de provocar doença. Adicionalmente, importa referir que o valor de resistência térmica (valor D) para *L. monocytogenes* é de 0,7 segundos a 72°C. (Smelt & Brul, 2014) Dado que estes alimentos refrigerados passarão obrigatoriamente pela etapa de regeneração antes de serem consumidos, a eliminação da bactéria ficará salvaguardada devido às altas temperaturas. (Mena et al., 2004) Por este motivo, pode concluir-se que este microrganismo se encontra controlado no processo *cook-chill* para este tipo de produtos. No entanto, e dada a severidade da doença, deverão ser rigorosamente cumpridas todas as medidas de controlo já referidas para o seu aparecimento.

Contagem de *Staphylococcus coagulase positiva*

Na presente investigação, observou-se que todos os ensaios para a contagem de *Staphylococcus coagulase positiva* estavam satisfatórios ($<1 \times 10^2$ ufc/g) ao longo do estudo de validade, conforme representado no gráfico da figura 12. (Debevere, 2006; INSA, n.d.; RJ Gilbert et al., 2000)

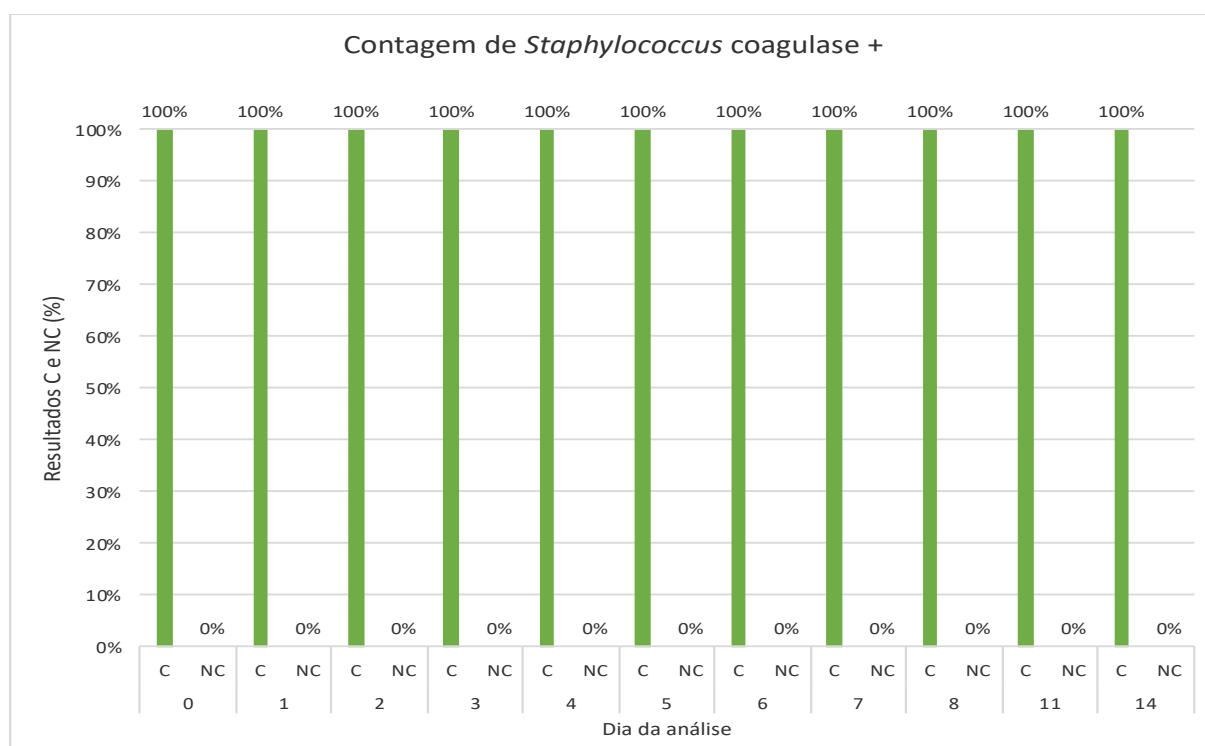


Figura 12: Gráfico representativo da percentagem de resultados conformes (C) e não conformes (NC) para a contagem de *Staphylococcus coagulase +* em função do dia da vida útil em que foi efetuada a análise (dia da análise).

Várias estirpes de *Staphylococcus*, incluindo as coagulase negativas e positivas, têm a capacidade de produzir enterotoxinas altamente termoestáveis que provocam gastroenterites em seres humanos. *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) é o agente etiológico predominantemente associado à intoxicação alimentar estafilocócica. *S. aureus* é um dos patogénicos não formadores de esporos mais resistentes, com crescimento ótimo entre 35 e 40 ° C. Este microrganismo é facilmente destruído na pasteurização ou a temperaturas de confeitaria. No entanto, a produção de enterotoxina ocorre idealmente entre 40°C e 45°C e não ocorre a temperaturas <10°C. À medida que a temperatura diminui, o nível de produção de enterotoxina também diminui. Alimentos frequentemente implicados nas intoxicações alimentares estafilocócicas incluem carne e produtos cárneos, produtos de aves, ovos, saladas, produtos de padaria e leite e produtos lácteos. Os alimentos que requerem uma manipulação considerável durante a preparação ou após confeitaria (ex.: desfiar, fatiar...) e são mantidos fora de temperatura controlada por um longo período estão frequentemente envolvidos neste tipo de intoxicação alimentar. (*Compendium of Microbiological Criteria for Food*, 2018; Food and Drug Administration, 2012)

Como medidas de controlo, é crucial minimizar o tempo que os produtos alimentícios propensos à contaminação por *S. aureus* são mantidos a temperaturas entre 5°C e 60 °C, a fim de evitar a proliferação de *S. aureus* e a produção de toxinas. Os processos térmicos, como cozinhar e pasteurização, destroem as células viáveis de *S. aureus*, mas não destroem as enterotoxinas estafilocócicas pré-formadas. Os manipuladores de alimentos são considerados a principal fonte de contaminação de alimentos por *S. aureus*. Desta forma, é importante garantir o cumprimento das medidas já implementadas, que passam por uma higienização eficaz das mãos, utilização de luvas, pinças ou outros utensílios para manipular alimentos e evitar espirrar, tossir ou assoar próximo dos alimentos ou de superfícies destinadas a contacto com alimentos. (*Compendium of Microbiological Criteria for Food*, 2018)

Dando cumprimento a estas medidas de controlo, e com base nos resultados obtidos, pode considerar-se que este microrganismo se encontra controlado no processo.

Pesquisa de *Campylobacter spp* em 25g.

Nas amostras analisadas no presente estudo para este parâmetro, não foi observado nenhum resultado positivo para a pesquisa de *Campylobacter* em 25g ao longo do período de estudo da validade, conforme representado no gráfico da figura 13. (Debevere, 2006; INSA, n.d.; RJ Gilbert et al., 2000)

