



Instituto Politécnico de Santarém

Escola Superior Agrária de Santarém

A influência da humidade na conservação do produto acabado

**Dissertação para obtenção do grau de Mestre na área de Sistemas de
Prevenção e Controlo Alimentar**

**Cláudia Cristino
Silva**

**ORIENTADOR
Doutor
João Ramalho
Ribeiro**

**2010
Dezembro**



OFERTA

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CIÊNCIA
ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA DE SANTARÉM
Serviços Académicos 2085
Recebido 03/01/2010
Respondido / /

A influência da humidade na conservação do produto acabado

Dissertação para obtenção do grau de Mestre na área de Sistemas de
Prevenção e Controlo Alimentar

**Cláudia Cristino
Silva**

ORIENTADOR
Doutor
João Ramalho
Ribeiro

ESCOLA SUPERIOR
AGRÁRIA DE SANTARÉM
BIBLIOTECA
Nº 13122
COTA 003



*Exige muito de ti e espera pouco dos
outros...*

AGRADECIMENTOS

À Escola Superior Agrária de Santarém, o curso de Mestrado em Sistemas de Prevenção e Controlo Alimentar pela oportunidade e incentivo.

À Empresa que permitiu a realização do ensaio em estudo, a todos os colegas e trabalhadores que directa ou indirectamente nele participaram, os quais sem a sua ajuda este estudo não teria sido possível.

Ao meu orientador, o Dr. Ramalho Ribeiro, ajuda imprescindível, pela sua orientação, paciência, perseverança e incentivo depositados.

A todos os professores do Curso de Mestrado e colegas mestrandos pela amizade, lutas e maratonas e auxílio na concretização desta etapa profissional.

Aos meus Pais e toda a Família que sempre depositaram toda a confiança em mim e me deram o apoio necessário para tornar possível este grande objectivo.

Aos amigos pelas palavras de encorajamento e momentos bons e menos bons partilhados e palmilhados durante esta longa jornada.

A todos os que tornaram possível a realização deste trabalho e que sempre estiveram presentes em todos e para todos os momentos.

RESUMO

A qualidade higiénico-sanitária dos alimentos compostos para animais (ACA) é uma medida de controlo da veiculação de patogénicos, uma vez que esta constitui parte integrante da cadeia alimentar, estendendo-se desde a produção animal até ao consumidor. Desta forma torna-se necessário um controlo mais ajustado nesta Indústria de forma a garantir a segurança alimentar directamente dos animais e indirectamente dos futuros consumidores humanos. Um dos grandes objectivos problemáticos nesta Indústria é garantir a redução de desenvolvimento microbiano proveniente de algumas etapas a montante do processo de fabrico, durante o mesmo. O desenvolvimento microbiológico decorrente da humidade existente, pela adição da mesma, durante o fabrico de ACA é um dos problemas mais frequentes e controversos nas fábricas de ACA, levando a elevadíssimas perdas económicas e má qualidade do produto final.

Sendo de suma importância o controlo microbiológico e as adulterações dos ACA e matérias-primas o presente estudo objectivou avaliar a qualidade dos mesmos através do controlo de parâmetros microbiológicos inerentes a vários tratamentos realizados durante o fabrico de um lote de determinado ACA.

Tendo em conta que os principais factores indutores do desenvolvimento microbiológico são os elevados valores de água livre (a_w) é útil determinar os potenciais benefícios de um surfactante integrado num programa de optimização de humidade, de forma a reduzir os valores de água livre disponíveis no alimento. Neste sentido foram medidas as perdas de humidade, através de amostragens feitas ao longo do processo de fabrico, em determinados pontos do mesmo. Após o respectivo período de armazenagem, o produto foi submetido a análises microbiológicas e foram registados os respectivos valores de actividade de água, de forma a avaliar a qualidade e segurança alimentar do produto final.

Os resultados das análises efectuadas às amostras dos ACA em estudo, evidenciaram níveis microbiológicos mais baixos nas amostras produzidas no ensaio três, onde se recorreu ao uso do surfactante do que nos restantes ensaios, também os valores de a_w obtidos foram significativamente mais baixos comparativamente com os restantes, demonstrando assim a eficácia na redução dos níveis de água livre no alimento e consequentemente no controlo do desenvolvimento microbiológico, independentemente da humidade total.

PALAVRAS – CHAVE: alimento composto para animais (ACA); alimento composto para suínos, humidade, actividade da água (aw), surfactantes, contaminantes, microrganismos

ABSTRACT

The quality and hygiene of animal feed (AF) is a mean of control of pathogen travel, as this is a integrating part of the food chain, extending from the animal production to the final consumer. In this sense it is necessary a stricter control in this industry to ensure directly the food safety in animal level and indirectly in the future human consumers. One of the big and problematic objectives in this industry is to ensure the reduction of microbiological development coming from some phases during the manufacture process. The microbiological development occurring because of existing humidity, resulting from the addition of moisture during the production of AF is one of the most frequent and controversial problems in feed factories, conduction to great economic losses and bad quality in the final product. Being the microbiological control and AF and its ingredients adulteration matters of great importance the present study aimed to evaluate the quality of this controls by evaluating the control of microbiological parameters inherent to various treatments during the production of a specific AF batch. Having in consideration that the major microbiological development inducting factor is the high value of free water it is useful to determine the potential benefits of a integrated surfactant in a moisture optimization programme, in order to reduce the values of free water available in feed. In this sense the losses of humidity were measured thorough various samples along the production process, in several points of the same. After the respective period of storage the product was submitted to microbiological analysis and the values of water activity were recorded, in order to evaluate the quality and safety of the final product. The results from the analysis of the AF samples in study have showed lower microbiological levels in the samples produced in the test three, where a surfactant was used, than in the other tests. The water activity values were also considerably lower compared with the others, showing the efficacy in the reduction of water activity in the AF and consequently in the control of microbiological development, independently of the total moisture.

KEY WORDS: pig feed; moisture; water activity (aw); surfactant; contaminants; microorganisms

ÍNDICE GERAL

	Pag.
INDICE DE FIGURAS	4
INDICE DE TABELAS	5
LISTA DE ABREVIATURAS	6
1. INTRODUÇÃO	7
1.1 A importância da Indústria de Alimentos Compostos para Animais (ACA)	7
1.2 Objectivo	9
2. O CONTROLO DE QUALIDADE NA INDÚSTRIA DE ACA	10
2.1 A necessidade de implementação do HACCP na Indústria de ACA	10
2.2 Princípios do HACCP	12
2.3 Os benefícios do HACCP	13
3. CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA	14
3.1 Os Microrganismos em ingredientes e ACA	14
3.2 Caracterização dos Microrganismos	16
3.2.1 Bactérias	16
3.2.1.1 <i>Enterobacteriaceae</i>	19
3.2.1.1.1 <i>Salmonella</i>	19
3.2.1.1.2 <i>Clostridium perfringens</i>	21
3.2.1.1.3 <i>Escherichia coli</i>	22
3.2.2 Fungos (bolores e leveduras)	24

3.2.2.1	Factores ambientais que influenciam o crescimento fúngico	28
3.2.2.2	Penicillium	29
3.2.2.3	Aspergillus	29
3.2.2.4	Fusarium	30
3.3	O Controlo de Microrganismos nos ACA	32
3.3.1	Tratamento térmico: Peletização e as suas vantagens	34
3.3.2	Tratamento químico: surfactante	35
3.3.2.1	Caracterização do Surfactante	35
3.3.2.2	A importância do uso do surfactante	36
3.3.3	Actividade da água	36
3.4	Limites Microbiológicos	38
3.5	Características do Produto Final	39
4	ENSAIO EXPERIMENTAL	40
4.1	Introdução: Processo de Fabrico	40
4.2	Desenho Experimental	42
4.2.1	Amostra	42
4.2.2	Amostragem	42
4.2.3	Colheita das amostras	44
4.3	Parâmetros analisados e Metodologias utilizadas	47
5	RESULTADOS	50
6	DISCUSSÃO	59
6.1	Índice de Humidade	59

6.2 Actividade da água	59
6.3 Microbiologia	60
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	61
BIBLIOGRAFIA	62
MEDIAGRAFIA	63

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pag.
Figura 1- Fotografias obtidas por microscopia electrónica dos diferentes géneros bacterianos	18
Figura 2- Fotografia electrónica do género <i>Salmonella</i> spp	20
Figura 3- Fotografia electrónica do género <i>Clostridium perfringens</i>	21
Figura 4- Fotografia electrónica da bactéria <i>E. coli</i>	23
Figura 5- Fotografias obtidas por microscopia electrónica de leveduras e fungos filamentosos	25
Figura 6- Fluxograma do processo produtivo	41
Figura 7- Circuito de passagem das matérias-primas	44
Figura 8- Vista geral da granuladora, à entrada da granuladora (8 a) e à saída da granuladora (8 b)	45
Figura 9- Vista geral do arrefecedor	45
Figura 10- Esquema representativo dos três tratamentos realizados	48

ÍNDICE DE TABELAS

	Pag.
Tabela 1- Incidência (em %) de contaminação de diferentes matérias-primas usadas na alimentação animal.	15
Tabela 2- Comparação entre as exigências fisiológicas e nutritivas de bolores e bactérias	27
Tabela 3- Principais micotoxinas e respectivos fungos produtores, substratos e efeitos no Homem e nos animais	31
Tabela 4- Esquema dos diferentes tratamentos térmicos e pontos de acção.	34
Tabela 5- Valores mínimos de actividade de água (aw) para o crescimento e produção de toxinas e patogénicos	37
Tabela 6- Valores indicativos de referência de contaminação microbiológica	38
Tabela 7- Número de amostras colhidas durante o ensaio experimental	43
Tabela 8- Teores de humidade, temperatura e de aw do produto final para i=0	50
Tabela 9- Resultados microbiológicos do produto final para i=0	51
Tabela 10- Teores de aw do produto final para i=1	53
Tabela 11- Resultados microbiológicos do produto final para i=1	54
Tabela 12- Teores de aw do produto final para i=2	55
Tabela 13- Resultados microbiológicos do produto final para i=2	56
Tabela 14- Teores de aw do produto final para i=3	57
Tabela 15- Resultados microbiológicos do produto final para i=3	58

LISTA DE ABREVIATURAS

ACA: Alimento Composto para Animais

aw: Actividade da Água

HACCP: Hazard Analysis Critical Control Point

BSE: Bovine Spongiform Encephalopathy

PCC's: Pontos Críticos de Controlo

Ufc: unidades formadoras de colónias

i: Instante

T: tratamento

1. INTRODUÇÃO

1.1 A importância da Indústria de Alimentos Compostos para Animais

(ACA)

A indústria de ACA é muito significativa em todo o mundo, encontrando-se a União Europeia no segundo lugar dos maiores produtores de ACA a nível mundial, superada apenas pelos Estados Unidos. A produção anual mundial de ACA gira em torno de 700 milhões de toneladas métricas, segundo dados estatísticos de 2008 (SINDIRAÇÕES). Segundo dados fornecidos pela IACA (Associação Portuguesa dos Industriais de Alimentos Compostos para Animais) a produção nacional de alimentos compostos para animais no ano de 2008 (ultimo ano com dados actualizados) foi de 3.286 milhares de toneladas, tendo em atenção produções dos seus associados que representam 50 empresas de alimentos compostos, ou seja cerca de 90% da produção nacional. Este valor representa apenas um volume de 2% em toda a União Europeia, que atingiu valores anuais de 150 milhões de toneladas só neste ano de 2008, mas a nível nacional tem extrema importância económica. Esta importância é não só económica como de segurança alimentar, uma vez que os ACA são parte integrante da cadeia produtiva de alimentos para nós humanos. Segundo estudos realizados, quase 66% das doenças alimentares em humanos são provocadas por microrganismos, nomeadamente bactérias (*Salmonella*), tendo sido registados em 2007, só na União Europeia mais de 155 mil casos de salmonelose. Os alimentos de origem animal, pela sua ingestão, são considerados como um dos vectores de contaminação para humanos, uma vez que podem ser provenientes de animais alimentados com ACA contaminados por bactérias, ou outros microrganismos.

