



Instituto Politécnico
de Castelo Branco
Escola Superior
Agrária

Avaliação das propriedades reológicas das emulsões (margarinas e cremes vegetais) para caracterização do seu risc

Mestrado em Inovação e Qualidade na Produção Alimentar

Joana Catarina Bordalo Monteiro

Orientadores

Maria de Fátima Peres

Helena Maria Batista

Maio de 2014



Avaliação das propriedades reológicas das emulsões (margarinas e cremes vegetais) para caracterização do seu risco

Joana Catarina Bordalo Monteiro

Orientadores

Maria de Fátima Peres

Helena Maria Batista

Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Inovação e Qualidade na Produção Alimentar, realizada sob a orientação científica da Professora Adjunta Maria de Fátima Peres, do Instituto Politécnico de Castelo Branco e da Eng^a Helena Maria Batista da Fima, Produtos Alimentares, SA (Unilever Jerónimo Martins).

Maio de 2014

Composição do júri

Presidente do júri

Doutor, Manuel Vicente de Freitas Martins

Vogais

Mestre, Maria de Fátima Pratas Peres

Professora Adjunta da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco

Engenheira, Helena Maria Batista

Chefe do laboratório da Fima, Produtos Alimentares, SA da Unilever Jerónimo Martins, Lda.

Doutora, Ofélia Maria Serralha dos Anjos

Professora Adjunta da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco

Agradecimentos

A realização deste trabalho contou com o contributo e colaboração de um grupo de pessoas, que deste modo, quero expressar os meus mais sinceros agradecimentos:

Em primeiro lugar aos meus pais por tudo aquilo que hoje sou, pelo que têm feito por mim, pelo apoio incondicional, incentivo e sacrifício durante todo o percurso da minha vida.

À minha prima, tia, tio e avó, por todo o apoio e preocupação.

À Eng^a Helena Batista, minha coordenadora no local de estágio, pelo seu apoio e pela sua disponibilidade.

À Prof. Adjunta Maria de Fátima Peres, minha professora e orientadora interna, pela sua disponibilidade e preocupação para a boa realização da presente tese.

À Empresa Fima, Produtos Alimentares, SA (Unilever Jerónimo Martins) e a todos os seus colaboradores que me acolheram durante o estágio, em particular à Ana Garrido, Ana Gouveia, Marisa Martins e Vitor Procópio.

E por fim, a todos os meus amigos que me deram o seu apoio nesta fase da minha vida.

A todos vós....Um muito obrigada!

Resumo

O presente trabalho decorreu na empresa Fima, Produtos Alimentares, SA (Unilever Jerónimo Martins) e teve como principal objetivo o estudo e a categorização de risco das emulsões nomeadamente margarinas, cremes vegetais para barrar e cozinhar, através de um sistema designado por *MIDAS* (Microbiological Design Assessment System).

Este sistema está interligado a um subsistema designado por *Pelican*, que serve para introduzir a composição dos produtos, assim como, os parâmetros reológicos (tamanho da gota de água, distribuição da gota de água e teor de gordura sólida medido por NMR a 20 °C), bem como do pH, de forma a obter uma avaliação do produto.

Após a obtenção dos resultados da estabilidade dos produtos estudados, foram efetuados Testes a partir dos resultados originais, com a finalidade de perceber o comportamento das emulsões em diferentes situações. Pode observar-se que sempre que se aumenta o tamanho de gota de água ($D_{3,3}$) e a distribuição da mesma (E_{sigma}), a probabilidade do crescimento de microrganismos é maior. Quando se reduzem os valores desses mesmos parâmetros, não ocorre o crescimento microbiano, garantindo-se assim a estabilidade microbiológica do produto.

Palavras - chave

Categoria de Risco; Emulsão; *MIDAS*; Tamanho de gota de água; Teor de gordura sólida

Abstract

The present work was developed at Fima, Produtos Alimentares, SA (Unilever Jerónimo Martins) which had as a main purpose the study and hazard categorization of risk control in emulsions namely in margarine and cooking creams and spreads through a system called *MIDAS* (Microbiological Design Assessment System).

This system is connected to a subsystem called *Pelican* which is intended to introduce the products composition as well as rheological parameters (Water droplet size, distribution of the water droplet and solid fat content measured by NMR at 20 °C) as well as pH value, in order to obtain an evaluation of the product.

After obtaining the results related to the stability of the product under study, some Tests were performed using the original results in order to understand the behavior of the emulsion under different situations. It can be observed that whenever the water droplet size ($D_{3,3}$) and its distribution (“Esigma”) increases, the probability of microbial growth is higher. When the values of these parameters decrease, there is no microbial growth, and consequently the microbiological stability of the product is guaranteed.

Keywords

Emulsion; *Hazard Categorization*; *MIDAS*; Solid Fat Content; Water droplet size.

Índice geral

1. Introdução.....	1
2. Refinação dos óleos e gorduras.....	2
3. Margarinaria.....	7
3.1 Caracterização das emulsões.....	7
3.1.1 Mecanismo de instabilidade das emulsões.....	7
3.1.2 Avaliação das propriedades reológicas das emulsões (margarinas e cremes vegetais)	9
3.2 Processo de fabrico da margarina.....	10
3.3 Principais problemas na produção de margarina.....	12
3.4 Avaliação de margarinas e cremes vegetais por métodos físico - químicos.....	13
3.5 Avaliação de margarinas e cremes vegetais por NMR.....	16
4. MIDAS – Microbiological Design Assessment System.....	16
4.1 Descrição do funcionamento do <i>software</i>	16
4.2 Comportamento dos microrganismos nas emulsões A/O.....	17
4.3 Categorias de risco nas margarinas.....	18
4.4 Classificação das emulsões	19
5. Metodologia.....	19
5.1 Determinações por NMR.....	19
5.1.1 Tamanho da gota de água ($D_{3,3}$).....	19
5.1.2 Determinação do teor de gordura sólida.....	20
5.2 Determinação de pH.....	20
6. Resultados e Discussão.....	20
7. Conclusão.....	51
Referências bibliográficas.....	52
Apêndice.....	55

Índice de figuras

Figura 1 – Diagrama geral da refinaria.....	2
Figura 2 – Processo de neutralização em óleos e gorduras alimentares.....	3
Figura 3 – Processo de descoloração em óleos e gorduras alimentares.....	4
Figura 4 – Processo de desodorização em óleos e gorduras alimentares.....	5
Figura 5 – Reação de hidrogenação.....	6
Figura 6 – Interesterificação química de mistura binária (50/50) de triacilgliceróis simples.....	6
Figura 7 – Diferentes tipos de emulsão.....	7
Figura 8 – Processos que conduzem à instabilidade de uma emulsão.....	8
Figura 9 – Diagrama de processamento da margarina.....	11

Lista de tabelas

Tabela 1 – Descrição dos fatores que conduzem à instabilidade de uma emulsão.....	8
Tabela 2 – Principais fatores que determinam a reologia de uma emulsão.....	10
Tabela 3 – Problemas mais comuns, diretamente relacionados ao processo de produção de margarinas.....	13
Tabela 4 – Classificação dos alimentos segundo as suas faixas de pH.....	14
Tabela 5 – Microrganismos que se poderão desenvolver nas margarinas.....	18
Tabela 6 – Possíveis Categorias de Risco na fase aquosa.....	18
Tabela 7 – Valores médios obtidos para a Amostra A.....	21
Tabela 8 – Resultado do <i>software MIDAS</i> para a Amostra A.....	21
Tabela 9 – Exemplo do <i>software MIDAS</i> para o aumento de pH na Amostra A.....	21
Tabela 10 – Exemplo <i>software MIDAS</i> para o aumento de pH, $D_{3.3}$ e Esigma na Amostra A.....	22
Tabela 11 – Exemplo do <i>software MIDAS</i> para o aumento de pH e $D_{3.3}$ na Amostra A.....	23
Tabela 12 – Valores médios obtidos para a Amostra B.....	24
Tabela 13 – Resultado do <i>software MIDAS</i> para a Amostra B.....	25
Tabela 14 – Exemplo do <i>software MIDAS</i> para o aumento de pH e $D_{3.3}$ para a Amostra B.....	25
Tabela 15 – Exemplo do <i>software MIDAS</i> para o aumento de pH e Esigma e diminuição de $D_{3.3}$ na Amostra B.....	26
Tabela 16 – Exemplo do <i>software MIDAS</i> para o aumento de pH e $D_{3.3}$ na Amostra B.....	27
Tabela 17 – Valores médios obtidos para a Amostra C.....	28
Tabela 18 – Resultado do <i>software MIDAS</i> para a Amostra C.....	29
Tabela 19 – Exemplo do <i>software MIDAS</i> para a diminuição do pH e $D_{3.3}$ na Amostra C.....	29
Tabela 20 – Exemplo do <i>software MIDAS</i> para o aumento do pH na Amostra C.....	30
Tabela 21 – Exemplo do <i>software MIDAS</i> para a diminuição de $D_{3.3}$ na Amostra C.....	31
Tabela 22 – Exemplo do <i>software MIDAS</i> para a diminuição de pH na Amostra C.....	32
Tabela 23 – Valores médios obtidos para a Amostra D.....	33
Tabela 24 – Resultado do <i>software MIDAS</i> para a amostra D.....	34
Tabela 25 – Exemplo do <i>software MIDAS</i> para o aumento de pH na Amostra D.....	34
Tabela 26 – Exemplo do <i>software MIDAS</i> para o aumento de pH, Esigma e $D_{3.3}$ na Amostra D.....	35
Tabela 27 – Valores médios obtidos para a Amostra E.....	36
Tabela 28 – Resultado do <i>software MIDAS</i> para a Amostra E.....	37
Tabela 29 – Exemplo do <i>software MIDAS</i> para o aumento de pH para 6,00 na Amostra E.....	37
Tabela 30 – Exemplo do <i>software MIDAS</i> para o aumento de pH para 7,00 na Amostra E.....	38
Tabela 31 – Exemplo do <i>software MIDAS</i> para o aumento de $D_{3.3}$ e Esigma na Amostra E.....	39
Tabela 32 – Valores médios obtidos para a Amostra F.....	40

Tabela 33 – Resultado do <i>software MIDAS</i> para a Amostra F.....	41
Tabela 34 – Exemplo do <i>software MIDAS</i> para o aumento de pH na Amostra F.....	41
Tabela 35 – Exemplo do <i>software MIDAS</i> para o aumento de pH e $D_{3.3}$ na Amostra F.....	42
Tabela 36 – Exemplo do <i>software MIDAS</i> para o aumento de Esigma mantendo os valores de pH e $D_{3.3}$ do teste anterior na Amostra F.....	43
Tabela 37 – Valores médios obtidos para a Amostra G.....	44
Tabela 38 – Resultado do <i>software MIDAS</i> para a Amostra G.....	45
Tabela 39 – Exemplo do <i>software MIDAS</i> para o aumento de pH na Amostra G.....	45
Tabela 40 – Exemplo do <i>software MIDAS</i> para o aumento de pH, $D_{3.3}$ e Esigma na Amostra G.....	46
Tabela 41 – Valores médios obtidos para a Amostra H.....	47
Tabela 42 – Resultado do <i>software MIDAS</i> para a amostra H.....	48
Tabela 43 – Exemplo do <i>software MIDAS</i> para o aumento de pH e $D_{3.3}$ na Amostra H.....	48
Tabela 44 – Exemplo do <i>software MIDAS</i> para o aumento de pH, $D_{3.3}$ e Esigma na Amostra H.....	49

Lista de abreviaturas, siglas e acrónimos

D_{3.3} – Tamanho de Gota de Água

Emulsão A/O – Emulsão água em óleo

Emulsão A/O/A – Emulsão água em óleo em água

Emulsão C – Emulsão Grosseira

Emulsão F – Emulsão fina

Emulsão M – Emulsão média

Emulsão O/A – Emulsão Óleo em água

Emulsão O/A/O – Emulsão óleo em água em óleo

Esigma – Distribuição da gota de água

HC - *Hazard Categorization* (Categorias de Risco)

HDL – High Density Lipoproteins (lipoproteínas de alta densidade)

IP – Índice de peróxidos

LDL – Low Density Lipoproteins (lipoproteínas de baixa densidade)

MIDAS – Microbiological Design Assessment System

NMR – Nuclear Magnetic Resonance (ressonância magnética nuclear)

PCC – Pontos críticos de controlo

R&D – Research and Development (pesquisa e desenvolvimento)

SFC - Solid Fat Content (teor de gordura sólida)

SFC₂₀ – Teor de gordura sólida medido por NMR a 20 °C

1. Introdução

Na segunda metade do século XIX, em plena Revolução Industrial, o Imperador Napoleão III propôs um concurso com o objetivo de encontrar um produto que substituísse a manteiga. O farmacêutico francês Mège – Mouriés, em 1869, criou então a margarina, uma emulsão estabilizada de gorduras alimentares (O'Brien, 2009). A obtenção deste produto consistia em submeter uma mistura de oleína de sebo bovino com aproximadamente 10% de leite, um pouco de água e 0,4% de tecido de úbere de vaca, a um processo de arrefecimento e batadura, semelhante ao processo de produção de manteiga (Robinson, 2005). A invenção foi logo adotada industrialmente, favorecendo o aumento do consumo a nível mundial. Na década de 1970 o consumo de margarina ultrapassou o consumo de manteiga, sendo o máximo de produção alcançado no início da década de 1990, com a produção anual de 9,5 milhões de toneladas (Robinson, 2005).

Desde a sua invenção, a margarina tem passado por sucessivas mudanças tanto no seu processo de fabrico como na sua formulação, de forma a obter melhorias no seu sabor, aroma, estabilidade durante o armazenamento e nas suas propriedades físicas, de modo a satisfazer as novas exigências nutricionais e dietéticas (Bockism, 1998).

Segundo a Portaria nº 1548/2002 de 26 de Dezembro entende-se por margarina, o produto obtido a partir de gorduras e óleos vegetais e ou animais, com um teor mínimo de matérias gordas de 80% e inferior a 90%, com consistências variáveis consoante o fim a que se destinam.

A partir do método interno da Unilever, qualquer margarina que seja produzida na Fima, Produtos Alimentares, SA (Unilever Jerónimo Martins) é de origem vegetal, sendo por isso, constituída predominantemente por ácidos gordos insaturados.

O grupo Jerónimo Martins iniciou a sua atividade na indústria no início dos anos 40, tendo como marco a inauguração da Fábrica Fima (Fábrica Imperial de Margarinas, Lda.) em 1944, dedicada à produção de margarinas e óleos alimentares. Em 1949, estabeleceu-se uma *joint-venture* com a multinacional Anglo-Holandesa Unilever, cujos produtos eram comercializados por Jerónimo Martins.

Em 2007 a Fima bem como a IgloOlá e Lever fundiram-se para formar a Unilever Jerónimo Martins, Lda. Finalmente em 2009, a Unilever Jerónimo Martins autonomizou o negócio de azeites e óleos vegetais, fato que originou a criação da Gallo Worldwide (Unilever, 2014).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar margarinas e cremes vegetais por métodos físico-químicos e reológicos e após isso, efetuar uma pré-aprovação dos produtos segundo o ponto de vista microbiológico, químico e reológico através do *software MIDAS*. Este *software* permite obter uma classificação de risco, cálculo do fator de crescimento e classificação da vulnerabilidade do produto a microrganismos, com base nos detalhes da formulação do produto.

2. Refinação dos óleos e gorduras

Segundo Moretto & Fett (1998), a refinação consiste num conjunto de processos que visam transformar os óleos brutos em óleos comestíveis. Estes processos têm por finalidade a melhoria da aparência, odor e sabor do óleo, o que ocorre devido à remoção dos seguintes componentes do óleo bruto:

- Substâncias coloidais, proteínas, fosfoacilgliceróis e produtos da sua decomposição;
- Ácidos gordos livres e seus sais, ácidos gordos oxidados, latonas, acetais e polímeros;
- Pigmentos tais como: clorofila, xantofila e carotenóides;
- Substâncias voláteis tais como: hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, cetonas e ésteres de baixo peso molecular;
- Substâncias inorgânicas tais como: sais de cálcio, silicatos, fosfatos;
- Humidade.

O fluxograma (Figura 1) ilustra a sequência das principais operações unitárias do processo de refinação.

