



# CATÓLICA

## ESCOLA SUPERIOR DE BIOTECNOLOGIA

---

PORTO

DESENVOLVIMENTO DE NOVO PRODUTO: QUEIJO FRESCO DE VACA COM CONSERVANTE  
BIOLÓGICO

por

Ana Catarina Pechilga Alves

Maio de 2018



# CATÓLICA

## ESCOLA SUPERIOR DE BIOTECNOLOGIA

---

PORTO

DEVELOPMENT OF NEW PRODUCT: FRESH CHEESE WITH BIOLOGICAL PRESERVATIVE

by

Ana Catarina Pechilga Alves

May of 2018



# CATÓLICA

## ESCOLA SUPERIOR DE BIOTECNOLOGIA

---

PORTO

### DESENVOLVIMENTO DE NOVO PRODUTO: QUEIJO FRESCO DE VACA COM CONSERVANTE BIOLÓGICO

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

por

Ana Catarina Pechilga Alves

Local: Tété II- Produtos Lácteos, Lda

Universidade Católica Portuguesa – Escola Superior de Biotecnologia

Orientação: Orientadora – Professora Doutora Paula Teixeira

Co-orientadora – Engenheira Cátia Monteiro

Maio de 2018



# CATÓLICA

## ESCOLA SUPERIOR DE BIOTECNOLOGIA

---

PORTO

DEVELOPMENT OF NEW PRODUCT: FRESH CHEESE WITH BIOLOGICAL PRESERVATIVE

Thesis presented to *Escola Superior de Biotecnologia* of the *Universidade Católica Portuguesa* to fulfill the requirements of Master of Science degree in Biotechnology and Innovation

by

Ana Catarina Pechilga Alves

Place: Tété II- Produtos Lácteos, Lda

Universidade Católica Portuguesa – Escola Superior de Biotecnologia

Supervision: Orientadora – Professora Doutora Paula Teixeira

Co-orientadora – Engenheira Cátia Monteiro

May of 2018

Aos meus pais,  
À memória do meu irmão e avós.

## **Resumo**

A Investigação, o Desenvolvimento e Inovação (IDI), converteram-se em elementos prioritários de qualquer país industrializado numa economia global. Não basta ter uma boa ideia, é necessário ser capaz de gerir de modo sistemático e planeado o conhecimento gerado, aproveitando os recursos para o converter em valor e criar riqueza. Dando sequência à estratégia da União Europeia, Portugal tem vindo a criar instrumentos de apoio à Investigação e Inovação, áreas cruciais ao desenvolvimento sustentado. A gestão de inovação, embora complexa, pode ser sistematizada e organizada numa metodologia. O conjunto de normas portuguesas de IDI vieram desmistificar o conceito de IDI como algo intangível.

No presente estudo, partindo das referidas normas, pretendeu-se elaborar um conjunto de procedimentos e documentos associados a um projeto IDI, que servisse de base ao departamento de inovação da empresa. De modo a alcançar este objetivo, procedeu-se ao estudo dos referenciais normativos na área da certificação da inovação e dos modelos de desenvolvimento de produto.

O queijo fresco foi o produto alvo deste estudo. Este caracteriza-se por ser um alimento com alto valor nutricional e fazer parte da alimentação dos portugueses há várias décadas. No entanto, um dos grandes desafios é a sua conservação, este possui um tempo de vida reduzido. Esta questão tem sido impulsionadora de investigação por parte da indústria e dos seus parceiros, que têm desenvolvido novos adjuvantes e processos tecnológicos para contornar este problema.

Nesta dissertação, pretendeu-se estudar o comportamento de dois conservantes de origem biológica (*Bioprox*® e *Biopress*®) no tempo de vida útil do queijo fresco de vaca. De modo a atingir este objetivo, desenvolveram-se estudos de vida útil em que foram avaliados parâmetros microbiológicos e sensoriais de amostras com os dois conservantes. Com base nos resultados obtidos nas análises microbiológicas e sensoriais, a melhor formulação foi a que inclui o conservante biológico *Bioprox*®. Nos dois ensaios realizados, os resultados obtidos foram constantes ao longo do estudo e classificados com sendo “satisfatórios” para todos os parâmetros biológicos analisados. Porém, os resultados não são conclusivos, sendo necessária a realização de novos ensaios.

Constatou-se a importância do planeamento e gestão no processo de inovação, se estes forem assumidos pela gestão de topo, no âmbito de cultura de melhoria contínua e orientados por ferramentas adequadas, aumenta-se a probabilidade de sucesso do novo produto.

**Palavras-Chave:** queijo fresco; conservante biológico; estudo de vida útil; inovação; desenvolvimento de produto

## **Abstract**

Research, Technological Development and Innovation (IDI) have become priority elements of any industrialized country in a global economy. Good ideas are not enough, one must be able to manage knowledge in a systematic and planned manner and turned into added value and thus create wealth. According to the European Union policy, Portugal, has been developing instruments to support Research and Innovation, which are considered to be crucial to achieve sustainable development. Innovation management, although complex, can be systematized and organized into a methodology, a set of Portuguese RDI standards have been published demystified that the RDI concept as something intangible.

In the present study, based on these standards, it was intended to elaborate a set of procedures and documents associated with an R & D project, which are fundamental to innovation department of the company. To achieve this goal, the normative references in innovation certification and product development models were studied.

Fresh cheese was the target product of this study. This product is characterized as having a high nutritional value and to be an important part of the Portuguese's feeding for decades. However, one of the main challenges is its conservation, due to the reduced shelf life. This issue has been a driving force behind research by industry and their partners, who have developed new adjuvants and technological methods to minimize this problem.

In this dissertation, it was intended to study the behaviour of two biological preservatives (*Bioprox*® and *Biopress*®) in the fresh cheese's shelf life. In order to achieve this goal, shelf life studies were developed in which microbiological and sensory parameters were evaluated. Based on the microbiological and sensorial analysis, the best formulation was the one that includes the biological preservative *Bioprox*®. In the two tests, the results obtained were constant throughout the study and were classified as being "satisfactory" for all the microbiological parameters analyzed. However, the obtained results are not conclusive, it's necessary future studies.

The importance of planning in the innovation management process was confirmed and if it is assumed by top management company, internalized in a culture of continuous improvement and guided by appropriate tools, the probability of success of the new product increases.

**Key-words:** fresh cheese; biological additive; shelf life; innovation; product development

## **Agradecimentos**

À Professora Doutora Paula Teixeira, pelas pertinentes sugestões durante a coordenação das atividades de investigação e pelo voto de confiança que logo de início manifestou ao aceitar ser minha orientadora;

À Engenheira Cátia Monteiro, pelos preciosos ensinamentos e incessante interesse nesta causa, e como coorientadora, pelo acompanhamento dado no desenvolvimento de todo o trabalho;

À Tété II- lacticínios, à Direção e colegas, bem como à Direção, colaboradores e da ESB, que de alguma forma me apoiaram na prossecução deste meu objetivo;

Aos colegas que me acompanharam no Mestrado de Biotecnologia e Inovação no ano letivo de 2015/2016, especialmente à Catarina, Alexandra e Débora por me terem apoiado nesta jornada.

Por fim, mas não por último, estou grata à minha Família, namorado e amigas, pelo carinho e imensa compreensão.

*A todos, pois sem vós esta dissertação não seria uma realidade,*

*...o meu sincero bem-haja.*

## **Índice**

Resumo .....	6
Abstract.....	7
Agradecimentos.....	8
Lista Tabelas .....	11
Lista de Figuras .....	12
Capítulo 1- Introdução .....	13
1.1. Enquadramento .....	13
1.2. Caracterização da empresa .....	13
1.3. Objetivos.....	14
1.4. Metodologia .....	15
1.5. Organização da Dissertação .....	16
Capítulo 2 – Fundamentação Teórica .....	17
2.1. Queijo .....	17
2.1.1. Definição.....	17
2.1.2. Classificação .....	17
2.2. Queijo Fresco Tradicional Português .....	18
2.3. Processo de fabrico do queijo fresco .....	19
2.4. Conceito de qualidade e segurança na produção.....	22
2.5. Produção e Consumo de Lacticínios em Portugal e União Europeia .....	23
2.6. Caracterização .....	27
2.6.1. Caracterização microbiológica .....	27
2.6.2. Caracterização Sensorial .....	31
2.6.3. Composição nutricional .....	33
2.7. Conservação do queijo.....	34
2.7.1. Extensão do tempo de vida útil .....	34
2.7.2. Extensão do tempo de vida útil: métodos biológicos .....	36
2.8. Inovação .....	40
2.8.1. Definições .....	40
2.8.2. Normalização Inovação: Normas IDI.....	41
2.8.3. Projetos de IDI: NP 4458:2007.....	43
2.8.4. Inovação na Indústria Alimentar: Estado de Arte .....	45
2.9. Desenvolvimento de Novos Produtos .....	47
2.9.1. Definições .....	47
2.9.2. Modelos de Referência.....	49
2.9.3. Processo de Desenvolvimento Novos Produtos .....	51
2.10. Estudo de validade de produtos alimentares .....	52
2.10.1. Definições.....	52
2.10.2. Especificação do produto .....	53

2.10.3. Microbiologia preditiva.....	55
2.10.4. Testes laboratoriais .....	55
2.10.5. Procedimento .....	57
Capítulo 3- Metodologia .....	59
3.1. Estudo de Validade .....	59
3.1.1. Amostras .....	61
3.1.2. Análises microbiológicas .....	62
3.1.2. Análises sensorias.....	62
3.2. Modelo de Conceção e Desenvolvimento do Novo Produto.....	62
Capítulo 4- Resultados e Discussão .....	65
4.1. Estudo de Validade .....	65
4.1.1. Análises microbiológicas .....	65
4.1.2. Análises sensoriais.....	69
4.2. Estudos em queijos com conservantes de origem biológica .....	71
4.3. Modelo de Conceção e Desenvolvimento do Novo Produto.....	74
Capítulo 5- Conclusão .....	77
Capítulo 6- Trabalho Futuro .....	79
Referências Bibliográficas .....	80
Apêndices .....	88

## **Lista Tabelas**

Tabela 1-Classificação dos queijos quanto à consistência. (Portaria 73, 1990).....	18
Tabela 2-Classificação dos queijos quanto à matéria gorda. (Portaria 73, 1990) .....	18
Tabela 3--Produção de leite em 1000 toneladas em Portugal, dividida em regiões, entre 2003 e 2015 (INE, 2016). .....	24
Tabela 4-- Produção de queijo em 1000 toneladas em Portugal entre 2005 e 2016. (INE, 2016) .....	25
Tabela 5-Consumos da quantidade total de queijo em 1000 toneladas e consumos per capita (kg) nos países UE (2014-2017) (Eurostat, 2017). .....	27
Tabela 6-Composição geral do leite de algumas espécies produtoras (Oliveira, 2010).....	34
Tabela 7-Composição nutricional do queijo fresco (Oliveira, 2010).....	34
Tabela 8- Aplicação de diferentes estirpes consoante o tipo de queijo e o microrganismo alvo (Favaro, Penna, & Todorov, 2015) .....	38
Tabela 9- Características inerentes ao produto e ao ambiente que o envolve que afetam diretamente a qualidade e segurança do mesmo (Veiga, 2012) .....	53
Tabela 10-- Limites microbiológicos para leite e produtos lácticos. (REGULAMENTO (CE) N.º 2073/2005 de 15 de Novembro de 2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios) .....	58
Tabela 11-Procedimentos utilizados nas análises microbiológicas realizadas.....	62
Tabela 12- Codificação de amostras.....	65
Tabela 13-Resultados das análises microbiológicas realizadas em 3 tempos distintos a 3 amostras de queijo fresco de vaca com diferentes conservantes na sua composição (UFC/g). .....	65
Tabela 14-Codificação de amostras.....	68
Tabela 15- Resultados das análises microbiológicas realizadas em 2 tempos distintos a 4 amostras de queijo fresco de vaca com diferentes conservantes na sua composição (UFC/g). .....	68
Tabela 16- Resultados dos parâmetros de análise sensorial analisados às 4 amostras de queijo fresco de vaca. C- Característico do produto.....	69

## **Lista de Figuras**

Figura 1-Fluxograma do processo de fabrico do queijo fresco (Ponciano, 2010) .....	22
Figura 2-Representatividade da produção de leite e produtos lácteos (INE, Estatísticas da Produção e Consumo de Leite 2015, 2016). .....	24
Figura 3- Estrutura da recolha de leite de vaca e do efetivo leiteiro da UE28, 2015 (Eurostat, 2017). .....	25
Figura 4- Produção de queijo em 1000 toneladas na Europa no ano 2016 (Eurostat, 2017) .....	26
Figura 5- Estrutura das disponibilidades diárias per capita de leite e produtos lácteos de 2008 a 2016. (INE, 2017) .....	27
Figura 6-Cadeia de Valor das Atividades de IDI (COTEC, 2006) .....	43
Figura 7-Processo Standard “Stage-Gate” (Cooper, Edgett, & Kleinschmidt, 2008). .....	50
Figura 8-Processo genérico de desenvolvimento de novos produtos (Ulrich & Eppinger, 2008). .....	50
Figura 9- Diferentes conformações do processo de desenvolvimento de novos produtos (Ulrich & Eppinger, 2008). .....	51
Figura 10-Fluxograma do processo de Desenvolvimento de Novos Produtos. ....	64

## **Capítulo 1- Introdução**

### **1.1. Enquadramento**

O queijo, alimento famoso em todo o mundo, com algumas regiões de produção demarcada, tem impacto na economia de diversos países. No caso concreto de Portugal, o seu consumo é considerável e a produção de queijo reconhecida como determinante no desenvolvimento económico de certas regiões. O crescente interesse na alimentação saudável tem conduzido a um maior consumo de queijos com menor teor calórico, entre os quais se conta, o queijo fresco tradicional português.

O processo básico de fabrico de queijos é comum a quase todos e variações na origem do leite, nas técnicas de processamento e no tempo de maturação dão origem à imensa variedade conhecida – cerca de 1000 tipos, sendo que só em França se fabricam 400 deles (Veiga, 2012). Devido ao elevado teor de humidade, valor de pH, e elevada manipulação durante o processo de fabrico, o queijo é extremamente suscetível aos fenómenos bioquímicos e microbiológicos que afetam a qualidade, rendimento e vida útil (Veiga, 2012).

O mercado oferece uma infinidade de produtos atendendo aos interesses específicos de cada consumidor, com preços variados. Os consumidores procuram qualidade e produtos mais apetecíveis e prezam pela confiança de que levam o que é especificado no rótulo (Veiga, 2012).

O consumidor tem mostrado preocupações com a qualidade e a segurança dos seus alimentos. Estas têm sofrido mudanças ao longo dos tempos, obrigando a indústria a um constante redesenhar de conceitos e tendências, de modo a acompanhar as alterações de hábitos, de preferências, da utilização de novas tecnologias e do panorama económico de cada época.

### **1.2. Caracterização da empresa**

A empresa onde decorreu o estudo designa-se Tété II- Produtos Lácteos, Lda, tem morada fiscal no concelho de Loures. É uma empresa familiar que iniciou atividade em 1960, possui cerca de 30 colaboradores sendo portanto uma PME (pequena e média empresa). Inicialmente a produção de queijo fresco ocorreu com o objetivo de escoar o leite produzido pelas vacas leiteiras de exploração da família. Foi por volta de 1985 que a empresa começou a investir numa perspectiva mais industrializada de forma a corresponder às necessidades do mercado, que começava a adquirir uma maior relevância. Ao longo dos anos, sempre aliando a tradição e inovação começaram a ser produzidos queijos frescos de outros leites, requeijão e queijo curado. Nos últimos anos, na terceira geração da família, a aposta na inovação de produto tem estado mais enraizada e ativa com o objetivo de dar resposta às exigências do mercado nacional e internacional. Mais recentemente a empresa lançou no mercado uma gama de manteigas dos três tipos de leite mais direcionado para hotelaria. O último produto lançado insere-se numa expansão do negócio e entrada no setor dos iogurtes. A Tété, em parceria com entidades externas, criou o iogurte de leite de cabra. É um objetivo da empresa a aposta na expansão para mercados diferentes e em maior volume, consolidando os clientes no continente europeu e explorando o mercado africano.

A produção é diária durante seis dias por semana, de segunda-feira a sábado. As encomendas são analisadas e transmitidas à produção mediante ordens de produção, produzindo-se as quantidades necessárias para corresponder às encomendas dos clientes e uma parte para manter em *stock* (i.e., produto armazenado).

De modo a garantir a máxima segurança e qualidade, a Tété II- Produtos Lácteos, Lda realiza análises físico-químicas e microbiológicas a todos os produtos acabados, bem como a todas as matérias-primas e embalagens, segundo um plano de inspeção e ensaio. Para o bom funcionamento da sua atividade, a empresa aposta na formação contínua dos seus trabalhadores.

### **1.3. Objetivos**

- Testar uma nova formulação de queijo fresco de leite de vaca utilizando dois conservantes de origem biológica.
- Criar documentos e procedimentos no âmbito do desenvolvimento de novos produtos para o departamento de inovação da empresa.

## - Introdução

Queijo Fresco  
Inovação  
Desenvolvimento de Novos Produtos  
Estudo de Validade

## - Materiais e Métodos

Identificação de Oportunidades e Desenvolvimento do Conceito

Pesquisa de adjuvantes biológicos

- Base de dados da empresa
- Revistas da área
- Internet

Pesquisa de referencial inovação

- Revistas da área
- Internet

Planeamento e especificação do produto

Seleção dos adjuvantes a introduzir no estudo

Estudo de validade

- Análises Microbiológicas
- Análise Sensorial

Elaboração de documentos auxiliares ao desenvolvimento de novos produtos

Desenvolvimento do Produto

Modelo de Conceção e Desenvolvimento de Novo Produto

## - Resultados e Discussão

Seleção do adjuvante biológico

Definição do prazo de validade

Aplicação do Modelo de Conceção e Desenvolvimento de Novo Produto

## -Conclusões

## - Trabalho Futuro

## **1.5. Organização da Dissertação**

A presente dissertação encontra-se estruturada em 6 capítulos.

No primeiro capítulo, Introdução, foi elaborada uma breve caracterização da empresa onde se desenvolveu o estudo, apresentaram-se os objetivos e a metodologia a adotar.

No capítulo 2, de fundamentação teórica, foi apresentado e caracterizado o produto estudado. Nas secções seguintes, foi elaborada uma revisão bibliográfica sobre as temáticas de conservação de queijo, inovação na indústria alimentar, desenvolvimento de novos produtos e estudo de vida útil de produtos alimentares.

No capítulo 3, Metodologia, descreveu-se o instrumento metodológico usado, as análises realizadas no estudo de vida útil e apresentação do modelo de desenvolvimento de novos produtos.

Segue-se o capítulo 4, Resultados e Discussão, onde se expõe o processo de desenvolvimento do novo produto. Neste capítulo foram apresentados e discutidos os resultados das análises realizadas durante o estudo de vida útil. Finaliza-se com a aplicação do modelo de desenvolvimento de novos produtos.

No capítulo 5, Conclusões gerais, são sintetizadas as principais conclusões relativas à investigação empreendida.

No capítulo 6, Trabalhos futuros, são sugeridas pistas para eventual trabalho a desenvolver, decorrente da experiência adquirida e dos resultados obtidos.

## **Capítulo 2 – Fundamentação Teórica**

### **2.1. Queijo**

#### **2.1.1. Definição**

O queijo é o produto mole, semi-rígido, duro, ou extra-duro curado ou não curado, que pode ser revestido, que resulta da coagulação total ou em parte, da proteína de leite, leite desnatado, leite parcialmente desnatado, nata, nata de soro de leite ou soro de leite coalhado, ou qualquer combinação destes, através da ação do coalho ou outros agentes coagulantes adequados, e drenando parcialmente o soro de leite resultante da coagulação (World Health Organization, Federation Agriculture Organization, 2011).

#### **2.1.2. Classificação**

Segundo a Portaria nº 73/90 o queijo pode ser classificado em:

##### **Quanto à cura:**

- **Queijo curado** – produto que só se encontra apto para consumo depois de mantido, durante certo tempo, em condições determinadas de temperatura, humidade e ventilação que permitam modificações físicas e químicas características;
- **Queijo curado pela ação de bolores** – o produto cujas características são devidas essencialmente à proliferação de bolores específicos no interior e/ou à superfície do queijo;
- **Queijo fresco** – o produto obtido por coagulação e dessoramento do leite por fermentação láctea, com ou sem adição de coalho e não submetido a um processo de cura.

##### **Quanto à composição:**

- Queijo sem adição de géneros alimentícios diferentes do queijo;
- Queijo com adição de géneros alimentícios diferentes do queijo.

##### **Quanto à consistência:**

Esta classificação é feita tendo em conta a percentagem de humidade para cada tipo de queijo, conforme indicado na Tabela 1.

Tabela 1-Classificação dos queijos quanto à consistência. (Portaria 73, 1990)

Classificação	Humidade no queijo
Extraduro	<50%
De pasta dura	De 49% a 56%
De pasta semidura	De 54% a 63%
De pasta semimole	De 61% a 69%
De pasta mole	>67%

#### Quanto à matéria gorda:

A classificação quanto a matéria gorda é feita em função da percentagem desta no extrato seco, conforme o indicado na Tabela 2.

Tabela 2-Classificação dos queijos quanto à matéria gorda. (Portaria 73, 1990)

Classificação	Matéria gorda no queijo
Muito gordo	>60%
Gordo	De 45% a 60%
Meio gordo	De 25% a 45%
Pouco gordo	De 10% a 25%
Magro	<10%

## 2.2. Queijo Fresco Tradicional Português

Antes dos anos 30 do século passado, em Portugal Continental, produziam-se queijos apenas a partir do leite de ovelha e de cabra, estando o leite de vaca direcionado para o consumo sem transformação. No entanto nos Açores, especialmente nas ilhas de São Jorge, São Miguel e Terceira,

a produção queijeira de leite de vaca já estava bastante enraizada, tendo vindo a desenvolver-se e a afirmar-se até aos nossos dias (Oliveira, 2010).

A produção de queijos de leite de vaca foi sendo alvo de um desenvolvimento crescente ao longo do tempo, principalmente ao nível de queijos de pasta semi-mole e de pouco tempo de cura. Inicialmente fabricados de forma artesanal, foram gradualmente passando para uma forma mais industrializada. O denominado queijo fresco tradicional português, como todos os outros queijos, foi produzido primeiro artesanalmente, sendo atualmente já, em grande parte, produzido de forma industrial (Oliveira, 2010).

Segundo a Norma Portuguesa 1921/1958, o queijo fresco tradicional português é definido com um produto não maturado, obtido por dessoramento lento, após a coagulação dos leites inteiro, desnatado (total ou parcialmente). Este produto tem como ingredientes essenciais o leite de vaca, cabra ou ovelha ou suas misturas, culturas bacterianas lácticas específicas e coalho ou outras enzimas coagulantes, e como ingredientes facultativos o leite em pó, nata, leitelho, proteínas do soro, sal e cloreto de cálcio (Direção-Geral da Qualidade, 1985)

O seu aspeto é uniforme, sem crosta, com uma cor branca ou branca amarelada uniforme e de consistência mole. O queijo fresco apresenta um teor de humidade entre 67 e 80%, e um teor de matéria gorda de 10 a 60% (Direção-Geral da Qualidade, 1985).

### **2.3. Processo de fabrico do queijo fresco**

Antes de se iniciar a recolha e o transporte do leite, deve-se assegurar que se dispõe de uma matéria-prima de boa qualidade. Existem vários parâmetros que podem determinar a qualidade final do leite, tais como os parâmetros de qualidade físico-químicos, de qualidade higiénica ou de qualidade organoléptica. Os parâmetros de qualidade físico-químicos são vários e podem incluir os teores de matéria gorda, de proteína, de resíduo seco, de lactose, de minerais e de vitaminas. De um modo geral, estes parâmetros determinam, o rendimento queijeiro. Os parâmetros de qualidade higiénica, para além de condicionarem a elaboração do queijo, permitem garantir a sua salubridade para consumo humano, dando uma indicação do maior ou menor grau de contaminação e/ou de adulteração. Esses parâmetros podem incluir a contagem total dos microrganismos mesófilos aeróbios, a contagem de microrganismos específicos como enterobactérias, a contagem de células somáticas, a pesquisa de inibidores, a presença de água adicionada, a mistura de leite de outras espécies ou a presença de colostro. Os parâmetros de qualidade organoléptica permitem avaliar possíveis anomalias no leite através do recurso aos sentidos, avaliando-se o aroma, o sabor, a cor ou o aspecto (Ponciano, 2010).

Conhecida a qualidade inicial do leite, existem outros aspectos que devem ser considerados, para garantir que o leite chega nas melhores condições higiénicas à queijaria. Para além da higiene durante a ordenha, devem ser consideradas as temperaturas de conservação e o tempo de armazenamento do leite (Ponciano, 2010).

### **Recolha e transporte do leite**

O leite após a ordenha deve ser arrefecido de imediato a uma temperatura não superior a 8 °C, caso a recolha do leite seja efetuada no próprio dia, ou a temperatura não superior a 6 °C, se o leite não for recolhido no dia em que é ordenhado. No entanto, estes limites de temperatura poderão ser ultrapassados se o leite for transformado nas duas horas seguintes à ordenha e se cumprir os requisitos legais microbiológicos e de resíduos de antibióticos. Segundo o Regulamento 1662/2006 enquanto o leite não é recolhido, deve ser mantido em local limpo e de modo a evitar qualquer contaminação. O local mais apropriado para armazenar o leite é num tanque de refrigeração com agitador, de modo a manter o leite homogêneo e a temperatura constante (UE, 2006).

### **Receção de leite**

Na receção do leite deve-se realizar a determinação da acidez titulável. Esta indica a percentagem de ácido láctico presente no leite, e quando existente em níveis elevados, é mais difícil obter-se um queijo de qualidade, já que este parâmetro está associado ao estado de “frescura” do próprio leite. São recomendadas ainda outras determinações complementares, como é o caso da determinação do valor pH ou a prova pelo azul-de-metileno (Ponciano, 2010).

### **Armazenamento**

A duração máxima do armazenamento do leite cru é determinada principalmente pelo crescimento dos microrganismos psicrófilos, que em determinadas quantidades, podem produzir enzimas termo-resistentes como lípases e proteases, alterando a qualidade do produto (Ponciano, 2010). O Regulamento (CE) n.º 1662/2006 refere que assim que o leite chega ao estabelecimento de transformação, deve ser arrefecido a temperatura não superior a 6°C. No entanto, pode ser conservado durante 48 horas se for mantido abaixo dos 4°C e durante 36 horas, se for conservado entre 4 °C e 6 °C (UE, 2006) (Figura 1).

### **Pasteurização**

Esta operação pode ser realizada com recurso a um pasteurizador de placas, de forma contínua (Figura 1). A etapa de pasteurização é fundamental no fabrico do queijo fresco, de forma a garantir a segurança do consumidor. Os objetivos principais desta operação são a destruição de microrganismos, a inativação de enzimas, ou provocar modificações a nível químico. Estes efeitos vão depender do binómio tempo-temperatura escolhidos para o tratamento (Ponciano, 2010). No Regulamento (CE) n.º 1662/2006 estão definidos os binómios a aplicar na pasteurização, podendo optar-se por uma temperatura elevada durante um período curto (pelo menos 72°C durante 15 segundos), por uma temperatura baixa durante um período longo (pelo menos 63°C durante 30 minutos) ou por outra combinação de binómio tempo-temperatura com um efeito equivalente (UE, 2006).

A eficácia deste tratamento é comprovada quando o leite apresenta uma reação negativa ao teste da fosfatase alcalina após a pasteurização. De notar que o tratamento térmico deve estar sujeito a registos periódicos da temperatura em impresso/ ficha própria para um controlo mais rigoroso (Ponciano, 2010).

### **Coagulação**

A etapa da coagulação do leite decorre na queijaria num tanque de coalhada (inox), após a adição de coalho de origem animal, a temperatura controlada (Figura 1).

### **Corte da coalhada**

Uma vez coagulado o leite, é necessário efetuar o corte da coalhada. Na queijaria, esta operação é efetuada manualmente com o auxílio de uma lira. A correta higienização dos utensílios, bem como um bom estado de conservação dos mesmos, associado a uma satisfatória higiene pessoal dos operadores contribuem para evitar a proliferação de microrganismos potencialmente patogénicos. Na etapa do corte da coalhada pretende-se quebrar o gel formado, aumentando a área de libertação do soro e portanto, acelerar a sinérese. O tipo e tempo de corte dão origem a diferentes tipos de queijo. No queijo fresco pretende-se um corte grosseiro da coalhada, com fragmentos da coalhada grandes, para resultar num queijo com maior teor de humidade (Ponciano, 2010) (Figura 1).

### **Dessoramento**

No queijo fresco, o simples repouso da coalhada vai ser suficiente para o dessoramento, que consiste na libertação de soro da coalhada, principalmente através da ação da gravidade. Quanto menor for a pressão exercida sobre a massa, maior a quantidade de nutrientes e água que fica retida. O soro é parcialmente escoado através de uma torneira existente na cuba e a massa é recolhida com uma peneira metálica adequada (Ponciano, 2010) (Figura 1).

### **Moldagem**

A operação seguinte é a moldagem, em que a massa da coalhada retirada da operação anterior é colocada em cinchos, para dar a forma final do queijo. Nesta fase, a massa continua em dessoramento, escoando-se através da francela (inox). A colocação nos cinchos implica algum aperto da massa, no entanto, se este for exagerado, dificilmente se obtém a consistência ideal típica do queijo fresco (Ponciano, 2010) (Figura 1).

### **Refrigeração**

A etapa de refrigeração deve ocorrer em câmaras de refrigeração, a temperaturas situadas entre os 0 °C e os 6 °C (Ponciano, 2010) (Figura 1).

## Distribuição

É fundamental um acondicionamento e proteção adequados durante o transporte. A distribuição deve ser efetuada em transporte próprio destinado unicamente a esse fim, a uma temperatura máxima de 4 °C. O queijo não deve ser manipulado diretamente com as mãos (Ponciano, 2010) (Figura 1).

