

Guia para determinação de prazo de validade de alimentos

Guia nº 16/2018 – versão 3



Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa

2025

1

Guia para determinação de prazo de validade de alimentos

VIGENTE A PARTIR DE 03/04/2025

Este Guia expressa o entendimento da Anvisa sobre as melhores práticas com relação a procedimentos, rotinas e métodos considerados adequados ao cumprimento de requisitos técnicos ou administrativos exigidos pelos marcos legislativo e regulatório da Agência.¹

Trata-se de instrumento regulatório não normativo, de caráter recomendatório e não vinculante, sendo, portanto, possível o uso de abordagens alternativas às proposições aqui dispostas, desde que compatíveis com os requisitos relacionados ao caso concreto. A inobservância ao conteúdo deste documento não caracteriza infração sanitária, nem constitui motivo para indeferimento de petições, desde que atendidos os requisitos exigidos pela legislação.

¹[Portaria nº 162, de 12 de março de 2021](#), que dispõe sobre as diretrizes e os procedimentos para melhoria da qualidade regulatória na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa).

Copyright©2025. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa. A reprodução parcial ou total deste documento por qualquer meio é totalmente livre, desde que citada adequadamente a fonte. A reprodução para qualquer finalidade comercial está proibida.

SUMÁRIO

1. ESCOPO	6
2. INTRODUÇÃO	6
3. BASE LEGAL	8
4. ALTERAÇÕES QUE PODEM OCORRER NOS ALIMENTOS	10
4.1. Mudanças químicas e nutricionais	10
4.2 Mudanças microbiológicas	11
4.3 Mudanças organolépticas/sensoriais	11
4.4 Fatores que afetam o prazo de validade de alimentos	12
4.4.1 Fatores intrínsecos	12
4.4.2 Fatores extrínsecos	15
5. ESTUDOS DE VIDA ÚTIL DE ALIMENTOS	16
5.1 Alimentos nos quais os patógenos são críticos	16
5.2 Alimentos nos quais micro-organismos deteriorantes são críticos	17
5.3 Alimentos nos quais compostos químicos e a degradação de nutrientes são críticos	18
5.4 Alimentos nos quais as características físico-químicas e organolépticas/sensoriais são críticas	18
6. TIPOS DE ESTUDOS PARA DETERMINAR O PRAZO DE VALIDADE DE UM ALIMENTO	19
6.1 Métodos diretos	20
6.1.1 Estudo de estabilidade de longa duração (estudo de durabilidade ou estudo em tempo real)	20
6.1.1.1 Estudos para avaliação de características químicas	22
6.1.1.2 Estudos para avaliação de características organolépticas/sensoriais	23
6.1.2 Estudos de acompanhamento	23
6.1.3 Estudo de uso	24
6.1.4 Estudo de transporte	24
6.1.5 Estudos desafio	25

6.2. Métodos indiretos	26
6.2.1 Modelos preditivos	26
6.2.2. Estudos de estabilidade acelerados	27
6.3 Modelos de estudos reduzidos	30
6.3.1 Agrupamento.....	30
6.3.1.1 Agrupamento por similaridade	31
6.3.2 Matrização	32
7. RACIONAL TÉCNICO-CIENTÍFICO PARA DETERMINAÇÃO DO PRAZO DE VALIDADE DE ALIMENTOS	33
7.1 Configuração dos estudos.....	33
8. PROTOCOLOS PARA DETERMINAÇÃO DO PRAZO DE VALIDADE.	38
8.1 Alimentos em geral.....	38
8.1.1 Determinação do prazo de validade baseado na deterioração	39
8.1.2 Determinação do prazo de validade baseado em razões de segurança ..	40
8.1.3. Determinação do prazo de validade baseado em razões nutricionais.....	41
8.2. Alimentos para fins especiais, alimentos com alegação, alimentos enriquecidos e suplementos alimentares.....	41
8.2.1 Determinação do prazo de validade para alimentos enriquecidos ou fortificados e alimentos com alegações de propriedades funcionais ou de saúde	43
8.2.2 Determinação do prazo de validade para suplementos alimentares	43
8.2.2.1 Fatores que afetam a vida útil de suplementos.....	45
8.2.3 Determinação do prazo de validade de alimentos para fins especiais (ALIFINS).....	48
8.2.3.1 Parâmetros que afetam a vida útil dos ALIFINS	49
8.2.3.2 Seleção de parâmetros para avaliação do prazo de validade de ALIFINS	51
8.2.3.3 Análise dos parâmetros	54
8.3 Recomendações gerais.....	54
9. ANÁLISE DOS DADOS E CONCLUSÃO DO ESTUDO	58

10. EXTRAPOLAÇÃO DOS DADOS	60
11. ANEXOS	61
ANEXO I - Interações químicas das vitaminas que podem afetar a estabilidade	61
ANEXO II - Comparação da estabilidade de vitaminas.....	64
ANEXO III – Alguns exemplos de métodos de conservação e seus efeitos nos micro-organismos.....	65
ANEXO IV - Resumo não exaustivo de micro-organismos patogênicos de relevancia para definição de vida útil para diferentes categorias de produtos perecíveis.	66
ANEXO V - Principais micro-organismos deteriorantes e alimentos embalados relevantes	68
Anexo VI - Árvores de decisão para definição do tipo de determinação do prazo de validade	69
Figura VI.1 - Árvore de decisão para aplicação do prazo de validade por razões nutricionais do consumidor.....	70
Figura VI.2 - Árvore de decisão para aplicação do prazo de validade por razões de segurança ou deterioração.....	71
ANEXO VII - Indicação de parâmetros que podem ser considerados nos estudos de estabilidade de suplementos.....	76
ANEXO VIII – Lista não exaustiva de informações que devem constar no documento apresentado à autoridade sanitária para subsidiar o prazo de validade definido	78
12 GLOSSÁRIO	79
13 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	81

1. ESCOPO

Este guia traz orientações sobre os aspectos que devem ser considerados para a determinação de prazos de validade de alimentos. Trata-se de um documento baseado em referências internacionais, nomeadamente as publicações das autoridades reguladoras da Austrália e da Nova Zelândia, da Irlanda e da **International Alliance of Dietary/Food Supplements Associations (IADSA)**, dentre outras.

As informações descritas neste documento refletem o entendimento da Anvisa e têm o propósito de servirem de referência à aplicação dos requisitos previstos em legislação, no âmbito da competência da vigilância sanitária. São recomendações e exemplos que buscam auxiliar a determinação do prazo de validade dos alimentos.

Nesta 3ª versão, o documento foi revisado e reestruturado com o objetivo de tornar mais simples a consulta, melhorar a abordagem de procedimentos, métodos e protocolos e incluir o resultado da análise das contribuições recebidas durante o período de consulta pública.

Assim, o documento foi reestruturado mantendo, entretanto, as duas partes: a primeira discorre, de forma não exaustiva, sobre conceitos e definições básicas e teóricas das diferentes alterações que podem afetar um alimento; já a segunda parte inclui os diferentes métodos e protocolos que podem ser utilizados para a definição do prazo de validade.

Nessa versão, renomeou-se o grupo de alimentos para consumidores com necessidades específicas em três grupos para contemplar as especificidades de cada um deles, assim como, novas figuras, anexos e referências bibliográficas foram introduzidas trazendo informações complementares.

2. INTRODUÇÃO

O prazo de validade é o intervalo de tempo no qual o alimento permanece seguro e adequado para consumo, desde que armazenado e transportado de acordo com as condições estabelecidas pelo fabricante. Isso significa que o alimento deve:

- a. permanecer seguro para o consumo, ou seja, não causar infecções e intoxicações alimentares devido a micro-organismos patogênicos ou à produção de toxinas (bacterianas ou fúngicas) durante o armazenamento; e

- b. manter suas características de composição e qualidade, ou seja, não apresentar degradação significativa de nenhum nutriente ou constituinte, considerando os requisitos estabelecidos nos regulamentos técnicos e as regras de rotulagem definidas na legislação.

O foco para a determinação da validade dos alimentos deve ser a preservação da segurança e adequação dos alimentos, com especial atenção a indivíduos mais vulneráveis ou com necessidades nutricionais específicas. Entretanto, não podem ser desconsiderados os aspectos que impactam na qualidade do produto, incluindo características sensoriais, de maneira a atender as necessidades e expectativas do consumidor.

O prazo de validade começa a contar a partir do momento em que o alimento é fabricado. Compreender e respeitar este prazo promove uma alimentação saudável, evita doenças transmitidas por alimentos e reduz o desperdício alimentar.

Ressalta-se que a determinação desse prazo deve ser realizada para todos os alimentos, com exceção daqueles que estão dispensados da obrigatoriedade de declarar essa informação no rótulo, conforme a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 727/2022.

A Anvisa não estipula prazo de validade para os alimentos, uma vez que o fabricante é o responsável pela garantia da segurança e manutenção das características dos seus produtos dentro do prazo de vida útil declarado nos rótulos. Além disso, a validade tem relação direta com as práticas produtivas podendo, inclusive, variar entre produtos com mesma composição e classificação, segundo o padrão de identidade e qualidade.

Produtos expostos ao consumo e que apresentem problemas de estabilidade físico-química, organolépticas/sensoriais ou microbiológica, além de descumprirem os requisitos técnicos de qualidade podem colocar em risco a saúde do consumidor configurando infração sanitária, conforme Lei nº 6437/1977. Esta Lei, que disciplina o processo administrativo sanitário, também tem um inciso específico que define como infração sanitária importar, exportar, expor ao consumo ou entregar produtos com prazo de validade expirado ou aplicar aos produtos novas datas, após a expiração da validade.

Assim, embora o estabelecimento do prazo de validade esteja a encargo do fabricante, os demais agentes da cadeia produtiva compartilham a responsabilidade pela sua garantia ao longo das etapas de distribuição até a comercialização. Em respeito a este compromisso, as empresas devem

avaliar a estabilidade de seus produtos antes de disponibilizá-los ao consumo, considerando os diversos fatores que afetam a preservação da sua qualidade e segurança.

3. BASE LEGAL

Os alimentos vendidos no Brasil devem atender aos requisitos estabelecidos em Lei e nos regulamentos técnicos editados pela Anvisa ou por outros agentes públicos reguladores. A seguir são apresentados alguns marcos normativos de relevância para construção deste guia.

A Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1990, conhecida popularmente como Código de Defesa do Consumidor (CDC), estabelece que na oferta e na apresentação de produtos devem ser asseguradas informações corretas, claras, precisas, ostensivas e em língua portuguesa sobre os prazos de validade. O CDC define, ainda, que os fornecedores devem responder solidariamente pelos vícios que tornem os produtos impróprios ao consumo, incluindo os produtos comercializados com validade vencidas.

A Resolução CISA/MA/MS nº 10, de 31 de julho de 1984, elaborada conjuntamente pelos Ministérios da Agricultura e da Saúde, que dispõe sobre instruções para conservação nas fases de transporte, comercialização e consumo dos alimentos perecíveis, industrializados ou beneficiados, acondicionados em embalagens, exige que as validade dos alimentos sejam definidas pelas empresas produtoras antes da comercialização.

A obrigatoriedade de declaração do prazo de validade na rotulagem dos alimentos também está prevista na Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 727, de 1º de julho de 2022, que define os requisitos sobre conteúdo, formato e legibilidade. Está expresso neste Regulamento que os rótulos dos alimentos embalados não podem conter informação que possa levar o consumidor a equívoco, erro, confusão ou engano em relação à verdadeira validade do produto. Esta Resolução estabelece, ainda, uma lista de alimentos isentos da obrigatoriedade da declaração do prazo de validade e regras relacionadas às instruções de conservação, preparo e uso do alimento, nos casos de produtos que exijam condições especiais para sua conservação ou que possam sofrer alterações após a abertura da embalagem.

A cadeia produtiva de alimentos deve assegurar que os alimentos, durante seu prazo de validade, cumpram com os requisitos estabelecidos nos respectivos padrões de identidade e qualidade e padrões microbiológicos fixados pela Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 724, de 1º de julho de 2022 e Instrução Normativa (IN) nº 161, de 1º de julho de 2022.

Quadro 1. Principais marcos regulatórios sobre prazo de validade de alimentos

<p>LEI N. 8.078, DE 11 DE SETEMBRO DE 1990:</p> <p>Art. 18. Os fornecedores de produtos de consumo duráveis ou não duráveis respondem solidariamente pelos vícios de qualidade ou quantidade que os tornem impróprios ou inadequados ao consumo a que se destinam ou lhes diminuam o valor, assim como por aqueles decorrentes da disparidade, com a indicações constantes do recipiente, da embalagem, rotulagem ou mensagem publicitária, respeitadas as variações decorrentes de sua natureza, podendo o consumidor exigir a substituição das partes viciadas.</p> <p>(...)</p> <p>§ 6º São impróprios ao uso e consumo:</p> <p>I - os produtos cujos prazos de validade estejam vencidos;</p> <p>(...)</p> <p>Art. 31. A oferta e apresentação de produtos ou serviços devem assegurar informações corretas, claras, precisas, ostensivas e em língua portuguesa sobre suas características, qualidades, quantidade, composição, preço, garantia, prazos de validade e origem, entre outros dados, bem como sobre os riscos que apresentam à saúde e segurança dos consumidores.</p> <p>Parágrafo único. As informações de que trata este artigo, nos produtos refrigerados oferecidos ao consumidor, serão gravadas de forma indelével.</p> <p>(Parágrafo incluído pela LEI N. 11.989, DE 27 DE JULHO DE 2009).</p> <p>CISA/MA/MS n. 10, DE 31 DE JULHO DE 1984:</p> <p>2. As condições para a conservação serão estabelecidas pelas empresas produtoras, em consonância com as técnicas do processo industrial que adotarem, de modo a oferecer orientação segura para que o alimento não se torne impróprio para consumo.</p> <p>3. Para os efeitos desta Resolução, considera-se próprio para consumo o alimento que, mantido sob condições adequadas de conservação, preserva suas propriedades nutritivas e não expõe a agravos à saúde da população.</p> <p>(...)</p> <p>7. O prazo de validade será indicado pelas empresas produtoras em função as garantias de conservação dos alimentos oferecidas pelas técnicas de industrialização por elas aplicadas e do risco de se encontrarem em desacordo com o disposto no item 3 desta Resolução, antes de serem adquiridos para consumo.</p> <p>RESOLUÇÃO - RDC n. 727, DE 01 DE JULHO DE 2022:</p> <p>Art. 4º A rotulagem dos alimentos embalados não pode:</p> <p>I - conter vocábulos, sinais, denominações, símbolos, emblemas, ilustrações ou outras representações gráficas que possam tornar a informação falsa, incorreta, insuficiente, ou que possa induzir o consumidor a equívoco, erro, confusão ou engano em relação à verdadeira natureza, composição, procedência, tipo, qualidade, quantidade, validade, rendimento ou forma de uso do alimento.</p> <p>(...)</p> <p>Art. 7º A rotulagem de alimentos embalados deve apresentar, obrigatoriamente, a declaração das seguintes informações:</p> <p>(...)</p> <p>XI - prazo de validade;</p> <p>(...)</p> <p>Art. 31. A declaração do prazo de validade deve:</p> <p>I - ser precedida por uma das seguintes expressões:</p> <p>a) "consumir antes de...";</p> <p>b) "válido até...";</p> <p>c) "validade...";</p> <p>d) "val...";</p> <p>e) "vence...";</p> <p>g) "vto...";</p> <p>h) "venc..."; ou</p> <p>i) "consumir preferencialmente antes de...".</p> <p>f) "vencimento...";</p> <p>II - ser seguida da declaração da data de validade, contendo, pelo menos:</p> <p>a) o dia e o mês, para produtos que tenham prazo de validade igual ou inferior a três meses; ou</p> <p>b) o mês e o ano, para produtos que tenham prazo de validade superior a três meses.</p> <p>Parágrafo único. A declaração de que trata o inciso II desse artigo:</p> <p>I - deve ser realizada em algarismos, em ordem numérica não codificada, exceto pelo mês que pode ser abreviado por meio das suas três primeiras letras; e</p> <p>II - pode ser substituída:</p> <p>a) pela indicação clara do local onde está declarada a data de validade, conforme inciso II desse artigo;</p> <p>b) por perfurações ou marcas indelíveis com a data de validade, conforme inciso II desse artigo; e</p> <p>c) pela expressão "fim de...", seguida do ano, no caso de alimentos com prazo de validade vencendo em dezembro.</p> <p>(...)</p> <p>Art. 32. No caso de alimentos que exijam condições especiais para sua conservação ou que possam sofrer alterações após a abertura da embalagem, a declaração de que trata o art. 31 desta Resolução deve ser acompanhada:</p> <p>I - de informações sobre as precauções necessárias para manutenção das características do alimento;</p> <p>II - da indicação das temperaturas máxima e mínima para a conservação do alimento; e</p> <p>III - do tempo que o fabricante, produtor ou fracionador garante sua durabilidade nessas condições.</p> <p>Parágrafo único. No caso dos alimentos congelados:</p> <p>I - deve ser indicado que o prazo de validade varia segundo a temperatura de conservação; e</p> <p>II - pode ser indicado o prazo de validade para cada temperatura, por meio das expressões "validade a -18º C (freezer): ...", "validade a -4º C (congelador): ...", e "validade a 4º C (refrigerador): ...", seguida da declaração da data de validade, conforme inciso II do art. 31 desta Resolução.</p> <p>RESOLUÇÃO - RDC N. 724, DE 01 DE JULHO DE 2022.</p> <p>Art. 5º Os padrões microbiológicos dos alimentos estão definidos na Instrução Normativa - IN nº 161, de 1º de julho de 2022.</p> <p>Art. 6º A cadeia produtiva de alimentos deve:</p> <p>I - assegurar que os alimentos, durante seu prazo de validade, cumpram com os padrões microbiológicos de que trata o art. 5º desta Resolução.</p>