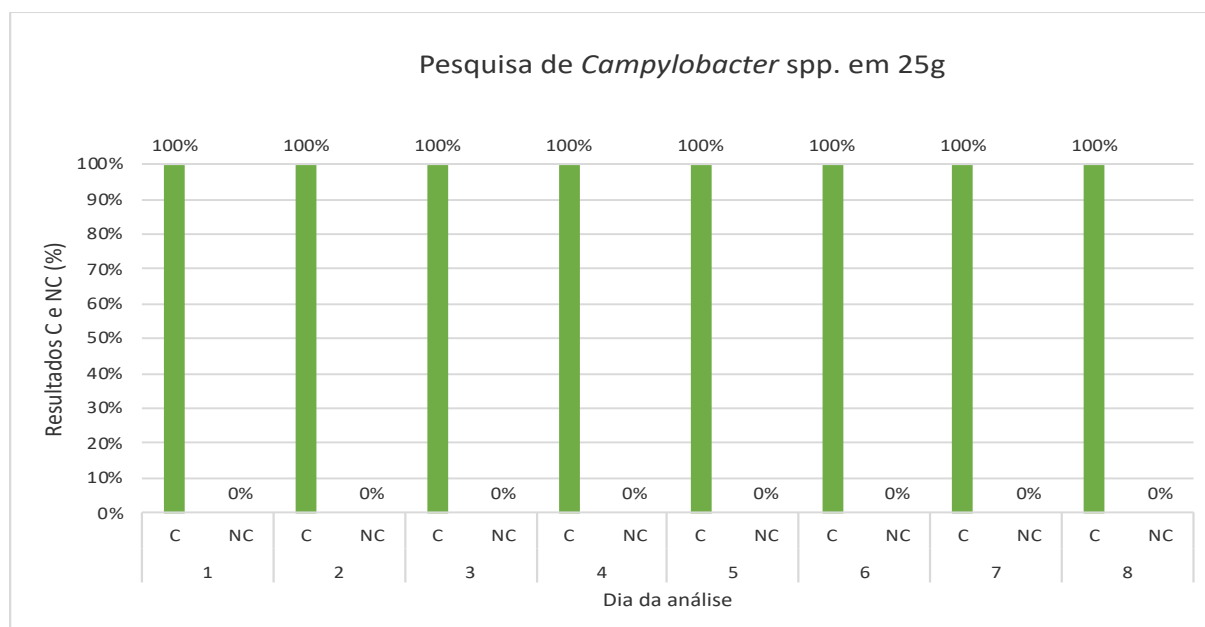


Figura 13: Gráfico representativo da percentagem de resultados conformes (C) e não conformes (NC) para a pesquisa de *Campylobacter spp.* em 25g em função do dia da vida útil em que foi efetuada a análise (dia da análise).

Campylobacter spp. são bactérias não formadoras de esporos, que provocam campylobacteriose em humanos, em especial as espécies *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli*. A primeira, integra a flora intestinal normal de muitos animais domésticos e selvagens (ex.: gado, ovelhas, aves de capoeira e selvagens, cães, etc.). *Campylobacter spp.* transmitem-se aos seres humanos essencialmente através do consumo de alimentos ou água contaminados ou através do contato direto com animais infetados. A maioria das estirpes de *Campylobacter* são microaerofílicas, isto é, capazes de se multiplicarem sob concentrações de oxigénio inferiores à concentração atmosférica. No entanto, estas bactérias são relativamente frágeis no meio ambiente e até difíceis de cultivar em laboratório. *Campylobacter jejuni* é particularmente sensível a condições adicionais, incluindo secagem, meios ácidos, desinfetantes, aquecimento e congelação. (Food and Drug Administration, 2012) Importa referir que as infeções por *Campylobacter spp.* têm sido associadas a cargas microbiológicas relativamente baixas, nomeadamente à ingestão de

apenas 100 células. O período de incubação antes do início da doença é geralmente de dois a cinco dias, com a doença geralmente durando de dois a dez dias. (*Compendium of Microbiological Criteria for Food*, 2018)

As características inerentes ao processo *cook-chill*, que incluem a regeneração das refeições e o seu arrefecimento rápido, dificultam o crescimento e sobrevivência deste microrganismo. Por este motivo, e com base nos resultados obtidos, considera-se que *Campylobacter* se encontra controlada ao longo da validade testada no processo *cook-chill* na área da restauração.

Salmonella spp.

A análise dos resultados obtidos no presente estudo (figura 14), permitem observar a ausência de *Salmonella spp.* durante o período da vida útil dos produtos refrigerados analisados.

Salmonella spp. pertencem à família das *Enterobacteriaceae* e são bactérias não formadoras de esporos. São aeróbias facultativas, podem crescer entre 5°C e 47°C e a pH tão baixos como 4,2, mantendo-se viáveis por longos períodos de tempo nos alimentos congelados. (USDA & Food Safety and Inspection Service, 2012) A doença é habitualmente causada pela ingestão de um número suficiente de microrganismos, capazes de sobreviver ao processo de digestão e de se reproduzirem no trato intestinal humano. Dependendo do serótipo, *Salmonella* pode causar dois tipos de patologia: febre entérica (*Salmonella typhi* e *Salmonella paratyphi*) e gastroenterite (outros serótipos). Embora menos frequente, a febre entérica (ou febre tifoide) apresenta complicações mais graves e está associada a uma maior taxa de mortalidade, quando não tratada (10%). Os fatores que contribuem para salmonelose incluem a contaminação cruzada durante a preparação (ambiental ou através de alimentos crus), controlo inadequado de temperaturas, processamento incorreto ou o consumo de produtos crus contaminados. (Food and Drug Administration, 2012; USDA & Food Safety and Inspection Service, 2012)

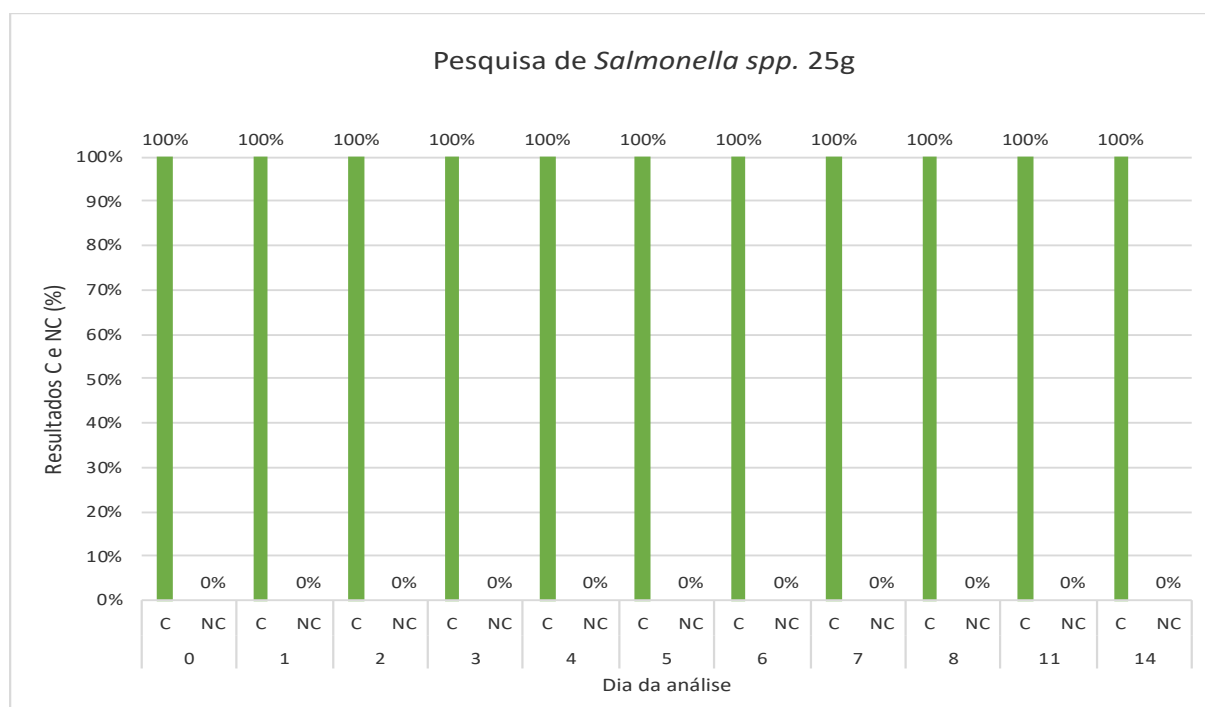


Figura 14: Gráfico representativo da percentagem de resultados conformes (C) e não conformes (NC) para a pesquisa de *Salmonella spp.* em 25g em função do dia da vida útil em que foi efetuada a análise (dia da análise).

Importa salientar que, felizmente, *Salmonella* é sensível aos tratamentos térmicos característicos da confeção e regeneração de refeições (aquecimento a temperaturas $>63^{\circ}\text{C}$). (USDA & Food Safety and Inspection Service, 2012) Além da existência de uma etapa durante o processamento que garanta a destruição da bactéria (por exemplo, a confeção), as restantes medidas de controlo incidem na prevenção da contaminação (especialmente em alimentos prontos a consumir) e na manutenção adequada de temperaturas que previnam o seu crescimento. (*Compendium of Microbiological Criteria for Food*, 2018) Dando cumprimento a estas medidas de controlo, e com base nos resultados obtidos neste estudo, pode considerar-se que este microrganismo se encontra controlado no processo.

De seguida serão apresentados os resultados do estudo da mesma amostra de diferentes produtos no dia de produção (Dia 0) e sete dias após (Dia 7), desta vez com a finalidade de avaliar o comportamento específico do produto ao longo da sua vida útil. Foram registadas as temperaturas dos produtos no momento da recolha da amostra pelo laboratório (tabela 7).