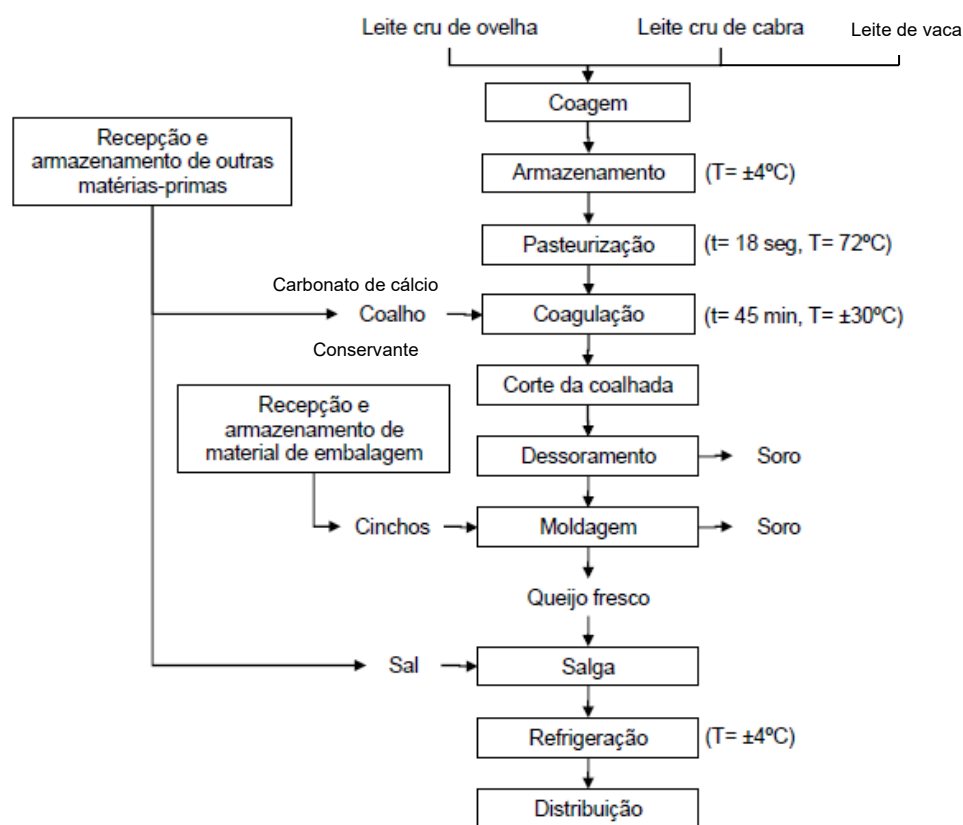


Figura 1-Fluxograma do processo de fabrico do queijo fresco (Ponciano, 2010)

### 2.4. Conceito de qualidade e segurança na produção

O fabrico do queijo obedece a regras bem definidas, podendo destacar-se o respeito pelos procedimentos de fabrico bem como o acompanhamento de procedimentos de higiene ao longo de todo o processo. A sanidade dos rebanhos, a ordenha em condições de higiene, o licenciamento das queijarias e uma boa definição de controlo do processo de fabrico são os aspetos mais importantes para garantir a segurança do produto (Valente, 2012).

A Comissão Europeia, perante a necessidade de modernizar, consolidar e simplificar a diversa legislação existente na área da segurança alimentar, procedeu à sua revisão com o objetivo de criar controlos efetivos, responsabilizando o operador pela produção de géneros alimentícios seguros. A política comunitária tem como princípios base o elevado nível de proteção da saúde humana, o recurso à análise de risco, a adoção de critérios microbiológicos e de controlo da temperatura, a elaboração e implementação de Códigos de Boas Práticas de Higiene, o controlo da higiene dos

gêneros alimentícios pelas autoridades competentes e a responsabilização de todos os operadores da cadeia alimentar na comercialização dos gêneros alimentícios.

Esta revisão da legislação deu origem, em 2004, aos regulamentos (CE) nº 852/2004 e nº 853/2004 relativos à higiene dos gêneros alimentícios e ao Regulamento (CE) nº 854/2004, relativos à atuação das autoridades de controlo oficial (UE, 2004). O Regulamento (CE) nº 852/2004 estabelece as regras gerais destinadas aos operadores das empresas do setor alimentar no que se refere à higiene dos gêneros alimentícios, tendo em consideração que eles são os principais responsáveis pela segurança dos alimentos e sublinha a necessidade de a garantir ao longo de toda a cadeia alimentar, com início da produção primária. Também indica que os procedimentos das empresas se devem basear nos princípios HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points) e Códigos de Boas Práticas (UE, 2004). O Regulamento (CE) nº 853/2004 estabelece regras específicas para os operadores das empresas do setor alimentar referentes à higiene dos gêneros alimentícios de origem animal transformados e não transformados. Pretende garantir práticas legais no comércio dos alimentos para animais e gêneros alimentícios para consumo humano defendendo os interesses dos consumidores, através da rotulagem dos alimentos para animais e gêneros alimentícios e de outras formas de informação dos consumidores (UE, 2004).

Em 2007 surgiu o Regulamento (CE) nº 1441/2007 que altera o Regulamento (CE) nº 2073/2003 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos gêneros alimentícios, no qual estão descritas as análises microbiológicas essenciais para garantir a segurança alimentar (UE, 2007).

## **2.5. Produção e Consumo de Lacticínios em Portugal e União Europeia**

### **Produção de lacticínios**

Em 36 anos (1980-2015) Portugal mais que duplicou a produção de leite, passando das 970 mil toneladas para 2 milhões de toneladas. Portugal obteve a 3.<sup>a</sup> maior taxa de variação anual homóloga da produção em 2014 e atingiu o 6.<sup>o</sup> maior volume de produção em 2015. Portugal foi sempre autossuficiente em leite no período de referência, tendo atingido o grau mais elevado (112,5%) em 2015 (INE, 2016). Em 2015 foram recolhidos em Portugal 1,9 milhões de toneladas de leite de vaca, cerca de 96% do total de leite de vaca produzido nesse ano. Tomando como referência a informação regional sobre a recolha de leite (Tabela 3) período de informação estatística disponível a partir de 2003), o Norte (bacia leiteira de Entre Douro e Minho) e a Região Autónoma dos Açores (R.A. Açores) representaram, em média, cerca de 2/3 do total nacional, entre 2003 e 2015 (INE, 2016)

Tabela 3--Produção de leite em 1000 toneladas em Portugal, dividida em regiões, entre 2003 e 2015 (INE, 2016).

	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	Média 2003/2015
	1000 t													
<b>Portugal</b>	<b>1 820</b>	<b>1 873</b>	<b>1 921</b>	<b>1 851</b>	<b>1 837</b>	<b>1 886</b>	<b>1 868</b>	<b>1 829</b>	<b>1 842</b>	<b>1 861</b>	<b>1 777</b>	<b>1 924</b>	<b>1 935</b>	<b>1 863</b>
Continente	1 311	1 366	1 404	1 328	1 313	1 353	1 310	1 276	1 276	1 277	1 223	1 268	1 305	1 309
Norte	680	722	750	716	714	733	714	698	710	711	690	715	740	715
Centro	354	353	351	325	315	323	302	281	267	261	238	239	243	296
A. M. Lisboa	63	71	69	65	74	83	77	75	75	74	66	78	77	73
Alentejo	214	220	234	223	210	215	216	221	223	231	230	235	245	224
Algarve	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
R. A. Açores	507	505	515	522	522	532	557	552	565	583	553	655	629	554
R. A. Madeira	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<b>Importância regional da recolha de leite de vaca (%)</b>														
Continente	72,0	73,0	73,1	71,8	71,5	71,7	70,1	69,7	69,3	68,6	68,8	65,9	67,4	70,2
Norte	37,4	38,6	39,1	38,7	38,9	38,9	38,2	38,2	38,6	38,2	38,8	37,2	38,2	38,4
Centro	19,5	18,8	18,3	17,5	17,2	17,1	16,2	15,4	14,5	14,0	13,4	12,4	12,6	15,9
A. M. Lisboa	3,4	3,8	3,6	3,5	4,0	4,4	4,1	4,1	4,1	4,0	3,7	4,1	4,0	3,9
Alentejo	11,8	11,8	12,2	12,1	11,4	11,4	11,6	12,1	12,1	12,4	12,9	12,2	12,7	12,0
Algarve	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
R. A. Açores	27,9	27,0	26,8	28,2	28,4	28,2	29,8	30,2	30,7	31,3	31,1	34,0	32,5	29,7
R. A. Madeira	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1

Entre 1986 e 2015, Portugal produziu em média 1,2 milhões de toneladas de produtos lácteos. Cerca de 70% do volume total de leite e produtos lácteos produzidos pela indústria nacional correspondeu a leite para consumo (INE, 2016). As variações anuais homólogas mais significativas encontradas para a produção total de produtos frescos, entre 1986 e 2015, verificaram-se nos anos de 1987 (+6,9%), 1997 (+7,3%) e 1998 (+7,1%), sendo que a maior variação negativa ocorreu em 2015 (-8,9%), resultantes fundamentalmente das variações da produção de leite para consumo. Nos produtos transformados, as variações anuais positivas mais relevantes ocorreram nos anos 1998 (+23,5%) e 2011 (+35,0%) e as negativas em 1990 (-10,6%) e 2001 (-28,1%) (INE, 2016).

Nos últimos 29 anos, a produção de leite para consumo perdeu 13% na estrutura de produção nacional, dos quais 9% foram estruturalmente absorvidos pelas produções de iogurtes e queijo (Figura 2). A produção de nata aumentou 10 vezes e em 2015 contribuía com 2% da produção nacional de leite e produtos lácteos (INE, 2016).

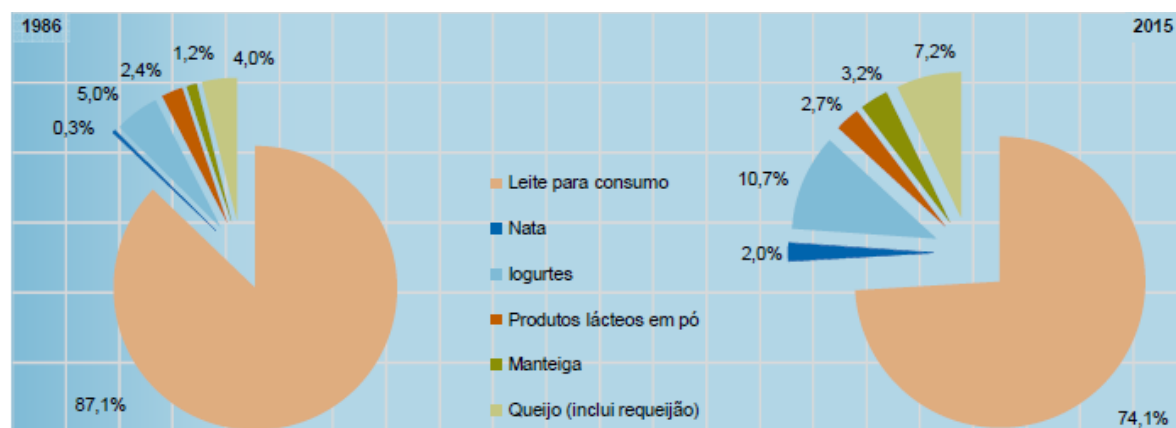


Figura 2-Representatividade da produção de leite e produtos lácteos (INE, Estatísticas da Produção e Consumo de Leite 2015, 2016).

Ao longo de 11 anos, verificaram-se alguns aumentos e quebras na produção de queijo em Portugal (Tabela 4). A primeira quebra registou-se em 2008 e 2009 e novamente em 2013. Até à data, o pico de produção de queijo verificou-se em 2015 (75,03 mil toneladas) (INE, 2016).

Tabela 4-- Produção de queijo em 1000 toneladas em Portugal entre 2005 e 2016. (INE, 2016)

Produção de Queijo	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
	66,28	66,04	69,12	66,98	65,07	68,88	72,24	71,88	69,95	73,37	73,34	75,03

Considerando agora a evolução da recolha de leite nos Estados Membros da União Europeia, a partir de 2004, verifica-se um crescimento contínuo da recolha de leite com o maior aumento a ocorrer em 2014 (+4,8% relativamente a 2013) e o máximo atingido em 2015 (151 milhões de toneladas). Em 2015 (Figura 3), cinco Estados Membros concentravam cerca de 64% do leite recolhido na UE 28: Alemanha (20,8%), França (16,8%); Reino Unido (10,0%), Holanda (8,8%) e Polónia (7,2%) (INE, 2016). Portugal representou 1,3% desse total, ocupando a 15.<sup>a</sup> posição relativamente ao volume de leite de vaca recolhido. As últimas três posições foram ocupadas pelo Luxemburgo, Chipre e Malta, que em conjunto recolheram apenas 0,3% do total de leite

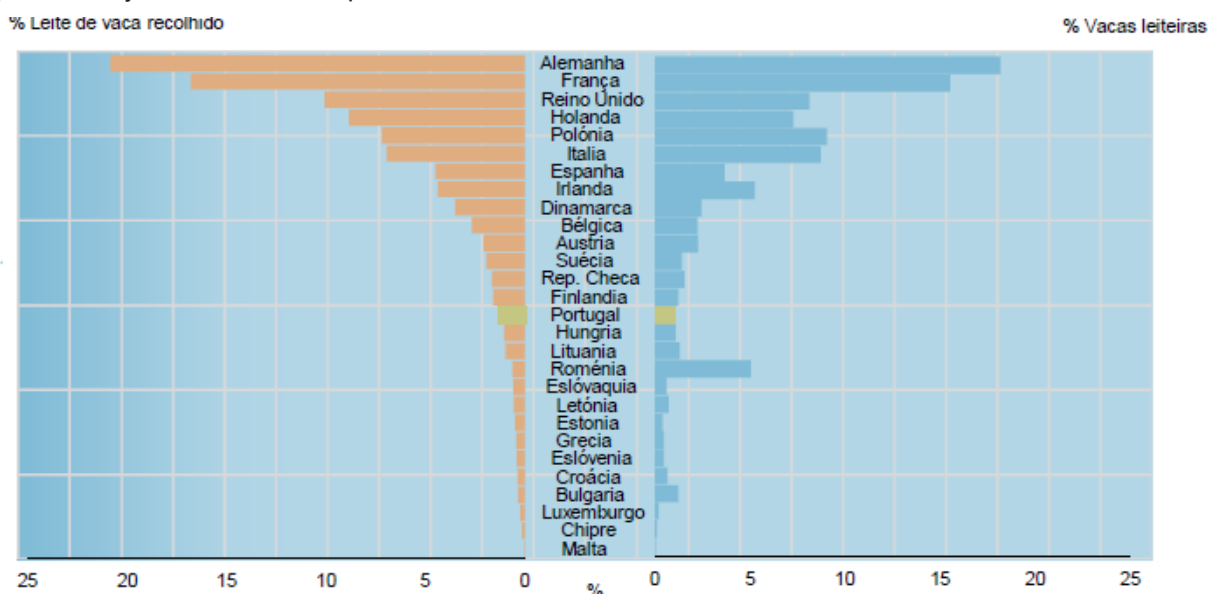


Figura 3- Estrutura da recolha de leite de vaca e do efetivo leiteiro da UE28, 2015 (Eurostat, 2017)

Conforme é possível observar na figura 4, em 2016, os países que lideravam a produção de queijo eram Espanha, França, Reino Unido, Alemanha, Polónia, Holanda, Itália e Turquia com produções de queijo na ordem das 368,9 a 1919,84 mil toneladas (Eurostat, 2017).

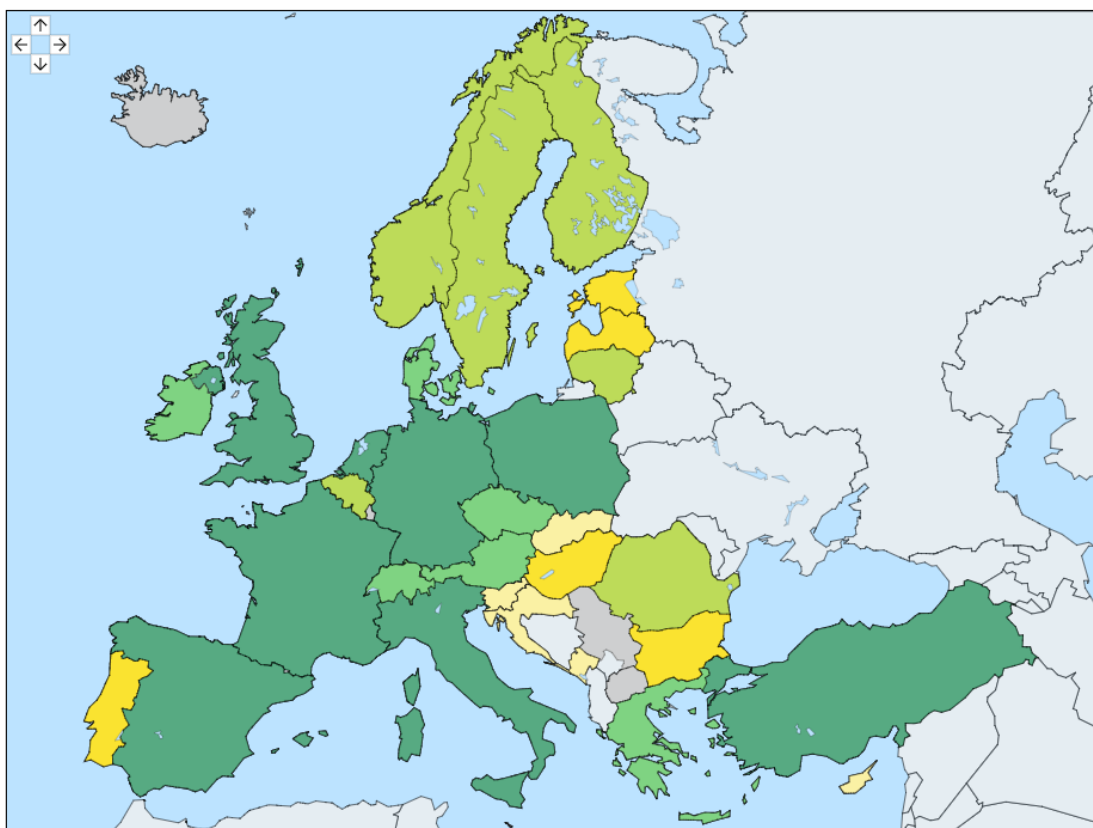
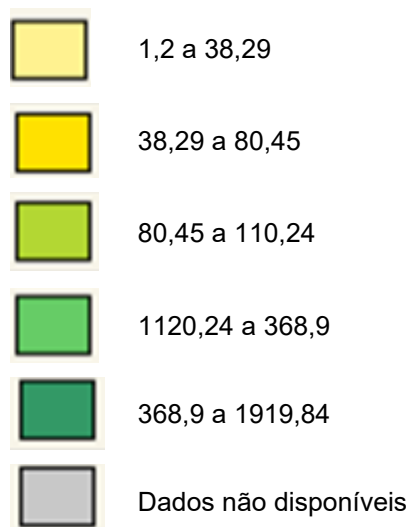


Figura 4- Produção de queijo em 1000 toneladas na Europa no ano 2016 (Eurostat, 2017)



### Consumo de laticínios

No período de 1980 a 2015, o mais baixo consumo de leite foi registado em 2015 (71 kg per capita), iniciando-se em 2001 uma tendência de redução do consumo, que se exprimiu por uma taxa média anual negativa de 2,4% (INE, 2017).

O queijo foi o único produto lácteo que apresentou marcadamente uma evolução positiva das quantidades disponíveis para consumo ao longo do período em análise, o que resultou em 27,9 g/hab/dia em 2016 (+4,6 g/hab/dia face a 2012, equivalente a +1,7 kg/hab nos cinco anos em análise) (Figura 5). Realça-se que as disponibilidades de queijo vinham a decrescer desde 2009, o que se prolongou até 2012, recuperando sustentadamente a partir de 2013 e reforçando a sua importância na estrutura das disponibilidades dos produtos lácteos em 2,1% entre 2012 e 2016 (média de 7,7% em 2012-2016) (INE, 2017)

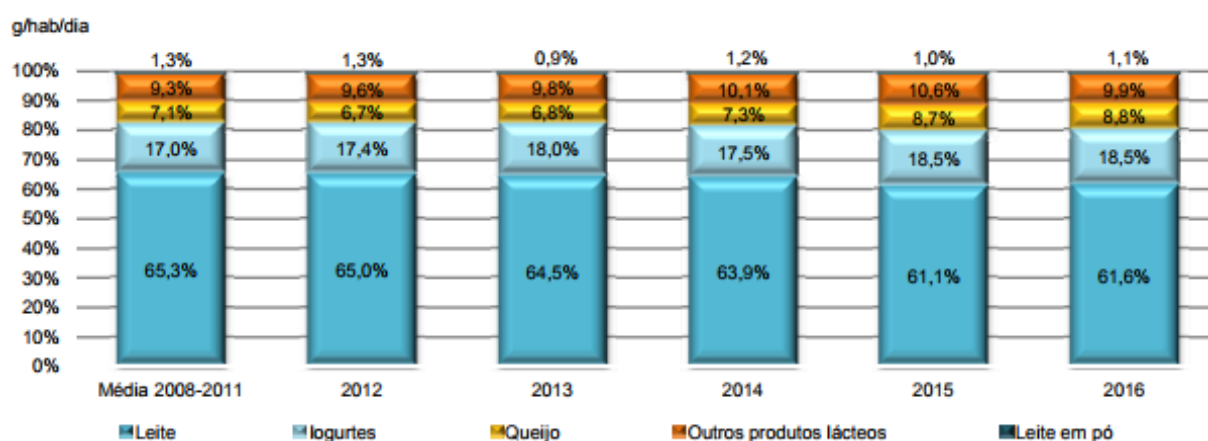


Figura 5- Estrutura das disponibilidades diárias per capita de leite e produtos lácteos de 2008 a 2016. (INE, 2017)

No período 2014 a 2017, nos países que pertencem à União Europeia, verificou-se um aumento progressivo no consumo de queijo. Observou-se uma ligeira diminuição no ano 2016, que foi ultrapassada em 2017 (tabela 5) (Eurostat, 2017).

Tabela 5-Consumos da quantidade total de queijo em 1000 toneladas e consumos per capita (kg) nos países UE (2014-2017) (Eurostat, 2017).

	2014	2015	2016	2017
Consumo doméstico (1000 toneladas)	12 263	12 532	12 428	12 651
Consumos per capita (kg)	24,7	24,7	24,6	24,8

## 2.6. Caracterização

### 2.6.1. Caracterização microbiológica

#### 2.6.1.1. Microbiota do produto

A microbiota dos queijos pode ser constituída por microrganismos benéficos ou patogénicos. A presença de microrganismos benéficos contribui para as características organolépticas, conservação e condições higieno-sanitárias do produto. A presença de microrganismos patogénicos, por sua vez,

pode ser resultante de contaminações relacionadas com higiene inadequada (Medici, Vinderola, & Perdigón, 2004).

O leite é uma fonte de bactérias do ácido láctico (BAL). Estas bactérias contribuem para o desenvolvimento das características sensoriais desejáveis do produto. Elas fermentam os hidratos de carbono, produzindo ácido, sendo consideradas as principais responsáveis pela acidificação do queijo, favorecendo a sua conservação (Medici, Vinderola, & Perdigón, 2004). As BAL são microrganismos Gram-positivos, não esporulados, catalase-negativos, desprovidos de citocromos, anaeróbios, mas aerotolerantes, ácido-tolerantes e estritamente fermentativos (Holzapfel *et al.*, 2001). Atualmente as BAL associadas a alimentos incluem espécies do género *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* e *Weissella* (Beresford, et al., 2001). Desses 11 géneros existentes, apenas cinco são encontrados frequentemente em queijos: *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* e *Leuconostoc* (Fox, et al., 2000).

Os fermentos lácticos são compostos por BAL, frequentemente designados por culturas de arranque, e de microrganismos secundários, as culturas adjuvantes (Carvalho, 2007). As culturas de arranque são responsáveis pela produção de ácido durante o fabrico do queijo e contribuem para o processo de cura, enquanto que os microrganismos secundários geralmente estão envolvidos na definição das características sensoriais do queijo (Beresford, et al., 2001; Cavalcante, et al., 2007). As culturas adjuvantes são normalmente constituídas por lactobacilos mesófilos e *Pediococcus* spp., presentes na maioria dos queijos curados. Em regra, não são capazes de se multiplicar no leite e não produzem uma quantidade de ácido que contribua para a acidificação inicial do queijo (Cogan, et al., 1997).

#### **2.6.1.2. Microrganismos de deterioração**

O leite é um excelente meio de cultura para os microrganismos devido às suas características intrínsecas como elevado  $a_w$ , valor de pH próximo do neutro e riqueza de nutrientes. Substâncias inibitórias de microrganismos, como lactoperoxidase e aglutininas, presentes no leite cru recém-ordenhado são inativadas rapidamente. A temperatura inadequada durante a preparação e conservação dos alimentos, a contaminação cruzada, equipamentos e utensílios higienizados inadequadamente e a manipulação por pessoas infetadas (assintomático ou não) são os fatores mais prováveis no processo de contaminação de queijos (Veiga, 2012).

Em queijos frescos com um valor de pH suficientemente elevado, como o queijo cottage, pode ocorrer a deterioração bacteriana por bactérias Gram-negativas, tais como *Pseudomonas* e alguns coliformes. Estes organismos podem contaminar o produto, por exemplo, através da água utilizada para lavar a coalhada. Os géneros *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Achromobacter* e *Flavobacterium* são as espécies de bactérias psicrotóficas mais preocupantes. *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas fragi* e *Pseudomonas putida* podem causar amargura, putrefação e um odor rançoso, liquefação, gelatinização e formação de muco na superfície do queijo. A espécie *Alcaligenes viscolactis* é

responsável pelo amadurecimento e desnatação no queijo cottage, enquanto que espécies psicotróficas de *Bacillus* causam amargura e defeitos proteolíticos (Royal Society of Chemistry, 2009).

Os bolores desenvolvem-se em vários ambientes, podendo ser encontrados no solo e no ar. Estes são considerados contaminantes em diversos alimentos, devido à sua presença em equipamentos de processamento de alimentos e nos locais onde estes são armazenados. Os bolores e, menos significativamente, as leveduras, crescem em meios com grandes amplitudes nos valores de temperatura e de pH, tendo a capacidade de alterar o pH da matriz alimentar de forma a favorecer o seu crescimento. A maioria dos bolores deteriorantes tem metabolismo aeróbico, pelo que o seu desenvolvimento ocorre predominantemente à superfície devido à disponibilidade em oxigénio (Royal Society of Chemistry, 2009). Apesar do crescimento de bolores na superfície de queijos ser essencial para a sua cura, estes são normalmente indesejáveis. A contaminação por bolores é normalmente desagradável à aparência pois formam manchas e libertam odores desagradáveis. Há também a possibilidade de estes produzirem micotoxinas. Os bolores normalmente envolvidos na contaminação de queijos pertencem aos géneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Fusarium*, *Monilia* e *Alternaria* (Royal Society of Chemistry, 2009).

Uma higienização eficiente é muito importante no controlo da propagação dos bolores no queijo, particularmente nas câmaras de cura. O uso de embalagem de vácuo ou atmosfera modificada ajuda a prevenir a contaminação por bolores, porém estes podem crescer em bolsas de ar formadas no inadequado embalamento ou em embalagens danificadas (Royal Society of Chemistry, 2009).

As leveduras podem deteriorar queijos frescos, durante o seu armazenamento, resultando na produção de gás e de odores desagradáveis (*off-flavours*). Estas também podem proliferar na superfície de queijos curados, especialmente se a superfície ficar húmida. As leveduras mais frequentes na contaminação dos queijos são *Candida* spp., *Yarrowia lipolytica*, *Pichia* spp., *Kluyveromyces marxianus*, *Geotrichum candidum* e *Debaryomyces hansenii* (Royal Society of Chemistry, 2009).

### **2.6.1.3. Microrganismos Patogénicos**

O registo de segurança do queijo é relativamente bom considerando as quantidades que são consumidas em todo o mundo. No entanto, tem havido um número de surtos graves, bem documentados, de doença de origem alimentar associados ao queijo. Os surtos mais graves têm sido causados por *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. e *Escherichia coli* enteropatogénica (EPEC). Os queijos produzidos a partir de leite cru estão associados a um maior risco, uma vez que podem ser contaminados por patogénicos presentes inicialmente no leite. Se o controlo da higiene e processamento forem insuficientes pode haver contaminação do queijo (Royal Society of Chemistry, 2009).

As características das variedades de queijo influenciam a potencial presença e sobrevivência de patogénicos. A temperatura do processo e armazenamento, a produção de ácido e a adição de sal

são fatores importantes. Em queijos com elevado valor de  $a_w$  verifica-se maior sobrevivência e crescimento de patógenos do que nos queijos duros (Royal Society of Chemistry, 2009).

### ***Listeria monocytogenes***

*Listeria monocytogenes* é um agente patogénico psicotrófico, ubíquo no ambiente, e também pode ser encontrada no leite cru. Por conseguinte, pode entrar no processo de queijo por uma variedade de vias, particularmente onde os procedimentos de higiene não são eficazes. Os queijos curados são especialmente vulneráveis a recontaminação e crescimento de microrganismos. Este facto deve-se ao desenvolvimento de bolores sobre a superfície aumenta o valor de pH de cerca de 5,0 até 6,0-7,0. Isto, combinado com o teor de humidade elevado e temperatura das salas de cura (8-12 °C), cria condições para um rápido crescimento de *L. monocytogenes* (Royal Society of Chemistry, 2009).

O Regulamento No 2073/2005, definiu critérios microbiológicos para *L. monocytogenes* em alimentos pronto-a-consumir. Se *L. monocytogenes* for detectada em alimentos prontos-a-consumir, tem de se testar as amostras. O limite legal é '100 UFC/g' ou 'ausência em 25g' dependendo da categoria do alimento e o número de amostras (UE, 2005)

### ***Enterobacteriaceae***

*Enterobacteriaceae* são um grupo de bactérias que incluem espécies originárias de plantas, do ambiente e do trato intestinal de animais e humanos. Este grupo inclui espécies patogénicas como *E.coli*, *Salmonella*, *Shigella* e *Yersinia* e outros responsáveis pela deterioração dos alimentos como *Citrobacter freundii*, *Klebsiella* spp, *Providencia rettgeri*, *Enterobacter agglomerans*. Resultados insatisfatórios podem indicar matéria-prima de má qualidade, processamento térmico inadequado, contaminação cruzada, higienização inadequada e/ou controlo de tempo/temperatura deficiente (Food Safety Authority of Ireland, 2016).

### ***Escherichia coli***

*Escherichia coli* é uma das causas de gastroenterite em humanos, mas o seu crescimento é geralmente inibido pela acidez e valor de pH (Royal Society of Chemistry, 2009). Estirpes de *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), tais como *E. coli* O157: H7, são patogénicos emergentes importantes e podem causar infeções graves e mortes em jovens e idosos. *E. coli* O157: H7 é considerada um agente patogénico de alto risco potencialmente presente no queijo, devido à sua invulgar capacidade de tolerar baixos valores de pH por longos períodos e a sua associação ao leite não pasteurizado. Tem sido demonstrado que sobrevive ao processo de fabrico dos queijos. Considerando-se a dose infecciosa relativamente baixa, é surpreendente que tenha havido poucos surtos associados ao queijo (Royal Society of Chemistry, 2009).

