

<Concepção de salsichas de carácter funcional
100% vegetais à base de legumes e algas
para crianças>



Trabalho submetido ao
Concurso de Mérito Académico do Centro Vegetariano
Nível Superior
31 de Maio de 2010

AUTORES:

Solange Burri ^{1,3}, Isabel Tato ², Maria Leonor Nunes ³ e Rui Morais ¹

¹ CBQF/Escola Superior de Biotecnologia - Universidade Católica Portuguesa, Rua Dr. António Bernardino de Almeida, 4200 – 072 Porto, Portugal.

E-mail: solange.burri@gmail.com

² QUALIMAR - Associação para o Desenvolvimento do Sector dos Produtos da Pesca e Agro-Alimentar, Rua do Conde de São Salvador, 352 – 6º, sala 30, 4450 Matosinhos, Portugal.

E-mail: tato.isabel@gmail.com

³ U-VPPA, Instituto Nacional de Recursos Biológicos, I.P./L-IPIMAR, Avenida de Brasília, 1449 - 006 Lisboa, Portugal. E-mail: mlnunes@ipimar.pt

Trabalho realizado no âmbito do Mestrado pré-bolonha em
Inovação Alimentar da Escola Superior de Biotecnologia
da Universidade Católica Portuguesa
(2008/2009)

Resumo

Na Europa, algumas crianças em idade escolar apresentam taxas elevadas de obesidade infantil e Portugal não é excepção, uma vez que há consideráveis índices de sobrepeso (30 %) ou obesidade (12 %). Profissionais de sectores da Saúde, Educação e Indústria, reúnem esforços, em todo o mundo, para que esta tendência diminua. Para tal é fundamental enfrentar esta problemática, promovendo e articulando em todas as direcções, acções que reduzam o grave impacto desta doença na Sociedade actual. A Indústria Alimentar encontra, nesta perspectiva, uma grande oportunidade para desenvolver novos alimentos, alguns dos quais funcionais, não só para surpreender um consumidor mais exigente mas também para actuar na saúde do consumidor, prevenindo ou minimizando doenças do foro alimentar. E se essa intervenção for direccionada para as faixas etárias mais jovens, mais efectivo será o seu efeito.

O desenvolvimento de um produto para consumo infantil, com a alga *Gracilaria vermiculophylla* surgiu dessa necessidade e também no sentido de sensibilizar a Indústria Alimentar para a exploração de outros recursos marinhos, ao alcance de Portugal, para além do pescado.

Aliado a esta ideia, pretendeu-se ainda promover entre os portugueses o consumo de legumes e de ervas aromáticas, de origem biológica, oferecendo uma opção de alimentação saudável que demonstre a versatilidade que os legumes devem adquirir para conquistar as crianças, mesmo as mais vulneráveis. A concepção de uma matriz 100% vegetal pretende alcançar também a população com alergia às proteínas do leite de vaca, ou intolerância à lactose, com dietas monótonas e baixo impacto sensorial.

A avaliação de mercado realizada neste estudo (n=900) evidenciou algumas limitações no consumo de produtos biológicos, em Portugal, demonstrou a dificuldade dos pais em incorporar legumes na dieta infantil e na sua aceitação para um produto desta natureza.

A elevada susceptibilidade do ocidental consumidor infantil para elevados teores de iodo bem como a sua refinada exigência organoléptica contribuíram para que *G. vermiculophylla* fosse incorporada no produto, em apenas 0,8 % (p/p), actuando como um sal funcional.

A análise sensorial realizada ao produto final obtido – mini salsichas 100% vegetais - nas variedades beterraba, cenoura e tomate, à base de tofu e ervas aromáticas, apresentou uma interessante aceitação por parte do painel de consumidores não treinado (n=50) que aceitou colaborar nesta iniciativa.

Concluiu-se ainda que a utilização sustentável e segura, do valioso recurso que as algas constituem, impõe a necessidade de aprofundar o perfil toxicológico face ao seu ciclo biológico, em diferentes áreas geográficas e estações do ano. Deste modo, a legislação comunitária poderá ser alargada ao consumo humano de algas em matrizes processadas contribuindo assim para a comercialização de alimentos com características nutracêuticas.

Palavras-chave: obesidade, vegetal, alga, sal funcional, origem biológica, iodo, legislação, matriz processada.

1. Introdução

A Alimentação perdeu todo o papel sagrado adquirido ao longo de séculos e a promoção do convívio social deturpa-se em detrimento de uma significativa desvalorização do carácter simbólico e/ou afectivo dos alimentos que se faz sentir nos nossos dias. Por outro lado, a mulher, que procura então a sua ocupação profissional abandona o seu importante papel na preparação e manutenção das refeições familiares, por vezes individuais, sujeitas à disponibilidade temporal de cada membro e à oferta barata e excessiva de alimentos e bebidas hipercalóricos que a Indústria Alimentar sobrecarrega de sal e/ou açúcar, estabilizantes tecnológicos que facilmente permitem produtos alimentares mais seguros. A indisciplina temporal e social das refeições estimula um consumo alimentar constante que o marketing alimentar teima em promover, através de ofertas alimentares individuais atractivas e fáceis de aceder que atingem o seu potencial mais nefasto quando associados à elevada taxa de sedentarismo que as sociedades modernas adoptaram.

A obesidade infantil representa um sério problema de Saúde Pública, reportado em vários países da Europa. Condicionada pela alteração dos estilos de vida, a alimentação perde o respeito adquirido em tempos ancestrais, e exige-se aprazível, fácil de confeccionar e...saudável!

A aluna, consultora em alimentação de grupos de risco, tem desenvolvido a sua actividade profissional junto de mães e profissionais de saúde infantil onde se evidencia, notoriamente, o declínio dos cuidados na alimentação conseguidos nos primeiros anos de vida, face às restritas recomendações pediátricas implementadas. Surge assim a necessidade de criar novas opções alimentares para crianças com idade superior a 3 anos onde a diversificação alimentar fica facilmente comprometida por nefastos produtos processados induzidos pela acentuada selectividade sensorial destas idades e corrompida pelos permissivos progenitores.

O desenvolvimento de um produto com interesse nutricional, funcional e organoleptico, que mereça igualmente a preferência sensorial do consumidor infantil sem contudo descurar um interessante efeito nutracêutico, focar a exploração de novos recursos marinhos, promover a produção biológica e diversificar o *portfolio* alimentar para crianças, e outros indivíduos, com alergia às proteínas do leite de vaca ou intolerância à lactose, representam os principais objectivos deste trabalho. Este produto, pela sua apresentação 100% vegetal representa igualmente uma vantagem nacional do leque alimentar à disposição do nicho vegetariano e tem um potencial inexplorado junto dos pacientes oncológicos cujo teor em iodo poderá minimizar a debilidade tiroideana que os desfavorece.

Este estudo, pioneiro em Portugal, foi desenvolvido no âmbito do Mestrado em Inovação Alimentar, pela Universidade Católica Portuguesa, concluído com distinção e foi apresentado, a convite daquela Universidade, no Congresso "Function Food 2009" na Eslováquia.

Foram várias as entidades envolvidas no desenvolvimento experimental deste produto:

- Laboratório de Tecnologia Alimentar do **Instituto Nacional de Recursos Biológicos (INRB)**, I.P./L-**IPIMAR** Matosinhos: sob a supervisão da Eng^a Alimentar responsável, a mestranda desenvolveu aqui todos as variedades do produto, optimizou as mais interessantes e promoveu a análise sensorial aleatória (n=50);

- Laboratório de Biotecnologia Vegetal e Pós-colheita da **Escola Superior de Biotecnologia** da UCP, sob a supervisão do Prof. Doutor orientador do Mestrado, a mestranda quantificou o iodo veiculado pela alga *G. Vermiculophylla* recorrendo a um procedimento analítico ajustado face a inexistência nacional de metodologias analíticas para controlo de qualidade de algas;
- Laboratório de Fitocultura do **CIIMAR/CIMAR – Porto**: sob a orientação do Prof. Doutor Rui Pereira foi realizado o levantamento de campo e amostragem da alga *G. Vermiculophylla* na Ria de Aveiro. As amostras foram transferidas para a produção em **Aquacultura A. Coelho e Castro, Lda.** onde permaneceram em monitorização por aquele grupo de investigadores e posterior quantificação dos níveis toxicológicos em metais pesados daquela alga;
- Laboratório Físico-Químico Sensorial do **INRB, I.P./L-IPIMAR** Lisboa, acreditado para controlo de qualidade químico nos recursos marinhos: sob a supervisão da coordenadora do Departamento de Controlo de Qualidade Alimentar e orientadora deste Mestrado, e onde os níveis de mercúrio, cádmio e chumbo foram, pelas técnicas daquele laboratório, foram avaliados na alga ao longo de diferentes períodos de produção em aquicultura;
- Laboratório de Microbiologia do **INRB, I.P./L-IPIMAR** Matosinhos: sob a supervisão da responsável Dra. Fernanda Castilho, onde a mestranda desenvolveu o controlo de qualidade microbiológico aos produtos desenvolvidos para posterior análise sensorial;
- Hipermercados “Continente” da zona do Grande Porto cuja autorização do **Grupo SONAE** foi concedida para a realização, *in locu*, do inquérito de análise de mercado na versão presencial.

As salsichas em formato cocktail obtidas foram desenvolvidas tendo em atenção as preferências sensoriais manifestadas pelos progenitores que aceitaram colaborar no inquérito nacional de avaliação de mercado levado a cabo pela mestranda e um grupo de colaboradores coordenado para o apoiar nesse efeito. Destacar ofertas saudáveis de alimentação infantil, sobretudo para as faixas etárias superiores aos 3 anos, que sejam também atractivas para os pais, do ponto de vista económico e de praticabilidade é importante também para promover a sua compra.

2. Trabalho realizado

Avaliação de Mercado

De modo a recolher informações para auscultar a receptividade do mercado português para o produto proposto neste trabalho – produto alimentar à base de hortícolas, soja e alga para consumo infantil, elaborou-se de forma concisa, um questionário direccionado para pessoas com filhos no sentido de recolher informação sobre o consumo infantil de vegetais e sobre o consumo alimentar de algas.

O questionário (Anexo I), elaborado em português e direccionado apenas para residentes em território nacional, foi construído procurando focar 4 tópicos de análise: a) Perfil do inquirido: dados pessoais e idade dos filhos; b) Consumo infantil de legumes: sua importância, frequência de consumo no prato e predisposição, dos pais, para a compra de hortícolas de origem biológica; c) Receptividade para a

oferta de um produto alimentar processado: expectativas e preferências e d) Consumo alimentar de algas: informação do inquirido, predisposição para comprar este produto e para o dar aos filhos.

O questionário, de carácter misto, possuía questões de resposta aberta, permitindo ao inquirido construir a sua própria resposta expressando as suas atitudes e perspectivas, e questões de resposta fechada nas quais o inquirido apenas seleccionaria a opção, em caixas de resposta, mais adequada à sua opinião. Foi ainda contemplado um espaço, em branco, para permitir a livre expressão de comentários.

O documento foi distribuído de forma aleatória, tendo sido disseminado por 3 vias distintas – electronicamente via internet, (*Excel*, versão 2003) (Anexo I), entrevista pessoal (Anexo II) ou entrega indirecta (Anexo III) no sentido de possibilitar um estudo mais abrangente face às limitações que cada uma destas abordagens possui, se realizadas individualmente.

A versão electrónica apresentou ainda duas abordagens distintas: o envio por e-mail e a colocação de anúncios, nos *sites* citados na Tabela seguinte, solicitando a intervenção de utilizadores com o perfil do nicho de mercado em estudo.