4. ALTERAÇÕES QUE PODEM OCORRER NOS ALIMENTOS

A maioria dos alimentos é perecível por natureza e passa por mudanças durante a manipulação das matérias-primas, processamento, transporte e armazenamento pelo fabricante, distribuidor e consumidor.

Durante o desenvolvimento de um produto e antes de realizar qualquer tipo de teste para estabelecer a validade de um alimento, é essencial compreender as interações entre os fatores intrínsecos e extrínsecos que possam causar alterações no produto durante sua fabricação. Nesse caminho, é recomendável que sejam realizadas análises de pureza e pesquisas sobre os ingredientes que compõem o alimento, de forma a garantir que todas as interações esperadas sejam consideradas durante o desenvolvimento do produto. Estas informações são especialmente úteis na inclusão de possíveis medidas de controle que podem evitar ou minimizar os efeitos deletérios decorrentes destas reações.

4.1. Mudanças químicas e nutricionais

Há uma diversidade de reações que podem alterar a qualidade e a segurança de um alimento durante fabricação e a estocagem, tais como o escurecimento não enzimático, escurecimento enzimático, oxidação, rancificação, interações com metais, isomerização de lipídeos, desnaturação de proteínas, ligações cruzadas entre aminoácidos, dentre outras. Algumas dessas alterações podem impactar apenas na qualidade dos alimentos, entretanto, há outras, que podem atuar na degradação de nutrientes (vitaminas instáveis) ou formação de compostos tóxicos, que podem representar um risco à saúde. Alguns desses processos de deterioração são perceptíveis com metodologias de análises organolépticas/sensoriais, mas dificilmente serão detectados por métodos clássicos de análise de composição centesimal.

A taxa de degradação dependerá da estabilidade do nutriente ou constituinte em particular, além dos fatores intrínsecos e extrínsecos do alimento.

Interações químicas entre ingredientes também podem afetar significativamente a estabilidade de um alimento. Alguns exemplos bem estabelecidos de interações entre vitaminas, entre vitaminas e minerais e conservantes que podem afetar a estabilidade dos alimentos estão descritos no Anexo I - Interações químicas das vitaminas que podem afetar a estabilidade.

4.2 Mudanças microbiológicas

As mudanças microbiológicas dos alimentos resultam em efeitos desejáveis ou indesejáveis e, neste último caso, podem afetar a qualidade ou a segurança do produto. Entre os micro-organismos que interferem na vida útil dos alimentos, destacam-se as bactérias e os fungos.

São três as mudanças que podem ocorrer com os micro-organismos nos alimentos: sobrevivência, multiplicação e morte, sendo a multiplicação o fator de maior importância na redução da vida útil da maioria dos alimentos. A multiplicação de micro-organismos deteriorantes pode levar a alteração da aparência, sabor/odor, cor e textura dos alimentos; já os patógenos poderão atingir populações suficientes para comprometer a segurança do alimento, mesmo sem causar alterações sensoriais perceptíveis. Todavia, a morte dos micro-organismos pode limitar a vida útil de determinadas categorias de alimentos, tais como aqueles adicionados de probióticos.

Face ao dinamismo da contaminação microbiana nos alimentos é fundamental quantificar o impacto individual e combinado dos fatores intrínsecos e extrínsecos para a otimização de formulações e/ou para determinação precisa da vida útil dos alimentos.

4.3 Mudanças organolépticas/sensoriais

Com o decorrer do tempo podem ocorrer mudanças nos aspectos sensoriais dos alimentos, como alterações na aparência, textura, sabor e odor, devido a alterações físicas, microbiológicas, químicas e bioquímicas, que irão impactar na sua vida útil. Por exemplo, a exposição a luz pode levar à oxidação e hidrólise de lipídeos e vitaminas, resultando em *off-flavors* e rancidez.

Outras reações de oxidação podem resultar no escurecimento de produtos cárneos e sucos vegetais; a sedimentação e o escurecimento enzimático ou não enzimático podem resultar, respectivamente, em separação de fases e em alteração de cor, além de alterações em outros aspectos. Mesmo que essas alterações não sejam nocivas à saúde, podem gerar percepção de perda de qualidade do produto, impactando na sua aceitação.

Dessa forma esses parâmetros são considerados fatores chave de decisão para a definição do prazo de validade.

4.4 Fatores que afetam o prazo de validade de alimentos

Vários são os fatores que interferem na estabilidade dos produtos e que são relevantes no estabelecimento do prazo de validade. Esses fatores são classificados como fatores intrínsecos, que se relacionam ao próprio alimento, e fatores extrínsecos, que se relacionam com o ambiente ou o tipo de processamento. A combinação desses fatores em um alimento o tornará mais ou menos suscetível às alterações ao longo da cadeia produtiva, ou seja, desde a fabricação até o consumo. Assim, ao entender a influência de cada um desses fatores, é possível estimar os aspectos que impactarão na estabilidade do produto e adotar medidas para prolongar a validade de um produto.

O quadro 2 exemplifica alguns fatores intrínsecos e extrínsecos relacionados aos alimentos.

Quadro 2. Fatores intrínsecos e extrínsecos em alimentos.

Fatores intrínsecos	Fatores extrínsecos
<ul style="list-style-type: none">• atividade de água• potencial redox• pH / acidez• qualidade das matérias-primas• composição/ formulação• presença de micro-organismos• uso de aditivos alimentares• estrutura/ estado físico do alimento• presença de compostos antimicrobianos	<ul style="list-style-type: none">• processamento• temperatura• umidade relativa• tipo de embalagem• luz• atmosfera na embalagem

A alteração da composição, do processamento, da embalagem ou do método de conservação do alimento pode interferir nestes fatores e, inadvertidamente, levar a uma diminuição da estabilidade do alimento, com conseqüente efeitos na sua segurança, adequação ou qualidade ao longo do tempo. Portanto, modificações na cadeia produtiva de um alimento devem ser precedidas de avaliação dos seus impactos na estabilidade do produto e, conseqüentemente, no prazo de validade.

4.4.1 Fatores intrínsecos

São diversos os fatores intrínsecos que podem influenciar significativamente no prazo de validade dos alimentos. Abaixo, estão apresentados os fatores de maior relevância, com explicações sobre a sua relação com a estabilidade dos alimentos.

- **Atividade de água (a_w).** A atividade de água é o parâmetro que mede a disponibilidade de água livre de um determinado alimento para reações e contribui significativamente para

muitos dos processos responsáveis pela perda ou degradação de nutrientes ao longo da vida útil do produto. Alta atividade de água aumenta a perecibilidade do produto, pois fornece substrato para reações físico-químicas e multiplicação microbiana. Por outro lado, a atividade de água muito reduzida também pode gerar efeitos negativos em determinados produtos, como o aumento de reações de rancidez oxidativa em produtos que possuem maior concentração de lipídios. Embora este seja um fator intrínseco do alimento, é importante ter em mente que a atividade de água pode ser alterada ao longo do processo produtivo do alimento, por exemplo, mediante desidratação, adição de sal ou açúcar, ou por congelamento.

- **Potencial redox (Eh) e oxigênio dissolvido.** Potencial redox é a medida da facilidade que uma substância tem de ganhar ou perder elétrons (oxidar ou reduzir) e diferentes compostos tem a capacidade de influenciar o Eh de um alimento. Eh é medido em milivolts (mv) e seus valores nos alimentos são muito variáveis e influenciam diretamente o tipo de micro-organismos que podem se desenvolver (micro-organismos aeróbios podem se multiplicar entre +500 -+300 mv; anaeróbios facultativos entre +300 e -100 mv e os anaeróbios entre +100 e -250 mv). Já a quantidade de oxigênio dissolvida em um alimento rico em gorduras pode influenciar as reações que causam rancidez, relacionada à deterioração devido a formação de compostos voláteis com sabores e odores desagradáveis (*off-flavours*).

- **pH/ acidez:** O pH de uma formulação é um dos fatores importantes associados à vida útil do alimento na medida em que interfere na degradação de uma série de componentes. Por exemplo, cerca de metade das vitaminas são suscetíveis a condições de baixo pH, enquanto a outra metade é afetada pelo pH elevado. O pH de uma formulação também pode definir a microbiota e ter um efeito na estabilidade de vários outros ingredientes e aditivos, como os corantes. A maioria das bactérias de interesse em alimentos se desenvolvem em pH neutro, em torno de 6,5 a 7,5, mas seu desenvolvimento ao longo do tempo pode levar a variação do pH. O mesmo pode ocorrer como resultado de reações químicas. Por isso, este é um fator que deve ser acompanhado ao longo do tempo, reconhecendo os efeitos decorrentes de sua variação no alimento.

- **Qualidade das matérias-primas e ingredientes:** A estabilidade e qualidade das matérias primas e ingredientes assumem papéis críticos na garantia do prazo de validade dos alimentos que compõem. É necessário que a matéria-prima e os ingredientes utilizados atendam às especificações definidas pelo fabricante, incluindo composição, pureza e características físico-química e microbiológicas. Eventuais variações podem impactar negativamente no prazo de validade e precisam ser avaliadas. Quando a matéria-prima é de matriz complexa ou produtos *in natura*, há outros elementos que interferem na estabilidade e são de interesse na garantia da consistência do

prazo de validade, compreendendo diferenças sazonais; origem; condições de colheita, extração ou fabricação; integridade; transporte; dentre outros.

- **Composição/formulação do produto.** A remoção, a inclusão, a substituição ou alteração na concentração de ingredientes pode impactar positiva ou negativamente na estabilidade do alimento e, por conseguinte, trazer efeitos no prazo de validade estabelecido. Além disso, devem ser considerados os efeitos desta modificação nas características do alimento como um todo. Por exemplo, reduzir a quantidade de sal adicionado pode aumentar a atividade de água do alimento e o tornar mais vulnerável à multiplicação de determinados micro-organismos. Alterações na formulação podem ser especialmente relevantes, já que vários aditivos têm função tecnológica relacionados à ampliação da estabilidade dos alimentos.
- **Presença de micro-organismos:** Os micro-organismos são agentes que interferem na estabilidade dos alimentos, podendo ter origem nos insumos usados na formulação, serem utilizados como ferramentas biotecnológicas ou serem introduzidos como resultado do processamento. Eles podem ser separados em 3 grupos: os com fins biotecnológicos, os que comprometem a qualidade (causam alterações físicas, químicas e sensoriais) e os que comprometem a segurança do alimento (podem causar doença de origem alimentar). O primeiro grupo é desejável e importante para as características sensoriais do produto, além de auxiliar na preservação do alimento, portanto, sua multiplicação é desejável. Já os demais grupos necessitam de controles específicos para que não sejam introduzidos no processo/alimento e que, se presente, não consigam atingir populações que coloquem em risco o produto (deteriorantes) ou o consumidor (patógenos).
- **Estrutura/Forma de apresentação do produto.** A forma que o alimento se apresenta, por exemplo no estado líquido, semissólido ou sólido; *in natura* ou congelado; moído, picado ou inteiro etc. é outro fator que influencia no prazo de validade, inclusive por determinar características físico-químicas que são relevantes para a sua estabilidade. Até o formato do alimento pode ser relevante, já que define sua superfície. Por isso, modificações na forma de apresentação e formato do alimento implicam a necessidade de avaliação dos seus efeitos sobre o prazo de validade.
- **Presença de compostos antimicrobianos.** Diversos alimentos contêm, naturalmente em sua composição, substâncias que podem interferir na multiplicação de micro-organismos. Esses compostos podem também ser adicionados aos alimentos como recurso tecnológico, para melhorar sua qualidade, inocuidade ou vida útil.

4.4.2 Fatores extrínsecos

A estabilidade de um alimento não é determinada apenas por suas características próprias, o ambiente que o produto estará exposto ao longo da cadeia produtiva e os tipos de processamentos aplicados são igualmente relevantes. Estes fatores são conhecidos como extrínsecos e estão exemplificados abaixo:

- **Processamento.** O tipo de processamento aplicado ao produto influencia significativamente na validade do alimento. Deve-se ponderar que o processamento pode ampliar o prazo de validade de um alimento, mas também pode aumentar a exposição do alimento a fatores que favorecem a alterações físico-químicas, na carga microbiana e na composição nutricional, impactando de forma negativa no prazo de validade.
- **Temperatura de processamento/armazenamento.** O binômio tempo x temperatura de processamento térmico está diretamente relacionado com a vida útil do alimento e sua segurança. A temperatura do ambiente de armazenamento também exerce influência sobre a multiplicação microbiana e a taxa de deterioração causada por mecanismos físicos ou químicos nos alimentos. De modo geral, temperaturas mais elevadas possibilitam o aumento da taxa das reações químicas, enquanto a redução da temperatura leva tanto a redução das reações químicas quanto da velocidade de multiplicação de grande parte dos micro-organismos. Todavia, atenção deve ser dada aos alimentos que empregam a refrigeração como forma de controle e extensão do prazo de validade, já que alguns grupos de micro-organismos podem multiplicar mesmo a baixas temperaturas (<5°C).
- **Umidade relativa:** A umidade relativa está diretamente relacionada à atividade de água de um alimento, ou seja, afeta diretamente a multiplicação microbiana e a velocidade das reações físico-químicas. Um alimento em embalagem não impermeável se mantido em ambiente com umidade relativa inferior à sua irá perder água e o valor de a_w diminuirá; quando armazenado em ambiente com UR maior que a sua, ele tenderá a absorver água do ambiente e sua a_w irá aumentar.
- **Exposição à luz:** A luz é um fator crítico na estabilidade de um alimento, particularmente o componente ultravioleta. A luz pode desempenhar vários papéis na deterioração de um produto e afetar suas propriedades sensoriais e nutricionais (por exemplo, acelerando as reações dos radicais livres que levam à degradação da gordura). A exposição à luz também pode reduzir a atividade de uma série de vitaminas, como a riboflavina e as vitaminas A (como retinol ou palmitato de retinol), D e K. Uma série de corantes como as clorofilas, o

açafrão (cúrcuma) e a betanina também apresentam fraca estabilidade à luz.