Contagens de *E. coli* <20 cfu/g são consideradas satisfatórias. Resultados insatisfatórios, podem indicar matéria-prima de má qualidade, contaminação fecal de produtos crus, processamento térmico inadequado, contaminação cruzada, higienização inadequada, e/ou controlo tempo/temperatura deficiente (UE, 2005).

### ***Salmonella spp.***

*Salmonella* pode ser isolada do leite proveniente de animais infetados, mas não sobrevive à pasteurização. No entanto, *Salmonella* é bastante resistente a outros fatores ambientais, e, em queijo fabricado com leite cru, pode sobreviver ao longo do processo e estar presentes no produto acabado. Esta pode ser um contaminante pós-pasteurização, se o processo não for controlado adequadamente. Se a produção de ácido láctico durante o fabrico for lenta, a *salmonella* pode crescer durante o fabrico, e foi demonstrado que pode sobreviver por mais de 60 dias em alguns queijos (Royal Society of Chemistry, 2009).

### ***Staphylococcus aureus***

Normalmente encontra-se *Staphylococcus aureus* em baixo número no leite cru. Isto pode dever-se à contaminação da superfície do úbere durante a ordenha, e / ou contaminação do leite do gado com mastite estafilocócica subclínica. *Staphylococcus aureus* é capaz de tolerar sal e acidez moderada, e pode multiplicar-se durante o fabrico de queijo e cura de queijos de pasta mole. Pode sobreviver por longos períodos, mesmo em queijos curados, e desta forma a libertar enterotoxinas. Estas persistem durante vários meses, mesmo depois das células terem perdido viabilidade (Royal Society of Chemistry, 2009). O risco pode ser facilmente controlado por armazenagem de leite cru, a temperaturas que impedem o crescimento de estafilococos, seguido de pasteurização e higiene pós-processamento adequada para evitar a recontaminação (Royal Society of Chemistry, 2009).

Contagens de estafilococos coagulase positivos inferiores a 10 ufc/g em queijos produzidos com leite sujeito a pasteurização, são consideradas satisfatórias (UE, 2005).

### **2.6.2. Caracterização Sensorial**

A análise sensorial é um estudo sistemático das respostas humanas às propriedades físico – químicas dos alimentos. Este estudo compreende a definição e medida dos atributos de um produto que são percebidos pelos sentidos e denominam-se de características sensoriais. Estas podem ser detectadas por um ou mais sentidos (Fox & McSweeney, 1998).

A cor é uma característica muito importante dos alimentos funcionando, principalmente, como o primeiro índice de qualidade. A cor dos produtos lácteos tem origem, principalmente, em pigmentos lipossolúveis, os carotenoides, obtidos a partir da dieta animal, uma vez que os animais não os sintetizam. Os carotenoides, pigmentos secundários envolvidos na fotossíntese, são utilizados como provitamina A e armazenados nos tecidos animais, sendo a cor amarelada dependente do teor absorvido de pigmentos. No caso das vacas, estes pigmentos podem ser transferidos do tecido adiposo para o leite, permitindo que os seus produtos sejam mais amarelos que os de cabra e ovelha, que são mais brancos. (Fox & McSweeney, 1998; Fox, et al., 2000; Fuquay, Fox, & McSweeney, 2011). A exposição à luz induz a degradação de lípidos, proteínas e vitaminas, causando a mudança de cor, que prejudica a qualidade do produtos e a sua comercialização (Nollet & Toldrá, 2010).

O odor é a percepção do nariz às substâncias voláteis libertadas pelos alimentos, sendo um odor característico compostos por diferentes componentes (Canada, 2001); (Clark, et al., 2009).

O sabor é percebido pelas papilas gustativas da língua, existindo quatro sabores fundamentais: doce, ácido, salgado e amargo. O sabor é dependente do tempo, uma vez que uns percebem-se mais rapidamente que outros e podem apresentar persistências diferentes (Canada, 2001; Clark, et al., 2009). O *flavour* está diretamente relacionado com os sentidos do gosto e do odor, tendo uma grande importância na avaliação sensorial, sendo o principal componente do sabor. Esta propriedade consiste na percepção das substâncias aromáticas de um alimento, depois de este estar na boca (Canada, 2001; Clark, et al., 2009).

A textura é uma propriedade extremamente complexa, constituída por diferentes parâmetros interrelacionados entre si. Nos alimentos, os atributos de textura desempenham um papel importante nas decisões de compra e consumo, sendo um dos atributos dominantes na preferência dos consumidores (Gunasekaran & Ak, 2003). Textura é definida como o conjunto das propriedades reológicas e atributos estruturais de um alimento percebidos por meios mecânicos, tácteis e os receptores auditivos e visuais. As propriedades do queijo que contribuem para a sua textura são divididas em três categorias: mecânicas, relacionadas com a reação do produto a uma pressão, que compreendem a dureza, dimensão, viscosidade, elasticidade e aderência; geométricas, relacionadas com a dimensão, forma e arranjo das partículas no queijo; e de superfície, relacionadas com as sensações, tais como as que são produzidas na cavidade bucal por água e/ou gorduras (Alvarenga, 2000; Fox, et al., 2000; Gunasekaran & Ak, 2003).

A textura do queijo depende da composição química e da força das interações entre os elementos estruturais que compõem a sua micro e macroestrutura. As propriedades físicas são influenciadas pela composição inicial do leite, processo tecnológico e condições de maturação (Fox, et al, 2000; Gunasekaran & Ak, 2003). Segundo Lawrence, Creamer, & Gilles, (1987), a textura de um queijo é determinada pelo seu valor de pH e pela relação caseína / humidade. As características da textura sofrem modificações significativas ao longo da cura por ação de diversos fatores, nomeadamente, o desenvolvimento e atividade microbiológica, perda de humidade, atividade enzimática e difusão do sal. A textura do queijo é, por isso, o resultado da organização estrutural dos seus componentes e das alterações que estes sofrem durante a proteólise (Fox, et al, 2000; Gunasekaran & Ak, 2003). Estudos efetuados em queijos com diferentes níveis de gordura, mostraram que quando o teor de gordura diminui, aumenta a dureza e a elasticidade, diminuindo a adesividade e a coesividade (Jesus, 1994). A extensão da proteólise, a percentagem de água, proteína, gordura e sal afetam a textura, permitindo obter diferenças entre os diversos tipos de queijo (Fox, et al., 2000).

A análise sensorial em queijos tem como principais objetivos avaliar a sua qualidade, caracterizar queijos durante o desenvolvimento do produto e testar a sua aceitação pelo consumidor. No entanto, nem sempre as características desejadas pelos consumidores se correlacionam com as avaliadas pelos provadores treinados (Fox, et al, 2000; McSweeney, 2007).

Para determinar o perfil sensorial de um queijo, bem como, a influência de mudanças individuais durante o processamento nas características sensoriais, o método mais adequado é o de análise descritiva. Esta análise consiste na quantificação e intensidade de diferentes descritores, nomeadamente, a identificação de sabores, aromas, texturas, entre outras qualidades (Huri, 1993; Fox, et al., 2000; Drake, 2007). No entanto, os termos utilizados para descrever as características de textura, aparência e sabor foram definidos e padronizados de forma objetiva, para que se utilizem termos semelhantes em diferentes avaliações sensoriais (McSweeney, 2007). Esta análise deve ser realizada por um painel de provadores apto para descrever as características do queijo e quantificar os atributos sensoriais de forma adequada, sendo capazes de marcar individualmente a intensidade de cada característica, numa escala linear com um extremo inferior e outro superior. Para atingir um bom nível de objetividade e reprodutibilidade, é necessário um treino intensivo dos provadores com diversos tipos de queijos, isto é, sujeitos a diferentes processamentos, matérias – primas, fases de maturação, entre outros. Desta forma, é possível o desenvolvimento de produtos inovadores (McSweeney, 2007).

### **2.6.3. Composição nutricional**

A composição nutricional do queijo é determinada por diferentes parâmetros, incluindo o tipo de leite (espécie, tipo de alimentação, fase de lactação e teor de gordura), condições de fabrico e cura. O queijo é, basicamente, um concentrado dos nutrientes que se encontram no leite (Oliveira, 2010).

O queijo é um bom fornecedor de proteínas de alto valor biológico, ou seja, proteínas constituídas por aminoácidos essenciais em quantidades adequadas ao organismo. O teor de proteína varia conforme o tipo de queijo. A fracção proteica predominante no queijo é a caseína, incluindo  $\alpha$  – caseína,  $\beta$  – caseína,  $\kappa$  – caseína entre outras (Oliveira, 2010).

A quantidade de hidratos de carbono é reduzida, sendo principalmente composta pelo dissacarídeo lactose (Oliveira, 2010).

O teor em gordura de queijo é o principal responsável pelo seu *flavour* e textura, contribuindo decisivamente para a preferência dos consumidores. No entanto, é de realçar a presença importante de ácidos gordos saturados e colesterol, pelo que deve existir alguma preocupação com o consumo de certos queijos, devendo este alimento ser integrado numa dieta equilibrada (Oliveira, 2010).

O queijo é ainda um alimento rico em vitaminas lipossolúveis, como as vitaminas A, D, E, e K. Os sais minerais são também uma parte importante da sua constituição, sendo uma fonte importante de cálcio e fósforo. O queijo é um alimento bastante palatável e de digestão fácil (Oliveira, 2010).

A composição do queijo varia de acordo com o tipo de matéria prima utilizada. Leite com maior percentagem de matéria gorda, além de propiciar melhor produto, dará também maior rendimento,

pois há uma estreita relação entre a matéria gorda e a caseína, sendo esta, a base dos queijos (Oliveira, 2010). A Tabela 6 apresenta a composição do leite de algumas espécies.

Tabela 6-Composição geral do leite de algumas espécies produtoras (Oliveira, 2010)

Espécie	Sólidos totais	% Gordura	% Proteína	% Lactose	Cinza
Vaca	12,7	3,7	3,4	4,8	0,7
Ovelha	19,3	7,4	4,5	4,8	1
Cabra	12,3	4,5	2,9	4,1	0,8

Os sais minerais são também uma parte importante da sua constituição, sendo uma fonte de cálcio e fósforo. Os minerais são fundamentais tanto no aspeto nutricional quanto no tecnológico, onde a maioria dos minerais que são considerados ser essenciais para a dieta humana estão presentes no leite (Oliveira, 2010).

Existem ainda, vários oligoelementos, presentes em quantidades mínimas, cujos teores podem variar muito, segundo as condições de produção de leite. Os principais oligoelementos são o zinco, ferro, iodo, molibdénio, flúor, selénio e cobalto (Oliveira, 2010). Pode ser observada a composição nutricional média do queijo fresco na Tabela 7.

Tabela 7-Composição nutricional do queijo fresco (Oliveira, 2010).

<b>Factos Nutricionais</b>	
Quantidade: 100 g	
	por dose
Kilojoules	607 kJ
Calorias	145 kcal
Proteínas	11,99 g
Carboidratos	5,41 g
Açúcar	0,33 g
Lípidos	8,33 g
Lípidos Saturados	5,186 g
Lípidos Monoinsaturados	2,436 g
Lípidos Poliinsaturados	0,274 g
Colesterol	33 mg
Fibras	0 g
Sódio	132 mg
Potássio	132 mg

## 2.7. Conservação do queijo

### 2.7.1. Extensão do tempo de vida útil

Existem muitas medidas de controlo microbioestáticas que interferem com os mecanismos de homeostasia dos microrganismos, mecanismos estes que lhes garante a sobrevivência em condições de stresse ambiental. As medidas de controlo de microrganismos atuam ao reduzir a carga

microbiana, por exemplo através da inativação ou remoção dos mesmos. Algumas medidas de controlo microbiostáticas também têm efeitos microbicidas, muitas vezes dependem do grau da intensidade à qual são aplicadas por exemplo, redução do valor de pH, refrigeração, congelação, conservantes antimicrobianos (Valero, Carrasco, & Garcia-Gimeno, 2012).

A pasteurização e outros tratamentos térmicos têm sido tradicionalmente utilizados como medidas de controlo microbicidas chave no fabrico de lacticínios. Estes tratamentos térmicos que possuem uma eficiência equivalente á pasteurização são aplicados em tais intensidades (tempo suficiente / combinações de temperatura) que praticamente eliminam os patogénicos (Valero, Carrasco, & Garcia-Gimeno, 2012). Exemplos de outros processos tecnológicos microbicidas são a centrifugação, a esterilização comercial, o tratamento com energia eletromagnética, o tratamento de alta pressão, a microfiltração, a luz pulsada de alta intensidade e os ultra sons (Valero, Carrasco, & Garcia-Gimeno, 2012).

O tratamento de alta pressão (TAP) na gama de 200-700 MPa é uma tecnologia de processamento não térmica capaz de prolongar o prazo de validade de vários produtos alimentares. Equipamentos para produção de produtos que passam pelo tratamento de alta pressão estão disponíveis comercialmente hoje em dia, tendo-se verificado um rápido aumento no número de unidades instaladas durante os últimos 10 anos. A aplicação de altas pressões pode causar a inativação de parasitas, células de origem vegetal, microrganismos vegetativos, alguns esporos fúngicos, muitos vírus transmitidos por alimentos e inativação de enzimas. Este processo pode alterar a conformação de macromoléculas. Moléculas de dimensão menor geralmente não são afetadas. Os resultados de estudos realizados mostram que os queijos que sofreram o tratamento apresentaram uma vida útil de cerca de 19 a 21 dias quando armazenados a 4 ° C, enquanto o queijo controlo tornou-se inseguro ao fim de 7 a 8 dias. Por outro lado, o queijo tratado a 500 MPa era mais firme e mais amarelo do que o não tratado (Valero, Carrasco, & Garcia-Gimeno, 2012).

No que diz respeito ao método de conservação embalagem, destacam-se as embalagens ativas, revestimentos e filmes com substâncias antimicrobianas e embalagens feitas a partir de biomateriais (Robertson, 2009).

As principais técnicas de embalagem ativa incluem a introdução de substâncias que absorvem humidade, oxigénio, dióxido de carbono, etileno, aromas e odores ou libertam dióxido de carbono, agentes antimicrobianos, antioxidantes e sabores (Robertson, 2009). Os sistemas de embalamento ativo mais importantes incluem a introdução de substâncias antimicrobianas. Independentemente da técnica utilizada para incorporação, os sistemas de embalagem antimicrobiana são divididos em duas categorias principais: aqueles em que o agente antimicrobiano migra da embalagem para o alimento e aqueles em que a substância antimicrobiana permanece imobilizada no material de embalagem (Robertson, 2009).

O filme comestível tem sido usado para prolongar a vida útil do queijo curado ao longo de vários anos. Os biopolímeros presentes no filme podem ser proteínas, polissacarídeos (hidratos de carbono

e gomas), lípidos, ou uma mistura destes. Plastificantes e outros aditivos são combinados com os biopolímeros para modificar as propriedades físicas ou outras funcionalidades dos filmes. As proteínas constituintes dos biopolímeros utilizadas na formação de filmes podem ser a caseína, proteína de soro de leite, glúten de trigo; os polissacarídeos podem ser o amido, amido modificado, celulose modificada, alginato, carragenina, quitosano, goma gelana, quitooligossacarídeos; e por último os lípidos (óleo de girassol, ceras (cera de abelha)). Como plastificantes temos o exemplo da glicerina, propilenoglicol, sorbitol, sacarose, polietilenoglicol, xarope de milho e água. Como exemplo de aditivos funcionais temos os antioxidantes, substâncias antimicrobianas, nutrientes, nutracêuticos, produtos farmacêuticos, aromas, corantes que têm sido utilizados para prolongar a vida útil dos queijos. Estes protegem da deterioração física, química e biológica. A aplicação destes filmes pode melhorar a resistência física dos produtos alimentares, reduzir a agregação de partículas e melhorar o aspecto visual e tátil na superfície do produto. Estes podem proteger produtos contra a formação de humidade, crescimento microbiano na superfície, alterações químicas induzidas pela luz e oxidação de nutrientes (Robertson, 2009).

Por último, outro método utilizado na conservação do queijo é o embalamento com atmosfera modificada. A manutenção da qualidade do queijo durante o armazenamento requer proteção contra a desidratação e a redução de microrganismos indesejáveis, especialmente os patogénicos. A proteção contra a desidratação pode ser conseguida utilizando filmes com baixa transmissão de vapor de água, semi-barreira (polipropileno, polietileno de baixa densidade) ou filmes barreira (alumínio, cloreto de polivinilideno, cloreto de polivinilo, polipropileno, polietileno de alta densidade). A utilização de embalamento em atmosfera modificada pode reduzir os níveis de contaminação microbiana, tendo em conta as características sensoriais e sua evolução ao longo do tempo de armazenamento. Existem efeitos adversos do monóxido de carbono nas características sensoriais. O potencial da atmosfera modificada para prolongar a vida útil do queijo tem sido claramente demonstrado. No entanto, o embalamento do queijo é dependente do tipo de queijo e da cultura de arranque usada durante o fabrico, parâmetros muito importantes para a decisão de utilização desta tecnologia (Robertson, 2009).

### **2.7.2. Extensão do tempo de vida útil: métodos biológicos**

A bioconservação pode ser definida como o prolongamento do tempo de prateleira e garantia da segurança alimentar através da utilização de microbiota natural ou controlada e dos seus compostos antimicrobianos. Uma das formas mais comuns da bioconservação é a fermentação, um processo de crescimento microbiano nos alimentos que faz parte do processo de fabrico. As culturas de arranque podem ser definidas como preparações de um ou mais sistemas de microrganismos que são aplicados para dar início ao processo de fermentação. As bactérias utilizadas são selecionadas dependendo do tipo de alimento com o objetivo de afetar positivamente a composição física, química e biológica dos alimentos, providenciando características organolépticas agradáveis para o consumidor. Para serem consideradas culturas de arranque, estas devem ter o estatuto GRAS (reconhecidas como seguras pela comunidade científica) e não possuírem um potencial patogénico

ou toxicológico. A sua utilização, deve ser ainda, standardizada e reprodutível. A mesma cultura deve ser utilizada em diferentes produtos e condições (Ananou, et al., 2007).

As bacteriocinas produzidas por BAL têm muitas características que as tornam candidatas adequadas para o seu uso como conservantes de alimentos, nomeadamente, a sua natureza proteica, que leva à sua inativação por enzimas proteolíticas do trato gastrointestinal; não provocarem efeitos adversos em animais de laboratório testados; serem inativas contra células eucarióticas; serem geralmente termorresistentes (podem manter a atividade antimicrobiana após a pasteurização e esterilização); apresentarem ampla atividade bactericida que afeta a maioria das bactérias Gram-positivas e algumas bactérias Gram-negativas, incluindo vários patógenos, como *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *S. aureus* e *Salmonella*.; a sua produção ser codificada por determinantes genéticos geralmente localizados em plasmídeos, o que facilita a manipulação genética para aumentar a variedade de análogos peptídicos naturais com características desejáveis. Por estas razões, as bacteriocinas têm, nos últimos anos, atraído o interesse para a sua utilização como bioconservantes em alimentos (Ananou, et al., 2007).

Dentro das potenciais aplicações de bacteriocinas no leite e produtos lácteos destacam-se, no que diz respeito à matéria-prima, a redução do crescimento microbiano no leite cru e a inativação de bactérias mesofílicas no leite em combinação com outras tecnologias. Quanto aos produtos fermentados estas permitem a inibição da formação de gás por *C. tyrobutyricum* em queijos semi-duros e duros; inibição de bactérias patogénicas (*L. monocytogenes*, *B. cereus*, *S. aureus*) no queijo e na superfície; inativação de bactérias mesofílicas e formadores de endósporos em queijo em combinação com tratamento de alta pressão; controlo da acidificação em iogurte e outros produtos fermentados. Em produtos processados estas são utilizadas na inibição de formadores de endósporos (principalmente, *C. botulinum*) em queijo processado e outros produtos lácteos processados, bem como na inibição de *L. monocytogenes* em produtos lácteos em contaminação pós-fabrico (Gálvez, et al., 2008). Algumas espécies, nomeadamente estirpes de *Lactobacillus casei*, destacam-se, também, pelo facto de possuírem atividade antimicrobiana contra microrganismos patogénicos, contaminantes e deteriorantes em alimentos (Schwenninger, et al., 2005; Calderón, et al., 2007).

A proliferação de BAL em queijo é frequentemente acompanhada pela produção de compostos texturizantes, tais como exopolissacáridos, que melhoram as propriedades reológicas de produtos lácteos fermentados (isto é, viscosidade e textura). Estas produzem também, ácidos orgânicos, compostos carbonílicos e hidrolisam parcialmente proteínas e / ou gorduras, melhorando a qualidade sensorial do produto. Além disso, as BAL podem produzir vários compostos promotores de saúde, como vitaminas, antioxidantes e peptídeos bioativos. Finalmente, estas enquadram-se nos microrganismos probióticos, tendo propriedades terapêuticas e organolépticas em leites fermentados (Favaro, Penna, & Todorov, 2015).

Embora várias bacteriocinas das BAL tenham sido caracterizadas até o momento, o seu uso como conservantes em alimentos ainda é muito limitado devido a várias barreiras tecnológicas ou legislativas. Várias bacteriocinas podem ter aplicações potenciais em alimentos, mas atualmente não são aprovadas como aditivos antimicrobianos. As bacteriocinas mais estudadas são a nisina e a pediocina PA-1, ambas com aplicações comerciais na indústria alimentar (tabela 8) (Favaro, Penna, & Todorov, 2015).

Tabela 8- Aplicação de diferentes estirpes consoante o tipo de queijo e o microrganismo alvo (Favaro, Penna, & Todorov, 2015)

Tipo de queijo	Estirpe	Microrganismo alvo
Cheddar	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>L. monocytogenes</i>
Pasta mole	<i>E. faecium</i> FAIR-E 198 <i>E. faecium</i> ST209GB, ST278GB, ST315GB, ST711GB <i>Streptococcus thermophilus</i> ACA-DC 0040	<i>L. innocua</i> <i>L. monocytogenes</i> , <i>L. innocua</i> , <i>Listeria ivanovii</i> subsp. <i>Ivanovii</i> <i>Clostridium sporogenes</i> , <i>Cl. tyrobutyricum</i>
Pasta semi-dura	<i>Streptococcus macedonicus</i> ACA-DC 198 <i>Lb. paracasei</i>	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Cl. tyrobutyricum</i> <i>Clostridium</i> spp.
Pasta dura	<i>Lb. mesenteroides</i> , <i>Lb. paracasei</i> <i>subsp. paracasei</i> , <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> <i>Lb. plantarum</i> LCN 17, <i>Lb. rhamnosus</i> LCN 43 <i>Lc. lactis</i> <i>E. faecium</i>	Fungos, <i>L. monocytogenes</i>  <i>L. monocytogenes</i> <i>S. aureus</i> , <i>L. monocytogenes</i> <i>Cl. tyrobutyricum</i> , <i>L. monocytogenes</i>
Pasta semi-dura cabra	<i>E. faecalis</i> , <i>E. hirae</i> , <i>E. avium</i> <i>Lb. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>	<i>E. faecalis</i> , <i>L. innocua</i> <i>Salmonella enteritidis</i>
Queijo Fresco	<i>Lc. lactis</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i>  <i>Lc. lactis</i> MMT24	<i>Brochothrix thermosphacta</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>S. aureus</i> <i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i>

A nisina foi a primeira bacteriocina a ser descoberta há cerca de 70 anos atrás. Sendo produzida por estirpes de *Lactococcus lactis* GRAS (Favaro, Penna, & Todorov, 2015). Sem dúvida, é a bacteriocina mais estudada, e de maior amplitude de aplicação na indústria alimentar. A nisina foi reconhecida como GRAS pela FAO / OMS em 1969. A FAO / OMS permitiu a utilização da nisina como aditivo alimentar para queijos processados numa concentração de 12,5 mg (como nisina pura) por quilograma de produto. A nisina é inócua, sensível a proteases digestivas e não influencia as propriedades sensoriais dos produtos alimentares (Favaro, Penna, & Todorov, 2015). Esta é utilizada

como aditivo alimentar em pelo menos 48 países, particularmente em queijos processados, produtos lácteos e alimentos enlatados. É listada como E-234, e também pode ser citada como conservante natural (Ananou, et al., 2007). A nisina é ativa contra as bactérias Gram-positivas, incluindo, lactococos, bacilos, micrococos, *S. aureus*, *L. monocytogenes* e *Clostridium botulinum*, mas apresenta pouca ou nenhuma atividade contra bactérias Gram-negativas, leveduras e fungos (Jalilzadeh, Tunçturk, & Hesari, 2015). Foi demonstrado o efeito da nisina contra bactérias patogénicas como *C. botulinum* e *L. monocytogenes* em queijos como o Camembert, Ricotta, e Manchego (Ananou, et al, 2007).

Diversas bacteriocinas têm sido testadas no leite e derivados, como a pediocina AcH no leite e queijos Cheddar e Munster contra *L. monocytogenes*, *S. aureus*, e *E. coli* O157:H; lacticina 3147 com atividade contra lactobacilos indesejáveis, *L. monocytogenes* e *B. cereus* nos queijos Cheddar e Cottage e iogurte; e enterocina AS-48 contra *B. cereus*, *S. aureus* e *L. monocytogenes* no leite e queijo Manchego (Ananou, et al., 2007).

A adição de conservantes no processamento do queijo podem ajudar a retardar as alterações causadas pelo crescimento de microorganismos, mantendo as propriedades físicas, composição química e valor nutricional originais. Se forem utilizados conservantes, o controlo deve ser exercido para evitar o mau uso ou uso desnecessário destes. A pimenta verde, o ácido sórbico, o benzoato de sódio, o ácido benzoico, o peróxido de hidrogénio, a nisina, a natamicina e o quitosano têm sido usados para prolongar a vida de prateleira do queijo (Jalilzadeh, Tunçturk, & Hesari, 2015).

A natamicina é um fungicida e pertence aos antibióticos poliénicos, produzidos pela fermentação aeróbia de *Streptomyces natalensis* e espécies afins. É geralmente utilizada na indústria alimentar, especialmente em produtos lácteos (queijo) para prevenir o crescimento de bolores e leveduras. A EFSA reviu a sua utilização, concluindo que, dado que a natamicina é mal absorvida, existe uma margem de segurança adequada nas suas aplicações atuais e não existe preocupações relativamente à indução de resistência microbiana (Jalilzadeh, Tunçturk, & Hesari, 2015).

Foram investigados os efeitos da pimenta verde, ácido sórbico, benzoato de sódio e ácido benzóico e de peróxido de hidrogénio nas contagens totais de bactérias e lactobacilos e na destruição de bactérias coliformes no queijo. Observaram-se variações de acordo com o tipo e quantidade de conservante, em queijo em salmoura durante o armazenamento durante 12 semanas a 10 ° C. Também foram verificados efeitos sobre a acidez, o valor de pH e produção de ácidos gordos livres no queijo. De acordo com este estudo, não houve efeitos sobre o rendimento, teor de humidade e gordura. Observaram-se contagens de lactobacilos mais numerosas em queijos não tratados do que em queijo com conservante adicionado. O peróxido de hidrogénio e a pimenta verde não retardam o crescimento de lactobacilos, enquanto o ácido sórbico foi menos eficaz do que o benzoato. O peróxido de hidrogénio e pimenta verde destruíram a maior parte das bactérias coliformes. Foram detetadas quantidades de ácidos gordos livres mais elevadas no queijo não tratado do que no queijo

com adição de pimenta verde e menor no queijo com adição de peróxido de hidrogénio. No entanto o queijo com pimenta verde tinha melhor sabor, corpo e textura (Jalilzadeh, Tunçturk, & Hesari, 2015).

O quitosano é um agente anti-microbiano que pode ser utilizado para prolongar a vida útil do queijo, acrescentando o facto que é ecológico e relativamente barato. O quitosano é eficaz na inibição do crescimento de microrganismos de deterioração, tais como coliformes e *Pseudomonas* spp. Além disso, não há evidências de que a presença de quitosano afete o crescimento de BAL (Jalilzadeh, Tunçturk, & Hesari, 2015).

Outra forma de prolongar o tempo de vida de prateleira do produto é a adição de compostos bioativos lipofílicos ao leite utilizado na produção de queijo, mas existem perdas elevadas no soro de leite: 50% de fosfolípidos, 60% de vitamina D, 95% das enzimas responsáveis de maturação do queijo. Para superar este problema, o método de encapsulação é necessário. A encapsulação de ingredientes bioativos adicionados ao queijo sob a forma de partículas emulsionadas permitiu aumentar a sua retenção na coalhada, mantendo desta forma a sua bioatividade e a estabilidade química do queijo durante o armazenamento, com um rendimento melhorado do queijo (Jalilzadeh, Tunçturk, & Hesari, 2015).

## **2.8. Inovação**

### **2.8.1. Definições**

Etimologicamente, a palavra "inovar" deriva do latim "*innovare*", que significa, tornar novo, introduzir inovações em, inventar, criar. A palavra "inovação" deriva também da palavra latina "*innovatione*", que significa ato ou efeito de inovar, introdução de qualquer novidade na gestão ou no modo de fazer algo, mudança, renovação. Inovação pode ser uma nova ideia ou, por vezes, a aplicação de ideias de outras pessoas em novidades ou de uma nova forma. Geralmente envolve ter uma nova ideia, ou repensar uma ideia antiga, reconhecer oportunidades que existem e que podem ser promovidas, escolher as melhores alternativas, aplicar a ideia e o processo para criar valor (Rocha, 2012).

É importante tornar claras as diferenças entre criatividade, invenção e inovação. Criatividade é a faculdade de encontrar soluções diferentes e originais face a novas situações. A criatividade é produto do génio humano, enquanto gerador de novas ideias, conceitos ou teorias. Invenção é o ato de inventar, de descobrir, de inovar. É, assim, um passo à frente, no qual se delineia um produto, processo, ou protótipo, resultante da combinação de ideias em que uma, pelo menos, é inteiramente nova, ou o modo como essas ideias estão combinadas é totalmente novo, como resultado da criatividade. A criatividade promove o espírito inventivo, que por sua vez gera inovações de sucesso para o mercado (Rocha, 2012).