A gestão da qualidade de ACA tem desta forma ligação directa com a segurança do alimento, como foi proposto no sistema "*Feed for Food*", segundo Hartog (2003a). As rações fazem parte do sistema produtivo animal e quando usadas intensivamente representam cerca de 60 a 80% do custo de produção animal, sendo que a qualidade das mesmas tem de ser garantida. Petri (2002) define a qualidade das rações em quatro grandes aspectos: **nutricional** (composição de proteína e aminoácidos, gorduras minerais, vitaminas e energia disponíveis) **técnico** (características físicas dos ingredientes, rações e processo de fabricação), **segurança para os animais, ambiente e consumidores** (ausência de substâncias e microrganismos nocivos à saúde dos animais, ambiente e consumidores) e **qualidade emocional**. (receio da presença de substâncias perigosas nos produtos animais, bem como aspectos étnicos, religiosos e culturais).

A gestão da qualidade tornou-se numa expressão de grande impacto nas relações comerciais, tendo permanecido incorrectamente associada a expressões como rastreabilidade, HACCP e certificação. Segundo Oliver (2003) um esquema de qualidade é um plano de trabalho ou acção projectado para inspirar confiança. Por sua vez este esquema é parte integrante de todo o sistema da qualidade das empresas, que engloba os esquemas e demais componentes do sistema.

1.2 OBJECTIVO

O ensaio realizado teve como principais objectivos:

- ◆ Observação do desenvolvimento do índice de humidade e da actividade da água (a_w) durante o processo de produção, analisando determinados pontos da linha fabrico da ração estudada;
- ◆ Determinação dos potenciais benefícios de um surfactante integrado num programa de optimização de humidade;
- ◆ Relacionar estes valores na influência da estabilidade do produto acabado;
- ◆ Análise de resultados e possíveis recomendações

2. O CONTROLO DE QUALIDADE NA INDÚSTRIA DE ACA

2.1 A necessidade de implementação do HACCP na Indústria de ACA

Foi na indústria de ACA onde surgiu essa necessidade de inspirar confiança.

Se recuarmos no tempo vimos que a resposta é muito clara, em 1987 a BSE (Bovine Spongiform Encephalopathy) entrava para as manchetes dos “media” e a Indústria de Alimentação Animal foi responsabilizada pela origem deste problema. Em 1988 o ministro da agricultura inglês fez uma declaração em que os ovos estavam contaminados com *Salmonella* e a indústria de rações foi penalizada. Em 1989, foi encontrado chumbo, em leite de vaca tendo sido originário de ACA contaminados. Em 1996, a variante humana da doença da vaca louca foi associada com a BSE e repentinamente toda a comunicação social ficou de olhos postos nesta indústria e nas condições em que eram produzidas as rações para animais. A perspectiva de segurança alimentar mudou de modo a incluir este sector dentro da cadeia alimentar humana. A partir daí todas as notícias do sector agrícola foram exploradas e deram nova perspectiva na discussão sobre segurança dos alimentos, tendo-se desenrolado novos episódios desastrosos mesmo depois da União Europeia ter activado o código vermelho no sistema de vigilância neste sector. Entre os anos de 2001 e 2003 voltaram existir novas polémicas como foram os casos da contaminação de leite por cloranfenicol e a contaminação de farinha de trigo com dioxinas. Assim a necessidade de inspirar confiança na indústria de rações permanece actual e urgente como há uns anos atrás. Assim e de forma reconquistar a confiança dos consumidores é imprescindível a aplicação de um Código de Boas Práticas de Fabrico (BPF), que englobe todas as etapas de fabrico, desde a recepção das matérias-primas à distribuição das rações, visando minimizar

os riscos de contaminação, ajustado à realidade da Indústria de Alimentos Compostos de forma a assegurar a estabilidade e segurança alimentar de todos os produtos.

Foi sem dúvida este o grande objectivo quando a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação – FAO – e a Organização Mundial da Saúde – OMS, criaram em 1963 a comissão do CODEX ALIMENTARIUS, objectivando o desenvolvimento de normas alimentares, regulamentos e outros textos relacionados com códigos de boas práticas. As principais preocupações deste programa são a protecção da saúde dos consumidores e a promoção da coordenação de todas as normas alimentares acordadas pelas organizações governamentais.

Em Julho de 1993 a Comissão do *Codex Alimentarius* incorporou as directrizes para aplicação do Sistema HACCP, desenhado para controlar o processo de produção baseando-se em princípios e conceitos preventivos. É possível aplicar medidas para garantir um controlo eficiente, através da identificação de pontos ou etapas onde se pode controlar o perigo (limitação de acesso, eliminação, diminuição, etc.). Os perigos aqui considerados podem ser físicos, químicos ou biológicos. Este sistema é científico, sistemático, e garante não só a inocuidade do alimento, mas também a redução de custos operacionais, diminuindo a necessidade de colheita de amostras, destruição ou reprocessamento do produto final por razões de segurança. A implementação do sistema HACCP reduz a necessidade de inspecção e teste de produto final, aumenta a confiança do consumidor e resulta num produto comercialmente mais viável. Facilita o cumprimento de exigências legais, e permite o uso mais eficiente de recursos, acarretando redução nos custos da indústria de alimentos e uma resposta mais imediata para as questões de inocuidade de alimentos.

Inúmeras áreas têm contribuído para melhorar e aperfeiçoar a eficiência da produção animal como a genética e a nutrição animal, assim sendo também a tecnologia de processamento dos ACA tem avançado bastante ao longo do tempo, visando atender essas exigências, reduzir os desperdícios e maximizar o uso dos recursos através de uma maior precisão. Desta forma garante-se a segurança alimentar e a possibilidade da rastreabilidade completa de todos os processos envolventes. Assim, o estudo realizado teve por objectivo estudar o comportamento de um determinado produto final durante todo o seu processo de fabrico e prazo de validade, testando diferentes processos de fabrico.

2.2 Princípios do HACCP

O sistema HACCP está baseado em sete princípios:

1. Efectuar uma análise de perigos e identificar as medidas preventivas respectivas
2. Identificar os pontos críticos de controlo (PCC's): matéria-prima, stocks, processamento, distribuição e consumo.
3. Estabelecer limites críticos para as medidas preventivas associadas com cada PCC: por exemplo, tempo e temperatura mínima de cozedura
4. Estabelecer os requisitos de controlo (monitorização) dos PCC's. Estabelecer procedimentos para utilização dos resultados da monitorização para ajustar o processo e manter o controlo
5. Estabelecer acções correctivas para o caso de desvio dos limites críticos
6. Estabelecer procedimentos de verificação para avaliar que o sistema está adequadamente implementado e é eficaz, nomeadamente através de auditorias

internas, análises e testes aos produtos, avaliação de registos, não conformidades, reclamações, etc.

7. Estabelecer um sistema para registo de todos os controlos

2.3 Os benefícios do HACCP

A certificação de acordo com os princípios do HACCP melhora o Sistema de Gestão de Segurança Alimentar e a Qualidade do produto. Simultaneamente, demonstra o compromisso em produzir ou comercializar alimentos seguros, que pode ser particularmente benéfico em caso de inspecção por parte das autoridades reguladoras. Demonstrar um real compromisso com a segurança alimentar pode também transformar o produto, a imagem da organização e actuar como uma ferramenta eficaz na entrada no mercado, abrindo novas oportunidades de negócios em todo o mundo.

3. CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA

3.1. Os Microrganismos em ingredientes e ACA

As contaminações das rações podem ser de diversas naturezas mas essencialmente podemos agrupá-las em duas grandes categorias: as contaminações directas através de várias substâncias e/ou microrganismos e as contaminações indirectas que resultam da criação de condições que vão propiciar o desenvolvimento de microrganismos capazes de provocar um conjunto diversificado de problemas, está neste caso a água que conduz à elevação da humidade do meio com todas as consequências que daí possam resultar.

Este aumento da humidade pode ser devido à adição de água, durante o processo de fabrico na fase do misturador. Esta necessidade deve-se ao facto das perdas que existem ao longo de todo o processo de fabrico, nomeadamente na moagem e granulação. Desta forma tem de ser compensada essa perda para permitir a qualidade dos pellets (granulado).

Quanto às contaminações microbiológicas presentes nas rações, as mais preocupantes são as provocadas por bactérias (*Salmonella*, *Clostridium perfringens*, *E. coli*) e por fungos, nomeadamente bolores, sendo estes últimos mais resistentes e difíceis de eliminar, uma vez que durante o seu crescimento produzem substâncias tóxicas que provocam graves doenças ou até mesmo a morte. A Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar considerou que a *Salmonella* é a bactéria mais preocupante e frequente no produto final, sendo a sua principal porta de entrada as oleaginosas e matérias-primas ricas em proteína animal. A fonte de contaminação de ingredientes, assim como de grãos e sementes oleaginosas é essencialmente o pó que vem do próprio solo através do vento, da chuva e da colheita mecânica. Os insectos, os roedores e aves selvagens também podem contaminar grãos após a colheita, durante o transporte e no armazenamento (Fleurat-Lessard, 1988; Multon, 1988;

Poisson Cahagnier, 1988; Maciorowski et al, 2004). Ou seja, os ingredientes vegetais e cereais podem entrar em contacto directo com desafios ambientais com contaminações durante a plantação, a colheita, o armazenamento e até mesmo no próprio transporte. No caso de alimentos de origem animal, a própria matéria-prima apresenta risco alto de contaminação (Nesse et al, 2003; Oyarzabal, 2007).

As contaminações são possíveis durante todo o processo, existindo no entanto fases mais vulneráveis e propícias ao seu desenvolvimento, pelas condições adequadas em termos de temperatura, humidade e pH. Existem alguns factores intrínsecos aos ACA responsáveis pelo desenvolvimento microbiano no produto final sendo de destacar a temperatura, a humidade, aw, pH e a composição nutritiva dos ACA.

Segundo um estudo realizado em Espanha (Prió et al, 2001) sobre o nível de contaminação por *Salmonella* sp e por *Clostridium perfringens* nos principais ingredientes disponíveis para nutrição animal foi possível constatar que qualquer uma dessas contaminações está presente nos diferentes ingredientes e de forma bastante variada, como se pode observar na tabela seguinte.