- **Tipo de embalagem e atmosfera.** A composição gasosa ao redor do alimento define os tipos de micro-organismos capazes de sobreviver e multiplicar naquele produto. Em presença de oxigênio, os micro-organismos aeróbios irão prevalecer, e em ausência os anaeróbios terão prioridade. A embalagem tem um papel primordial de proteger um alimento após o processamento, contribuindo com a prolongação do prazo de validade. Quanto maior a barreira, menor será a interação do alimento com os fatores extrínsecos, como umidade, luz e oxigênio, e melhores serão os seus resultados na prolongação da estabilidade do produto. Uma intervenção comum é a alteração da atmosfera envolvendo o alimento-(embalagem a vácuo ou com atmosfera modificada), com vistas ao controle da multiplicação dos micro-organismos. O oxigênio pode afetar também as reações de oxidação-redução que causam rancidez e resultam na alteração de sabor (sabor de alimento deteriorado). Gorduras e óleos são suscetíveis à oxidação, o que pode causar ranço por meio da geração de hidroperóxidos, levando a aldeídos e cetonas menores e voláteis e sabores e odores desagradáveis associados (*off-flavours*).

A influência dos fatores extrínsecos não está restrita à produção dos alimentos e deve ser considerada ao longo de toda a cadeia produtiva, incluindo o momento do consumo. Por isso, a legislação sanitária obriga aos fabricantes que incluam no rótulo orientações sobre as condições especiais que o alimento deve ser mantido, inclusive após a abertura da embalagem.

5. ESTUDOS DE VIDA ÚTIL DE ALIMENTOS

Um estudo de vida útil de alimentos deve levar em consideração os aspectos microbiológicos, físico-químicos, nutricionais e sensoriais. Dessa forma, devido às características específicas do alimento, os fatores mais relevantes devem ser considerados para a determinação do seu prazo de validade.

5.1 Alimentos nos quais os patógenos são críticos

Se um micro-organismo patogênico for capaz de atingir populações críticas em um alimento, com possibilidade de trazer danos à saúde do consumidor, antes de apresentar alterações sensoriais, a bactéria patogênica deve ser considerada o fator limitante para a vida útil do produto. A composição do alimento, o tipo de processamento, sistemas de embalagem, condições de estocagem e uso pretendido são fatores que podem influenciar na multiplicação de micro-organismos.

Dentre os fatores intrínsecos, pH e atividade de água são os principais parâmetros que podem influenciar na multiplicação de patógenos. Alimentos com pH de equilíbrio final acima de 4,6 e/ou atividade de água acima de 0,85 são mais sujeitos a multiplicação de patógenos caso as condições de processamento, e a embalagem utilizada, não garantam a sua segurança. Alimentos que apresentam pH >4,6 e/ou $a_w > 0,85$ e que necessitam de controle de temperatura durante sua comercialização, ou são alimentos prontos para o consumo, são ainda mais suscetíveis à multiplicação de patógenos.

Se pH e/ou a_w forem, respectivamente, menores que 4,6 e 0,85, bactérias patogênicas não serão críticas para a vida útil desse alimento. Isso também é válido para alimentos que apresentam pH > 4,6 e/ou $a_w > 0,85$ submetidos a processos térmicos (ou equivalentes) e embalados sob condições assépticas que não demandam controle de temperatura durante estocagem e comercialização.

A definição do patógeno crítico para cada produto deve levar em consideração matéria prima, formulação, tipo de processamento, sistema de embalagem, condições de estocagem e uso pretendido. No Anexo IV encontra-se uma lista não exaustiva de micro-organismos patogênicos relevantes para a vida útil de diferentes grupos de alimentos perecíveis.

5.2 Alimentos nos quais micro-organismos deteriorantes são críticos

A deterioração microbiana dos alimentos pode ser causada por bactérias, fungos filamentosos e leveduras, que podem se desenvolver em uma ampla faixa de parâmetros intrínsecos, extrínsecos e suas combinações.

De maneira geral quanto maior a atividade de água mais competitivas serão as bactérias frente a fungos filamentosos e leveduras. Em produtos com alta atividade de água (>0,95) mas com pH < 4,6 as leveduras são mais competitivas. Com a diminuição de pH e da atividade de água os fungos filamentosos tendem a ser os micro-organismos que limitam a vida-útil dos alimentos.

Um conceito importante para entender a deterioração microbiana de alimentos é a definição de micro-organismo deteriorante específico (do inglês *specific spoilage organism* – SSO). Esse termo é usado para identificar/definir grupos de micro-organismos específicos que dominam a microbiota e são os principais responsáveis pela deterioração de um determinado alimento. A predominância de um micro-organismo deteriorante específico é função da combinação de composição do alimento, tipo de processamento, sistema de embalagem e condição de estocagem.

No Anexo V pode ser encontrada uma lista dos principais micro-organismos deteriorantes e de alimentos envasados relacionados.

5.3 Alimentos nos quais compostos químicos e a degradação de nutrientes são críticos

O processamento pode modificar macro e micronutrientes nos alimentos. Para os macronutrientes essa alteração pode não ser perceptível em termos de sua composição nutricional, mas para as vitaminas as alterações são sensíveis e podem gerar mudanças no seu conteúdo. Alguns alimentos podem ser mais críticos com relação às reações químicas e alterações nutricionais, principalmente devido à sua composição, finalidade ou declaração de nutrientes em seu rótulo.

Durante a vida útil a perda de nutrientes também é crítica devendo ser monitorados os parâmetros pertinentes, determinados pelo próprio fabricante em função do conhecimento da composição do produto. Dessa forma, é fundamental conhecer a composição química/nutricional dos alimentos a serem avaliados para que se possa determinar quais fatores podem ser críticos a eles. Dependendo da natureza dos produtos, várias propriedades ou índices de qualidade devem ser monitorados experimentalmente, sendo necessário um desenho experimental que considere as variáveis críticas.

5.4 Alimentos nos quais as características físico-químicas e organolépticas/sensoriais são críticas

Durante o processamento e armazenamento de alimentos fatores como, por exemplo, aparência, cor, sabor, odor, textura, desintegração, friabilidade e outros, são suscetíveis a mudanças e podem ser motivo de rejeição de um produto por parte do consumidor ou provocar a percepção de perda de qualidade do produto.

Para os alimentos nos quais as características organolépticas/sensoriais são críticas, os testes de estabilidade devem ser voltados àquelas características mais importantes, ou pertinentes, determinadas pelo fabricante em função de seu conhecimento do comportamento esperado do produto.

O tipo de testes organolépticos/sensoriais deve ser escolhido em função das características a serem monitoradas, do tipo de produto e do tipo de alteração mais característica no produto em questão.

No ANEXO VI estão árvores de decisão que podem ser empregadas para a definição do tipo de deterioração que é importante para o produto.

6. TIPOS DE ESTUDOS PARA DETERMINAR O PRAZO DE VALIDADE DE UM ALIMENTO

É possível realizar estudos utilizando métodos diretos e indiretos para estabelecer prazos de validade de alimentos. Independentemente do método a ser empregado, deve-se atentar às condições para a execução do estudo, garantindo que o laboratório interno ou prestador de serviços siga as boas práticas laboratoriais, principalmente no âmbito de controle de temperatura e umidade definidas.

Os métodos diretos podem demorar mais tempo, mas são mais precisos, pois nesses estudos são utilizadas condições de armazenamento realistas e definidas.

Os métodos indiretos são mais rápidos, porém menos precisos, o que significa que pode haver necessidade de um ajuste na determinação da validade do alimento quando ele já estiver sendo comercializado. É interessante que resultados obtidos através dos métodos indiretos sejam confirmados e validados com dados de estudos de longa duração ou de acompanhamento.

Nos estudos para determinação do prazo de validade, deve-se levar em conta a possível variabilidade entre lotes de produtos e as condições de armazenamento e distribuição. Neste último caso, pode-se citar algumas emulsões que podem ser afetadas negativamente por serem submetidas à agitação durante a distribuição e transporte.

Durante a fase de desenvolvimento de um produto, considera-se o uso de princípios de estabilidade por desenho, avaliando o impacto dos componentes na sua validade. Isso inclui fatores como a interação entre os componentes, o comportamento frente a parâmetros críticos como temperatura, umidade, luz, e as propriedades de barreira da embalagem. A realização dessa avaliação pode ajudar a evitar possíveis falhas nos estudos futuros que determinam o prazo de validade.

De modo geral, a determinação do prazo de validade de um alimento deve considerar o produto fabricado em condições equivalentes às comerciais e, recomenda-se que estudos sejam realizados durante as etapas de desenvolvimento do produto. Assim, será possível realizar mudanças na formulação, processamento ou embalagem se a vida útil for menor que a esperada ou se houver variações inaceitáveis entre os lotes.

Não obstante, antes de empreender qualquer investigação para determinar o prazo de validade em um alimento, é importante garantir que o processamento produz consistentemente um alimento seguro com as mesmas características, como por exemplo acidez e umidade. Isso pode ser conseguido por meio de um programa de Análise de Perigo e Pontos Críticos de Controle (APPCC) e de estudos de validação do processo produtivo.

6.1 Métodos diretos

Os métodos diretos envolvem o acompanhamento e análise da qualidade do produto em estudo, sob condições controladas de armazenamento, e exigem que os alimentos sejam armazenados por um intervalo de tempo equivalente ou maior que o prazo de validade pretendido, para observar, testar e registrar mudanças que venham a ocorrer nas características dos produtos. A partir destas informações, o prazo de validade pode ser estimado.

Esses métodos são considerados os mais precisos para estabelecer o prazo de validade de um alimento. Alguns exemplos de métodos diretos incluem estudos de estabilidade de longa duração, estudos de desafio, estudo de acompanhamento, estudos de uso e estudos de transporte.

6.1.1 Estudo de estabilidade de longa duração (estudo de durabilidade ou estudo em tempo real)

Esses estudos se baseiam na exposição dos alimentos, não inoculados intencionalmente, às condições de distribuição, comercialização e consumo. Tais métodos também podem ser usados quando a vida útil do alimento for limitada por multiplicação bacteriana e/ou fúngica, resultando em sua deterioração. Quando a multiplicação de patógenos for esperada, os testes-desafio devem ser usados (seção 6.2.1).

Apesar desses testes fornecerem resultados mais precisos que os métodos indiretos, eles normalmente demandam longos períodos de testes. Eles também tendem a apresentar um custo elevado devido às demandas por espaço, controle estrito das condições normais/ simuladas de estocagem e insumos para análises microbiológicas. Testes acelerados tem aplicação limitada para estudos microbiológicos.

Para condução de testes microbiológicos de avaliação da vida útil em tempo real é primordial:

- a. Conhecer os possíveis contaminantes microbianos que poderão deteriorar o produto para definição de frequência e quantidade de amostras a serem analisadas ao longo da vida útil

- e para seleção de meios de cultura e condições de incubação apropriadas para sua enumeração;
- b. Definir o limite a partir do qual o alimento não é mais aceitável para o consumo, e encontra-se deteriorado do ponto de vista microbiológico. Este limite pode ser direto (p. ex. aparecimento de micélio fúngico) ou indireto (p. ex. estufamento do produto pela presença de gás ou alteração de odor/cor);
 - c. Planejar a condução dos testes em condições ótimas, reais e de abuso dos fatores críticos que fazem com que os micro-organismos possam se multiplicar e deteriorar o produto em questão;
 - d. Conduzir os testes usando a embalagem com as mesmas propriedades de barreiras aos fatores extrínsecos que aquelas que serão disponibilizadas ao consumidor.
 - e. Planejar a condução dos testes considerando o comportamento do micro-organismo que limita a vida útil do produto, se o produto puder ser estocado sob determinadas condições após a abertura da embalagem;
 - f. Replicar os testes com diferentes lotes e com diferentes embalagens de um mesmo lote pode ser útil para avaliar como a variabilidade de composição e de processamento impactam na vida de prateleira do produto. Se a variabilidade for inaceitável, deverá ser reduzida através de ajustes nos ingredientes, produto e/ou processo ou a vida de prateleira do produto deve ser reduzida;
 - g. Estimar a vida útil do produto diretamente através do cálculo do número de dias a partir do qual se observou que a multiplicação microbiana resultou em deterioração do produto. Ferramentas estatísticas tais como análise de sobrevivência, dentre outras, também podem ser usadas para estimativa do tempo para que 10%, 30% ou 50% das embalagens apresentem sinal de deterioração;
 - h. Indicar a vida útil do produto (data de validade), considerando uma margem de segurança, estabelecida com base nos resultados dos testes conduzidos. Os testes devem ser conduzidos em condições que representem a realidade de estocagem e distribuição recomendadas para o produto.

Os testes de determinação da vida útil devem ser repetidos sempre que houver mudanças significativas na composição do produto (alteração de pH, atividade de água, quantidade e tipo de conservantes, ingredientes, material de embalagem, condições de processamento, dentre outros).

Para as análises, os tempos T0 (tempo inicial), T3 (três meses), T6 (seis meses), T9 (nove meses), T12 (doze meses), T18 (dezoito meses) e T24 (vinte quatro meses) são comumente utilizados. Cada um desses tempos representa um ponto específico no período de armazenamento do alimento, permitindo a compreensão das mudanças ao longo do tempo. No entanto, é importante lembrar que a seleção dos pontos de tempo de análises pode variar dependendo do tipo de alimento, das características específicas do produto e dos objetivos do estudo.

Esses períodos são apenas diretrizes gerais e podem variar de acordo com as características do produto e os objetivos do estudo.

6.1.1.1 Estudos para avaliação de características químicas

Para a condução de testes diretos de avaliação de estabilidade em alimentos nos quais os compostos químicos e degradação de nutrientes são críticos, deve-se planejar o estudo de tal forma que sejam monitoradas as possíveis variações de suas concentrações de modo que, ao final do estudo, o fabricante tenha ferramentas para garantir que a concentração dos compostos (nutrientes ou não nutrientes) estejam de acordo com os valores declarados no rótulo durante todo o período de validade em questão. No caso da detecção de perdas de nutrientes declarados no rótulo, durante o estudo de estabilidade, a sobredosagem pode ser um recurso a ser considerado para o atendimento aos requisitos da legislação específica do alimento em questão.