O documento electrónico, elaborado numa versão atractiva e acessível, possuía perguntas de fácil resposta direccionadas ao nicho em estudo – pessoas com filhos, e cuja mensagem de acompanhamento pretendia informar, e triar, o(a) utilizador(a) sobre o objectivo académico do estudo sensibilizando-o para o seu preenchimento, devolução e re-encaminhamento. Nesta mensagem foi assegurada também a garantia de privacidade relativamente ao e-mail do inquirido, tendo sido criada uma caixa de endereço electrónico unicamente para a recepção dos questionários preenchidos.

Os Conselhos Executivos das Instituições de Acção Educativa dos Distritos do Porto e de Aveiro, bem como os Departamentos de Estudos de Mercado dos Hipermercados citados na Tabela seguinte foram oficialmente contactados, por carta, pelo INRB, I.P./L-IPIMAR Matosinhos.

O período de tempo em que decorreu a realização do questionário, bem como a forma como foi realizado variou em função dos recursos disponibilizados pelas Entidades que aceitaram colaborar nesta análise. Estabeleceu-se, no entanto, que a sua duração seria restrita a um período de 2 meses tendo iniciado a 20 de Fevereiro de 2008 e terminado a 20 de Abril do mesmo ano.

Todos os questionários preenchidos foram lançados manualmente no software SPSS v.16.0, para o posterior tratamento estatístico. Os questionários que não corresponderam ao perfil de inquirido solicitado – pessoa portuguesa com filhos – ou aqueles que se apresentaram de compreensão dúbia, ou incompleta, foram anulados.

Os resultados relativos a esta fase do estudo encontram-se nos Anexos V e VI.

Na tentativa de contribuir para o aumento do consumo de produtos biológicos, e na sequência deste estudo académico, enumeram-se neste estudo, as principais razões encontradas que levam os consumidores a não escolher alimentos hortofrutícolas de produção biológica:

- ✓ Preço elevado;
- ✓ Dificuldade em encontrar estes alimentos em grandes superfícies e insatisfação com os produtos biológicos encontrados, quer pela origem estrangeira quer pela frescura duvidosa que, por vezes, apresentam;

- ✓ Indisponibilidade de tempo para procurar estes produtos nos locais onde são comercializados;
- ✓ Satisfação com os produtos alimentares habitualmente consumidos;
- ✓ Falta de familiaridade com o termo “biológico” e com os sistemas de certificação e rotulagem destes produtos.

Colheita de *Gracilaria vermiculophylla*

Todas as amostras de *G. vermiculophylla* foram recolhidas com a colaboração do grupo de investigadores do CIIMAR/CIMAR, responsáveis pelo estudo desta alga, em Portugal.

Amostragem na Ria de Aveiro

Para a prossecução deste estudo, amostrou-se a Ria de Aveiro em 2 locais distintos, ambos situados no Canal de Ovar, que apresenta uma forte abundância de *G. vermiculophylla* [1] bem visível em maré baixa. A alga foi inicialmente recolhida no local “Corte das Freiras” (Local A), situado perto da zona urbana de Aveiro, local que foi mais tarde substituído pelo local “Torrão do Lameiro” (Local B) pela presença de um menor teor de contaminantes químicos (Figura).

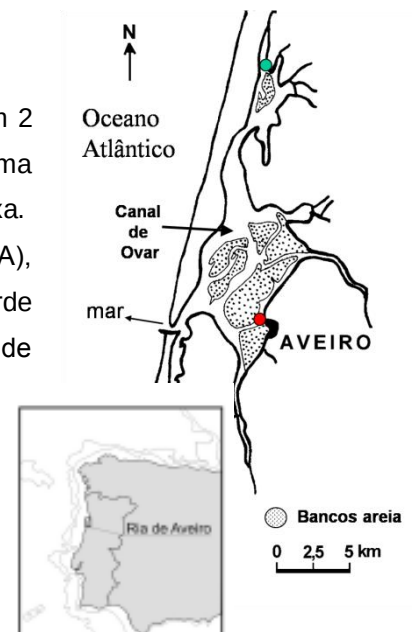


Figura Locais de amostragem de *G. vermiculophylla* no Canal de Ovar/ Ria de Aveiro (Portugal): Corte das Freiras (**vermelho**) e Torrão do Lameiro (**verde**).

Produção de *Gracilaria vermiculophylla* em aquicultura

Após breve lavagem com água doce para remoção de lamas, epífitos e outros resíduos orgânicos, a alga foi propagada sequencialmente em tanques circulares de polietileno de 80, 300 e 1200 litros que recebem a água proveniente dos tanques de cultivo de peixes existentes na mesma exploração. Esta água, inicialmente captada directamente do mar, é utilizada para a produção animal sendo filtrada antes de abastecer a unidade de produção das algas.

Contém dissolvidos nutrientes inorgânicos ricos em azoto, fósforo e carbono que nutrem a alga e favorecem o seu crescimento. Por outro lado, a aquicultura possibilita também a libertação das partículas contaminantes para o meio circundante que possam estar adsorvidas ao talo da alga, provenientes do habitat natural.

A amostragem de ogonori foi realizada de modo a avaliar o efeito do sistema de produção desta alga, ao longo do tempo, no teor original dos seguintes metais pesados: cádmio (Cd), chumbo (Pb) e mercúrio (Hg). Todas as amostragens, realizadas a partir da aquicultura, tiveram lugar no tanque de maior capacidade (1200 l) do sistema de produção de algas. O plano de amostragem cumprido foi o seguinte:

Tabela Detalhes da amostragem de *G. vermiculophylla*

Amostragem				Lote	Duração em Tanque (semanas)				
Gracilaria vermiculophylla	Quant.	Proveniência			0	4	9	14	20
	1 kg	Corte das Freiras	40°38,31' N 08°40,33' W	A1		MC	MC	MC	MC
				A2	MC	MC			
		Torrão do Lameiro	40°49,31' N 08°39,58' W	B1	MC	P I			

Lote **A1** – 1ª recolha efectuada no local A e amostragens subsequentes na aquicultura; lote **A2** - 2ª recolha efectuada no local A e amostragens subsequentes na aquicultura; lote **B1** - 1ª recolha efectuada no local B e amostragens subsequentes na aquicultura; **I** – Iodo; **MC** – Metais contaminantes; **P** – Concepção do produto.

Avaliação de Parâmetros Químicos

A única legislação aplicável ao controlo de qualidade de algas para consumo humano, existente a nível europeu, preconiza a avaliação do teor de alguns elementos químicos, quer de contaminantes químicos (mercúrio, chumbo, cádmio, estanho e arsénio mineral) (Anexos XI, XII A e XII B), que de iodo que por existir em elevado teor nas algas, pode ser tóxico se ingerido em excesso. Por limitação de recursos, não foram realizadas as determinações de estanho (Sn) e de arsénio mineral (As), parâmetros também exigidos por aquela legislação.

A Tabela seguinte ilustra os parâmetros químicos analisados em amostras de *G. vermiculophylla*, após a sua propagação em aquicultura, e de água, bem como as metodologias adoptadas, desenvolvidas no Laboratório de Bromatologia do I.N.R.B (IPIMAT), I.P., acreditado pelo IPAC:

Tabela Detalhes das metodologias aplicadas na avaliação química de *G. vermiculophylla*

Metal	Mercúrio	Chumbo	Cádmio	Iodo
Símbolo químico	Hg	Pb	Cd	I
Classificação	EC ⁽¹⁾	EC	EC	EE ⁽²⁾
Técnica Realizada	Espectrofotometria			Método de Titulação
	Absorção Atômica sem Chama	Absorção Atômica em Forno de Grafite		
Referencial	EPA (1998)	NP EN 14084 (2003)		Gabrielli (sem data)

⁽¹⁾ EC – Elemento químico contaminante; ⁽²⁾ EE – Elemento químico essencial.

Os resultados toxicológicos obtidos para a alga utilizada neste produto encontram-se nos Anexos VIII e IX.

Em Portugal, não são conhecidas metodologias oficiais específicas para a determinação de As e Sn, razão pela qual não foi possível complementar o perfil toxicológico da alga relativamente a esses

parâmetros, também previstos na legislação aplicada. Desconhece-se qual a natureza da ligação química para o As e Sn e qual o comportamento desta alga em aquicultura, para estes contaminantes. No entanto, sabe-se que, relativamente ao arsénio, as algas são acumuladores primários no habitat marinho e representam um papel importante no metabolismo do arsénio ao longo da cadeia alimentar [2]. De um modo geral, a informação disponível sobre este contaminante refere-se ao elemento na forma elementar de arsénio total, o que não é útil para avaliar o risco toxicológico associado à sua ingestão. A segurança alimentar das algas relativamente ao elemento As só poderá ser avaliada através da determinação do teor em arsénio inorgânico, ou mineral, termo que inclui as espécies mais tóxicas [As (III) + As(V)] [3] e previsto na legislação aplicada pela AFSSA.

Tendo-se verificado, para os contaminantes químicos analisados, teores inferiores ao estipulado na legislação, manteve-se a amostra colhida no “Torrão do Lameiro” em produção ainda durante 4 semanas a fim de poder ser incorporada, após secagem e trituração, no produto a desenvolver.

Desenvolvimento do Produto

Segundo a preferência da forma manifestada no questionário de avaliação de mercado, o produto concebido consistiu em pequenas salsichas coloridas de formulação 100 % vegetariana à base de hortícolas, proteína de soja, ogonori e ervas aromáticas/especiaria.

No sentido de se obterem salsichas com textura semelhante à do produto análogo de origem animal, utilizaram-se nas variedades do produto desenvolvido, os seguintes coadjuvantes tecnológicos:

- Mix industrial para salsicha vegetal (Induxtra de Suministros Portuguesa, Lda., Portugal), pesado em balança semi analítica (Mettler Toledo, PB602-S, Suíça) e misturado com a massa homogénea que a trituração do legume, tofu, musgo do mar e erva aromática/especiaria envolveu. A composição individual deste mix industrial encontra-se apresentada na Tabela e,
- Tripa de celulose, 100 % vegetal, de calibre 22 (Cutisin, F. Duarte, s.a., Portugal) utilizada na fase do enchimento manual do produto.

Tabela Formulação do mix vegetal adicionado às variedades de produto desenvolvido

	Fibra ervailha	Fécula batata	Gelatina	Fibra trigo	Dextrose	Tripoli-fosfato	Carragenanos		Cloreto de sódio	Aroma fumo	Aroma
							KCl*	Goma garrufina			
Proporção % (p/p)	40,0	20,0	22,0	5,	3,0	3,0	3,0		2,0	1,0	1,0
Função	Reter água	Reter água	Ligação molecular	Reter água	Reacção Maillard	Reter água	Força ao gel	Estrutura	Estrutura Preservante	Aromatizante	

* KCl – Cloreto de potássio.

Utilizaram-se vários legumes de origem biológica (Raízes, Lda., Portugal) na fase experimental de concepção os quais foram incorporados no produto, nos estados crú, cozido a vapor e refogado. Este último método culinário, pelo facto de permitir maior perda de água do legume, revelou-se o processo mais vantajoso.

Ainda de origem biológica utilizaram-se também diferentes ervas aromáticas – alecrim, orégão, salsa e tomilho (Cantinho das Aromáticas, Lda., Portugal) – e ainda a especiaria noz-moscada (Margão,

Portugal), todas em estado desidratado e provenientes de um único lote.