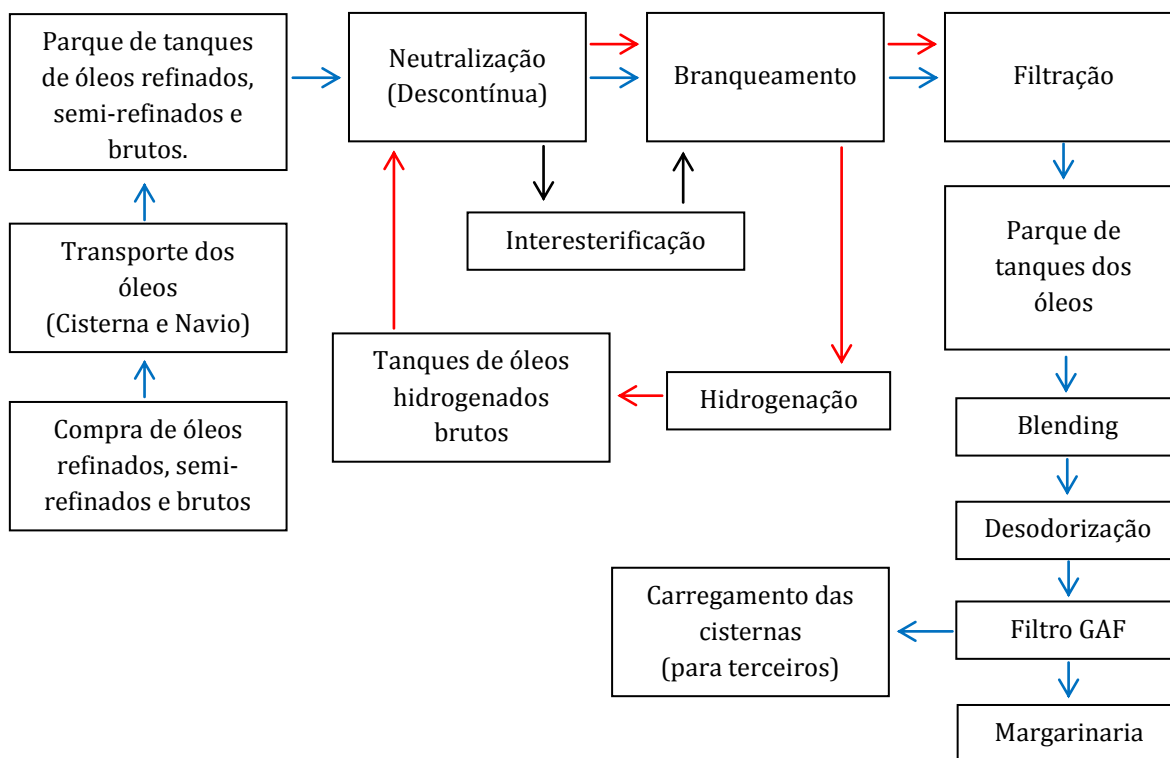


Figura 1 - Diagrama geral da refinaria de óleos e gorduras (Adaptado por: Custódio, 2009).

– Neutralização

A Neutralização visa, fundamentalmente, reduzir acidez livre dos óleos e certas impurezas. Inicialmente procede-se à adição de ácido fosfórico, para eliminar os fosfolípidos. Posteriormente eliminam-se os ácidos gordos livres (resultante da degradação hidrolítica) sob a forma de sabão, mediante a adição de hidróxido de sódio (com posterior separação). Para efetuar a neutralização, o óleo pode ser aquecido com vapor (até cerca de 80 °C), adicionando-se hidróxido de sódio em função da acidez do óleo. Após esta reação, o óleo é separado da pasta de neutralização por centrifugação (Lidon & Silvestre, 2007). Este processo pode ser observado na Figura 2.

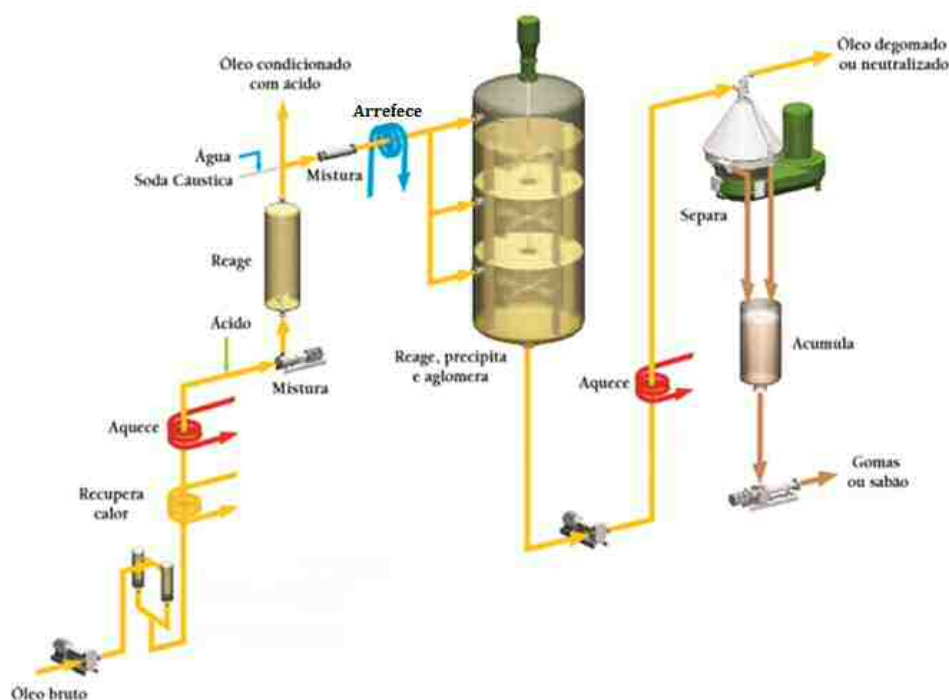


Figura 2 - Processo de neutralização em óleos e gorduras alimentares (www.crowniron.com).

– Branqueamento

Esta operação consiste no tratamento de óleo com terras ativadas (mistura de carvão ativado e argila natural) de forma a adsorver pigmentos que conferem cor ao óleo (Ramalho & Suarez, 2012). Neste tratamento eliminam-se produtos de oxidação (peróxidos, aldeídos e cetonas), pigmentos (carotenos e clorofilas) e resíduos de sabão. A quantidade de terra a utilizar depende do tipo de óleo e da cor final pretendida que se determina na escala (*Lovibond*) em amarelo e vermelho. O resíduo sólido formado durante este processo (terra de branqueamento com os produtos adsorvidos) é separado do óleo por filtração (Lidon & Silvestre, 2007).

Pequenas quantidades de água remanescentes das etapas posteriores podem interferir no processo de branqueamento, pois podem “bloquear” a superfície da terra de descoloração e reduzir a sua eficiência. Assim, o óleo desodorizado deve passar por uma etapa de secagem antes de ser submetido ao processo de clarificação. Para tal, o óleo permanece durante 30 minutos aquecido e sob baixa pressão (vácuo). Em seguida, este é adicionado às terras ativadas, deixando-se a mistura durante 20 a 30 minutos sob agitação sendo posteriormente filtrada num filtro-prensa (Ramalho & Suarez, 2012).

O presente processo encontra-se representado na Figura 3.

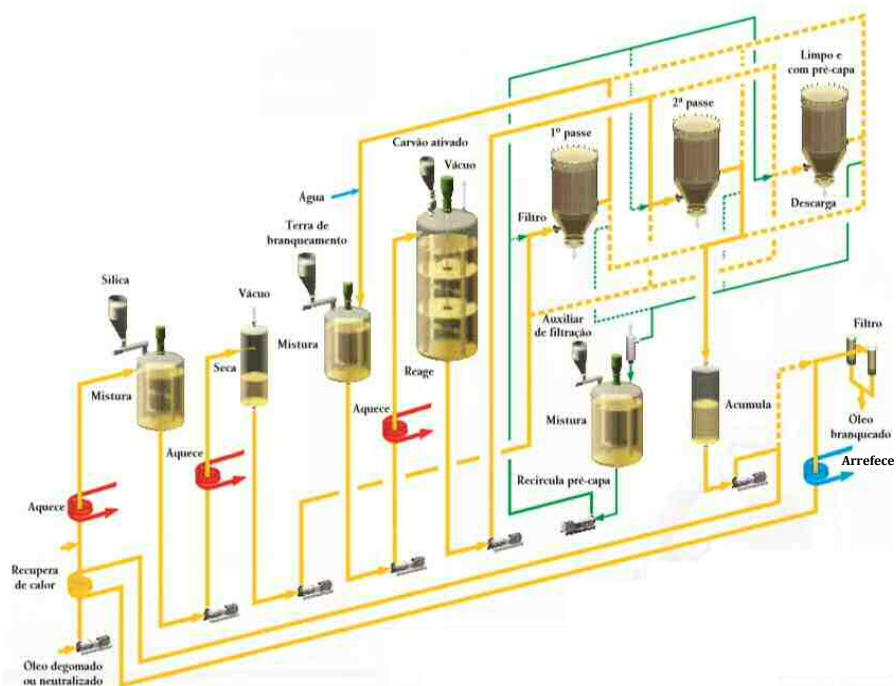


Figura 3 - Processo de descoloração em óleos e gorduras alimentares (www.crowniron.com).

– Desodorização

A desodorização consiste na remoção das substâncias voláteis que conferem odor e sabor desagradável ao óleo. Esta operação usualmente realiza-se a 220-230 °C, numa torre de destilação sob vácuo, podendo o aquecimento do óleo efetuar-se com vapor indireto. Introduzem-se vários pontos de azoto ou vapor de água, que circulam em contra corrente com o óleo, para arrastar todos os componentes voláteis indesejáveis. Nesta etapa o óleo é arrefecido e filtrado, para eventual remoção de impurezas que persistam, sendo depois armazenado em tanques, para fabrico de margarina (Lidon & Silvestre, 2007).

Este processo encontra-se representado na Figura 4.

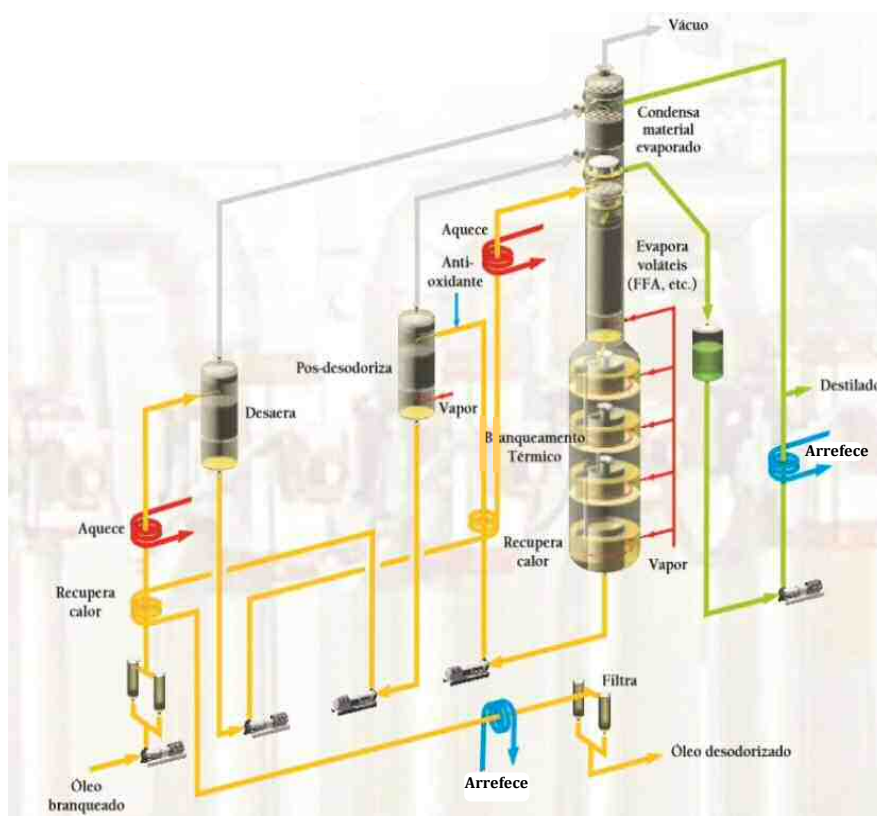


Figura 4 - Processo de desodorização em óleos e gorduras alimentares (www.crowniron.com).

Como se pode observar no “Diagrama geral da refinaria” (Figura 1), quando necessário os óleos também podem sofrer processos de hidrogenação (setas vermelhas) ou de inesterificação (setas pretas), com o objetivo de melhorar a estabilidade da mistura dos óleos e assegurar as características da margarina.

– Hidrogenação

A hidrogenação dos óleos é um processo unitário no qual um hidrogênio é adicionado à dupla ligação carbono – carbono dos ácidos gordos (figura 5), na presença de catalisadores, ocorrendo a modificação da gordura vegetal hidrogenada do estado líquido para o estado sólido ou semi-sólido, resultando numa maior estabilidade oxidativa a fim de prolongar a vida de prateleira do produto embalado (McDonals & Mossoba, 1995; Torres, 2002).

Para a estabilização dos óleos, a hidrogenação é feita de forma parcial, mantendo um determinado grau de insaturação no produto final, para que a sua fluidez não seja comprometida e continue líquido à temperatura ambiente. No caso da produção de gorduras vegetais hidrogenadas, a hidrogenação é efetuada de forma quase completa (Pinho & Suarez, 2013).

O processo industrial de hidrogenação de óleos e gorduras envolve a reação do hidrogênio com o óleo a alta temperatura e pressão na presença de um catalisador de níquel, que é removido do óleo após o processo ser concluído. A hidrogenação ocorre a temperaturas entre 150-220 °C a 15 atm de hidrogênio (Pinho & Suarez, 2013).

A maior consequência deste processo consiste na alteração da estrutura química dos ácidos gordos de *cis* para *trans*. Estes ácidos gordos são muito prejudiciais para a saúde, uma vez que fazem aumentar os níveis sanguíneos de colesterol LDL (“mau colesterol”) e triacilgliceróis e diminuem os de

colesterol HDL (“bom colesterol”), estando portanto associados a uma maior incidência de doenças cardiovasculares (Candeias et al., 2005).

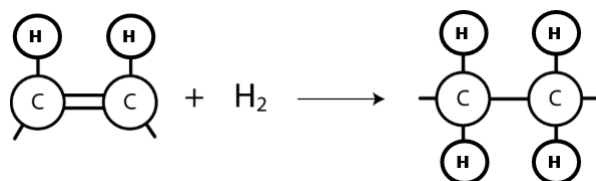


Figura 5 - Reação de hidrogenação

– Interesterificação

A interesterificação promove a mudança na distribuição dos ácidos gordos nos triacilgliceróis, afetando a natureza física e o comportamento dos lípidos. A interesterificação catalisada por via química ou por lipases é utilizada na indústria de óleos e gorduras para a fabricação de margarinas. (Gioielli, 1998; Shahidi, 2005).

Segundo Ribeiro et al. (2007) este processo pode ser aplicado por diversas razões:

- Para influenciar o comportamento de fusão, fornecendo consistência desejada em temperaturas ambiente e de refrigeração;
- Para melhorar ou modificar o comportamento cristalino, de forma a facilitar os processos de produção;
- Para diminuir a tendência de recristalização durante a vida útil do produto.

Ao contrário do que ocorre na hidrogenação, a interesterificação não promove a isomerização dos ácidos gordos *cis* para *trans*, pois os ácidos gordos não são modificados, mas sim redistribuídos nas ligações éster do glicerol, criando novas estruturas. Desta forma, a interesterificação é uma alternativa à hidrogenação parcial para obter produtos livres de ácidos gordos *trans*, com aplicação em margarinas (Gioielli et al., 2006).

Na interesterificação os óleos e gorduras, isentos de humidade, são aquecidos e o catalisador é adicionado em proporções apropriadas, de forma a ocorrer a sua dispersão completa no óleo. A reação é conduzida por intervalo de tempo pré-determinado e finalizada mediante a adição de água, que promove a inativação do catalisador. Alguns dos fatores que podem influenciar a reação incluem a intensidade de agitação, o tempo, a temperatura e o tamanho de partícula do catalisador.

Trata-se de um método de modificação da estrutura glicéridica dos lípidos através da quebra de um triacilglicerol específico com remoção de um ácido gordo, substituindo por outro ácido gordo, até à obtenção do equilíbrio (randomização), como ilustrado na Figura 6 (Akoh, 1998; Ribeiro et al., 2007).