Alguns critérios podem ser indicados para a condução de um teste de estabilidade visando determinação de possíveis alterações de nutrientes ou outros compostos de interesse:

1. Métodos de análises a serem realizadas para determinação dos compostos de interesse;
2. Duração do estudo;
3. Número de amostras;
4. Condições de temperatura e umidade para realização dos testes

5. As condições do estudo de estabilidade (como temperatura, tempo e umidade) devem simular as condições reais de armazenamento e distribuição durante toda sua vida de prateleira.

6.1.1.2 Estudos para avaliação de características organolépticas/sensoriais

Para a condução de testes de estabilidade em alimentos nos quais as características organolépticas/sensoriais são críticas, deve-se planejar o estudo de forma que sejam monitoradas as possíveis variações dessas características de tal modo que, ao final do estudo, seja possível garantir que a qualidade sensorial do produto esteja de acordo com o esperado.

Os testes sensoriais podem ser classificados em 3 categorias: discriminativo, descritivo e afetivo. Cada uma delas responde a uma pergunta de interesse diferente e possui particularidades nas aplicações dos testes e na caracterização dos provadores. O tipo de teste empregado deve ser adequado aos objetivos de seu estudo para determinação das possíveis alterações sensoriais nos produtos.

Para esses alimentos os mesmos critérios apresentados em 6.1.1.1. Estudos para avaliação de características químicas podem ser utilizados.

6.1.2 Estudos de acompanhamento

Os estudos de estabilidade de acompanhamento são realizados após o início da comercialização do produto e têm por objetivo monitorar, avaliar a qualidade, segurança e características de um alimento para confirmar o prazo de validade previamente estabelecido.

Através deste estudo é possível verificar se caso tenha ocorrido alguma mudança, voluntária ou involuntária na formulação ou no processo de produção, ela possa interferir adversamente na estabilidade do produto. Considera-se pequenas mudanças a substituição de componentes menos relevantes (p. ex. corantes, aromatizantes) ou pequenas variações quantitativas de ingredientes. Quando forem implementadas mudanças significativas que podem impactar o prazo de validade, como uso de diferentes ingredientes e aditivos ou proporções dos componentes muito diferentes, devem ser realizados testes prévios a comercialização do produto.

Os estudos de estabilidade de acompanhamento são diferentes dos estudos iniciais de longa duração, incluindo a possibilidade da redução da frequência de testes, caso tenha sido demonstrado nos estudos prévios que um determinado parâmetro é estável.

Caso os resultados dos estudos de acompanhamento não estejam de acordo com as especificações do produto, ou não confirmem o prazo de validade estabelecido, é importante investigar os motivos e, se necessário, devem ser implementadas ações corretivas.

Sugere-se que os estudos de acompanhamento sejam realizados a intervalos de tempo regulares para verificar se o prazo de validade que foi estabelecido ainda é válido ou se é necessária sua reavaliação.

6.1.3 Estudo de uso

Estudo de uso visa avaliar a estabilidade do produto após a embalagem original ter sido aberta, uma vez que a vida útil original está relacionada ao produto na embalagem e condições de armazenamento para o produto como um todo. No entanto, se o alimento for aberto ou removido de sua embalagem original, é muito baixa a probabilidade que seja mantido o prazo de validade fornecido originalmente pelo fabricante. O mais provável é que o prazo de validade seja mais curto uma vez que a embalagem protetora original foi aberta ou foi removida e que o conteúdo do produto será exposto aos diversos fatores extrínsecos já abordados.

Os testes de uso são especialmente indicados para produtos que são fracionados (alimentos fatiados ou reembalados) ou produtos em embalagens multidosas após a sua abertura. Outra aplicação deste estudo é simular as condições reais de uso do alimento, incluindo a necessidade de diluição, reconstituição e administração via tubo de um produto durante o uso.

É recomendável que a estabilidade em uso seja avaliada durante todo o prazo de validade do produto, conforme estipulado pelo fabricante, sendo o período mais crítico o final da vida útil, quando há maior risco de degradação dos componentes e possível comprometimento da sua segurança e características sensoriais.

6.1.4 Estudo de transporte

O estudo de transporte ou teste de excursão investiga os possíveis efeitos das condições ambientais, introduzidas durante o transporte e a distribuição, no produto. Este estudo é particularmente importante nas situações em que o alimento será transportado entre regiões climáticas diferentes.

Com o estudo de transporte busca-se simular as condições ambientais extremas a que o produto pode estar exposto durante transporte e distribuição.

O estudo de transporte usa os procedimentos regulares de teste de estabilidade, mas com o ciclo das condições ambientais para simular as condições de distribuição de maneira mais fiel possível. Para esses estudos podem ser utilizados os protocolos preconizados pela *International Safe Transit Association* (ISTA).

6.1.5 Estudos desafio

Se micro-organismos patogênicos (ou deteriorantes) puderem estar presente em baixos números no produto, e se houver possibilidade de eles se multiplicarem durante a vida útil do produto, é importante saber quão rápido será esse crescimento e que populações poderão ser atingidas.

A melhor forma de obter essas informações é empregando os chamados testes-desafio (*challenge tests*, em inglês) que envolvem a inoculação intencional do alimento com um coquetel de diferentes cepas do micro-organismo-alvo, seguido de armazenamento sob condições adequadas e a avaliação do seu comportamento através de quantificação em intervalos determinados. Assim pode-se verificar se houve multiplicação, sobrevivência ou morte. Os testes-desafio servem, portanto, para avaliar se a formulação de um alimento ou bebida permite ou inibe a multiplicação de um micro-organismo-alvo durante a estocagem e comercialização.

Testes-desafio são especialmente úteis para determinar a vida útil de certos produtos refrigerados ou mantidos a temperatura ambiente.

O desenho e condução de testes-desafio é complexo e requer conhecimento do produto, processo produtivo e condições de estocagem e distribuição, além de sólidos conhecimentos sobre microbiologia dos alimentos. Alguns fatores são críticos e devem ser considerados no desenho e condução de testes-desafio em alimentos, tais como critério de aceitação/rejeição, seleção do(s) micro-organismo(s)-alvo, preparo do inóculo e método de inoculação, concentração do inóculo, número de embalagens e lotes a serem testados, enumeração do(s) micro-organismo(s)-alvo, duração do teste, condições de estocagem e interpretação dos resultados.

A realização dos testes-desafio pode exigir o auxílio de profissionais capacitados e com experiência na realização e interpretação dos resultados.

No ANEXO VI podem ser encontrados exemplos de curvas de crescimento que podem ser derivadas de testes-desafio.

Para a realização dos testes-desafio devem ser empregados protocolos padronizados e reconhecidos internacionalmente para garantir confiabilidade e comparabilidade de resultados.

A International Organization for Standardization (ISO) dispõe de guia específico para condução de testes-desafio em alimentos: ISO 20976-1 *Microbiology of the food chain — Requirements and guidelines for conducting challenge tests of food and feed products — Part 1: Challenge tests to study growth potential, lag time and maximum growth rate*.

6.2. Métodos indiretos

A realização de estudos para determinação de prazos de validade pelos métodos diretos pode demorar muito para alguns tipos de produtos e pode também ser dispendiosa. Uma alternativa pode ser o uso de métodos indiretos, como os estudos acelerados ou modelos preditivos para estimar o prazo de validade. No entanto, uma vez que os dados são obtidos por meio de previsões, é importante que sejam confirmados através de estudos de longa duração ou estudos de acompanhamento, uma vez que os pressupostos envolvidos podem não ser sempre confiáveis.

6.2.1 Modelos preditivos

Os modelos preditivos podem ser usados tanto durante o desenvolvimento de formulações, quanto na determinação da vida útil de alimentos em condições reais ou cenários de estocagem, distribuição e consumo. O emprego de modelos preditivos permite a rápida tomada de decisões, sem a necessidade de testes adicionais: com a substituição dos termos numa equação e procedendo-se aos cálculos já é possível antecipar o que pode ocorrer. Os modelos preditivos também podem ser usados na resolução de problemas de deterioração, já que permitem avaliar inúmeros cenários de maneira rápida.

A microbiologia preditiva combina microbiologia, estatística e matemática para quantificar o comportamento microbiano em função de parâmetros intrínsecos e/ou extrínsecos do alimento. Após a coleta de dados, construção das equações e de sua validação, os modelos preditivos são usados para prever respostas microbianas. Por meio de modelos preditivos pode-se determinar a multiplicação, morte e probabilidade de sobrevivência dos micro-organismos. Essa predição só poderá ser feita dentro da faixa de variação dos parâmetros intrínsecos e/ou extrínsecos usados na construção

do modelo. Uma das limitações da microbiologia preditiva é a necessidade de pessoal treinado para desenho, condução, tratamento e interpretação/aplicação dos resultados. Conhecimentos sólidos do produto, processo, micro-organismo-alvo também são fundamentais. Para garantir o seu desenvolvimento e uso adequados, deve-se buscar auxílio de profissionais com experiência no desenvolvimento e aplicação de modelos preditivos para estudo do comportamento microbiano. Todavia, uma vez que um modelo é desenvolvido e validado, e não havendo mudanças na formulação, tem-se como consequência direta a redução de custos e tempo necessário para determinação da vida útil.

Os modelos preditivos de maior aplicação nos estudos de vida útil de alimentos são os cinéticos e os probabilísticos. Os modelos cinéticos permitem a obtenção de parâmetros tais como o tempo de adaptação (tempo de lag), taxa de multiplicação e população máxima de um micro-organismo. Estes parâmetros possuem aplicação direta na estimativa da vida útil dos alimentos. Já os modelos probabilísticos são usados para estimar a probabilidade de ocorrência de um evento (deterioração de um alimento percebida pelo aparecimento de fungo em sua superfície, por exemplo). Assim encontram grande aplicação na etapa de desenvolvimento de formulações, permitindo a redução de trabalho e de custos para a obtenção de formulações mais robustas.

6.2.2. Estudos de estabilidade acelerados

O objetivo de um estudo de estabilidade acelerado é sujeitar o produto a condições de armazenamento mais críticas, de modo a induzir potenciais reações e interações em um menor intervalo de tempo. Os estudos envolvem o armazenamento dos produtos em temperaturas mais elevadas, ou em outras condições abusivas como umidade ou intensidade luminosa, para acelerar as reações de degradação. Esses estudos são especialmente úteis para produtos com vida útil muito longa, como pós e cereais secos, chocolates e confeitados.

Os estudos de estabilidade acelerados são baseados na presunção de que a taxa de reação química dobra a cada 10°C de aumento na temperatura, mas em alguns casos, a degradação pode triplicar ou mesmo ser menor que o dobro. Dessa forma, os estudos devem ser realizados em temperaturas consideravelmente acima daquela esperada no ambiente de armazenamento do produto no comércio.

Contudo, dependendo do tipo de alimento, temperaturas excessivamente altas podem levar a alterações que não refletem as condições típicas. O fabricante deve avaliar a composição do seu

produto de forma a estabelecer as temperaturas específicas utilizadas nestes estudos, mantendo documentada a justificativa apropriada.

Há uma série de modelos estatísticos e cinéticos que podem auxiliar nos estudos de estabilidade acelerados, e o mais utilizado é baseado na equação de Arrhenius. Há também uma série de softwares disponíveis que se baseiam na equação de Arrhenius e que ajudam a simplificar os procedimentos para a previsão de validade e estimativa de sobredosagem para suplementos.

A equação de Arrhenius permite calcular a variação da constante de velocidade de uma reação química conforme a temperatura. Essa equação aplicada a alimentos ajuda a entender como a deterioração ou degradação dos componentes do alimento varia com a temperatura. Em geral, à medida que a temperatura aumenta, a taxa de deterioração dos alimentos também aumenta devido ao acréscimo da energia cinética das moléculas envolvidas nas reações de degradação.

Em termos de físico-química a degradação da maioria das vitaminas, e uma série de outros constituintes comumente encontrados em alimentos, segue a cinética de "primeira ordem" ou "ordem zero". Isso significa que a taxa de degradação de alguns constituintes é diretamente proporcional à concentração do constituinte presente. Quanto maior a concentração de uma vitamina, maior será a taxa de degradação. À medida que a concentração da vitamina diminui com o tempo, a taxa de degradação também diminui. Em consequência, o modelo clássico de Arrhenius pode ser utilizado, o que permite que as previsões sejam feitas para a validade e sobredosagem de um produto. Estas previsões devem basear-se nos seguintes pressupostos:

- Que o modelo é válido para todas as reações estudadas;
- O mesmo mecanismo de reação ocorre na faixa de temperatura do estudo;
- A energia de ativação está em um intervalo definido; e
- Que os efeitos da umidade à temperatura ambiente sejam equivalentes a manter umidade relativa nas temperaturas mais elevadas.

Outra ferramenta que pode ser utilizada na análise de dados de estudos acelerados é o coeficiente Q10 que indica quantas vezes aumenta a velocidade de uma reação a cada acréscimo de 10°C na temperatura. Assim pode-se estimar como a taxa de degradação de alimentos, enzimas ou outros produtos biológicos muda com o acréscimo de 10°C de temperatura.

Q10 é dado pelo quociente entre as velocidades de reação a uma determinada temperatura e a uma temperatura 10°C mais baixa.

A fórmula geral para o coeficiente Q10 é a seguinte:

$$Q10 = \frac{R \text{ taxa de degradação } (T1)}{R \text{ taxa de degradação } (T2)} \text{ onde:}$$

- R taxa de degradação (T1) é a taxa de degradação medida a uma temperatura T1.
- R taxa de degradação (T2) é a taxa de degradação medida a uma temperatura T2 (T1-10°C).

Em outras palavras, o coeficiente Q10 compara a taxa de degradação de um produto em duas temperaturas e fornece uma estimativa de quanto a taxa de degradação aumenta para cada aumento de 10°C na temperatura.

O objetivo principal dos testes acelerados é determinar o valor de Q10 e poder, desta forma, estimar a validade de um produto em condições de temperatura inferior. Por exemplo, se o coeficiente Q10 for 2, significa que a taxa de degradação dobra com o aumento de 10°C de temperatura. Neste caso, se o tempo de armazenamento de um estudo de estabilidade acelerado para um produto é de 6 meses, a confiança para a determinação do prazo de validade em uma temperatura 10°C mais baixa pode ser de 12 meses, o dobro.

Recomenda-se que, quando possível, os estudos acelerados sejam realizados em dois ou mais pontos de temperatura elevados, particularmente quando é esperada uma vida útil prolongada.

A compreensão da cinética é particularmente importante ao interpretar os dados, onde a validade será baseada em uma extrapolação de tendências identificadas em períodos relativamente curtos, a depender do alimento. A não utilização de modelos estatísticos adequados pode levar a extrapolações inválidas.

Não se pode presumir que o comportamento de todos os ingredientes de um produto seja o mesmo, pois diferentes ingredientes degradam em diferentes proporções e em diferentes velocidades. Isso é bastante claro em produtos multivitamínicos, por exemplo, onde algumas vitaminas apresentam diferentes padrões de degradação. Assim, a confiança nos resultados dos estudos não pode,

necessariamente, ser colocada em um único ingrediente ou constituinte, sendo necessário o emprego de múltiplos ensaios.

É importante destacar que os estudos de estabilidade acelerados não devem ser usados como única base confiável para a estimativa da vida útil de um produto. Para produtos contendo múltiplos ingredientes a realização de um único estudo acelerado irá fornecer apenas uma estimativa da vida útil, devendo ser acompanhados por testes em tempo real.