Inicialmente, *G. vermiculophylla* foi incorporada fresca nas salsichas, tendo-se verificado que, enquanto desidratada, oferecia uma homogeneidade superior ao produto. Nesse sentido, recorreu-se a alga colhida numa única amostragem - lote B1 proveniente do “Torrão do Lameiro” – que se utilizou, após desidratação e moagem. Relativamente à proteína “ligante”, recorreu-se inicialmente a farinha de soja, posteriormente substituída por tofu (Seara, Portugal), pelos melhores resultados apresentados na textura final. Este ingrediente, 100% vegetal, também era biológico.

A Tabela seguinte representa as variáveis envolvidas na concepção do produto desenvolvido que, sujeito a análise sensorial fechada, optimizaram as variedades de produto conseguidas – beterraba, cenoura e tomate. Parte da formulação atingida encontra-se destacada na cor que estes legumes oferecem:

Tabela Variáveis estudadas no desenvolvimento do produto

	Variedades de salsicha desenvolvidas						
	Batata	Beterraba	Bróculo	Cenoura	Ervilha	Feijão	Tomate
Legume % (p/p)	40,0	50,0	50,0	50,0	40,0	40,0	40,0
		60,0		60,0			50,0
Erva aromática/ Especiaria	Salsa	Alecrim	Tomilho	Noz moscada	Tomilho	Alecrim	Orégão
		Tomilho		Salsa			Tomilho
<i>G. vermiculophylla</i> % (p/p)		0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
	3,0	3,0		3,0			3,0
				5,0			5,0
<i>G. vermiculophylla</i> (estado)	Fresca		Fresca	Fresca	Fresca		Fresca
		Seca		Seca		Seca	Seca
Proteína Soja (estado)	Farinha		Farinha	Farinha	Farinha		Farinha
		Tofu		Tofu		Tofu	Tofu
Tripa de enchimento	*Ce	Ce	Ce	Ce	Ce	Ce	Ce
Processamento prévio do legume				Crú			Crú
	Cozida	Cozida	Cozida	Cozida	Cozida	Cozida	Cozida
		Refogado		Refogado			Refogado

*Ce – Tripa de celulose.



Este trabalho experimental contemplou a execução de 26 variedades de produto, onde foram realizadas várias combinações, em termos de qualidade e quantidade dos ingredientes e duração do processamento térmico utilizado - cozedura em forno de vapor (Rational Combimaster, CM 61, Alemanha) - que na fase optimizada do produto, consistiu na cozedura a 100 °C durante 3 min..

Figura Produto desenvolvido antes da cozedura a vapor
(Imagem da autora).

Após a cozedura do produto a vapor (Figura seguinte), este foi rapidamente arrefecido, em placas de gelo para remoção manual da tripa de enchimento. A embalagem foi realizada nas condições 1 mbar durante 5 s, tempo de solda 1,2 s. (Multivac Gastrovac A300, Alemanha).

O controlo de qualidade foi efectuado apenas no que diz respeito à segurança microbiológica do produto onde todos os parâmetros analisados (Anexos XV e XVI) apresentaram valores satisfatórios (Anexo XVII).

As etapas de preparação do produto final obtido - salsichas de beterraba, cenoura e tomate - seguiram a seguinte ordem de preparação, conforme resume a Figura:

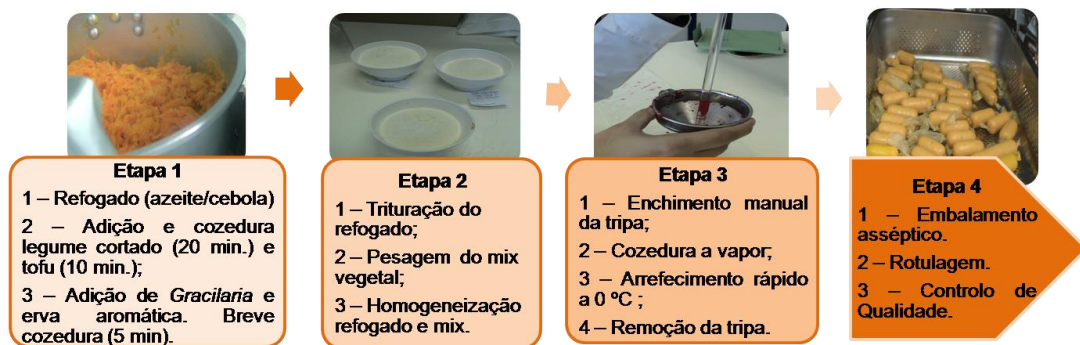


Figura Etapas de preparação do produto final concebido (Imagens da autora).

Avaliação Sensorial do Produto

Após a confirmação da inocuidade microbiológica do produto, procedeu-se à sua avaliação sensorial que decorreu ao longo de um dia, no Laboratório de Análise Sensorial do INRB, I.P./L-IPIMAR Matosinhos, no período das 12h - 14h e das 16h - 17h, através de um questionário entregue em papel (Anexo XIII) a pessoas, não treinadas, aleatoriamente seleccionadas.

A metodologia adoptada foi baseada na NF XP V 09-500 (2000) [4] conforme resume a Figura:

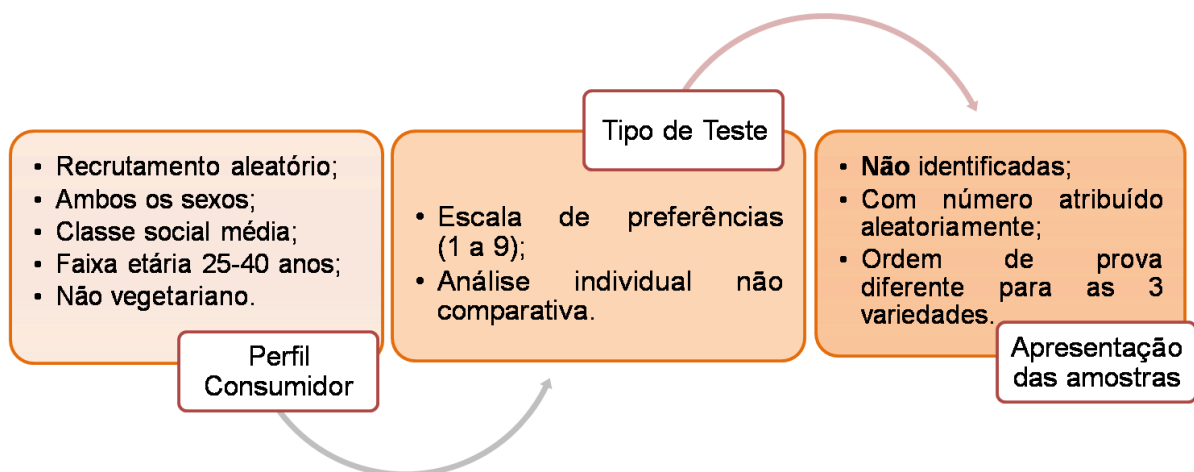


Figura Características da análise sensorial realizada.

Foi solicitado aos provadores que procedessem à avaliação sensorial dos produtos, seguindo rigorosamente as instruções constantes no questionário de prova. Os critérios de avaliação, por parte do provador, basearam-se na escala hedónica de categorias de 9 pontos [5, 6].

A ordem de apresentação das amostras foi permutada circularmente entre os provadores e as amostras apresentadas encontravam-se codificadas com números de 3 dígitos cuja atribuição aleatória foi baseada no método descrito por Cochran e Cox (1957) [7].

Os resultados obtidos para a análise sensorial das 3 variedades de produto obtido encontram-se descritos no Anexo XIV.

Tendo em conta que esta análise sensorial foi realizada com o produto semi-acabado, desprovido da capa de fumagem que usualmente envolve as variedades de salsicharia fumadas e incapaz de ser projectado à escala laboratorial e tendo em conta também o excesso de sal reportado pelo painel de provadores, esta avaliação apresentou ainda assim um resultado global muito positivo. No entanto, compreende-se a necessidade de ajustar o produto, no seguimento deste ensaio sensorial preliminar através da concretização de etapas, só possíveis no contexto industrial.

Deste modo será então possível realizar nova prova organoléptica, desta vez com um painel de provadores infantil que caracterize a exigência do nicho populacional que se pretende atingir. A perspectiva de procura do produto, pela comunidade vegetariana/vegan, apela também à necessidade de realização de prova sensorial num painel representativo desta faixa social.

3. Conclusões e trabalho futuro

O presente estudo pode ser resumido pelo conjunto de conclusões que a seguir se apresentam:

1) A realização de uma análise de mercado, através da aplicação de um questionário, disseminado por três vias distintas, ofereceu interessantes perspectivas de realização para um estudo desta natureza. Contudo, um questionário curto induziu uma maior taxa de resposta e reduziu a possibilidade de erro, ainda que, de igual modo, também tenha fornecido menor informação dos inquiridos. Por outro lado, considera-se que esta análise poderia ter oferecido resultados mais fidedignos se toda a sua apresentação fosse realizada por meio de entrevista pessoal;

2) Neste estudo, a maioria das crianças reportadas eram filhos únicos e provinham de agregados familiares pequenos, cujos progenitores tinham um nível superior de escolaridade. Ainda assim, testemunhou-se uma extensa facilidade, por parte dos pais, para aceitar a neofobia alimentar dos filhos, face ao consumo de legumes no prato. Por outro lado, verificou-se que esta resistência infantil contribui para dificultar a diversificação alimentar e atrasar a adaptação à dieta alimentar adulta, prevista a partir dos 12 meses. Curiosamente, os progenitores com menor grau de escolaridade, e que estavam em minoria, apresentaram uma maior dinâmica no consumo infantil de legumes o que é consistente com a menor capacidade financeira para oferecer outro tipo de produtos alimentares;

3) Os dados do presente trabalho sugerem a existência de alguns fenómenos de resistência face ao consumo de produtos biológicos, quando comparado com o consumo de hortofrutícolas de produção convencional. Apesar de algumas limitações metodológicas inerentes à análise de mercado efectuada, nomeadamente a amplitude geográfica e a auscultação da faixa etária que abrange os avós, parece existir alguma consistência para se afirmar que a população analisada de pais portugueses evidencia uma deficiente informação sobre o Modo de Produção Biológico. O consumidor não reconhecendo o valor intrínseco que estes alimentos aportam, não contribui para o escoamento destes produtos no mercado, impossibilitando assim a prática de preços mais competitivos;

4) A significativa preferência por cores atractivas (77,9 %) em alimentos para consumo infantil contrapõe a opinião generalizada, por parte do consumidor, para evitar produtos alimentares que apresentem aditivos corantes na sua formulação. Nesse sentido, de modo a tirar o máximo partido dos pigmentos em que os vegetais e frutos são exclusivos, apela-se à Indústria Alimentar para privilegiar a oferta de alimentação saudável infantil, otimizando a incorporação destes corantes orgânicos, com eventual carácter funcional, e que oferecem uma maior inocuidade para este nicho populacional;

5) Ao avaliar a enorme lacuna de informação sobre o consumo alimentar de algas (57 %), e a absoluta falta de recomendação pediátrica favorável à sua aplicação em crianças, o presente estudo evidenciou a necessidade da pertinente articulação de disponibilidade de informação credível, à comunidade médica e ao consumidor final, com o rigoroso controlo de qualidade que a comercialização destes produtos deve respeitar;