No Livro Verde da Inovação, a Comissão Europeia apresentou um conceito abrangente de inovação: renovação e alargamento da gama de produtos e serviços e dos mercados associados; criação de novos métodos de produção, de aprovisionamento e de distribuição; e alterações na gestão, na organização e condições do trabalho, bem como nas qualificações dos trabalhadores (European

Comission, 1995). Nesta definição é possível observar a estruturação do conceito em torno de três blocos principais: a inovação ao nível dos produtos, ao nível dos processos e ao nível das organizações (European Comission, 1995).

### **2.8.2. Normalização Inovação: Normas IDI**

O Instituto Português da Qualidade (IPQ) criou em 2006 a Comissão Técnica Portuguesa de Normalização CTA 2222 que tinha por objetivo o desenvolvimento e coordenação da normalização no âmbito das atividades de Investigação, Desenvolvimento e Inovação (IDI). A 30 de janeiro de 2007, publicou as seguintes Normas Portuguesas (NP), elaboradas pela Comissão Técnica Portuguesa de Normalização CT 169 “Atividades de Investigação, Desenvolvimento e Inovação (IDI)”, que teve origem na CTA 22:

-NP 4456:2007 Gestão da Investigação, Desenvolvimento e Inovação (IDI) – Terminologia e definições das atividades de IDI;

-NP 4457:2007 Gestão da Investigação, Desenvolvimento e Inovação (IDI) – Requisitos do sistema de gestão da IDI;

-NP 4458:2007 Gestão da Investigação, Desenvolvimento e Inovação (IDI) – Requisitos de um projeto de IDI;

-NP 4461:2007 Gestão da Investigação, Desenvolvimento e Inovação (IDI) – Competência e avaliação dos auditores de sistemas de gestão da IDI e dos auditores de projetos de IDI (IPQ, 2007b).

No Manual de Oslo, encontramos uma outra abordagem, segundo a qual, inovação corresponde à implementação de uma nova, ou significativamente melhorada solução para a empresa, novo produto, processo, método organizacional ou de *marketing*, com o objetivo de reforçar a sua posição competitiva, aumentar o desempenho, ou o conhecimento. Esta abordagem é adotada pela Norma Portuguesa NP 4456 - Gestão da Investigação Desenvolvimento e Inovação (IDI), publicada em 2007 (OCDE, 2005).

Sintetizando, e seguindo a Norma Portuguesa NP 4456 antes mencionada, subdivide-se a inovação em quatro grupos:

– **Inovação do Produto** (bens e serviços): *“Introdução no mercado de novos, ou significativamente melhorados, produtos ou serviços. Inclui alterações significativas nas suas especificações técnicas, componentes, materiais, software incorporado, interface com o utilizador, ou outras características funcionais”* (OCDE, 2005). A inovação do produto (bens e serviços) pode utilizar novo conhecimento ou tecnologia, ou apenas a combinação de conhecimento, ou tecnologia já existente. Refira-se a título de exemplo que o design é uma inovação do produto, no entanto, alterações de design que não promovam alterações significativas nas funcionalidades do produto devem ser consideradas inovações de *marketing*. A inovação do produto nos serviços, pode incluir: melhoramento significativo na forma como é prestado o serviço (por exemplo: rapidez, eficiência), novas funcionalidades do serviço e a introdução de novos serviços (IPQ, 2007a);

– **Inovação do Processo:** *“É a implementação de novos ou significativamente melhorados, processos de fabrico, logística e distribuição”* (OCDE, 2005). Métodos novos, ou significativamente melhorados no fabrico, ou produção de bens, ou serviços. No mesmo sentido se refere a NP 4456:2007, métodos novos, ou significativamente melhorados de logística, de entrega, ou de distribuição. Atividades novas, ou significativamente melhoradas, de apoio a processos (por exemplo: sistemas de manutenção, sistemas de informação, sistemas de contabilização, etc.) (IPQ, 2007a).

– **Inovação Organizacional:** *“Implementação de novos métodos organizacionais na prática do negócio, organização do trabalho e/ou relações externas”* (OCDE, 2005). Entende-se por novos métodos organizacionais, a implementação de novos métodos para organização das actividades de rotina e o desenvolvimento de novos procedimentos para desenvolvimento do trabalho (IPQ, 2007a).

– **Inovação de Marketing:** *“Implementação de novos métodos de marketing, envolvendo melhorias significativas no design do produto ou embalagem, preço, distribuição e promoção”* (OCDE, 2005).

Tem por objetivo aumentar as vendas através da melhor satisfação das necessidades do mercado, da alteração de posicionamento, ou da abertura de novos mercados. A norma NP 4456:2007 refere-se à inovação no *marketing*, fazendo a análise de forma estruturada pelo *marketing mix* (IPQ, 2007a).

A norma NP 4457:2007 *“(…) tem por objetivo definir os requisitos de um sistema eficaz de gestão da investigação, desenvolvimento e inovação (IDI), permitindo que as organizações que o adoptem definam uma política de IDI e alcancem os seus objetivos de inovação, podendo ser utilizada para certificação, autoavaliação ou avaliação por outra parte interessada, com o objetivo de avaliar a capacidade da organização em cumprir os requisitos do sistema de gestão da IDI”. “Esta Norma pretende assim estabelecer um referencial normativo que contribua para que as organizações melhorem o seu desempenho, com ênfase no seu sistema de gestão da investigação, desenvolvimento e inovação (IDI), como método fundamental de criar conhecimento e de o transformar em riqueza económica e social”. A norma pode ser usada por “qualquer tipo de organização na gestão dos seus processos de inovação. A inovação é entendida na sua aceção mais abrangente, de acordo com o Manual de Oslo da OCDE (2005), incluindo novos produtos (bens ou serviços), processos, novos métodos de marketing ou organizacionais.”* (IPQ, 2007b).

O alicerce da inovação é o desenvolvimento e aplicação de novo conhecimento. Esta abordagem enfatiza de forma muito clara a forte ligação entre inovação e conhecimento. Sendo o conhecimento a base da geração de riqueza nas sociedades avançadas, e a investigação e o desenvolvimento tecnológico, um dos pilares da criação desse conhecimento, é pela inovação que se transforma o conhecimento em desenvolvimento económico. São funções primárias da inovação aumentar a produção, dinamizar o emprego e mudar o comportamento do mercado, das quais resulta um mais rápido crescimento económico. Ou seja, é com a inovação que se acrescenta valor aos resultados da

criatividade e da invenção, e se completa a cadeia de valor com o lançamento no mercado de soluções adequadas às necessidades dos clientes (IPQ, 2007b).

Para assegurar a competitividade, as empresas têm de inovar em todos os aspetos da respetiva área de atividade. A inovação, não é apenas o produto da ciência e da invenção. Têm que acrescentar valor juntamente com os parceiros e otimizar as cadeias de abastecimento, entre outras. É fundamental fazer avançar as ciências básicas, como forma de garantir que as indústrias continuarão a ser inovadoras no longo prazo (Rocha, 2012).

Ainda que em alguns casos o principal foco das instituições, não seja a certificação, noutros pode verificar-se que a estratégia passou, em determinados momentos, não raras vezes por pressão dos mercados, pela sua certificação no âmbito da qualidade e posteriormente em IDI. Ou seja, coexistem em algumas organizações sistemas de gestão da qualidade, de gestão da IDI e uma permanente necessidade de promoção da criatividade e da inovação para o contínuo desenvolvimento e competitividade das organizações (Rocha, 2012).

### 2.8.3. Projetos de IDI: NP 4458:2007

A Norma NP 4458 tem como principal finalidade facilitar a sistematização de projetos IDI e melhorar a sua gestão. Pretende-se, portanto, que seja uma referência no que diz respeito ao planeamento, documentação, desenvolvimento e valorização dos projetos IDI (IPQ, 2007c).

O Modelo da Cadeia de Valor das atividades de IDI, representado na figura 6, é inspirado na “Cadeia de Valor da Organização” de Porter, “*constitui-se como uma ferramenta de mapeamento das atividades de IDI numa perspetiva de criação de valor, a partir da implementação sistemática e sustentada dos métodos e processos de inovação em todas as áreas funcionais das empresas, qualquer que seja o tipo e dimensão da organização*” (COTEC, 2006).



Figura 6-Cadeia de Valor das Atividades de IDI (COTEC, 2006)

Segundo a Norma NP 4458, a organização deve realizar o Plano do Projeto e neste devem estar incluídos: os objetivos do projeto, as entradas do projeto, as saídas ou resultados esperados, âmbito, o ciclo de vida e atividades do projeto, a duração, a calendarização, os recursos, os orçamentos, a estrutura organizacional, a identificação dos riscos, as mudanças, os imprevistos e riscos identificados, o controlo da qualidade do projeto, o controlo, a verificação e validação, a subcontratação e parcerias e por último, controlo e monitorização do projeto (IPQ, 2007c).

Para começar devem-se identificar os objetivos que o projeto visa alcançar, estabelecendo a inovação esperada com o projeto de IDI (produto, serviço, processo, etc.). Para tal a organização começa por descrever o estado de arte, caracterizar as limitações do estado atual, identificar os avanços que o projeto visa obter, quantificando sempre que possível e perspetivar os benefícios esperados do projecto. Nas entradas do projeto a organização expõe o problema ou oportunidade a que dá resposta, os parceiros, clientes e fornecedores; o(s) tipo(s) de inovação que o projeto visa alcançar; os riscos associados ao projeto; requisitos legais; resultados de projetos anteriores; mecanismos e periodicidade do acompanhamento e controlo; mecanismos de avaliação e teste dos resultados e mercado potencial. Nas saídas ou resultados esperados a organização identifica os resultados esperados do projecto e o modo previsto para a proteção e exploração dos resultados do projeto (IPQ, 2007c).

No ciclo de vida e atividades do projeto a organização deve em função das fases identificadas, assegurar o planeamento das atividades em cada fase, bem como os resultados e marcos esperados. As necessidades de subcontratação nas diferentes fases do projeto, ou as relações contratuais com entidades externas à organização devem ser avaliadas e descritas. A interação entre as fases e tarefas do projeto, as suas dependências, bem como as responsabilidades e relações entre os diferentes elementos da equipa de projeto são pontos importantes a constar no projeto (IPQ, 2007c).

A organização deve nomear um responsável de projeto que deve assegurar a elaboração do projeto e do seu planeamento, o acompanhamento e controlo do projeto, a avaliação dos resultados, a gestão de mudanças, imprevistos e riscos, a comunicação com partes externas ao projeto (IPQ, 2007c). A pessoa responsável pelo projeto deve estimar a duração prevista para cada atividade, bem como a duração para o planeamento, acompanhamento e controlo. A estimativa de tempo deve ter sempre em conta experiências anteriores e a consulta de todas as partes envolvidas. Se não existirem certezas em relação à duração, deve ser feita a avaliação e redução do risco (IPQ, 2007c).

A calendarização é baseada nas várias fases e atividades, bem como as dependências entre as mesmas. O calendário serve para identificar caso existam, sobreposições de tarefas e atividades críticas no projeto. As tarefas associadas à gestão do projeto (execução e atualização do plano, relatórios, etc.) devem ser individualizadas. Os recursos necessários podem ser materiais, humanos, treino e formação de pessoal. A sua utilização é planeada consoante as necessidades do projeto.

Relativamente ao orçamento, a ser estimado pela organização, deve incluir os custos com pessoal próprio, a contratação externa, os equipamentos, materiais, entre outros. A estimativa dos custos relaciona-se com a estrutura, fases e atividades do projeto (IPQ, 2007c).

A organização previamente identifica os riscos do projeto, que podem afetar a execução, os resultados, a duração e os custos do projeto. Sempre que forem identificadas necessidades de mudanças, imprevistos ou resultados inesperados, devem ser estabelecidos planos de forma a minimizar os riscos nessas mudanças. É importante definir atividades de controlo de qualidade de forma a atingir os objetivos do projeto, assegurando que os requisitos são cumpridos e a equipa de projeto informada do seu cumprimento. No caso de subcontratações e parcerias, a organização deve assegurar o controlo sobre as atividades e pessoas subcontratadas. De forma a proteger a exploração dos resultados obtidos, devem ser documentadas as e descrever a estratégia e atividades de disseminação dos resultados do trabalho desenvolvido. Por último devem ser feitas monitorizações constantes ao longo de todas as fases do ciclo de vida do projeto (IPQ, 2007c).

De acordo com a Norma NP 4458:2007, deverá ser efetuado, ao longo do período de execução das atividades do projeto, um controlo e monitorização, culminando a norma com a Avaliação dos Resultados e referência à sua incorporação na base de conhecimento da organização, a usar, quando for procedente, em futuros projetos. A norma refere ainda que: *“Os resultados de um projeto de IDI são os que se lograr obter no final do mesmo. Podem ser um reflexo fiel dos objetivos previstos no início do projeto, bem como superá-los ou não os alcançar; se bem que neste último caso, não alcançar os objetivos iniciais não significa que não haja resultados parcialmente positivos que possam vir a ser úteis. Os resultados são a medida do êxito do projeto e a sua maior ou menor importância radica nos benefícios (de qualquer tipo) que a sua utilização, a curto, médio, ou longo prazo, possa trazer para uma organização individual, para um sector económico e para a sociedade (IPQ, 2007c).*

#### **2.8.4. Inovação na Indústria Alimentar: Estado de Arte**

De modo a analisar as vendas de produtos alimentares, é necessário escrutinar o sector da distribuição. Este sector é caracterizado pela intensa competição e pela posição dominante dos supermercados em muitas regiões do mundo. Existe concorrência não só entre distribuidores, como também entre os fornecedores de produtos alimentares para obter acesso ao espaço de venda. A apresentação de novos produtos nas superfícies comerciais está quase sempre ligada à descontinuação de outro produto. Dos 500 a 1000 novos produtos introduzidos pelos supermercados a cada ano, menos de 1% estará nas prateleiras daqui a 5 anos (Baker, 2002).

As taxas de falha de novos produtos são alarmantemente altas. Um estudo de Hoban (1998) analisou o grau de novidade dos produtos introduzidos nos mercados de alimentos dos EUA. Estima-se que, durante um período prolongado, apenas 1 em 100 ou 1 em 200 produtos eram realmente novos. Apenas foram identificados 1100 a 1200 produtos introduzidos num ano que foram inovadores. A maioria (cerca de 75%) eram extensões de linha. O mercado da distribuição lança cerca de 20.000

novos códigos de barras a cada ano. Após 39 semanas de lançamento, 33% foram bem-sucedidos, 42% ainda estavam em distribuição, mas diminuíram as vendas e 25% falharam. As extensões de linha tiveram uma taxa de sucesso de 28%, enquanto os outros dois tipos de produtos "novos" tiveram uma taxa de sucesso de 47% (Hoban, 1998). Watzke e Saguy (2001) forneceram o seguinte comentário sobre novos produtos: dos 24.543 novos produtos que a Ernst & Young e a AC Nielsen pesquisaram nos EUA, apenas 539 eram inovadores e apenas 33 eram sucessos reais no mercado (Watzke & Saguy, 2001). Outras fontes mostram que as taxas de falha variam de 48% (Dornblaser, 1997), 67 - 72% (Prime Consulting Group, Inc., 1997); (Theodore, 2000) e 99% (Morris, 1993; Sloan, 1994).

Apesar de o setor de distribuição alimentar colocar uma vasta gama de produtos no mercado os padrões de compra parecem ser relativamente estáveis. Nos EUA, um supermercado médio tem cerca de 40.000 referências de produtos, no entanto uma família suprime 80 a 85% das suas necessidades com apenas 150 itens (FAO, 2006).

Hoje em dia, os produtos de marca própria dos supermercados competem em qualidade, tecnologia e embalagem com os fabricantes das marcas líderes e estão gradualmente a ganhar uma participação crescente no mercado. A concorrência entre os fabricantes levou a que estes se concentrassem em linhas de produtos específicos, onde possuem vantagens inerentes. As marcas de alto valor muitas vezes foram construídas com base num produto inovador, ou gama de produtos, que foi particularmente bem-sucedido (Martinez & Briz, 2000).

Os principais supermercados utilizam esquemas de fidelização de clientes. Estes esquemas permitem a gravação dos dados de consumo, o que, por sua vez, lhes dá a capacidade de fazer outras duas coisas. Primeiro, podem ajustar o stock nas prateleiras para atender às preferências de compra em cada loja. Em segundo lugar, têm um banco de dados de consumidores que é largamente maior do que é obtido por uma empresa que desenvolva produtos. Desta forma, os supermercados podem influenciar o processo de desenvolvimento de produtos alimentares ao partilharem essas informações com as empresas onde desenvolvem produtos, de modo a que os produtos sejam desenhados de acordo com os gostos dos clientes (Economist, 2005).

Apesar dos esforços da indústria alimentar para criar uma cultura alimentar mais interessante e novas experiências alimentares, parece haver períodos cada vez maiores entre grandes inovações na indústria de alimentos. Isto pode dever-se ao facto da indústria alimentar ser de baixa tecnologia. Outra razão poderá ser a existência de poucas barreiras à entrada de produtos no mercado e ser difícil registar patentes ou outras formas de direitos de propriedade intelectual no setor alimentar. Isto porque ao existir uma patente pode haver cópia das características do produto por parte da concorrência que produz produtos semelhantes (Tetra Pak, 2004).

Um artigo publicado pela *The Economist* (2005) mencionou uma "crise de criatividade". O artigo refere que as empresas alimentares investem pouco em investigação e desenvolvimento. As empresas de produtos de higiene pessoal gastam uma média de 2,6% das vendas em I & D (inovação e desenvolvimento), enquanto as empresas de alimentos e bebidas gastam apenas 1,6%. Esta é uma razão para o baixo número de inovações reais (*Economist*, 2005).

Existem três fatores importantes que contribuem para o sucesso do novo produto, a sinergia de marketing e gestão, o poder das comunicações em marketing e esforço de lançamento de produto, e as necessidades, crescimento e tamanho de mercado. Esses fatores enfatizam o papel do marketing no processo de desenvolvimento de produtos (Ilori, Oke, & Sanni, 2000).

Foram analisadas as características dos produtos que foram bem-sucedidos no mercado e que podem ser usados como critérios ao examinar ideias no processo de desenvolvimento de produtos. São de referir: vantagens visíveis para o consumidor; detalhes distintivos que são importantes para o consumidor; satisfação da necessidade dos consumidores de conveniência, juventude, melhor dieta, menos stresse, sabor perfeito e variedade; marca de confiança e publicidade (FAO, 2006). O sucesso do produto depende de vários fatores durante o seu processo de desenvolvimento, nomeadamente, o produto ser único e superior; boa compreensão dos desejos, necessidades e preferências dos consumidores; cultura de desenvolvimento de produtos global aberta e inovadora; compromisso da existência de recursos suficientes para o desenvolvimento de produtos; equipas multifuncionais; comunicação efetiva entre o pessoal da equipa de desenvolvimento de produtos; planeamento cuidadoso na etapa conceptual do desenvolvimento do produto; suporte da gestão de topo; envolvimento do pessoal com experiência na área; pesquisa de mercado aprofundada e marketing e lançamento efetivos de produtos (De Bretani & Sanni, 2004; Stewart-knox & Mitchell, 2003).

Por outro lado, os fatores associados à falha do produto foram a falta de conhecimento do mercado, devido à fraca pesquisa de mercado; esforços de marketing mal direcionados; mercados dinâmicos e competitivos; tamanho de mercado inadequado; resistência pela equipa de marketing; problemas técnicos; preços altos; problemas de distribuição e conflitos internos (De Bretani & Sanni, 2004; Stewart-knox & Mitchell, 2003). Segundo os autores Stewart-Knox & Mitchell (2003) e Ilori et al. (2000), parece que a falha do produto esteja intimamente ligada às insuficiências nas atividades de pré-desenvolvimento.

## **2.9. Desenvolvimento de Novos Produtos**

### **2.9.1. Definições**

O Desenvolvimento de Produto e Processo é uma pesquisa sistemática e orientada para o mercado de modo a desenvolver produtos e processos que satisfaçam uma necessidade do consumidor. É uma combinação e aplicação das ciências naturais com as ciências sociais - de ciência alimentar com marketing e ciência do consumidor – num tipo de pesquisa integrada cujo objetivo é o desenvolvimento de novos produtos (FAO, 2006).

Os modelos de desenvolvimento de produtos mais referenciados são os de Booz, Allen e Hamilton Inc. (1982) e de Cooper e Kleinschmidt (1986). Existem essencialmente quatro etapas básicas desses modelos para cada processo de desenvolvimento de produtos, sendo estas a estratégia de desenvolvimento do produto, o design e desenvolvimento do produto, a comercialização do produto e os lançamentos e pós-lançamento do produto (Booz-Allen and Hamilton, Inc., 1982; Cooper & Kleinschmidt, 1986).

Existem muitas maneiras de classificar o grau de novidade de um produto. Estes podem ser produtos criativos; produtos inovadores; novas embalagens de produtos existentes; reformulação de produtos existentes; novas formas de produtos existentes; reposicionamento de produtos existentes; extensões de linha (Booz-Allen and Hamilton, Inc., 1982; Cooper & Kleinschmidt, 1986).

Um fator importante para o desenvolvimento de produtos é reconhecer que a inovação é contextual. A percepção dos consumidores de novidade do produto depende da localização do consumidor e dos tipos de produtos alimentares presentes no mercado. Por exemplo, os produtos alimentares asiáticos eram novos produtos nos supermercados ocidentais no início da década de 1990, mas eram produtos tradicionais bem estabelecidos e tradicionais na Ásia. Siriwongwilaichat (2001) também captou isso ao classificar novos produtos como "Produtos inovadores - completamente novo no mercado", "Produtos novos para a empresa", "Produtos de valor acrescentado" e "extensões de linha". O desafio para o desenvolvimento de produtos é desenvolver um produto aceitável para o consumidor alvo (Siriwongwilaichat, 2001).

O processo de inovação resulta da interação entre necessidades do consumidor com novos desenvolvimentos da ciência e da tecnologia. O processo de desenvolvimento envolve uma componente tangível (equipamentos e instalações) e outras intangíveis (imagem de marca), ambos essenciais ao desenvolvimento de novos produtos. Os recursos tangíveis são os que podem ser quantificáveis e podem considerar-se os físicos (infraestruturas, equipamentos, matérias-primas, etc.), tecnológicos (patentes, direitos, etc.), financeiros e organizacionais (estrutura de comunicação, planeamento e coordenação) (Valente, 2012). Os recursos intangíveis reproduzem-se na história da empresa, considerando-se os seguintes: recursos humanos (conhecimentos, confiança, capacidade de gestão, rotinas), recursos de inovação (ideias, capacidade científica para inovar), recursos de reputação (na perspectiva dos clientes são consideradas as marcas, percepção de qualidade e confiança, na perspectiva do fornecedor são considerados aspectos como resultados da eficácia e eficiência) (Valente, 2012).

A definição do produto deve incluir o tipo de mercado a que se destina (nacional, internacional, etc.), a especificação do alvo de mercado (exatamente quem tem a intenção de utilizar), descrição do conceito do produto e dos benefícios a serem entregues ao utilizador, definição da posição estratégica (inclui o preço pretendido, uma lista de características, atributos e requerimentos e especificações). Para a concretização destes objetivos são fundamentais atuações a diferentes

níveis. O marketing estuda a relação da empresa com os clientes, identifica necessidades dos clientes, tipos de preços e campanhas de promoção. O design define a forma física do produto, no esforço de melhor satisfazer as necessidades dos clientes. Por último, a produção que concretiza as encomendas, a distribuição e a instalação (Valente, 2012).

O fator chave para uma empresa se manter competitiva no mercado, depende da sua capacidade de criar repetidamente novos produtos com sucesso comercial. Ulrich e Eppinger (2008) citam que o sucesso económico da maioria das empresas depende da sua capacidade em identificar as necessidades dos consumidores e criar novos produtos que vão ao encontro dessas mesmas. Estes autores, destacam ainda a relevância da interdisciplinaridade de funções numa empresa que constitui um fator central para o sucesso de novos produtos.

Inquestionavelmente, os princípios básicos para qualquer negócio são, as estratégias, as ferramentas, a cooperação interdisciplinar e os meios formalizados para um rápido desenvolvimento de produtos (com sucesso comercial). Mas o insucesso é também uma matéria de importante relevo, alguns fatores importantes que podem conduzir ao insucesso comercial de produtos. Sugerem-se análises de mercado e reexaminações internas aos ciclos de vida do produto, bem como a reanálise de avaliação de ideias, ao invés, de constantes gerações de ideias (Valente, 2012).

### **2.9.2. Modelos de Referência**

Os processos de desenvolvimento de novos produtos têm em comum diversas fases de atividades que são interpoladas por diversos critérios de avaliação. Note-se ainda que, estes modelos não são considerados lineares, mas sim macroprocessos sequenciais e fluxos unidireccionais que podem conter fases de iteração (Cooper, Edgett, & Kleinschmidt, 2008).

#### **Modelo “Stage-Gate”**

O modelo “Stage-Gate,” (Figura 7) originalmente definido por Cooper em 1990, tem por base a relação entre redução de incerteza e os modelos de tomada de decisão no desenvolvimento de novos produtos. Este modelo é um mapa conceptual e operacional que ajuda na concretização de projetos. Este modelo não descarta a interdisciplinaridade e a interfuncionalidade entre departamentos. Para o autor, o critério mais importante por cada *stage* é a garantia da complementaridade entre viabilidade técnica e de marketing. Geralmente, a sua forma *standard* é estruturada por cinco estádios (*stages*) e por cinco critérios de decisão/revisão diferentes, correlacionados, e pelos quais se tem que passar. Estes pontos de decisão são tipicamente decisões do tipo *go/no-go*. Mais tarde, houve diversas alterações ao modelo *standard*, caracterizando-o como um “*next generation model*”, por se apresentar flexível, adaptável e um “sistema aberto” (Cooper, Edgett, & Kleinschmidt, 2008).

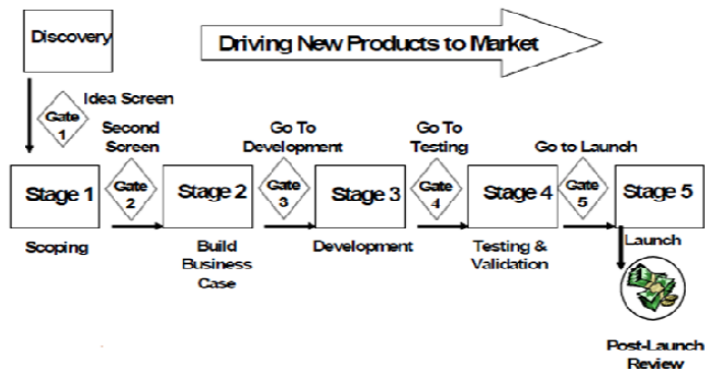


Figura 7-Processo Standard “Stage-Gate” (Cooper, Edgett, & Kleinschmidt, 2008).

### Modelo Genérico Ulrich e Eppinger

O processo genérico de desenvolvimento de novos produtos citado por Ulrich e Eppinger consiste em seis fases (Figura 8). Este modelo pode ser utilizado em três óticas diferentes (1) Processo de convergência - as fases são definidas consoante o estado do produto, à medida que vários conceitos vão sendo criados. Como resultado, a especificação do produto vai aumentando e o número de conceitos vai diminuindo. (2) Sistema de Processamento de informação – a partir de objetivos de uma empresa – incorpora várias atividades do desenvolvimento da informação. (3) Como sistema de gestão de risco sendo que à medida que cada fase evolui, há a redução de incertezas. O modelo preconiza funções-chave no âmbito do marketing, design e produção, não descurando funções financeiras, legais e comerciais (Ulrich & Eppinger, 2008).

A cada fase de desenvolvimento, pode seguir uma fase de revisão (*gate*) de forma a assegurar a finalização adequada da tarefa anterior. Note-se ainda que, os processos de desenvolvimento de novos produtos, podem conter fases paralelas, acopladas e ciclos de iteração, assegurando a flexibilidade deste modelo (Figura 9) (Ulrich & Eppinger, 2008).

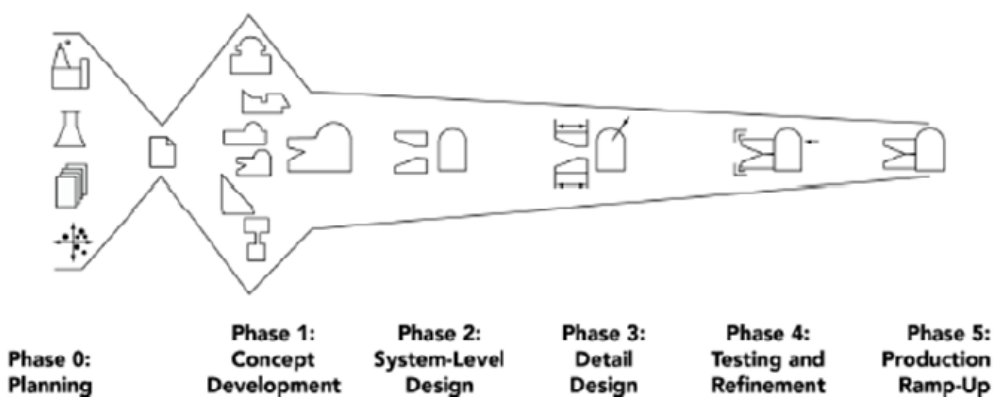


Figura 8-Processo genérico de desenvolvimento de novos produtos (Ulrich & Eppinger, 2008).

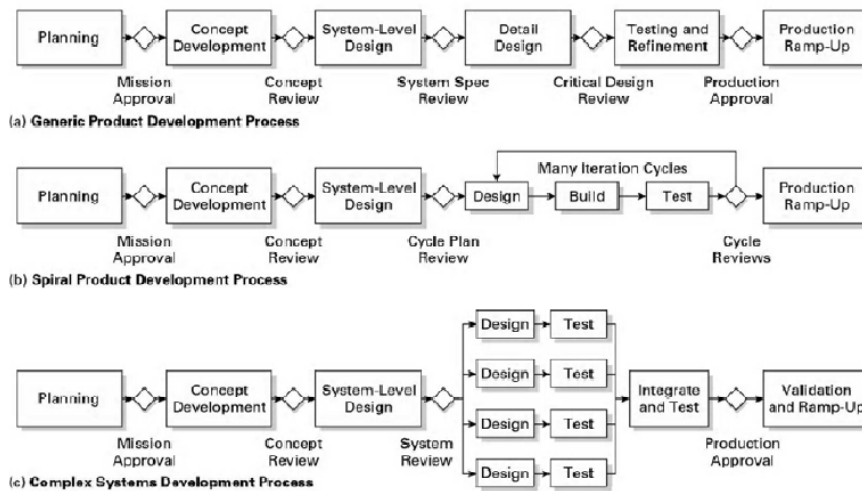


Figura 9- Diferentes conformações do processo de desenvolvimento de novos produtos (Ulrich & Eppinger, 2008).