Tabela 7: Resultados dos ensaios microbiológicos aos produtos armazenados em câmara de produto acabado no dia da produção (Dia 0) e sete dias após (Dia 7). As amostras do dia 0 e 7 foram recolhidas do mesmo produto.

Produto	Parâmetro	DIA 0					DIA 7				
		Temp. (°C)	Resultado (ufc/g)	Apre- ciação	Resultado (ufc/g)	Apre- ciação	Temp. (°C)	Resultado (ufc/g)	Apre- ciação	Resultado (ufc/g)	Apre- ciação
Creme de courgette	Contagem Staphylococcus coagulase +	2,2	<1x10 ²	C	<1x10 ²	C	1,6	<1x10 ²	C	<1x10 ²	C
	Pesquisa Listeria em 25g		negativo	C	negativo	C		negativo	C	negativo	C
	Pesquisa Salmonella em 25g		negativo	C	negativo	C		negativo	C	negativo	C
	Contagem E.coli		<1x10 ¹	C	<1x10 ¹	C		<1x10 ¹	C	<1x10 ¹	C
Canja	Contagem Staphylococcus coagulase +	3,2	<1x10 ²	C	<1x10 ²	C	3,8	<1x10 ²	C	<1x10 ²	C
	Pesquisa Listeria em 25g		negativo	C	negativo	C		negativo	C	negativo	C
	Pesquisa Salmonella em 25g		negativo	C	negativo	C		negativo	C	negativo	C
	Contagem E.coli		<1x10 ¹	C	<1x10 ¹	C		<1x10 ¹	C	<1x10 ¹	C
Peixe espada com mangericão	Contagem Staphylococcus coagulase +	9,8	<1x10 ²	C	<1x10 ²	C	5,6	<1x10 ²	C	<1x10 ²	C
	Pesquisa Listeria em 25g		negativo	C	negativo	C		negativo	C	negativo	C
	Pesquisa Salmonella em 25g		negativo	C	negativo	C		negativo	C	negativo	C
	Contagem E.coli		<1x10 ¹	C	<1x10 ¹	C		<1x10 ¹	C	<1x10 ¹	C
Lasanha de carne	Contagem Staphylococcus coagulase +	10,6	<1x10 ²	C	<1x10 ²	C	3,4	<1x10 ²	C	<1x10 ²	C
	Pesquisa Listeria em 25g		negativo	C	negativo	C		negativo	C	negativo	C
	Pesquisa Salmonella em 25g		negativo	C	negativo	C		negativo	C	negativo	C
	Contagem E.coli		<1x10 ¹	C	<1x10 ¹	C		<1x10 ¹	C	<1x10 ¹	C
Roti de peru assado	Contagem Staphylococcus coagulase +	7,4	<1x10 ²	C	<1x10 ²	C	4,4	<1x10 ²	C	<1x10 ²	C
	Pesquisa Listeria em 25g		negativo	C	negativo	C		negativo	C	negativo	C
	Pesquisa Salmonella em 25g		negativo	C	negativo	C		negativo	C	negativo	C
	Contagem E.coli		<1x10 ¹	C	<1x10 ¹	C		<1x10 ¹	C	<1x10 ¹	C
Arroz selvagem	Contagem Staphylococcus coagulase +	10,6	<1x10 ²	C	<1x10 ²	C	5,2	<1x10 ²	C	<1x10 ²	C
	Pesquisa Listeria em 25g		negativo	C	negativo	C		negativo	C	negativo	C
	Pesquisa Salmonella em 25g		negativo	C	negativo	C		negativo	C	negativo	C
	Contagem E.coli		<1x10 ¹	C	<1x10 ¹	C		<1x10 ¹	C	<1x10 ¹	C

Observa-se que todos os valores obtidos neste estudo, quer no dia 0, quer no dia 7, se encontram em conformidade com os limites de referência estabelecidos. Também não se observa alteração da carga microbiológica entre os dois momentos em que se procedeu a análises microbiológicas, indiciando que não ocorreu desenvolvimento microbiano para as amostras analisadas.

Pode, assim, concluir-se que o comportamento destes produtos ao longo dos sete dias de validade não comporta riscos para os microrganismos estudados. Importa, no entanto, sublinhar a importância do cumprimento das boas práticas de higiene e procedimentos de confeção/arrefecimento rápido instituídos na prevenção da contaminação inicial dos produtos armazenados.

Além da vida útil do produto, foram estudados, igualmente, os desvios no tempo e temperatura em duas etapas específicas, o pré-arrefecimento e o armazenamento, de modo a perceber como se comportam os produtos face a esses desvios e, em última análise, se será possível mantê-los mesmo se os tempos e temperaturas recomendados não tiverem sido cumpridos. Serão, agora, apresentados os resultados dessa fase do estudo.

3.2 Desvios no tempo de pré-arrefecimento

Os procedimentos da empresa anteriormente instituídos previam um período máximo de 30 minutos de exposição a temperaturas não controladas, desde o término da etapa da confeção até ao início do arrefecimento rápido (tempo de pré-arrefecimento). De forma a testar a flexibilidade deste limite, foram avaliados os resultados microbiológicos dos produtos confeccionados e expostos à temperatura ambiente (20°C) durante 30 minutos e durante três horas (tabela 8), tal como referido em 2.2. Recorde-se que estes produtos seguiram o restante processo, tendo sido arrefecidos e conservados em câmara refrigerada durante sete dias. Nessa altura, foi efetuada nova análise aos mesmos produtos que tinham estado expostos 30 minutos e 3 horas à temperatura ambiente no dia da produção (tabela 8).

Os resultados obtidos mostram valores em conformidade com os limites definidos para todos os patogénicos analisados. O facto de os técnicos do laboratório não terem registado as temperaturas dos produtos no momento da recolha constitui uma limitação deste estudo, pelo que apenas se conhece a temperatura a que os produtos estiveram expostos.

Tabela 8: Resultados para os parâmetros avaliados em cada refeição no dia 0 e no dia 7 de validade, após deixar os produtos propositadamente expostos 30 min e 3h à temperatura ambiente (20°C) na etapa de pré-arrefecimento.

Produto	Ensaio	DIA 0				DIA 7			
		30 min		3 h		30 min		3 h	
		Resultado (ufc/g)	Apreciação	Resultado (ufc/g)	Apreciação	Resultado (ufc/g)	Apreciação	Resultado (ufc/g)	Apreciação
Creme de agrião	Contagem Staphylococcus coagulase +	<1x10 ²	C	<1x10 ²	C	<1x10 ²	C	<1x10 ²	C
	Pesquisa Listeria em 25g	negativo	C	negativo	C	negativo	C	negativo	C
	Pesquisa Salmonella em 25g	negativo	C	negativo	C	negativo	C	negativo	C
	Contagem E.coli	<1x10 ¹	C	<1x10 ¹	C	<1x10 ¹	C	<1x10 ¹	C
Canja	Contagem Staphylococcus coagulase +	<1x10 ²	C	<1x10 ²	C	<1x10 ²	C	<1x10 ²	C
	Pesquisa Listeria em 25g	negativo	C	negativo	C	negativo	C	negativo	C
	Pesquisa Salmonella em 25g	negativo	C	negativo	C	negativo	C	negativo	C
	Contagem E.coli	<1x10 ¹	C	<1x10 ¹	C	<1x10 ¹	C	<1x10 ¹	C
Peito de peru corado com molho	Contagem Staphylococcus coagulase +	<1x10 ²	C	<1x10 ²	C	<1x10 ²	C	<1x10 ²	C
	Pesquisa Listeria em 25g	negativo	C	negativo	C	negativo	C	negativo	C
	Pesquisa Salmonella em 25g	negativo	C	negativo	C	negativo	C	negativo	C
	Contagem E.coli	<1x10 ¹	C	<1x10 ¹	C	<1x10 ¹	C	<1x10 ¹	C
Tranches de pescada no forno	Contagem Staphylococcus coagulase +	<1x10 ²	C	<1x10 ²	C	<1x10 ²	C	<1x10 ²	C
	Pesquisa Listeria em 25g	negativo	C	negativo	C	negativo	C	negativo	C
	Pesquisa Salmonella em 25g	negativo	C	negativo	C	negativo	C	negativo	C
	Contagem E.coli	<1x10 ¹	C	<1x10 ¹	C	<1x10 ¹	C	<1x10 ¹	C
Arroz estufado	Contagem Staphylococcus coagulase +	<1x10 ²	C	<1x10 ²	C	<1x10 ²	C	<1x10 ²	C
	Pesquisa Listeria em 25g	negativo	C	negativo	C	negativo	C	negativo	C
	Pesquisa Salmonella em 25g	negativo	C	negativo	C	negativo	C	negativo	C
	Contagem E.coli	<1x10 ¹	C	<1x10 ¹	C	<1x10 ¹	C	<1x10 ¹	C

No entanto, e com base na análise destes resultados, pode concluir-se que uma exposição de três horas à temperatura ambiente (20°C) na etapa de pré-arrefecimento não afetou a qualidade microbiológica de nenhum dos produtos analisados, independentemente do momento da vida útil em que foi feita a análise. Desta forma, pode validar-se um tempo de pré-arrefecimento superior ao anteriormente definido nos procedimentos da empresa, que pode alcançar as três horas de exposição do produto à temperatura ambiente até que seja submetido ao arrefecimento rápido.