6) Em relação ao perfil toxicológico analisado de *G. vermiculophylla*, o sector aplicado à produção de algas deve contemplar apenas sistemas de cultivo biológicos que ofereçam maior segurança e menor variabilidade ambiental. O presente estudo detectou que o cultivo de seres aquáticos, como as algas, é de extrema importância quer para a obtenção de produtos seguros de elevada qualidade quer para salvaguardar o impacto sobre o ambiente aquático. O cultivo de algas pode ainda ter um efeito benéfico sobre a qualidade da água e pode promover a policultura (piscicultura de produção biológica) desde que a capacidade dos tanques não seja sobrecarregada e possa permitir a regeneração adequada da água do sistema implicado;

7) A legislação francesa aplicada ao consumo de algas para alimentação humana é escassa e evidenciou a mesma lacuna para o panorama europeu. Por outro lado, a ausência de normas de orientação da orgânica funcional, nomeadamente recomendações técnicas aplicadas à integração das algas em alimentos processados questiona a aplicabilidade imediata que a Indústria Alimentar possa pretender beneficiar com a integração das algas nos seus produtos;

8) A dualidade sabor atractivo/efeito saudável pode representar um dilema para a Indústria Alimentar, face às exigências sensoriais competitivas que o consumidor privilegia. A inovação da tecnologia

alimentar e a globalização dos mercados permitem uma maior disponibilidade de alimentos, durante todo o ano, desfavorecendo a oferta sazonal que o consumidor esqueceu. Nesse sentido, considera-se pertinente ajustar a oferta sazonal de produtos biológicos à diversificação imposta pela inovação alimentar que a Indústria Alimentar promove constantemente;

9) A eliminação do cloreto de sódio em alimentos processados é imperativa pela sua presença natural, já intrinsecamente existente na matriz alimentar, e pelo dano que tem causado na Saúde Pública. Evidenciar o sabor dos alimentos com a incorporação de ingredientes funcionais como as algas oferece a possibilidade de acrescentar valor ao produto final que, para além das funções nutritivas básicas apresenta também, ao consumidor, benefícios fisiológicos e/ou redução do risco de incidência de doenças crónicas. Nesse sentido, a substituição tecnológica deve ser promovida o quanto antes, assegurando as características organolépticas que o consumidor ocidental privilegia;

10) O produto desenvolvido no presente estudo, salsichas cocktail de legumes à base de tofu, *G. vermiculophylla* e ervas aromáticas, de seu nome sugestivo “Legumitas”, apresenta uma quer pelo teor apresentado em hortícolas, quer pela proteína de origem vegetal ou pela veiculação excepcional de iodo, formulação funcional que oferece valor competitivo no *portfolio* de oferta alimentar. Contudo, e tal como a legislação impõe para estes novos produtos, é importante não só validar a biodisponibilidade dos constituintes bioactivos de cada um dos ingredientes funcionais mas também, os efeitos de sinergia e antagonismo, que a sua interacção possa promover nesta nova matriz alimentar processada;

11) A colocação no mercado de novos produtos alimentares desafia não só as expectativas que o consumidor idealiza em estudos de mercado e o ajustar das *performances* tecnológicas necessárias mas também exige o estabelecimento e a validação dos padrões de qualidade pelo qual essa nova matriz alimentar deverá reger-se;

12) A inovação na oferta saudável de produtos alimentares processados, ou naturalmente seleccionados, que promovam a apetência por legumes e frutos deve ser estimulada, se integrada numa dieta alimentar diversificada, e como complemento à sua apresentação natural. Deve tirar-se o melhor partido dos alimentos processados que oferecem, ao consumidor, o interesse pela sua degustação mas preservando sempre algum cuidado para não deixar desaparecer a sabedoria empírica, edificada ao longo de milhares de anos, que criou rituais alimentares saudáveis. Nesse sentido, o consumidor deve também ser orientado para compreender, e adequar, as recomendações sobre alimentação ao seu estilo de vida.

Assim, considera-se fundamental que a divulgação deste novo produto estabeleça: a) A sensibilização dos progenitores para o frequente consumo infantil de legumes corroborada com a recomendação do médico assistente da criança; b) Uma apresentação apelativa para as crianças, oferecendo aos pais ideias alternativas com a comodidade que desejam; c) A necessidade de oferecer opções saudáveis que substituam os produtos análogos de *fast food*, estes com consequências nefastas para a saúde.

Do quadro de resultados gerados no presente trabalho destacando-se os seguintes aspectos para trabalho futuro:

- ✓ Estudo do comportamento das algas enquanto componente tecnológico alimentar. A utilização de algas na formulação de alimentos processados levanta algumas questões de particular interesse, nomeadamente:
 - a) o estabelecimento das especificações tecnológicas (hidratação, densidade, etc.) que a aplicabilidade das algas, enquanto ingredientes de produtos alimentares processados, deverá cumprir para manter o elevado valor nutricional que as destaca;
 - b) a validação do carácter funcional da alga, na quantidade incorporada no produto desenvolvido, tendo em conta a biodisponibilidade dos constituintes de interesse após o processamento tecnológico e estabelecido o respectivo tempo de prateleira;
 - c) a estabilidade do micronutriente iodo durante o processamento tecnológico e a dosagem que, efectivamente, alcança o consumidor;
 - d) a avaliação toxicológica que o ingrediente alga deve respeitar, quer em parâmetros químicos como microbiológicos, tendo em conta a sua integração numa matriz alimentar;
 - e) a ocorrência de interacção entre o ingrediente funcional alga e outros constituintes bioquímicos presentes na matriz alimentar, nomeadamente componentes farmacológicos que agentes como as ervas aromáticas veiculam;
 - f) a concepção de uma estratégia de informação que promova, junto do cidadão português, o interesse e a adesão pelo consumo alimentar deste importante recurso marinho com características nutracêuticas.

Referências

- [1] Saunders, G.W., 2009. Routine DNA barcoding of Canadian Gracilariales (Rhodophyta) reveals the invasive species *Gracilaria vermiculophylla* in British Columbia. *Molecular Ecology Resources*, **9** (suppl.1): 140 – 150.
- [2] Morita, M. e Shibata, Y., 1990. Chemical form of arsenic in marine macroalgae. *Appl. Organomet. Chem.*, **4**: 181 - 190.
- [3] Almela, C., Algora, S., Benito, V., Clemente, M., Devesa, V., Súnier, M., Vélez, D. e Montoro, R., 2002. Heavy metal, Total Arsenic and inorganic Arsenic Contents of Algae Food Products. *J. Agric. Food Chem.*, **50**: 918-923.
- [4] Normalisation Française XP V 09-500, 2000. Analyse sensorielle. Directives générales pour la réalisation d'épreuves hédoniques en laboratoire d'évaluation sensorielle ou en salle en conditions contrôlées impliquant des consommateurs. AFNOR, France.
- [5] Peryam, D. e Girardot, N., 1952. Advanced taste-test method. *Food Engineering*, vol. 24, n.7, p. 58-61.
- [6] Peryam, D. e Pilgrim, F., 1957. Hedonic scale method of measuring food preferences. *Food Technology*, v.11 (supplement), n. 9, p. 9 - 14.
- [7] Cochran, W.G. e Cox G.M., 1957. *Experimental Design*, John Wiley & Sons, New York.
- [8] Silva, J., Duck, R. e Catarino, J., 2004. Seagrasses and sediment response to changing physical forcing in a coastal lagoon. *Hydrology & Earth System Sciences*, **8** (2): 151 - 159.
- [9] FAO, 2004. The State of Food Insecurity in the World: monitoring progress towards the World Food Summit and Millennium Development Goals [Online]. Itália. Available: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/007/y5650e/y5650e00.pdf> [Outubro 1, 2008].
- [10] Marinho-Soriano, E., Silva, T., Moreira, W., 2001. Seasonal variation in the biomass and agar yield from *G. cervicornis* and *Hydropuntia cornea* from Brazil. *Bioresource Technology*, **77** :115 – 120.
- [11] Marinho-Soriano, E. e Bourret, E., 2003. Effects of season on the yield and quality of agar from *Gracilaria* species (Gracilariaceae, Rhodophyta). *Bioresource Technology*, **90**: 329 – 333.
- [12] Papenfuss, G., 1967. Notes on algal nomenclature - Various Chlorophyceae and Rhodophyceae. *Phykos*, **5**: 95 - 105.
- [13] Burtin, P., 2003. Nutritional value of Seaweeds. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, **2** (4): 498 – 503
- [14] NP EN, 2003. NP EN 14084. Foodstuffs – Determination of trace elements. Determination of lead, cadmium, zinc, copper and iron by atomic absorption spectrometry (AAS) after microwave digestion. Instituto Português da Qualidade, Ministério da Indústria e Energia. Lisboa.
- [15] EPA, 1998. Test method 7473: Mercury in solids and solutions by thermal decomposition, amalgamation and atomic absorption spectrometry. USA. Environment Protection Agency, 14p.
- [16] van Netten, C., Hoption Cann, S., Morley, D. , van Netten, J., 2000. Elemental and radioactive analysis of commercially available seaweed. *Sci. Total EnViron.*, **255**: 169 - 175
- [17] Hou, X. e Yan, X., 1998. Study of the concentration and seasonal variation of inorganic elements in 35 species of marine algae. *Sci. Total EnViron.*, **222**: 141 - 156.
- [18] PHLS working group (Gilbert, R.J., de Louvois, J., Donovan, T., Little, C., Nye, K., Ribeiro, C.D., Richards, J., Roberts, D., Bolton, F.J.), 2000. Guidelines for the microbiological quality of some ready-to-eat foods sampled at the point of sale of the PHLS Advisory Committee for Food and Dairy Products. *Commun Disease Public Health*, **3**: 163 - 7.
- [19] INSA (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. [Online]. Instituto Nacional Saúde Dr. Ricardo Jorge. Available: http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/Publicacoes/Outros/Documents/AlimentacaoNutricao/Valores_Guia_Qualid_Microb_Alim.pdf [Março 20, 2009].

Anexos

Anexo I – Questionário de Avaliação de Mercado realizado através da Internet.

Questionário de Avaliação de Mercado

Introdução de um Alimento Novo à base de Produtos hortícolas para Consumo Infantil

Localidade: Sexo: Feminino ☒ Masculino ☐

Idades: < 1 ☐ 1-2 ☐ 2-3 ☐ 3-5 ☐ 5-10 ☐ 10-15 ☐ > 15 ☐ Nr. Filhos: 0 ☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10 ☐

Tem Filhos? Sim ☐ Não ☐

Profissão: Idade: 30/40 Escolaridade: Ensino Superior ☒ Ensino Secundário ☐ Ensino Básico ☐ Ensino Primário ☐

Sabe que os legumes são importantes para a alimentação? Sim ☒ Não ☐

Os seus filhos têm problemas de alergias alimentares? Sim ☐ Não ☒

Quantas vezes/semana lhes dá legumes no prato: 0 vezes ☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10 ☐

Que benefícios conhece associado ao consumo de legumes?

☐ Vitaminas ☐ Sais Minerais ☐ Fibras ☐ Saciante ☐ Anti-oxidantes ☐ Pouco Calórico

O que mudaria num alimento de origem vegetal que estimulasse o consumo dos seus filhos?

CHEIRO: ☐ Forte ☐ Discreto

TEXTURA: ☐ Cremosa ☐ Consistente

SABOR: ☐ A Salsicha ☐ A Hamburguer ☐ A Croquete

COR: Diga várias?

Consome produtos de Agricultura Biológica? Sim ☐ Não ☒

Se não, porquê?

☐ Preço Elevado ☐ Pouco Acessível ☐ Falta Informação ☐ Outras razões

Que benefícios conhece associado ao consumo de Algas?