Tabela 1- Incidência (em %) de contaminação de diferentes matérias-primas usadas na alimentação animal.

Ingredientes	n= número de amostras	<i>Salmonella</i> sp (%)	<i>Clostridium perfringens</i> (%)
Sêmea de trigo	85	28,3	35,2
Cevada	123	16,3	10,2
Milho	298	1,1	1,2

Soja	464	10,8	5,3
Girassol	70	10,9	13,3
Farinha de carne	109	17,4	33,6
Farinha de peixe	61	13,6	11,4

Fonte: Adaptado de Prió et al (2001)

3.2 Caracterização dos Microrganismos

3.2.1 Bactérias

Entre todos os microrganismos que intervêm na alimentação, as bactérias formam o grupo mais importante, tanto pelo número como pela diversidade e pela frequência das suas acções. A maioria dos alimentos contém, a não ser que tenham sido perfeitamente esterilizados, centenas ou mesmo milhões de bactérias por grama, especialmente à superfície. Colocadas em condições propícias, estas bactérias multiplicam-se nos alimentos à custa das substâncias nutritivas contidas no produto. Por isto mesmo à medida que ocorre o crescimento bacteriano, a composição química do alimento modifica-se, levando igualmente a, modificações no aspecto, no cheiro e no gosto. Em outros casos, o crescimento bacteriano não modifica de maneira significativa as características organolépticas do alimento, mas o consumo do produto pode provocar indisposições cuja gravidade será mais ou menos importante em cada caso. (Lacasse, 1998).

As bactérias são microrganismos procariontes, unicelulares de tamanho minúsculo, sendo o seu diâmetro da ordem de 0,5 a 2 μm e reproduzem-se apenas assexuadamente. Podem apresentar diferentes formas, tais como: esférica (*coccus*), cilíndrica (bacilos) ou espiralada

(espirilos) entre outras. Estas podem viver tanto na presença de ar, designando-se aeróbias ou na sua ausência, designando-se neste caso anaeróbias, ou ainda anaeróbias facultativas. Algumas bactérias podem enquistar, formando um esporo, com um invólucro de polissacáridos mais espesso e ficando em estado de vida latente enquanto as condições ambientais forem desfavoráveis. As bactérias móveis deslocam-se, quer através da utilização de flagelos, quer deslizando sobre superfícies, ou ainda por alterações da sua flutuabilidade. Os flagelos bacterianos encontram-se organizados de diferentes formas: algumas bactérias possuem um único flagelo polar (numa extremidade da célula), enquanto outras possuem grupos de flagelos, quer numa extremidade, quer em toda a superfície da parede celular. Quanto às suas necessidades nutricionais podem classificar-se em autotróficas ou heterotróficas, dependendo dos tipos de elementos nutricionais que lhes são necessários e consoante a fonte de energia utilizada. Como autotróficas classificam-se aquelas que satisfazem as suas necessidades nutricionais com substâncias simples, sob forma inorgânica (água, sais minerais e CO_2). A sua fonte de carbono é normalmente o gás carbónico. As heterotróficas necessitam de nutrientes orgânicos, (como os glúcidos, proteínas, lípidos...) para assegurar o seu desenvolvimento. Estes nutrientes servem em parte como material para a síntese dos seus próprios constituintes e em parte como carburante cuja oxidação fornece a energia necessária ao seu funcionamento (Lacasse, 1998). Quanto à fonte de energia utilizada as bactérias podem designar-se fototróficas, quando a luz é a sua fonte de energia ou ainda quimiotróficas, quando a sua fonte de energia são compostos químicos orgânicos. Na figura seguinte observam-se alguns exemplares de bactérias.

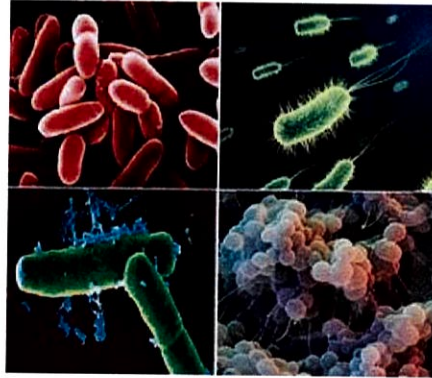


Figura 1- Fotografias obtidas por microscopia electrónica dos diferentes géneros bacterianos.

As bactérias caracterizam-se pela sua capacidade de adaptação rápida a alterações no meio ambiente, crescendo e dividindo-se rapidamente. Tipicamente, as células procariontes apresentam taxas metabólicas (quantidade de substrato ou oxigénio consumida por hora e por unidade de massa celular) entre 10 a 100 vezes superior às das células eucariontes.

Esta capacidade aliada à sua composição química, estrutura, características bioquímicas e genéticas, faz das bactérias um objecto de estudo nas mais diversas áreas.

Os processos de coloração que evidenciam diferenças entre células bacterianas ou partes de uma bactéria são conhecidos como técnicas de coloração diferencial. São ligeiramente mais elaboradas que a técnica de coloração simples e as células são expostas a mais do que um corante ou reagente. Uma das técnicas de coloração diferencial mais importantes e mais largamente utilizadas em microbiologia é o método de Gram. As bactérias coradas por este método pertencem a dois grupos Gram positivas que retêm o cristal violeta e apresentam coloração violeta escura e bactérias Gram negativas que perdem o cristal violeta e são coradas pela safranina, apresentando uma coloração vermelha. Isto acontece

devido a diferenças de estrutura química ou superfície bacteriana, nomeadamente a estrutura e composição da parede celular. As gram negativas têm uma concentração mais elevada de lípidos, comparativamente com as Gram positivas.

3.2.1.1 *Enterobacteriaceae*

Esta família de bactérias envolve uma grande variedade de bactérias patogénicas. Os microrganismos desta família são Gram negativos e alguns são colonizadores do Homem e animais, encontrando-se presentes maioritariamente no seu tracto intestinal como a *Escherichia coli*, outros como habitantes do solo ou da água e outros ainda podem estar implicados em vários processos patogénicos, incluindo por exemplo os géneros *Salmonella*, *Shigella* e *Yersinia*. e apresentam morfologia variada. Estes bacilos são anaeróbios facultativos (crescem em aerobiose e anaerobiose). A maioria das enterobactérias são móveis e com flagelos peritríquios, não são formadores de esporos.

De seguida analisaremos em mais detalhe e individualmente alguns géneros patogénicos desta família, nomeadamente a *Salmonella*, o *Clostridium perfringens* e a *Escherichia coli*.

3.2.1.1.1 *Salmonella*

A *Salmonella* é um género de bactérias pertencente à família Enterobacteriaceae, composto por três espécies, *Salmonella subterranea*, *Salmonella bongori* e *Salmonella enterica*. As que assumem maior importância para a saúde humana destacam-se a

Salmonella Typhi (*Salmonella enterica enterica* sorovar Typhi), que causa infecções sistêmicas e febre tifóide – doença endêmica em muitos países em desenvolvimento – e a *Salmonella* Typhimurium (*Salmonella enterica enterica* sorovar Typhimurium), um dos agentes causadores das gastroenterites.

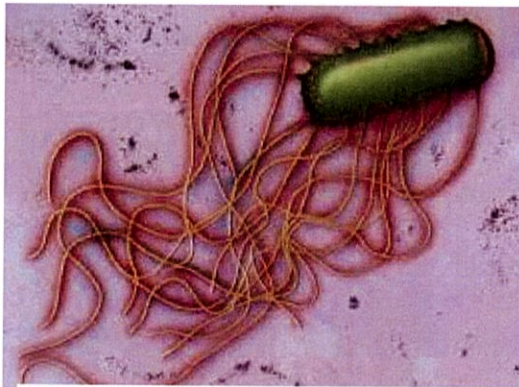


Figura 2- Fotografia electrónica do género *Salmonella*
Fonte:

São anaeróbias facultativas, Gram negativas em forma de bacilo com mobilidade (flagelos peritríquios), não capsulado e esporulado, sendo que a maioria não fermenta a lactose.

Podem ser encontradas no solo, na água, nos insectos, nas superfícies de fábricas e de cozinhas e nas fezes de animais.

As salmonellas conseguem crescer em ambientes com temperaturas muito diversas, desde os 2-4°C, designadas psicotróficas que crescem em alimentos em refrigeração, mas não se multiplicam nestas condições e são extremamente resistentes à congelação e também crescem em temperaturas superiores a 50°C, no entanto têm uma temperatura óptima de crescimento entre 35 e 37°C. São destruídas por pasteurização e irradiação, mas teores elevados de gordura e baixos valores de aw reduzem a eficácia dos tratamentos térmicos. São extremamente resistentes à secura, sendo considerados os microrganismos mais resistentes que se adaptam a condições ambientais extremas

Este género de bactérias é caracterizado como quimiotrófico, uma vez que a sua fonte de energia é feita à base de compostos orgânicos

Relativamente a valores de pH crescem em ambientes com valores de 4 a 9,5 e apresentam uma taxa específica de crescimento máxima em ambientes com valores de pH entre 6,5 e

7,5 (pH óptimo). O limite mínimo de a_w que permite crescimento é 0,93. O crescimento de *Salmonella* é inibido em meios ou alimentos com concentrações de NaCl entre 3 e 4%.

3.2.1.1.2 *Clostridium perfringens*

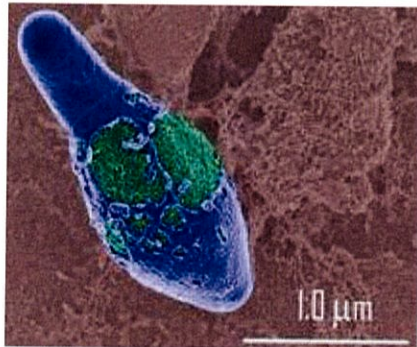


Figura 3- Fotografia electrónica do género *Clostridium perfringens*
Fonte:

Embora o *Clostridium perfringens* esteja classificado como um dos agentes responsáveis de infeções alimentares, só uma enterotoxina é neste caso responsável pela sintomatologia. Esta toxina activa é produzida no próprio intestino, após a ingestão de um grande número de células vivas (consumos superiores a 10^6), o que faz com que seja considerada mais como

agente infeccioso do que como agente de intoxicação.

Ele é o segundo maior causador de surtos alimentares em todo o mundo, logo a seguir às salmoneloses.

É um bacilo anaeróbio estrito, Gram positivo, em forma de bastonete e esporulada. Os esporos são resistentes a tratamentos térmicos, como a cozedura e a pasteurização e à desidratação, permitindo a germinação das células vegetativas multiplicando-se rapidamente e sobrevivendo em alimentos mal processados. São ubiqüitários, encontrando-se disseminados no solo e no pó, na água e na flora do tracto gastrointestinal do Homem e diversos animais, como saprófitas. Algumas espécies de *Clostridium* são agentes causadores de doenças. Uma das características mais importantes desta bactéria é a sua capacidade de multiplicação em alimentos ricos em proteínas (carnes) e temperaturas que variam entre os 25° e 50°C, sendo a temperatura optima entre os 37 a 45°C e a temperatura minima de crescimento os 20°C

Tem preferência por meios ácidos, adaptando-se a valores de pH entre 5,5 a 8, mas geralmente não se adapta a meios com pH inferior a 5 nem superior a 8,5-9. Desenvolve-se com valores de aw de 0,97. no entanto valores de 0,95 em meios enriquecidos com sacarina ou meios com altas concentrações de sal (NaCl 5%) diminuem a resistência ao calor.