### 2.9.3. Processo de Desenvolvimento Novos Produtos

O processo de desenvolvimento de novos produtos é uma sequência de passos, atividades e tarefas que uma empresa utiliza como recurso, geralmente para conceber, desenvolver e comercializar esses produtos. O processo de desenvolvimento de novos produtos é também considerado interdisciplinar, pois têm que ser contempladas atividades e tarefas específicas em cada departamento, de forma a responder à concepção, design, comercialização e enquadramento com a produção (Valente, 2011).

O processo de concepção e desenvolvimento de novos produtos promove a realização de um conjunto complexo de atividades, em que devem intervir a maioria das áreas funcionais da organização. O processo de concepção e desenvolvimento de novos produtos pode dividir-se em cinco fases ou etapas (Nunes, 2004):

1. Identificação de oportunidades e desenvolvimento do conceito;
2. Planeamento e especificação do produto;
3. Desenvolvimento e engenharia do produto e do processo;
4. Testes e avaliação;
5. Início da produção.

Na primeira fase obtém-se informação sobre as necessidades e exigências do mercado, identificando as oportunidades existentes, os possíveis movimentos e reações da concorrência, as possibilidades técnicas e os pedidos de fabrico. Esta informação permite estabelecer a arquitetura do novo produto. Durante esta fase define-se o design do conceito, seleccionam-se os mercados-alvo, o nível de rendimento, os recursos necessários e o previsível impacto financeiro do novo produto (Nunes, 2004).

No planeamento e especificação do produto define-se claramente o produto, identificando as suas vantagens competitivas e clarificando a sua funcionalidade, e verificam-se com maior grau de exatidão as estimativas realizadas na fase anterior. Durante esta fase planifica-se o esforço a realizar até ao lançamento do novo produto no mercado (Nunes, 2004).

Uma vez aprovado, o projeto passa para a engenharia do produto. Nesta terceira fase realizam-se a maioria das atividades de design de pormenor e de desenvolvimento do produto, assim como dos processos produtivos necessários para o fabrico e posterior lançamento no mercado (Nunes, 2004).

Em muitas ocasiões, de forma paralela ou simultânea, tem início a quarta fase (testes e avaliação), em que se realizam os ensaios e avaliação correspondente às conceções de novos produtos resultantes da terceira fase. Assim, procede-se ao fabrico de protótipos e à simulação do processo de fabrico, procurando detetar possíveis deficiências tanto do novo produto como na produção. Posteriormente, procede-se à realização de testes de mercado que permitem simular as condições reais de mercado, quer num laboratório (pré-teste de mercado) quer numa pequena zona do mercado alvo do novo produto, com o objetivo de selecionar a estratégia de lançamento mais adequada e realizar uma previsão do volume de vendas (Nunes, 2004).

A eficácia deste processo de conceção e desenvolvimento de novos produtos dependerá, não apenas da velocidade, produtividade e qualidade com que se realiza cada etapa do ciclo, mas também do número de iterações necessárias até se alcançar a solução ótima (Nunes, 2004).

Por último, se a avaliação realizada na fase anterior é favorável, o produto passa para a quinta fase, iniciando-se a produção em grande escala; realiza-se a introdução do novo produto no mercado, a sua distribuição inicial e as operações de apoio pós-venda (Nunes, 2004).

## **2.10. Estudo de validade de produtos alimentares**

### **2.10.1. Definições**

O prazo de validade do produto deve ser sempre parte integrante dos processos de uma empresa do sector alimentar com base em HACCP e boas práticas de higiene. Deve-se ter em conta, as condições previsíveis de distribuição, armazenamento e utilização dos alimentos, incluindo práticas de consumo, quando aplicável. É altamente recomendável que as empresas do sector alimentar documentem todo o trabalho relacionado com a estimativa, a criação e validação do estudo de validade. Sempre que existe modificação ou reformulação de um alimento ou da sua produção, o prazo de validade deve ser estimado, estabelecido e validado (Food Safety Authority of Ireland, 2014).

A abordagem tradicional consiste em definir um ponto de corte ao longo do período de armazenamento que corresponde ao momento em que um dos atributos medidos excede um limite pré-estabelecido. O estudo experimental inclui normalmente o armazenamento de produtos alimentares a diferentes temperaturas, a análise microbiológica e a avaliação da deterioração através de testes sensoriais (Valero, Carrasco, & Garcia-Gimeno, 2012).

### 2.10.2. Especificação do produto

As especificações do produto devem ser documentadas pela empresa do sector alimentar e incluem as seguintes informações (Food Safety Authority of Ireland, 2014):

- Especificações para cada ingrediente;
- Parâmetros de processamento;
- Boas práticas de higiene e fabrico;
- Procedimentos específicos de produto;
- Parâmetros de controlo de qualidade;
- Detalhes do embalamento;
- Considerações de rotulagem, por exemplo, declaração de vida útil;
- Condições de armazenamento, distribuição e exposição;
- Instruções para a utilização do produto, quando aplicável;
- Detalhes de especificações microbiológicas e de composição, incluindo os limites;
- Requisitos legislativos.

O controlo da segurança do produto normalmente requer a combinação de diferentes características intrínsecas e extrínsecas que são barreira ao crescimento ou sobrevivência de microrganismos. Isto proporciona o controlo de agentes patogénicos específicos e estabilidade do período de vida útil (Food Safety Authority of Ireland, 2014).

O crescimento microbiano é dependente de condições no ambiente tais como: ingredientes, nutrientes,  $a_w$ , valor de pH, presença de conservantes, microrganismos competitivos, gás atmosférico, potencial redox, tempo e temperatura de armazenamento, entre outros (Tabela 9). O controlo destas condições pode, portanto, ser utilizado para limitar, retardar, ou impedir crescimento microbiano (Valero, Carrasco, & Garcia-Gimeno, 2012).

Tabela 9- Características inerentes ao produto e ao ambiente que o envolve que afetam diretamente a qualidade e segurança do mesmo (Veiga, 2012)

Características Intrínsecas	Características Extrínsecas
Valor de pH e o tipo de ácido presente	Temperatura (durante a produção, armazenamento, distribuição e venda)
Actividade de água ( $a_w$ )	Embalagem
Potencial Redox (Eh)	Gás atmosférico
Barreiras naturais	Humidade Relativa
Teor nutricional	Processamento
	Boas práticas de fabrico e de higiene

Substâncias antimicrobianas	
Microbiota	Histórico
Qualidade microbiológica dos ingredientes	Armazenamento e distribuição
Formulação e composição do alimento	Práticas de consumo
	Procedimentos de HACCP

### **Barreiras naturais**

Alguns alimentos têm barreiras naturais ou revestimentos que proporcionam diferentes níveis de proteção contra contaminação externa. Estas barreiras incluem conchas, peles e membranas comumente encontrados em alimentos como nozes, ovos, legumes / frutas e peixes. A eficácia dessas barreiras para impedir a contaminação de alimentos irá variar consideravelmente (Food Safety Authority of Ireland, 2014).

### **Disponibilidade de nutrientes**

Todos os microrganismos têm necessidades nutricionais para o crescimento e manutenção das funções metabólicas básicas, que variam dependendo do microrganismo. Por conseguinte, o teor de nutrientes e disponibilidade de nutrientes dos alimentos irá influenciar o crescimento microbiano. Normalmente, as bactérias têm as mais altas exigências nutricionais para o crescimento, seguidas por leveduras e fungos (Food Safety Authority of Ireland, 2014).

### **Substâncias antimicrobianas**

Alguns alimentos contêm substâncias antimicrobianas que retardam ou impedem o crescimento de microrganismos. Existe uma grande variedade de substâncias antimicrobianas com níveis variáveis de atividade. Algumas são encontradas naturalmente em alimentos, por exemplo, alicina no alho e cebola e lisozima no ovos e leite. Outras são produzidas durante o processamento de alimentos, por exemplo, produção de fenóis durante o fumo ou bacteriocinas durante a fermentação (Food Safety Authority of Ireland, 2014).

### **Aditivos alimentares**

O Regulamento (CE) n.º 1333/2008 harmoniza a utilização de aditivos alimentares em géneros alimentícios na UE e define os aditivos alimentares como:

"Substâncias não consumida habitualmente como alimento em si mesma e habitualmente não utilizada como ingrediente característico na alimentação, com ou sem valor nutritivo, e cuja adição intencional aos géneros alimentícios, com um objectivo tecnológico no fabrico, transformação,

preparação, tratamento, embalagem, transporte ou armazenagem, tenha por efeito, ou pode ser razoavelmente esperado para efeito, que ela ou seus subprodutos, tornando-se, direta ou indiretamente um componente desses géneros alimentícios " (UE, 2008).

### **Qualidade microbiológica dos ingredientes**

A qualidade microbiológica dos ingredientes vai afetar a segurança e a vida útil de alimentos. As indústrias do sector alimentar devem assumir que todos os ingredientes são uma fonte potencial de contaminação microbiológica. Portanto, o ponto de partida para a produção de produtos alimentares seguros com um prazo de validade desejada é a utilização de ingredientes que cumprir as exigências legislativas para a segurança alimentar e higiene, particularmente critérios microbiológicos (New Zealand Food Authority, 2005).

### **Armazenamento, distribuição e utilização**

É importante que as indústrias considerem todas as condições razoavelmente previsíveis de armazenamento, distribuição e uso ao configurar e validar o prazo de validade. Como tal, deve-se ter especialmente em conta as práticas de consumo no estabelecimento e validação do prazo de validade e se necessário, especificar instruções de armazenamento claras aos consumidores nos rótulos dos alimentos (New Zealand Food Authority, 2005).

#### **2.10.3. Microbiologia preditiva**

A microbiologia preditiva utiliza modelos matemáticos (construído com dados de testes de laboratório) e *software* para descrever graficamente as respostas dos microrganismos para características intrínsecas ou extrínsecas. Os modelos preditivos microbiológicos são inicialmente úteis para ajudar a estimativa da segurança alimentar e prazo de validade. No desenvolvimento do produto, um modelo preditivo microbiológico pode permitir que um operador do sector alimentar avalie a segurança e estabilidade de novas formulações e identificar aquelas que podem dar um prazo de validade desejado. Os modelos preditivos também são úteis quando o alimento com um prazo de validade estabelecido é sujeito a um processo de alteração de formulação. No entanto, os modelos preditivos microbiológicos não substituem a análise laboratorial ou a análise de um microbiologista de alimentos experiente (New Zealand Food Authority, 2005).

#### **2.10.4. Testes laboratoriais**

Na conceção de um estudo de validade, várias questões surgem, tais como o armazenamento de amostras de alimentos adequado, tempo de teste, quantidade de amostras ou testes que devem ser aplicados. As etapas-chave para a conceção de um estudo de validade são focadas no tempo de duração do estudo, frequência de amostragem e controlos que serão realizados até que o alimento apresenta uma deterioração significativa. Geralmente, são estabelecidos controlos referentes à microbiologia, análise sensorial e físico-químicas. Para desenhar um estudo de validade, fatores como temperatura, humidade relativa, condições de iluminação, etc., devem ser rigorosamente controlados, preferencialmente em laboratório certificado. Além disso, o design deve ser simples, fácil de seguir e interpretável pela indústria alimentar (Valero, Carrasco, & Garcia-Gimeno, 2012).

As informações preliminares são muito úteis para refinar o desenho experimental. Estas informações podem ser obtidas a partir de fontes múltiplas, tais como dados históricos (isto é, condições de processamento e armazenamento, formulação do alimento, dados microbiológicos históricos, etc.) ou estudos publicados realizados em produtos similares (Valero, Carrasco, & Garcia-Gimeno, 2012).

A legislação internacional atual não prevê a aplicação de protocolos normalizados destinados a estabelecer a vida útil dos produtos alimentares. No entanto, são publicadas várias Diretrizes Nacionais e Internacionais para esse fim (Autoridade de Segurança Alimentar da Irlanda, 2005, Agência de Proteção da Saúde, 2009, Autoridade de Segurança Alimentar da Nova Zelândia) (Valero, Carrasco, & Garcia-Gimeno, 2012).

Os testes sensoriais validam o período de tempo em que um produto permanecerá com o mesmo nível de "qualidade aceitável" ou apresentar "nenhuma alteração nas características sensoriais desejadas" ao longo de toda a vida útil de um produto. Aspectos de qualidade dos alimentos, tais como cor, teor de nutrientes, composição química etc., são regidos por reações bioquímicas (oxidação, reações de Maillard, atividade enzimática) juntamente com alterações físicas (agregação de proteínas, sedimentação etc.) (IFST, 1993; Kilcast & Subramaniam, 2000).

Algumas propriedades do produto são difíceis de medir objetivamente. Além disso, a medição instrumental sozinha não pode indicar a aceitabilidade ou rejeição do consumidor. É muito importante garantir que não existem mudanças nas propriedades sensoriais dos alimentos durante sua vida útil, uma vez que os consumidores pagam por um conjunto pré-estabelecido de características sensoriais desejadas (IFST, 1993; Kilcast & Subramaniam, 2000).

A identificação dos microrganismos de deterioração é muito importante para o cálculo da vida útil de um dado produto alimentar (Gram, et al., 2002). É crucial introduzir considerações quantitativas (Gram, 1989) uma vez que a atividade de deterioração de um organismo é sua capacidade quantitativa de produzir metabolitos (Dalgaard, 1995). O próximo passo na determinação da vida útil é o estabelecimento do nível microbiano acima do qual a deterioração ocorre (Dalgaard, 1995), (Koutsoumanis & Nychas, 2000). O limite de crescimento microbiano que determina a vida útil varia de acordo com o tipo de alimento e as condições de armazenamento (tabela 10) (Rho & Schaffner, 2007).

Foram sugeridos critérios microbiológicos para estabelecer o prazo de validade em diretrizes internacionais. Alguns documentos de orientação centram-se principalmente no estudo do crescimento de *L. monocytogenes*, enquanto outros relatórios mais gerais avaliam a qualidade microbiológica dos alimentos colocados no mercado Health Protection Agency (HPA, 2009); Food Safety Authority of Ireland, (Food Safety Authority of Ireland, 2016); New Zealand Food Authority, (New Zealand Food Authority, 2005); Center for Food Safety (Centre for Food Safety, 2007); Instituto

Nacional de Saúde Dr Ricardo Jorge- INSA (Santos, et al., 2005). Todos os documentos estabelecem critérios microbiológicos especificando limites numéricos, ou aumentos de carga microbiana admissíveis durante a vida útil do produto.

#### **2.10.5. Procedimento**

É necessário planejar e executar diferentes tarefas de forma a estabelecer um prazo de validade (Food Safety Authority of Ireland, 2014):

1. Confirmar as amostras a serem testadas
2. Definir a duração do estudo
3. Estabelecer as condições de estudo
4. Definir a frequência dos testes
5. Estabelecer o número de amostras a serem testadas
6. Escolher o laboratório
7. Definir os testes a serem realizados
8. Realizar e documentar o estudo de validade
9. Interpretar os resultados do teste e definir o prazo de validade
10. Aplicar uma margem de segurança
11. Monitorizar e verificar o prazo de validade

Inicialmente, o estudo de validade deve ser executado para além do prazo de validade exigido. Se, após esse tempo, os critérios microbiológicos de qualificação ainda estão a ser cumpridos, o teste pode ser continuado até que estes sejam excedidos (Food Safety Authority of Ireland, 2014).

Para estimar, definir e validar o prazo de validade são necessários testes laboratoriais que devem ser realizados em condições realistas, que refletem condições previsíveis de armazenamento, distribuição e utilização, em especial a temperatura de armazenamento. Os alimentos devem ser armazenados a temperaturas que mimetizam a prática normal, mesmo que estas temperaturas sejam diferentes das temperaturas recomendadas (Food Safety Authority of Ireland, 2014).

A frequência dos testes durante o estudo deve ser baseada na experiência com alimentos semelhantes e tendo em conta as características do próprio alimento. Por exemplo, alimentos perecíveis, com um prazo de validade de sete dias pode exigir testes em intervalos diários, enquanto que alimentos menos perecíveis podem necessitar apenas de intervalos bissemanais ou semanais. Em cada fase do estudo é importante testar um número de repetições suficiente das amostras para ter em conta a variabilidade do produto. Isto porque a distribuição de microrganismos em alimentos geralmente não é. Embora não seja uma exigência legal, é recomendado que se contratem laboratórios acreditados para realizarem os testes específicos em cada alimento (Food Safety Authority of Ireland, 2014).

Devido à grande variedade de alimentos, é impossível descrever com precisão todos os ensaios microbiológicos que podem ser utilizados num estudo de validade. O tipo de agente patogénico que

poderá estar presente no alimento dependerá das características intrínsecas e extrínsecas do alimento. No entanto, os patogénicos de interesse devem ser previamente identificados através da análise de perigos baseada nos princípios de HACCP (Food Safety Authority of Ireland, 2014).

Os resultados dos testes microbiológicos dependem do método de análise utilizado. Recomenda-se que estes sejam realizados utilizando um método de referência reconhecido, por exemplo, ISO, EN, BS (Food Safety Authority of Ireland, 2014). Se os testes forem baseados nos critérios microbiológicos legais estabelecidos no Regulamento (CE) n.º 2073/2005, o método de análise está especificado (tabela 10) (UE, 2005).

Tabela 10-- Limites microbiológicos para leite e produtos lácticos. (REGULAMENTO (CE) N.º 2073/2005 de 15 de Novembro de 2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios)

Teste	Categoria de Alimentos	Limites		
		Satisfatório	Aceitável	Insatisfatório
Indicadores				
<i>Escherichia coli</i>	Queijo fabricado com leite pasteurizado	100 ufc/g	100-1000 ufc/g	1000 ufc/g
Patogénicos				
<i>Staphylococcus Coagulase +</i>	Queijo fabricado com leite pasteurizado	10 ufc/g	10-100 ufc/g	100 ufc/g
<i>Listeria monocytogenes</i>	Alimentos prontos para consumo suscetíveis de	100 ufc/g		Produtos colocados no mercado, durante o seu período de vida útil

	permitir o crescimento de <i>Listeria monocytogenes</i>	Ausência em 25g	Antes de o alimento deixar de estar sob o controlo imediato do operador da empresa do sector alimentar que o produziu
--	---	-----------------	---

Recomenda-se que todos os detalhes das condições de armazenamento, os testes realizados, procedimentos, resultados, etc. sejam documentados, de forma a que o operador do sector alimentar e as autoridades competentes possam rever essa informação (Food Safety Authority of Ireland, 2014).

Durante o estudo de validade, os testes vão apresentar resultados que estão perto ou já não satisfazem as exigências legislativas e / ou parâmetros de ensaio. O operador da indústria alimentar deve atribuir um prazo de validade adequado, que garanta a segurança dos alimentos. Se os resultados parecerem insatisfatório ou inconsistente, mais testes podem ser necessários. Em alguns casos, se o prazo de validade previsto durante o desenvolvimento do produto não é conseguido, o produto pode ter de ser reconstruído ou modificado (Food Safety Authority of Ireland, 2014).

Não é realista esperar que o prazo de validade seja consistentemente preciso e reproduzível em todas as circunstâncias. Além disso, o prazo de validade nunca será um valor absoluto que termina numa data exata. Haverá uma distribuição de tempos e datas em torno de um período. Como tal, é altamente recomendável que uma margem de segurança seja aplicada ao prazo de validade. Esta deve ser determinada e aplicada depois de examinar todas as condições razoavelmente previsíveis de processamento, armazenamento, distribuição e utilização (Food Safety Authority of Ireland, 2014). Deve-se verificar a segurança dos produtos e prazo de validade periodicamente devido a mudanças subtis que possam surgir ao longo do tempo. É uma boa prática recolher amostras em diferentes pontos da cadeia de distribuição, ou devido a reclamações de clientes (Food Safety Authority of Ireland, 2014).

## **Capítulo 3- Metodologia**

### **3.1. Estudo de Validade**

De modo a desenvolver um estudo de determinação e validação da validade é necessário planear e executar diferentes tarefas tais como, caracterizar com o maior detalhe possível o produto. Sendo o produto em estudo largamente produzido e testado pela empresa, a caracterização do mesmo foi um processo simples. Em seguida, devem também considerar e estabelecer-se as condições de armazenamento, distribuição e utilização do produto. O queijo fresco no decorrer dos ensaios foi armazenado numa embalagem termoselada, no equipamento de refrigeração a 4°C. Estas são as recomendações de conservação do produto. O passo seguinte foi identificar quais os microrganismos que interferem na segurança alimentar do produto e como se comportam (sobrevivência e crescimento). Neste ponto foi realizada uma pesquisa bibliográfica e consultado o histórico da empresa de forma a estabelecer o plano de ensaios e quais os parâmetros microbiológicos a serem

testados. Os microrganismos indicadores de qualidade do produto selecionados foram os bolores e leveduras e os microrganismos patogénicos foram *E. coli* e *Staphylococcus coagulase positiva*.

O primeiro ensaio foi realizado a 30 de setembro de 2016, na fábrica da empresa Tété II, no qual exerci o papel de supervisora de todo o processo. O objetivo era produzir amostras com dois conservantes teste e outra amostra controlo (sem conservante adicionado). Sendo assim, foram preparadas 3 cubas de 200L de leite de vaca do fornecedor *Planalto* e *Porfírio*, às quais se adicionaram 75ml de fermento láctico, 50ml de carbonato de cálcio e 800g de sal, ingredientes essenciais no fabrico do queijo fresco. Depois de verificada a temperatura de 22°C foram adicionados os conservantes biológicos na respetiva cuba. Foram utilizados 3,5g de *Bioprox* e 2,6g de *Biopress* e 200g de sorbato de potássio. Passados 40 minutos a massa formada foi envolvida manualmente com recurso a uma pá de modo a homogeneizar a mistura. Ao fim de 30 minutos, a massa foi colocada nos sinchos e seguiu o processo de produção. Os tabuleiros onde são colocados os sinchos foram devidamente codificados de forma a controlar a localização das amostras. Os tabuleiros foram colocados em carrinhos que seguiram para o túnel de arrefecimento rápido onde permaneceram durante 120 minutos até atingirem a temperatura de 4°C. Depois foram encaminhados para a sala de embalagem, onde os operadores colocaram as diferentes amostras em embalagens de 6 unidades cada. O passo seguinte foi identificar as caixas onde foram colocadas as diferentes amostras. Estas foram armazenadas na câmara de refrigeração onde permanecem a temperaturas inferiores a 4°C. A expedição das amostras foi realizada no dia seguinte, onde seguiram numa transportadora equipada com rede de frio que garante temperaturas inferiores a 6°C. As amostras foram rececionadas no laboratório no mesmo dia e armazenadas de acordo com as condições de armazenamento do produto.

O prazo estabelecido para a realização do estudo de validade foi de 12 dias. Realizaram-se análises aos parâmetros microbiológicos atrás mencionados nos dias 5, 8 e 12 após a data de produção.

O segundo ensaio foi realizado no dia 5 de janeiro de 2017, na fábrica da empresa Tété II. Seguiu-se o mesmo processo de fabrico utilizado no ensaio anterior. Neste ensaio pretendia-se testar novamente os mesmos conservantes biológicos, produziu-se também amostra controlo (sem conservante adicionado) e introduziu-se a amostra do produto já produzido (conservante sorbato de potássio). Foram preparadas 3 cubas de 200L de leite de vaca do fornecedor *Planalto* e *Porfírio*, às quais se adicionaram 75ml de fermento láctico, 50ml de carbonato de cálcio e 800g de sal. Assim que foi verificada a temperatura foram adicionados os conservantes biológicos na respetiva cuba. Adicionaram-se 3,5g de *Bioprox* e 2,6g de *Biopress* e 200g de sorbato de potássio. Passados 45 minutos a massa formada foi envolvida manualmente com uma pá. Ao fim de 50 minutos, a massa foi colocada nos sinchos e seguiu o processo de produção. Os tabuleiros foram devidamente codificados de forma a controlar a localização das amostras. Foi seguido o trajeto até ao túnel de arrefecimento rápido onde permaneceram durante 150 minutos. Daí seguiram para a sala de embalagem, onde as amostras foram colocadas em embalagens de 6 unidades cada. As caixas foram identificadas e armazenadas na câmara de refrigeração onde permanecem a temperaturas inferiores a 4°C.

Reuniram-se também embalagens com o produto atualmente produzido para enviar para laboratório. A expedição das amostras foi realizada no dia seguinte, onde seguiram numa transportadora equipada com rede de frio que garante temperaturas inferiores a 6°C. As amostras foram rececionadas no laboratório no mesmo dia e foram tratadas de acordo com as condições de armazenamento do produto. O prazo estabelecido para a realização do estudo de validade foi de 14 dias. Foram realizadas análises aos parâmetros microbiológicos atrás mencionados nos dias 10 e 14 após a data de produção. O teste de análise sensorial foi realizado no dia 14 de forma a validar as características organolépticas do produto no fim de prazo de validade.

### 3.1.1. Amostras

O objetivo do estudo foi determinar qual dos conservantes utilizados conferia ao produto um tempo de vida útil mais prolongado mantendo as características organolépticas inalteradas. Neste sentido foram realizados dois ensaios, em que no primeiro foram analisados em laboratório nove queijos frescos de vaca de 80g, três de cada amostra (queijo fresco com conservante *Bioprox*, queijo fresco com conservante *Biopress* e queijo fresco sem qualquer conservante), em análises microbiológicas. No segundo ensaio foram analisados em laboratório trinta e dois queijos frescos de vaca de 80g, três de cada amostra nas análises microbiológicas e cinco de cada amostra na análise sensorial (queijo fresco com conservante *Bioprox*, queijo fresco com conservante *Biopress*, queijo fresco sem qualquer conservante e queijo fresco com sorbato de potássio).

Os conservantes testados no estudo foram o *Bioprox* SP 86, o *Biopress* e o sorbato de potássio. Sendo o último o conservante utilizado como controlo, uma vez que já é utilizado na produção de queijo fresco na queijaria. Nos ensaios foi também analisada uma amostra sem conservante de forma a verificar o comportamento da matriz do produto ao longo do estudo de vida útil.

O *Bioprox* SP 86 é constituído pela estirpe pura *Lactobacillus* SP86 liofilizada para aplicação direta na cuba. Este foi desenvolvido para a bioconservação de iogurtes e leites fermentados. A estirpe selecionada dispõe da capacidade inibitória de uma grande variedade de microrganismos incluindo fungos e leveduras. Este conservante deve ser adicionado juntamente com as culturas de arranque lácticas de forma a aumentar o tempo de vida útil dos produtos. Este apresenta um elevado nível de eficácia e não tem impacto na pós-acidificação.

O *Biopress* é composto por uma estirpe pura liofilizada de *Lactobacillus* em modo concentrado. O modo de aplicação é por inoculação direta ou semidirecta. Este deve ser utilizado em produtos lácteos.

O sorbato de potássio, sal de potássio ou ácido trans-2,4-hexadienóico é um conservante de cristais ou grânulos brancos. Este é normalmente utilizado nos lacticínios contra o crescimento de bolores. A sua ação depende de vários fatores incluindo o valor de pH,  $a_w$  e a microbiota inicial. A concentração permitida em produtos lácteos é de 1000 mg/kg (JECFA, 1998).

### 3.1.2. Análises microbiológicas

Tabela 11-Procedimentos utilizados nas análises microbiológicas realizadas.

Procedimento	
Preparação das amostras	ISO 6887-2:2003
Preparação das diluições	NP 3005:1985
Enumeração de <i>Escherichia coli</i>	ISO 16649-2: 2001
Enumeração de leveduras	ISO 21527-12008
Enumeração de bolores	ISO 21527-12008
Enumeração de <i>Staphylococcus coagulase</i> positiva	ISO 68882:1999/Amd1:2003
	AFNOR 3M-01/09-04/034

### 3.1.2. Análises sensorias

A avaliação sensorial do produto foi efetuada de forma cuidada, por provadores pertencentes ao painel de análise sensorial do laboratório Controlvet. Esta análise ocorreu no sétimo dia após produção, utilizando-se queijos escolhidos aleatoriamente das amostras enviadas. Foi realizada uma prova de comparação entre a amostra padrão e as amostras teste para as diferentes características organolépticas. Com esta análise pretendeu-se avaliar um conjunto de características relevantes para o produto em questão, como o aspeto, cheiro, cor, textura e sabor. O objetivo da prova era através da comparação com o padrão perceber se a amostra estava conforme, para cada parâmetro, e assim corresponder aos critérios de qualidade exigidos.

### 3.2. Modelo de Conceção e Desenvolvimento do Novo Produto

O modelo de conceção e desenvolvimento do novo produto cumpre com o exigido na NP 4458, em que são referidas as: entradas, tarefas, descrição das tarefas, saídas e responsável por cada fase.

Deste modelo resultaram três documentos:

- **Documento de Estudo Preliminar do Novo Produto (Apêndice I)**, como o nome indica é um documento de pesquisa e estudo dos pontos que são importantes conhecer antes de ser tomada uma decisão para um futuro planeamento do serviço/produto.
- **Documento de Planeamento do Novo Produto (Apêndice II)**, no qual é possível reunir toda a informação necessária a nível de recursos, custos e calendarização do projeto.

- **Documento de Desenvolvimento do Novo Produto (Apêndice III)**, toda a informação recolhida no decorrer dos testes de desenvolvimento do produto.

Estes documentos foram criados pelo departamento de inovação da empresa de forma a uniformizar todo o processo de inovação de produtos. Este processo está descrito na figura 10.

O Modelo de conceção e desenvolvimento do novo produto começa com uma ideia para um potencial produto. Esta pode surgir a partir da observação da concorrência, das necessidades dos clientes, do surgimento novas tecnologias, de alterações demográficas ou de alteração de regulamentos ou legislação. Todos os colaboradores da empresa podem ser responsáveis pela formulação da ideia do novo produto. A ideia para o produto desenvolvido neste estudo veio da parte da gestão de topo e do departamento da qualidade que foi avaliada pelo departamento de inovação e desenvolvimento relativamente à sua pertinência na estratégia definida pela empresa. Foi preenchido o documento do estudo preliminar do novo produto. Quando a ideia foi aprovada, o departamento de inovação definiu as características do novo produto. Seguidamente foram submetidas à aprovação por parte da gestão da empresa. Nesta fase, o departamento de inovação e a gestão definiram a equipa responsável pelo desenvolvimento do produto.

A fase do modelo que se seguiu foi o planeamento do projeto. O departamento de inovação completou o documento de planeamento de novos produtos onde estão referidos os recursos necessários (equipamentos, humanos, outros), os prazos e o responsável pela aquisição/disponibilização dos recursos, das etapas de implementação, respetivos prazos e responsáveis e os métodos de monitorização e/ou medição. Deu-se a validação do conteúdo deste documento por parte da gestão.