3.3 Desvios na temperatura de armazenamento

Para avaliar o comportamento dos produtos *cook-chill* em caso de desvios da temperatura de armazenamento, estudaram-se, como já foi referido, duas situações distintas: a análise da carga microbiológica de produtos armazenados numa câmara de produto acabado com avaria, após regeneração das amostras e sem regeneração das amostras recolhidas.

No primeiro cenário, recorde-se que as temperaturas atingiram os 18,4° C em 39 horas. Os dias de validade dos produtos recolhidos oscilaram entre do dia 1 (D+1) e o dia 7 (D+7). Pela análise da tabela 9 é possível constatar-se que não existiram não conformidades para os parâmetros analisados, independentemente da validade das amostras recolhidas. Contudo, isto não significa que não tenha existido crescimento microbiano na altura em que ocorreram desvios da temperatura de armazenamento, uma vez que os produtos foram regenerados antes da análise laboratorial.

Tabela 9: número de resultados conformes para cada parâmetro analítico, em situação de avaria da câmara de produto acabado, após regeneração das refeições. Resultados expressos em função do dia da validade em que foi efetuada a análise da amostra recolhida (dia da análise).

Parâmetro	Dia da análise	Nº resultados Conformes	Parâmetro	Dia da análise	Nº resultados Conformes
Contagem de B.cereus	4	20	Pesquisa de Salmonella em 25g	4	30
	5	25		5	32
Contagem de Campylobacter spp	4	15		6	3
	5	10		7	1
	7	1	Contagem de Bolores e leveduras	4	30
Contagem de C. perfringens	4	30		5	32
	5	32		6	3
	6	3		7	1
	7	1	Contagem de Microrganismos a 30°C	4	30
Contagem de E. coli	4	30		5	32
	5	32		6	3
	6	3		7	1
	7	1	Contagem de Microrganismos Psicrófilos	4	30
Contagem de L. monocytogenes	4	30		5	32
	5	32		6	3
	6	3		7	1
	7	1	Contagem Enterobacteriaceae	4	30
Contagem de Staph. coagulase +	4	30		5	32
	5	32		6	3
	6	3		7	1
	7	1			

Pela análise deste caso, pode concluir-se que as refeições sujeitas a desvios de temperatura e tempos idênticos aos ocorridos podem ser consumidas com segurança desde que se garanta o cumprimento do processo de regeneração de refeições.

Em complemento a esta validação, e aproveitando outra situação de avaria de uma câmara de produto acabado, foram analisados os produtos produtos nela contidos mas desta vez sem regeneração, contrastando com a situação anterior. Relembra-se que a amostra era constituída por 74 refeições que estiveram conservadas no interior de uma câmara avariada durante 14 horas, atingindo temperaturas de 12°C. Pela análise da tabela 10, constata-se que os resultados para todos os parâmetros foram conformes, independentemente da validade das amostras recolhidas.

Tabela 10: Número de resultados conformes para cada parâmetro analítico, em situação de avaria da câmara de produto acabado, sem regeneração das refeições. Resultados expressos em função do dia da validade em que foi efetuada a análise da amostra recolhida (dia da análise).

Parâmetros	Dia da análise	Nº resultados Conformes	Parâmetros	Dia da análise	Nº resultados Conformes
Contagem de <i>B. cereus</i>	1	1	Contagem de <i>L. monocytogenes</i>	1	1
	2	5		2	20
	5	7		5	20
	6	8		6	33
Contagem de <i>Campylobacter spp</i>	5	3	Contagem de <i>Staph. coagulase +</i>	1	1
	6	1		2	20
Contagem de <i>C. perfringens</i>	1	1		5	20
	2	20		6	33
	5	20	Pesquisa de <i>Salmonella</i> em 25g	1	1
	6	33		2	20
Contagem de <i>E. coli</i>	1	2		5	20
	2	19		6	33
	5	20	6	8	
	6	33			

Este estudo serve de validação adicional da segurança dos produtos sujeitos a desvios de temperatura e tempo idênticos aos ocorridos, sem sequer contemplar a barreira do choque térmico implícita no processo de regeneração.

Os resultados obtidos permitem encarar, no âmbito da utilização do sistema *cook-chill*, a adoção de novos prazos relativos à vida útil dos produtos, bem como de novos limites tempo/temperatura para as etapas de pré-arrefecimento e de armazenamento, com benefícios que serão sintetizados nas *Conclusões gerais* desta investigação.

4 Conclusões gerais

A integração do *cook-chill* em sistemas de controlo de qualidade, como o HACCP, pode produzir excelentes resultados. A gama relativamente ampla de valores recomendados pelas diversas entidades, sugerem claramente alguma flexibilidade dos limites tempo/temperatura e do prazo de validade dos produtos *cook-chill*, o que motivou esta investigação.

Os dados obtidos na presente investigação (secção 3) permitem, de algum modo, rever as recomendações globalmente emitidas sobre o tema (subsecção 1.5), constituindo, desta forma, uma base para a validação de um novo procedimento a implementar no método *cook-chill* para refeições produzidas em unidades de restauração coletiva.

Os resultados obtidos no estudo da validade dos produtos *cook-chill* permitiram validar o comportamento dos produtos estudados durante 14 dias após produção (D+14). Apesar da existência de 2% de amostras não satisfatórias para a pesquisa de *Listeria*, os valores de contagem deste microrganismo não ultrapassam os valores de referência e, portanto, não atingem a dose suficiente para provocar doença. Pode, por isso, concluir-se que o processo se encontra controlado para os microrganismos estudados. No entanto, importa referir que, para que se possa garantir o alargamento da validade dos produtos, é necessário assegurar que os locais de produção possuem uma adequada capacidade de arrefecimento e de armazenamento dos alimentos e cumprem as boas práticas de produção, arrefecimento e armazenamento dos alimentos.

Dado que não foram efetuados estudos do comportamento organolético dos produtos ao longo da sua validade, sugere-se considerar uma margem na atribuição da validade em procedimento interno, definindo sete dias de validade (D+6). O **aumento do prazo de validade** irá permitir uma organização mais eficiente da produção dos alimentos, uma maior capacidade de resposta a imprevistos de produção, uma diminuição do desperdício alimentar e a possibilidade de fornecimento de refeições a outros locais de consumo com uma logística mais eficiente e segura, quer do ponto de vista da segurança alimentar, quer do ponto de vista da garantia do fornecimento atempado das refeições.

O estudo realizado no âmbito da exposição dos produtos à temperatura ambiente (20°C) na **etapa do pré-arrefecimento** permitiu validar um tempo superior ao instituído pelo *Codex* (30 minutos) e anteriormente implementados nos procedimentos internos da Eurest. Os resultados

obtidos indicam que uma exposição à temperatura ambiente durante três horas não afeta a qualidade microbiológica de nenhum dos produtos analisados, independentemente do momento da vida útil em que foi feita a análise. Desta forma, pode estabelecer-se um procedimento interno também mais aproximado às recomendações americanas da FDA, que definem como tempo máximo três horas nesta etapa.