3.2.1.1.3 *Escherichia coli*

A *E. coli* como microrganismo procarionte é relativamente pequena e simples. A sua dimensão típica é de 0,5 µm de diâmetro e 1,5 µm de comprimento, apresentando a forma de um bacilo. Esta, pertence à família das Enterobacteriaceae. A *E.coli* é uma bactéria Gram negativa, cuja célula é revestida pela membrana citoplasmática, uma parede fina e uma membrana exterior. Em determinadas condições pode ainda observar-se uma camada viscosa de polímeros, designada por cápsula. Esta estrutura tem um papel preponderante na sua capacidade de se proteger de condições ambientais adversas, facilitando-lhe também a adesão a superfícies.

Na figura seguinte é apresentada uma fotografia desta bactéria obtida por microscopia electrónica.

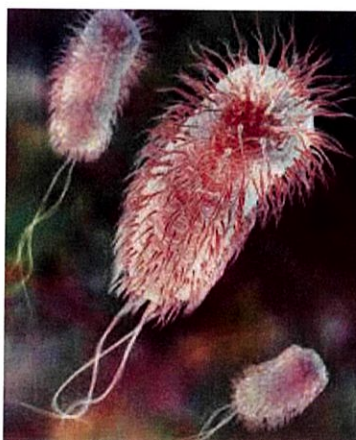


Figura 4- Fotografia electrónica da bactéria *E. coli*
Fonte:

São classificadas como anaeróbias facultativas. Sendo uma bactéria mesófila, algumas estirpes conseguem crescer a temperaturas entre os 7 e os 49°C e têm uma temperatura óptima de crescimento entre os 35 e os 40°C. As estirpes patogénicas sobrevivem, geralmente, às temperaturas de refrigeração, apesar de ocorrer uma ligeira redução após uma a cinco semanas de armazenamento. A *E. coli* é destruída por irradiação, cujo efeito aumenta com a presença de oxigénio

Cresce bastante bem em ambientes próximos da neutralidade, isto é, a um pH entre 6 e 8, podendo ainda crescer, embora mais lentamente, em condições onde o pH é aproximadamente uma unidade a menos ou a mais desses valores. São susceptíveis aos ambientes secos, aos quais não resistem, pois necessitam de valores de aw muito próximos de 1 (0,95).

O seu habitat natural é o lúmen intestinal dos seres humanos e de outros animais de sangue quente. Possui múltiplos flagelos dispostos em volta da célula e fímbrias que permitem a sua fixação no hospedeiro, impedindo o seu arrastamento pela urina ou fezes.

A perigosa bactéria *E. Coli* contamina mais de 50% das farinhas de carne segundo algumas estimativas. Mesmo que o processo de cozedura elimina as bactérias, ele não neutraliza as endotoxinas que algumas bactérias produzem durante o seu crescimento e que são libertadas quando elas morrem. Essas toxinas podem causar náuseas e doenças. Os fabricantes de ACA não têm por habito analisar os seus produtos quanto à presença destas endotoxinas.

3.2.2 Fungos (bolors e leveduras)

Os fungos são membros de um vasto grupo de organismos eucariontes, que inclui microrganismos tais como as leveduras (com um só núcleo) e os bolors ou fungos filamentosos (multinucleados), bem como os mais familiares cogumelos. Abundantes em todo mundo, a maioria dos fungos são inconspícuos devido ao pequeno tamanho das suas estruturas, e pelos seus modos de vida crípticos no solo, na matéria morta, e como simbioses de plantas, animais, vegetais e outros fungos. O vento age como importante veículo de dispersão dos seus fragmentos. Os fungos desempenham um papel essencial na decomposição da matéria orgânica e têm papéis fundamentais nas trocas e ciclos de nutrientes. Estes microrganismos podem decompor materiais artificiais e construções, e tornar-se patogénicos para animais e humanos. As perdas nas colheitas devido a doenças causadas por fungos ou à deterioração de alimentos pode ter um impacto significativo no fornecimento de alimentos e nas economias locais.

Como saprófitas, decompõem resíduos complexos de plantas e animais, transformando-se em formas químicas mais simples que retornam ao solo. Tais substâncias são, então, absorvidas pelas gerações vegetais subsequentes. Desse modo, a actividade fúngica é

amplamente responsável pela fertilidade do solo. Mas o crescimento dos fungos saprófitas, contudo, pode ser prejudicial.

São organismos heterotróficos, requerendo compostos orgânicos pré-formados como fontes de energia, que fazem a digestão externa de matéria orgânica como, a celulose, lenhina, hemicelulose, amido, quitina, queratina, entre outros, libertando enzimas (celulases, lacases, etc) que permitem a decomposição do substrato orgânico, em hidratos de carbono que podem ser facilmente assimilados pelas paredes das suas células, e na sua maioria são aeróbios obrigatórios. No entanto, certas leveduras que fermentam, são aeróbias facultativas e desenvolvem-se em ambientes com pouco oxigénio ou mesmo na ausência deste elemento.

Em baixo pode observar-se a diferença entre leveduras e bolores em fotografias obtidas por microscopia electrónica.

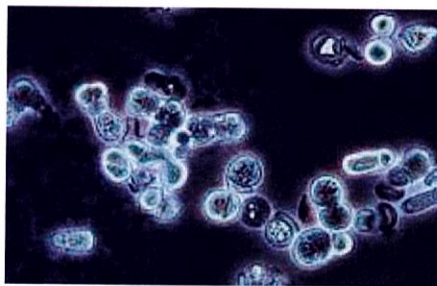


Figura 5. Fotografias obtidas por microscopia electrónica de leveduras¹ e fungos filamentosos²
Fonte: ^{1 2}

A reprodução dos fungos é complexa, reflectindo as diferenças de modos de vida e da constituição genética existentes neste reino. As condições ambientais desencadeiam estados de desenvolvimento geneticamente determinados que conduzem à criação de estruturas especializadas para a reprodução sexuada ou assexuada. Estas estruturas

auxiliam a reprodução ao dispersarem eficientemente esporos ou propágulos contendo esporos, que são dispersos por diversos agentes e permitem a sua propagação.

Os esporos sexuados e as estruturas que os contém são usualmente distinguíveis, sob o ponto de vista morfológico, dos esporos assexuados, os quais são formados por simples diferenciação do talo em desenvolvimento (o talo é o fungo individual completo, incluindo as porções vegetativas ou não sexuadas e todas as estruturas especializadas). O talo de um fungo é tipicamente composto por filamentos tubulares, microscópicos, chamados hifas. (Pelczar et al, 1980). A maioria dos fungos desenvolve-se como hifas, estruturas filamentosas que constituem o micélio. Para além de fixação ao substrato, as hifas têm as funções de reprodução e digestão extracelular, estando especificamente adaptadas ao crescimento sobre superfícies sólidas e à invasão de substratos e tecidos.

Os fungos desenvolveram um grau elevado de versatilidade metabólica, o que lhes permite utilizar uma variedade de substratos orgânicos para o seu crescimento, incluindo compostos simples como nitrato, amónia, acetato, ou etanol. Alguns são halofílicos, crescendo em ambiente com elevada concentração de sal.

A temperatura de crescimento dos fungos abrange uma larga faixa, havendo espécies psicrófilas, mesófilas e termófilas. Os fungos de importância médica, em geral, são mesófilos, apresentando temperatura óptima para crescimento, entre os 20° e os 30°C.

Ainda que o pH mais favorável ao desenvolvimento dos fungos esteja entre 5.6 e 7, a maioria dos fungos tolera amplas variações de pH. Os fungos filamentosos podem crescer na faixa entre 1,5 e 11, mas as leveduras não toleram pH alcalino

Tabela 2- Comparação entre as exigências fisiológicas e nutritivas de bolores e bactérias

Exigências para maioria das espécies	Bolores	Bactérias
pH		
Limites	2-8	4-9
Óptimo	5,6	6,5-7,5
Temperatura		
Limites	0-62°C	0-79°C
Óptimo	22-30 °C	20-37°C
Gases	Aeróbios	Aeróbias, anaeróbias facultativas,
	estritos	anaeróbias
Luz	Nenhuma	Alguns grupos fotossintéticos
Concentração de hidratos de carbono no meio	4%	0,5-1%
Carbono	Heterotróficas	Autotróficas e heterotróficas

Fonte: Adaptado de Pelzcar (1980)

Na sua acção de decomposição dos alimentos, os fungos são capazes de produzir metabolitos secundários, não essenciais para a sua manutenção primária, mas capazes de atingir outras espécies. Esses compostos, denominados genericamente de micotoxinas, conferem aos fungos uma vantagem competitiva sobre outros fungos e sobre bactérias presentes no ambiente. São estas substâncias que conferem importância aos fungos do ponto de vista toxicológico. São muito estáveis ao calor (resistem a temperaturas da ordem dos 270°C), mas são sensíveis à radiação U.V. As suas propriedades tóxicas podem ser

agudas (podendo ser identificados efeitos como gastroenterites), subagudas ou crónicas. Os efeitos crónicos podem ser difíceis de determinação, visto geralmente exigirem a ingestão moderada por longos períodos de tempo.

3.2.2.1 Factores ambientais que influenciam o crescimento fúngico

Dado que as matérias-primas e os ACA são um substrato nutritivo mais que suficiente para cobrir as necessidades dos fungos, são os factores ambientais de humidade e temperatura os principais responsáveis de acelerar o seu crescimento e multiplicação.

As matérias-primas e os ACA com humidades inferiores a 14 % apresentam em desenvolvimento fúngico mínimo. À medida que este factor aumenta o crescimento e a multiplicação aceleram, tornando-se explosivos para valores de humidades igual ou superior a 16 %. Na realidade, a humidade de um produto armazenado nunca é homogénea, uma vez que se formam bolsas com valores muito superiores à média, devido a migrações de humidade.

A temperatura numa massa de matérias-primas e de ACA é baseada na temperatura ambiental, do calor gerado pelo metabolismo da sua carga microbiana e das características técnicas do seu armazenamento. Esta temperatura não é homogénea, uma vez que existem flutuações, criando zonas mais quentes, onde se pode produzir um maior crescimento e desenvolvimento fúngico.

A maioria dos fungos não crescem a temperaturas abaixo dos 5° C, encontrando-se a temperatura óptima de crescimento na ordem dos 20 a 30°C, mas podem desenvolver-se com temperaturas muito altas (55°C), dependendo dos géneros.

Estes dois factores têm grande importância porque influenciam o maior ou menor crescimento e multiplicação das espécies fúngicas contaminantes e condicionam a produção de micotoxinas, assim como a rapidez e quantidades produzidas.