Foram implementadas as atividades definidas no plano de planeamento. Todos os procedimentos e resultados obtidos no processo de desenvolvimento do produto foram registados no documento de desenvolvimento de novos produtos. Durante a implementação foram aplicados os métodos de monitorização/medição. O acompanhamento e coordenação da implementação do serviço foram realizados pelo departamento de inovação. Os resultados da validação e todas as alterações resultantes das diferentes fases de implementação do novo produto foram registados em atas de reunião.

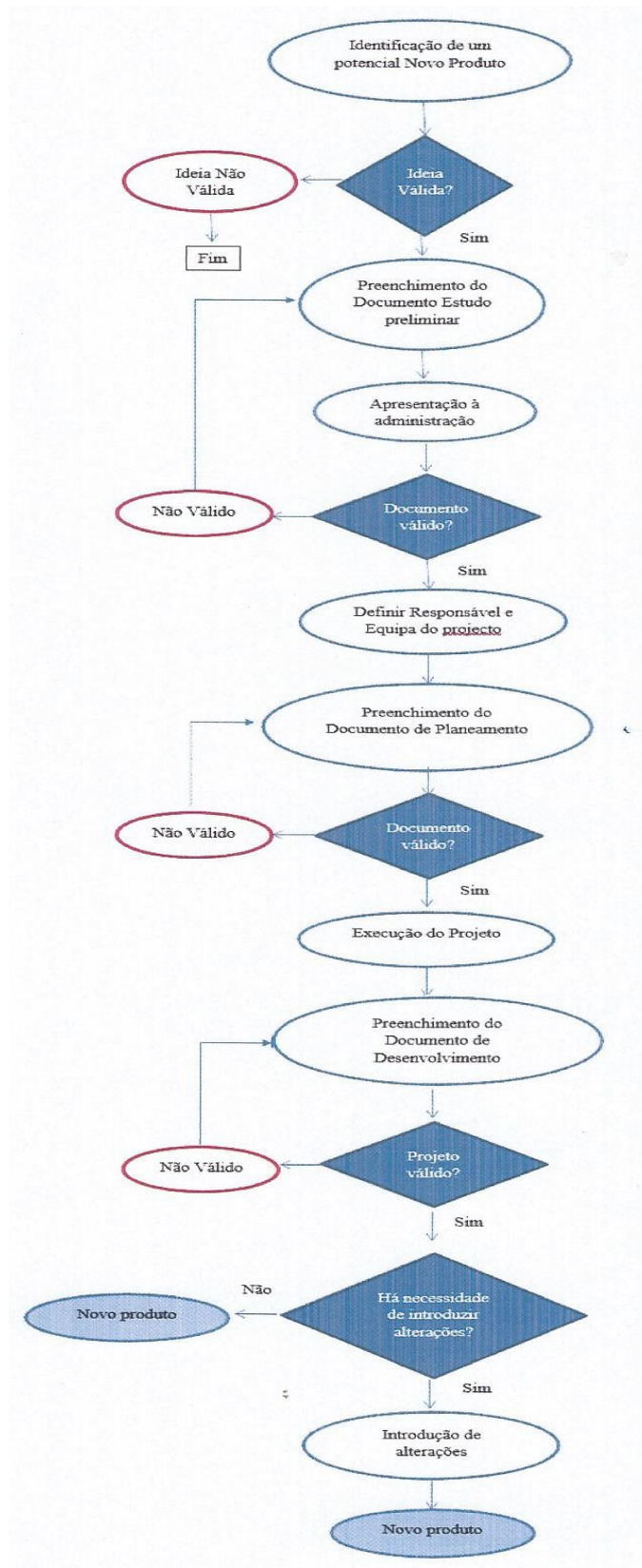


Figura 10-Fluxograma do processo de Desenvolvimento de Novos Produtos.

## Capítulo 4- Resultados e Discussão

### 4.1. Estudo de Validade

#### 4.1.1. Análises microbiológicas

O primeiro ensaio do estudo de validade do produto desenvolvido teve início no dia 30 de setembro de 2016. As amostras foram enviadas para laboratório externo (ALIP) e foram devidamente codificadas conforme a tabela 12.

Tabela 12- Codificação de amostras.

Codificação das Amostras	
<i>Bioprox</i> ®	Amostra 1
<i>Biopress</i> ®	Amostra 2
Sem conservante	Amostra 3

Tabela 13-Resultados das análises microbiológicas realizadas em 3 tempos distintos a 3 amostras de queijo fresco de vaca com diferentes conservantes na sua composição (UFC/g).

Parâmetro microbiológico	Dia	Resultados expressos em UFC/g		
		Amostra		
		1	2	3
<i>Escherichia coli</i>	5	$<1 \times 10^1$	$<1 \times 10^1$	$<1 \times 10^1$
	8	$<1 \times 10^1$	$<1 \times 10^1$	$<1 \times 10^1$
	12	$<1 \times 10^1$	$<1 \times 10^1$	$<1 \times 10^1$
Leveduras	5	$5,9 \times 10^2$	$9,5 \times 10^2$	$3,51 \times 10^3$
	8	$4,93 \times 10^2$	$6,9 \times 10^2$	$4,11 \times 10^3$
	12	$6,17 \times 10^2$	$1,63 \times 10^3$	$6,63 \times 10^2$
Bolores	5	$1 \times 10^1$	$1 \times 10^1$	$1 \times 10^1$
	8	$1,67 \times 10^1$	$1,67 \times 10^1$	$1,67 \times 10^1$
	12	$1 \times 10^1$	$1 \times 10^1$	$1 \times 10^1$
<i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	5	$1 \times 10^1$	$1 \times 10^1$	$1,33 \times 10^1$
	8	$1,33 \times 10^1$	$1 \times 10^1$	$1 \times 10^1$
	12	$1 \times 10^1$	$1 \times 10^1$	$1 \times 10^1$

O leite e os produtos lácteos oferecem aos microrganismos condições necessárias à sua multiplicação, o que os torna potenciais veiculadores de transmissão de bactérias patogênicas (Zottola & Smith, 1991). Na linha de produção de queijos existem várias etapas em que os

microrganismos podem ser introduzidos no produto. Assim, a qualidade do produto final é influenciada pelas condições higio-sanitárias em que o leite foi obtido, pelo processamento, qualidade da água, armazenamento, transporte da matéria-prima e do produto, devendo, portanto, cada etapa ser rigorosamente controlada, a fim de assegurar a inocuidade do produto final (Forsythe, 2002).

Entre os microrganismos que comprometem a qualidade e segurança dos produtos lácteos, *S. aureus* e os coliformes podem ser destacados. Os primeiros são importantes devido à possibilidade de produção de toxinas no alimento, enquanto que os coliformes são indicadores de contaminação fecal do produto e, portanto, do risco de transmissão de microrganismos patogênicos presentes nas fezes (Forsythe, 2002).

A presença de *E. coli* nos alimentos fica quase sempre a dever-se a más práticas de fabrico e falta de cuidados de higiene por parte dos manipuladores, mas também pode ser veiculada por matérias-primas de baixo nível higiénico (Adams, 2008; Ray, 2004). A sua presença constitui deste modo um excelente indicador relativo à higiene dos alimentos, alertando também para a eventual presença de outros microrganismos entéricos potencialmente mais perigosos como a *Salmonella* spp. (Anderson & Pacual, 2000).

Relativamente ao patogénico *E. coli*, (tabela 13) não se registaram diferenças entre as amostras ao longo do estudo. As contagens de *E. coli* encontram-se dentro do valor limite aceitável  $10^2$  UFC/g (UE, 2007), o que reflete as boas praticas de manipulação higiénica durante o fabrico dos novos queijos.

Quanto às contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva (tabela 13) registaram-se diferentes comportamentos entre as amostras. Observando-se um aumento da contagem no dia 8 na amostra 1, seguindo-se um decréscimo para o valor inicial 10 UFC /g. Na amostra 3 observaram-se contagens superiores inicialmente e decréscimo até ao final do estudo. No final do estudo todas as amostras revelaram as mesmas contagens 10 UFC, enquadrando-se no nível aceitável (UE, 2007). A amostra 2 foi a que apresenta menores valores neste parâmetro durante todo o período de estudo. As contagens de *Staphylococcus coagulase* positiva registam um decréscimo ligeiro ao longo do tempo, muito provavelmente associado ao efeito concertado da alteração do valor de pH e ao stresse imposto pela refrigeração (decorrente da conservação das frações a temperaturas inferiores a  $10^{\circ}$  C).

É importante considerar, que estafilococos coagulase positivos podem estar associadas a surtos de intoxicação estafilocócica, uma vez que existe uma relação estreita entre a capacidade do microrganismo produzir coagulase e sintetizar enterotoxinas (Orden, et al., 1992; CDC, 2000). Segundo (Forsythe, 2002),  $10^5$  UFC/g podem propiciar a produção de enterotoxinas, sendo o limite mínimo para produzir toxinas  $10^4$  UFC/g.

Os bolores são conhecidos por alterarem os alimentos, pois produzem enzimas que hidrolisam proteínas, lípidos e hidratos de carbono, dando origem a uma série de produtos dessa degradação, que promovem modificações na coloração, aparência desagradável, perda de sabor e também produção de metabolitos tóxicos, conhecidos como micotoxinas, tornando-os impróprios para o consumo (Franco & Landgraf, 1996). A presença de bolores e leveduras viáveis em número elevado podem indicar deficientes condições higiénicas de equipamentos, falhas no processamento e/ou armazenamento, além de matéria prima excessivamente contaminada (Lima, 2005; Franco & Landgraf, 1996).

O Regulamento (CE) 1441/2007 não apresenta limites para bolores e leveduras para os queijos. Os fungos fazem parte da microbiota normal das câmaras de cura de queijos e, neste ambiente, podem tornar-se indesejáveis por provocar alterações sensoriais nos queijos. O controlo de bolores e leveduras em queijos é muito importante porque podem provocar perdas económicas devido à alteração sensorial dos produtos e, também podem representar riscos para saúde pública uma vez que algumas espécies de bolores produzem micotoxinas (Franco & Landgraf, 1996).

Os microrganismos de deterioração analisados foram os bolores e as leveduras, os conservantes testados atuam principalmente sobre estes. No que diz respeito ao parâmetro bolores (tabela 13), todas as amostras apresentaram crescimento até ao dia 8 e depois houve um decréscimo na contagem ao dia 12. Não se verificou qualquer tipo de distinção entre as amostras neste parâmetro. Segundo os valores guia publicado pelo INSA em 2005 de 10 ufc/g, todas as amostras foram apreciadas como satisfatórias (Santos, et al., 2005).

Quanto ao parâmetro microbiológico leveduras (tabela 13) verificou-se um aumento do número de contagens da amostra 1, comparando o valor inicial com o final, sendo esta a que apresenta os melhores resultados ao longo do estudo. A amostra 2 apresentou a maior contagem de leveduras, registando assim, o pior desempenho, sendo classificada como aceitável pois ultrapassa as 100 ufc/g (Santos, et al., 2005). Quanto à amostra 3, houve uma contaminação muito acentuada inicialmente entre o dia 5 e 8, que decresceu significativamente ao dia 12 classificando-se como satisfatória. Este resultado pode dever-se ao facto desta amostra não possuir qualquer tipo de conservante que contrarie o crescimento microbiológico.

Pela observação dos dados como um todo pode-se destacar a amostra 1 como tendo os resultados mais promissores, no entanto não é possível retirar conclusões definitivas.

O segundo ensaio do estudo de validade do produto desenvolvido teve início no dia 05 de janeiro de 2017. As amostras foram enviadas para laboratório externo (Controlvet) e foram devidamente codificadas, conforme descrito na tabela 14.

Tabela 14-Codificação de amostras.

Codificação das Amostras	
<i>Bioprox</i> ®	Amostra 1
<i>Biopress</i> ®	Amostra 2
Sem conservante	Amostra 3
Sorbato de Potássio	Amostra 4

Tabela 15- Resultados das análises microbiológicas realizadas em 2 tempos distintos a 4 amostras de queijo fresco de vaca com diferentes conservantes na sua composição (UFC/g).

Parâmetro microbiológico	Dia	Resultados expressos em UFC/g			
		Amostra			
		1	2	3	4
<i>Escherichia coli</i>	10	$2 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
	14	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$4 \times 10^3$	$1 \times 10^1$
Leveduras	10	$1,4 \times 10^2$	$1,2 \times 10^2$	$6 \times 10^1$	$2,1 \times 10^2$
	14	$4 \times 10^1$	$2,8 \times 10^2$	$3,4 \times 10^2$	$4,8 \times 10^2$
Bolores	10	$2 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$1 \times 10^1$
	14	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$
<i>Staphylococcus coagulase</i> positiva	10	$2,1 \times 10^1$	$1 \times 10^1$	$1 \times 10^1$	$1 \times 10^2$
	14	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$7,3 \times 10^1$

Pela observação dos resultados para o parâmetro microbiológico *E. coli* (tabela 15) é possível destacar negativamente a amostra 3, estando acima do valor referência do parâmetro, 1000 ufc/g (UE, 2007). As amostras 2 e 4 apresentaram o mesmo comportamento, estando dentro do limite legal. A amostra 1 evoluiu positivamente, apresentando valores satisfatórios.

Em produtos que passam pelo processo térmico da pasteurização, pode-se recorrer à contagem de *E. coli* para comprovar a eficácia desta. A presença desta bactéria após processamento pelo calor é vista com grande preocupação, pois há uma elevada possibilidade da presença de patogênicos entéricos no gênero alimentício. A sua presença permite ainda dar uma indicação sobre as condições higiênicas da fábrica e/ou da possibilidade de ocorrência de contaminação pós-processamento (Downes & Ito, 2001; Ray, 2004).

Quanto aos resultados das contagens de leveduras (tabela 15), observa-se que a amostra 4 apresenta o maior nível de contaminação e a amostra 1 o menor nível de contaminação no dia 14. Na

amostra 1 verificou-se um decréscimo nas contagens, enquanto que nas restantes amostras observou-se um aumento. De acordo com os valores guia publicado pelo INSA em 2005 de 100 UFC/g, todas as amostras são apreciadas como aceitáveis (Santos, et al., 2005).

Relativamente às contagens de bolores (tabela 15), não se verificaram diferenças entre as amostras 2, 3 e 4. A amostra 1 apresentou maior grau de contaminação inicial, porém no último dia do estudo foi observada a mesma contagem que as restantes. Segundo os valores guia publicado pelo INSA em 2005 de 10 ufc/g, todas as amostras são apreciadas como satisfatórias (Santos, et al., 2005).

Quanto às contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva verifica-se que a amostra 4 se destaca pela negativa, tendo ao longo do estudo apresentado um grau de contaminação acima do limite recomendado de 10 UFC/g (UE, 2007). Pelo contrário as amostras 2 e 3 apresentaram contagens estáveis abaixo do limite aceitável.

Das 68 amostras de queijo analisadas, 65 cumpriram com os requisitos de higiene dos processos legalmente estipulados (UE, 2007). Sendo que no primeiro ensaio realizado, a amostra 2 (conservante *Biopress*) no parâmetro leveduras foi classificada como “Aceitável”. No segundo ensaio, a amostra 3 (sem conservante) para o parâmetro *E. coli* foi apreciada como “Insatisfatória” em virtude de ter ultrapassado o limite máximo de contaminação de 1 000 UFC/g. Este microrganismo é potencialmente patogénico, o que pode comprometer a segurança do produto. A amostra 4 (conservante sorbato de potássio) para o parâmetro de *Staphylococcus* coagulase positiva foi classificada como “Aceitável” (UE, 2007).

#### 4.1.2. Análises sensoriais

Tabela 16- Resultados dos parâmetros de análise sensorial analisados às 4 amostras de queijo fresco de vaca. C- Característico do produto

Parâmetro microbiológico	Amostra			
	1	2	3	4
Aspecto	C	C	C	C
Cheiro	C	C	C	C
Cor	C	C	C	C
Textura	C	C	C	C
Sabor	C	C	C	C

Em paralelo com análises microbiológicas das amostras dos novos queijos, fez-se também a análise sensorial do produto nas diferentes amostras, classificando-se os atributos aspecto geral, cor ao corte, cheiro, sabor e textura no produto no período de armazenamento ao dia 7 do estudo.

O propósito da avaliação dos parâmetros das características organolépticas é o de cruzar a informação com a das análises microbiológicas de forma a determinar o ponto de salubridade do produto. Sendo este ponto essencial para a determinação do prazo de validade.

O desenvolvimento de novos produtos alimentares deve considerar no seu estudo uma análise sensorial efetuada em colaboração com os potenciais consumidores alvos, onde se podem estudar as reações e aceitação por parte dos consumidores, de forma a avaliar o potencial mercado do produto. É necessário ouvir a opinião do consumidor e refazer o produto de modo a corresponder às suas necessidades, exigências e expectativas (Valente, 2012).

O aspecto geral de qualquer produto alimentar constitui um atributo fundamental para o seu sucesso comercial, já que é a primeira impressão causada no consumidor e influencia a sua tomada de decisão no momento da escolha e compra de um produto para a satisfação das suas necessidades (Hansen & Knochel, 1995). Este atributo é fundamental e contribui para as primeiras sensações causadas no consumidor e consequentemente nas consequências da interação com o produto (Ranken, 2000).

A textura é outro importante atributo nos alimentos sólidos, traduz várias propriedades mecânicas, geométricas e de superfície que resultam da interação molecular entre os diferentes constituintes do alimento e que são percepcionáveis principalmente pelo tato, mas também pela visão e pela audição (Hansen & Knochel, 1995).

Numa segunda fase, quando os queijos são cortados para serem servidos em ambiente doméstico ou hoteleiro, a cor ao corte constitui, provavelmente com o cheiro, os atributos mais importantes que influenciam a percepção do consumidor relativamente à qualidade organoléptica do produto (Valente, 2012).

O sabor de um alimento depende basicamente das características das matérias primas utilizadas na sua formulação, e na forma como interagem entre si no produto. As alterações no sabor podem alertar o consumidor para um pior estado de salubridade de um determinado alimento (Ranken, 2000)

Tal como no cheiro, também a evolução do sabor dos alimentos pode ter origem em alterações microbiológicas e oxidativas (Ranken, 2000).

O olfacto é o sentido que nos permite avaliar o cheiro dos alimentos e retirar dessa sensação prazer e eventualmente conclusões sobre a qualidade do produto. Assim, os cheiros menos agradáveis estão normalmente relacionados com menor salubridade do produto (Ranken, 2000).

Nesta prova todos os parâmetros avaliados encontravam-se aceitáveis, característicos do queijo fresco de vaca (tabela 16).

#### **4.2. Estudos em queijos com conservantes de origem biológica**

Muitos estudos focalizaram-se na aplicação de estirpes bacteriocinogénicas em alimentos. A produção de bacteriocinas *in situ* apresenta várias vantagens em relação à adição de preparações produzidas *ex situ*, embora seja frequentemente necessária uma seleção cuidadosa de estirpes bacteriocinogénicas para assegurar a sua adaptação ao ecossistema alimentar específico. Como muitos alimentos são conservados sob refrigeração, estirpes psicotróficas capazes de produzir bacteriocinas durante o armazenamento de alimentos podem trazer vantagens (Gálvez, et al., 2008).

Recentemente, um estudo com BAL isoladas de queijos tradicionais portugueses de leite cru revelou vários lactobacilos com actividade antibacteriana contra patógenos como *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *Salmonella newport* e até *E.coli* (Kongo, 2013). Estudos em queijos artesanais evidenciam a atividade inibitória de bactérias do ácido láctico contra microrganismos patogénicos como *L. monocytogenes* e *Salmonella* ssp (Alexandre, Silva, & Souza, 2002); (Neto, et al., 2005). Vários autores (Alexandre, Silva, & Souza, 2002; Caridi, et al., 2003; Neto, et al., 2005; Martins, Mendonça, & Silva, 2006; Chioda, et al., 2007) já comprovaram a atividade antimicrobiana de bactérias lácticas face a microrganismos patogénicos como *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli* e *Salmonella spp.*

Foram selecionadas estirpes de BAL com atividade antimicrobiana, previamente isoladas de um queijo artesanal tradicional açoriano (queijo Pico), de modo a identificar aquelas com maior potencial na redução de *L. monocytogenes* em queijo fresco. Oito estirpes produtoras de bacteriocinas identificadas como *Lactococcus lactis* e *Enterococcus faecalis* foram testadas. A atividade de bacteriocina foi detectada apenas nos queijos frescos inoculados com duas estirpes de *Enterococcus*, mas todos os queijos produzidos com estirpes produtoras de bacteriocinas inibiram o crescimento de *L. monocytogenes*. O número de colónias de *L. monocytogenes* foi monitorizado durante o armazenamento de queijo fresco à temperatura de refrigeração (4 ° C) até 15 dias. Após 7 dias, esta redução foi de aproximadamente 4 unidades de log comparado ao controlo positivo (Coelho, et al., 2014)

Jamuna, Babusha, & Jeevaratnam, (2005); Gao & Ju, (2008); Al-Holy et al, (2012) concentraram-se em combinar a aplicação de diferentes tecnologias com a nisina para inibir os microrganismos de deterioração ou patogénicos em queijos. Al-Holy et al, (2012) demonstraram que o aquecimento moderado em conjunto com o tratamento com nisina (1000 e 1500 IU/mL) resultou na eliminação total de *L. innocua* em queijo branco salgado armazenado sob condições de refrigeração normais (4°C) e superiores (10°C). Diferentes estirpes bacteriocinogénicas de *Lc. lactis* e *Lc. cremoris* foram

aplicados em conjunto com nisina por Ayad, (2009) para o desenvolvimento de estirpes de arranque para melhorar a segurança e a qualidade nutricional do queijo Domiati. Baseada na avaliação sensorial (aparência e sabor) e na aceitabilidade microbiológica de limite para leveduras (5 log UFC / g), o uso de nisina prolongou a vida útil do queijo Galotyri fresco armazenado a 4 ° C (Kykkidou et al, 2007; Favaro, Penna, & Todorov, 2015).

Várias espécies de enterococos (*Enterococcus durans*, *E. hirae*), lactobacilos (*Lb. casei*, *Lactobacillus coryniformis*, *Lb. paracasei*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. plantarum*), pediococos (*Pediococcus pentosaceus*, *Pediococcus acidilactici*) e lactococos (*Lc. lactis*) foram descritos como antifúngicos (Schnäurer & Magnusson, 2005; Crowley, Mahony, & Van Sinderen, 2013). A sua aplicação no setor de queijos pode ser muito importante, uma vez que os produtos lácteos são particularmente suscetíveis a contaminações fúngicas que levam à deterioração dos alimentos (mau sabor, deterioração da aparência visual) e, conseqüentemente, levam a importantes perdas económicas (Favaro, Penna, & Todorov, 2015).

As estirpes bacteriocinogénicas de *Enterococcus* e *Lactobacillus* spp. têm geralmente baixa capacidade de acidificação no leite e apenas um número limitado de estirpes tem a capacidade de hidrolisar proteínas e lípidos. Foi realizado um extenso levantamento das atividades acidificantes, lipolíticas e proteolíticas em mais de 250 diferentes estirpes de BAL (principalmente isolados de *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* spp.) No entanto, apenas 8% das estirpes exibiram fenótipos promissores em termos de produção de lipase e protease, enquanto muito poucos apresentaram capacidade acidificante interessante. Isto é confirmado pela disponibilidade muito limitada de produtos comerciais recomendados para o controle de microrganismos de deterioração e prevenção de patogénicos em produtos lácteos fermentados (por exemplo: Danisco DuPont, Holdbac YM-B Plus, Holdbac YM-C Plus, Holdbac LC e Holdbac\_Listeria, composto por *Lb rhamnosus* e *P. freudenreichii* subsp *shermanii*) (Favaro, Penna, & Todorov, 2015).

Os enterococos são usados como culturas de arranque de BAL ou adjuvantes em muitos queijos tradicionais do Mediterrâneo. Nuñez et al., (1997) investigaram a inibição de duas estirpes de *L. monocytogenes* por enterocina 4, produzida in situ por *E. faecalis* INIA 4 durante a produção e cura de queijo Manchego. A população de *L. monocytogenes* Ohio, inicialmente a 10<sup>5</sup> células por mL em leite cru, diminuiu para menos de 10<sup>2</sup> células por grama de coalho 8 h após o início da produção quando *E. faecalis* INEA 4 foi utilizado como cultura de arranque ou adjunta exclusiva (Grattepanche, et al., 2008).

Outros compostos antimicrobianos foram testados em produtos de queijo nos últimos anos. As formulações de *Microgard*® compostas por diacetil, bem como ácido láctico, propiónico e acético e outros inibidores indefinidos de baixa massa molecular em torno de 700 Da (Al-Zoreky, Ayres, & Sandine, 1991), obtidos por fermentação de leite desnatado grau A (*Microgard* 100) ou dextrose (*Microgard* 200) com *Propionibacterium shermanii* ou lactococos específicos. Produtos *Microgard* foram aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA) nos EUA para uso em queijo cottage e

estima-se que seja adicionado a 30% do queijo produzido. Além disso, a FDA aprovou os metabolitos produzidos por *Propionbacterium* com estatuto GRAS. Estudos conduzidos com *Microgard* 100 demonstraram que ele prolonga a vida útil do queijo cottage inibindo a deterioração e bactérias patogénicas, incluindo *Pseudomonas* spp., *Salmonella* spp. e *Yersinia* e certos fungos (Al-Zoreky, Ayres, & Sandine, 1991). *Microgard* 300 foi desenvolvido para atingir as bactérias Gram-positivas (Favaro, Penna, & Todorov, 2015).

A enterocina AS-48 é uma das bacteriocinas cíclicas mais estudadas, com um amplo espectro de atividade, mostrando notável estabilidade ao pH e ao calor, o que a torna candidata ideal para a aplicação como conservante alimentar. A eficácia da bacteriocina AS-48 no controlo de estafilococos em meio de cultura foi demonstrada (Grattepanche, et al., 2008). Além disso, foi demonstrado que os conservantes químicos, como nitrito de sódio, lactato de sódio, cloreto de sódio, agentes quelantes e tratamento térmico moderado atuam sinergicamente com enterocina AS-48 contra patogénicos de origem alimentar, como *Bacillus cereus*, *S. aureus*, *Salmonella choleraesuis* e *E. coli* O157: H7 quando aplicado em meios de cultura em laboratório (Grattepanche, et al., 2008). Além disso, a eficácia da enterocina AS-48 para controlar *S. aureus* em leite desnatado e queijo fresco foi testada, observando-se os maiores níveis de inibição ( $4 \times 10^2$  log UFC / g abaixo dos controlos) na primeira semana de armazenamento (Favaro, Penna, & Todorov, 2015)

A lacticina 3147 também demonstrou ser um bioconservante eficaz em muitas aplicações alimentares. A utilização de um transconjugante produtor de lacticina resultou numa redução de 5 log de *L. monocytogenes* ao longo de 5 dias num ensaio em que o patogénico foi intencionalmente adicionado ao produto durante o seu fabrico (MacAuliffe, Hill, & Ross, 1999). Quando a lacticina 3147 foi combinada com alta pressão hidrostática para a inativação de *L. innocua*, os resultados demonstraram um efeito aditivo quando os tratamentos foram usados em combinação (Morgan, et al., 2000). Além disso, resultados preliminares demonstram a eficácia da bacteriocina para prolongar a vida útil do leite pasteurizado (Ross, Morgan, & Hill, 2002).

O'Sullivan, O'Connor, Ross, & Hill, (2006) investigaram a lacticina 3147 como um tratamento para o controle de *L. monocytogenes* na superfície do queijo. No entanto, os resultados relatados parecem indicar que uma combinação de BAL de alta produção de bacteriocina selecionado e a bacteriocina semi-purificada ou outro conservante alimentar permitido pode ser uma resposta para o controlo mais bem-sucedido de *Listeria* spp. na produção de queijos.

O controlo de leveduras e fungos de deterioração é tradicionalmente feito por aditivos químicos, como os ácidos sórbico e benzoico, que possuem um amplo espectro de atividade. A natamicina produzida por *Streptomyces natalensis* é eficaz contra fungos e usada como conservante comum em superfícies de queijo duro. Em contraste, os consumidores estão exigindo cada vez mais alimentos de alta qualidade, seguros e levemente processados, com longa vida útil e baixa ou nenhuma adição de conservantes químicos. Além disso, os fungos também mostraram um aumento da resistência a antibióticos e conservantes químicos, como os ácidos sórbico e benzoico. Assim, a aplicação de culturas alimentares antifúngicas protetoras tem um elevado potencial, especialmente em produtos

lácteos, como queijos ou leites fermentados. Até agora, apenas algumas culturas protetoras antifúngicas são comercializadas e suas aplicações ainda estão surgindo, especialmente para produtos lácteos. Atualmente, duas culturas protetoras são comercializadas pela Danisco (Danisco, Copenhagen, Dinamarca) como a linha HOLDBACTM, combinando duas estirpes de *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* JS e *Lactobacillus rhamnosus* LC705 ou *Lactobacillus paracasei* SM20. Ambas as culturas foram testadas com sucesso em iogurte e na superfície do queijo duro para evitar a deterioração por leveduras e bolores (Grattepanche, et al., 2008).

Os queijos também são suscetíveis à deterioração por bolores capazes de resistir a ambientes com baixo teor de oxigênio, como o *Penicillium roqueforti*. Três estirpes de *Lb. plantarum* isolados demonstraram capacidade antifúngica quando utilizados como adjuntos durante a produção de queijo cheddar (Crowley, Mahony, & Van Sinderen, 2013). Além disso, a vida útil de fatias de queijo processadas foi prolongada após o tratamento com BAL com propriedades antifúngicas contra *Aspergillus alternata* (Garcha & Natt, 2012) ou *Aspergillus oryzae* e *Aspergillus niger* (Muhialdin, et al, 2011; Favaro, Penna, & Todorov, 2015).