Os estudos acelerados não devem ser utilizados quando as condições de temperaturas elevadas causam mudanças físicas no alimento, tais como derretimento, suavização, fissuração ou separação de fases ou quando o produto contiver ingredientes sensíveis à temperatura, como, por exemplo, os probióticos.

Com relação ao desenvolvimento do teste da estabilidade acelerada, os mesmos critérios descritos no item 6.1.1.1. Estudos para avaliação de características químicas podem ser utilizados.

6.3 Modelos de estudos reduzidos

Agrupamento e matrização são procedimentos internacionalmente reconhecidos para reduzir os planos de amostragem para os estudos de vida útil.

6.3.1 Agrupamento

Agrupamento é um estudo projetado de tal forma que somente os extremos dos parâmetros selecionados sejam testados em todos os momentos (*time points*). Com este desenho assume-se que a estabilidade de qualquer nível intermediário é representada pela estabilidade dos extremos sujeitos ao teste.

Agrupamento é especialmente útil quando um estudo abrange diferentes potências de uma mesma formulação ou de formulações muito relacionadas onde os mesmos aditivos/ carreadores são empregados. Um exemplo: comprimido de vitamina C, produzido pela mesma empresa e com mesmos ingredientes e aditivos, a ser comercializado em três potências (100mg, 250mg e 500 mg) em embalagens com 30, 60 e 120 comprimidos. Nesse exemplo, apenas os extremos de cada parâmetro necessitam ser testados em todos os momentos. Outro exemplo: um alimento com mesma fórmula, mesmos ingredientes, processado nos mesmos equipamentos, embalados de mesma maneira, porém comercializados em porções de diferentes tamanhos.

Antes de aplicar o agrupamento em um estudo, devem ser avaliados os efeitos que ele possa ter na confiança da estimativa da vida útil. O agrupamento não é apropriado se as amostras a serem testadas não representam os extremos.

6.3.1.1 Agrupamento por similaridade

Produtos de uma mesma empresa, com composição química e nutricional semelhante e que são processados e estocados em condições similares, podem ser avaliados em um único estudo desde que as diferenças não sejam significativas, ou seja, que as diferenças se relacionem apenas a componentes menos relevantes. Este tipo de abordagem não deve ser utilizado para determinação da vida útil de alimentos cujo fator limitante sejam micro-organismos.

A aplicabilidade do agrupamento por similaridade ocorre também quando a matriz do produto proposto pode ser considerada qualitativa e quantitativamente representativa a de um produto já existente (para o qual se dispõe de dados de estabilidade prévios).

Diversos critérios podem ser usados para selecionar o grupo de produtos similares tais como composição química, estado físico, nutrientes a serem declarados no rótulo; entre outros.

A realização de estudos baseado no princípio de similaridade de produtos é um exercício complexo e, portanto, poderá ser inviabilizado se as diferenças de formulação forem significativas, por exemplo, diferentes ingredientes ou aditivos ou proporções dos componentes muito distintas, os quais podem determinar distorções nos dados relativos à estabilidade do produto.

No entanto, é possível que os fabricantes realizem estudos a fim de avaliar qual a extensão de mudança na composição dos produtos seria aceitável para adoção de um estudo por similaridade, e esta avaliação deverá ser feita caso a caso. Essas avaliações devem ser documentadas, demonstrando o raciocínio que permitiu concluir a semelhança entre as formulações.

Um prazo de validade estabelecido com base na extrapolação de dados entre formulações similares deve sempre ser confirmado por resultados adicionais de estabilidade de longa duração ou acompanhamento.

6.3.2 Matrização

A matrização ocorre quando um estudo de estabilidade é projetado de tal forma que um subconjunto selecionado do número total de amostras possíveis será testado para parâmetros relevantes em um momento específico (*time point*). No momento subsequente, outro subconjunto de amostras de todas as combinações de fatores será testado.

A matrização pressupõe que a estabilidade de cada subconjunto de amostras testadas representa a estabilidade de todas as amostras em um determinado momento.

Matrização pode ser utilizada para produtos com forças diferentes, mas com formulações idênticas ou muito relacionadas, ou pode ser realizada para lotes preparados usando mesmo processo e equipamentos, ou recipientes com mesmo sistema de envase e fechamento, mas de tamanhos/quantidade de produto diferentes.

De maneira geral a matrização pode ser aplicada se os dados de apoio indicarem a provável estabilidade do produto e/ou quando os dados de apoio exibem apenas uma pequena variabilidade. Quando os dados de apoio indicam variabilidade a matrização não deve ser empregada.

Embora a matrização tenha a vantagem de reduzir a carga de trabalho de um estudo, ela só deve ser introduzida após a avaliação cuidadosa dos seus aspectos positivos e negativos.

Tanto agrupamento como matrização permitem a economia de custos pela redução do número de testes analíticos realizados, porém eles também possuem limitações. Por exemplo, um resultado insatisfatório, ou uma indicação de baixa estabilidade, em uma ou mais condições ou momentos de análise pode colocar em dúvida a validade do estudo reduzido. Nesses casos, todo o estudo pode ter que ser reexecutado, levando a atrasos e custos significativos.

Como precaução contra tal eventualidade, é possível trabalhar com um protocolo em que se armazena amostras para um estudo completo, mas somente os testes identificados no plano de amostragem do agrupamento/matrização são realizados inicialmente. As amostras intermediárias que não são testadas devem ser removidas do armazenamento controlado de temperatura/ umidade/ luminosidade no momento relevante e armazenadas a cerca de 0°C até a conclusão do estudo.

É importante que o racional para selecionar agrupamento ou matrização esteja claramente documentado.

7. RACIONAL TÉCNICO-CIENTÍFICO PARA DETERMINAÇÃO DO PRAZO DE VALIDADE DE ALIMENTOS

É de responsabilidade dos fabricantes de alimentos garantir que o prazo de validade atribuído a um alimento seja baseado em um racional técnico-científico, considerando os seguintes fatores:

- **Razões Nutricionais.** No caso de alimentos que são destinados a consumidores com necessidades metabólicas e nutricionais específicas, como os alimentos para fins especiais, suplementos alimentares, alimentos enriquecidos e fortificados e alimentos que veiculam alegações de propriedades funcionais ou de saúde, é necessário garantir que as características nutricionais e de composição do produto mantenham-se estáveis até o final do prazo de validade. Para tanto, devem ser identificados os nutrientes e outros componentes relevantes que não são estáveis e determinar por quanto tempo eles estarão presentes nos níveis declarados nos rótulos dos alimentos, considerando os limites e valores de tolerância estabelecidos na legislação, quando aplicável.
- **Razões de Segurança.** Nos casos em que haja presença ou a possibilidade de crescimento de micro-organismos patogênicos ou de produção de quaisquer substâncias tóxicas, é necessário identificar os micro-organismos que devem ser controlados e prever por quanto tempo os alimentos podem ser considerados seguros para consumo.
- **Deterioração.** Quando não há preocupações de segurança ou nutricionais envolvidas, a definição do prazo de validade pode ser justificada em função do tempo necessário para que o alimento comece a se deteriorar, ou seja, quando começam a ocorrer alterações indesejáveis nas propriedades sensoriais.

É importante que os fabricantes possuam justificativa documentada sobre o racional técnico-científico utilizado para o estabelecimento do prazo de validade dos produtos e registros que subsidiem essa definição, tais como avaliações técnicas, estudos de estabilidade e laudos de ensaios laboratoriais.

7.1 Configuração dos estudos

Para configurar um estudo para determinação do prazo de validade de um produto, primeiramente, é necessário identificar os tipos de alterações, degradações ou perda de qualidade

mais comumente associados ao alimento que se deseja avaliar. A seguir, deve-se decidir qual destas alterações é a mais importante e quais mudanças ocorrerão primeiro.

Nesta etapa, é importante usar a literatura científica disponível, observar produtos similares no mercado e considerar a experiência prévia para estimar a vida útil do produto e a duração do estudo, que poderá levar dias, semanas ou meses, a depender do tipo do produto e condições de conservação.

Posteriormente, o protocolo do estudo é elaborado, definindo os métodos diretos ou indiretos que serão utilizados, indicando claramente quais avaliações e testes serão realizados, acompanhados de especificações e limites ou critérios de aceitação descritivos ou numéricos.

O protocolo do estudo deve incluir a frequência de testes e observações. Se o alimento tiver uma longa durabilidade é mais sensato começar com observações menos frequentes e aumentar conforme o fim do prazo de validade esperado se aproxima.

Gráficos, imagens e descrições de como serão realizadas as observações e respectivos resultados são essenciais para garantir que o estudo foi adequadamente desenvolvido.

É necessário que sejam determinadas e controladas as condições de armazenamento para o estudo, as quais devem refletir as condições normais esperadas de distribuição e armazenamento e devem ser equivalentes em todos os testes realizados.

Além disso, recomenda-se considerar a inclusão de condições adicionais de armazenamento se estas puderem ter um impacto na validade do produto comercializado em um mercado pretendido ou devido às ações do consumidor. As condições podem ser definidas como:

- otimizada, isto é, armazenamento conforme descrito no rótulo;
- realista, empregando repetidos períodos curtos de temperaturas elevadas ou diferentes níveis de umidade; e
- pior caso (pior cenário), de forma a imitar o deslocamento do produto de um mercado temperado para um mercado tropical ou quando há um controle de temperatura pobre em uma geladeira doméstica, o efeito de luz em um produto sensível, o efeito de movimento e da vibração, entre outros.

Também deve ser calculado o número total de amostras que serão necessárias para os testes. As amostras devem ser suficientes para o número de observações ou testes realizados durante

todo o período do estudo. É interessante separar um número maior de amostras que o estabelecido (amostras reserva) para o caso de necessidade de reteste. Se os testes envolvem apenas observações, serão necessárias menos amostras do que se os testes forem destrutivos.

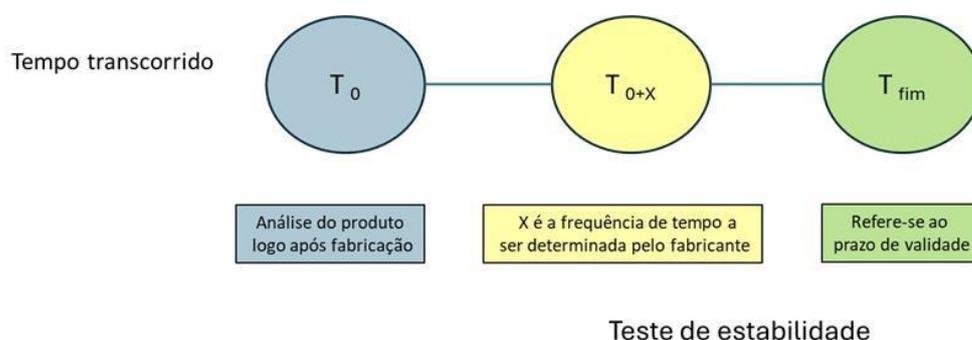
Para seleção das amostras a serem estudadas, alguns cuidados são recomendados como selecionar aleatoriamente as amostras de lotes do produto representativos do que será verdadeiramente comercializado; garantir que as amostras estejam no formato de embalagem disponível para o consumidor; e rotular ou numerar as amostras para permitir uma correta e fácil identificação antes de colocá-las sob as condições de armazenamento. Lotes pilotos podem ser utilizados, desde que sejam representativos dos lotes industriais.

A validade do lote deve ser contada a partir de sua fabricação e deve-se assegurar que o ingresso das amostras às câmaras climáticas ocorra o mais breve possível.

A análise do produto deverá ser realizada imediatamente após sua fabricação para que seja considerada como T_0 . Produtos que são submetidos às análises iniciais muito tempo após sua fabricação possuirão resultados não representativos de T_0 , o que poderá impactar na determinação apropriada do prazo de validade. A frequência de tempo, ou seja, definição de intervalos nos quais o produto será monitorado e quais parâmetros serão monitorados deverão ser determinados pelo próprio fabricante em função do conhecimento da composição do produto.

Na figura 1 está apresentado um diagrama de estabelecimento de vida útil de um produto previamente a seu lançamento.

Figura 1 – Representação esquemática de determinação do teste de vida útil de um produto.



É recomendável que o estudo seja repetido com diferentes lotes de forma a identificar e minimizar a variabilidade intra- e interlotes. Se houver uma grande variabilidade, é necessário investigar e descobrir como reduzi-la. Várias podem ser as causas de variabilidade: devido ao processo de fabricação do produto; à composição dos alimentos; ao tipo de embalagem; à higiene do ambiente de processamento; e à qualidade dos ingredientes.

Os estudos deverão ser repetidos sempre que houver mudanças importantes na composição, nos ingredientes, processamento ou embalagem do produto para garantir que o prazo de validade não tenha sido comprometido pelas mudanças.

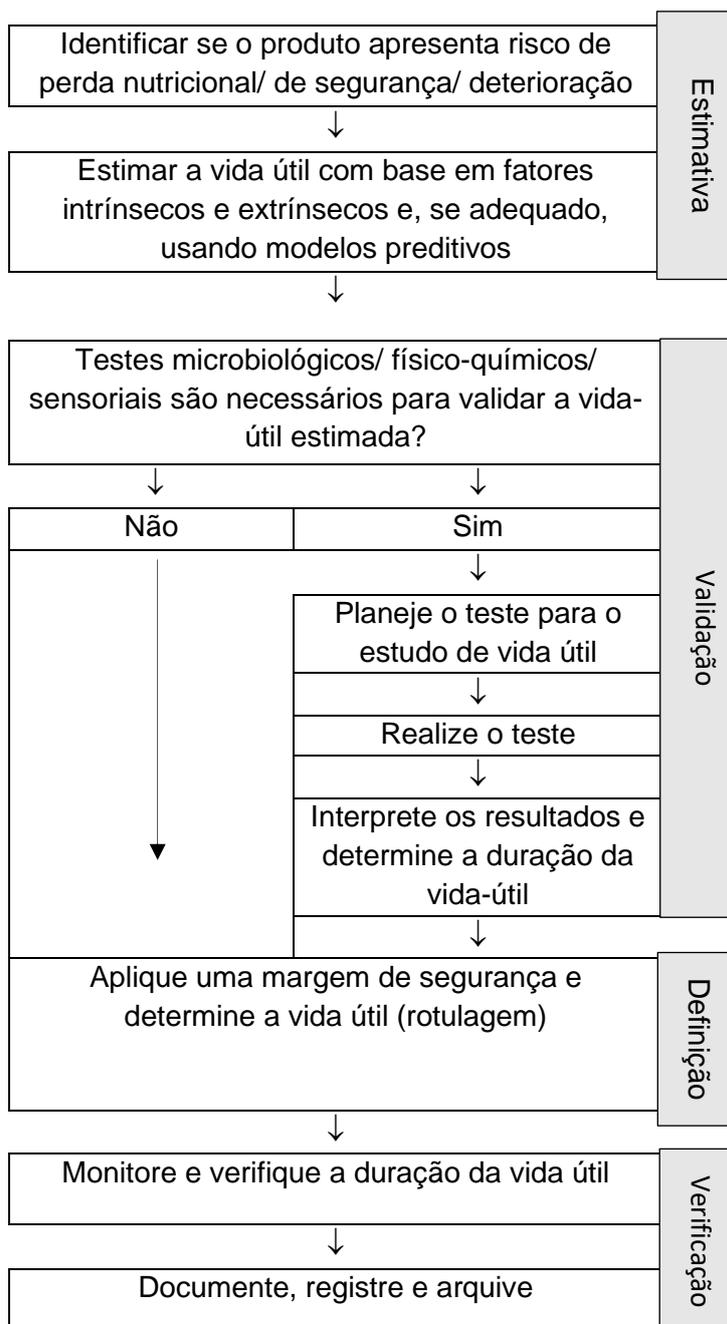
Nos casos de troca de fornecedor de matéria-prima cujos compostos sejam comprovadamente estáveis frente às condições de processo e armazenamento do produto terminado, é possível que não haja necessidade de revalidação de todo o estudo de estabilidade, desde que as matérias-primas estejam em conformidade com as especificações de identidade, pureza e composição anteriores. Dessa forma, recomenda-se que seja realizada uma avaliação minuciosa das propriedades do ingrediente fornecido pelos novos fornecedores.