Dos tipos mais frequentemente encontrados em microbiologia alimentar, com maior interesse por causa das suas propriedades biológicas, toxicológicas ou da sua importância económica, destacamos o *Penicillium*, o *Aspergillus* e o *Fusarium*.

3.2.2.2 *Penicillium*

Os membros deste grupo ocorrem amplamente na Natureza. Algumas espécies causam o apodrecimento ou deterioração de frutas, vegetais, conservas, grãos e pastos. Outras podem ainda ser utilizadas na produção de alimentos, nomeadamente, queijos, fermentações industriais (antibióticos). Reproduzem-se sexualmente pela formação de ascósporos. Os penicilios possuem micélios vegetativos septados que penetram no substrato, produzindo hifas aéreas. Crescem melhor em temperaturas de 15 a 30°C.

Penicillium citrinum, *Penicillium expansum* e *Penicillium griseofulvum*, são alguns dos géneros produtores de toxinas.

3.2.2.3 *Aspergillus*

Os aspergilos encontram-se largamente espalhados pela Natureza, sendo encontrados em frutas, vegetais e outros substratos capazes de fornecer o alimento necessário ao seu

crescimento. Algumas espécies são também responsáveis pela deterioração de alimentos. Economicamente importantes, são utilizados em numerosas fermentações industriais, como a produção de ácido cítrico e ácido glucónico. Sob o ponto de vista morfológico, produzem micélios septados e ramificados com as porções vegetativas submersas no nutriente.

Os arpergilos crescem na presença de altas concentrações de açúcar e de sal, indicando que podem extrair água de substâncias relativamente secas.

Os géneros *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus ochraceus* e *Aspergillus carbonarius* são responsáveis pela produção de micotoxinas

3.2.2.4 Fusarium

Estes bolores encontram-se amplamente distribuídos na Natureza e frequentemente isolados como contaminantes de meios bacteriológicos pois os seus esporos são veiculados por correntes aéreas. Encontram-se no solo e em matérias vegetais decompostas e em alimentos, sendo que muitas espécies podem estar associadas a doenças de plantas. Neste grupo também existem géneros responsáveis pela produção de toxinas, são eles *Fusarium verticillioides* e *Fusarium graminearum*, tal como se pode observar na tabela seguinte.

Tabela 3- Principais micotoxinas e respectivos fungos produtores, substratos e efeitos no Homem e nos animais

Principais substratos	Principais fungos produtores	Principal toxina	Efeitos
Amendoim, milho	<i>Aspergillus flavus</i> e <i>Aspergillus parasiticus</i>	Aflatoxina B1	Hepatotóxica, nefrotóxica, carcinogénica
Trigo, aveia, cevada, milho e arroz.	<i>Penicillium citrinum</i>	Citrinina	Nefrotóxica para suínos
Centeio e grãos em geral.	<i>Claviceps purpúrea</i>	Ergotamina	Gangrena de extremidades ou convulsões
Milho	<i>Fusarium verticillioides</i>	Fumonisinias	Cancro do esófago
Cevada, café, vinho	<i>Aspergillus ochraceus</i> e <i>Aspergillus carbonarius</i>	Ocratoxina	Hepatotóxica, nefrotóxica, carcinogénica
Frutas e sumos de frutas	<i>Penicillium expansum</i> e <i>Penicillium griseofulvum</i>	Patulina	Toxicidade vagamente estabelecida
Milho, cevada, aveia, trigo, centeio	<i>Fusarium</i> sp <i>Myrothecium</i> sp <i>Stachybotrys</i> sp <i>Trichothecium</i> sp	Tricotecenos: T2, neosolaniol, fusanona x, nivalenol, deoxivalenol.	Hemorragias, vómitos, dermatites

Cereais	<i>Fusarium graminearum</i>	Zearalenona	Baixa toxicidade; síndrome de masculinização e feminização em suínos
---------	---------------------------------	-------------	--

Fonte: Adaptado de Giral Pont et al

3.3 O Controlo de Microrganismos nos ACA

Em geral, o controlo da qualidade inicia-se no momento da compra das matérias-primas, isto é, o comprador precisa adquirir produtos que irão permitir a elaboração de um ACA de alta qualidade, seja ela física, sanitária ou nutricional (Lázzari, 1992). Este autor recomenda que o controlo deve ser feito por uma pessoa responsável e capacitada, que utiliza os próprios sentidos de visão, olfacto, tacto e às vezes, o paladar. No processo de compra e recepção dos ingredientes as seguintes características físicas devem ser avaliadas para confirmar a qualidade dos ingredientes. Para tanto devem ser observados a coloração, odor, humidade, temperatura, textura, uniformidade, presença de contaminantes, de roedores e de insectos.

Após as averiguações visuais, devem ser enviadas amostras dos ingredientes ao laboratório para analisar alguns parâmetros nutricionais relevantes. Segundo Luchesi (1994), os resultados obtidos das análises, deverão ser fixados num mapa de controlo, de modo que possam ser vistas prontamente as características de qualidade dos ingredientes e, em seguida, enviar estes ingredientes para a elaboração de rações. De acordo com Moraes (1997), a monitorização laboratorial da qualidade dos ACA produzidos faz parte de um complexo sistema de garantia da qualidade. Para que fique evidente a preocupação com a

qualidade do produto final, devem ser estabelecidas rotinas de verificação da qualidade dos ingredientes que chegam à fábrica e dos produtos acabados, as quais podem conter as provas laboratoriais. A garantia da qualidade do produto final, que são os ACA, demonstra que este estará apto para a comercialização.

As principais estratégias para a redução e eliminação de microrganismos em rações são baseadas na monitorização e controlo da contaminação dos ingredientes e dos processos através de ferramentas como as Boas Práticas de Fabrico (BPF) e o HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point), tratamento térmico durante a produção de rações e tratamento químico aplicado a um ou mais estágios de produção e de armazenamento. As diferentes estratégias são sempre complementares, ou seja, nenhuma ferramenta isoladamente é 100% eficiente, além de virem associadas a custos e algumas limitações técnicas (Wales et al, 2010)

Os princípios básicos propostos pelas BPF são considerados como um ponto de partida do controlo microbiológico, visando a redução dos riscos de contaminação microbiológica, potencializando o resultado de outros métodos para o controlo de pontos críticos, seja por calor ou tratamento químico. O tratamento térmico de rações, como a peletização, expansão ou extrusão, tem sido apresentado como ferramenta para reduzir a incidência de fungos e bactérias em rações (Veldeman et al, 2005; EFSA, 2008), contudo a sua eficácia depende essencialmente de quatro factores: tempo, temperatura, humidade e pressão. A combinação apropriada destes factores é muito complexa. A peletização é o tratamento térmico usual nas fábricas de rações, uma vez que é a que apresenta menores custos relativamente às outras, embora em termos de tempo seja o mais desfavorável, uma vez que a pressão e temperaturas usadas são mais baixas do que na extrusão e expansão, logo o tempo dispendido é sempre maior para o resultado pretendido.

Na tabela abaixo pode observar-se a comparação entre os três tipos de tratamentos e as respectivas variáveis.

Tabela 4- Esquema dos diferentes tratamentos térmicos e pontos de acção.

Variáveis	Peletização	Expansão	Extrusão
Tempo (s)	9-240	5-12	5-10
Temperatura (°C)	40-95	120-160	120-200
Pressão (Kgf/cm ²)	2	15-75	30-37
Humidade Condicionador (%)	14-18	15-25	20-30

Fonte: Adaptado de Klein (2009)

3.3.1 Tratamento Térmico: Peletização e as suas vantagens

A peletização consiste na transformação do alimento farinado em granulado através de um processo físico-químico, em que se adiciona vapor ao alimento farinado, ao mesmo tempo que se submete o produto aos factores temperatura, humidade e pressão por um determinado período de tempo. A adição adequada de vapor é uma óptima forma de modificar as propriedades físico químicas do alimento e reduzir os microrganismos. Esta modificação em conjunto com a humidade adicionada via vapor, tem um efeito lubrificador e aglutinador, o que melhora a qualidade dos pellets produzidos melhorando, por um lado a eficiência nutricional e por outro reduzindo os custos desta operação.

É de salientar que esta operação surgiu nesta Indústria com objectivo de aumentar a digestibilidade de alguns nutrientes pela acção mecânica e pela temperatura do processo,

dando origem a uma outra vantagem adicional que foi permitir reduzir a carga microbiana do alimento produzido. Em pesquisas comparativas com alimento farinado, concluiu-se que os animais apresentavam um acréscimo do índice de conversão alimentar da ordem dos 6%. Actualmente é amplamente utilizada porque permite benefícios físicos, económicos e nutricionais. Em geral pode destacar-se a facilidade de manipulação, o aumento da densidade (mais peso por m³), a economia com o transporte, a redução da alimentação selectiva, destruição de organismos patogénicos, o aumento da vida útil da ração, modificações térmicas do amido e da proteína, melhora a palatabilidade e digestibilidade e uma maior disponibilidade de nutrientes, entre outras.

Também o uso de surfactantes durante o processo de fabrico, vem desta forma melhorar a redução de contaminações microbiológicas, por abaixamento do aw e foi a pensar nesta capacidade que decidi estudar a acção deste aditivo como elemento essencial deste trabalho.

3.3.2 Tratamento químico: Surfactante

3.3.2.1 Caracterização do Surfactante

Um surfactante é um composto caracterizado pela capacidade de alterar as propriedades superficiais e interfaciais de um líquido. O termo interface indica o limite entre duas fases imiscíveis, reduzindo a tensão superficial das interfaces (óleo/água, ar/água), enquanto o termo superfície indica que uma das fases é gasosa. A sua estrutura química é semelhante a um “cotonete” onde a parte de algodão seria a extremidade POLAR (solúvel em água) da molécula e a haste flexível seria a parte APOLAR (não solúvel em água) da molécula.

Essa estrutura química que apresenta dupla polaridade interage favoravelmente com as moléculas tanto de água como com as moléculas não solúveis em água (como é o caso dos óleos) e é responsável pela sua actividade detergente.

3.3.2.2 A importância do uso do surfactante

A adição de surfactante durante o processo de fabrico de rações vai permitir que as moléculas de água (neste caso a água livre), que é adicionada durante este processo se liguem à parte polar desta molécula anfipática, estabelecendo desta forma uma ligação química, que imobiliza as moléculas de água, reduzindo a quantidade de água livre responsável pelo desenvolvimento microbiano.

3.3.3 Actividade da Água

A actividade da água (a_w) é um dos factores intrínsecos dos alimentos considerada como uma medida qualitativa, que possibilita avaliar a disponibilidade de água livre. Esta, encontra-se disponível para as reacções físicas, químicas e biológicas. A actividade da água tem sido utilizada como parâmetro de crescimento microbiológico no qual cada microrganismo apresenta um valor ideal para crescimento. A indústria tem utilizado a_w para prever a estabilidade dos produtos, visando o controle microbiológico dos alimentos concentrados e semi-húmidos, como por exemplo, os ACA na alimentação animal. Essas são produzidas a partir de subprodutos de origem animal, sendo muito susceptíveis à contaminação por patogénicos, destacando-se a *Salmonella*.