☐ Não Conhece ☐ Vitaminas ☐ Sais Minerais ☐ Fibras ☐ Saciante ☐ Anti-oxidantes ☐ Pouco Calórico

Estaria receptiva(o) a dar ao(s) seu(s) filho(s) um alimento à base de produtos hortícolas de Agricultura Biológica? Sim ☐ Não ☒

Estaria receptiva(o) a dar ao(s) seu(s) filho(s) um alimento à base de Algas? Sim ☐ Não ☒

Comentários:

Objectivo: avaliar a extensão do inquérito

Objectivo: avaliar se o inquirido está receptivo para questões sobre alimentação

Objectivo: encontrar o grupo alvo - pessoas com filhos com idades superiores a 3 anos

Objectivo: avaliar o extracto social a que pertence o inquirido

Objectivo: detectar a fidelidade ao preenchimento

Objectivo: detectar este sub-grupo pois condiciona restante preenchimento

Objectivo: analisar as dificuldades sentidas pelo inquirido face ao consumo infantil de legumes

Objectivo: pretende-se avaliar os conhecimentos gerais neste domínio.

Objectivo: pretende-se encontrar as expectativas de mercado para o produto a desenvolver.

Objectivo: obter uma resposta não condicionada sobre a preferência da cor no produto a desenvolver.

Objectivo: conhecer a receptividade e informação neste domínio.

Objectivo: avaliar as principais razões que condicionam a aquisição de produtos de origem biológica.

Objectivo: evidenciar o nível de informação do inquirido acerca do consumo alimentar de algas.

Objectivo: conhecer a receptividade pelo produto a desenvolver.

Objectivo: conhecer a receptividade pelo produto a desenvolver.

Objectivo: permitir a expressão espontânea por parte do inquirido.

Objectivo: instruções para re-envio.

Agradece-se que, após preenchimento, GRAVE o inquérito e depois o ANEXE. Envie depois para: solange.burri@gmail.com

Obrigado!

Concebido por Solange Burri no âmbito do Mestrado em Inovação Alimentar 2008 - Fevereiro 2008

Anexo II – Questionário de Avaliação de Mercado realizado nos Hipermercados.

Questionário de Avaliação de Mercado

Introdução de um Alimento Novo à base de produtos hortícolas para Consumo Infantil

Localidade: _____ Sexo: ____ Feminino ____ Masculino

Tem filhos? ____ Não ____ Sim Idade(s) do(s) filho(s): _____

Profissão: _____ Idade da(o) Inquirida(o): _____

Escolaridade: ____ Ensino Básico ____ Ensino Secundário ____ Ensino Superior

Sabe que os legumes são importantes para a alimentação? ____ Sim ____ Não

Os seus filhos têm problemas de alergias alimentares? ____ Sim ____ Não ____ Não Sabe/Não responde

Quantas vezes / semana dá ao(s) seu(s) filho(s) legumes no prato?

____ 0 vezes ____ 1-5 vezes ____ 6-10 vezes ____ 11-15 vezes ____ Mais 15 ____ Não sabe/Não responde

Que benefícios associados ao consumo de legumes conhece?

____ Vitaminas ____ Sais minerais ____ Fibras ____ Saciante ____ Anti-oxidante ____ Pouco Calórico

O que mudaria num alimento de origem vegetal que estimulasse o consumo pelo(s) seu(s) filho(s)?

CHEIRO	Forte	Discreto
TEXTURA	Cremosa	Consistente
SABOR	A Salsicha	A hambúrguer
COR	Diga várias: _____	A croquete

Consome produtos de Agricultura Biológica:

____ Sim ____ Não ____ Às vezes ____ Não sabe/não responde

Se Não, porquê? ____ Preço elevado ____ Pouco acessível ____ Falta informação
____ Outras Razões ____ Não sabe/Não responde

Que benefícios associados ao consumo de algas conhece:

____ Não conhece ____ Vitaminas ____ Sais Minerais ____ Fibras ____ Saciante
____ Anti-oxidantes ____ Pouco calórico

Estaria receptiva(o) a dar ao(s) seu(s) filho(s) um alimento à base de produtos hortícolas de Agricultura Biológica?

____ Sim ____ Não ____ Talvez ____ Não sabe/não responde

Estaria receptiva(o) a dar ao(s) seu(s) filho(s) um alimento à base de Algas?

____ Sim ____ Não ____ Talvez ____ Não sabe/Não responde

Comentários: _____

Anexo III – Questionário de Avaliação de Mercado realizado nas Instituições de Acção Educativa.



PAIS: ENTREGAR O MAIS BREVE POSSÍVEL

Questionário de Avaliação de Mercado - Introdução de um Alimento Novo à base de produtos hortícolas

Acha que os legumes são importantes para a alimentação? ☐ Sim ☐ Não

Tem filhos? ☐ Sim ☐ Não Idade(s) do(s) filho(s): _____

O(s) seu(s) filho(s) têm problemas de alergias alimentares? ☐ Sim ☐ Não ☐ Não Sabe/Não responde

Quantas vezes / semana dá ao(s) seu(s) filho(s) legumes no prato?

☐ 0 vezes ☐ 1-5 vezes ☐ 6-10 vezes ☐ 11-15 vezes ☐ Mais 15 ☐ Não sabe/Não responde

Que benefícios associados ao consumo de legumes conhece?

☐ Vitaminas ☐ Sais minerais ☐ Fibras ☐ Satisfaz ☐ Anti-oxidante ☐ Pouco Calórico

O que mudaria num alimento de origem vegetal que estimulasse o consumo pelo(s) seu(s) filho(s)?

CHEIRO	Forte	Discreto	
TEXTURA	Cremosa	Consistente	
SABOR	A Salsicha	A hambúrguer	A croquete
COR	Diga várias: _____		

Consome produtos de Agricultura Biológica/ Agricultura doméstica:

☐ Sim ☐ Não ☐ Às vezes ☐ Não sabe/não responde

Se Não, porquê? ☐ Preço elevado ☐ Pouco acessível ☐ Falta informação

☐ Outras Razões ☐ Não sabe/Não responde

Que benefícios associados ao consumo de algas conhece:

☐ Não conhece ☐ Vitaminas ☐ Sais Minerais ☐ Fibras ☐ Satisfaz ☐ Anti-oxidantes ☐ Pouco calórico

Estaria receptiva(o) a dar ao(s) seu(s) filho(s) um alimento à base de produtos hortícolas de Agricultura Biológica?

☐ Sim ☐ Não ☐ Talvez ☐ Não sabe/não responde

Estaria receptiva(o) a dar ao(s) seu(s) filho(s) um alimento à base de Algas?

☐ Sim ☐ Não ☐ Talvez ☐ Não sabe/Não responde

Comentários: _____

Localidade: _____ Sexo: ☐ Feminino ☐ Masculino

Profissão: _____ Idade da(o) Inquirida(o): _____

Escolaridade: ☐ Ensino Básico ☐ Ensino Secundário ☐ Ensino Superior



IPIMAR Matosinhos
Av. General Norton de Matos, 4
4450 MATOSINHOS - PORTUGAL

Tel. (+351) 229 396 940 Fax: (+351) 229 375647

E-mail: solange.burri@gmail.com

Anexo IV – Canais de distribuição do inquérito utilizado para a análise de mercado desenvolvida.

Tabela Avaliação de Mercado: detalhes da realização

Formato	Locais da Realização		Localização	Forma de Abordagem	Duração (dias)
Internet	Autora	E-mail pela base de dados*	Portugal	Pessoal	90
		Afixação em blog pessoal**		Pessoal	90
		Divulgação em 4 fóruns de mamãs***		Afixação autorizada	90
	Base de Dados da Entidade	Externato Nossa Senhora da Paz	Porto	A Entidade difundiu pelo e-mail dos Pais (1º e 2º ciclos)	15
		CLIP – Colégio Luso-Internacional do Porto	Porto	A Entidade difundiu pelo e-mail dos Pais (1º e 2º ciclos)	15
Entrevista pessoal	Hipermercados Grupo SONAE	Continente Matosinhos	Matosinhos	4 colaboradores, 6ª feira	1
		Continente Dolce Vita	Porto	4 colaboradores, 6ª feira	1
		Continente Gaia	V.N.Gaia	4 colaboradores, 6ª feira	1
		Continente Arrábida	V.N.Gaia		N.a.
	Outros Hiper's	El Corte Inglés	V.N.Gaia		N.a.
		Jumbo – Grupo Auchan	V.N.Gaia		N.a.
Entrega indirecta	Colégio Anjos do Saber		Matosinhos	Colocação Mochila Pré -escolar, 1º e 2º ciclos	45
	Agrupamento Escolar de Albergaria-a-Velha		Albergaria-a-Velha	Colocação Mochila Pré -escolar, 1º e 2º ciclos	30
	Associação de Pais e Amigos da Creche e Jardim.de Infância Centro Hospitalar de Gaia		V.N.Gaia	Colocação Mochila Pré –escolar e ATL	30
	Corpo Nacional de Escutas, Região do Porto, Núcleo Litoral, Agrupamento 143		S. Mamede de Infesta	Colocação Mochila “Lobitos” (6-10 anos)	30
	Colégio das Escravas “Sagrado Coração de Jesus”		Porto		N.a.
	Colégio Novo da Maia		Maia		N.a.

* Endereços electrónicos pessoais; ** Blog: www.solangeburri.blogspot.com; *** Fórum Pinkblue: www.pinkblue.com; Fórum Nuvens & Estrelinhas: www.nuvenus-e-estrelinhas.forumeiros.com; Fórum “Coisas de Bebê”: www.coisasdebebe.com; Fórum de Pediatria: <http://pediatria.phpbb.net/>; N.a. – Não autorizado.

Anexo V – Resultados obtidos na análise de mercado desenvolvida (parte I) .

O perfil do consumidor que aceitou colaborar neste estudo encontra-se apresentado na Figura:

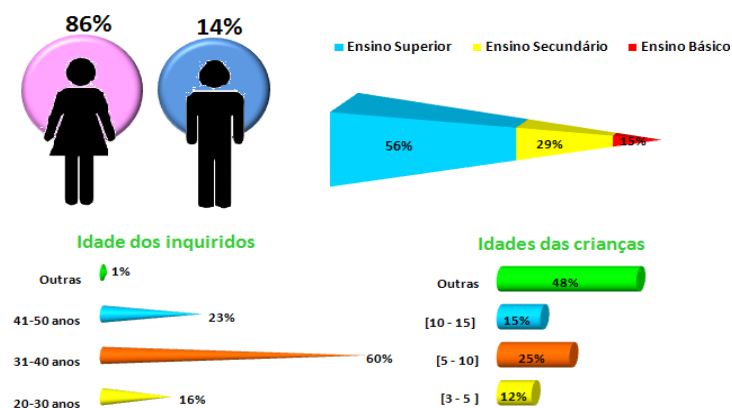


Figura Perfil dos inquiridos – sexo, idade, nível de escolaridade e idade dos filhos.

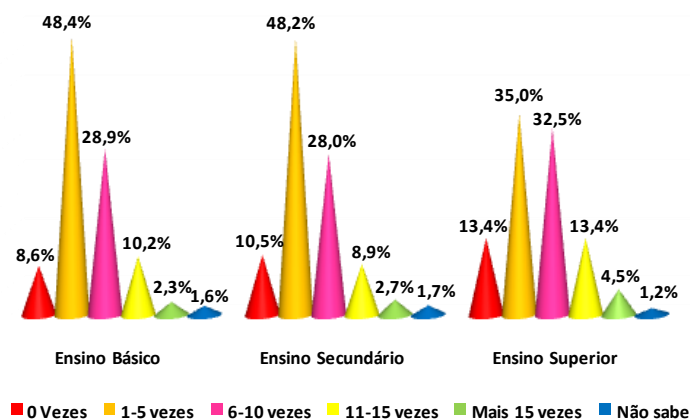


Figura Escolaridade dos pais versus consumo infantil semanal de legumes no prato.