Os dados recolhidos no âmbito deste trabalho não foram suficientes para fazer qualquer validação do tempo máximo em que deve ocorrer o arrefecimento rápido. No entanto, e mais uma vez porque este estudo se aproxima das recomendações americanas nas restantes etapas, sugere-se aumentar a tolerância do atual procedimento instituído (arrefecer até $<10^{\circ}\text{C}$ em 2 horas), passando a adotar as recomendações da FDA para esta etapa. Sendo assim, no arrefecimento rápido, a temperatura teria de baixar de 57°C a 21°C em 2 horas e de 57°C a 5°C em 6 horas.

Mantém-se a recomendação do **armazenamento dos produtos** refrigerados entre 0°C e 5°C . No entanto, pela análise dos resultados obtidos, pode concluir-se que as refeições sujeitas a desvios de temperatura e tempos idênticos aos ocorridos nestes testes podem ser consumidas com segurança desde que se garanta o cumprimento do processo de regeneração de refeições. Assim, caso os produtos armazenados fiquem expostos a 12°C durante 12 horas não necessitam de ser rejeitados.

Conclui-se assim que os limites definidos pelo *Codex* para cada uma das etapas podem ter alguma flexibilidade, sendo permitidos desvios pelo menos até aos limites estudados na presente investigação e referenciados pela bibliografia pesquisada. A tabela 11 foi criada com o intuito de resumir as recomendações e os limites de tolerância máxima para cada etapa e poderá também servir de suporte em contexto real para a tomada de decisões rápida e sustentada e em caso de desvios às recomendações.

Tabela 11: Recomendações e tolerância máxima dos limites de cada etapa (*baseada nos ensaios de validação deste estudo e nas recomendações mundialmente emitidas); NA=Não aplicável

ETAPA	Recomendações (<i>Codex</i>)	Tolerância máxima*	Observações
Confeção (tempo/temperatura)	75°C/ 1 seg (centro térmico)	NA	Ou outras combinações tempo/temperatura equivalentes
Pré-arrefecimento (tempo)	30 min	3 horas	
Arrefecimento rápido (tempo/ temperatura)	<10°C em menos de 120 min	Até 21°C em menos de 120 min e de 21°C a 5°C em 6h	
Armazenamento (temperatura)	0°C – 5°C	12h a 12°C	Desvios em caso de avarias do equipamento
Regeneração (tempo/temperatura)	75°C/ 1 seg (centro térmico)	NA	Ou outras combinações tempo/temperatura equivalentes
Tempo de vida útil (em refrigeração)	D+6 (D=dia de produção)	D+ 14 *	*Necessário avaliar características organoléticas para cada caso

Com o intuito de facilitar a interpretação dos resultados obtidos neste estudo, foi ainda criado um fluxograma que auxilia o processo de decisão em caso de desvios (figura 15). O fluxograma foi construído de forma a que sejam permitidos desvios apenas numa etapa, pelo que as questões contidas no interior dos losangos cor-de-laranja são consideradas críticas.

Isto significa que as tolerâncias não devem ser cumulativas, uma vez que não se encontra validado o comportamento do produto caso ocorram desvios simultaneamente em mais do que uma das etapas. Por este motivo, sempre que existir mais que uma resposta “não” a uma dessas questões, o produto deverá ser destruído, pois não foram efetuadas validações que sustentem a segurança alimentar dos produtos sujeitos a desvios acumulados durante todo o processo. Importa salientar que, caso ocorra um desvio até valores aceitáveis numa das etapas do processo, deve haver um cumprimento rigoroso das medidas de controlo associadas às restantes etapas. Se existirem desvios em mais do que uma etapa ou caso os valores da tolerância sejam ultrapassados, sugere-se a destruição do produto.

Neste fluxograma, são, igualmente, mobilizadas as informações recolhidas na procura de respostas para as questões de investigação, designadamente no que diz respeito ao comportamento microbiológico dos produtos ao longo do tempo de vida útil, tendo ou não sofrido desvios de tempo/temperatura, e à necessidade de destruição do produto face à existência desses desvios.

Limites recomendados	Tolerâncias admitidas (em caso de desvios)
X	

NOTA: Nos casos em que exista mais do que uma resposta **NÃO** nas questões Q1, Q2 e Q3 (losangos cor-de-laranja), o produto deve ser rejeitado.

Figura 15: Fluxograma para apoio ao processo de decisão em caso de desvios aos limites definidos.

5 Trabalhos futuros

Durante a realização da presente dissertação foi possível identificar algumas temáticas que merecem uma reflexão mais aprofundada e uma investigação futura.

A título complementar, seria interessante avaliar o comportamento organolético dos produtos *cook-chill* ao longo dos 14 dias da validade estudada e o seu impacto na satisfação do consumidor final. Os resultados poderiam ajudar a ajustar o prazo de validade a atribuir a cada tipo ou categoria de produto *cook-chill*.

Por outro lado, é sabido que o armazenamento refrigerado de produtos durante um longo período requer um maior investimento em instalações de grande dimensão e em equipamentos com uma maior capacidade de refrigeração e de armazenamento. Seria interessante estudar qual o impacto energético e financeiro que a decisão de estender a validade e manter os produtos armazenados por longos períodos pode ter e como otimizar estes recursos.

Poderia ser igualmente curioso comparar os resultados obtidos neste estudo com modelos matemáticos obtidos através da microbiologia preditiva, que permitem prever o comportamento de agentes patogénicos e microrganismos de deterioração sob diferentes combinações de fatores.

Durante a realização do presente estudo foram identificadas algumas limitações que merecem ser alvo de trabalhos futuros e que serão enumeradas de seguida.

Seria importante validar os limites de tempo e temperatura na etapa do arrefecimento rápido para este tipo de produtos *cook-chill*, já que os dados recolhidos não foram suficientes para o fazer.

De forma a aumentar ainda mais o grau de confiança nos resultados obtidos, torna-se essencial validar a vida útil destes produtos com um maior número de amostras analisadas a partir do 8º dia após produção.

Este estudo foi desenhado para avaliar o comportamento do produto em caso de desvios apenas numa determinada etapa do processo. Isto significa que não se pode admitir que as tolerâncias sejam cumulativas, ou seja, não se encontra validado o comportamento do produto caso ocorram desvios consecutivos em mais que uma das etapas. Para isso, deveria estudar-se a

mesma amostra de diferentes produtos sujeitos a desvios controlados em todas as etapas do processo *cook-chill*.

Apêndices

Tabela A1: Resultados detalhados das amostras não conformes para o parâmetro de contagem de microrganismos a 30°C