Dentro dos alimentos a água encontra-se presente de duas maneiras diferentes, quimicamente ligada a outras moléculas, e portanto imobilizada, ou na sua forma livre, desligada de outras moléculas e como tal disponível. É esta água disponível, que actua como solvente, permite reacções químicas e o crescimento microbiano que determina o valor de a_w . Varia entre um máximo de 1 onde a água se encontra totalmente disponível (equivalente a água pura), e mínimo de 0 onde a água livre é inexistente (equivalente a um osso seco). Os valores de a_w variam consoante o tipo de microrganismos tal como se pode observar na tabela seguinte.

Tabela 5- Valores mínimos de actividade da água (a_w) para o crescimento e produção de toxinas e patogénicos

Microrganismos	a_w para crescimento	a_w para produção de toxinas
<i>Clostridium botulinum</i> (tipo E)	0,95-0,97	0,97
<i>Clostridium botulinum</i> (tipo A)	0,93-0,95	0,94-0,95
<i>Clostridium perfringens</i>	0,93-0,95	
<i>Salmonella</i> sp	0,92-0,95	
Bactérias halofílicas	0,75	
Bolores xerofílicos	0,65	
Fungos osmofílicos	0,60	

Fonte: Adaptado de Beauchat (1981)

3.4 Limites Microbiológicos

Com exceção da *Salmonella*, não existem valores legislados nem pré-definidos como critérios de aceitação microbiológica, no entanto existem alguns valores de referência pelos quais nos podemos orientar, embora isto varie consoante as diferentes empresas e laboratórios.

Nas matérias-primas ou num ACA de boa qualidade microbiológica considera-se que não devem existir mais de 10^5 ufc (unidades formadoras de colónias) de fungos/g. Teores acima de $10^{7.5}$ ufc/g representam um perigo potencial para a saúde dos animais por poderem conter substâncias tóxicas.

Na tabela abaixo estão descritos como exemplo alguns valores de referência usados para que um ACA possa ser considerada microbiologicamente aceitável.

Tabela 6- Valores indicativos de referência de contaminação microbiológica

Microrganismos	Limites aceitáveis
Teor micológico (Fungos)	$<10^4$ ufc/g
<i>E. coli</i>	$<10^2$ ufc/g
<i>Clostridium perfringens</i>	$<10^3$ ufc/g
<i>Salmonella</i>	Negativa em 25g

3.5 Características do Produto Final

Para garantir a sua estabilidade físico química, o produto final deve respeitar algumas especificidades, tais como temperatura; humidade; aw e percentagem de finos.

A temperatura do produto final deve ser no máximo 8 a 10°C superior à temperatura ambiente. A percentagem de água existente num ACA, no final do fabrico deve ser inferior a 13%. Quanto aos valores de aw devem ser mantidos entre os 0,6 e os 0,65 de forma a reduzir a quantidade de água livre disponível no alimento e evitar desenvolvimento micológico e bacteriológico. A percentagem de finos não está directamente ligada com a qualidade microbiológica da ração mas é também considerado um factor visual importante e que se encontra relacionado com a durabilidade do pellet resultante da granulação. Estes valores são tabelados mediante a espécie animal. São distinguidos dois tipos de finos, finos A e finos B. Os primeiros são resultantes do peneiro da linha de granulação e os finos B são os finos resultantes dos primeiros.

Estes ensaios são realizados antes do ensaque, no caso de produto ensacado e no caso de produto a granel, antes do carro de transporte ser carregado.

4 ENSAIO EXPERIMENTAL

4.1 Introdução – Processo de Fabrico

À chegada à fábrica, as matérias-primas são descarregadas no tegão de descarga e transportadas pelo circuito de transporte de matérias-primas para os respectivos silos de armazenamento ou de doseamento. Deste último, as matérias-primas são pesadas nas balanças de dosificação, passando em seguida para a moagem. Posteriormente são encaminhadas para o misturador, onde há o doseamento/adição de líquidos e de aditivos por outras linhas do circuito, para obter uma mistura perfeita das matérias-primas e aditivos. No caso do alimento em granulado, é nesta altura que é feita adição de água. Após o tempo decorrido no misturador, cerca de 210 segundos, é feita a adição automática de melão, quando necessário. Após este processo a ração quando farinada vai automaticamente para os silos de granel ou de ensaque. No caso da ração granulada, a mistura passa para a granuladora, onde é feita a granulação com condições de temperatura e pressão de vapor controladas. Neste processo o diâmetro do granulado é estabelecido segundo a espécie de destino e idade dos animais

Os circuitos de transporte podem dar origem a contaminações cruzadas por mistura de matérias-primas ou produto acabado e contaminações microbiológicas. Para reduzir estes efeitos de contaminações os operários da fábrica verificam periodicamente o estado de limpeza dos silos e a matéria-prima à chegada à fábrica recebe um adequado tratamento químico para reduzir/tratar o risco de possíveis contaminações.

Na figura seguinte esta representado o esquema do processo de fabrico.

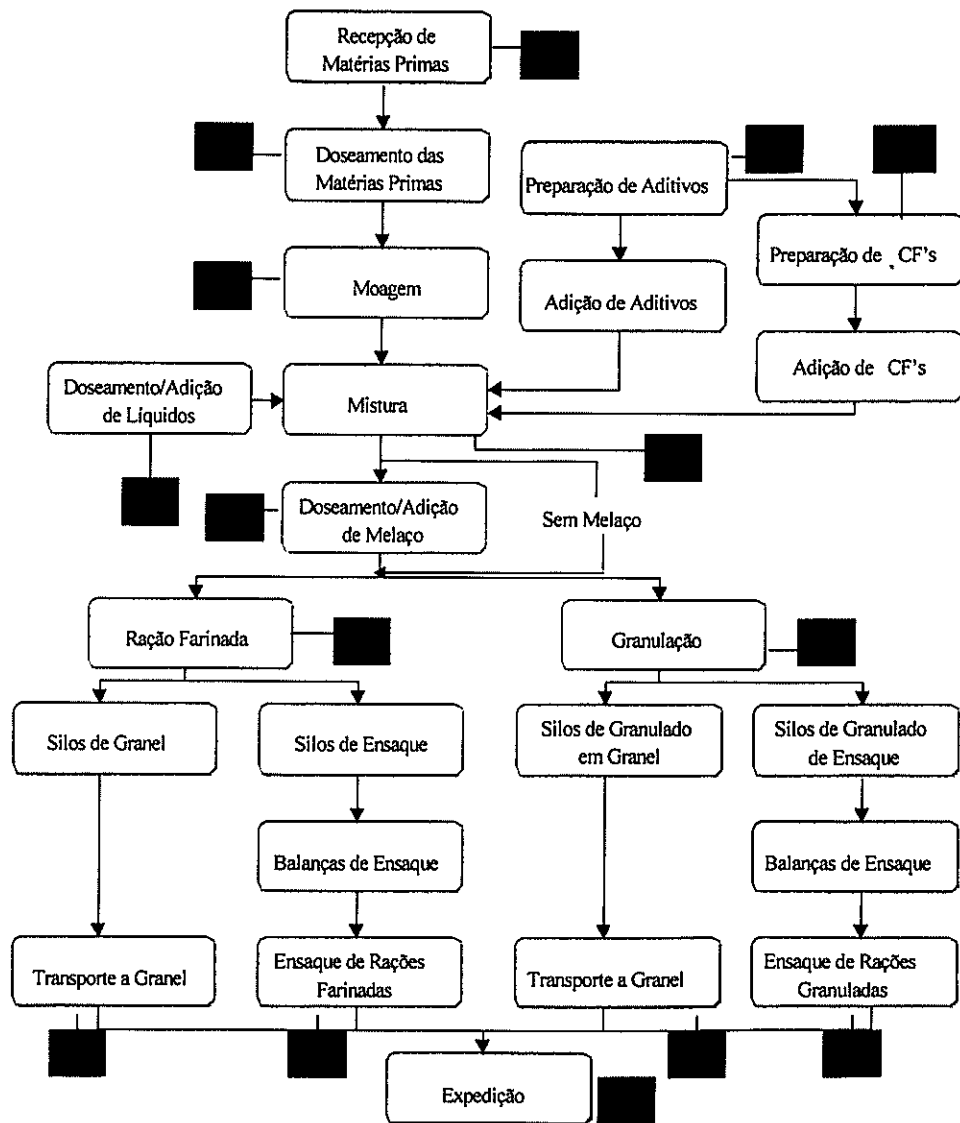


Figura 6. Fluxograma do processo produtivo

4.2 Desenho Experimental

As rações foram produzidas segundo as especificações e normas da fábrica que permitiu a realização do estudo. As análises microbiológicas foram realizadas num laboratório externo, colaborador do ensaio e as restantes avaliações ao produto (temperatura, humidade) foram realizadas pela pessoa responsável pelo ensaio, Cláudia Silva.

4.2.1 Amostra

O produto em estudo é um alimento composto para suínos em fase de crescimento. Este produto é constituído maioritariamente por cereais (milho e cevada), entre outros constituintes (farinha forrageira, sêmea de trigo, girassol, melação, colza, carbonato de cálcio, sal), sob a forma de granulado, com um diâmetro de 4,5 mm. Os valores nutricionais deste produto encontram-se dentro dos parâmetros exigidos para a espécie e idade dos animais.

4.2.2 Amostragem

A amostragem representativa foi obtida pela colheita de várias amostras, tendo em conta a sua acessibilidade, os custos inerentes ao processo de análise e outras razões não directamente relacionadas com parâmetros de amostragem.

A amostragem constou de 63 amostras colhidas no total dos três ensaios realizados. Em cada um desses ensaios obtiveram-se 21 amostras, resultantes da colheita nos diferentes pontos da linha de fabrico previamente seleccionadas, relativos aos diferentes instantes estabelecidos para as análises

Sendo que:

i_0 : instante zero, momento da fabricação do produto

i_1 : instante um, passado um mês do fabrico

i_2 : instante dois, passados dois meses do fabrico

i_3 : instante três, passados três meses do fabrico

Na tabela seguinte pode observar-se o esquema de amostragem.

Tabela 7- Número de amostras colhidas durante o ensaio experimental.

Tratamentos	i_0				i_1	i_2	i_3	Total
	M	EG	SG	A	A	A	A	
T1	3	3	3	3	3	3	3	21
T2	3	3	3	3	3	3	3	21
T3	3	3	3	3	3	3	3	21
Total	9	9	9	9	9	9	9	63

Para todos os tratamentos (1, 2 e 3) foram recolhidas 21 amostras, 12 para o instante zero, 3 para o instante um, 3 para o instante dois e 3 para o instante três. Sendo que cada tratamento corresponde a um lote de fabrico, 4000 kg de ração produzida, logo foram recolhidas 21 amostras por lote.

Para o instante zero foram recolhidas amostras em distintos pontos da linha de fabrico: Foi feita a medição das temperaturas de cada uma das amostras e posteriormente determinou-se teor de humidade logo após a colheita.