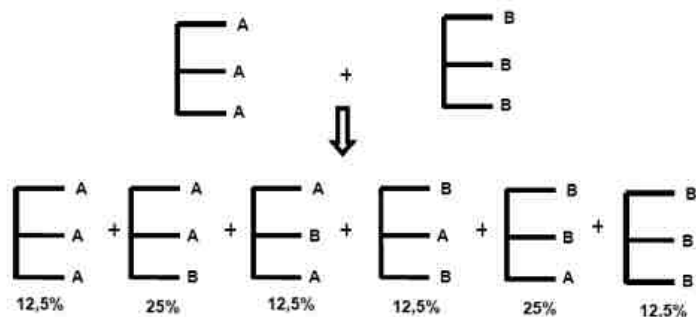


Figura 6 - Interesterificação química de mistura binária (50/50) de triacilgliceróis simples.

3. Margarinaria

3.1 Caracterização das emulsões

As emulsões são dispersões coloidais formadas por uma fase dividida designada de interna, dispersa ou descontínua, e por uma fase que rodeia as gotículas, designada de externa, dispersante ou contínua. Para além destes dois componentes existe um terceiro designado de agente emulsivo, o qual contribui para tornar a emulsão estável, pois interpõe-se entre a fase dispersa e dispersante, retardando assim a sua separação, e que constitui a interfase. Desta forma, trata-se de um sistema termodinamicamente instável sendo necessário um considerável aporte de energia para obtê-las (geralmente energia mecânica) (Hasenhuettl & Hartel, 2008).

De acordo com a hidrofília ou lipofília da fase dispersante, estes sistemas classificam-se em óleo em água (O/A) ou água em óleo (A/O). É também possível preparar emulsões múltiplas do tipo água em óleo em água A/O/A ou óleo em água em óleo O/A/O, tal como podemos observar na figura 7 (Voda & Van Duynhoven, 2009).

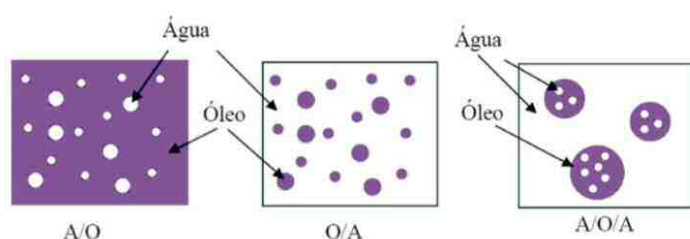


Figura 7 - Diferentes tipos de emulsões. Adaptado de (Salager, 1999).

A margarina e o creme vegetal, são emulsões contínuas do tipo água em óleo (A/O), resultantes da adição de uma fase aquosa em uma fase gorda sob agitação. A fase gorda pode conter óleos hidrogenados ou não hidrogenados ou ainda a mistura de ambos, os quais determinam as propriedades do produto final (Rocamora et al., 2002).

3.1.1 Mecanismos de instabilidade das emulsões

A estabilidade das emulsões constitui o seu ponto mais crítico. Do ponto de vista termodinâmico, só se considera uma emulsão estável no caso do número e do tamanho das gotículas da fase interna, por unidade de volume de fase contínua se mantiverem constantes ao longo do tempo. Isso indicaria que não se produzem modificações no valor energético do sistema nem na sua área interfacial (Khan et al., 2006).

Segundo Jato (1997), existem vários processos físicos, que contribuem para o fim da estabilidade de uma emulsão, normalmente a cremação, a floculação, a sedimentação e a coalescência das gotículas. De seguida, é apresentado um esquema que caracteriza esses processos de instabilidade (Figura 8).

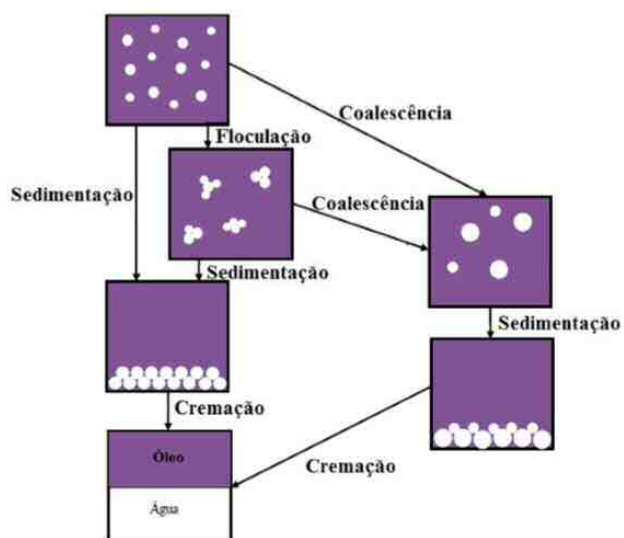


Figura 8 - Processos que conduzem à instabilidade de uma emulsão (Jato, 1997).

Na Tabela 1, encontram-se descritos os processos físicos, químicos e microbiológicos que podem causar a instabilidade de uma emulsão.

Tabela 1 - Descrição dos fatores que conduzem à instabilidade de uma emulsão (Jato, 1997).

Tipo de Instabilidade	Processo	Características
Instabilidade Física	Coalescência	<ul style="list-style-type: none"> - Envolve a rotura do filme interfacial; - Ocorre quando a tensão interfacial diminui na superfície da separação de fases, provocando agregação das partículas; - Uma nova agitação é incapaz de voltar a dispersar as fases uma na outra, o que só é possível se se adicionar à mistura mais agente emulsivo; - O ritmo de coalescência depende principalmente das características físicas da película formada pelo emulgente; - Para evitar este processo é necessário construir uma capa interfacial mais rígida através da utilização de tensoativos.
	Flocculação	<ul style="list-style-type: none"> - Processo de desestabilização de uma emulsão, relacionado com a união das gotículas da fase dispersa de forma a originar agregados; - Este fenómeno é influenciado pelas alterações da superfície dos glóbulos emulsionados; - É um processo teoricamente reversível por agitação.

Tabela 1 - Descrição dos fatores que conduzem à instabilidade de uma emulsão (Jato, 1997) (continuação).

Instabilidade Física	Cremação	<ul style="list-style-type: none"> - Tendência de formação de creme após repouso da emulsão; - Fenómeno conseqüente da diferença de densidade entre as fases que constituem a emulsão; - Trata-se de um processo de sedimentação; - Se a densidade das gotículas é superior à da fase externa estas terão a tendência de sedimentar na emulsão, mas se a densidade das gotículas for inferior estas irão agrupar-se na parte superior da emulsão; - A ocorrência de cremação não implica necessariamente a coalescência nem a floculação das gotículas; - É um processo reversível, podendo ser resolvida mediante a agitação.
Instabilidade Química		<ul style="list-style-type: none"> - Podem ocorrer reações oxidativas, provocando rancificação; - Os produtos de degradação têm muitas vezes um odor desagradável; - Para evitar o ranço podem-se utilizar: <ul style="list-style-type: none"> • Conservantes de ação anti - microbiana; • Agentes redutores; • Anti - oxidantes. - A importância da natureza química dos constituintes de uma emulsão deve ser entendida antes da sua seleção para ser incluída numa dada preparação.
Instabilidade Microbiológica		<ul style="list-style-type: none"> - Existem muitos fungos e bactérias que podem contaminar a fase aquosa, já que conseguem proliferar à temperatura ambiente, num intervalo amplo de pH; - A contaminação microbiológica manifesta-se em: <ul style="list-style-type: none"> • Mudanças de pH; • Odor; • Cor; • Hidrólise das gorduras.

3.1.2 Avaliação das propriedades reológicas das emulsões (margarinas e cremes vegetais)

A reologia é a ciência que estuda o fluxo e a deformação de sólidos e líquidos, sob a influência de forças mecânicas (Ibarz & Barbosa – Cánovas, 2005).

O conhecimento das propriedades reológicas das emulsões é de extrema importância já que a maioria dos atributos sensoriais e o tempo de vida dos produtos estão muitas vezes relacionados com o seu comportamento reológico (Bastos, 2013).

As emulsões alimentares exibem uma vasta gama de diferentes propriedades reológicas, variando de líquidos de baixa viscosidade a sólidos bastante rígidos. O comportamento reológico de um alimento particular depende do tipo e concentração de ingredientes que contém, bem como as condições de processamento e armazenamento (McClements, 1999).

Segundo McClements (1999) os principais fatores que determinam a reologia de uma emulsão encontram-se representados na Tabela 2.

Tabela 2 - Principais fatores que determinam a reologia de uma emulsão.

Fatores	Caraterísticas
Fração de volume da fase dispersa	<ul style="list-style-type: none"> - A viscosidade de uma emulsão aumenta com a percentagem de volume da fase dispersa; - Acima de uma fração importante do volume da fase dispersa, as gotículas encontram-se tão próximas que conferem à emulsão propriedades semelhantes a um gel.
Reologia dos componentes das fases	<ul style="list-style-type: none"> - A viscosidade de uma emulsão é diretamente proporcional à viscosidade da fase contínua e assim qualquer alteração nas propriedades reológicas da fase contínua tem uma influência correspondente sobre a reologia de toda a emulsão. - A reologia da fase dispersa tem apenas uma pequena influência sobre a reologia de emulsões alimentares porque, as gotículas são cobertas com uma membrana relativamente viscoelástica, o que significa que tem propriedades semelhantes a esferas rígidas.

Segundo Shahidi (2005) as características reológicas da margarina são expressas a partir da:

- Consistência;
- Textura;
- Plasticidade;
- Dureza;
- Estrutura;
- Barrabilidade.

Estas características encontram-se relacionadas com a variabilidade de diversos fatores, tais como (Shahidi, 2005):

- Temperatura;
- Concentração da fase dispersa;
- Tamanho dos cristais;
- Distribuição dos cristais;
- Formação dos cristais;
- Forças das interpartículas do tipo Van der Waals;
- Tratamento mecânico.

3.2 Processo de fabrico da margarina

As margarinas são fabricadas a partir de misturas de diferentes tipos de óleos, os quais, a empresa recebe refinados ou em bruto. Quando recebe o óleo bruto a empresa efetua a sua refinação. As etapas seguintes constituem na preparação da fase gorda e da fase aquosa, a preparação da emulsão, a cristalização, o embalamento e o armazenamento, tal como podemos observar na Figura 9.

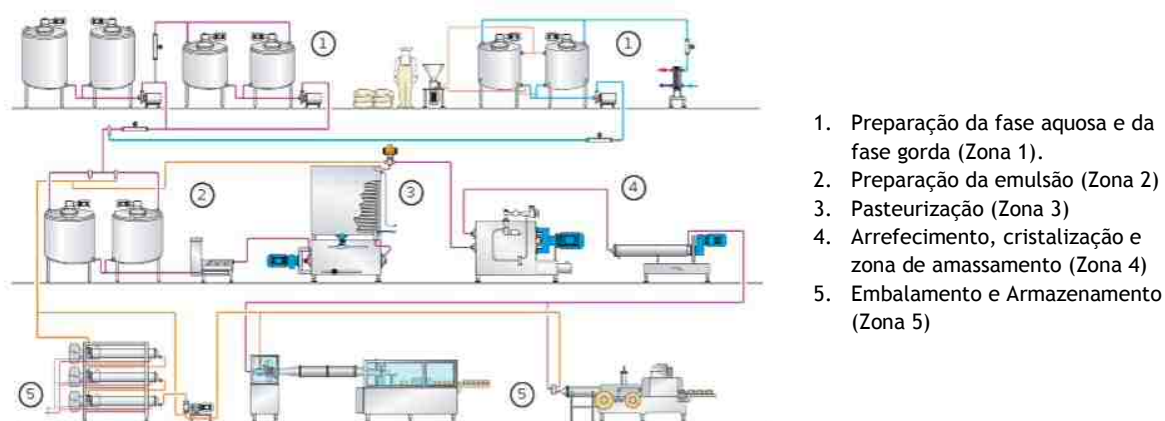


Figura 9 - Diagrama de processamento da margarina (SPX, 2012).

– Preparação da fase aquosa e da fase gorda (Zona 1)

A fase aquosa difere dependendo do tipo de margarina, influenciando as características do produto final. Consiste principalmente de água na qual os ingredientes hidrossolúveis, tais como sal, conservantes, proteínas do leite, hidrocolóides e aromas são dissolvidos. O sal além de melhorar o sabor também previne o crescimento de microrganismos e em margarinas destinadas à fritura exerce a função de agente antissalpicante. A sua dosagem varia normalmente de 0,2 a 2,5%. O ácido cítrico é usado para reduzir o pH e também como conservante. Os benzoatos e sorbatos são mais ativos a pH 4,5, também são utilizados como conservantes em margarinas. O leite e os seus derivados têm efeito emulsificante em emulsões do tipo óleo em água, portanto é desestabilizante para emulsões do tipo água em óleo, como as margarinas. No entanto, melhora a libertação de aromas e sabor.

A fase gorda é composta basicamente, de todos os componentes lipossolúveis da fórmula do produto, sendo principalmente uma mistura de óleos, gorduras, emulsionantes, aromatizantes corantes e vitaminas (Pedersen, 1994).

Os óleos e gorduras vegetais utilizados na Fima, produtos alimentares, SA (Unilever Jerónimo Martins) são, os óleos de soja, girassol, colza, linhaça, gordura de palma e palmiste.

Ao escolherem-se os óleos e gorduras vegetais, deve-se atender às propriedades desejadas para o produto final: o ponto de fusão, a consistência, a plasticidade e a composição em ácidos gordos que vai condicionar a resistência à oxidação (Fair, 1996).

– Preparação da emulsão (Zona 2)

Aos óleos e gorduras provenientes da refinaria e que constituem a fase gorda, são adicionados os emulsionantes e os outros ingredientes lipossolúveis minoritários. Quando todos os ingredientes da fase lipídica foram misturados adequadamente, a fase aquosa é adicionada e é criada a emulsão, sob agitação intensa e controlada (SPX, 2012).

– Pasteurização (Zona 3)

A emulsão é bombeada continuamente e passa através de um permutador de calor, para que decorra o processo de pasteurização, antes da entrada na linha de cristalização. O processo de pasteurização decorre a 75-85 °C durante 16 segundos e apresenta várias vantagens:

- Assegura a inibição do crescimento microbiano, melhorando a estabilidade microbiológica da emulsão;

- Assegura que a emulsão chegue à linha de cristalização a temperatura constante, permitindo assim texturas de produto constantes.
- Ao bombear a emulsão através de uma bomba de alta pressão a uma temperatura 5-10 °C mais elevada que o ponto de fusão da fase lipídica, previne-se também a ocorrência de uma emulsão parcialmente cristalizada, quando esta chega ao equipamento de cristalização (SPX, 2012).

– **Arrefecimento, cristalização e zona de amassamento (Zona 4)**

Utilizando-se uma bomba de alta pressão, a emulsão aquecida é bombeada para permutadores de calor de superfície raspada onde é submetida a um arrefecimento acelerado dando início à cristalização nas paredes do tubo, sendo imediatamente raspada pelas lâminas do rotor e vigorosamente amassada (Pedersen, 1994).

A margarina arrefecida sai dos permutadores em estado semilíquido e com alta viscosidade (Bockisch, 1998). A cristalização pode ocorrer em permutadores de calor estático (sem trabalho mecânico, e neste caso, o produto fica mais firme, sendo utilizado para margarinas duras) ou com agitação (sendo o produto trabalhado de forma mecânica). A cristalização sob agitação evita que a estrutura cristalina cresça, formando-se assim uma rede firme, e conseqüentemente, obtendo-se um produto com maior plasticidade (margarinas cremosas) (Lidon & Silvestre, 2007)

– **Embalamento e Armazenamento (Zona 5)**

O principal objetivo da embalagem de um produto é conferir uma ótima proteção ao produto durante o transporte, vida de prateleira e uso, isto inclui proteção mecânica, contra luz, oxigénio, evaporação, entre outros (Bockisch, 1998).

Existem dois tipos básicos de embaladoras: uma forma uma barra num molde, e coloca-se sobre um papel laminado previamente cortado (formato de tablete) e a outra injeta a margarina em embalagens pré - formadas. A margarina em bloco, revestida a papel de alumínio, é embalada a 20-22 °C aproximadamente. A margarina em pasta é embalada com uma temperatura ligeiramente inferior. As embalagens, pacotes de alumínio, ou caixas de plástico, são geralmente introduzidas em caixas de cartão canelado e colocadas em paletes, sendo armazenadas em câmaras frigoríficas (5-10 °C), até à sua distribuição (Lidon & Silvestre, 2007).

3.3 Principais problemas na produção de margarina

A formulação e o controlo de qualidade de margarinas são baseados principalmente nas inter - relações entre as propriedades específicas na composição da mistura de óleos e gorduras com os restantes ingrediente e secundariamente dos efeitos que o processo em si causa nesse conjunto (Wiedermann, 1978).