Preferência dos portugueses pelo consumo de hortícolas de origem biológica e as principais causas inerentes à sua não-aquisição:

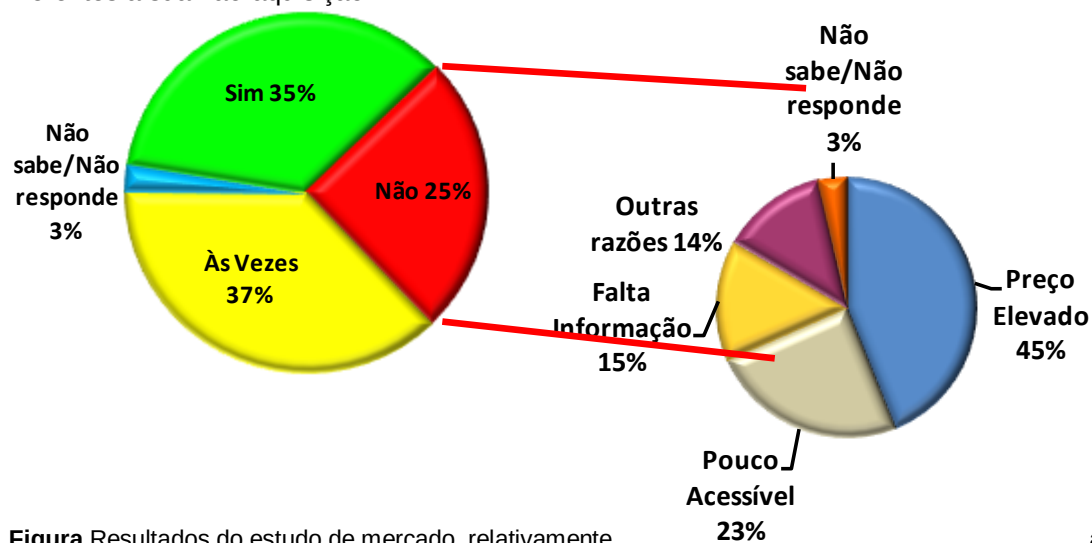


Figura Resultados do estudo de mercado, relativamente consumo de hortícolas de origem biológica.

ao

Anexo VI – Resultados obtidos na análise de mercado desenvolvida (parte II) .

Na fase seguinte de avaliação do mercado pretendeu-se conhecer as expectativas dos pais face às características sensoriais que esperavam encontrar num produto novo à base de vegetais e que contribuísse para o aumento do seu consumo na população infantil. Salienta-se o facto de os inquiridos desconhecerem a pretensão de este produto ser desenvolvido na fase subsequente à realização da análise de mercado. Os resultados apresentam-se na Figura:

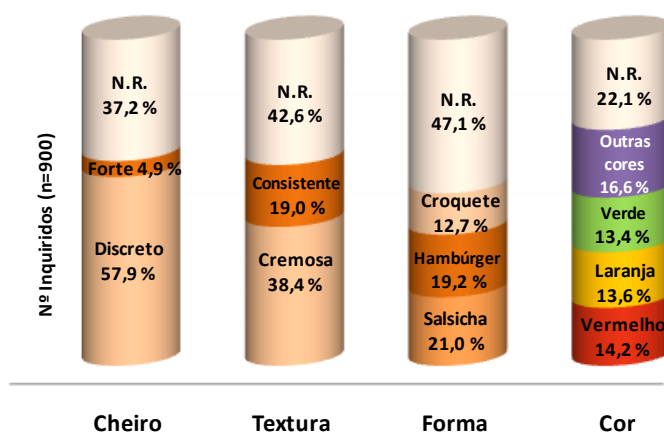


Figura Características preferenciais para o produto à base de legumes, a conceber para crianças a partir dos 3 anos (N.R. = Não responderam).

As derradeiras questões do inquérito (Anexo I, II e III) pretendiam avaliar o nível de informação do consumidor sobre a aplicação de algas na alimentação humana e conhecer a sua predisposição para incluir este alimento na dieta infantil. Os resultados encontram-se expressos na Figura.

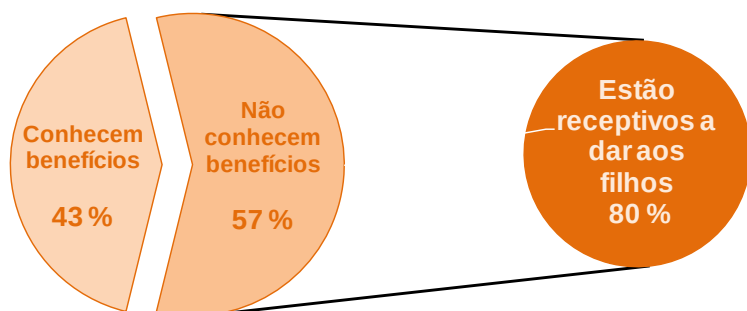


Figura Relação entre o conhecimento dos benefícios do consumo de algas e a receptividade de consumo infantil.

Verificou-se que 57% dos progenitores inquiridos, apesar de não conhecer os benefícios do consumo alimentar de algas, se manifestou receptivo para adquirir este novo produto em 80% dos casos analisados.

Anexo VII– Caracterização da alga *Gracilaria vermiculophylla*.

Gracilaria sp.

O género *Gracilaria*, algas comumente designadas por ogo, ogonori ou musgo do mar, pertence ao grupo taxonómico das algas vermelhas denominado de Rodófitas e que constitui o grupo mais variado, com cerca de 4 000 espécies espalhadas por todo o mundo [8]. A capacidade vegetativa das espécies do género *Gracilaria* fazem destas algas excelentes candidatas para o cultivo em grande escala evidenciando a elevada importância económica que possuem [9] nomeadamente na extracção industrial de ágar e carragenanos, ficocolóides exclusivos deste grupo de macroalgas [10, 11] .

Em Portugal estão descritas várias espécies de *Gracilaria*, tendo a taxonomia do género ainda muito por esclarecer a nível mundial. A espécie utilizada neste estudo é *Gracilaria vermiculophylla* (Ohmi) [12], também denominada como *Gracilaria asiatica* .

<i>Gracilaria vermiculophylla</i>	Classificação taxonómica	
	Domínio	Eucariota
	Reino	Plantae
	Filo	Rhodophyta
	Classe	Florideophyceae
	Ordem	Gracilariales
	Família	Gracilariaceae
	Género	<i>Gracilaria</i>
	Espécie	<i>G. vermiculophylla</i>

Figura Classificação taxonómica da alga *G. vermiculophylla* (Ohmi) Papenfuss (1967).

A sua aplicação também inclui o consumo humano directo e a legislação francesa (Anexo XI, XII A e XII B) refere a espécie *Gracilaria verrucosa* na lista de espécies autorizadas [13] sabendo-se hoje que aquela espécie, na análise de identificação molecular, de facto se trataria de *G. vermiculophylla* [1].

Trata-se de uma espécie não nativa mas, segundo alguns relatos, existe em Portugal há já vários anos, desconhecendo-se o período exacto da sua introdução, encontrando-se residente em ambientes estuarinos, tais como, Ria de Aveiro, Estuário do Sado e Ria Formosa [8]. Na Ria de Aveiro, *G. vermiculophylla* está bem estabelecida, sendo actualmente uma das espécies dominantes, segundo observações técnicas da flora deste ecossistema, tendo-se registado, em 2003, no Canal de Ovar, extensões de 1 km² [8]. A sua tolerância a diferentes salinidades faz com que esteja amplamente distribuída, desde a zona da Barra até aos locais mais remotos da Ria.

Anexo VIII – Determinação dos contaminantes químicos na alga *Gracilaria vermiculophylla* (parte I).

Preparação das amostras de G. vermiculophylla

Após lavagem e homogeneização em misturador com lâmina de titânio (Retsch Grindomix, GM 2009, Alemanha), as amostras foram congeladas a -20,0 °C (Lec Technical, ISU 95E, Inglaterra). No dia da análise, foram descongeladas e seguiu-se o procedimento da metodologia pretendida.

Cádmio (Cd) e Chumbo (Pb): Espectrofotometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite

Digestão da Amostra:

Pesou-se, em duplicado, 0,5 – 1,0 g $\pm$ 0,01 g de amostra em balança analítica (Mettler Toledo, AG204, Suíça) num vaso de digestão (descontaminados com HNO₃ 20 %, (v/v)); adicionou-se 4 ml HNO₃ a 65 % (supra puro) (Merck, cod. 1.00441, Alemanha) e 1 ml H₂O₂ a 30 % (v/v) (Merck, cod. 1.07209, Alemanha) e digeriu-se em microondas (CEM, MARS 5, USA), utilizando um programa pré-definido de pressão e temperatura controlados. Para além da amostra foram também digeridos padrões de referência certificados (NIST, cod. TORT-2, Canadá) e efectuado um ensaio em branco (ambos em duplicado). Removeram-se os vasos de digestão do microondas e deixou-se arrefecer. A amostra digerida foi transferida para balão volumétrico (capacidade 25 ml), perfazendo-se o volume com água ultrapura (Sistema Milli, Q Plus Millipore, França).

O ensaio em branco bem como os ensaios padrão foram tratados de igual modo.

Determinação:

Seguidamente foram analisadas por espectrofotometria de absorção atômica em forno de grafite (Varian, Spectr AA 220Z, Austrália). Colocou-se a lâmpada de cátodo ôco referente ao chumbo ou ao cádmio, dependendo do elemento a analisar, ligou-se e deixou-se aquecer durante 10 min. Transferiram-se as amostras, brancos e ensaios padrão para os tubos de plástico (capacidade 2 ml, para leitura das amostras) e colocaram-se no auto-amostrador do equipamento. Colocou-se também no auto-amostrador do equipamento, recipientes com as seguintes soluções:

- Soluções de trabalho de 1 µg/l para o Cd e de 20 µg/l para o Pb, feitas a partir da solução de trabalho de 1000 mg/l, contendo respectivamente Cd (Merck, cod. 1.19777, Alemanha) e Pb (Merck, cod. 1.19776, Alemanha); solução de HNO₃ 1 % (v/v); Modificador₁ Cd – H₃PO₄ (Merck, cod. 1.00552, Alemanha) e Modificador₂ Pb – di-hidrogenofosfato de amónio (Merck, cod. 1.01440, Alemanha), para diminuir interferências.

O equipamento foi então programado para injectar, em duplicado, cerca de 20 µl no forno de grafite. Obteve-se a curva de calibração e a partir desta calculou-se a concentração do teor dos metais nas amostras.

Este método foi baseado na NP EN 14084 (2003) [14].

Anexo IX – Determinação dos contaminantes químicos na alga *Gracilaria vermiculophylla* (parte II)

Mercúrio (Hg) por Espectrofotometria de Absorção Atômica sem chama

Esta metodologia, baseada no protocolo da EPA (1998), consistiu na pesagem em balança analítica (Metler Toledo, AG204, Suíça), no máximo 100 mg de amostra, numa barquinha. Acrescentou-se Al_2O_3 (Merck, cod. 1.01076, Alemanha) à amostra.