#### **4.3. Modelo de Conceção e Desenvolvimento do Novo Produto**

De forma a corresponder ao objetivo de criar um procedimento de desenvolvimento de novos produtos elaborou-se um conjunto de documentos baseados na NP 4458:2007. Em primeiro lugar, no “Documento Estudo Preliminar do Novo Produto” (apêndice I) realiza-se uma reflexão detalhada sobre o potencial do novo produto em alinhamento com a estratégia da empresa. Este documento dá uma ideia mais precisa do novo serviço/produto, que lacunas vai preencher e se há espaço no mercado para este novo serviço/produto. Deve ser preenchido pelos colaboradores que tiveram a ideia e pelo departamento de inovação e desenvolvimento. Começa com a identificação do autor ou autores e depois com a descrição do novo produto ou serviço, descrevendo de melhor forma possível, o problema ou a oportunidade a que dá resposta. Em seguida refere a origem do conceito ou ideia, explicando quais as necessidades dos clientes ou necessidades do mercado e se surgiu delas. De seguida deve indicar o tipo de inovação inerente (apêndice I). A seguir deve-se elaborar um breve resumo sobre o estado de arte, ou seja, o estudo, num dado momento, do estado dos conhecimentos. Este resumo deve descrever a situação atual em termos científicos, tecnológicos e de mercado. Deve também caracterizar as limitações das soluções existentes e os benefícios resultantes do novo produto / serviço. Por fim é descrita a dimensão esperada do mercado. É esperado que o preenchimento deste documento seja feito pelos colaboradores e pelo departamento de inovação e desenvolvimento para que seja o mais completo e preciso possível, de forma a dar uma visão bastante real.

O “Documento de Planeamento do Novo Produto” foi criado para que o potencial novo produto seja planeado de forma mais eficaz, tentando incluir toda a informação possível, para quando for avaliado, seja mais fácil por parte do departamento de inovação e desenvolvimento e da administração da empresa tomarem uma decisão. Este documento é preenchido pelo responsável e equipa de projeto.

É constituído por uma primeira parte onde são referidos: a designação do produto/serviço, os riscos do projeto e as parcerias, subcontratações necessárias ao longo da implementação do serviço/produto, controlo, verificação e validação das atividades, gestão de mudanças e resultados. Numa segunda parte, inclui o preenchimento de um quadro onde estão definidas as fases, tarefas, necessidades de recursos humanos e de outros recursos, o responsável por cada tarefa, calendarização e métodos de monitorização de cada tarefa (por exemplo auditorias, tratamento de não conformidades, ações corretivas e ações preventivas) (apêndice II).

Para o documento estar mais organizado e de fácil preenchimento as fases do projeto foram divididas em quatro grandes grupos, onde cada um inclui diversas tarefas:

1. A Avaliação da Conformidade legal
2. A Implementação:
3. A Avaliação
4. A Consolidação

Este foi preenchido tendo por base as pesquisas feitas sobre o desenvolvimento do produto e com os problemas e dificuldades que foram surgindo durante as reuniões de elaboração deste trabalho. Por último, o departamento de inovação e desenvolvimento e a administração da empresa devem validar e colocar a data da validação.

O “Documento de Desenvolvimento de Novo Produto” foi desenhado para conter toda a informação necessária ao desenvolvimento de um produto alimentar. A primeira parte é constituída pela receita do produto, em que são referidos os ingredientes e respectiva quantidade. De seguida a seção procedimento, deve ter a informação com maior detalhe possível dos passos realizado nos ensaios. O fluxograma do processo deve constar também neste documento para que a informação seja facilmente percebida. Uma parte essencial do desenvolvimento do produto é a definição do prazo de validade que deve ser testada laboratorialmente. Todos os resultados obtidos nas análises laboratoriais devem fazer parte do documento. Por último é realizada a ficha técnica de produto, na qual devem constar a apresentação do produto, formato, dimensão, peso, composição, características microbiológicas, informação nutricional, rotulagem, utilização prevista, condições de conservação, validade, menções relativas a compostos alergénicos e requisitos de embalagem (apêndice III).

Cada vez mais existe uma maior vontade de mudar e inovar, tentando perceber as necessidades do mercado, dos clientes e das empresas. Inúmeros organismos públicos e organizações nacionais e estrangeiras avaliam projetos de IDI e não sendo de cumprimento obrigatório, complementa e suporta a norma de requisitos do sistema de gestão da IDI. Os benefícios em normalizar estes projetos são variados e justificativos desta normalização pois é uma orientação inequívoca para os participantes nos projetos e para a definição de procedimentos associados; facilita a sistematização dos projetos e melhora a sua gestão; harmoniza e reduz o trabalho dos organismos avaliadores; promove o

reconhecimento das práticas e reforça a confiança nos resultados; e define requisitos para um projeto de IDI (inovação de produto, processo, organizacional ou de marketing) (Vinagre, 2013)

Assim sendo, vários são os estudos de projetos de inovação estudados. Numa empresa de consultoria e inovação nos setores agroalimentar e agrícola, Consulai, foi estudado o modelo de IDI já utilizado para a criação de novos produtos e serviços, de forma a perceber se este continuava a servir de base de estudo e pesquisa para a empresa. Foram necessárias algumas alterações, assim sendo elaborou-se um novo modelo de conceção e desenvolvimento para novos produtos e serviços apostando numa maior pesquisa de informação por parte dos colaboradores da empresa antes de validarem qualquer fase do projeto. Concluiu-se que o novo modelo obriga a uma maior pesquisa e participação por parte dos colaboradores da empresa e a uma maior hipótese da ideia do potencial novo serviço/produto não se perder tão facilmente. Considerou-se importante verificar melhor as fases de controlo, verificação e alterações necessárias durante o processo na aplicação do novo modelo (Vinagre, 2013).

Outro exemplo de aplicação das normas IDI, foi um estudo realizado a uma instituição de Ensino Superior e de um Laboratório de Estado, em que se pretendeu avaliar as forças competitivas e as fragilidades. Os resultados obtidos reforçam a necessidade de considerar na fase de planeamento, os riscos previstos para o projeto, que podem afetar de forma relevante a execução, os resultados, a duração e os custos, estabelecer planos de mitigação e procedimentos de atuação. Ao observar as instituições conclui-se que, o facto de recorrerem a fontes de financiamento externo induziu a monitorização de resultados e dos custos do projeto. Constatou-se o benefício da lista de verificação dos requisitos de projetos IDI, no sentido de instituir práticas de acompanhamento interno a instituições que desenvolvem este tipo de projetos e de avaliação externa a entidades certificadoras ao nível da certificação da Gestão de Projetos de IDI. Foi possível identificar, que a Certificação dos Projetos de IDI lhes confere credibilidade e transparência sobre o conteúdo em IDI, e permite demonstrar interna e/ou externamente, qual o seu teor efetivo em IDI, avaliando-se orçamentos e custos para verificar a adequabilidade do investimento. Da investigação efetuada, confirmou-se que os princípios inerentes à Gestão da Qualidade, permitem potenciar as práticas inovadoras, e que a Certificação da Gestão da Inovação, não condiciona a criatividade, podendo ser um passo relevante na consolidação dessas práticas (Rocha, 2012).

## **Capítulo 5- Conclusão**

Com a crescente importância da inovação no novo contexto competitivo, o planeamento e a gestão de ideias geram maior conhecimento, que pode ser utilizado para resolver problemas do dia a dia. Podem gerar produtos e serviços novos de valor acrescentado, novas linhas de negócio, tornando as empresas mais inovadoras e, por consequência, mais sólidas no mercado para enfrentar a competitividade emergente. Constatou-se a importância do planeamento e gestão no processo de inovação e se esta for assumida pela gestão de topo, interiorizada numa cultura de melhoria contínua e orientada por ferramentas adequadas, aumenta-se a probabilidade de sucesso do novo produto.

Como demonstrado no decorrer da dissertação são diversas as vantagens da utilização do referencial de inovação, bem como da gestão e planeamento do projeto no desenvolvimento de novos produtos. A criação dos documentos baseados na norma NP 4458:2007 permitiu contemplar todos os requisitos de um projeto IDI, sendo especialmente importante na questão do planeamento e da monitorização do mesmo. O facto de se seguir um procedimento e existir avaliação em cada fase permite verificar se a ideia tem as componentes necessárias para ser posta em prática e ser um sucesso no pós-lançamento do produto. Este escrutínio permite acautelar a empresa de forma a fazer uma gestão consciente de todos os recursos envolvidos, evitando custos desnecessários. Este tipo de gestão baseado numa cultura de melhoria contínua contempla os processos da organização e aprende com os erros para melhorar práticas. Sabe-se que muitos casos de sucesso são construídos sobre algumas dezenas ou centenas de experiências fracassadas. Por seu lado, a cultura de investigação característica destas organizações encerra, em si mesma, uma prática focada na experimentação, também ela necessária aos processos criativos. As ferramentas de gestão de projetos, revelam-se neste contexto, fundamentais para se atingir o equilíbrio entre os custos da referida experimentação e as expectativas das receitas.

Ao longo do estudo foram surgindo algumas limitações que condicionaram em parte o resultado final. Os ensaios do estudo de validade foram realizados em laboratórios diferentes, este facto pode interferir na comparação direta dos resultados obtidos, uma vez que as metodologias diferem em alguns parâmetros analisados. Esta situação ocorreu devido à alteração da contratualização com a empresa prestadora de serviços. A análise sensorial da amostra foi realizada no segundo ensaio de estudo de validade. Apenas nesse ensaio é possível tirar conclusões acerca das características organolépticas do produto durante o prazo de validade do mesmo. Esta situação ocorreu porque não foi devidamente acautelada no documento de planeamento do estudo, sendo depois introduzida. De forma a obter dados para uma comparação fiável é necessário realizar o planeamento das provas de análise sensorial. O ideal será realizar várias provas de análise sensorial durante o estudo, de modo

a que seja possível encontrar o ponto de corte, em que as características não se encontram conformes, e assim juntamente com as análises microbiológicas definir o prazo de validade. Uma mais valia para o estudo seria a realização de uma prova de análise sensorial descritiva por parte de um painel de consumidores. Estes dados seriam importantes para a empresa formular um produto mais aproximado das necessidades reais do consumidor.

Com base na análise microbiológica e sensorial realizados no âmbito do estudo de validade, a melhor formulação foi a que inclui o conservante biológico *Bioprox*. Nos dois ensaios realizados, os resultados obtidos mantiveram-se constantes e classificados com sendo “satisfatórios” em todos os parâmetros microbiológicos analisados. Porém, os resultados obtidos não são conclusivos, não se observando grande diferença entre as amostras. É necessária a realização de mais estudos de forma a eleger um conservante que corresponda aos interesses da empresa, prolongando convenientemente o tempo de vida útil do produto. Os ensaios realizados e toda a pesquisa efetuada fazem parte de um estudo piloto que carece da posterior aplicação industrial. Sendo assim, no seguimento deste ensaio preliminar compreende-se a necessidade de ajustar o produto, através da concretização de etapas, só possíveis no contexto industrial.

## **Capítulo 6- Trabalho Futuro**

O uso de bacteriocinas pode ajudar a reduzir a adição de conservantes químicos, bem como a intensidade de tratamento térmico o que poderia resultar em alimentos mais naturais e com propriedades sensoriais e nutricionais melhores. A aplicação de culturas bacteriocinogênicas no controlo de microrganismos de deterioração não pode ser apresentada como solução exclusiva para resolver os problemas relacionados com a conservação de produtos lácteos fermentados. De um lado, as culturas iniciadoras ou adjuntas podem contribuir para a segurança do produto final, mas é necessário considerar que as substâncias antimicrobianas têm suas limitações. Assim sendo, a melhor opção é procurar a combinação ideal de métodos de conservação tradicionais e métodos inovadores.

Existem diversos estudos em que pimenta verde, ácido sórbico, benzoato de sódio, ácido benzoico, peróxido de hidrogénio, nisina, natamisina e quitosano têm sido usados para prolongar o tempo de vida útil do queijo (Jalilzadeh, Tunçturk, & Hesari, 2015), bem como óleos essenciais (Amatiste, et al., 2014) e extratos de gengibre e alho (Belewu, Belewu, & Nkwunonwo, 2005). Estes têm apresentado resultados promissores no que diz respeito à utilização de conservantes biológicos no queijo, no entanto são necessários mais testes em diferentes aplicações e matrizes.

Outros métodos são utilizados na conservação do queijo para além da bioconservação, que têm resultados interessantes e que evoluíram bastante a nível tecnológico. Entre os quais destacam-se o tratamento de alta pressão (Evert-Arriagada, et al., 2012), embalagens ativas, filmes com substâncias antimicrobianas e embalagens feitas a partir de biomateriais (Robertson, 2009). Sendo necessários mais estudos em diferentes aplicações e que os aditivos sejam comercialmente vantajosos.

A estratégia da empresa centra-se, neste momento, no aumento de vendas que passa pelo marketing e pelo desenvolvimento de novos produtos aliados à excelência no ramo da qualidade e segurança alimentar. Tem-se verificado que os sistemas de Gestão da Qualidade e de Gestão da Inovação podem coexistir e interagir favoravelmente em diversas empresas e contextos (Rocha, 2012). Assim, sugere-se a coexistência favorável a sistemas de Gestão de outras valências. A empresa para atingir os objetivos a que se propõe deve preparar-se para avançar para o processo de certificação na área da segurança alimentar e IDI. Sendo uma oportunidade única da empresa agregar os sistemas de gestão, de forma a retirar resultados e benefícios proveitosos para a mesma.

## **Referências Bibliográficas**

- Adams, M. R. (2008). *Food Microbiology* (3th ed.). Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry.
- Alexandre, D., Silva, M., & Souza, M. (2002). Atividade antimicrobiana de bactérias lácticas isoladas de queijo-de-minas artesanal do Serro (MG) frente a microrganismos indicadores. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 54(4), 5-13.
- Al-Holy, M. A., Al-Nabulsi, A., Osaili, T. M., Ayyash, M. M., & Shaker, R. R. (2012). Inactivation of *Listeria innocua* in brined white cheese by a combination of nisin and heat. *Food Control*, 23(1), 48-53.
- Alvarenga, N. (2000). *Estudos em textura de Queijo Serpa. Dissertação para obtenção do grau de mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos*; Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa - Instituto Superior de Agronomia.
- Al-Zoreky, N., Ayres, J., & Sandine, W. E. (1991). Antimicrobial activity of Microgard® against food spoilage and pathogenic microorganisms. *Journal of Dairy Science*, 74(3), 758-763.
- Amatiste, S., Sagrafoli, D., Giacinti, G., Rosa, G., Carfora, V., Marri, N., Rosati, R. (2014). Antimicrobial activity of essential oils against *Staphylococcus aureus* in fresh sheep cheese. *Italian Journal of Food Safety*, 3(1696), 148-150.
- Ananou, S., Maqueda, M., Martinez Bueno, M., & Valdivia, E. (2007). Biopreservation, an ecological approach to improve the safety and shelf-life of foods. *Communication Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*, 475-483.
- Anderson, M., & Pacual, V. (2000). *Microbiologías alimentaria. Metodología analítica para alimentos y bebidas*. (2ª ed.). Madrid, Espanha: Dáz de Santos, S.A.
- Ayad, E. (2009). Starter culture development for improving safety and quality of Domiati cheese. *Food Microbiology*, 26(5), 533-541.
- Baker, A. (2002). *Personal Communication*. Auckland, New Zealand: Pak´N Save.
- Belewu, M. A., Belewu, K. Y., & Nkwunonwo, C. C. (2005). Effect of biological and chemical preservatives on the shelf life of West African soft cheese. *African journal of Biotechnology*, 4(10), 1076-1079.

- Beresford, T. P., Fitzsimons, N. A., Brennan, N. L., & Cogan, T. M. (2001). Recent advances in cheese microbiology. *International Dairy Journal*, 11, 259-274.
- Booz-Allen and Hamilton, Inc. (1982). *New product management for the 1980s*. New York.
- Calderón, O., Padilla, C., Villalobos, L., & Arias, M. L. (2007). Evaluación del efecto del cultivo probiótico *Lactobacillus rhamnosus* adicionado a yogurt natural y con probióticos comerciales sobre poblaciones de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella enteritidis*. *Arch Latinoamer Nutric* 57(1), 51-56.
- Canada, J. (2001). *Caracterización sensorial y físico – química del Queijo Serpa. Dissertação para optar al grado de Doctor en Tecnología de los Alimentos*; Cáceres: Universidad de Extremadura - Facultad de Veterinaria.
- Caridi, A., Micari, P., Foti, F., Ramondino, D., & Sarullo, V. (2003). Ripening and seasonal changes in microbial groups and in physico-chemical properties of the ewes' cheese Pecorino del Poro. *International Dairy Journal*, 13(2-3), 191-200.
- Carvalho, J. D. (2007). *Caracterização da microbiota láctica isolada de queijo de coalho artesanal produzido no Ceará e de suas propriedades tecnológicas*. Campinas: Departamento de Tecnologia de Alimentos - Universidade Estadual de Campinas.
- Cavalcante, J. F., Andrade, N. J., Furtado, M. M., Ferreira, C. L., Pinto, C. L., & Elard, E. (2007). Processamento do queijo coalho regional empregando leite pasteurizado e cultura endógena. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27(1), 205-214.
- CDC. (2000). *Guidelines for confirmation of Foodborne-Disease outbreaks, Morb and Mort, W. Report. 49, 54-62*. Obtido em 30 de julho de 2017, de Center for Disease Control: [http://www.cdc.gov/outbreaknet/references\\_resources/guide\\_confirming\\_diagnosis.ht](http://www.cdc.gov/outbreaknet/references_resources/guide_confirming_diagnosis.ht)
- Centre for Food Safety. (2007). *Microbiological Guidelines for Ready-to-eat Food*. Hong Kong: Food and Environmental Hygiene Department.
- Chioda, T., Schocken-Iturrino, R., Garcia, G. R., Pigatto, C., & Ribeiro, C. A. (2007). Inibição do crescimento de *Escherichia coli* isolada de Queijo Minas Frescal por *Lactobacillus acidophilus*. *Ciência Rural*, 37(2), 12-15.
- Clark, S., Costello, M., Drake, M., & Bodyfelt, F. (2009). *The Sensory Evaluation of Dairy Products*. USA: second edition, Springer.
- Coelho, M., Silva, C., Ribeiro, S., Dapkevicius, M., & Rosa, H. (2014). Control of *Listeria monocytogenes* in fresh cheese using protective lactic. *International Journal of Food Microbiology*, 191, 53-59.
- Cogan, T. M., Barbosa, M., Beuviel, E., Bianchi-Salvadori, B., Cocconcelli, P. S., Fernandez, I., Rodriguez, E. (1997). Characterization of the lactic acid bacteria in artisanal dairy products. *Journal of Dairy Research*, 64(3), 409-421.
- Colak, H., H., H., Bingol, E., & Ulusoy, B. (2007). Prevalence of *L.monocytogenes* and *Salmonella* spp. in Tulum cheese. *Food Control*, 8, 576-579.
- Cooper, R. D., & Kleinschmidt, E. J. (1986). An investigation into the new product process: steps, deficiencies, and impact. *J. Product Innovation Management*, 3(2), 71-85.

- Cooper, R., Edgett, S., & Kleinschmidt, E. (2008). The Perspective: The Stage-Gate Ideato-Launch Process-Update, What's New and NexGen Systems. *Journal of Product Innovation Management*.
- Cooper, R., S., E., & Kleinschmidt, E. (2004). Benchmarking Best NPD Practices-I. *Research Techcology Management*.
- COTEC. (2006). Manual de Identificação e Classificação das Actividades de IDI. . *Iniciativa da COTEC Portugal sobre Desenvolvimento Sustentado da Inovação Empresarial*.
- Crowley, S., Mahony, J., & Van Sinderen, D. (2013). Current perspectives on antifungal lactic acid bacteria as natural bio-preservatives. *Trends in Food Science & Technology*, 33(2), 93-109.
- Dalgaard, P. (1995). Qualitative and quantitative characterization of spoilage bacteria from packed fish. *International Journal of Food microbiology*, 26, 319-333.
- De Bretani, U., & Sanni, S. A. (2004). Corporate Culture and Commitment: Impact on Performance of International New Product Development Programs. *Journal of Product Innovation Management*, 21, 309-333.
- Direcção-Geral da Qualidade. (1985). *NP 1921 (1985). Norma portuguesa. Queijo fresco tradicional: Definição, caracterrísticas, classificação e marcação*. Lisboa.
- Dornblaser, L. (1997). Success at the top. *New Product News* 33(4), 8.
- Downes, F. P., & Ito, K. (2001). *Compendium of methods fot the microbiological examination of foods*. Washington, USA: American Public Health Association.
- Drake, M. (2007). Invited Review: Sensory Analysis of Dairy Foods. *J. Dairy Sci*, 90, 4925-4937.
- Economist. (2005). This sceptered aisle. *The economist* , 4 Aug 2005.
- European Comission. (03 de 04 de 1995). *Green Paper on innovation*. Obtido em 22 de Agosto de 2016, de European Comission: [http://europa.eu/documents/comn/green\\_papers/pdf/com95\\_688\\_en.pdf](http://europa.eu/documents/comn/green_papers/pdf/com95_688_en.pdf)
- Evert-Arriagada, K., Hernández-Herrero, M. M., Juan, B., Guamis, B., & Trujillo, A. J. (2012). Effect of high pressure on fresh cheese shelf-life. *Journal of Food Engineering*, 110, 248-253.
- FAO. (2006). *Food product innovation A background paper*. Rome: FAO.
- Favaro, L., Penna, A., & Todorov, S. (2015). Bacteriocinogenic LAB from cheeses e Application in biopreservation? *Trends in Food Science & Technology*, 41, 37-48.
- Food Safety Authority of Ireland. (2014). *Guidance Note N°18 Validation of Product Shelf-life (revision 2)*. Dublin: Food Safety of Ireland.
- Food Safety Authority of Ireland. (2016). *Guidelines for the interpretation of results of Microbiological Testing of Ready-to-eat Foods Placed on the Market (revision 2)*. Dublin: Food Safety Authority of Ireland.
- Forsythe, S. (2002). *Microbiologia da Segurança Alimentar*. Porto Alegre: ArtMed Editora.
- Fox, P., & McSweeney, P. (1998). *Dairy Chemistry and Biochemistry*. London: Blackie Academic & Professional.

- Fox, P., McSweeney, P., Cogan, T., & Guinee, T. (2000). *Fundamentals of Cheese Science*. USA: Aspen Publishers.
- Franco, B. D., & Landgraf, M. (1996). *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo: Atheneu.
- Fuquay, J., Fox, P., & McSweeney, P. (2011). *Encyclopedia of Dairy Sciences*. UK: Academic Press.
- Gálvez, A., López, R. L., Abriouel, H., Valdivia, E., & Omar, N. B. (2008). Bacteriocins in the control of foodborne pathogenic and spoilage bacteria. *Critical Reviews in Biotechnology*, 28, 125-152.
- Gao, Y., & Ju, X. R. (2008). Exploiting the combined effects of high pressure and moderate heat with nisin on inactivation of *Clostridium botulinum* spores. *Journal of microbiological methods*, 72(1), 20-28.
- Garcha, S., & Natt, N. K. (2012). In situ control of food spoilage fungus using *Lactobacillus acidophilus* NCDC 291. *Journal of Food Science and Technology*, 49(5), 643-648.
- Gram, L. (1989). *Identification, characterization and inhibition of bacteria isolated from tropical fish*. Ph.D. Thesis. Danish Institute for Fisheries Research. Copenhagen, Denmark: Lyngby and The Royal Veterinary and agricultural University.
- Gram, L., Ravn, L., Rasch, M., Bruhn, J., Christensen, A., & Givskov, M. (2002). Food spoilage - interactions between food spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 78, 79-97.
- Grattepanche, F., Miescher-Schwenninger, S., Meile, L., & Lacroix, C. (2008). Recent developments in cheese cultures with protective and probiotic functionalities. *Dairy Sci. Technol*, 88, 421-444.
- Gunasekaran, S., & Ak, M. (2003). *Cheese Rheology and Texture*. USA: CRC Press.
- Hansen, T., & Knochel, S. J. (1995). Storage characteristics of sous vide cooked roast beef. *International Journal of food Science and Technology*, 30(3), 365-378.
- Hoban, T. J. (1998). Improving the success of new product development. *Food Technology*. 52(1), 46-49.
- HPA. (2009). *Guidelines for assessing the microbiology safety of ready-to-eat foods placed on the market*. Obtido de GOV.UK: <https://www.gov.uk/government/publications/ready-to-eat-foods-microbiological-safety-assessment-guidelines>
- Hui, Y. (2006). *Handbook of food science technology and engineering* (Vol. 1). Boca Raton, USA: Taylor & Francis.
- Huri, Y. (1993). *Dairy Science and Technology Handbook*. USA: Wiley-VCH.
- IFST. (1993). *Shelf life of Foods-Guideline for its Determination and Prediction*. London: IFST.
- Ilori, M. O., Oke, J. S., & Sanni, S. A. (2000). Management of new product development in selected food companies in Nigeria. *Technovation*, 20, 333-342.
- INE. (2016). *Estatísticas da Produção e Consumo de Leite 2015*. Lisboa: Instituto Nacional de Estatística, I. P.
- INE. (2017). *Balança Alimentar Portuguesa 2012-2016*. Lisboa: Instituto Nacional de Estatística, I. P.

- IPQ. (2007a). *NP 4456. Gestão da Investigação Desenvolvimento e Inovação. Terminologia e definições das actividades de IDI*. Lisboa: Instituto Português da Qualidade, Ministério da Indústria e Energia.
- IPQ. (2007b). *NP 4457. Gestão da Investigação Desenvolvimento e Inovação (IDI). Requisitos do sistema de gestão da IDI*. Lisboa: Instituto Português da Qualidade, Ministério da Indústria e Energia.
- IPQ. (2007c). *NP 4457. Gestão da Investigação Desenvolvimento e Inovação (IDI). Requisitos do sistema de gestão da IDI*. Lisboa: Instituto Português da Qualidade, Ministério da Indústria e Energia.
- Jalilzadeh, A., Tunçturk, Y., & Hesari, J. (2015). Extension Shelf Life of Cheese: a Review. *International Journal of Dairy Science*, 44-60.
- Jamuna, M., Babusha, S. T., & Jeevaratnam, K. (2005). Inhibitory efficacy of nisin and bacteriocins from *Lactobacillus* isolates against food spoilage and pathogenic organisms in model and food systems. *Food Microbiology*, 22(5), 449-454.
- Jesus, C. (1994). *O Uso do Texturómetro na Caracterização da Textura de Queijo. Relatório do trabalho de fim de curso de Engenharia Agro – Industrial*. Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa- Instituto Superior de Agronomia.
- Kilcast, D., & Subramaniam, P. (2000). *Stability and Shelf-life of Foods*. New York: CRC Press.
- Kongo, J. M. (2013). Lactic Acid Bacteria as starter-cultures for cheese processing: past, present and future developments. Em J. M. Kongo, *Lactic Acid Bacteria- R&D for Food, Health and Livestock Purposes* (pp. 3-22). UK: InTechOpen.
- Koutsoumanis, K., & Nychas, G. J. (2000). Application of a systematic experimental procedure to develop a microbial model for rapid fish shelf-life prediction. *International Journal of Food Microbiology*, 60, 171-184.
- Kykkidou, S., Pournis, N., Koustoula, O. K., & Savvaidis, I. N. (2007). Effects of treatment with nisin on the microbial flora and sensory properties of a Greek soft acid-curd cheese stored aerobically at 4C. *International Dairy Journal*, 17(10), 1254-1258.
- Lawrence, R., Creamer, L., & Gilles, J. (1987). Texture Development During Cheese Ripening. *Journal of Dairy Science*, 70, 1748-1760.
- Le Loir, Y., Baron, F., & Gautier, M. (2003). *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetic and Molecular Research*, 2(1), 63-67.
- Lima, C. (2005). *Avaliação microbiológica e química do queijo minas artesanal da Serra do Salitre-MG. Tese Doutorado em Microbiologia*. Minas Gerais: Instituto de Ciências Biológicas - Universidade Federal de Minas Gerais.
- Linnan, M. J., Mascola, L., Lou, X. D., Goulet, V., May, S., Salminen, C., & Hird, D. (1988). Epidemic listeriosis associated with Mexican style cheese. *The New England Journal of Medicine*, 319, 823-828.
- MacAuliffe, O., Hill, C., & Ross, R. (1999). Inhibition of *Listeria monocytogenes* in cottage cheese manufactured with a lactacin 3147-producing starter culture. *Journal of Applied Microbiology*, 86, 251-256.

- Machado, M. (2003). *Evolução da textura e composição do queijo Serpa durante a sua maturação. Dissertação para a obtenção do grau de mestre em Ciência e Engenharia de Alimentos*; Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa- Instituto Superior de Agronomia.
- Man, D. (2000). *Shelf life. Food industry briefing series*. (1st ed.). London, UK: Blackweel Science.
- Martinez, M. G., & Briz, J. (2000). Innovation in the Spanish Food & Drink Industry. *International Food and Agribusiness Management Review* 3, 155-176.
- Martins, A., Mendonça, R., & Silva, D. (2006). Resistência de bactérias lácticas, isoladas de fezes de suínos e sua capacidade antagônica frente a microrganismos indicadores. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, 5(1), 53-59.
- McSweeney, P. (2007). *Chesse problems solved*. USA: CRC Press.
- Medici, M., Vinderola, C. G., & Perdigón, G. (2004). Gut mucosal immunomodulation by probiotic fresh cheese. *Int Dairy J*, 14 (7), 611-618.
- Morgan, S. M., Ross, R., Beresford, T., & Hill, C. (2000). Combination of hydrostatic pressure and lactacin 3147 causes increased killing of *Staphylococcus* and *Listeria*. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 414-420.
- Morris, C. E. (1993). Why new products fail. *Food Engineering* 65(6), 132-136.
- Muhaladin, B. J., Hassan, Z., Sadon, S. K., Zulkifli, N. A., & Azfar, A. A. (2011). Effect of pH and heat treatment on antifungal activity of *Lactobacillus fermentum* Te007, *Lactobacillus pentosus* Goo4 and *Pediococcus pentosaceus* Te010. *Romanian Food Biotechnology*, 8(41), 50-62.
- Neto, L. G., Souza, M., Nunes, A., Nicoli, J., & Santos, W. (2005). Atividade antimicrobiana de bactérias ácido-lácticas isoladas de queijos de coalho artesanal e industrial frente a microrganismos indicadores. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 57(2), 245-250.
- New Zealand Food Authority. (2005). *A Guide to Calculating the shelf Life of foods*. Wellington: New Zealand Food Authority.
- Nollet, L., & Toldrá, F. (2010). *Handbook of Dairy Foods Analysis*. USA: CRC Press.
- Nunes, M. (2004). *Metodologias de Desenvolvimento de Novos Produtos Industriais*. Braga: Escola de Engenharia da Universidade do Minho.
- Nuñez, M., Rodríguez, J., García, E., Gaya, P., & Medina, M. (1997). Inhibition of *Listeria monocytogenes* by enterocin 4 during the manufacture and ripening of Manchego cheese. *Journal Appl. Microbiology*, 83, 617-677.
- OCDE. (2 de Setembro de 2005). *Oslo Manual: Guidelines for Collecting and Interpreting Innovation Data*. Obtido em 21 de Agosto de 2016, de OCDE: <http://213.253.134.43/oecd/pdfs/browseit/9205111E.PDF>
- Oliveira, T. (2010). *Evolução ao longo do tempo de vida útil do teor microbiológico de queijos frescos mantidos sob refrigeração doméstica*. Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa.
- Orden, J., Goyache, J., Hernandez, J., Domeneche, A., Suarez, G., & Gomez-Lucia, E. (1992). Production of staphylococcal enterotoxin and TSST 1 by coagulase negative staphylococci isolated from ruminant mastitis. *J Vet. Med. B.*, 39, 144-148.