Para cada um dos restantes instantes (i_1 , i_2 e i_3) foram apenas recolhidas amostras no arrefecedor e armazenadas, consoante os respectivos períodos de tempo, tendo sido enviadas para análise, tendo em consideração as condições de armazenagem.

4.2.3 Colheita das amostras

Os pontos da linha de fabrico escolhidos para colheita de amostras foram o misturador (M), a entrada da granuladora (EG), a saída da granuladora (SG) e o arrefecedor (A). A escolha dos pontos não foi aleatória, uma vez que estes são pontos cruciais do fabrico a nível de contaminação e também porque se encontram sujeitos a diferentes temperaturas. Estes pontos também permitem maior acessibilidade na recolha de amostras em todo o circuito. As figuras seguintes ilustram algumas das etapas do percurso das matérias-primas e produto final.



Figura 7- Circuito de passagem das matérias-primas

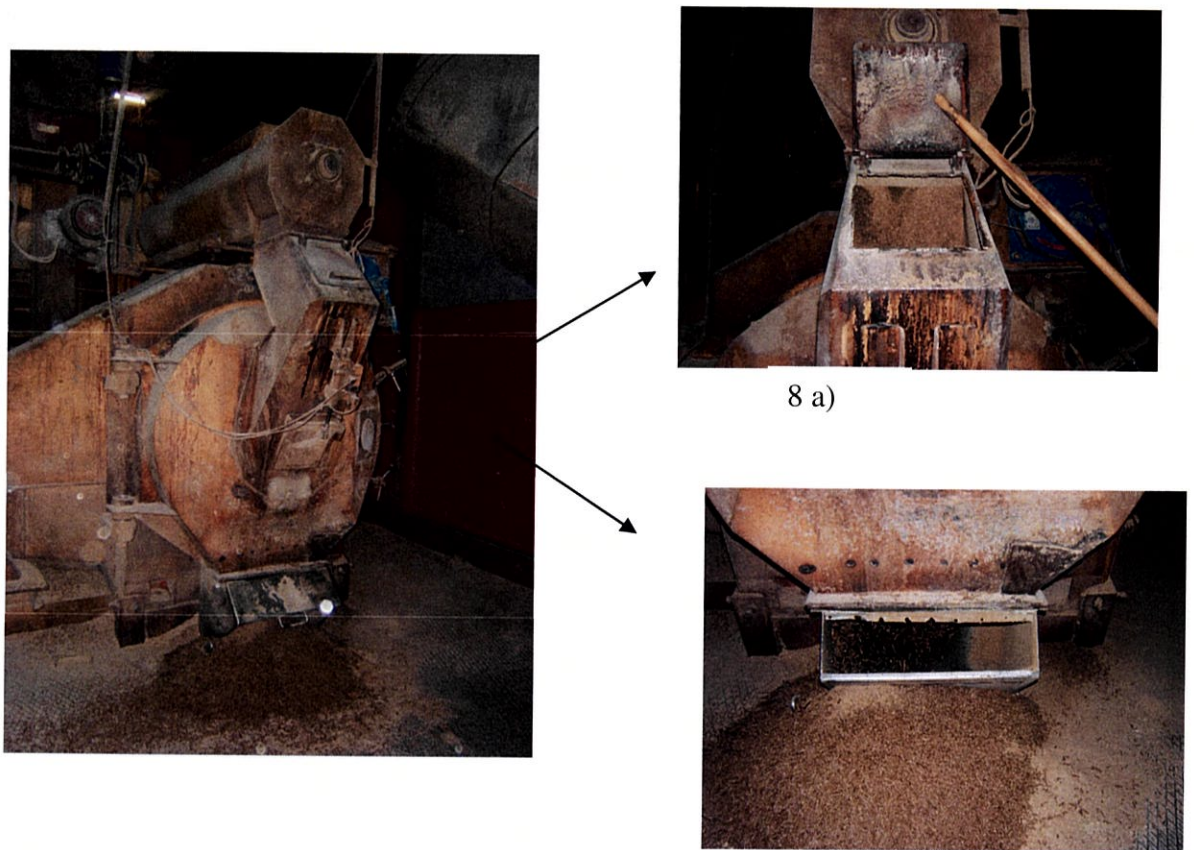


Figura 8- Vista geral da granuladora, à entrada da granuladora (8 a) e à saída da granuladora (8 b)



Figura 9- Vista geral do arrefecedor

O procedimento da colheita das amostras foi feito de acordo com as instruções de trabalho internas da empresa. As amostras foram recolhidas da seguinte forma: para o primeiro ponto (M), retiraram-se as 3 amostras decorrido o tempo da mistura das matérias-primas no misturador, de forma que a mistura fosse o mais homogénea possível. Neste ponto as amostras foram recolhidas no redler (linha do circuito que transporta a mistura para a granuladora) localizada por baixo do misturador. No segundo ponto (EG), a mistura anterior seguiu pelas respectivas linhas do circuito até à granuladora onde à entrada desta foram recolhidas novamente três amostras. Findo o processo de granulação, onde são atingidas temperaturas elevadíssimas, foi feita nova colheita de amostras, abriu-se a raseira do circuito para retirar as amostras relativas ao terceiro ponto (SG). Depois desta etapa, a ração já em apresentação de granulado passou para o arrefecedor, onde neste ultimo ponto (A) foi feita a ultima colheita de amostras. Este procedimento repetiu-se de igual modo para os três ensaios realizados.

Cada amostra colhida tinha 500 gramas, pesadas no momento da colheita, na balança calibrada da fábrica. Todas as amostras foram acondicionadas em sacos plástico no momento da colheita.

As amostras depois de colhidas foram posteriormente analisadas em diferentes períodos de tempo após o fabrico:

i_0 : instante zero, momento da fabricação do produto

i_1 : instante um, passado um mês do fabrico

i_2 : instante dois, passados dois meses do fabrico

i_3 : instante três, passados três meses do fabrico

As amostras do instante zero foram imediatamente analisadas, as restantes foram armazenadas em sacos próprios de papel e guardadas no armazém, tendo em conta as suas condições e posteriormente analisadas decorrido o tempo necessário.

4.3 Parâmetros analisados e Metodologias utilizadas

O ensaio teve lugar numa fábrica de rações no dia 26 de Março de 2010.

O estudo foi delineado para examinar um ACA de suínos em apresentação de granulado, o que implica que o produto passa por um tratamento térmico durante a fase de granulação, onde chega atingir temperaturas entre os 65 a 80°C, permitindo a diminuição do risco de desenvolvimento microbiológico.

O estudo consistiu em produzir três lotes de ACA, estes foram distinguidos pela adição de água e surfactante, de forma analisar a qualidade microbiológica final de cada um deles.

Cada um destes lotes foi associado a três diferentes tratamentos:

Tratamento 1: Fabrico de um lote de ACA para suínos sem adição de água e surfactante, ensaio em branco (T1)

Tratamento 2: Fabrico de um lote de ACA para suínos com 3% de água (120 litros) e sem surfactante (T2)

Tratamento 3: Fabrico de um lote de ACA para suínos com 3% água (120 litros) e 0,06% (240 kg) de surfactante (T3)

Na figura seguinte pode observar-se o esquema dos respectivos tratamentos.

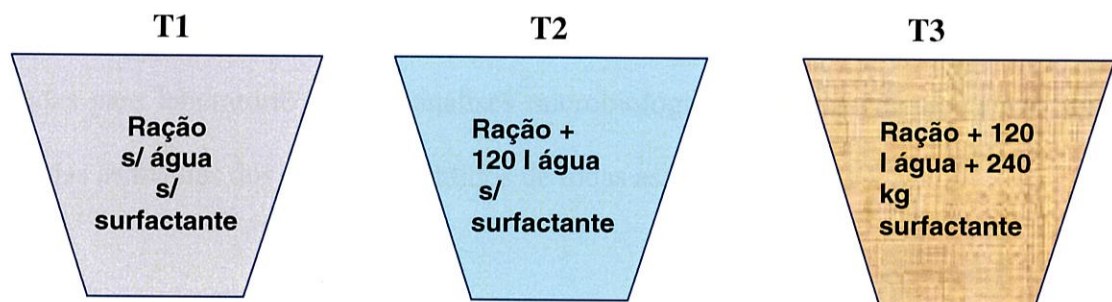


Figura 10- Esquema representativo dos três tratamentos realizados.

A misturadora usada tem uma capacidade de 4000 kg, e o tempo de mistura na misturadora horizontal em todos os tratamentos foi de 210 segundos. O vapor de acondicionamento, o consumo de energia usada na pressão dos pellets e o tempo de arrefecimento (12 minutos no arrefecedor) foram devidamente controlados.

Os parâmetros considerados durante as análises foram os seguintes:

- *Índice de humidade da ração* (NP 875: 1994)
- *Temperatura*
- *Actividade da água (aw)* (NP 516: 2000)
- *Controlo microbiológico da ração* (NP 1829:1982)
 - ◆ *Salmonella* (ISO 6579:2002)
 - ◆ *Escherichia coli* (ISO 16649-2:2001)
 - ◆ Fungos (bolores e leveduras) (ISO 21527)
 - ◆ *Clostridium perfringens* (ISO 7937:2004)

O índice de humidade e as temperaturas foram medidas logo após a realização do ensaio, podendo haver um intervalo de tempo entre cada medição de 1 minuto e posteriormente enviadas para laboratório para as análises microbiológicas. Para os cálculos finais foram utilizadas as médias dos resultados obtidos de todas as amostras.

5. RESULTADOS

$i=0$

Índice de humidade, Actividade da água e Temperatura

O benefício do aumento da retenção de humidade, evidenciados nos valores de a_w , resultante da utilização do surfactante pode ser observada na tabela seguinte.

Tabela 8- Teores de humidade, temperatura e de a_w do produto final para $i=0$

Tratamentos	Amostras	Humidade (%)	Temperatura (°C)	A_w
	M	10,90	25,70	0,737
T.1	EG	11,73	44,80	0,739
Ensaio em branco	SG	11,06	65,90	0,749
	A	10,56	24,36	0,723
	M	12,60	26,33	0,738
T.2	EG	13,53	49,43	0,723
Adição 3% água	SG	12,87	65,00	0,736
	A	11,76	21,66	0,730
	M	12,57	27,23	0,712
T.3	EG	14,10	46,73	0,693
Adição 3% água +	SG	13,63	66,96	0,679
0.06% surfactante	A	11,77	22,23	0,658

Análises microbiológicas

Na tabela seguinte pode observar-se os resultados dos parâmetros microbiológicos analisados: Fungos, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella*.