No equipamento (Leco, AMA 254, Rep. Checa) (Figura) ocorreram as seguintes etapas:

- Decomposição térmica e química da amostra em forno;
- Retenção selectiva do mercúrio numa amálgama de ouro seguida de libertação após aquecimento;
- Arrasto do vapor de mercúrio pelo oxigénio até à célula de absorção do espectrofotómetro;
- Leitura da absorção no comprimento de onda de 253,7 nm.



Figura Aparelho utilizado na determinação do mercúrio (Imagem gentilmente cedida pelo Laboratório Físico-Químico Sensorial do INRB, I.P./L-IPIMAR Lisboa).

Este método foi baseado no EPA (1998) [15].

Anexo X – Resultados obtidos para a determinação dos contaminantes químicos na alga *Gracilaria vermiculophylla*

G. vermiculophylla apresentou uma perda de água de cerca de 30 % pelo que os resultados encontrados para os contaminantes químicos, analisados enquanto fresca, foram convertidos para o valor correspondente em peso seco de alga (mg/kg). Os resultados obtidos relativamente aos teores de Hg, Pb e Cd na alga *G. vermiculophylla* são os seguintes:

Tabela Valores médios obtidos na avaliação dos teores em contaminantes químicos de *G. vermiculophylla* (mg/kg peso seco)

C. vermiculophylla (mg/kg peso seco)										
	Limite regulamentar ⁽¹⁾ (mg/kg peso seco)	Corte das Freiras (Local A)							Torrão Lameiro (Local B)	
		Lote A1					Lote A2		Lote B1	
		Tempo em Aquicultura (semanas)								
		0	4	9	14	20	0	4	0	
Mercúrio	< 0,1		0,012 ±0,00	0,007 ±0,00	0,020 ±7,07 E-05	0,006 ±9,90 E-05	0,008 ±9,08 E-04	0,005 ±2,97 E-04	0,006 ±5,02E-04	
Chumbo	< 5,0		33,50 ±2,53	0,950 ±9,09 E-02	4,360 ±7,07 E-01	0,620 ±1,31 E-01	1,060 ±8,08 E-02	0,900 ±4,04 E-02	1,530 ±2,02E-02	
Cádmio	< 0,5		0,027 ±2,02 E-03	0,032 ±1,01 E-03	0,026 ±1,01 E-03	0,050 ±2,02 E-03	0,016 ±2,02 E-03	0,025 ±3,03 E-03	0,015 ±3,03E-03	

⁽¹⁾ Legislação aplicada ao consumo alimentar de *Gracilaria verrucosa* (Anexos XI e XII). Lote **A1** – 1ª recolha efectuada no local **A**, e amostragens subsequentes na Aquicultura; Lote **A2** - 2ª recolha efectuada no local **A** e amostragens subsequentes na Aquicultura; Lote **B1** -1ª recolha efectuada no local **B**.

Apesar das excelentes propriedades nutricionais que as algas apresentam, não pode ser negligenciada a sua capacidade de acumulação não só de elementos essenciais mas também de certos elementos tóxicos, como os metais contaminantes. É sabido que o tipo de alga afecta o metal detectado bem como o seu nível de captação [3], embora estudos demonstrem que este facto está muito relacionado com o momento da colheita, reflectindo a poluição encontrada no seu habitat natural [16], a fase do crescimento da alga e a época do ano em que as amostras são colhidas [17].

Apesar das oscilações nos resultados reportados, verificou-se para os 3 parâmetros estudados, níveis seguros de contaminação logo após as 4 semanas em produção. Por esta razão, e constatando-se que o ponto “Torrão de Lameiro” se tratava de uma zona menos contaminada em Hg, Pb e Cd (t=0), a avaliação química de *G. vermiculophylla* foi suspensa e se admitiu a sua segurança alimentar, 4 semanas após esta amostra se encontrar em tanque de aquicultura.

Anexo XI – A: Limites toxicológicos químicos et microbiologiques prévus na Legislaço
Franca aplicada ao consumo de algas para alimentaço humana.



Classification	N° du texte
SP 4 445	1705

Direction générale de la santé
Sous-direction de la prévention générale
et de l'environnement
Bureau 1 B

**Avis du conseil supérieur d'hygiène publique de France
(section de l'alimentation)**

NOR : SANP9010533V

(Non paru au Journal officiel)

Lors de ses séances des 14 juin 1988, 13 décembre 1988 et 9 jan-
vier 1990, la section de l'alimentation du conseil supérieur d'hygiène
publique de France a examiné le dossier suivant :

Demande d'autorisation d'algues en alimentation humaine

Elle a émis l'avis suivant :

« - avis favorable à l'emploi en alimentation humaine, comme
condiments ou légumes, des onze algues suivantes :

« - *Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus*, *Himanthalia elon-
gata* (spaghetti de mer, haricot de mer), *Undaria pinnatifida*
(wakamé) ;

« - *Palmeria palmata* (dulce), *Porphyra umbilicalis* (nori),
Chondrus crispus (pioca, lichen), *Gracilaria verrucosa* (ogo-
nori) ;

« - *Ulva sp.* (laitue de mer), *Enteromorpha sp.* (aonori) ;

« - *Spirulina sp.* »

Dans l'attente d'informations complémentaires, l'avis relatif à l'uti-
lisation des lamineuses est différé.

Pour toutes ces algues, les critères toxicologiques sont les suivants
(valeurs exprimées par rapport à la matière sèche) :

« - arsenic minéral : < 3 mg/kg ;

« - cadmium : < 0,5 mg/kg ;

« - mercure : < 0,1 mg/kg ;

« - iode : < 5 000 mg/kg ;

« - plomb : < 5 mg/kg ;

« - étain : < 5 mg/kg »

En ajoutant pour les algues en sachets, les critères microbiolo-
giques suivants :

« - germes aérobies mésophiles : < 10⁶/gramme ;

« - coliformes fécaux : < 10⁶/gramme ;

« - anaérobies sulfitoréducteurs : < 10⁵/gramme ;

« - *Clostridium perfringens* : < 1/gramme »

Il ne doit pas être fait état de propriétés bénéfiques pour la santé.

Anexo XII- A: Aviso emitido pela AFSSA aplicado ao consumo de algas para alimentação humana e limites toxicológicos de iodo permitidos (1/2).



Afssa – Saisine n° 2002-SA-0144

Maisons-Alfort, le 30 décembre 2002

AVIS

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

**de l'Agence française de sécurité alimentaire des aliments
relatif à une demande d'évaluation sur la teneur maximale en iode
acceptable pour les algues alimentaires faisant suite à un message d'alerte
émanant des autorités allemandes concernant le retrait du marché d'algues
séchées d'origine chinoise et contenant 4988 et 5655 mg d'iode par kg de
poids sec**

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 24 mai 2002 par la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes d'une demande d'évaluation sur la teneur maximale en iode acceptable pour les algues alimentaires faisant suite à un message d'alerte émanant des autorités allemandes concernant le retrait du marché d'algues séchées d'origine chinoise et contenant 4988 et 5655 mg d'iode par kg de poids sec.

Après consultation du Comité d'experts spécialisé « Nutrition humaine » le 22 octobre 2002, l'Afssa rend l'avis suivant :

Considérant que la demande fait suite à la présence d'algues, sur le marché allemand, comportant des concentrations en iode de 4988 et 5655 mg par kg de poids sec ; que la législation allemande a fixé à 20 mg d'iode par kg de poids frais la teneur limite autorisée dans les produits alimentaires ;

Considérant que le Conseil supérieur d'hygiène publique de France (CSHPF) a émis, lors de ses réunions des 14 juin et 13 décembre 1988 et du 9 janvier 1990, un avis favorable à l'emploi de douze espèces d'algues en alimentation humaine ; qu'elles sont consignées dans une liste positive ; que les teneurs maximales autorisées en iode ont été fixées à 6000 mg/kg de poids sec pour les laminaires¹ (*Laminaria digitata* et *Laminaria saccharina*) et à 5000 mg/kg de poids sec pour les autres espèces ; qu'ainsi, la demande concerne une confrontation des deux valeurs seuils et du bien-fondé d'un abaissement des seuils français ;

Considérant que des analyses ont été faites sur des échantillons provenant de Bretagne ; que les résultats montrent que :

- Les teneurs en iode des laminaires *Laminaria digitata* et *Laminaria saccharina* peuvent être comprises entre 2000 et 10000 mg/kg de poids sec ; que sur l'étiquetage des produits contenant ces laminaires, des conditions spécifiques d'utilisation recommandent aux adultes de ne pas consommer plus de 30 mg de produit sec par jour et aux enfants de moins de 4 ans, 15 mg par jour ; qu'en outre, leur consommation doit se faire sous forme de condiment ;
- Les gracilaires (*Gracilaria verrucosa*) peuvent contenir jusqu'à 8483 mg d'iode par kg de poids sec ; qu'en revanche, leur consommation est jugée comme très faible ;
- Les autres algues autorisées ont toutes des teneurs inférieures à 2000 mg/kg de poids sec ;

Considérant que l'influence des procédés de transformation agroalimentaires des algues sur les teneurs en iode ainsi que sa biodisponibilité sont peu documentées et mal connues ; qu'en revanche, l'appertisation des produits à base d'algues permet de réduire de deux à trois fois les teneurs en iode des laminaires ;

7-31, avenue
du Général Leclerc
P 19, 94701
Maisons-Alfort cedex
tél 01 49 77 13 50
fax 01 49 77 26 13
www.afssa.fr

REPUBLIQUE
FRANÇAISE

DERNS/Enr.22/Ind.F

¹ avis CSHPF du 9 septembre 1997

Anexo XII - B: Aviso emitido pela AFSSA aplicado ao consumo de algas para alimentação humana e limites toxicológicos de iodo permitidos (2/2).

Afssa – Saisine n° 2002-SA-0144

Considérant que les données de consommation française des algues sont inexistantes ; que la production nationale (262 tonnes d'algues fraîches à usage alimentaire) et les volumes d'importation (42 tonnes de *Porphyra sp.* séchées) sont relativement faibles et laissent à penser que leur consommation est marginale ; que l'impact :

- de l'offre croissante de produits de type sushi, cuisinés essentiellement à partir de *Porphyra sp.*, algue dont la teneur en iode est faible (< 40 mg/kg de poids sec)
- de la consommation de compléments alimentaires à base d'algues
- de la consommation d'autres denrées à base d'algues

est inconnu ;

L'Afssa propose de :

- Maintenir la teneur maximale de 6000 mg d'iode par kg de poids sec pour les lamineuses *Laminaria digitata* et *Laminaria saccharina* ainsi que leurs recommandations d'étiquetage spécifiques,
- Instaurer pour l'étiquetage des produits à base de *Gracilaria verrucosa* des conditions d'utilisation similaires à celles proposées pour les lamineuses,
- Réduire la teneur maximale de 5000 mg d'iode par kg de poids sec à 2000 mg d'iode par kg de poids sec pour les neuf autres algues autorisées en alimentation humaine.

MARTIN HIRSCH

Anexo XIII– Questionário utilizado na análise sensorial do produto.

Amostra nº

Atribua **uma nota ao produto** para os seguintes 4 critérios,
colocando uma cruz no quadrado respectivo:

1 – Desgosto extremamente; **2** – Desgosto muito; **3** – Não gosto;
4 – Desgosto ligeiramente; **5** – Não gosto nem desgosto; **6** – Gosto ligeiramente;
7 – Gosto; **8** – Gosto muito; **9** – Gosto extremamente.

Aspecto										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Odor										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Textura										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Sabor										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	

O que **gostou mais** neste produto?