- O'Sullivan, L., O'Connor, E., Ross, R. P., & Hill, C. (2006). Evaluation of live-culture-producing lactacin 3147 as a treatment for the control of *Listeria monocytogenes* on the surface of smear-ripened cheese. *Journal of Applied Microbiology*, 100(1), 135-143.
- Piard, J.-C., Le Loir, Y., Poquet, I., & Langella, P. (1999). Bactérias lácticas. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento* 2(8), 80-84.
- Ponciano, R. (2010). *Avaliação da qualidade higiénica da produção de leite de pequenos ruminantes e queijo fresco da região do Rabaçal*. Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa.
- Portaria 73. (1990). *Características, classificação, aconicionamento, rotulagem e condições de conservação do queijo*. Lisboa: Diário da República.
- Prime Consulting Group, Inc. (1997). Getting the numbers straight. *Progressive Grocer*, 44-46.
- Ranken, M. (2000). *Handbook of meat product technology*. Oxford: Blackweel Science.
- Ray, B. (2004). *Fundamentals food microbiology* (3th ed.). Boca Raton, USA: CRC Press.
- Rho, M. J., & Schaffner, D. W. (2007). Microbial risk assessment of staphylococcal food poisoning in Korean kimbab. *International Journal of Food Microbiology*, 116, 332-338.
- Ribeiro, M. (1998). *Textura de Queijo – Um estudo de variáveis de processamento. Dissertação para a obtenção do grau de mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos*. Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa - Instituto Superior de Agronomia.
- Robertson, G. L. (2009). *Food Packaging and Shelf Life: A Practical Guide*. USA: CRC Press.
- Rocha, C. (2012). *A Gestão de Investigação do Estudo Normativo de Referenciais Normativos, Investigação, Desenvolvimento e Inovação de dois projectos com base nos Normativos de Certificação de Projectos IDI*. Porto: Universidade Católica Portuguesa.
- Ross, R., Morgan, S., & Hill, C. (2002). Preservation and fermentation: past, present and future. *International Journal of Food Microbiology*, 79, 3-16.
- Royal Society of Chemistry. (2009). *Microbiology Handbook Dairy Products*. Cambridge: Leatherhead Food International Ltd.
- Sablani, S., & Kasapis, S. &. (2007). Evaluating water activity and glass transition concepts for food stability. *Journal of Food Engineering*, 78(1), 57-62.
- Santos, M. I., Correia, C., Cunha, M. I., Saraiva, M. M., & Novais, M. R. (2005). Valores Guia para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos a comer preparados em estabelecimentos de restauração. *Revista Ordem dos Farmacêuticos*, 64, 66-68.
- Schnäurer, J., & Magnusson, J. (2005). Current perspectives ob antifungal lactic acid bacteria as natural bio-preservatives. *Trends in Food Science & Technology*, 16(1), 70-78.
- Schwenninger, S. M., Von, A. U., Nieder, B., Teuber, M., & Meile, L. (2005). Detection of antifungal properties in *Lactobacillus paracasei* subsp paracasei SM20, SM29, and SM63 and molecular typing of the strains. *J Food Prot* 68 (1), 111-119.
- Siriwongwilaichat, P. (2001). *Technical information capture for food product innovation in Thailand. PhD Thesis*. New Zealand: Massey University.
- Sloan, A. E. (1994). Why new products fail. *Food Technology* 48(1), 36-37.


- Stewart-knox, B., & Mitchell, P. (2003). What separates the winners from the losers in new food product development? *Trends in Food Science & Technology*, 14, 58-64.
- Tetra Pak. (2004). *Company magazine*, number 89.
- Theodore, S. (2000). Heads or tails? *Beverage Industry*, 4.
- UE. (2004). *REGULAMENTO (CE) N.o 852/2004 de 29 de Abril de 2004*. Bruxelas: Jornal Oficial da União.
- UE. (2004). *Regulamento (CE) n.º 853/2004 de 29 de Abril*. . Bruxelas: Jornal Oficial da União.
- UE. (2004). *Regulamento (CE) n.º 854/2004 de 29 de Abril*. Bruxelas: Jornal Oficial da União.
- UE. (2005). *REGULAMENTO (CE) N.o 2073/2005 de 15 de Novembro de 2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios*. Bruxelas: Jornal Oficial da União.
- UE. (2006). *Regulamento (CE) n.º 1662/2006 de 6 de Novembro*. . Bruxelas: Jornal Oficial da União Europeia.
- UE. (2007). *Regulamento (CE) n.º 1441/2007 de 5 de Dezembro*. . Bruxelas: Jornal Oficial da União.
- UE. (2008). *REGULAMENTO (CE) N.o 1333/2008 DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO de 16 de dezembro de 2008 relativo a aditivos alimentares*. Bruxelas: Jornal Oficial da União.
- Ulrich, & Eppinger. (2008). *Product Design Development*. McGraw Hill/Irwin.
- Valente. (2011). *Processos de Inovação na Concepção e Desenvolvimento de Novos Produtos em PMEs*. Porto: Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto.
- Valente. (2012). *Desenvolvimento de Novos Produtos tendo por base o queijo de ovelha curado: avaliação da sua estabilidade e aceitação pelo consumidor*. Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa.
- Valero, A., Carrasco, E., & Garcia-Gimeno, R. (2012). Principles and Methodologies for the Determination of Shelf-life in Foods. *Trends in Food and Control Engineering*, 3-31.
- Veiga, s. (2012). *Qualidade Microbiológica e Físico-Química de Queijos Comercializados em Portugal*. Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa -Faculdade de Medicina Veterenária.
- Vinagre, C. S. (2013). *Desenvolvimento de um Modelo sistematizado de investigação, desenvolvimento e inovação -Teste do Modelo num serviço de Sistema de Gestão Ambiental. Dissertação para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia Agronómica*. Lisboa: Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.
- Watzke, H., & Saguy, I. (2001). Innovating R&D innovation. *Food Technology*, 55(5), 174-188.
- World Health Organization, Federatios Agriculture Organization. (2011). *Codex Alimentarius Milk and Milk Products*. Rome: 2011.
- Zottola, E., & Smith, L. (1991). Pathogens in cheese. *Journal Food Microbiology*, 8, 71-182.

## **Apêndices**




## Apêndice I

 <small>Indústria Laticínios</small>	<b>DOCUMENTO DE ESTUDO PRELIMINAR DO NOVO PRODUTO</b>		IMP 03-50
<b>PROJETO:</b>	Queijo fresco de vaca com conservante biológico	<b>DATA:</b> 05/05/2016	Edição 01
		<b>VERSÃO:</b>	24/11/2016
<b>1. IDENTIFICAÇÃO DO RESPONSÁVEL PELO DESENVOLVIMENTO DO PRODUTO</b>			
Departamento de Inovação e desenvolvimento			
<b>2. DESCRIÇÃO DO NOVO PRODUTO</b>			
<p>O queijo fresco produzido na empresa pertence à gama do queijo fresco tradicional português, é um produto não maturado, obtido por dessoramento lento, após a coagulação dos leites inteiro, total ou parcialmente desnatado. Este produto tem como ingredientes essenciais o leite de vaca, culturas bacterianas lácticas específicas e coalho, e outros ingredientes adjuvantes como o sal e o cloreto de cálcio.</p>			
<b>3. ORIGEM DO CONCEITO/IDEIA</b>			
<p>Uma das tendências de consumo actualmente é a compra de produtos com o menor número de ingredientes adicionados ou que sejam benéficos para a saúde. Este público-alvo está a ganhar maiores proporções e torna-se interessante para as empresas apostar neste sector do mercado. Na empresa adiciona-se sorbato de potássio no queijo fresco de vaca, sendo um adjuvante tecnológico químico. A empresa procura substituir o sorbato de potássio por outro conservante biológico que seja adequado para a matriz em questão.</p>			

	DOCUMENTO DE ESTUDO PRELIMINAR DO NOVO PRODUTO		IMP 03-50
PROJETO:	Queijo fresco de vaca com conservante biológico	DATA: 05/06/2016	Edição 01
		VERSÃO:	24/11/2016
<b>4. TIPO DE INOVAÇÃO</b>			
De acordo com a norma NP 4456:2007, fundamentadas no Manual de Oslo (OCDE, 2005), o projecto em questão trata-se de uma inovação de produto. A inovação do produto (bens e serviços) pode utilizar novo conhecimento ou tecnologia, ou apenas a combinação de conhecimento, ou tecnologia já existente.			
<b>5. ESTADO DE ARTE</b>			
<p>O queijo, alimento famoso em todo o mundo, com algumas regiões de produção demarcada, tem impacto na economia dos diversos países. No caso concreto de Portugal, o seu consumo é considerável, sendo determinante no desenvolvimento económico de certas regiões. A crescente preocupação com uma alimentação saudável tem conduzido a um maior consumo de queijos com menor teor calórico, entre os quais se conta, o queijo fresco tradicional português.</p> <p>O processo básico de fabrico de queijos é comum a quase todos e variações na origem do leite, nas técnicas de processamento e no tempo de maturação dão origem à imensa variedade conhecida – cerca de 1000 tipos, sendo que só na França se fabricam 400 deles ). Devido ao elevado teor de humidade, valor de pH, e elevada manipulação durante o processo de fabrico, o queijo é extremamente suscetível aos fenómenos bioquímicos e microbiológicos que afetam a qualidade, rendimento e vida útil (Perry, 2004).</p> <p>O mercado oferece uma infinidade de produtos atendendo aos interesses específicos de cada consumidor, com preços variados. Esses consumidores buscam qualidade e produtos mais apetecíveis e prezam pela confiança de que levam o que é especificado no rótulo. O consumidor tem mostrado preocupações com a qualidade e a segurança dos seus alimentos. No entanto, estas preocupações têm sofrido mudanças ao longo dos tempos, obrigando a um constante redesenhar de conceitos e tendências de modo a acompanhar as alterações da população nos hábitos, nas preferências, na utilização de novas tecnologias e mesmo no panorama económico de cada época.</p> <p>Actualmente, a indústria alimentar encontra-se num ambiente de grande competitividade entre si, tentando responder continuamente às exigências do consumidor. Este exige produtos essencialmente seguros para a saúde e, cada vez mais, alimentos mais saudáveis, nutritivos e de qualidade superior. Neste âmbito as empresas sentem cada vez mais a necessidade de gerir os projetos e desenvolver novos produtos que vão de encontro às necessidades do consumidor, desta forma reconhecem uma grande mais valia ter como base a normalização na área da inovação que comprovadamente traz benefícios organizacionais e económicos para as empresas.</p>			
<b>6. DESCRIÇÃO DAS LIMITAÇÕES DAS SOLUÇÕES EXISTENTES E DOS BENEFÍCIOS DO NOVO PRODUTO</b>			
<p>O tempo de vida útil do queijo fresco é de 10 dias. A exportação cria a necessidade de aumentar o tempo de vida útil, devido principalmente, a questões logísticas. Isto porque devem ser garantidas todas as características organolépticas e de segurança alimentar quando o produto chega ao país pretendido. De forma a ultrapassar esta limitação, a empresa tem de alterar a formulação do produto de forma a prolongar o tempo de vida útil.</p> <p>O conservante utilizado actualmente preenche os requisitos até então definidos pela empresa, no entanto surgiram novos requisitos que só serão atendidos utilizando outro conservante.</p> <p>Os principais benefícios do projecto prendem-se ,em primeiro lugar, por controlar as características do produto e as flutuações que ocorrem na composição do mesmo de forma a obter um produto mais padronizado, conseqüentemente, há redução de custos de produção. Indirectamente evitam-se eventuais indemnizações resultantes de incidentes, no que diz respeito à qualidade e segurança alimentar. Em segundo lugar, responde-se à necessidade de aumentar o tempo de vida útil do produto. E, por último, obter um produto com uma composição livre de produtos químicos, nomeadamente os conservantes.</p> <p>Adicionalmente, a preocupação em desenvolver uma nova formulação do produto demonstra o compromisso relativo à melhoria do serviço. A melhoria da imagem da empresa, notoriedade e aceitação no mercado real e potencial, que ajuda a manter as boas relações públicas e assim beneficiar de seguros e critérios de investimento favoráveis à concretização de futuros negócios.</p>			
<b>7. DIMENSÃO DO MERCADO</b>			
Se o produto for produzido na Integra com o conservante biológico, o mercado potencial são todos os consumidores de queijo fresco.			

## Apêndice II

	<b>DOCUMENTO DE PLANEAMENTO DO NOVO PRODUTO</b>		IMP 03-51
<b>PROJETO:</b>	Queijo fresco de vaca com conservante biológico	<b>DATA:</b>	Edição 01
		<b>VERSÃO:</b>	25/11/2016
<b>1. DESIGNAÇÃO DO PRODUTO</b>			
Queijo fresco de vaca com adição de conservante biológico.			
<b>2. IDENTIFICAÇÃO DOS RISCOS DO PROJETO</b>			
Os principais riscos podem ser: o investimento feito no estudo não ter retorno; a aplicação a nível industrial do conservante não ter o mesmo resultado do que em escala piloto; a matriz do queijo ser incompatível com o conservante em algum momento; e/ou existirem atrasos na execução de tarefas que condicionem as tarefas posteriores.			
<b>3. DEFINIÇÃO DE PARCERIAS E SUBCONTRATAÇÕES</b>			
A empresa é a responsável pela organização de todo o projecto, a UCP dá apoio técnico, a ALIP e a Controlvet são os parceiros que realizam os métodos de ensaio e executam as técnicas laboratoriais.			
<b>4. CONTROLO, VERIFICAÇÃO E VALIDAÇÃO DAS ATIVIDADES</b>			
Será efetuada monitorização a cada fase do projeto. Este processo de monitorização está devidamente calendarizado e será nomeado um responsável por controlar cada fase do projeto. As reuniões de avaliação serão o principal método de monitorização.			
<b>5. GESTÃO DE MUDANÇAS</b>			
É importante mencionar todas as alterações executadas ao projeto ao longo do tempo. Devendo ser indicados os responsáveis pelas alterações e em que datas serão realizadas. Estas podem ser registadas durante o planeamento do produto, ou mais tarde quando o projeto for validado.			
<b>6. RESULTADOS</b>			
O resultado esperado é que um dos conservantes biológicos prolongue o tempo de vida útil para o prazo pretendido, mantendo o perfil microbiológico e organoléptico de acordo com os requisitos legais. Para além disso prevê-se uma expansão do negócio para mercados internacionais através de parcerias estratégicas. Os resultados do estudo vão ser disseminados no seio da empresa, no âmbito da tese de mestrado e na Universidade Católica Portuguesa. A proteção dos dados foi assegurada contratualmente entre os três orgãos (autora, empresa e universidade).			

<b>Tété</b> Desde 1960	<b>DOCUMENTO DE PLANEAMENTO DO NOVO PRODUTO</b>			IMP 03-51
<b>PROJETO:</b>	Queijo fresco de vaca com conservante biológico	<b>DATA:</b> 10/08/2016	Edição 01	
		<b>VERSÃO:</b>	25/11/2016	

FASE		TAREFA	RECURSOS	RESPONSÁVEL	CALENDARIZAÇÃO
	<b>Surgimento da ideia</b>	Desenvolvimento da ideia: definição do design do conceito, selecção dos mercados-alvo e nível de rendimento. Preenchimento do documento de Estudo preliminar.	Humanos (28h)	Dep. Inovação e desenvolvimento	Junho de 2016
Monitorização	<b>Avaliação da ideia</b>	Avaliação da ideia por parte da administração e enquadramento da ideia por parte da empresa.	Humanos (5h)	Administração e Dep. Inovação e desenvolvimento	Julho de 2016
	<b>Definição das características do produto</b>	Levantamento da legislação aplicável. Contacto com fornecedores e entidades externas como laboratórios. Desenho do estudo experimental em que se define claramente o produto indicando as vantagens competitivas e funcionalidades, planificação do esforço a realizar até ao lançamento do produto.	Humanos (216h)	Dep. Inovação e desenvolvimento	Julho 2016 a Agosto 2016
Monitorização	<b>Avaliação das características do produto</b>	Avaliação de toda a informação por parte da administração	Humanos (4h)	Administração e Dep. Inovação e desenvolvimento	Agosto de 2016
	<b>Planeamento</b>	Definição do responsável e a equipa do projeto. Preenchimento do documento de planeamento. Definição dos recursos necessários e o impacto financeiro do projeto. Estabelecimento do número de amostras, duração do ensaio, condições do estudo e parâmetros a serem analisados.	Humanos (118h)	Dep. Inovação e desenvolvimento	Agosto de 2016
Monitorização	<b>Avaliação do planeamento</b>	Avaliação do documento de planeamento de novo produto pela administração	Humanos (6h)	Administração e Dep. Inovação e desenvolvimento	Setembro de 2016
	<b>Implementação</b>	Desenvolvimento de novas formulações de produto. Estudo de validade do novo produto. Envio de amostras para laboratórios externos de forma a realizarem de análises microbiológicas e análise sensorial. Preenchimento do registo de apoio de desenvolvimento de novo produto. Pesquisa bibliográfica e desenvolvimento da tese.	Humanos (71h); Laboratórios (análises microbiológicas e análise sensorial); Materiais (ingredientes, embalagens); Transporte	Dep. Inovação e desenvolvimento	Setembro de 2016 a Janeiro de 2017
Monitorização	<b>Avaliação de resultados</b>	Seleção e tratamento dos resultados obtidos no estudo de validade. Discussão dos resultados. Comunicação dos resultados à administração. Pesquisa bibliográfica e desenvolvimento da tese.	Humanos (98h)	Administração e Dep. Inovação e desenvolvimento	Fevereiro de 2017

## Apêndice III

<b>Tété</b> <small>Desde 1960</small>	<b>DOCUMENTO DE DESENVOLVIMENTO DO NOVO PRODUTO</b>	IMP 03-52
<b>PROJETO:</b>	Queijo fresco de vaca com conservante biológico	<b>DATA:</b> 30/09/2016 Edição 02
<b>CLIENTE ALVO:</b>		<b>VERSÃO:</b> 04/12/2016

**1. ENSAIOS E TESTES**

Ingredientes por amostra:	Quantidade:
Leite de vaca	200L
coalho	75mL
carbonato de cálcio	50mL
sal	800g
Biopress	2,6g
Bioprox	3,5g
Sorbato de potássio	200g

**2. PROCEDIMENTO**

O primeiro ensaio foi realizado a 30 de setembro de 2016, na fábrica da empresa Tété II, no qual exerci o papel de supervisora de todo o processo. O objetivo era produzir amostras com dois conservantes teste e outra amostra controle (sem conservante adicionado). Sendo assim, foram preparadas 3 cubas de 200L de leite de vaca do fornecedor Planalto e Porfírio, às quais se adicionaram o fermento láctico, o carbonato de cálcio e sal, ingredientes essenciais no fabrico do queijo fresco. Depois de verificada a temperatura de 22°C foram adicionados os conservantes biológicos na respetiva cuba. Foram utilizados 3,5g de Bioprox e 2,6g de Biopress. Passados 40 minutos a massa formada foi envolvida manualmente com recurso a uma pá de modo a homogeneizar a mistura. Ao fim de 30 minutos, a massa foi colocada nos sinchos e seguiu o processo de produção. Os tabuleiros onde são colocados os sinchos foram devidamente codificados de forma a controlar a localização das amostras. Os tabuleiros foram colocados em carrinhos que seguiram para o túnel de arrefecimento rápido onde permaneceram durante 120 minutos até atingiram a temperatura de 4°C. Depois foram encaminhados para a sala de embalamento, onde os operadores colocaram as diferentes amostras em embalagens de 6 unidades cada. O passo seguinte foi identificar as caixas onde foram colocadas as diferentes amostras. Estas foram armazenadas na câmara de refrigeração onde permanecem a temperaturas inferiores a 4°C. A expedição das amostras foi realizada no dia seguinte, onde seguiram numa transportadora equipada com rede de frio que garante temperaturas inferiores a 6°C. As amostras foram rececionadas no laboratório no mesmo dia e armazenadas de acordo com as condições de armazenamento do produto.

O prazo estabelecido para a realização do estudo de validade foi de 12 dias. Realizaram-se análises aos parâmetros microbiológicos atrás mencionados nos dias 5, 8 e 12 após a data de produção.

O segundo ensaio foi realizado no dia 5 de janeiro de 2017, na fábrica da empresa Tété II. Seguiu-se o mesmo processo de fabrico utilizado no ensaio anterior. Neste ensaio pretendia-se testar novamente os mesmos conservantes biológicos, produziu-se também amostra controle (sem conservante adicionado) e introduziu-se a amostra do produto já produzido (conservante sorbato de potássio). Foram preparadas 3 cubas de 200L de leite de vaca do fornecedor Planalto e Porfírio, às quais se adicionaram o fermento láctico, o carbonato de cálcio e sal. Assim que foi verificada a temperatura foram adicionados os conservantes biológicos na respetiva cuba. Adicionaram-se 3,5g de Bioprox e 2,6g de Biopress. Passados 45 minutos a massa formada foi envolvida manualmente com uma pá. Ao fim de 50 minutos, a massa foi colocada nos sinchos e seguiu o processo de produção. Os tabuleiros foram devidamente codificados de forma a controlar a localização das amostras. Foi seguido o trajeto até ao túnel de arrefecimento rápido onde permaneceram durante 150 minutos. Daí seguiram para a sala de embalamento, onde as amostras foram colocadas em embalagens de 6 unidades cada. As caixas foram identificadas e armazenadas na câmara de refrigeração onde permanecem a temperaturas inferiores a 4°C. Reuniram-se também embalagens com o produto atualmente produzido para enviar para laboratório. A expedição das amostras foi realizada no dia seguinte, onde seguiram numa transportadora equipada com rede de frio que garante temperaturas inferiores a 6°C. As amostras foram rececionadas no laboratório no mesmo dia e foram tratadas de acordo com as condições de armazenamento do produto. O prazo

**3. FLUXOGRAMA**

```

graph TD
    A[Recepção e armazenamento de outras matérias-primas] --> B[Coagulação]
    C[Leite cru de ovelha] --> B
    D[Leite cru de cabra] --> B
    E[Leite de vaca] --> B
    B --> F[Armazenamento T=±4°C]
    F --> G[Pasteurização t=18 seg, T=72°C]
    G --> H[Coagulação t=45 min, T=±30°C]
    I[Carbonato de cálcio] --> H
    J[Coalho] --> H
    K[Conservante] --> H
    H --> L[Corte da coagulada]
    L --> M[Dessoramento]
    M --> N[Soro]
    M --> O[Moldagem]
    O --> P[Soro]
    O --> Q[Queijo fresco]
    R[Sal] --> S[Salga]
    Q --> S
    S --> T[Refrigeração T=±4°C]
    T --> U[Distribuição]
  
```

<b>Tété</b> <small>Desde 1960</small>	<b>DOCUMENTO DE DESENVOLVIMENTO DO NOVO PRODUTO</b>	IMP 03-52
<b>PROJETO:</b>	Queijo fresco de vaca com conservante biológico	<b>DATA:</b> 30/09/2016 Edição 02
<b>CLIENTE ALVO:</b>		<b>VERSÃO:</b> 04/12/2016

#### 4. ESTUDO DE VALIDADE

##### Análises microbiológicas

Ensaio 30/09/2016

Parâmetro microbiológico	Dia	Resultados expressos em UFC/g		
		Amostra		
		1	2	3
<i>Escherichia coli</i>	5	<1x10 <sup>1</sup>	<1x10 <sup>1</sup>	<1x10 <sup>1</sup>
	8	<1x10 <sup>1</sup>	<1x10 <sup>1</sup>	<1x10 <sup>1</sup>
	12	<1x10 <sup>1</sup>	<1x10 <sup>1</sup>	<1x10 <sup>1</sup>
Leveduras	5	5,9x10 <sup>2</sup>	9,5x10 <sup>2</sup>	3,51x10 <sup>3</sup>
	8	4,93x10 <sup>2</sup>	6,9x10 <sup>2</sup>	4,11x10 <sup>3</sup>
	12	6,17x10 <sup>2</sup>	1,63x10 <sup>3</sup>	6,63x10 <sup>2</sup>
Bolors	5	1x10 <sup>1</sup>	1x10 <sup>1</sup>	1x10 <sup>1</sup>
	8	1,67x10 <sup>1</sup>	1,67x10 <sup>1</sup>	1,67x10 <sup>1</sup>
	12	1x10 <sup>1</sup>	1x10 <sup>1</sup>	1x10 <sup>1</sup>
<i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	5	1x10 <sup>1</sup>	1x10 <sup>1</sup>	1,33x10 <sup>1</sup>
	8	1,33x10 <sup>1</sup>	1x10 <sup>1</sup>	1x10 <sup>1</sup>
	12	1x10 <sup>1</sup>	1x10 <sup>1</sup>	1x10 <sup>1</sup>

Codificação das Amostras	
Bioprox	Amostra 1
Biopress	Amostra 2
Sem conservante	Amostra 3

Ensaio 05/01/2017

Parâmetro microbiológico	Dia	Resultados expressos em UFC/g			
		Amostra			
		1	2	3	4
<i>Escherichia coli</i>	10	2x10 <sup>1</sup>	<1x10 <sup>1</sup>	<1x10 <sup>1</sup>	<1x10 <sup>1</sup>
	14	<1x10 <sup>1</sup>	<1x10 <sup>1</sup>	4x10 <sup>5</sup>	1x10 <sup>1</sup>
Leveduras	10	1,4x10 <sup>2</sup>	1,2x10 <sup>2</sup>	6x10 <sup>1</sup>	2,1x10 <sup>2</sup>
	14	4x10 <sup>1</sup>	2,8x10 <sup>2</sup>	3,4x10 <sup>2</sup>	4,8x10 <sup>2</sup>
Bolors	10	2x10 <sup>1</sup>	<1x10 <sup>1</sup>	<1x10 <sup>1</sup>	1x10 <sup>1</sup>
	14	<1x10 <sup>1</sup>	<1x10 <sup>1</sup>	<1x10 <sup>1</sup>	<1x10 <sup>1</sup>
<i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	10	2,1x10 <sup>1</sup>	1x10 <sup>1</sup>	1x10 <sup>1</sup>	1x10 <sup>2</sup>
	14	<1x10 <sup>1</sup>	<1x10 <sup>1</sup>	<1x10 <sup>1</sup>	7,3x10 <sup>1</sup>

Codificação das Amostras	
Bioprox	Amostra 1
Biopress	Amostra 2
Sem conservante	Amostra 3
Sorbato de Potássio	Amostra 4

##### Análise sensorial

Ensaio 05/01/2017

Parâmetro microbiológico	Amostra			
	1	2	3	4
Aspecto	c	c	c	c
Cheiro	c	c	c	c
Cor	c	c	c	c
Textura	c	c	c	c
Sabor	c	c	c	c

c- característico

<b>Tété</b> Desde 1960	<b>DOCUMENTO DE DESENVOLVIMENTO DO NOVO PRODUTO</b>		IMP 03-52
<b>PROJETO:</b>	Queijo fresco de vaca com conservante	<b>DATA:</b>	Edição 02
<b>CLIENTE ALVO:</b>		<b>VERSÃO:</b>	04/12/2016
<b>FICHA TÉCNICA DO PRODUTO</b>			
Queijo fresco de vaca. Produto elaborado a partir de leite selecionado, pasteurizado e coagulado por acção do coalho, e processado num sistema higiénico de multi-moldes, que após refrigeração lhe confere a consistência desejada.			
<b>Formato:</b> Formato cilíndrico, ligeiramente achatado nos pólos;			
<b>Dimensão:</b> Existe o formato pequeno, médio e grande			
<b>Peso:</b> Unidades com 80 gramas (pequeno), 200 gramas(médio) e 1 quilo (grande)- valores aproximados.			
<b>Composição:</b> Leite de vaca pasteurizado, sal, conservante, coalho e sequestrante (cloreto de cálcio).			
<b>Características Organolépticas:</b> Sabor: Característico do produto. Cor: Branco Cheiro: Característico do produto.			
<b>Características físico-químicas/Informação nutricional (g/100g)</b> Valor de pH: 6,6-6,8 Valor energético (kcal): 121,1 Valor energético (kJ): 505,3 Proteínas: 7,89 Hidratos de carbono: 5,5 Açúcares totais: 5,5 Lípidos: 7,5 Ácidos gordos saturados: 5,21 Sal: 0,3			
<b>Características microbiológicas:</b> <i>Escherichia coli</i> : <100 ufc/g. <i>Staphylococcus coagulase positiva</i> : <10 ufc/g. <i>Listeria monocytogenes</i> : ausência em 25g. <i>Salmonella spp</i> : ausência em 25g.			
<b>Rotulagem:</b> A rotulagem está expressa na embalagem do produto, onde constam todas as menções de acordo com a legislação em vigor, designadamente a data limite de consumo, o lote e a informação nutricional.			
<b>Utilização Prevista:</b> Os queijos Tété são um produto lácteo de consumo generalizado por todas as franjas da população. Pelas suas características sensoriais, nutritivas e higiénicas, são igualmente recomendados a grupos alvo como os das crianças, grávidas e idosos - à excepção de pessoas intolerantes à lactose.			
<b>Validade Produto:</b> O prazo de validade é de oito dias, nas condições de temperatura recomendadas, e consta da rotulagem do produto através da data limite de consumo, mediante a designação «Consumir até (dia/mês)».			
<b>Condições de Conservação:</b> Em local limpo e fresco - temperaturas entre os 0°C e 5°C.			
<b>Menções relativas a compostos alérgicos:</b> Leite			
<b>REQUISITOS EMBALAGEM</b>			
O produto é sempre acondicionado em cincho ou copo castelo, podendo ser comercializado nas seguintes modalidades: - Pré-embalado em embalagem termoformada ou em cuvete termoselada (2 e 6 unidades); - Não pré-embalado (em tabuleiro).			
<b>Métodos de distribuição:</b> A distribuição é assegurada por representantes da empresa e por revendedores, sendo entregue em estabelecimentos restauração, supermercados e estabelecimentos de comércio alimentar tradicional.			