Com base em Wassel (2005), os problemas mais comuns, diretamente relacionados com a produção de margarinas encontra-se descrito nas Tabelas 3.

Tabela 3 - Problemas mais comuns, diretamente relacionados com a produção de margarinas.

Problemas	Consequências
Cristalização/plastificação excessiva	Brilho excessivo; Excessiva cremosidade; Aspeto seboso/oleoso.
Cristalização/plastificação deficiente	Baixa cremosidade/barrabilidade; Aspeto quebradiço; Presença de grumos; Salpicamento excessivo em margarinas de fritura; Pouca plasticidade em margarinas para folhados.
Excesso de temperatura no tanque de emulsão	Separação de água quando espalhada.
Adição muito rápida da fase aquosa durante a emulsificação e ou agitação insuficiente no tanque de emulsão	Instabilidade na emulsão com separação de água.
Higienização não adequada de equipamentos	Contaminação microbiológica.
Flutuação na temperatura de armazenamento do processo acabado	Quebra de emulsão.

Na Fima, Produtos Alimentares, SA (Unilever Jerónimo Martins), os defeitos nas margarinas e na sua produção referidos na Tabela 3 encontram-se controlados através de análises periódicas.

3.4 Avaliação de margarinas e cremes vegetais por métodos físico - químicos

De forma a garantir o controlo, a qualidade e a segurança no produto final, são efetuadas as seguintes análises diariamente ou periodicamente no laboratório da Fima, Produtos Alimentares, SA (Unilever Jerónimo Martins).

– Índice de Peróxido

O índice de peróxido (IP) é um método clássico e sensível na determinação de hidroperóxidos, produtos primários da oxidação. A presença destes compostos é um indício da deterioração das amostras de óleos e gorduras (Hammond et al., 2005; White, 2000). Portanto, o índice de peróxido é um indicador do estágio inicial de alterações oxidativas.

Teoricamente, um óleo recém-desodorizado deve apresentar um IP de 0,0 mEq/Kg de óleo, embora quantidades mínimas de peróxidos comecem a formar-se num óleo quase imediatamente após a desodorização (Farhoosh et al, 2009).

Utiliza-se um método iodométrico baseado na medida do iodo (I_2) produzido por oxidação a partir do iodeto de potássio (KI) pelos hidroperóxidos presentes no óleo; o iodo produzido é titulado com o

tiossulfato de sódio, em presença de amido como indicador. O índice de peróxido é geralmente expresso em termos de miliequivalentes de oxigénio ativo por quilograma do óleo (White, 2000; Moretto et al., 2002).

Segundo a portaria nº 1548/2002 de 26 de Dezembro é permitido um máximo de 10 (expresso em miliequivalentes de oxigénio ativo por quilograma de matéria gorda) em margarina.

– **Percentagem de Sal**

O sal desempenha um papel importante, em termos de propriedades sensoriais pois confere sabor aos alimentos, estabiliza a cor e protege do crescimento microbiano.

A percentagem de sal é determinada por titulação direta de nitrato de prata 0,1N usando o cromato de potássio (10%) como indicador (método de Mohr). Esta determinação é efetuada na fase gorda das margarinas e cremes vegetais.

– **pH**

O pH é uma grandeza que expressa a intensidade da acidez ou da basicidade de um determinado meio, sendo determinado por potenciometria na fase aquosa das margarinas e cremes vegetais.

Trata-se de um fator de importância fundamental na limitação dos tipos de microrganismos capazes de se desenvolverem no alimento. Tal é a sua influência que foi proposta uma classificação prática dos alimentos em função do pH, dividindo-os em três grupos, tal como podemos observar na Tabela 4 (Gava et al., 2008).

Tabela 4 - Classificação dos alimentos segundo as suas faixas de pH (Gava et al., 2008).

Alimentos	Faixa de pH	Desenvolvimento de microrganismos
Pouco Ácidos	>4,5	Variada: Maioria das bactérias (incluindo as patogénicas); Bolores e leveduras.
Ácidos	4,0-4,5	Restrita para algumas bactérias. Condições ótimas para bolores e leveduras.
Muito Ácidos	<4,0	Bastante restrita: Bactérias lácticas e acéticas; Bolores e leveduras.

– **Índice de Acidez**

O índice de acidez pode ser definido como a quantidade (mg) de hidróxido de potássio necessária para neutralizar os ácidos gordos livres de 1g de amostra de óleo em análise, também podendo ser expresso em ml de solução normal (v/m) ou em g de ácido oleico (m/m) (AOCS, 2004).

O índice de acidez revela o estado de conservação do óleo, visto que a decomposição dos acilgliceróis é acelerada pelo aquecimento e pela luz, dando origem à designada rancidez hidrolítica. A acidez livre de uma gordura não é uma constante ou característica, mas é uma variável relacionada com a natureza, qualidade da matéria – prima, grau de pureza da gordura, com o processamento e, principalmente, com as condições de conservação do óleo (Farhoosh et al., 2009).

Segundo a portaria nº 1548/2002 de 26 de Dezembro é permitido um máximo de 1,3% (na matéria gorda) em margarina.

– **Ponto de Fusão**

O ponto de fusão consiste na temperatura à qual uma substância funde, ou seja, passa do estado sólido ao estado líquido. Este parâmetro é determinado em gorduras simples e composições de óleos e gorduras.

As gorduras, os óleos e os seus derivados, são composições heterogêneas não apresentando pontos de fusão constantes como os compostos homogêneos, sendo assim, existe uma ampla variedade de pontos de fusão que podem ser observados (Hasenhuettl & Hartel, 2008).

Este parâmetro é determinado pelo método do tubo capilar fechado, imerso em água sob agitação e aquecimento.

– **Índice de Refração**

Os óleos e as gorduras possuem índices de refração diferentes e de acordo com a sua natureza, desviam com maior ou menor intensidade os raios luminosos que os atravessam. O índice de refração tanto para óleos como para as gorduras é indicado à temperatura de 40 °C. O índice de refração de uma gordura aumenta com o comprimento da cadeia hidrocarbonada e com o grau de insaturação dos ácidos gordos constituintes dos triacilgliceróis (Moretto et al., 2002).

– **Humidade**

A humidade representa para os óleos e gorduras, um dos parâmetros de controlo mais importante, já que é conhecido que a estabilidade dos alimentos diminui com o aumento do teor da humidade. Os métodos utilizados para a determinação deste parâmetro são o gravimétrico e o método de Karl Fischer.

O método gravimétrico baseia-se na determinação da perda de peso do material submetido ao aquecimento a 105 °C até peso constante, sob determinada temperatura e pressão (AOCS, 2004).

A titulação por Karl Fischer é um método analítico químico que determina vestígios de água numa amostra utilizando uma titulação colorimétrica. O processo envolve uma reação química em meio anidro entre as moléculas de água da amostra e o iodo produzido pelo elétrodo gerador, até que o ponto final da reação é atingido. A quantidade de iodo utilizado na reação é diretamente proporcional à quantidade de água presente na amostra. A titulação por Karl Fischer é um método rápido, específico e sensível (Koch et al, 2007).

Segundo a portaria nº 1548/2002 de 26 de Dezembro é permitido um máximo de 16% de água em margarinas.

– **Sorbato de Potássio**

O sorbato de potássio é utilizado como conservante, tendo a sua maior atividade em pH abaixo de 6, apresentando um espectro de atividade antimicrobiana muito amplo, eficiente contra bolores, leveduras e bactérias (Leitão, 1990). A ação antioxidante do ácido sórbico em solução, encontra-se associada a reações não enzimáticas de escurecimento. A sua ação conservante dificulta a difusão do oxigénio em soluções com uma certa viscosidade (Scooter & Castle, 2002).

Este conservante é identificado a partir da fase aquosa da margarina, à qual é adicionada uma solução 1 (mistura de H₂SO₄ 2N com K₂Cr₂O₇) e uma solução 2 (mistura de ácido tiobarbitúrico com NaOH 0,5N; HCl 0,5N e H₂O), resultando numa amostra com uma coloração rosa/laranja (presença de conservante).

3.5 Avaliação de margarinas e cremes vegetais por NMR

3.5.1 Tamanho da Gota de Água

A determinação do tamanho da gota de água apresenta grande relevância no controlo de qualidade de margarinas e cremes vegetais, uma vez que a sua distribuição no produto influencia tanto a taxa de crescimento microbiano como a rancificação do produto. Se não existir uma boa homogeneização entre a fase gorda e a fase aquosa no processamento, mais precisamente nos *votators* (equipamento para emulsificação e cristalização da emulsão), o tempo de vida útil do produto diminui devido a um rápido crescimento microbiano. Este vai provocar uma deterioração do produto com consequências negativas a nível da textura, rancificação e coalescência do produto (Garrido, 2007).

A distribuição do tamanho da gota em emulsões A/O fornece informações importantes acerca do produto. Os produtos que apresentam múltiplas e pequenas gotas de água são preferíveis relativamente aos que apresentam poucas gotas de água e de largas dimensões, uma vez que estes últimos apresentam-se mais vulneráveis ao crescimento microbiano, diminuindo assim o tempo de vida útil do produto (Métodos Internos Unilever).

A aplicação informática utilizada para a determinação do tamanho de gota de água foi desenvolvida entre a *Unilever Research Vlaardingen* na Holanda e a *Bruker Biospin Ombh* na Alemanha (MIDAS).

3.5.2 Teor de Gordura Sólida

O teor de gordura sólida (SFC) consiste, na medição da proporção de gordura líquida/sólida a diversas temperaturas (Pande et al, 2013).

O conhecimento do SFC de uma gordura ajuda na decisão acerca da sua adequabilidade num posterior processamento. Os valores do SFC a 10, 20, 30 e 35 °C estão relacionados com o comportamento reológico das gorduras às temperaturas de armazenamento, embalagem, processamento no inverno e no verão e consumo, respetivamente (Rodrigues, 2011).

O SFC da fase gorda é responsável pela maioria das características das margarinas, como a aparência, a facilidade no seu empacotamento, as suas propriedades organolépticas (sabor, frescura e espessura), a facilidade de barrar e a exsudação do óleo (Laia et al, 2000).

4. MIDAS - Microbiological Design Assessment System

4.1 Descrição de funcionamento do *software*

O projeto de se criar um *software* baseado numa pré-aprovação dos produtos, do ponto de vista microbiológico, químico e reológico, começou a ser utilizado pela Fima, Produtos Alimentares, SA (Unilever Jerónimo Martins) em 1994, de forma a obter um produto final seguro.

O *software MIDAS* visa auxiliar as empresas do grupo Unilever, a projetar a segurança microbiológica e a qualidade dos seus produtos na fase de desenvolvimento (R&D). Com a implementação deste sistema inovador, a Unilever pretende assegurar a sua marca no mercado, aumentando as suas vendas e projetando os seus produtos com maior rapidez e aceitabilidade por parte dos consumidores (Smid, 2007).

O presente *software* é utilizado para classificação de riscos, cálculo do fator de crescimento e classificação da vulnerabilidade do produto a microrganismos, com base nos detalhes da formulação inseridos pelo usuário. A resposta de aprovação/rejeição do produto é avaliada através da base de

dados *Pelican*, que consiste numa aplicação intranet criada pelo SEAC (Safety and Environmental Assurance Centre), com acesso ao *software MIDAS* (Unilever, 2012).

A segurança microbiológica e a qualidade do produto final podem ser obtidas através das cinco fases que constituem a matriz de risco:

- Formulação do produto;
- Embalamento;
- Processo de fabrico;
- Tempo de prateleira;
- Consumo.

Antes de se proceder à implementação do *software*, foi efetuada uma análise sistemática e genérica de todos os riscos microbiológicos de cada produto, efetuando-se uma avaliação de todos os fatores intrínsecos (sal, pH, humidade, conservante) e extrínsecos (temperatura).

A implementação deste *software*, *MIDAS*, é efetuado através de um estudo na fase inicial da conceção de um novo produto, para o design da sua emulsão e previsão do seu comportamento (Smid, 2007).

4.2 Comportamento dos microrganismos nas emulsões A/O

Como foi referido anteriormente, as emulsões de água-em-óleo consistem numa fase aquosa interna dispersa na forma de gotículas dentro de uma fase lipídica contínua (Wilson et al, 2002).

As leveduras, bactérias e bolores são os responsáveis pela contaminação microbiológica das margarinas. Estas espécies geralmente são incapazes de crescer na fase gorda das emulsões, ocorrendo portanto a contaminação no interior das gotas de água (fase aquosa) que se encontram dispersas no interior e na superfície do produto (Wassel & Young, 2008).

Segundo Smid (2007), os parâmetros que influenciam o crescimento microbiológico nos produtos são:

- Atividade da água;
- Nutrientes;
- Sal;
- pH;
- Conservante;
- Presença ou ausência de oxigénio;
- Tamanho da gota de água;
- Temperatura.

Quanto menor for o tamanho da gota de água, menos propicio se torna o meio para o desenvolvimento microbiano, uma vez que a quantidade de nutrientes necessária para o desenvolvimento destes é menor, logo o tempo de prateleira do produto é maior. Por pequenas gotas de água, entende-se que o tamanho médio das gotículas varia entre os 4-5 μm num intervalo de 1-20 μm . Quando o tamanho das gotículas é inferior a 10 μm é duvidoso que nestes ambientes restritos, haja crescimento microbiano.

O pH apresenta-se como sendo igualmente um parâmetro a controlar, uma vez que valores de pH baixos (pH 4,0 – 4,5) são preferíveis, relativamente aos mais altos (pH 5,5 – 6,0), uma vez que no primeiro caso se inibe o crescimento de certas espécies microbianas (Wassel & Young, 2008).

Segundo Smid (2007), os microrganismos de crescimento mais relevante nas margarinas encontram-se representados na Tabela 5.

Tabela 5 - Microrganismos que se poderão desenvolver nas margarinas (Smid, 2007).

Microrganismos Patogénicos	Microrganismos Indicadores
Enterobacteriaceae	Micrococci
<i>Escherichia coli</i>	Pseudomonas
<i>Campylobacter</i>	Bolores
<i>Listeria monocytogenes</i>	Leveduras
<i>Staphylococcus aureus</i>	

Os fatores a ter em conta quando se pretende projetar e verificar o comportamento de uma emulsão são os seguintes (Smid, 2007):

- Qualidade microbiológica dos ingredientes;
- Estabilidade da formulação do produto;
- Processamento e embalagem;
- Condições do tempo de prateleira do produto.

4.3 Categorias de risco nas margarinas

Foi desenvolvido um sistema para avaliar a categoria de risco das emulsões A/O para estruturar o comportamento dos produtos e o modo de processamento mais correto, de forma a obter um produto final estável.

Na Tabela 6, podemos observar as conjugações possíveis das categorias de risco da fase aquosa, com as categorias de risco da emulsão.

Tabela 6 - Possíveis Categorias de Risco na Fase Aquosa (Smid, 2007).

Categoria de Risco da Fase Aquosa	Categoria de Risco da Emulsão		
	Fina (F)	Média (M)	Grosseira (C)
0			
Produto estável no qual não existe crescimento de microrganismos	0	0	0
1			
Possível crescimento de leveduras	1F0	1M0 1M1	1C0 1C1
2			
Crescimento de leveduras e/ou formas esporuladas	2F0 2F2	2M0 2M2	2C0 2C2
3			
Crescimento de todos os tipos de microrganismos, incluindo o crescimento de patogénicos.	3F0 3F2 3F3	3M0 3M2 3M3	3C0 3C2 3C3

Os bolores não se encontram incluídos na categoria de risco, porque conseguem crescer e desenvolver-se de gota para gota, daí ser muito importante definir e avaliar o tamanho da gota de água.

Para obtermos uma classificação da categoria de risco é necessário:

- Verificar a categoria de risco (HC) da fase aquosa do produto (HC 0, 1, 2 ou 3);
- Classificar as características da emulsão (Fina (*Fine-F*), Média (*Medium-M*) ou Grosseira (*Coarse-C*));
- Determinar o crescimento máximo na emulsão e a categoria de risco do produto final.

O fator de crescimento não deverá ser superior a 11, uma vez que este é o valor máximo aceitável para o crescimento de microrganismos, indicando se o produto é estável (Smid, 2007). Este valor é *standard* dos métodos internos da Unilever.