ID análise	Produto	T (°C)	Dia da validade	Lote	Data produção	Tipo produto	Fraciando / inteiro	Contagem de micro 30°C (ufc/g)
M1	Bacalhau com natas	1,0	6	170818	17/08/2018	peixe	fracionado	7.2x10 ⁴
M2	Massinha de peixe	1,0	6	140818	14/08/2018	peixe	fracionado	1.1x10 ⁴
M3	Massinha de Salmão	3,0	6	120718	12/07/2018	peixe	fracionado	1.3x10 ⁵
M4	Massinha de Salmão	3,0	6	120718	12/07/2018	peixe	fracionado	2.0x10 ⁴
M5	Massinha de Salmão	3,0	6	120718	12/07/2018	peixe	fracionado	2.4x10 ⁴
M6	Tirinhas de porco com batata corada e cenoura cozida	2,0	7	40618	04/06/2018	carne	inteiro	>3.0x10 ⁵
M7	Tirinhas de porco com batata corada e cenoura cozida	2,0	7	40618	04/06/2018	carne	inteiro	3.2x10 ⁴
M8	Tirinhas de porco com batata corada e cenoura cozida	2,0	7	40618	04/06/2018	carne	inteiro	>3.0x10 ⁵
M9	Tirinhas de porco com batata corada e cenoura cozida	2,0	7	40618	04/06/2018	carne	inteiro	5.4x10 ⁴
M10	Bacalhau com natas	2,0	6	2604108	26/04/2018	peixe	fracionado	2.7x10 ⁴
M11	Carne de porco assada com espirais e cenoura	1,0	6	220318	22/03/2018	carne	inteiro	2x10 ⁴
M12	Carne de porco assada com espirais e cenoura	1,0	6	220318	22/03/2018	carne	inteiro	9.2x10 ⁴
M13	Carne de porco assada com espirais e cenoura	1,0	6	220318	22/03/2018	carne	inteiro	>3x10 ⁵
M14	Sopa de Espinafres	1,0	6	220318	22/03/2018	sopa	NA	1.6x10 ⁵
M15	Pescada no forno com ervas aromaticas, batata cozida, feijão verde	1,0	6	220318	22/03/2018	peixe	inteiro	1.7x10 ⁵
M16	Pescada no forno com ervas aromaticas, batata cozida, feijão verde	1,0	6	220318	22/03/2018	peixe	inteiro	>3x10 ⁵
M17	Pescada no forno com ervas aromaticas, batata cozida, feijão verde	1,0	6	220318	22/03/2018	peixe	inteiro	2x10 ⁵
M18	Pescada no forno com ervas aromaticas, batata cozida, feijão verde	1,0	6	220318	22/03/2018	peixe	inteiro	6.2x10 ⁴
M19	Pescada no forno com ervas aromaticas, batata cozida, feijão verde	1,0	6	220318	22/03/2018	peixe	inteiro	>3x10 ⁵
M20	Bolonhesa de carne de vaca com esparguete	3,8	7	211117	21/11/2017	carne	fracionado	1.8x10 ⁴
M21	Bolonhesa de carne de vaca com esparguete	3,8	7	211117	21/11/2017	carne	fracionado	4.4x10 ⁴
M22	Bolonhesa de carne de vaca com esparguete	3,8	7	211117	21/11/2017	carne	fracionado	2.9x10 ⁴
M23	Bolonhesa de carne de vaca com esparguete	3,8	7	211117	21/11/2017	carne	fracionado	2.8x10 ⁴
M24	Bacalhau Espiritual	1,0	6	181017	18/10/2017	peixe	fracionado	1.6x10 ⁴
M25	Bacalhau Espiritual	1,0	6	181017	18/10/2017	peixe	fracionado	1.5x10 ⁴
M26	Lombinhos de pescada com arroz feijão verde e cenoura	1,0	6	181017	18/10/2017	peixe	inteiro	5.7x10 ⁴
M27	Lombinhos de pescada com arroz feijão verde e cenoura	1,0	6	181017	18/10/2017	peixe	inteiro	2.6x10 ⁴
M28	Roti de Peru com massa espiral	5,4	7	100717	10/07/2017	carne	inteiro	2.5x10 ⁴
M29	Roti de Peru com massa espiral	5,4	7	100717	10/07/2017	carne	inteiro	2.6x10 ⁴
M30	Roti de peru com espirais e feijão vermelho	4,0	5	150517	15/05/2017	carne	inteiro	>4.9x10 ⁵
M31	Roti de peru com espirais e feijão vermelho	4,0	5	150517	15/05/2017	carne	inteiro	>4.9x10 ⁵
M32	Roti de peru com espirais e feijão vermelho	4,0	5	150517	15/05/2017	carne	inteiro	>4.9x10 ⁵
M33	Roti de peru com espirais e feijão vermelho	4,0	5	150517	15/05/2017	carne	inteiro	3.7x10 ⁵
M34	Roti de peru com espirais e feijão vermelho	4,0	5	150517	15/05/2017	carne	inteiro	>4.9x10 ⁵
M37	Feijoada á marinheiro com arroz branco	2,0	6	101017	10/01/2017	peixe	fracionado	1.5x10 ⁴
M38	Feijoada á marinheiro com arroz branco	2,0	6	101017	10/01/2017	peixe	fracionado	3x10 ⁵
M39	Feijoada á marinheiro com arroz branco	2,0	6	101017	10/01/2017	peixe	fracionado	1.2x10 ⁴
M40	Peito de Frango no Forno com Molho Farinheira, Arroz de Cenoura, Bróculos	11,4	7	141216	14/12/2016	carne	inteiro	5
M41	Aveludado de bróculos	3,7	6	191016	19/10/2016	sopa	NA	1.6x10 ⁴
M42	Aveludado de bróculos	3,7	6	191016	19/10/2016	sopa	NA	5x10 ⁴
M43	frango cozido	4,3	2	270716	2016-07-27	carne	inteiro	>4.9x10 ⁵
M44	frango cozido	4,3	2	270716	2016-07-27	carne	inteiro	>4.9x10 ⁵
M45	frango cozido	4,3	2	270716	2016-07-27	carne	inteiro	>4.9x10 ⁵
M46	frango cozido	4,3	2	270716	2016-07-27	carne	inteiro	>4.9x10 ⁵
M47	frango cozido	4,3	2	270716	2016-07-27	carne	inteiro	>4.9x10 ⁵
M48	Esparguete com almondegas aves	2,3	8	110416	11/04/2016	carne	fracionado	3.4x10 ⁴
M49	Esparguete com almondegas aves	2,3	8	110416	11/04/2016	carne	fracionado	2.5x10 ⁵
M50	Esparguete com almondegas aves	2,3	8	110416	11/04/2016	carne	fracionado	6.8x10 ⁴
M51	Esparguete com almondegas aves	2,3	8	110416	11/04/2016	carne	fracionado	1.1x10 ⁵
M52	massinha de peixe com delicias do mar	4,0	3	100216	10/02/2016	peixe	fracionado	1.5x10 ⁵
M53	massinha de peixe com delicias do mar	4,0	3	100216	10/02/2016	peixe	fracionado	3.7x10 ⁴
M54	hamburger aves	0,9	5	10216	01/02/2016	carne	fracionado	1.3x10 ⁴
M55	peixe á Brás	0,9	14	290116	29/01/2016	peixe	fracionado	1.3x10 ⁴
M56	Douradinhos de pescada no forno	2,6	3	110116	11/01/2016	peixe	inteiro	6.8x10 ⁴
M57	Batata cozida c/ feijão verde e lombo pescada cozido ao vapor	3,8	6	121115	12/11/2015	peixe	inteiro	6.6x10 ⁵
M58	Batata cozida c/ feijão verde e lombo pescada cozido ao vapor	3,8	6	121115	12/11/2015	peixe	inteiro	5.9x10 ⁴
M59	Batata cozida c/ feijão verde e lombo pescada cozido ao vapor	3,8	6	121115	12/11/2015	peixe	inteiro	1.1x10 ⁵
M60	Batata cozida c/ feijão verde e lombo pescada cozido ao vapor	3,8	6	121115	12/11/2015	peixe	inteiro	1.3x10 ⁵
M61	Hamburger vaca grelhado com arroz branco	6,8	5	260915	26/09/2015	carne	fracionado	1.7x10 ⁵
M62	Hamburger vaca grelhado com arroz branco	6,8	5	260915	26/09/2015	carne	fracionado	2.2x10 ⁴
M63	Hamburger vaca grelhado com arroz branco	6,8	5	260915	26/09/2015	carne	fracionado	3.4x10 ⁴
M64	Hamburger vaca grelhado com arroz branco	6,8	5	260915	26/09/2015	carne	fracionado	>4.9x10 ⁵
M65	Hamburger vaca grelhado com arroz branco	6,8	5	260915	26/09/2015	carne	fracionado	2.1x10 ⁵
M66	ND	2,5	6	518209	17/09/2012	NA	NA	3.1x10 ⁴
M67	Empadão de peixe com delicias do mar	3,8	6	51020	09/07/2012	peixe	fracionado	2.9x10 ⁴
M68	Arroz á valenciana	3,4	6	31240	11/03/2012	carne	fracionado	2.1x10 ⁵
M69	Sopa de Nabo	3,0	7	110718	11/07/2018	sopa	NA	>3.0x10 ⁵
M70	Sopa de Nabo	3,0	7	110718	11/07/2018	sopa	NA	>3.0x10 ⁵
M71	Sopa de Nabo	3,0	7	110718	11/07/2018	sopa	NA	>3.0x10 ⁵
M72	Sopa de Nabo	3,0	7	110718	11/07/2018	sopa	NA	>3.0x10 ⁵
M73	Sopa de Nabo	3,0	7	110718	11/07/2018	sopa	NA	>3.0x10 ⁵

Tabela A2: Resultados detalhados das amostras não conformes para o parâmetro de contagem de microrganismos psicrófilos