Para determinação do prazo de validade de um produto que é constituído por dois ou mais componentes individuais separados, por exemplo, um iogurte comercializado juntamente com cereais a serem adicionados na ocasião de consumo, a validade de cada alimento deve ser levada em consideração ao atribuir um prazo de validade ao alimento composto. O prazo de validade do alimento composto não deve exceder o valor mais curto dentre as validades dos componentes, ou seja, se o iogurte possuir validade de 10 meses e o cereal de 6 meses, a validade do alimento composto deverá ser de 6 meses. De forma semelhante, quando alimentos distintos são misturados, a validade dos alimentos compostos será afetada pelas características dos componentes individuais. Se os componentes tiverem características semelhantes, como uma granola com misturas com vários tipos de cereais e oleaginosas, a validade dos alimentos compostos geralmente reflete o componente com a validade mais curta. No entanto, se os componentes são muito diferentes, como uma salada com molho, a validade dos componentes individuais não é mais relevante e é necessário estabelecer um prazo de validade para este novo alimento.

Após a definição e realização do estudo é fundamental, como parte do estabelecimento da vida útil, que seja realizado um estudo de validação que demonstre que a vida útil determinada está correta para o alimento e que durante as condições previstas de distribuição, armazenamento e uso os parâmetros permaneçam dentro do esperado.

Na figura 2 estão apresentadas, de forma gráfica, as etapas a serem seguidas quando do estabelecimento de vida útil de alimentos.

Figura 2 – Boas práticas na estimativa, validação, definição e verificação da vida-útil de produtos alimentícios. (Fonte: modificado de *Food Safety Authority of Ireland. Validation of product shelf-life (revision 5), 2022*)



8. PROTOCOLOS PARA DETERMINAÇÃO DO PRAZO DE VALIDADE

Quando um teste de validade está sendo desenhado é essencial que todos os parâmetros testados sejam apropriados para a forma do produto (congelado, refrigerado, cápsulas etc.) e que forneçam uma medida qualitativa ou quantitativa da estabilidade desse produto. Todos os parâmetros selecionados devem ser capazes de detectar alterações físicas, químicas ou microbiológicas no produto durante o período de armazenamento. As análises em alimentos devem ser realizadas de acordo com os protocolos reconhecidos para alimentos ou a partir de metodologias validadas.

As empresas podem definir critérios próprios, mais restritivos do que aqueles definidos na legislação, ou baseado em indicadores, de forma a garantir que os produtos nunca atinjam níveis que possam comprometer sua segurança e qualidade.

Independentemente do tipo de estudo realizado para determinação do prazo de validade de um alimento, todos os aspectos e detalhes devem ser documentados, registrados, arquivados e devem ser auditáveis.

8.1 Alimentos em geral

O requisito primário de um estudo de estabilidade é confirmar que o produto pode sustentar uma validade comercialmente realista. Em outras palavras, deve confirmar que a composição pode ser atendida no final da validade e que não haja mudanças físicas e/ou sensoriais e/ou microbiológicas inaceitáveis durante o prazo de validade estabelecido.

É importante definir os objetivos do teste de vida útil no início do estudo e selecionar os atributos críticos ou os critérios mais importantes do produto (microbiológicos, físico-químicos e organolépticos/sensoriais), em ordem de relevância e que podem sofrer alteração ao longo do tempo – a partir dessas informações, será possível gerar o cronograma e a frequência de análises do estudo de forma mais assertiva.

As árvores de decisão apresentadas no ANEXO VI podem auxiliar na identificação do tipo de deterioração que é importante para o produto.

Os estudos devem ser realizados com amostras representativas dos produtos testados, ou seja, as amostras selecionadas devem ser provenientes de produção industrial (com lotes e datas de produção) e devidamente processadas e embaladas.

Apesar do Brasil ser considerado, de acordo com as definições do ICH¹, como pertencente à zona climática IVb (30°C ± 2°C e 75%UR ± 5%UR), há no país grande amplitude térmica. Dessa forma, o estudo deve refletir a realidade do armazenamento e transporte durante todo o período de validade do produto, ao longo de sua cadeia produtiva, desde a fabricação até o ponto de venda.

A forma mais segura para estimar a vida útil de um alimento consiste na realização dos testes em condições de temperatura e umidade que simulem as mais extremas a que o produto será provavelmente exposto.

8.1.1 Determinação do prazo de validade baseado na deterioração

Considerando as orientações sobre configuração dos estudos, inicialmente, é recomendado identificar os tipos de deterioração ou perda de qualidade que ocorrem com maior frequência e ocorrência mais precoce, a fim de definir o protocolo de estudo. Esses tipos de deterioração compreendem crescimento de fungos, crescimento bacteriano, alterações na textura, aroma, odor, sabor ou aparência.

Dependendo do alimento pode haver predominância de um tipo de deterioração ou vários tipos de alterações podem ser igualmente importantes.

Para a elaboração do protocolo do estudo, é importante definir os marcadores (p. ex. composto constituinte referência para avaliação da degradação durante a vida de prateleira; grupo de micro-organismos), os testes que serão realizados e os métodos a serem utilizados, tais como:

- Testes organolépticos/sensoriais como, por exemplo, mudanças de cor e textura, odor, aroma e sabor;
- Análises físico-químicas e microbiológicas, como, por exemplo, a enumeração de bactérias e leveduras, a presença de bolores e a presença de um indicador de deterioração química, tal como D-alanina em suco de frutas, ranço em produtos cárneos defumados, histamina em frutos do mar etc.;
- Testes-desafio, caso haja possibilidade de multiplicação de micro-organismos.

¹ ICH Climatic zones - International Council for Harmonisation (ICH) of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use

No caso de emprego de testes altamente subjetivos, como análises sensoriais de sabor, odor e aroma deve-se garantir que sejam utilizadas apenas pessoas treinadas e que o alimento não apresente risco ao provador.

O protocolo do estudo deve ainda incluir as informações completas sobre a frequência de testes e observações, o número de amostras a serem utilizadas e a duração total do estudo.

Para produtos com expectativa de prazo de validade longo, podem ser realizados estudos de estabilidade acelerados em que o produto é exposto a condições diferentes àquelas normais, usualmente a temperaturas elevadas para acelerar o desenvolvimento de deterioração e reduzir o tempo de duração do estudo. Há casos em que são necessárias múltiplas variáveis para acelerar as degradações sendo necessário o desenvolvimento de estudos especiais. No entanto, tais estudo somente serão úteis se os padrões de deterioração do alimento permanecerem semelhantes aos esperados nas condições de armazenamento normais. Os estudos acelerados não devem ser utilizados quando o alimento contiver ingredientes sensíveis à temperatura, como por exemplo probióticos, enzimas etc.

8.1.2 Determinação do prazo de validade baseado em razões de segurança

Quando o prazo de validade é devido a razões de segurança, normalmente é utilizado o teste-desafio, uma vez que a presença de patógenos nos alimentos é rara e, se presente, normalmente as populações são baixas. Abaixo são apresentados alguns dos pontos importantes que devem ser incluídos ao projetar o estudo:

- os alimentos que serão inoculados devem ser iguais aos fornecidos ao consumo;
- o nível de inoculação deve refletir o objetivo do estudo, por exemplo: se um alimento pronto para o consumo estiver contaminado com um pequeno número do patógeno alvo, ele pode atingir níveis inseguros durante o prazo de validade esperado para esse alimento? As informações obtidas nesse estudo devem ser consideradas para definição de um prazo de validade apropriado;
- o método de inoculação do alimento com o micro-organismo alvo deve refletir a maneira como a contaminação seria provável de acontecer (ex. contaminação cruzada; alimentos com baixa atividade de água);
- a embalagem do produto deve ser representativa das condições comerciais típicas daquele alimento devendo ser garantido o não comprometimento da integridade da embalagem;

- as temperaturas de incubação devem ser realísticas e representativas da faixa esperada de exposição do produto durante a distribuição e o armazenamento comercial. Um exemplo hipotético é o armazenamento de produto refrigerado a temperatura <math><4^{\circ}\text{C}</math> durante o estudo, sendo que a temperatura mais baixa na maioria dos refrigeradores está ao redor de - Em se tratando de alimentos em que é possível a presença de outros micro-organismos (deteriorantes ou não), pode ser de grande utilidade monitorar seus níveis, uma vez que eles podem impactar no crescimento do micro-organismo alvo.

8.1.3. Determinação do prazo de validade baseado em razões nutricionais

Para alimentos nos quais a vida útil é determinada por razões nutricionais o estudo de estabilidade deve incluir a característica nutricional de preocupação. Deve-se estimar o tempo necessário para que o teor desse(s) nutriente(s) ou componente(s) alvo atinja(m) um nível abaixo do indicado no rótulo, considerando as tolerâncias estabelecidas em legislação.

Métodos de análise adequados à matriz alimentícia devem ser selecionados e as orientações apresentadas no item 6.1.1.1 Estudos para avaliação de características químicas devem ser seguidas.

8.2. Alimentos para fins especiais, alimentos com alegação, alimentos enriquecidos e suplementos alimentares

Nesse grupo estão os alimentos para fins especiais, os suplementos alimentares, os alimentos enriquecidos ou fortificados e os alimentos com alegações de propriedades funcionais ou de saúde. Para eles além das indicações apresentadas em Alimentos em geral (8.1) podem ser necessárias outras ações.

Como parte das boas práticas de fabricação, além de garantir que alterações sensoriais, ou quaisquer outras alterações desagradáveis de qualidade, não ocorram durante a vida útil proposta para o produto, é importante também que sejam garantidos os requisitos quantitativos de todos os ingredientes ativos e as propriedades físico-químicas do produto.

É fundamental conhecer a estabilidade dos ingredientes durante a formulação, processamento e embalagem, além da possível interação entre ingredientes. A taxa de estabilidade

dos ingredientes utilizados em uma formulação pode variar, com alguns tendo sua potência diminuída mais rapidamente que outros. Por exemplo, num multivitamínico algumas vitaminas são mais estáveis que outras. Dessa forma, pode ser que, em algumas condições, seja necessário realizar a sobredosagem dessas vitaminas mais sensíveis.

Para esse grupo de alimentos os parâmetros mais sensíveis e nutrientes mais lábeis do produto devem ser considerados como os principais determinantes do prazo de validade. Assim, fica claro que a determinação do prazo de validade baseado em razões nutricionais é de primordial importância.

O período até o qual o produtor estima garantir a potência (atividade) do ingrediente alvo é considerado como sua vida útil. Por exemplo, a maioria das fontes de minerais e oligoelementos é relativamente estável, enquanto, em muitas circunstâncias, as vitaminas podem ser consideradas inerentemente instáveis. Neste caso, pode-se selecionar como indicadores de estabilidade, as substâncias reconhecidamente menos estáveis (ex. vitaminas A, C, E, ácido pantotênico e tiamina) para serem quantificadas nos tempos intermediários do estudo.

A legislação vigente deve ser consultada para que seja avaliada a variação do teor de nutrientes permitida e para embasar justificativa dos casos em que se adota sobredosagem como método de garantia da qualidade nutricional do produto acabado. A sobredosagem deve ser justificada tecnologicamente e as doses diárias toleráveis, ou os níveis máximos permitidos na legislação, não devem ser excedidos.

Em se tratando de alimentos compostos somente por nutrientes relativamente estáveis sob as condições de processo, embalagem e armazenamento, como por exemplo um suplemento alimentar de minerais, pode ser dispensado o estudo completo de estabilidade com tempos intermediários, se existirem evidências documentadas de que seja improvável que ocorram degradações significativas nas quantidades destes minerais. Para validação, é importante a realização de análises destes nutrientes no tempo final do estudo de estabilidade, as quais irão confirmar o comportamento e a estabilidade destes nutrientes.

É fundamental ressaltar que, a depender da qualidade das matérias-primas utilizadas, das condições de processo, do envase elegido, das características da matriz (pH, umidade etc.) e do armazenamento, os indicadores podem variar. Assim, os indicadores utilizados para um produto podem não ser representativos para outros.

A análise de todos os nutrientes no tempo final do estudo de estabilidade de longo prazo vai confirmar se os indicadores selecionados para os tempos intermediários foram adequados e estes resultados serão utilizados para o planejamento dos estudos de estabilidade de acompanhamento.

O estudo de estabilidade deve ser a confirmação final de que o produto, em uma embalagem específica, permanecerá estável durante todo o período de validade proposto. Isso exige que todas as prováveis fontes de instabilidade em termos da formulação, processamento e embalagem tenham sido previamente avaliadas e as ações necessárias tenham sido tomadas antes que quaisquer testes de estabilidade sejam iniciados. Isso pode requerer que estudos menores e seletivos sejam realizados antes que a formulação seja finalmente aprovada, para verificar possíveis fontes de instabilidade, como interações entre ingredientes.

Testes em escala menor podem também ser necessários para garantir que a embalagem selecionada seja adequada para a formulação em termos de barreiras de oxigênio, umidade e luz.

Dentro desse grande grupo podem ser identificados 3 subgrupos que apresentam especificidades:

1. Alimentos enriquecidos ou fortificados e alimentos com alegações de propriedades funcionais ou de saúde;
2. Suplementos; e
3. Alimentos para fins especiais.

8.2.1 Determinação do prazo de validade para alimentos enriquecidos ou fortificados e alimentos com alegações de propriedades funcionais ou de saúde

As informações apresentadas acima, juntamente com as do item alimentos em geral (8.1), são aplicáveis a esse grupo de produtos.

8.2.2 Determinação do prazo de validade para suplementos alimentares

Em complementação ao que foi apresentado nos itens 8.1 e 8.2, os suplementos alimentares devem ser avaliados empregando também outros parâmetros.

Suplementos são geralmente compostos por uma combinação de grande número de constituintes (ingredientes ativos, ingredientes com finalidade tecnológica e aditivos alimentares) e

todos essas podem ter potencial para afetar a vida útil do produto. Além disso, os suplementos podem ser apresentados de diversas formas farmacêuticas, inclusive como cápsulas e comprimidos.

Assim, como para os demais alimentos, diversos fatores ambientais, químicos e físicos podem afetar a estabilidade dos suplementos e de seus ingredientes e, portanto, sua vida útil. Os fatores mais importantes são temperatura, umidade, oxigênio, luz, pH do produto (principalmente produtos líquidos), agentes oxidantes ou redutores, presença de íons metálicos (p. ex. ferro e cobre), presença de outros ingredientes, outros componentes do alimento como dióxido de enxofre, ou a combinação de todos esses fatores.