4.4 Classificação das emulsões

Segundo Smid (2007), a classificação das emulsões (F, M e C) é efetuada da seguinte forma:

- Emulsão Fina: $(D_{3.3})^{0.4074} \times (\text{Esigma}) \leq 4,15$;
- Emulsão Média: $4,15 < (D_{3.3})^{0.4074} \times (\text{Esigma}) \leq 5,11$;
- Emulsão Grosseira: $5,11 < (D_{3.3})^{0.4074} \times (\text{Esigma})$.

Relativamente à distribuição da gota de água, 50% do volume da fase aquosa está presente nas gotas que apresentam menor diâmetro que $D_{3.3}$, visto que os outros 50% estão presentes nas gotas com maior diâmetro (Voda & Van Duynhoven, 2009).

O parâmetro Epsilon caracteriza o volume da distribuição da emulsão, no entanto este parâmetro não é um desvio padrão, uma vez que aproximadamente 95% do volume total das gotas se encontra dentro dos limites estipulados pelos métodos internos da Unilever.

O crescimento das gotas de água das emulsões A/O pode ser previsto através do seguinte procedimento:

- 1) Através da composição do produto (pH máximo da fase aquosa e determinação de SFC_{20}) e distribuição da gota de água (através dos resultados obtidos para $D_{3.3}$ e Epsilon);
- 2) Acede-se ao *software MIDAS* e verificamos a categoria de risco;
- 3) Obtém-se a categoria de risco da fase aquosa e do produto final, assim como, do fator de crescimento dos microrganismos na emulsão (Smid, 2007).

5. Metodologia

Durante a permanência na Fima, Produtos Alimentares, SA (Unilever Jerónimo Martins) foram realizadas diversas análises de controlo da qualidade com vista à garantia da qualidade das margarinas e cremes vegetais. Os parâmetros de controlo de qualidade que irão ser abordados na metodologia são apenas os que têm aplicação direta no *software MIDAS*.

5.1 Determinações por NMR

5.1.1 Tamanho de Gota de Água ($D_{3.3}$)

Como foi referido anteriormente, este parâmetro é efetuado por ressonância magnética nuclear, no qual é utilizado o aparelho "*Minispec mq*" da Bruker, que permite o uso de um gradiente de campo magnético.

Segundo Rousseau & Hodge (2005), este equipamento apresenta como vantagens:

- Uso direto da amostra;
- Método rápido e não destrutivo;
- Os resultados são independentes do operador;
- Não é necessária a utilização de solventes;

- Avaliação automática do diâmetro média da gota e distribuição da gota.

A preparação das amostras consiste, na introdução das mesmas num tubo de vidro, com cerca de 1 cm de altura e de forma a não sujar as paredes do tubo. Estas são colocadas num banho a cerca de 4 °C durante 10 minutos para estabilização dos cristais. Após este período, os tubos são introduzidos individualmente no “*Minispec mq*” para efetuar a leitura das amostras sempre em duplicado.

5.1.2 Determinação do teor de gordura Sólida (SFC)

Como foi referido anteriormente, este parâmetro é quantificado usando o aparelho de ressonância magnética nuclear, o qual se baseia na razão entre o número de hidrogénios do núcleo dos sólidos e o número total de hidrogénios presentes na amostra (Mattioni, 2010).

Geralmente este tipo de avaliação é efetuada em quatro temperaturas diferentes (10, 20, 30 e 35 °C), mas para este trabalho foi apenas necessário proceder-se à determinação de sólidos a 20 °C (SFC₂₀), uma vez que é a temperatura requerida pelo *software MIDAS*. A leitura do SFC é efetuada no “*Minispec mq*” da Bruker e a análise realizou-se de acordo com o método interno da Unilever.

Inicialmente calibra-se o “*Minispec mq*” com três soluções padrão diferentes (0,0; 31,1 e 74,8 %). De seguida fundem-se as amostras de margarina numa estufa a 50 °C para posteriormente se efetuar uma filtração de forma a obter-se unicamente a sua fase gorda. Com o auxílio de uma pipeta de *Pasteur* retira-se uma pequena quantidade da amostra filtrada para um tubo de ensaio. Esse tubo é colocado num banho a 0 °C durante 1 hora e de seguida num banho a 20 °C durante 30 minutos, para posteriormente se proceder à sua leitura.

O resultado desta análise é expresso em percentagem, sendo efetuada em óleos ou composições cristalinas como é o caso das margarinas, óleos, gorduras simples e gorduras hidrogenadas.

5.2 Determinação de pH

A determinação do pH é efetuada na fase aquosa das emulsões, sendo feita de acordo com o método interno.

Este parâmetro é determinado num potenciómetro Metrohm – 780 pH Meter, o qual é calibrado semanalmente com duas soluções padrão (pH= 4 e pH=7).

O valor obtido é comparado com o especificado pela Fima, Produtos Alimentares, SA (Unilever Jerónimo Martins), de forma a verificar se ocorreram alterações no produto.

6. Resultados e Discussão

Foram efetuadas análises físico-químicas e reológicas a cada produto para se inserir os resultados na base de dados *Pelican* com a finalidade de aceder ao *MIDAS*, a fim de se efetuar um estudo da emulsão e enviar para a *Unilever Research Vlaardingen* (Holanda), através de sistema online, para posterior aceitação do produto. Tendo em conta estes parâmetros podemos verificar o comportamento da emulsão e também do processamento mais correto para o produto.

Após a obtenção dos resultados relativamente à estabilidade dos produtos estudados, foram efetuados alguns Testes. A partir dos resultados originais, é possível alterar os mesmos de forma a explicar as diversas formas de comportamento das emulsões, podendo desta forma melhorar-se as condições de processo, estabilidade e/ou qualidade do produto.

Os parâmetros com relevância significativa são: pH, D_{3,3}, Esigma e SFC₂₀. Os resultados obtidos durante o presente estágio encontram-se no Apêndice A, apresentando-se de seguida somente os resultados obtidos a partir do *software MIDAS*, referentes a algumas amostras analisadas.

Na Tabela 7 encontram-se representados os resultados dos parâmetros mencionados anteriormente para a amostra A.

Tabela 7 - Valores médios obtidos para a Amostra A.

pH	D _{3.3}	Esigma	SFC ₂₀	HC
4,18	5,183	1,704	4,79	0

Após ter sido efetuada uma verificação interna relativamente ao presente produto, obteve-se uma categoria de risco de 0, o que significa que estamos perante um produto estável, não havendo probabilidade de desenvolvimento de microrganismos nem na fase aquosa nem no produto final (Tabela 8).

Tabela 8 - Resultado do *software MIDAS* para a Amostra A.

Original				
Microrganismos	Serum (Ambiente)	Serum (Refrigerado)	Emulsão (Ambiente)	Fator de Crescimento
Enterobacteriaceae	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Listeria monocytogenes</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Staphylococcus Aureus</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Bacillus spp</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Leveduras	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Micrococci</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Pseudomonas</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Bolores			Vulnerabilidade baixa	

– Teste 1 - Aumento do pH

Ao aumentar-se o valor de pH para 6,00, a emulsão apresenta uma característica fina mas com probabilidade de crescimento de microrganismos patogénicos na fase aquosa, no entanto o fator de crescimento é inferior a 11. A categoria de risco obtida é de 3F0 (Tabela 9).

Tabela 9 - Exemplo do *software MIDAS* para o aumento de pH na Amostra A.

Produto Específico		
Nome	Original	Modificado
Categoria de Risco (Ambiente)	0	3F0
Bolores	Vulnerabilidade baixa	Vulnerabilidade intermédia
Categoria de Risco (Emulsão/Refrigeração)	0	

Tabela 9 - Exemplo do *software MIDAS* para o aumento de pH na Amostra A (continuação).

Modificada				
Microrganismos	Serum (Ambiente)	Serum (Refrigerado)	Emulsão (Ambiente)	Fator de Crescimento
Enterobacteriaceae	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	2
<i>Listeria monocytogenes</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	3
<i>Staphylococcus aureus</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	4
<i>Bacillus spp</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	2
Leveduras	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	1
<i>Micrococci</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	4
Pseudomonas	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	2
Bolores			Vulnerabilidade intermédia	

– **Teste 2 - Aumento de pH, D_{3.3} e Esigma**

Na presente situação aumentou-se o valor de pH para 6,00, assim como o valor do tamanho da gota e da sua distribuição respetivamente para 8,0 e 3,0. Obteve-se então uma categoria de risco de 3C3, havendo um crescimento de todo o tipo de microrganismos incluindo os patogénicos (Tabela 10).

O presente teste não seria viável devido ao crescimento excessivo de microrganismos.

Tabela 10 - Exemplo do *software MIDAS* para o aumento do pH, D_{3.3} e Esigma na Amostra A.

Produto Específico		
Nome	Original	Modificado
Categoria de Risco (Ambiente)	0	3C3
Bolores	Vulnerabilidade baixa	Vulnerabilidade alta
Categoria de Risco (Emulsão/Refrigeração)	0	3

Tabela 10 - Exemplo do software MIDAS para o aumento do pH, D_{3,3} e Esigma na Amostra A (continuação).

Modificada				
Microrganismos	Serum (Ambiente)	Serum (Refrigerado)	Emulsão (Ambiente)	Fator de Crescimento
Enterobacteriaceae	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	30
<i>Listeria monocytogenes</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	62
<i>Staphylococcus aureus</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	102
<i>Bacillus spp</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	30
Leveduras	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	6
<i>Micrococci</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	102
Pseudomonas	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	30
Bolores			Vulnerabilidade alta	

– **Teste 3 - Aumento do pH e D_{3,3}**

Neste caso aumentou-se o valor de pH para 6,00 e o valor de D_{3,3} para 8,0, obtendo-se uma categoria de risco de 3F3 (Tabela 11). Apesar de a emulsão apresentar uma característica fina, também é propícia ao crescimento de microrganismos incluindo os patogénicos.

Tabela 11 - Exemplo do software MIDAS para o aumento de pH e D_{3,3} na Amostra A.

Produto Específico		
Nome	Original	Modificado
Categoria de Risco (Ambiente)	0	3F3
Bolores	Vulnerabilidade baixa	Vulnerabilidade intermédia
Categoria de Risco (Emulsão/Refrigeração)	0	3

Tabela 11 - Exemplo do software MIDAS para o aumento de pH e D_{3.3} na Amostra A (continuação).

Modificada				
Microrganismos	Serum (Ambiente)	Serum (Refrigerado)	Emulsão (Ambiente)	Fator de Crescimento
Enterobacteriaceae	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	4
<i>Listeria monocytogenes</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	7
<i>Staphylococcus aureus</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	12
<i>Bacillus spp</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	4
Leveduras	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	1
<i>Micrococci</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	12
Pseudomonas	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	4
Bolores			Vulnerabilidade intermédia	

Outros valores foram obtidos para as análises efetuadas na Amostra B (Tabela 12), tendo-se adquirido a mesma categoria de risco que a Amostra A. Também foram efetuados testes para esta amostra.

Tabela 12 - Valores médios obtidos para a Amostra B.

pH	D_{3.3}	Esigma	SFC₂₀	HC
3,97	5,745	1,622	3,95	0

Para o presente produto, obteve-se uma categoria de risco de 0 (Tabela 12), o que significa que estamos perante um produto estável, não havendo probabilidade de desenvolvimento de microrganismos nem na fase aquosa nem no produto final.

Tabela 13 - Resultado do software MIDAS para a Amostra B.

Original				
Microrganismos	Serum (Ambiente)	Serum (Refrigerado)	Emulsão (Ambiente)	Fator de Crescimento
Enterobacteriaceae	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Listeria monocytogenes</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Staphylococcus Aureus</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Bacillus spp</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Leveduras	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Micrococci</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Pseudomonas	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Bolores			Vulnerabilidade baixa	

– **Teste 1 - Aumento de pH e $D_{3.3}$**

Ao aumenta-se o valor de pH para 6,00 e o valor de $D_{3.3}$ para 12,0, podemos obter uma categoria de risco de 3M3 (Tabela 14). Desta forma, obtêm-se uma emulsão média mas com possível crescimento de microrganismos incluindo patogênicos tanto na fase aquosa como no produto final.

Tabela 14 - Exemplo do software MIDAS para o aumento de pH e $D_{3.3}$ para a amostra B.

Produto Específico		
Nome	Original	Modificado
Categoria de Risco (Ambiente)	0	3M3
Bolores	Vulnerabilidade baixa	Vulnerabilidade alta
Categoria de Risco (Emulsão/Refrigeração)	0	3

Tabela 14 - Exemplo do software MIDAS para o aumento de pH e $D_{3,3}$ para a amostra B (continuação).

Modificada				
Microrganismos	Serum (Ambiente)	Serum (Refrigerado)	Emulsão (Ambiente)	Fator de Crescimento
Enterobacteriaceae	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	8
<i>Listeria monocytogenes</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	16
<i>Staphylococcus aureus</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	31
<i>Bacillus spp</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	8
Leveduras	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	2
<i>Micrococci</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	31
Pseudomonas	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	8
Bolores			Vulnerabilidade alta	

– **Teste 2 – Aumento de pH e Esigma e diminuição de $D_{3,3}$**

Nesta situação aumentaram-se os valores de pH e de Esigma, respetivamente para 6,00 e 3,0, e diminuiu-se o valor do tamanho da gota de água para 2,0, verificando-se que a categoria de risco passou para 3F0 (Tabela 15). Obteve-se uma emulsão fina apenas com probabilidade de crescimento de microrganismos na fase aquosa, no entanto este crescimento não é relevante dado que o fator de crescimento é inferior a 11.

Tabela 15 - Exemplo do software MIDAS para o aumento de pH e Esigma e diminuição de $D_{3,3}$ na Amostra B.

Produto Específico		
Nome	Original	Modificado
Categoria de Risco (Ambiente)	0	3F0
Bolores	Vulnerabilidade baixa	Vulnerabilidade intermédia
Categoria de Risco (Emulsão/Refrigeração)	0	

Tabela 15 - Exemplo do software MIDAS para o aumento de pH e Esigma e diminuição de $D_{3,3}$ na Amostra B (continuação).

Modificada				
Microrganismos	Serum (Ambiente)	Serum (Refrigerado)	Emulsão (Ambiente)	Fator de Crescimento
Enterobacteriaceae	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	4
<i>Listeria monocytogenes</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	5
<i>Staphylococcus Aureus</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	7
<i>Bacillus spp</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	4
Leveduras	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	2
<i>Micrococci</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	7
Pseudomonas	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	4
Bolores			Vulnerabilidade intermédia	

– **Teste 3 – Aumento de pH e $D_{3,3}$**

No presente teste aumentou-se o valor de pH para 6,00 e o valor de $D_{3,3}$ para 10, verificando-se o possível crescimento de microrganismos incluindo os patogénicos tanto na fase aquosa como no produto final. A categoria de risco obtida foi de 3F3 (Tabela 16).

Tabela 16 - Exemplo do software MIDAS para o aumento de pH e $D_{3,3}$ na Amostra B.

Produto Específico		
Nome	Original	Modificado
Categoria de Risco (Ambiente)	0	3F3
Bolores	Vulnerabilidade baixa	Vulnerabilidade intermédia
Categoria de Risco (Emulsão/Refrigeração)	0	3

Tabela 16 - Exemplo do software MIDAS para o aumento de pH e $D_{3.3}$ na Amostra B (continuação).

Modificada				
Microrganismos	Serum (Ambiente)	Serum (Refrigerado)	Emulsão (Ambiente)	Fator de Crescimento
Enterobacteriaceae	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	5
<i>Listeria monocytogenes</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	9
<i>Staphylococcus aureus</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	19
<i>Bacillus spp</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	5
Leveduras	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	1
<i>Micrococci</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	19
Pseudomonas	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	5
Bolores			Vulnerabilidade intermédia	

Para a amostra C obtiveram-se os valores constantes na Tabela 17.

Tabela 17 - Valores médios obtidos para a Amostra C.

pH	$D_{3.3}$	Esigma	SFC₂₀	HC
4,23	11,97	2,195	3,38	1C0

Para o presente produto, após ter sido efetuada uma verificação interna, obteve-se uma categoria de risco de 1C0 (Tabela 17), em que:

- **1** Significa um possível crescimento de leveduras na emulsão;
- **C** Significa que a emulsão é grosseira, característica do tamanho da gota de água;
- **0** Significa que a fase aquosa no produto final é estável, não existindo crescimento de microrganismos.

Tabela 18 - Resultado do software MIDAS para a Amostra C.