Tabela 9- Resultados microbiológicos do produto final para i=0

Tratamentos		Microbiologia					
		Amostr ras	Fungos e Leveduras (ufc/g)	<i>Clostridium</i> <i>perfringens</i> (ufc/g)	Enterobacterias spp (ufc/g)	<i>E. coli</i> (ufc/g)	<i>Salmonella</i> spp (ufc/25g)
T.1		M	2,80*10 ⁴	<10	3,6*10 ⁴	Presença (10 ufc/g)	Ausência
Ensaio branco	em	EG	1,50*10 ³	<10	3,4*10 ²	Ausência	Ausência
		SG	1,10*10 ¹	<10	<10	Ausência	Ausência
		A	6,00*10 ¹	<10	2,0*10 ¹	Ausência	Ausência
T.2		M	2,82*10 ⁴	<10	4,8*10 ⁴	Ausência	Ausência
Adição água	3%	EG	5,00*10 ²	<10	4,5*10 ²	Ausência	Ausência
		SG	3,10*10 ¹	<10	4,0*10 ¹	Ausência	Ausência
		A	8,30*10 ¹	<10	<10	Ausência	Ausência
T.3		M	3,63*10 ⁴	<10	4,7*10 ⁴	Presença (80 ufc/g))	Ausência

A Influência da Humidade na Conservação do Produto Acabado

água + 0.06%	EG	$4,90 \cdot 10^3$	<10	$4,5 \cdot 10^2$	Ausência	Ausência
surfactante	SG	$9,20 \cdot 10^1$	<10	<10	Ausência	Ausência
	A	$4,00 \cdot 10$	$1,8 \cdot 10^1$	<10	Ausência	Ausência

i= 1

Para o instante $i=1$ apenas existem resultados para a actividade da água, uma vez que passado um mês do fabrico já não foi possível obter valores de temperatura e humidade fidedignos.

Actividade da água

Na tabela abaixo pode observar-se os valores obtidos para a_w um mês depois do ensaio ter sido realizado.

Tabela 10- Teores de a_w do produto final para $i=1$

Tratamentos	Amostras	A_w
T.1		
Ensaio em branco	A	0,614
T.2		
Adição 3 % água	A	0,659
T.3		
Adição 3% água + 0.06% surfactante	A	0,638

Análises microbiológicas

Na tabela seguinte pode observar-se os resultados dos parâmetros microbiológicos analisados: Fungos, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella*.

Tabela 11- Resultados microbiológicos do produto final para i=1

Tratamentos	Microbiologia						
	Amostr ras	Fungos Leveduras (ufc/g)	e <i>Clostridium</i> <i>perfringens</i> (ufc/g)	Enterobacterias spp (ufc/g)	<i>E. coli</i> (ufc/1g)	<i>Salmonella</i> spp (ufc/25g)	
T.1							
Ensaio branco	em A	4,70*10 ²	<10	6,67*10 ⁴	Ausência	Ausência	
T.2							
Adição água	3% A	5,73*10 ²	<10	1,30*10 ⁵	Ausência	Ausência	
T.3							
Adição água + 0.06% surfactante	3% A	7,70*10 ²	<10	7,67*10 ⁴	Ausência	Ausência	

i = 2

Para o instante *i*=2 apenas existem resultados para a actividade da água, uma vez que passado dois meses do fabrico já não foi possível obter valores de temperatura e humidade fidedignos.

Actividade da água

Na tabela abaixo pode observar-se os valores obtidos para *a_w* dois meses depois do ensaio ter sido realizado.

Tabela 12- Teores de *a_w* do produto final para *i*=2

Tratamentos	Amostras	<i>A_w</i>
T.1		
Ensaio em branco	A	0,547
T.2		
Adição 3 % água	A	0,583
T.3		
Adição 3% água + 0.06% surfactante	A	0,561

Análises microbiológicas

Na tabela seguinte pode observar-se os resultados dos parâmetros microbiológicos analisados: Fungos, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella*.

Tabela 13- Resultados microbiológicos do produto final para i=2

		Microbiologia					
Tratamentos	Amostragens	Fungos e <i>Clostridium perfringens</i>		Enterobacterias spp (ufc/g)	<i>E. coli</i> (ufc/1g)	<i>Salmonella</i> spp (ufc/25g)	
		Leveduras (ufc/g)	(ufc/g)				
T.1							
Ensaio branco	em	A	1,50*10 ²	<10	<10	Ausência	Ausência
T.2							
Adição água	3%	A	2,87*10 ²	<10	<10	Ausência	Ausência
T.3							
Adição água + surfactante	3% + 0.06%	A	2,80*10 ²	<10	<10	Ausência	Ausência

$i=3$

Para o instante $i=3$ apenas existem resultados para a actividade da água, uma vez que passado três meses do fabrico já não foi possível obter valores de temperatura e humidade fidedignos.

Actividade da água

Na tabela abaixo pode observar-se os valores obtidos para a_w três meses depois do ensaio ter sido realizado.

Tabela 14- Teores de a_w do produto final para $i=3$

Tratamentos	Amostras	A_w
T.1		
Ensaio em branco	A	0,556
T.2		
Adição 3 % água	A	0,584
T.3		
Adição 3% água + 0.06% surfactante	A	0,562

6 DISCUSSÃO

6.1 Índice de Humidade

Os valores de retenção de humidade demonstram a quantidade (em percentagem) de humidade que é conservada no produto resultante da adição líquida. Quanto maior for a retenção de humidade melhor. Em teoria 100% da adição líquida, adicionada durante o fabrico, deveria ser encontrada nos pellets secos e arrefecidos. Praticamente existem algumas perdas de humidade causadas pela água livre disponível durante o arrefecimento pelo processo de evaporação. O surfactante usado ajuda a humidade a penetrar nas partículas da ração ao mesmo tempo que condiciona e reduz o índice de água livre, tal como se verificou nos resultados obtidos.

6.2 Actividade da água

Controlar a actividade da água (a_w) e do índice de humidade da ração é uma parte integrante dos objectivos do programa de optimização de humidade. O valor de a_w mostra o índice de água livre no alimento. Um elevado índice de água livre no alimento pode causar uma menor retenção de humidade durante o arrefecimento e provocar um crescimento microbiano adicional. O uso de surfactante reduz o índice de água livre nos pellets.

O surfactante ajuda a humidade a penetrar nas partículas do alimento e manter esse limite não permitindo que estas se encontrem disponíveis.

Quanto menor a disponibilidade de água livre na ração melhor a retenção da humidade que conduz à diminuição do risco de desenvolvimento fúngico na ração. Este foi comprovado pelos resultados de a_w obtidos nas análises efectuados ao longo dos três meses após o fabrico, nomeadamente nos tratamentos 1 e 3, o tratamento em branco e com a adição de água e do surfactante respectivamente. Tendo sido mais elevado no tratamento 2 (com adição de água).

6.3 Microbiologia

Segundo os critérios internos para as análises microbiológicas os parâmetros analisados encontram-se dentro dos respectivos limites, havendo no entanto necessidade de fazer referência aos resultados de *Escherichia coli*, que foi positivo, uma vez que foi identificada a sua presença nas amostras do instante zero (as amostras analisadas logo após o momento do fabrico) para os tratamentos 1 e 3. Ambas são amostras do misturador, o que significa que neste momento do fabrico ainda não tinham sofrido o respectivo tratamento térmico a que os granulados são submetidos. Esta contaminação poderá ser proveniente de alguma matéria-prima ou do próprio circuito de transporte da mistura.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após uma análise de todos os resultados obtidos verifiquei que a implementação do programa de optimização de humidade permitiu uma redução dos valores de a_w no alimento em estudo, representando uma menor percentagem de água livre disponível no alimento evitando o desenvolvimento microbiano. No entanto, verifiquei que estes resultados na prática não corresponderam ao desejado, uma vez que ainda foi possível verificar a presença de microrganismos no produto final, (nomeadamente fungos e enterobactérias) obtendo valores acima do desejado, apesar de estes se encontrarem dentro dos limites estabelecidos internamente.

São várias e distintas as razões para esta conclusão, tais como: a dose de incorporação do surfactante não ser a suficiente tendo em conta as características do ensaio estabelecidas; o produto final escolhido não ser o mais adequado para o ensaio, apesar de ser susceptível de algumas contaminações microbiológicas; pode também ter ocorrido alguma anomalia durante o ensaio ou mesmo as condições ambientais e de realização do ensaio não tenham sido devidamente controladas.

Desta forma seria recomendável fazer um novo ensaio de forma a contrastar a baixa eficácia do surfactante usado no ensaio, tendo em conta todos os parâmetros referidos anteriormente que poderão ter directa ou indirectamente influenciado os resultados que não foram tão satisfatórios quanto se esperaria.

BIBLIOGRAFIA

- 📖 Ensminger, M.E; Oldfield, J.E.; Heinemann, W.; (1990); Feeds Nutrition 2ª Ed; The Ensminger Publishing Company
- 📖 Pedroso, Laurentina; Perigos Alimentares; Núcleo de Investigação e Formação em Segurança Alimentar; Pós-graduação em Gestão da Qualidade e Segurança Alimentar
- 📖 Martins, H.M; Martins, M.L. (1996-1990); Qualidade micológica de rações para bovinos; revista Portuguesa de Ciência veterinárias;
- 📖 Lázari, F. A. Qualidade da matéria-prima de rações. Humidade, fungos e micotoxinas. In: "Nutrição e Alimentação de Aves. VII Mini-Seminário do Colégio Brasileiro de Nutrição Animal", Campinas, 1992.
- 📖 Luchesi, J. B. Manejo de frango. In: CONTROLE DE QUALIDADE NA PRODUÇÃO DE RAÇÕES. Coleção Facta, Campinas: Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas. p. 119-123. 1994.
- 📖 Moraes, M. P. Fabricação de rações: qualidade de matérias-primas. Boletim Técnico – Amicil /AS. Goiânia, p. 10, 1997
- 📖 Pelczar, M. et al; Microbiologia, volume I; tradutor Manuel Adolpho May Pereira; revisora técnica Maria Regina S. Borges; São Paulo: McGraw-Hill do Brasil; 1980
- 📖 Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers, 3rd Ed.; M. P. Doyle e L. R. Beuchat; 2007, ASM Press, Washington, D. C.; Capítulo 10, Jean-Yves D'Aoust e John Maurer; Salmonella Species
- 📖 NP – 1828: 1982 (Colheita de amostras para análise microbiológica)
- 📖 NP – 516: 2000 (Determinação do teor de água)
- 📖 NP – 875: 1994 (Determinação do teor de humidade em alimentos para animais)

📖 Regulamento (CE) 882/2004

📖 “Qualidade micológica de rações para bovinos” (Portugal: 1996-1999); H. M. Martins, M. L. Martins; Revista portuguesa De Ciências Veterinárias;

📖 “Análise de actividade de água e ocorrência de salmonella sp. em farinhas de origem animal”; Garcia, Denise et al.;

📖 Anuário 2009 da IACA, associação portuguesa dos industriais de alimentos compostos para animais

📖 Neidhardt, F.C., Ingraham, J.L. e Schaechter, M., (1990). *Physiology of the bacterial cell – a molecular approach*, Sinauer Associates, Sunderland, USA

📖 Geralt Pont, J. et al; “El problema de la Contaminacion Fungica en la Industria de Piensos” 1ª Ed, 1986; Dvision de Zootecnia, Lucta

MEDIAGRAFIA

@ www.insa.pt

@ www.dgv.min-agricultura.pt

@ www.bungealimentos.com.br

@ www.visionline.com.br

@ www.sindiracoes.org.br

@ www.fao.org/

@ www.codexalimentarius.net

@ www.lucato.ind.br

@ www.iaca.pt

@ www.engormix.com