ID análise	Produto	T (°C)	Dia da validade	Lote	Data produção	Tipo produto	Fracionado/ inteiro	Contagem de micro 30°C (ufc/g)
M1	Bacalhau com natas	1	6	170818	17/08/2018	peixe	fracionado	1.1x10 ⁵
M3	Massinha de Salmão	3	6	120718	12/07/2018	peixe	fracionado	2.3x10 ⁵
M6	Tirinhas de porco com batata corada e cenoura cozida	2	7	40618	04/06/2018	carne	inteiro	>3.0x10 ⁶
M10	Bacalhau com natas	2	6	260418	26/04/2018	peixe	fracionado	4.1x10 ⁵
M13	Carne de porco assada com espirais e cenoura	1	6	220318	22/03/2018	carne	inteiro	>3x10 ⁶
M34	Roti de peru com espirais e feijão vermelho	4	5	150517	15/05/2017	carne	inteiro	8.4x10 ⁵
M33	Roti de peru com espirais e feijão vermelho	4	5	150517	15/05/2017	carne	inteiro	1.2x10 ⁵
M32	Roti de peru com espirais e feijão vermelho	4	5	150517	15/05/2017	carne	inteiro	6x10 ⁵
M30	Roti de peru com espirais e feijão vermelho	4	5	150517	15/05/2017	carne	inteiro	3.3x10 ⁵
M39	Feijoada á marinheiro com arroz branco	2	6	100117	10/01/2017	peixe	fracionado	6.3x10 ⁵
M38	Feijoada á marinheiro com arroz branco	2	6	100117	10/01/2017	peixe	fracionado	3.9x10 ⁵
M37	Feijoada á marinheiro com arroz branco	2	6	100117	10/01/2017	peixe	fracionado	2.5x10 ⁵
MP1	Feijoada á marinheiro com arroz branco	2	6	100117	10/01/2017	peixe	fracionado	4.7x10 ⁵
MP2	Feijoada á marinheiro com arroz branco	2	6	100117	10/01/2017	peixe	fracionado	3x10 ⁵
M47	frango cozido	4,3	2	270716	27/07/2016	carne	inteiro	1.2x10 ⁷
M43	frango cozido	4,3	2	270716	27/07/2016	carne	inteiro	2.9x10 ⁶
M45	frango cozido	4,3	2	270716	27/07/2016	carne	inteiro	1.1x10 ⁷
M46	frango cozido	4,3	2	270716	27/07/2016	carne	inteiro	1.2x10 ⁷
M44	frango cozido	4,3	2	270716	27/07/2016	carne	inteiro	5.9x10 ⁶
M60	Batata cozida c/ feijão verde e lombo pescada cozido ao vapor	3,8	6	121115	12/11/2015	peixe	inteiro	6.7x10 ⁶
M59	Batata cozida c/ feijão verde e lombo pescada cozido ao vapor	3,8	6	121115	12/11/2015	peixe	inteiro	2.1x10 ⁵
M58	Batata cozida c/ feijão verde e lombo pescada cozido ao vapor	3,8	6	121115	12/11/2015	peixe	inteiro	1.6x10 ⁵
MP3	Batata cozida c/ feijão verde e lombo pescada cozido ao vapor	3,8	6	121115	12/11/2015	peixe	inteiro	1.4x10 ⁵
M57	Batata cozida c/ feijão verde e lombo pescada cozido ao vapor	3,8	6	121115	12/11/2015	peixe	inteiro	7.7x10 ⁵
M73	Sopa de Nabo	3	7	110718	11/07/2018	sopa	NA	1.1x10 ⁶
M72	Sopa de Nabo	3	7	110718	11/07/2018	sopa	NA	>3.0x10 ⁶
M71	Sopa de Nabo	3	7	110718	11/07/2018	sopa	NA	1.8x10 ⁶
M70	Sopa de Nabo	3	7	110718	11/07/2018	sopa	NA	>3.0x10 ⁶
M69	Sopa de Nabo	3	7	110718	11/07/2018	sopa	NA	2.0x10 ⁶

Tabela A3: Informação detalhada acerca das refeições com valores não satisfatórios para pesquisa de *L. monocytogenes* em 25g e apreciação dos resultados dos ensaios de contagem de *L. monocytogenes* (Valor de Referência $<1 \times 10^2$ ufc/g; C=conforme; NC=não conforme) (Debevere, 2006; INSA, n.d.; RJ Gilbert et al., 2000)

ID análise	Refeição	Dia da validade	Lote	Data de produção	Data da colheita	Contagem de <i>L.monocytogenes</i> (ufc/g)	Apreciação
ID1	Massinha de peixe	6	140818	14/08/2018	17/08/2018	$<1 \times 10^1$	C
ID2	Roti de Peru c/ massa espiral	7	100717	10/07/2017	13/07/2017	$<1 \times 10^1$	C
ID3	Roti de Peru c/ massa espiral	7	100717	10/07/2017	13/07/2017	$<1 \times 10^1$	C
ID4	Roti de Peru c/ massa espiral	7	100717	10/07/2017	13/07/2017	6×10^1	C
ID5	Peixe á brás	11	10316	01/03/2016	01/03/2016	$<1 \times 10^1$	C
ID6	Peixe á brás	11	10316	01/03/2016	01/03/2016	$<1 \times 10^1$	C
ID7	Peixe á brás	11	10316	01/03/2016	01/03/2016	$<1 \times 10^1$	C
ID8	Peixe á brás	11	10316	01/03/2016	01/03/2016	$<1 \times 10^1$	C
ID9	Peixe á brás	11	10316	01/03/2016	01/03/2016	$<1 \times 10^1$	C
ID10	Peixe á Brás	14	290116	29/01/2016	05/02/2016	$<1 \times 10^1$	C
ID11	Peixe á Brás	14	290116	29/01/2016	05/02/2016	$<1 \times 10^1$	C
ID12	Peixinho no forno á Portuguesa	4	20216	02/02/2016	05/02/2016	$<1 \times 10^1$	C
ID13	Peixinho no forno á Portuguesa	4	20216	02/02/2016	05/02/2016	$<1 \times 10^1$	C
ID14	Peixinho no forno á Portuguesa	4	20216	02/02/2016	05/02/2016	$<1 \times 10^1$	C

Referências bibliográficas

- Azevedo, D. J. (2008). Sistema de Cook-Chill: Produção de refeições em sistema diferido. *Segurança e Qualidade Alimentar*, 4, 36–37.
- Baptista, P. (2007). *Sistemas de Segurança Alimentar na Cadeia de transporte e Distribuição de Produtos Alimentares*.
- Baptista, P., Noronha, J., Oliveira, J., Saraiva, J., Mantilla, S. P. S., Mano, S. B., ... Franco, R. M. (2010). Código de boas práticas de higiene e segurança alimentar para a pequena restauração e bebidas (AHRESP). *Revista Acadêmica: Ciência Agrária e Ambiental*, 8(4), 64.
- Baylis, C., Uyttendaele, M., Joosten, H., & Davies, A. (2011). *ILSI Europe Emerging Microbiological Issues Task Force; The Enterobacteriaceae and their Significance to the Food Industry*. <https://doi.org/2011/10.996/30>
- Brown, M. (2008). *Chilled Foods - A Comprehensive Guide*. Woodhead Publishing (3rd editio).
- Canadian Food Inspection Agency. (2013). Meat Processing Controls and Procedures. In *Guidance Document Repository* (p. Chapter 4).
- Carvalho, A. C. F. B., Cortez, A. L. L., Salott, B. M., Bürger, K. P., & Vidal-Martins A.M.C. (2005). Presença de microrganismos mesófilos, psicrotóxicos e coliformes em diferentes amostras de produtos avícolas. *Arq. Inst. Biol*, 72(3), 303–307.
- Center for Food Safety and Applied Nutrition. (2017). Control of *Listeria monocytogenes* in Ready-To-Eat Foods: Guidance for Industry Draft Guidance. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*, 3(Draft Guidance), 1–49. Retrieved from <https://www.fda.gov/downloads/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/UCM535981.pdf>
<https://www.fda.gov/downloads/food/guidanceregulation/guidancedocumentsregulatoryinformation/ucm535981.pdf>
- Comissão Europeia. (2005). Regulamento (CE) n. 2073/2005, relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios. *Jornal Oficial Da União Europeia*.
- Compendium of Microbiological Criteria for Food*. (2018).