Original				
Microrganismos	Serum (Ambiente)	Serum (Refrigerado)	Emulsão (Ambiente)	Fator de Crescimento
Enterobacteriaceae	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Listeria monocytogenes</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Staphylococcus Aureus</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Bacillus spp</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Leveduras	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	4
<i>Micrococci</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Pseudomonas</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Bolores			Vulnerabilidade intermédia	

– **Teste 1 - Diminuição do pH e D_{3.3}**

A partir do presente teste pode-se verificar que ao diminuir-se o valor de pH para 4,00 e D_{3.3} para 10,0, obtém-se uma categoria de risco de 0 (Tabela 19), considerando-se este produto estável dado que não existe probabilidade de desenvolvimento de microrganismos.

Tabela 19 - Exemplo do software MIDAS para a diminuição do pH e D_{3.3} na Amostra C.

Produto Específico		
Nome	Original	Modificado
Categoria de Risco (Ambiente)	1C0	0
Bolores	Vulnerabilidade intermédia	
Categoria de Risco (Emulsão/Refrigeração)	0	

Tabela 19 - Exemplo do *software MIDAS* para a diminuição do pH e D_{3,3} na Amostra C (continuação).

Modificada				
Microrganismos	Serum (Ambiente)	Serum (Refrigerado)	Emulsão (Ambiente)	Fator de Crescimento
Enterobacteriaceae	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Listeria monocytogenes</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Bacillus spp</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Leveduras	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	4
<i>Micrococci</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Pseudomonas	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Bolores			Vulnerabilidade intermédia	

– Teste 2 - Aumento do pH

Aumentando-se o valor de pH para 5,0, obtém-se uma categoria de risco de 3C3 (Tabela 20). Este resultado não será viável dado que estamos perante uma emulsão grosseira com capacidade para o desenvolvimento de microrganismos tanto na fase aquosa como no produto final.

Tabela 20 - Exemplo do *software MIDAS* para o aumento do pH na Amostra C.

Produto Específico		
Nome	Original	Modificado
Categoria de Risco (Ambiente)	1C0	3C3
Bolores	Vulnerabilidade intermédia	
Categoria de Risco (Emulsão/Refrigeração)	0	3

Tabela 20 - Exemplo do software MIDAS para o aumento do pH na Amostra C (continuação).

Modificada				
Microrganismos	Serum (Ambiente)	Serum (Refrigerado)	Emulsão (Ambiente)	Fator de Crescimento
Enterobacteriaceae	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	
<i>Listeria monocytogenes</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Bacillus spp</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Leveduras	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	3
<i>Micrococci</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Pseudomonas</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Bolores			Vulnerabilidade intermédia	

– **Teste 3 – Diminuição de $D_{3.3}$**

Diminuindo-se o valor de $D_{3.3}$ para 6,00, obtém-se uma categoria de risco de 1M0 (Tabela 21). A emulsão passa assim de grosseira a média, podendo haver apenas um possível desenvolvimento de leveduras.

Tabela 21 - Exemplo do software MIDAS para a diminuição de $D_{3.3}$ na Amostra C.

Produto Específico		
Nome	Original	Modificado
Categoria de Risco (Ambiente)	1C0	3M0
Bolores	Vulnerabilidade intermédia	
Categoria de Risco (Emulsão/Refrigeração)	0	

Tabela 21 - Exemplo do *software MIDAS* para a diminuição de $D_{3.3}$ na Amostra C (continuação).

Modificada				
Microrganismos	Serum (Ambiente)	Serum (Refrigerado)	Emulsão (Ambiente)	Fator de Crescimento
Enterobacteriaceae	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Listeria monocytogenes</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Bacillus spp</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Leveduras	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	2
<i>Micrococci</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Pseudomonas</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Bolores			Vulnerabilidade intermédia	

– Teste 4 - Diminuição do pH

Ao diminuir-se o valor de pH para 4,00 pode verifica-se uma alteração do comportamento da emulsão, apresentando uma categoria de risco de 0 (Tabela 22), não havendo assim probabilidade de desenvolvimento de microrganismos no produto final e/ou durante o seu processamento, nomeadamente na fase aquosa. O produto apresenta-se estável.

Tabela 22 - Exemplo do *software MIDAS* para a diminuição de pH na Amostra C.

Produto Específico		
Nome	Original	Modificado
Categoria de Risco (Ambiente)	1C0	0
Bolores	Vulnerabilidade intermédia	
Categoria de Risco (Emulsão/Refrigeração)	0	

Tabela 22 - Exemplo do software MIDAS para a diminuição de pH na Amostra C (continuação).

Modificada				
Microrganismos	Serum (Ambiente)	Serum (Refrigerado)	Emulsão (Ambiente)	Fator de Crescimento
Enterobacteriaceae	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Listeria monocytogenes</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Bacillus spp</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Leveduras	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Micrococci</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Pseudomonas</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Bolores			Vulnerabilidade intermédia	

Para a Amostra D foram obtidos os resultados apresentados na Tabela 23.

Tabela 23 - Valores médios obtidos para a Amostra D.

pH	D_{3.3}	Esigma	SFC₂₀	HC
4,01	4,41	1,720	4,70	0

Para o presente produto, obteve-se uma categoria de risco de 0 (Tabela 23), o que significa que estamos perante um produto estável, não havendo probabilidade de desenvolvimento de microrganismos nem na fase aquosa nem no produto final.

Tabela 24 - Resultado do software MIDAS para a Amostra D.

Original				
Microrganismos	Serum (Ambiente)	Serum (Refrigerado)	Emulsão (Ambiente)	Fator de Crescimento
Enterobacteriaceae	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Listeria monocytogenes</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Staphylococcus Aureus</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Bacillus spp</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Leveduras	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Micrococci</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Pseudomonas	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Bolores			Vulnerabilidade baixa	

– Teste 1 - Aumento do pH

Aumentando-se o valor de pH para 5,00, obtém-se uma categoria de risco de 3F0 (Tabela 25), podendo desenvolver-se diversos tipos de microrganismos incluindo os patogénicos na fase aquosa. No entanto, este crescimento não é relevante dado que o fator de crescimento é inferior a 11.

Tabela 25 - Exemplo do software MIDAS para o aumento de pH na Amostra D.

Produto Específico		
Nome	Original	Modificado
Categoria de Risco (Ambiente)	0	3F0
Bolores	Vulnerabilidade baixa	
Categoria de Risco (Emulsão/Refrigeração)	0	

Tabela 25 - Exemplo do software MIDAS para o aumento de pH na Amostra D (continuação).

Modificada				
Microrganismos	Serum (Ambiente)	Serum (Refrigerado)	Emulsão (Ambiente)	Fator de Crescimento
Enterobacteriaceae	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	1
<i>Listeria monocytogenes</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Bacillus spp</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Leveduras	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	1
<i>Micrococci</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Pseudomonas	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Bolores			Vulnerabilidade baixa	

– **Teste 2 – Aumento do pH, D_{3,3} e Esigma**

Ao aumentarem-se os valores de pH para 5,00, o valor de Esigma para 3,00 e o tamanho da gota de água para 10, pode-se verificar uma mudança no comportamento da emulsão, apresentando uma categoria de risco de 3C3 (Tabela 26) com possibilidade de crescimento de microrganismos patogénicos.

Tabela 26 - Exemplo do software MIDAS para o aumento de pH, Esigma e D_{3,3} na Amostra D.

Produto Específico		
Nome	Original	Modificado
Categoria de Risco (Ambiente)	0	3C3
Bolores	Vulnerabilidade baixa	Vulnerabilidade intermédia
Categoria de Risco (Emulsão/Refrigeração)	0	3

Tabela 26 - Exemplo do software MIDAS para o aumento de pH, Esigma e D_{3.3} na Amostra D (continuação).

Modificada				
Microrganismos	Serum (Ambiente)	Serum (Refrigerado)	Emulsão (Ambiente)	Fator de Crescimento
Enterobacteriaceae	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	53
<i>Listeria monocytogenes</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	100
<i>Staphylococcus aureus</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Bacillus spp</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Leveduras	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	9
<i>Micrococci</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Pseudomonas</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Bolores			Vulnerabilidade intermédia	

Outros resultados foram obtidos para a Amostra E (Tabela 27), apresentando uma HC de 0, tal como a amostra anterior.

Tabela 27 - Valores médios obtidos para a Amostra E.

pH	D_{3.3}	Esigma	SFC₂₀	HC
3,86	6,71	2,012	5,30	0

Para o presente produto, obteve-se uma categoria de risco de 0 (Figura 27), o que significa que estamos perante um produto estável, não havendo probabilidade de desenvolvimento de microrganismos nem na fase aquosa nem no produto final.

Tabela 28 - Resultado do software MIDAS para a Amostra E.

Original				
Microrganismos	Serum (Ambiente)	Serum (Refrigerado)	Emulsão (Ambiente)	Fator de Crescimento
Enterobacteriaceae	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Listeria monocytogenes</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Staphylococcus Aureus</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Bacillus spp</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Leveduras	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Micrococci</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Pseudomonas	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Bolores			Vulnerabilidade intermédia	

– Teste 1 - Aumento do valor de pH

Ao aumentar-se o valor de pH para 6,00, verifica-se um comportamento diferente da emulsão, passando esta a ter característica média mas, com uma categoria de risco de 3M3 (Tabela 29), isto é, uma emulsão com probabilidades de desenvolvimento de microrganismos na fase aquosa e no produto final.

Tabela 29 - Exemplo do software MIDAS para o aumento de pH para 6,00 na Amostra E.

Produto Específico		
Nome	Original	Modificado
Categoria de Risco (Ambiente)	0	3M3
Bolores	Vulnerabilidade baixa	Vulnerabilidade alta
Categoria de Risco (Emulsão/Refrigeração)	0	3

Tabela 29 - Exemplo do *software MIDAS* para o aumento de pH para 6,00 na Amostra E (continuação).

Modificada				
Microrganismos	Serum (Ambiente)	Serum (Refrigerado)	Emulsão (Ambiente)	Fator de Crescimento
Enterobacteriaceae	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	5
<i>Listeria monocytogenes</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	8
<i>Staphylococcus aureus</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	14
<i>Bacillus spp</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	5
Leveduras	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	1
<i>Micrococci</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	14
Pseudomonas	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	5
Bolores			Vulnerabilidade intermédia	

– **Teste 2 - Aumento do valor de pH**

Ao aumentar-se o valor de pH para 7,0, verifica-se uma situação diferente do teste anterior, obtendo-se uma categoria de risco de 3C3 (Tabela 30), uma emulsão grosseira, instável e com fortes probabilidades de desenvolvimento de microrganismos na fase aquosa e no produto final, inclusive os microrganismos patogénicos.

Tabela 30 - Exemplo do *software MIDAS* para o aumento de pH para 7,00 na Amostra E.

Produto Específico		
Nome	Original	Modificado
Categoria de Risco (Ambiente)	0	3C3
Bolores	Vulnerabilidade baixa	Vulnerabilidade alta
Categoria de Risco (Emulsão/Refrigeração)	0	3

Tabela 30 - Exemplo do software MIDAS para o aumento de pH para 7,00 na Amostra E (continuação).

Modificada				
Microrganismos	Serum (Ambiente)	Serum (Refrigerado)	Emulsão (Ambiente)	Fator de Crescimento
Enterobacteriaceae	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	38
<i>Listeria monocytogenes</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	72
<i>Staphylococcus aureus</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	116
<i>Bacillus spp</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	38
Leveduras	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	7
<i>Micrococci</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	116
Pseudomonas	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	38
Bolores			Vulnerabilidade alta	

– **Teste 3 - Aumento do $D_{3.3}$ e Esigma**

Ao aumentar-se o valor de $D_{3.3}$ para 8,0 e o valor de Esigma para 4,0 pode-se verificar que a emulsão contínua estável, como na situação original, isto é, a categoria de risco continua a ser 0 (Tabela 31), não havendo por isso possibilidade de crescimento de microrganismos no produto em causa.

Tabela 31 - Exemplo do software MIDAS para o aumento de $D_{3.3}$ e Esigma na Amostra E.

Produto Específico		
Nome	Original	Modificado
Categoria de Risco (Ambiente)	0	
Bolores	Vulnerabilidade intermédia	
Categoria de Risco (Emulsão/Refrigeração)	0	

Tabela 31 - Exemplo MIDAS para o aumento de $D_{3.3}$ e E_{sigma} na Amostra E (continuação).

Modificada				
Microrganismos	Serum (Ambiente)	Serum (Refrigerado)	Emulsão (Ambiente)	Fator de Crescimento
Enterobacteriaceae	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Listeria monocytogenes</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Bacillus spp</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Leveduras	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Micrococci</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Pseudomonas	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Bolores			Vulnerabilidade intermédia	

Para a Amostra F, foram obtidos os resultados apresentados na Tabela 32.

Tabela 32 - Valores médios obtidos para a Amostra F.

pH	$D_{3.3}$	E_{sigma}	SFC_{20}	HC
4,17	4,185	1,592	5,14	0

Para o presente produto, obteve-se uma categoria de risco de 0 (Tabela 32), o que significa que estamos perante um produto estável, não havendo probabilidade de desenvolvimento de microrganismos nem na fase aquosa nem no produto final.

Tabela 33 - Resultado do software MIDAS para a Amostra F.

Original				
Microrganismos	Serum (Ambiente)	Serum (Refrigerado)	Emulsão (Ambiente)	Fator de Crescimento
Enterobacteriaceae	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Listeria monocytogenes</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Staphylococcus Aureus</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Bacillus spp</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Leveduras	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Micrococci</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Pseudomonas</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Bolores			Vulnerabilidade baixa	

– Teste 1 - Aumento de pH

Ao aumentar-se o valor de pH para 8,00 obtém-se uma emulsão fina com uma categoria de risco de 3F0 (Tabela 34). Nesta situação poderá dizer-se que haverá possibilidade de crescimento de microrganismos patogénicos na fase aquosa, no entanto o fator de crescimento é inferior a 11.

Tabela 34 - Exemplo do software MIDAS para o aumento de pH na Amostra F.

Produto Específico		
Nome	Original	Modificado
Categoria de Risco (Ambiente)	0	3F0
Bolores	Vulnerabilidade baixa	Vulnerabilidade intermédia
Categoria de Risco (Emulsão/Refrigeração)	0	

Tabela 34 - Exemplo do software MIDAS para o aumento de pH na Amostra F (continuação).

Modificada				
Microrganismos	Serum (Ambiente)	Serum (Refrigerado)	Emulsão (Ambiente)	Fator de Crescimento
Enterobacteriaceae	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	1
<i>Listeria monocytogenes</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	2
<i>Staphylococcus aureus</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	2
<i>Bacillus spp</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	1
Leveduras	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	1
<i>Micrococci</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	2
Pseudomonas	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	1
Bolores			Vulnerabilidade baixa	

– **Teste 2 – Aumento de pH e de D_{3,3}**

Nesta situação, aumentou-se o valor de pH para 8,0 e o tamanho de gota para 10,0. Como consequência desta alteração obteve-se uma categoria de risco de 3F3 (Tabela 35), sendo a emulsão fina com possibilidade de crescimento de microrganismos incluindo o crescimento de patogénicos.

Figura 35 - Exemplo do software MIDAS para o aumento de pH e D_{3,3} na Amostra F.

Produto Específico		
Nome	Original	Modificado
Categoria de Risco (Ambiente)	0	3F3
Bolores	Vulnerabilidade baixa	Vulnerabilidade intermédia
Categoria de Risco (Emulsão/Refrigeração)	0	3

Figura 35 - Exemplo do software MIDAS para o aumento de pH e $D_{3.3}$ na Amostra F (continuação).

Modificada				
Microrganismos	Serum (Ambiente)	Serum (Refrigerado)	Emulsão (Ambiente)	Fator de Crescimento
Enterobacteriaceae	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	5
<i>Listeria monocytogenes</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	9
<i>Staphylococcus aureus</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	19
<i>Bacillus spp</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	5
Leveduras	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	1
<i>Micrococci</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	19
Pseudomonas	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	5
Bolores			Vulnerabilidade intermédia	

– **Teste 3 – Aumento do Esigma mantendo os valores de pH e $D_{3.3}$ do teste anterior**

Relativamente ao teste anterior mantiveram-se as mesmas alterações à exceção de que se aumentou também o valor da distribuição da gota (Esigma) para 3,0. Após as alterações a emulsão apresentou característica de grosseira com uma categoria de risco de 3C3 (Tabela 36). Sendo assim, haverá probabilidades de crescimento de microrganismos, incluindo patogénicos tanto na fase aquosa como no produto final.