.....
.....

O que **gostou menos** neste produto?

.....
.....
.....
.....

Gosta de salsichas? SIM ☐ NÃO ☐

Com que frequência consome salsichas?

Muito Raramente ☐ Raramente ☐ Ocasionalmente ☐ Frequentemente ☐

Anexo XIV – Resultados obtidos para a avaliação sensorial (n=50) das três variedades de produto concebido – salsicha de beterraba, de cenoura e de tomate .

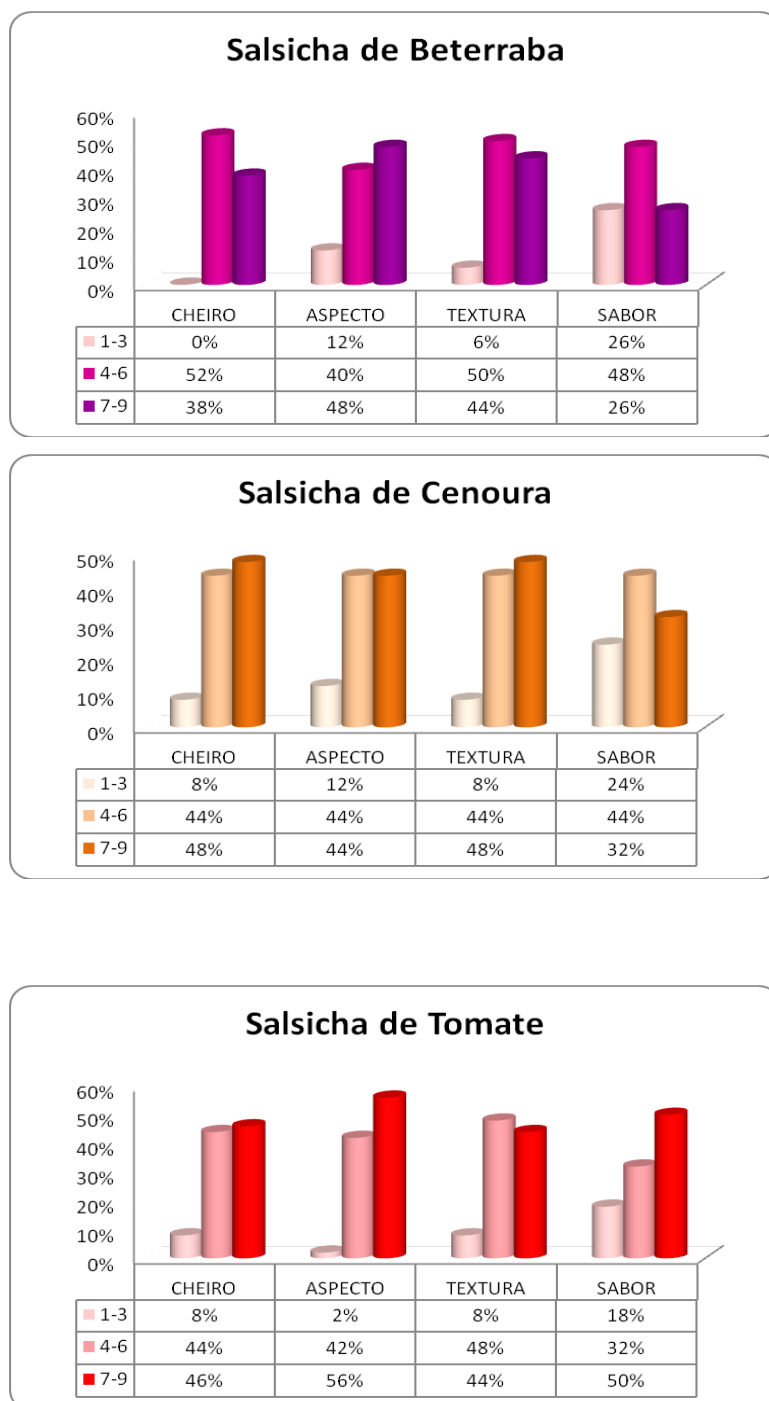


Figura Frequências absolutas da avaliação sensorial realizada às variedades de produto desenvolvidas: [1-3]: “desgosto extremamente - não gosto”; [4-6]: “desgosto ligeiramente - gosto ligeiramente”; [7-9]: “gosto - gosto extremamente”.

Anexo XV– Pesquisa e quantificação dos parâmetros microbiológicos analisados nas amostras de salsicha de beterraba, cenoura e tomate

	Parâmetro microbiológico analisado	n	Referencial Normativo	Meio de cultura	Fabricante e Referência	Técnica utilizada e Inóculo	Diluições decimais	Duplicado	Condições de incubação (Temperatura e Tempo)
Pesquisa e Quantificação	<i>Bacillus cereus</i> presumptivo	5	ISO 7932 (2004)	MRD ⁽¹⁾	Oxoid (Inglaterra) ref. CM0733	Sementeira à superfície por espalhamento 0,1 ml	10 ⁻¹	X	30,0 ± 1 °C 24 – 48h
				Ágar MYP ⁽²⁾	Biorad (Itália) ref. 356-9604		10 ⁻²	X	
							10 ⁻³	X	
	Bactérias anaeróbias sulfito-redutoras	5	NF ISO 15213 (2003)	MRD	Oxoid ref. CM0733	Incorporação 1,0 ml Fervura 80 °C - 20 min.	10 ⁻¹	X	36,0 ± 1 °C 24 – 48h anaerobiose
				Ágar ISA ⁽³⁾	bioMérieux (França) ref. 42603		10 ⁻²	X	
							10 ⁻³	X	
	Enterobacteriáceas	5	ISO 21528-2 (2004)	MRD	Oxoid ref. CM0733	Incorporação 1,0 ml	10 ⁻¹		37,0 ± 1 °C 24h
				Ágar VRBG ⁽⁴⁾	Biorad ref. 356-4584		10 ⁻²		
							10 ⁻³		
	Bactérias mesófilas (30°C)	5	NP 4405 (2002b)	MRD	Oxoid ref. CM0733	Incorporação 1,0 ml	10 ⁻¹	X	30,0 ± 1 °C 72h
				Ágar PCA ⁽⁵⁾	Oxoid ref. CM0325		10 ⁻²	X	
							10 ⁻³	X	
	Fungos e Leveduras	5	NP 3277 (parte 1) (2002a)	MRD	Oxoid ref. CM0733	Incorporação 1,0 ml	10 ⁻¹	X	25,0 ± 1 °C 5 Dias
				Ágar YGC ⁽⁶⁾	Biorad ref. 356-4104		10 ⁻²	X	
							10 ⁻³	X	

⁽¹⁾ MRD – Maximum recovery diluent; ⁽²⁾ Agar MYP- Mannitol egg yolk polymixin agar; ⁽³⁾ ISA – Iron Sulphite Agar; ⁽⁴⁾ VRBG – Violet red blue glucose agar; ⁽⁵⁾ PCA – Plate count agar; ⁽⁶⁾ YGC – Yeast glucose chloramphenicol agar; n = número de unidades analisadas.

Anexo XVI- Pesquisa dos parâmetros microbiológicos analisados nas amostras de salsicha de beterraba, cenoura e tomate

	Parâmetro microbiológico analisado	n	Referência Normativa	Técnica utilizada	Meio de cultura	Fabricante e Referência	Diluições decimais	Condições de incubação (Temperatura e Tempo)
Pesquisa	<i>Salmonella</i> sp.	5	DIN 10121 (2000)	Vidas SLM	BPW ⁽¹⁾	bioMérieux ref. 51881	10 ⁻¹	37,0 ± 1 °C 16-8h
					Caldo MK ⁽²⁾	bioMérieux ref.		37,0 ± 1 °C 6-8h
					Caldo RVS ⁽³⁾	bioMérieux ref.		41,5 ± 1 °C 6-8h
					Caldo M	bioMérieux ref.		41,5 ± 1 °C 16-
					VIDAS SLM	bioMérieux ref.		
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	ISO 11290-1 (1996)	Enriquecimento selectivo	Caldo Semi-Fraser	bioMérieux ref.	10 ⁻¹	30,0 ± 1 °C 24-
					Caldo Fraser	bioMérieux ref.		37,0 ± 1 °C 24h
					Agar Oxford	Biogerm (Portugal) ref. MP020.1082		37,0 ± 1 °C 24h
					Agar Palcam	Biogerm ref. MP020.1084		37,0 ± 1 °C 24h

⁽¹⁾ BPW – Buffer Peptone Water; ⁽²⁾ MK – Caldo Müller Kauffmann; ⁽³⁾ RVS – Caldo Rapaport Vassiliadis Soja; n = número de unidades analisadas.

Anexo XVII- Resultados microbiológicos obtidos no controlo de qualidade de salsicha de beterraba, cenoura e tomate

Os resultados obtidos no controlo microbiológico das três variedades do produto desenvolvido encontram-se apresentados na seguinte Tabela:

Tabela Resultados obtidos para as análises microbiológicas realizadas ao produto

	Resultados obtidos (ufc/g quando não indicado)			Qualidade Satisfatória (ufc/g quando não indicado)	
	Salsicha Beterraba	Salsicha Cenoura	Salsicha Tomate	Valor Guia	Referência
Bactérias mésofilas (30 °C)	$2,3 \times 10^2$	$2,5 \times 10^2$	$1,8 \times 10^2$	$< 10^3$	(1)
Fungos e Leveduras	$2,9 \times 10^1$ $2,1 \times 10^2$	$6,8 \times 10^1$ $3,1 \times 10^2$	$5,3 \times 10^1$ $1,5 \times 10^2$	< 10 Fungos $< 10^2$ Leveduras	(2)
<i>Bacillus cereus</i> presuntivo	$< 1,0 \times 10$	$< 1,0 \times 10$	$< 1,0 \times 10$	$< 10^3$	(1)
Bactérias anaeróbias sulfito-redutoras	$< 1,0 \times 10$	$< 1,0 \times 10$	$< 1,0 \times 10$	< 10	(2)
Enterobacteriaceas	$< 1,0 \times 10$	$< 1,0 \times 10$	$< 1,0 \times 10$	< 100	(1)
<i>Salmonella</i> sp.	Ausente em 25g	Ausente em 25g	Ausente em 25g	Ausente em 25g	(1)
<i>Listeria monocytogenes</i>	Ausente em 25g	Ausente em 25g	Ausente em 25g	Ausente em 25g	(1)

(1) Valores guia do PHLS (2000) para alimentos Categoria 5 [18]; (2) Valores guia do INSA (2005) para alimentos Categoria 1 [19].

A expressão dos resultados microbiológicos obtidos demonstra a ausência, nas amostras analisadas, dos patógenos *Salmonella* sp., *L. monocytogenes* e *B. cereus* e de bactérias anaeróbias sulfito-redutoras e enterobacteriaceas.

Tendo em conta que a AFSSA (Anexos XI e XII) recomenda para o consumo de algas a determinação de coliformes fecais, bactérias anaeróbias sulfito-redutoras e de *C. perfringens*, estes parâmetros foram analisados de uma forma mais abrangente, utilizando os métodos de análise para enterobacteriaceas e bactérias anaeróbias sulfito-redutoras respectivamente, para aumentar assim o espectro das análises microbiológicas. Este controlo pretendeu avaliar o tipo de flora bacteriana contaminante que poderia ser encontrada neste novo produto, à base de legumes, sem recomendações microbiológicas específicas, apesar de reduzir a sensibilidade da aplicação destes métodos laboratoriais.