- Coorey, R., Sze, D., Ng, H., Jayamanne, V. S., Buys, E. M., Munyard, S., ... Dykes, G. A. (2018). The Impact of Cooling Rate on the Safety of Food Products as Affected by Food Containers, *17*, 827–840. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12357>
- Creed, P. G. (2001). The potential of foodservice systems for satisfying consumer needs. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *2*(3), 219–227. [https://doi.org/10.1016/S1466-8564\(01\)00034-0](https://doi.org/10.1016/S1466-8564(01)00034-0)
- Dagnas, S., & Membré, J.-M. (2014). Predicting and Preventing Mold Spoilage of Food Products. *Journal of Food Protection*, *76*(3), 538–551. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-12-349>
- Debevere, G. D. P. dr. ir. J. (2006). *Microbiological guide Values & legal microbiological criteria*. Belgium.
- Edwards, J. S. a., & Hartwell, H. J. (2006). Hospital foodservice : a comparative analysis of systems and introducing the ‘ Steamplicity ’ concept. *Journal of Human Nutrition and Dietetics S*, *19*(6), 421–430. <https://doi.org/10.1111/j.1365-277X.2006.00730.x>
- Eurest. (2015). *Relatório de Sustentabilidade 2014-15: Principios de uma alimentação responsável*.
- Eurest Portugal. (2019). Retrieved July 14, 2019, from <https://www.eurest.pt>
- European Chilled Food Federation. (2006). Recommendations for the production of prepackaged chilled food. *ECFF Recommendations*, 88.
- FAO/WHO. (2003). Codex Alimentarius. In *Versão Portuguesa CAC/RCP 1-1969 Rev. 4 - 2003* (pp. 1–56).
- FAO/WHO. (2015). Code of hygienic practice for precooked and cooked foods in mass catering. In *CAC/RCP 39-1993* (pp. 1–13). <https://doi.org/10.1227/01.NEU.0000097715.11966.8E>
- FDA; CDC; HHS; USDA; (2013). *Food Code - Recommendations of the United States Public Health Service Food and Drug Administration. Center for Global Development*. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2011.08.011>

- Fédération Européenne de la Restauration Collective Concédée. (2009). European Guide to Good Practice For Food Hygiene In The Contract Catering Sector.
- Fellows, P. J. (2000). *Food Processing Technology: Principles and Practice, Second Edition, Parts 1-4*.
- Food and Drug Administration. (2012). Bad Bug Book. *Bad Bug Book*, 22–25.
- Food and Drug Administration. (2017). *Food Code*.
- Food Safety Authority of Ireland. (n.d.). FSAI.
- Food Safety Authority of Ireland, F. (2006). *Guidance note no. 15: Cook-chill systems in the food service sector (revision 1)*. Dublin, Ireland.
- Food Standards Agency. (2018). Cooking your food.
- Golden, N. J., Crouch, E. A., Latimer, H., Kadry, A.-R., & Kasue, J. (2009). Risk Assessment for *Clostridium perfringens* in Ready-to-Eat and Partially Cooked Meat and Poultry Products. *Journal of Food Protection*, 72(7), 1376–1384. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-72.7.1376>
- Gould, G. W. (1996). Methods for preservation and extension of shelf life. *International Journal of Food Microbiology*, 33(1), 51–64. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(96\)01133-6](https://doi.org/10.1016/0168-1605(96)01133-6)
- Great Britain Department of Health. (1989). *Chilled and frozen : Guidelines on cook-chill and cook-freeze catering systems*. London: H.M.S.O.
- Health Protection Agency. (2009). Guidelines for Assessing the Microbiological Safety of Ready-to-Eat Foods Placed on the Market. *Health Protection Agency, London.*, (November), 33.
- Holdsworth, S. . (2004). Optimising the safety and quality of thermally processed packaged foods. *Improving the Thermal Processing of Foods*, 3-31.
- INSA. (n.d.). Valores guia para avaliação da qualidade microbiológica de . *ROF64*, 66–68.

- K. Keer; S. Dealler; R. Lacey. (1987). *Listeria in cook-chill food*. Leeds.
- Lacey, R. W. (1989). For how long will cook-chill survive? *British Food Journal*, 91(6), 3–6.
- Mateus, T., Rocha, H., Maia, R., Teixeira, P., Rocha, H., & Maia, R. (2017). Listeria e Listeria monocytogenes em alimentos. *Tecnoalimentar*, (June).
- Mena, C., Almeida, G., Carneiro, L., Teixeira, P., Hogg, T., & Gibbs, P. A. (2004). Incidence of Listeria monocytogenes in different food products commercialized in Portugal. *Food Microbiology*, 21(2), 213–216. [https://doi.org/10.1016/S0740-0020\(03\)00057-1](https://doi.org/10.1016/S0740-0020(03)00057-1)
- Miranda, T. A. (2017). *Evaluation of Listeria monocytogenes biofilm formation : Comparison between persistent and sporadic strains*.
- NSW. (2011). *Guidelines for food service to vulnerable persons*.
- Olds, D. A., Mendonca, A. F., Sneed, J., & Bisha, B. (2006). Influence of four retail food service cooling methods on the behavior of Clostridium perfringens ATCC 10388 in turkey roasts following heating to an internal temperature of 74°C. *Journal of Food Protection*, 69(1), 112–117. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-69.1.112>
- Poumeyrol, G., Morelli, E., Noel, V., & Cornu, M. (2012). Impact of the method chosen for measuring temperatures on the efficacy of rapid cooling of foods in catering facilities. *Food Control*, 23(2), 345–350. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.07.028>
- Proença, R. P. . (1999). Inovações tecnológicas na produção de refeições: conceitos e aplicações básicas. *Higiene Alimentar*, 13(63), 24–30.
- RJ Gilbert, J de Louvois, T Donovan, C Little, K Nye, CD Ribeiro, ... FJ Bolton. (2000). Guidelines for the microbiological quality of some ready-to-eat foods sampled at the point of sale. *Communicable Disease and Public Health*, 3(3), 163–167. Retrieved from <http://mb-labs.com/wp-content/uploads/2014/08/Micro-Limits-Ready-to-Eat-Foods.pdf>
- Rodgers, S. (2003). Potential applications of protective cultures in cook-chill catering. *Food Control*, 14(1), 35–42. [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(02\)00050-6](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(02)00050-6)
- Rodríguez-López, P., Rodríguez-Herrera, J., Vázquez-Sánchez, D., & López Cabo, M. (2018). Current Knowledge on Listeria monocytogenes Biofilms in Food-Related Environments:

- Incidence, Resistance to Biocides, Ecology and Biocontrol. *Foods*, 7(6), 85. <https://doi.org/10.3390/foods7060085>
- Siddiqui, M. W. (2015). *Minimally Processed Foods: Technologies for Safety, Quality, and Convenience*.
- Smelt, J. P. P. M., & Brul, S. (2014). Thermal Inactivation of Microorganisms. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(10), 1371–1385. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.637645>
- Stanley, D. W. (1997). Principles of food processing. *Food Research International*, 30(6), 463. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(97\)00064-1](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(97)00064-1)
- Stratton, J., & Bianchini, A. (2014). Cook - Chill Method for Retail and Restaurants.
- Tournas, V., Stack, M. E., Mislivec, P. B., Koch, H. a, & Bandler, R. (2015). Yeasts, Molds and Mycotoxins. *FDA Bacteriological Analytical Manual*, 1–10.
- USDA. (2001). Department of Agriculture Food Safety and Inspection Service, 1–48.
- USDA, & Food Safety and Inspection Service. (2012). *Introduction to the Microbiology of Food Processing*.
- Vasut, R. G., & Robeci, M. D. (2009). Food Contamination With Psychrophilic Bacteria. *Lucrări Științifice Medicină Veterinară*, XLII(2), 325–330.
- Williams, P. G. (1996). Vitamin retention in cook/chill and cook/hot-hold hospital foodservices. *Journal of the American Dietetic Association*, 96(5), 490–498. [https://doi.org/10.1016/S0002-8223\(96\)00135-6](https://doi.org/10.1016/S0002-8223(96)00135-6)
- Witter, L. D. (2010). Psychrophilic Bacteria — A Review. *Journal of Dairy Science*, 44(6), 983–1015. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(61\)89851-2](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(61)89851-2)
- World Health Organization. (2006). FIVE KEYS TO SAFER FOOD MANUAL.