Tabela 36 - Exemplo do software MIDAS para o aumento de Esigma mantendo os valores de pH e $D_{3.3}$ do teste anterior na Amostra F.

Produto Específico		
Nome	Original	Modificado
Categoria de Risco (Ambiente)	0	3C3
Bolores	Vulnerabilidade baixa	Vulnerabilidade alta
Categoria de Risco (Emulsão/Refrigeração)	0	3

Tabela 36 - Exemplo do *software MIDAS* para o aumento de Esigma mantendo os valores de pH e D_{3,3} do teste anterior na Amostra F (continuação).

Modificada				
Microrganismos	Serum (Ambiente)	Serum (Refrigerado)	Emulsão (Ambiente)	Fator de Crescimento
Enterobacteriaceae	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	49
<i>Listeria monocytogenes</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	96
<i>Staphylococcus aureus</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	175
<i>Bacillus spp</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	49
Leveduras	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	8
<i>Micrococci</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	175
Pseudomonas	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	49
Bolores			Vulnerabilidade alta	

Outros valores foram obtidos para as análises efetuadas na Amostra G (Tabela 37).

Tabela 37 - Valores médios obtidos para a Amostra G.

pH	D_{3,3}	Esigma	SFC₂₀	HC
4,06	7,10	2,017	6,60	0

Para o presente produto, obteve-se uma categoria de risco de 0 (Tabela 37), o que significa que estamos perante um produto estável, não havendo probabilidade de desenvolvimento de microrganismos nem na fase aquosa nem no produto final.

Tabela 38 - Resultado do software MIDAS para a Amostra E.

Original				
Microrganismos	Serum (Ambiente)	Serum (Refrigerado)	Emulsão (Ambiente)	Fator de Crescimento
Enterobacteriaceae	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Listeria monocytogenes</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Staphylococcus Aureus</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Bacillus spp</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Leveduras	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Micrococci</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Pseudomonas	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Bolores			Vulnerabilidade intermédia	

- Teste 1 - Aumento de pH

Ao aumentar-se o valor de pH para 5,0, verifica-se uma categoria de risco de 3M0 (Tabela 39). Apesar de se ter obtido uma emulsão média, esta tem probabilidades de crescimento de microrganismos, incluindo patogénicos na fase aquosa. No entanto, este crescimento de microrganismos é aceitável, considerando-se o produto estável, dado que o fator de crescimento é inferior a 11.

Tabela 39 - Exemplo do software MIDAS para o aumento de pH na Amostra G.

Produto Específico		
Nome	Original	Modificado
Categoria de Risco (Ambiente)	0	3M0
Bolores	Vulnerabilidade intermédia	
Categoria de Risco (Emulsão/Refrigeração)	0	

Tabela 39 - Exemplo do software MIDAS para o aumento de pH na Amostra G (continuação).

Modificada				
Microrganismos	Serum (Ambiente)	Serum (Refrigerado)	Emulsão (Ambiente)	Fator de Crescimento
Enterobacteriaceae	Possível crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	5
<i>Listeria monocytogenes</i>	Possível crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	9
<i>Staphylococcus aureus</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Bacillus spp</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Leveduras	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	1
<i>Micrococci</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Pseudomonas</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Bolores			Vulnerabilidade intermédia	

– **Teste 2 – Aumento de pH, D_{3,3} e Esigma**

Quando se aumentam os valores destes parâmetros, respetivamente para 5,0, 8,0 e 4,0, verifica-se a obtenção de uma emulsão com um fator de crescimento de microrganismos, incluindo patogénicos muito elevado, tanto na fase aquosa como no produto final, obtendo-se uma categoria de risco de 3C3 (Tabela 40).

Tabela 40 - Exemplo do software MIDAS para o aumento de pH, D_{3,3} e Esigma na Amostra G.

Produto Específico		
Nome	Original	Modificado
Categoria de Risco (Ambiente)	0	3C3
Bolores	Vulnerabilidade intermédia	
Categoria de Risco (Emulsão/Refrigeração)	0	1

Tabela 40 - Exemplo do software MIDAS para o aumento de pH, D_{3,3} e Esigma na Amostra G (continuação).

Modificada				
Microrganismos	Serum (Ambiente)	Serum (Refrigerado)	Emulsão (Ambiente)	Fator de Crescimento
Enterobacteriaceae	Possível crescimento	Sem crescimento	Possível crescimento	148
<i>Listeria monocytogenes</i>	Possível crescimento	Sem crescimento	Possível crescimento	204
<i>Staphylococcus aureus</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Bacillus spp</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Leveduras	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	57
<i>Micrococci</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Pseudomonas</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Bolores			Vulnerabilidade intermédia	

Para a Amostra H, foram obtidos os resultados apresentados na Tabela 41.

Tabela 41 - Valores médios obtidos para a Amostra H.

pH	D_{3,3}	Esigma	SFC₂₀	HC
4,10	5,012	1,701	7,00	0

Para o presente produto, obteve-se uma categoria de risco de 0 (Tabela 41), o que significa que estamos perante um produto estável, não havendo probabilidade de desenvolvimento de microrganismos nem na fase aquosa nem no produto final.

Tabela 42 - Resultado do software MIDAS para a Amostra H.

Original				
Microrganismos	Serum (Ambiente)	Serum (Refrigerado)	Emulsão (Ambiente)	Fator de Crescimento
Enterobacteriaceae	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Listeria monocytogenes</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Staphylococcus Aureus</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Bacillus spp</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Leveduras	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Micrococci</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
<i>Pseudomonas</i>	Sem crescimento	Sem crescimento	Sem crescimento	
Bolores			Vulnerabilidade baixa	

– **Teste 1 - Aumento do valor de pH e D_{3.3}**

Ao aumentar-se o valor de pH para 6,0 e o tamanho de gota de água para 8,0, obtém-se uma categoria de risco de 3F3 (Tabela 43). Estamos perante uma emulsão fina, mas com possível crescimento de microrganismos, incluindo patogénicos, tanto na fase aquosa como no produto final.

Tabela 43 - Exemplo do software MIDAS para o aumento de pH e D_{3.3} na Amostra H.

Produto Específico		
Nome	Original	Modificado
Categoria de Risco (Ambiente)	0	3F3
Bolores	Vulnerabilidade baixa	Vulnerabilidade intermédia
Categoria de Risco (Emulsão/Refrigeração)	0	3

Tabela 43 - Exemplo do software MIDAS para o aumento de pH e $D_{3,3}$ na Amostra H (continuação).

Modificada				
Microrganismos	Serum (Ambiente)	Serum (Refrigerado)	Emulsão (Ambiente)	Fator de Crescimento
Enterobacteriaceae	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	4
<i>Listeria monocytogenes</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	7
<i>Staphylococcus aureus</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	12
<i>Bacillus spp</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	4
Leveduras	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	1
<i>Micrococci</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	12
Pseudomonas	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	4
Bolores			Vulnerabilidade intermédia	

– **Teste 2 – Aumento de pH, $D_{3,3}$ e Esigma**

Mantendo o valor de pH e tamanho de gota relativamente ao teste anterior e aumentando-se a distribuição da gota para 3,0, verifica-se a obtenção de uma emulsão grosseira com uma categoria de risco de 3C3 (Tabela 44) havendo elevadas probabilidades de crescimento de microrganismos patogénicos tanto na fase aquosa como no produto final.

Tabela 44 - Exemplo do software MIDAS para o aumento de pH, $D_{3,3}$ e Esigma na Amostra H.

Produto Específico		
Nome	Original	Modificado
Categoria de Risco (Ambiente)	0	3C3
Bolores	Vulnerabilidade baixa	Vulnerabilidade alta
Categoria de Risco (Emulsão/Refrigeração)	0	3

Tabela 44 - Exemplo do software MIDAS para o aumento de pH, $D_{3.3}$ e Esigma na Amostra H (continuação).

Modificada				
Microrganismos	Serum (Ambiente)	Serum (Refrigerado)	Emulsão (Ambiente)	Fator de Crescimento
Enterobacteriaceae	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	28
<i>Listeria monocytogenes</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	59
<i>Staphylococcus aureus</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	98
<i>Bacillus spp</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	28
Leveduras	Possível crescimento	Possível crescimento	Sem crescimento	6
<i>Micrococci</i>	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	98
Pseudomonas	Possível crescimento	Possível crescimento	Possível crescimento	28
Bolores			Vulnerabilidade alta	

7. Conclusão

A utilização do *software* "MIDAS" é muito importante para a Empresa, dado que permite fazer um estudo da caracterização de risco das emulsões com base nos resultados obtidos através das análises físico-químicas, reológicas e microbiológicas. São estes parâmetros que possibilitam efetuar um controlo da estabilidade e qualidade durante todo o processo.

Este *software* é inovador, exclusivo da Unilever e aplicável a emulsões. Para além de controlar todo o processo, é possível simular o desenvolvimento de novos produtos e melhorar os existentes, tendo em conta todos os parâmetros envolvidos na rotina do laboratório.

Após a inserção dos valores dos parâmetros obtidos para cada produto em estudo, relativamente ao "MIDAS", podemos concluir que, sempre que se aumenta o tamanho da gota de água ($D_{3.3}$) e a distribuição da mesma (Esigma), a probabilidade do crescimento de microrganismos é maior. Quando se reduzem os valores desses mesmos parâmetros, constata-se a ausência de crescimento microbiano garantindo-se a estabilidade do produto sob o ponto de vista microbiológico.

Alguns dos fatores que contribuem positivamente para a estabilidade são: as características dos óleos que constituem a emulsão e a cristalização que é um ponto crítico de fabrico neste tipo de produtos uma vez que é nesta etapa que vai ocorrer a distribuição de gotículas na emulsão. Uma dispersão não equilibrada (uma dispersão deficiente de gotículas na emulsão ou com gotículas de grandes dimensões), vai provocar uma degradação rápida do produto. O tamanho do diâmetro e do volume da gota de água terá que ser acompanhado de forma a permitir uma distribuição da gota de água o mais favorável possível, só assim é possível obter um produto estável e com probabilidade baixa de se observar o fenómeno de coalescência.

Se forem respeitadas as condições de armazenamento e temperatura, o tamanho de gota de água mantém-se constante durante o seu período de vida útil.

Referências bibliográficas

- Akoh, C. C. (1998). Fat replacers. *Food Technology*, 3, 47-53.
- AOCS – Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society. Washington. 2004.
- Bastos, E. F. S. S. (2013). Propriedades reológicas e de estabilização de emulsões do Fucopol. Tese de Mestrado. Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa.
- Bockisch, M. (1998). *Fats and Oils handbook*. Champaign: AOCS Press.
- Candeias, V., Nunes, E., Morais, C., Cabral, M., & Silva, P. R. (2005). *Gorduras. Princípios para uma alimentação saudável*. Lisboa: Direção Geral da Saúde.
- Custódio, B. (2009). Controlo Estatístico e Análise Multi - Variada de um Processo Industrial de Produção de Cremes para Barrar. Tese de mestrado. Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa.
- Decreto-Lei nº 106/2005 de 29 de Julho. *Diário da República nº 123 – I Série – A*. Ministério da Agricultura do Desenvolvimento Rural e das Pescas.
- Fair, L. (1996). *Interesterification technology. Oils and fats manual*. London, Paris & New York: Association Française pour l'Étude des Corps Gras.
- Farhoosh, R., Einafshar, S., & Sharayei, P. (2009). The effect of commercial refining steps on the rancidity measures of soybean and canola oils. *Food Chemistry*, 115, 933-938.
- Garrido, A. (2007). Determinação da categoria de risco em cremes de barrar. Licenciatura. Santarém: Escola Superior Agrária.
- Gava, A. J., Silva, C. A. B., & Fias, J. R. G. (2008). *Tecnologia de alimentos: princípios e aplicações*. São Paulo: Nobel.
- Gioielli, L. A. (1998). Interesterificação de óleos e gorduras. *Revista Engenharia de Alimentos*, 21, 22-24.
- Gioielli, L. A., Díaz, G., Oscar, W. (2006). Comportamento de cristalização de lípidos estruturados obtidos a partir de gordura de palmiste e óleo de peixe. *Química Nova*, 4, 646 – 653.
- Hammond, E. G., Johnson, L. A., Su, C., Wang, T., & White, P. J. (2005). Soybean oil. Bailey's industrial oil and fat products: Edible oil. United States of America: Wiley-interscience.
- Hasenhuettl, G. L., & Hartel, R. W. (2008). Overview of food emulsifiers. *Food emulsifiers and their applications*.
- Ibarz, A., & Barbos – Cánovas, G. V. (2005). *Operaciones unitarias en la ingeniería de alimentos*. Madrid: Mundi-Prensa.
- Jato, J. (1997). Aspectos fundamentales de los sistemas farmacêuticos y operações básicas. Madrid: Sisis.
- Khan, A. Y., Talegaonlar, S., Iqbal, Z., Ahmed, F. J., & Khar, R. K. (2006). Multiple emulsions: an overview. *Curr Drug Deliv*, 3, 429-43.
- Koch, M., Tenbohlen, S., Blennow, J., & Hoehlein, I. (2007). *Reliability and improvements of water titration by Karl Fischer Technique*. Slovenia.

- Laia, O. M., Ghazalia, H. M., Cho, F., & Chong, C. L. (2000). Physical and textural properties of an experimental table margarine prepared from lipase-catalyzed transesterified palm stearin: palm kernel olein mixture during storage. *Food Chemistry*, 71, 173-179.
- Leitão, M. F. F. (1990). Conservadores em alimentos e fatores que afetam sua eficiência no controle de microorganismos. *Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos*, v. 20, 116-127.
- Lidon, F. J. C., & Silvestre, M. M. A. S. F. (2007). *Indústrias alimentares. Aditivos e tecnologia*. Lisboa: Escolar Editora.
- Mattiono, B. (2010). Aplicação de redes neurais na formulação de gorduras para massa folhada baseada em gorduras interesterificadas de soja e algodão. Pós – Graduação. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina.
- McClements, D. J. (1999). *Food emulsions. Principles, practice, and techniques*. United States of America.
- McDonals, R. E., Mossaba, M. M. (1995). *Trans fatty acids: labeling, nutrition and analysis*. Champaign: AOCS Press.
- Moretto, E., & Fett, R. (1998). *Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos*. São Paulo: Varela.
- Moretto, E., Fett, R., Gonzaga, L., & Kuskoski, E (2002). *Introdução à ciência de alimentos*. Florianópolis: UFSC.
- O'Brien, D. (2009). *Fats and oils. Formulating and processing for applications* (3ª Edição). United States of America: Taylor & Francis Group.
- Pande, G., Akoh, C. C., & Shewfelt, R. L. (2013). Utilization of enzymatically interesterified cottonseed oil and palm stearin-based structured lipid in the production of trans-free margarine. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2, 76-84.
- Pedersen, A. (1994). *La fabricación de margarina. Tecnología y proceso*. Chacabuco.
- Pinho, D. M. M., & Suarez, P. A. Z. (2013). A hidrogenação de óleos e gorduras e suas aplicações industriais. *Revista Virtual de Química*, 5 (1), 47-62.
- Portaria nº. 1548/2002 de 26 de Dezembro. *Diário da República nº 298 – I Serie*. Presidência do Conselho de Ministros e Ministros da Economia e da Agricultura, Desenvolvimento Rural e Pescas e da Saúde.
- Ramalho, H. F., & Suarez, P. A. Z. (2013). A química dos óleos e gorduras e seus processos de extração e refino. *Revista Virtual de Química*, 5 (1), 2-15.
- Ribeiro, A.P.B., Moura, J. M. L. N., Grimaldi, R., & Gonçalves, L. A. G. (2007). Interesterificação química: alternativa para obtenção de gordura trans. *Química Nova*, 5, 1295 - 1300.
- Robinson, D. (2005). *The history of margarine*. Champaign: AOCS Press.
- Rocamora, Y., Camejo, J., Ortega, O., & Real, E. (2002). Las margarinas. *Alimentaria*. 39 (333), 95-07.
- Rodrigues, J. M. M. (2011). Produção enzimática de lípidos estruturados, riscos em ácidos gordos polinsaturados ômega-3, em reator de alta pressão. Tese de mestrado. Lisboa: Instituto Superior de Agronomia.
- Rousseau, D., & Hodge, S. M. (2005). Stabilization of water-in-oil emulsions with continuous phase crystals. *Colloids and Surfaces*, 260, 229-237.

Salager, J. L. (1999). *Formulación. Composición y fabricación de emulsiones para obtener las propiedades deseadas. Estado del arte. Parte B. Mérida-Venezuela.*

Shahidi, F. (2005). *Bailey's industrial oil and fat products* (6^a ed.). New York: Wiley-Interscience.