Os princípios de "estabilidade por desenho" também podem ser aplicados para esses alimentos. Quando da formulação de um produto, é recomendado que seja realizada a avaliação crítica da fórmula proposta de forma a minimizar os efeitos que os fatores citados possam ter na degradação. A escolha da forma e da composição da embalagem também deve ser cuidadosa para que ela forneça barreira à umidade, oxigênio e luz.

Para avaliar o impacto da formulação e da embalagem sobre a estabilidade do produto deve-se considerar:

- a combinação dos componentes propostos em termos de níveis de umidade;
- as interações conhecidas entre certos ingredientes e possíveis interações químicas entre componentes na mesma matriz de produto;
- os possíveis efeitos sobre a estabilidade se os ingredientes forem usados onde os parâmetros críticos (por exemplo, a umidade) estão nos extremos de sua faixa de especificação;
- o manuseio do produto em todas as operações de fabricação e embalagem, incluindo os períodos em que o produto pode ser exposto ao ambiente, como por exemplo o período entre as etapas de fabricação e embalagem;
- as propriedades de barreira da embalagem proposta em termos de permeabilidade do material para o ar (oxigênio) e umidade, integridade da selagem, espaço livre dentro da embalagem, propriedades de barreira em termos de transmissão de luz ultravioleta e potencial de migração de substâncias (por exemplo, solventes de cola de rótulos);
- as condições de armazenamento durante a distribuição, incluindo o transporte e comércio no varejo. Se o produto for exportado, as condições ambientais nos países receptores devem ser levadas em consideração; e

- a quantidade de ingrediente adicional (sobredose) necessária para garantir que a quantidade rotulada ainda esteja presente no final da vida útil.

Não considerar todos os itens acima em uma fase precoce do desenvolvimento pode, potencialmente, levar à falha nos estudos práticos posteriores que devem ser realizados para determinação do prazo de validade ou mesmo à necessidade da retirada do alimento do mercado ou a redução significativa na sua vida de prateleira.

8.2.2.1 Fatores que afetam a vida útil de suplementos

- **Estabilidade química** – varia entre ingredientes e suplementos, dependendo de sua composição química. Algumas moléculas são muito estáveis (também descritas como inertes) e podem permanecer sem alterações por um longo período. Já outras moléculas são menos estáveis e reagem relativamente rápido com outras moléculas produzindo produtos de degradação. Essas moléculas são chamadas de lábeis ou reativas. A estabilidade ou reatividade de um composto químico presente em um ingrediente ou suplemento pode geralmente ser determinada através da avaliação da estrutura molecular dos compostos presentes. Informações adicionais podem ser encontradas na literatura específica ou obtida p. ex. em testes de estresse. No ANEXO II estão alguns exemplos de como fatores diferentes podem afetar a estabilidade das 13 vitaminas reconhecidas e do betacaroteno.
- **Estabilidade microbiológica** – suscetibilidade ao crescimento microbiológico também varia entre ingredientes e suplementos, sendo os em forma líquida geralmente mais suscetíveis ao desenvolvimento microbiano que os em forma sólida. A multiplicação microbiana pode também causar alterações organolépticas e químicas indesejáveis. Produtos que não apresentam carboidratos ou proteínas, assim como aqueles com baixa atividade de água, muito ácidos ou muito alcalinos, ou com elevado conteúdo de álcool geralmente são resistentes à multiplicação de micro-organismos. Produtos derivados de fontes animais ou vegetais, especialmente se higroscópicos, são mais suscetíveis a multiplicação microbiana.
- **Formulação** – a presença de ingredientes reativos (p. ex. ácidos, bases, agentes oxidantes ou redutores) pode acelerar a degradação de outros

ingredientes. Interações também podem acontecer entre ingredientes higroscópicos (p. ex. sorbitol ou glicerol) e as cápsulas de gelatina ao redor, levando-as a se tornar frágeis e algumas vezes quebradiças. A adição de ingredientes para estender a vida útil do suplemento (p. ex. vitaminas C ou E; butilhidroxitolueno – BHT) irá depender da legislação do país onde se pretende comercializar o produto. O revestimento dos comprimidos, ou uso de cápsulas moles ou duras, também serve de barreira protetora contra certos fatores que afetam a estabilidade.

- **Forma física** – ingredientes ou suplementos em forma sólida tendem a ser mais estáveis que em forma líquida, isso devido a maior entropia no ambiente líquido que no sólido. O tamanho da partícula de um produto sólido também afeta sua estabilidade, especialmente para moléculas que são sensíveis a luz, umidade e oxigênio. Partículas menores tem uma maior área superficial exposta ao ambiente o que as torna mais sensíveis à degradação.
- **Embalagem e armazenamento** – certas características da embalagem do produto podem afetar a sua vida útil. Têm efeitos importantes: espessura da parede da embalagem, geometria do fechamento, relação volume e área de superfície, relação espaço livre e volume, taxa de permeação ao vapor de água, taxa de permeação ao oxigênio, transmitância de luz ou opacidade. A escolha da embalagem deve ser baseada nas características do suplemento e na estabilidade prevista. P. ex. suplementos sensíveis à luz devem estar em recipientes opacos ou escuros. Informações para a escolha dos recipientes podem ser encontradas na literatura, recomendações de fornecedores, ou podem ser derivadas de testes de estresse ou outros testes.

Para suplementos alimentares em forma de cápsulas ou comprimidos é importante que as características físicas sejam consideradas nos estudos de estabilidade. Dureza e friabilidade são características que podem mudar significativamente durante a vida útil do produto, devido ao emprego de veículos/ aditivos inadequados para aquela formulação, elevados níveis de umidade dos ingredientes ou no espaço livre, assim como a interação entre ingredientes e revestimentos.

O perfil de dissolução para comprimidos de liberação modificada, ou de cápsulas, pode mudar ao longo do tempo sendo importante que o estudo de estabilidade inclua esta característica. Atenção

também deve ser dada à possibilidade de reticulação da gelatina em cápsulas duras e moles, uma vez que as gelatinas são ingredientes bastante sujeitos a alterações físico-químicas.

Fatores que podem afetar a vida útil de suplementos

- Presença de constituintes lábeis, principalmente se for feita alegação quantitativa de sua presença
- Presença de ingredientes quimicamente reativos e que podem acelerar a degradação
- Presença de água ou umidade que podem acelerar alterações químicas e microbiológicas
- Forma física da apresentação
- Tamanho da partícula do ingrediente
- Menor proporção de produto para o espaço livre
- Embalagem que permite penetração de umidade, luz ou oxigênio
- Temperaturas elevadas de armazenamento

- Matrização

Conforme apresentado em 6.3.2 a matrização é uma ferramenta útil em estudos de estabilidade, desde que alguns requisitos sejam contemplados.

A matrização pode potencialmente ser considerada se os dados de suporte indicam uma provável estabilidade do produto e pouca variabilidade.

A matrização não deve ser considerada se os dados de suporte indicarem a possibilidade de grandes variabilidades.

A matrização é mais aplicável aos estudos de estabilidade de longa duração e pode resultar em uma redução de um terço até a metade do número de testes. Essa redução, quando comparada com um estudo completo, irá depender do número e combinações de parâmetros que serão avaliados.

Para o uso efetivo da matrização, as diferentes potências do produto devem:

- Ter formulações idênticas ou intimamente relacionadas;
- Ser de lotes fabricados com o mesmo processo e equipamentos; e
- Ser embalado com o mesmo tamanho de embalagem e com o mesmo sistema de envase e fechamento.

O desenho de uma matrização deve ser tal que cada combinação de parâmetros seja testada na mesma extensão ao longo da duração do estudo. Os valores de ponto inicial e final devem ser obtidos para todas as amostras para todos os parâmetros que estão sendo testados.

Ao aplicar uma redução na amostragem através da matrização, uma série de fatores devem ser considerados, incluindo:

- A estabilidade esperada do produto;
- Conhecimento prévio da variabilidade dos dados;
- Possíveis diferenças de estabilidade no produto; e
- A disponibilidade de dados de suporte.

Para estudos acelerados, além da consideração dos fatores acima, para permitir uma análise válida dos dados de estabilidade, pelo menos três pontos de tempo são necessários. O desenho da matrização deve permitir a detecção de diferenças de estabilidade dentro dos parâmetros e entre os parâmetros.

A tabela 1 apresenta um exemplo de um plano de matrização em que apenas três ou quatro dos seis pontos de tempo do segundo ao penúltimo momento são testados. Em todos os casos, todas as amostras devem ser testadas nos primeiro e último momentos.

Tabela - 1. Exemplo de matrização, com os momentos para avaliação, para um produto de vitamina C com duas potências.

Tempos (meses)			0	3	6	9	12	18	24	36	
Potências dos produtos	100mg	Lote	T	T		T	T		T	T	
		Lote	T	T		T	T	T		T	
		Lote	T		T		T	T			T
	250mg	Lote	T		T		T		T	T	
		Lote	T	T		T	T	T			T
		Lote	T		T		T		T	T	

8.2.3 Determinação do prazo de validade de alimentos para fins especiais (ALIFINS)

ALIFINS são produtos especialmente formulados ou processados com modificações na composição nutricional, de forma a atender às necessidades de pessoas em condições metabólicas e fisiológicas específicas. Entre esses alimentos, estão incluídos os alimentos enterais, os alimentos infantis, fórmulas dietoterápicas para erros inatos do metabolismo, além dos alimentos para controle

de peso, dos alimentos para dietas com restrição de nutrientes e dos alimentos para dietas de ingestão controlada de açúcares.

ALIFINS são produtos alimentícios altamente complexos com vários ingredientes e/ou nutrientes interagindo na matriz podendo afetar a estabilidade geral do produto. São alimentos que quando do seu desenvolvimento devem ser submetidos a uma criteriosa avaliação dos parâmetros de segurança do produto, do conteúdo de nutrientes e ingredientes ativos e das propriedades organolépticas e físicas. Esses parâmetros devem ser garantidos até o final de sua vida útil.

Embora existam numerosos relatos na literatura científica sobre a estabilidade relativa de uma única vitamina, lipídio ou outros ingredientes alimentares presentes em ALIFINS, os resultados e conclusões relatados não são facilmente aplicáveis à estabilidade dos mesmos compostos em matrizes alimentares desses produtos.

Propriedades sensoriais de ALIFINS consumidos por via oral (ou seja, não administrados por tubo) desempenham um papel fundamental na aceitabilidade pelo paciente, particularmente para ALIFINS de fonte única de nutrição ou quando a opção de produtos adequados disponíveis localmente é muito limitada. Para alguns produtos, uma textura apropriada é crítica para o desempenho clínico (por exemplo, livre de grumos/partículas não dissolvidas em ALIFINS administrados por tubo). É, portanto, de particular importância que os protocolos de estudo de validade sejam apropriadamente projetados e conduzidos em tais produtos e que sejam suficientemente específicos para demonstrar que esses produtos permanecem seguros e adequados até o final de seus prazos de validade.

8.2.3.1 Parâmetros que afetam a vida útil dos ALIFINS

Assim como para os demais grupos de alimentos já abordados nesse Guia, os ALIFINS também estão sujeitos aos efeitos dos fatores intrínsecos e extrínsecos. Abaixo algumas informações específicas para esse grupo de alimentos.

- **Umidade e temperatura** - A temperatura durante o armazenamento do produto pode afetar as propriedades sensoriais e estabilidade física da formulação. A temperatura na qual o produto é armazenado pode ter uma influência significativa no tipo e na taxa de degradação dos nutrientes e outros ingredientes ativos. A temperatura é, portanto, um parâmetro fundamental de controle na realização de testes de validade. O Conselho Internacional para Harmonização de Requisitos Técnicos para Produtos Farmacêuticos

para Uso Humano (ICH) divide o mundo em quatro zonas climáticas, no entanto, considera-se adequados os testes de estabilidade de ALIFINS que sejam realizados segundo as condições que atendam ao nosso país, ou seja Zona IVb: “Quente” $30^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$, 75% UR. Testes de prazo de validade, em tempo real, em temperaturas de armazenamento para uma zona com uma temperatura mais quente do que a zona de temperatura na qual o produto será comercializado, são aceitáveis para justificativa/validação do prazo de validade em zonas climáticas mais frias. O emprego de testes acelerados para esse grupo de alimentos frequentemente resulta em desvios significativos na textura e sabor do produto, e são de valor limitado para prever a estabilidade física de ALIFINS. Temperaturas excessivamente altas ($>10^{\circ}\text{C}$ acima de temperaturas ambientes normais de armazenamento) devem ser evitadas, pois podem levar à instabilidade dos nutrientes e outras alterações que não refletem as condições típicas. Para produtos embalados em embalagem primária impermeável à umidade, onde a hermeticidade e/ou permeabilidade são asseguradas pelo fabricante, é viável considerar que a realização de testes em condições de umidade controlada possa não ser necessária. Essa abordagem pode simplificar o processo de desenvolvimento, desde que a confiabilidade das características da embalagem seja devidamente garantida e documentada pelo produtor.

- **Luz** - Luz, especialmente a luz ultravioleta (comprimentos de onda $< 460\text{ nm}$), pode levar à perda de vitaminas por degradação. A exposição do produto à luz visível também pode comprometer a qualidade organoléptica do produto (por exemplo, acelerando as reações dos radicais livres que levam à degradação da gordura).
- **Oxigênio** - O conteúdo de oxigênio na embalagem primária é um fator crítico para determinar a estabilidade dos ingredientes ativos e nutrientes encontrados nos ALIFINS. A degradação é normalmente de primeira ordem e depende da quantidade de oxigênio presente. Gorduras e óleos também são suscetíveis à oxidação, que pode causar rancidez por meio da produção de hidroperóxidos, levando a aldeídos e cetonas menores e voláteis e sabores/odores "estranhos" associados.
- **pH** - O pH do produto pode impactar na sua qualidade organoléptica, bem como na estabilidade dos nutrientes e componentes. Algumas vitaminas são particularmente suscetíveis à perda por degradação em condições de baixo pH. Isso é de particular relevância para ALIFINS com baixo pH ou aqueles acidificados (cujos pH foram levados a $\leq 4,6$), como ALIFINS à base de leite acidificado ou ALIFINS contendo ingredientes à base de frutas.

- **Atividade de água** - A atividade de água contribui significativamente para muitos dos processos responsáveis pela perda ou degradação de nutrientes ao longo da vida útil do produto. Isso é particularmente relevante para ALIFINS com níveis relativamente baixos de atividade de água, como os pós.
- **Embalagem primária** – O tipo de embalagem usada pode afetar a qualidade e a validade de um alimento para fim especial. São diversos os tipos de embalagens primárias que podem ser utilizadas: latas de metal; garrafas de plástico opacas; latas compostas (latas feitas de materiais de várias camadas, como polietileno de baixa densidade (PEBD), polietileno (PE), alumínio e papel); embalagens flexíveis (ou seja, tubos dobráveis, sacos plásticos flexíveis, sachês, bolsas e pacotes adesivos) e caixas. Os testes de validade devem ser conduzidos utilizando a embalagem primária com propriedades de barreira equivalentes ao produto comercial.

8.2.3.2 Seleção de parâmetros para avaliação do prazo de validade de ALIFINS

As avaliações de prazo de validade devem se concentrar nas características do produto que estão sujeitas a alterações durante o tempo de armazenamento e que podem afetar a qualidade, segurança, níveis de nutrientes, alegações ou eficácia do produto e, portanto, definem a validade do produto.