Smid, D. (2007). Web Enable MIDAS (WEM) – water in oil module. FIMA-Portugal.

Torres, E. A. F. S. (2002). *Alimentos do milénio: a importância dos transgénicos, funcionais e fitoterápicos para a saúde.* São Paulo: Signus.

Wassel, P., & Young, N. (2008). *Margarine and spreads. Food Emulsifiers and their applications* (2^a Edição). United States of America: Springer.

Wassel, P. (2005). *Industrial margarine and spreads, descriptions solutions.* Brabrand – Denmark: Danisco training course.

Wiedermann, L. H. (1978). Margarine and margarine oil, formulation and control. *J Am Oil Chem Soc*, 55, 823-829.

Wilson, P. D. G., Brocklehurst, T. F., Arino, S., Thuault, D., Jackobsen, M., Lange, M., Farkas, J., Winpenny, J. W. T., & Van Impe, J. F. (2002). Modelling microbial growth in structured of foods: towards a unified approach. *International Journal of Food Microbiology*, 73, 275-289.

White, P. J. (2000). *Flavor quality of fats and oils. Intoduction to fats and oils technology* (2 ed.). Champaign: AOCS Press.

<http://www.crowniron.com/userfiles/image/Refining%20Main.pdf> (consultado em Fevereiro de 2014)

http://www.spx.com/en/assets/pdf/GS_margarine_production_07_12_GB_web.pdf (consultado em Fevereiro de 2014)

<http://www.jeronimomartins.pt/negocios/industria.aspx> (consultado em Março de 2014)

Voda, M. A., & Van Duynhoven, J. (2009). Characterization of food emulsions by PFG NMR. *Trends in Food Science & Technology*, 20, 533-543.

Apêndice A

Resultados dos parâmetros físico - químicos e reológicos das margarinas e dos cremes vegetais

Tabela I - Resultados dos parâmetros físico - químicos e reológicos das margarinas e dos cremes vegetais.

Amostra	D_{3.3}	Esigma	SFC₂₀	pH
1	8,1	2,5	9,024	4,26
	8,7	3,0		
2	8,16	2,54	8,711	4,19
	7,4	2,5		
3	7,5	2,23	8,889	4,36
	7,6	2,25		
4	4,46	1,45	14,047	4,39
	4,83	1,42		
5	4,19	1,36	13,892	4,59
	4,26	1,37		
6	3,67	1,53	6,627	4,97
	3,62	1,55		
7	4,05	1,67	6,568	4,50
	4,02	1,69		
8	4,11	1,56	6,046	4,48
	3,27	1,55		
9	5,41	2,02	13,560	4,70
	5,34	1,97		
10	4,73	1,86	12,778	4,68
	4,83	1,91		
11	5,74	1,73	12,160	4,64
	5,48	1,65		
12	4,17	1,59	8,160	4,48
	4,05	1,63		
13	4,05	1,48	8,267	4,51
	3,85	1,61		
14	4,85	1,72	5,289	4,95
	4,88	1,70		
15	4,85	1,67	5,172	4,68
	4,81	1,68		
16	4,92	1,65	5,317	4,54
	4,67	1,65		
17	6,38	1,65	3,490	4,26
	5,82	1,58		
18	4,18	1,81	5,544	4,75
	4,60	1,66		
19	3,69	1,61	6,025	4,68
	3,96	1,52		
20	3,96	1,49	5,726	4,72
	4,06	1,48		
21	6,66	1,92	7,361	3,99

	6,72	1,84		
22	8,25	2,03	7,876	3,94
	8,3	2,08		
23	4,67	1,53	7,526	4,00
	4,47	1,72		
24	3,56	1,72	14,233	5,24
	3,63	1,64		
25	3,96	1,71	14,257	4,80
	3,84	1,67		
26	4,70	1,68	7,589	4,34
	4,89	1,74		
27	4,48	1,63	5,727	4,48
	3,91	1,72		
28	4,46	1,61	5,291	4,59
	4,43	1,61		
29	4,12	1,55	6,16	4,66
	4,13	1,55		
30	4,70	1,80	10,830	5,14
	4,47	1,76		
31	5,99	1,79	11,067	5,08
	5,38	1,80		
32	4,54	1,58	6,002	4,67
	4,28	1,60		
33	4,32	1,55	6,264	4,25
	4,33	1,53		
34	5,44	1,56	4,875	3,93
	5,42	1,59		
35	6,05	1,59	3,718	4,01
	5,97	1,50		
36	4,56	1,55	4,481	5,11
	4,74	1,52		
37	6,09	2,06	13,421	4,74
	6,8	2,38		
38	5,42	2,27	12,035	4,81
	5,2	2,04		
39	6,57	2,27	13,015	4,74
	7,4	2,48		
40	3,26	1,63	13,937	5,55
	3,15	1,57		
41	3,58	1,62	13,978	5,61
	3,42	1,58		
42	3,43	1,59	13,797	5,62
	3,48	1,19		
43	5,09	1,65	4,587	3,98
	4,70	1,83		

44	4,47	1,61	5,75	5,14
	4,58	1,62		
45	5,03	1,63	5,853	5,02
	4,79	1,64		
46	3,72	1,54	13,987	4,63
	3,68	1,51		
47	3,56	1,45	13,920	4,89
	3,46	1,43		
48	4,83	1,66	13,471	4,90
	4,91	1,7		
49	4,59	1,77	11,659	4,54
	4,91	1,90		
50	6,9	2,15	12,429	4,60
	6,4	2,00		
51	5,58	1,93	12,757	4,48
	5,45	1,92		
52	5,9	1,76	9,568	4,32
	5,8	1,85		
53	6,53	2,01	9,865	4,28
	6,1	1,88		
54	6,2	1,84	9,485	4,24
	6,2	1,64		
55	6,08	1,56	4,592	4,19
	5,99	1,54		
56	6,02	1,56	4,963	4,19
	5,81	1,68		
57	6,72	1,73	4,296	4,16
	6,52	1,70		
58	3,78	1,53	14,458	5,25
	3,73	1,51		
59	3,48	1,55	14,292	5,35
	3,76	1,57		
60	3,65	1,65	14,564	5,73
	3,82	1,63		
61	5,85	1,46	3,405	3,99
	5,77	1,49		
62	5,79	2,16	11,749	4,90
	5,66	2,12		
63	4,35	1,58	5,364	4,39
	4,42	1,56		
64	4,39	1,58	4,559	4,64
	4,06	1,67		
65	4,40	1,60	5,71	4,71
	4,55	1,61		
66	4,88	1,59	9,87	4,73

	4,35	1,46		
67	4,52	1,54	10,062	4,60
	4,76	1,60		
68	4,46	1,55	9,977	4,59
	4,80	1,64		
69	5,21	1,60	2,834	4,82
	5,24	1,58		
70	5,11	1,60	3,006	4,79
	5,13	1,57		
71	5,17	1,67	2,851	4,74
	5,11	1,67		
72	5,01	1,69	2,805	4,74
	4,44	1,72		
73	4,39	1,57	5,367	4,56
	4,43	1,60		
74	5,6	1,79	6,962	3,96
	5,6	1,83		
75	5,39	1,69	6,892	3,92
	4,84	2,21		
76	7,01	1,71	2,932	4,03
	6,95	1,74		
77	6,3	2,30	9,796	4,29
	7,0	2,5		
78	5,78	2,20	9,627	4,29
	4,72	2,47		
79	5,89	1,72	4,253	4,01
	5,78	1,84		
80	6,53	1,97	5,133	4,67
	6,3	1,82		
81	5,86	1,76	5,049	4,77
	5,48	1,71		
82	6,25	1,82	14,242	4,77
	6,62	2,02		
83	4,70	1,64	14,343	4,71
	4,69	1,64		
84	5,62	1,73	13,679	4,58
	6,05	1,82		
85	6,7	1,90	13,560	4,60
	6,8	1,92		
86	5,28	1,75	13,323	4,54
	5,34	1,74		
87	6,78	1,85	13,595	4,51
	7,1	1,95		
88	3,79	1,74	12,525	5,01
	3,55	1,65		

89	3,68	1,58	12,796	5,41
	3,48	1,60		
90	4,45	1,74	13,269	4,73
	4,36	1,74		
91	2,964	1,37	16,579	5,37
	2,884	1,389		
92	6,02	1,61	4,736	4,01
	6,22	1,64		
93	6,36	1,66	4,608	3,94
	6,49	1,61		
94	7,14	1,63	4,282	3,89
	7,11	1,67		
95	3,81	1,64	7,988	4,10
	3,86	1,76		
96	9,29	1,82	9,443	4,58
	9,23	1,83		
97	6,61	1,75	6,985	3,84
	6,50	1,67		
98	4,68	1,56	5,749	4,16
	4,62	1,58		
99	5,03	1,59	6,231	4,00
	5,09	1,59		
100	4,6	1,62	5,804	4,05
	4,44	1,58		
101	4,70	1,61	5,497	3,75
	4,73	1,59		
102	5,95	1,69	5,614	3,93
	6,17	1,68		
103	3,48	1,66	14,494	5,43
	3,59	1,67		
104	3,78	1,63	14,248	5,53
	3,19	1,77		
105	4,60	1,72	12,154	4,64
	4,71	1,71		
106	3,82	1,50	15,712	5,11
	3,85	1,50		
107	3,26	1,62	25,665	5,69
	3,15	1,58		
108	3,24	1,68	26,029	5,67
	3,39	1,67		
109	3,35	1,62	25,824	5,60
	3,29	1,61		
110	3,80	1,62	13,369	5,41
	3,70	1,66		
111	3,82	1,65	13,535	5,31

	3,72	1,73		
112	3,63	1,66	13,616	5,32
	3,21	1,84		
113	3,67	1,56	14,917	5,21
	3,57	1,54		
114	4,05	1,47	15,066	5,28
	3,90	1,49		
115	3,53	1,46	15,462	2,31
	3,56	1,50		
116	4,53	1,59	6,800	3,97
	4,61	1,64		
117	4,64	1,65	6,215	3,94
	4,69	1,59		
118	4,33	1,58		3,93
	4,24	1,61		
119	7,1	2,8	17,170	4,65
	6,8	2,69		
120	6,3	2,15	18,388	4,68
	6,59	2,18		
121	6,2	2,19	17,701	4,64
	6,4	2,21		
122	6,4	2,13	18,236	4,65
	7,3	2,5		
123	4,07	1,70	19,035	4,42
	3,94	1,72		
124	5,53	1,75	8,457	4,68
	5,35	2,04		
125	5,07	1,84	8,193	4,57
	4,77	1,81		
126	4,21	1,71	7,951	4,47
	4,40	1,69		
127	3,58	1,73	8,075	4,42
	3,69	1,69		
128	3,87	1,71	8,282	4,46
	3,93	1,76		
129	3,92	1,78	13,671	4,32
	4,01	1,71		
130	3,91	1,78	13,735	4,32
	3,97	1,76		
131	5,94	1,86	14,037	4,35
	6,06	1,84		
132	8,43	1,90	7,346	4,77
	8,5	1,98		
133	4,04	1,70	8,494	4,69
	4,19	1,66		

134	4,71	1,58	6,061	4,74
134	4,65	1,61		
135	4,71	1,61	5,505	4,77
	4,59	1,61		
136	4,45	1,57	5,862	4,79
	4,41	1,59		
137	4,27	1,89	15,541	4,55
	4,24	1,99		
138	7,1	2,13	15,383	4,58
	6,7	2,05		
139	9,2	2,27	16,378	4,64
	9,1	2,24		
140	6,05	1,89	7,827	4,73
	6,1	2,04		
141	4,98	1,60	7,805	4,61
	4,69	1,88		
142	5,57	1,68	9,741	4,83
	5,48	1,69		
143	4,37	1,68	18,118	4,73
	4,18	1,66		
144	4,38	1,68	18,255	4,68
	4,25	1,73		
145	3,87	1,62	5,772	4,58
	3,28	1,61		
146	3,95	1,50	6,752	4,50
	4,06	1,55		
147	3,57	1,55	14,831	5,55
	3,53	1,56		
148	3,27	1,57	14,798	5,42
	3,38	1,60		
149	3,32	1,59	14,590	5,32
	3,35	1,55		
150	4,74	1,92	10,398	4,44
	5,03	1,99		
151	4,89	2,02	10,461	4,48
	4,47	1,88		
152	6,17	2,23	10,806	4,83
	6,42	2,41		
153	4,27	1,60	4,792	4,71
	4,34	1,55		
154	6,4	1,86	7,594	4,87
	6,52	1,92		
155	7,03	1,96	7,483	4,57
	7,03	2,28		
156	4,48	1,78	7,678	4,53

	4,75	1,83		
157	6,2	1,96	7,662	4,54
	6,32	2,01		
158	4,418	1,962	11,785	5,39
	4,53	2,00		
159	5,42	2,06	11,574	5,17
	5,3	2,07		
160	8,57	2,04	7,616	4,82
	8,68	2,01		
161	3,58	1,85	13,427	5,48
	3,65	1,72		
162	3,59	1,67	13,768	5,41
	3,48	1,63		
163	3,55	1,63	12,662	5,36
	3,56	1,63		
164	5,1	2,3	13,934	4,84
	5,0	2,3		
165	5,4	2,2	13,896	4,75
	5,1	2,9		
166	7,1	2,5	14,07	4,54
	7,1	2,5		
167	6,93	2,09	11,488	4,38
	5,97	2,26		
168	2,80	1,50	23,083	5,47
	2,83	1,59		
169	2,89	1,46	23,055	5,57
	2,7	1,2		
170	3,14	0	28,712	5,04
	2,82	1,28		
171	2,96	1,29	28,684	5,09
	2,662	1,0		
172	2,899	1,379	23,765	5,02
	3,07	1,43		
173	2,80	1,35	19,853	5,37
	2,62	1,28		
174	3,61	1,27	24,218	5,19
	3,24	1,46		
175	3,60	1,25	23,738	4,97
	3,42	1,29		
176	2,80	1,65	26,840	5,08
	2,63	0		
177	3,019	1,525	25,716	5,24
	2,97	1,57		
178	2,862	1,380	28,530	5,71
	2,72	1,68		

179	3,08	1,35	28,371	5,58
179	2,96	1,35		
180	3,34	0	28,313	5,29
	3,17	0		
181	2,98	1,38	25,308	5,44
	2,96	1,52		
182	2,88	1,70	25,993	5,06
	2,98	1,66		
183	2,89	1,60	26,796	5,36
	2,79	0		
184	2,99	1,46	26,554	5,78
	2,60	1,66		
185	2,60	1,26	23,492	5,2
	3,12	1,37		
186	2,86	1,44	27,059	5,36
	2,47	1,57		
187	3,00	1,29	28,673	5,31
	3,11	1,34		
188	3,07	1,19	26,778	5,20
	2,88	1,44		
189	3,00	1,30	27,266	5,19
	2,882	1,418		
190	3,32	1,58	22,984	5,34
	3,50	1,42		
191	2,85	1,71	23,587	5,14
	3,04	1,60		
192	2,91	1,80	24,449	5,53
	2,72	1,90		
193	3,25	1,69	24,475	5,55
	2,61	1,95		
194	3,17	1,33	27,682	5,29
	3,21	1,29		
195	3,20	1,37	27,537	5,25
	3,20	1,34		
196	3,05	1,42	27,580	5,12
	2,51	1,6		
197	2,91	1,54	29,382	5,30
	2,89	1,53		
198	2,73	1,63	29,328	5,31
	2,81	1,47		
199	2,84	1,58	29,338	5,32
	2,50	1,40		
200	2,86	1,67	24,689	5,25
	2,97	1,57		
201	3,00	1,63	25,005	5,28

	2,91	1,50		
202	2,92	1,46	24,068	5,23
	2,694	1,539		
203	3,01	1,56	25,850	5,11
	3,16	1,51		
204	2,89	1,61	22,782	5,23
	3,09	1,55		
205	2,97	1,56	23,170	5,25
	3,24	1,42		
206	2,71	1,48	35,315	4,12
	2,76	1,47		
207	2,71	1,53	35,482	3,94
	2,59	1,49		
208	2,77	1,44	35,797	3,9
	2,14	1,45		
209	3,056	1,516	23,262	5,15
	2,91	1,54		
210	3,20	1,53	26,020	5,18
	2,96	1,48		
211	3,08	1,31	23,208	5,25
	3,128	1,316		
212	2,98	1,41	21,586	4,84
	2,71	1,33		