Nesse item estão abordadas as determinações que são sugeridas para fazer parte dos testes de validade de ALIFINS.

a. Segurança do produto

ALIFINS são alimentos para o manejo dietético de pessoas em condições metabólicas e fisiológicas específicas, portanto, a segurança do produto é de vital importância e deve ser garantida pelo fabricante. Para garantir a segurança do alimento sugere-se que os produtores realizem qualificações rigorosas e regulares dos ingredientes, possuam programas rotineiros de monitoramento de qualidade de ingredientes e que adotem boas práticas de fabricação (BPF). Além disso, para os ingredientes de uso exclusivamente industrial empregados na fabricação de ALIFINS devem ser observados os padrões microbiológicos estabelecidos em suas especificações; já o produto final deve estar em conformidade com a Resolução RDC nº 724/2022 e IN 161/2022 para garantir que os produtos colocados no mercado sejam seguros.

Na fabricação de produtos líquidos são utilizados processos como pasteurização e tratamento com Ultra Alta Temperatura (UHT) que, quando devidamente validados, eliminam os patógenos que possam estar presentes, reduzem a população de microrganismos deteriorantes e asseguram que o produto após embalado, tenha estabilidade microbiológica. Uma vez que o produto é embalado e considerado comercialmente estéril ou pasteurizado e lacrado, a segurança do alimento é garantida pela barreira primária fornecida pela embalagem. Dessa forma, a avaliação da carga microbiológica logo após a fabricação, e ao final da vida útil, pode ser suficiente.

Para ALIFINS em pó, o principal controle para o desenvolvimento microbiano é a manutenção da atividade de água abaixo de 0,7. Isso deve ser garantido pelo emprego de embalagem adequada. Se a atividade de água dos produtos em pó, logo após a fabricação e ao final da vida útil, estiver inferior a 0,7 não são necessários quaisquer testes microbiológicos.

b. Conteúdo de nutrientes e ingredientes ativos

ALIFINS normalmente contêm uma mistura complexa de macro e micronutrientes. São os nutrientes mais lábeis que definem e reduzem a vida útil desse alimento. Nutrientes com maiores taxas de degradação durante o prazo de validade podem, portanto, ser usados como marcadores para indicar a adequação nutricional do produto e o prazo de validade deste. Se os níveis desses nutrientes mais instáveis permanecerem adequados ao final da validade, pode-se inferir que os níveis dos outros nutrientes mais estáveis também devem permanecer adequados.

Portanto, os testes de validade para ALIFINS podem ser restritos à análise quantitativa de um número limitado de marcadores de nutrientes identificados. Os minerais podem ser testados somente no início e final do estudo. Se o produto contiver probióticos, sua enumeração também deve ser incluída no teste de validade.

c. Propriedades organolépticas e físicas

De mesma forma que ocorre para outros alimentos, alterações organolépticas/sensoriais durante o armazenamento de ALIFINS incluem alterações em aparência e cor, odor e sabor, textura e sensação na boca. Embora algumas dessas alterações não causem sabor ou textura indesejáveis ou desagradáveis, elas são

indicadores de que o produto está apresentando um grau de instabilidade durante o prazo de validade.

Essas alterações são provocadas por oxigênio, luz, umidade, temperatura ou pela reação entre ingredientes. As principais alterações químicas incluem oxidação de lipídios e escurecimento enzimático e não enzimático, e todos os três podem ocorrer simultaneamente em um alimento para fim especial.

Propriedades físicas, como aparência, sedimentação, ausência de grumos, homogeneidade e adequação do uso do produto (por exemplo, velocidade de infusão para um produto administrado por tubo) também podem mudar durante o armazenamento de ALIFINS. Essas mudanças podem ser afetadas por uma série de fatores, como composição do ingrediente, complexidade do produto, processo de fabricação, condições de armazenamento do produto e material de embalagem. Em geral, as avaliações físicas, organolépticas e sensoriais devem ser adaptadas ao método de consumo do produto e meta de aceitação do paciente para a preparação e ingestão do produto (por exemplo, produtos administrados exclusivamente por tubo não precisam ser organolepticamente aceitáveis, mas devem ser isentos de grumos e apresentar uma viscosidade adequada).

Cabe ressaltar a relevância dos estudos de uso para alimentos administrados via sonda gástrica (nasogástrica), duodenal e jejunal (nasoentérica), nomeadamente na categoria de alimentos enterais, como fórmulas e módulos para nutrição enteral. Para esses produtos, é importante que o fabricante realize testes tais como a forma de preparação, o tempo máximo de uso permitido e a forma de acondicionamento da fórmula após preparação. Também devem ser avaliados os cuidados a serem adotados no momento de administração da dieta, tal como agitação do frasco, retirada do volume a ser administrado e estabilidade física, química e microbiológica, para garantir que recomendações precisas para administração das fórmulas sejam adequadamente fornecidas aos interessados. Para o planejamento do estudo deve ainda ser considerada a taxa de infusão da fórmula, que depende da tolerância do paciente. A repetição dos testes, pelo menos, nos tempos inicial e final da sua validade pode garantir que o produto é adequado para escoamento em tubo durante toda a vida de prateleira.

Os testes realizados em sonda com escoamento gravitacional e com baixa taxa de infusão representam o pior caso. A utilização de bombas de alimentação pode não ser

representativa da realidade, visto que na prática estes equipamentos podem não estar disponíveis no local onde serão administrados estes produtos.

Alternativamente, para a realização de testes de uso, podem ser utilizados protocolos da prática clínica publicados em referências nacionais ou internacionais. No entanto, a simples mensuração de parâmetros reológicos do fluido (p. ex. viscosidade), como indicativo de que o produto está apto para escoamento em tubo não é uma prática aceitável. Isto porque existem diversas variáveis que afetam o escoamento de um fluido, como o comportamento viscoelástico, a temperatura, a diferença de pressão entre as extremidades, o material do tubo etc. Além disso, esta abordagem não possibilita a observação da formação de grumos e entupimentos, fatores que podem inviabilizar a administração via tubo e ocasionar complicações clínicas no estado de saúde do paciente.

8.2.3.3 Análise dos parâmetros

A abordagem ideal para a estimativa precisa de vida útil envolve a condução de estudos de estabilidade de longa duração (item 6.1.1) conduzidos em temperatura que simule a condição mais crítica a ser encontrada e que excedam o tempo de vida útil esperada. Se os dados em tempo real, no final da validade, ainda não estiverem disponíveis, dados intermediários de estudo em tempo real podem ser usados para definir uma validade inicial mais curta ou preliminar.

Em certos casos estudos em tempo real antes do lançamento do produto podem não ser comercialmente viáveis, e estudos acelerados (item 6.2.2) são utilizados. Apesar de eles poderem ser úteis na detecção de instabilidade em um produto, existe um limite na sua precisão em determinar a provável vida útil, a menos que diversas temperaturas sejam utilizadas. Uma restrição ao uso de testes acelerados está relacionada a alimentos com adição de probióticos.

8.3 Recomendações gerais

- Os estudos de estabilidade devem ser bem projetados antes do seu início e devem ser individualizados para atender às necessidades específicas da matriz e do conteúdo do produto.
- O emprego de matéria prima próximo ao final de seu prazo de vida útil pode afetar a qualidade e o prazo de validade do produto acabado.

- Os estudos devem ser realizados na embalagem final proposta. Sempre que possível, o processamento e a embalagem das amostras de teste devem simular as condições reais da produção comercial do produto em termos de volume interno, barreira, propriedades de migração e integridade da selagem.
- Quando os produtos possuírem mais de um tamanho de embalagem, a menor e a maior embalagem devem ser testadas. Isso é necessário, pois as embalagens maiores podem ter um maior espaço vazio relativo ou área de superfície de embalagem, fatores que podem afetar a estabilidade. Outra abordagem pode ser adotada desde que cientificamente justificada.
- Antes de prosseguir com a seleção de amostras para um estudo de estabilidade, o produto deve primeiro ser verificado para confirmar que os lotes atendem às especificações esperadas.
- As amostras de produtos selecionadas para um estudo de estabilidade devem ser retiradas do(s) lote(s) que são considerados equivalentes àqueles vendidos comercialmente. Os lotes devem ser selecionados aleatoriamente, não devem ser seletivamente escolhidos com base em parâmetros específicos. As amostras também devem ser verificadas para garantir a distribuição homogênea dos ingredientes na formulação.
- Preferencialmente, as análises devem ser feitas em amostras de três lotes. A repetição das análises em lotes distintos minimiza o impacto que a variabilidade entre lotes e a variabilidade analítica dos métodos aplicados ensejam sobre os resultados. Essas são variáveis importantes a serem consideradas principalmente em alimentos constituídos de matrizes complexas. A realização do estudo de estabilidade em apenas um lote pode gerar incertezas e não refletir o real comportamento do alimento, podendo ser estatisticamente insuficiente, sugerindo uma conclusão não adequada para o estabelecimento do prazo de validade do produto.
- O prazo de validade de um produto pode variar a depender da qualidade das matérias-primas utilizadas, das condições de processo, do envase elegido, das características da matriz e do armazenamento. Assim, a extrapolação deste prazo pode não ser representativa para outros, ainda que similares.
- As propriedades e os parâmetros selecionados para testes durante um estudo de estabilidade devem incluir as características que podem estar sujeitas a alterações

durante o armazenamento e que podem afetar o teor declarado na rotulagem, a qualidade, a segurança e/ou a eficácia do produto.

- Se o produto contiver probióticos em sua composição, o estudo de estabilidade deverá avaliar a quantidade do micro-organismo no produto e a viabilidade do probiótico durante o prazo de validade nas condições de uso determinadas.
- Nos casos de produtos que contenham enzimas, os estudos de estabilidades deverão avaliar a quantidade e a atividade da enzima no produto.
- Para determinados tipos de alimentos, considerando suas características de embalagem e armazenamento, bem como o processamento ao qual foram submetidos, é possível inferir que alguns parâmetros não sofrerão alterações significativas durante o prazo de validade, como teores de contaminantes, presença de patógenos, carga microbiana ou esterilidade comercial. Estes parâmetros são usualmente fatores de monitoramento, considerados nas Boas Práticas de Fabricação. Por exemplo, para produtos com baixa atividade de água que sejam embalados hermeticamente e que a embalagem permaneça lacrada, impermeável e intacta ao longo do tempo de armazenamento, é possível que a realização dos testes microbiológicos e de contaminantes sejam realizados apenas após a fabricação do produto, sendo dispensável seu monitoramento ao longo do estudo de estabilidade. Em contrapartida, certos alimentos líquidos podem exigir testes em tempos intermediários.
- A análise de nutrientes relativamente estáveis e não marcadores ao longo do prazo de validade, incluindo os oligoelementos e os minerais, também pode ser dispensada, caso existam evidências documentadas de que seja improvável que ocorram alterações significativas na matriz alimentícia objeto do estudo, uma vez que interações entre substâncias em matrizes complexas podem acarretar a degradação de nutrientes. Para validação, é importante a realização da análise destes nutrientes no tempo final do estudo de longa duração, a qual irá confirmar a estabilidade destes nutrientes.
- Produtos que contenham probióticos e/ou enzimas devem ser tratados com atenção especial. Nesses casos a empresa deve apresentar complementarmente aos demais estudos:
 - os controles utilizados para identificação fenotípica e/ou genotípica do probiótico pela fabricante do produto final, com justificativa do método adotado, nos casos em que ele próprio realiza a replicação da cepa aprovada na avaliação;

- os estudos de estabilidade deverão avaliar a quantidade do micro-organismo no produto e a viabilidade do probiótico durante o prazo de validade nas condições de uso determinadas;
- os controles utilizados para assegurar a ausência de contaminação por outros micro-organismos e a pesquisa de patógenos;
- no caso de produtos que contenham enzimas, os controles utilizados para assegurar a identidade devem ser apresentados, e os estudos de estabilidade deverão avaliar a quantidade e a atividade da enzima no produto durante a validade deste.
- Substâncias bioativas presentes em alimentos devem ter seu teor comprovado no produto durante todo o prazo de validade.
- A análise de todos os nutrientes no tempo final do estudo de estabilidade de longa duração vai confirmar se os indicadores selecionados para os tempos intermediários foram adequados e estes parâmetros serão utilizados para o planejamento dos estudos de acompanhamento de estabilidade, que visam a verificar se o produto se mantém estável ao longo do tempo, indicando a necessidade de investigação e ações corretivas, a depender dos resultados.
- Após a seleção dos parâmetros de teste, é essencial garantir que os métodos analíticos sejam apropriados para a matriz do produto em particular. Os métodos devem ser verificados nas condições do laboratório e quando necessário, validados.
- É importante que todos os procedimentos analíticos sejam revisados criticamente no contexto da composição do produto, para garantir que nenhum dos ingredientes tenha potencial para interferir nos resultados, que a variabilidade do método seja aceitável e que o método seja adequadamente implementado no laboratório responsável pela análise.
- Nem todos os métodos de análise para os componentes de alimentos aplicam-se sem modificação em todas as matrizes de produtos. O uso de um método analítico inapropriado pode invalidar os resultados de um estudo. Por exemplo, a modificação dos procedimentos de extração de vitaminas pode ser necessária para algumas matrizes de comprimidos. Neste caso a modificação realizada deverá ser validada.
- Em estudos de estabilidade de produtos contendo diversos ingredientes, é aconselhável uma maior frequência de ensaios em virtude da complexidade da matriz alimentar.
- A previsão de quantidades adicionais de amostras do produto (amostras de reserva) possibilita o reteste futuro no caso de eventuais desvios nos resultados obtidos. Estas

amostras devem ser armazenadas em condições que mantenham suas características inalteradas.

- As condições de temperatura e umidade às quais as amostras testadas são submetidas devem ser correspondentes à zona climática para a qual o produto é destinado. No caso do Brasil, a zona climática é enquadrada como IVb ($30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e $75\%\text{UR} \pm 5\%\text{UR}$) (Item 8.2.3.1).
- Devem ser desenvolvidos procedimentos para lidar com episódios inesperados durante o curso do estudo, como falhas nos equipamentos ou falhas de energia, devendo-se estabelecer um tempo máximo permitido para uma falha. Todos esses episódios devem ser descritos no relatório do estudo e deve ser avaliado seu efeito potencial sobre o resultado do estudo.
- Para produtos com vida útil longa (>1 ano) os testes são geralmente realizados no início (T0) e ao final da vida útil. Pode ser apropriado realizar testes a cada 3 meses no primeiro ano (T=3, 6, 9 e 12 meses), a cada 6 meses durante o segundo ano (T=18 e 24 meses) e anualmente a partir de então, até o final da vida útil. Para estudos acelerados os testes são geralmente realizados no início, meio e final em um estudo de 6 meses (T=0, 3 e 6 meses). Esses períodos são apenas diretrizes gerais. Em alguns casos pode ser interessante continuar os testes após a vida útil determinada, para verificar por quanto tempo o produto permanece estável.
- Para produtos com vida útil mais curta, pode ser necessário um ajuste nos tempos de análise e a frequência de testes pode ser medida em dias ou semanas, e não em meses ou anos.
- Quando for necessária a apresentação de documento que subsidiou a definição do prazo de validade do alimento, por exemplo, por exigência da autoridade sanitária competente quando da regularização do produto, pode ser útil incluir, no mínimo, as informações descritas no ANEXO VIII. Além disso, caso alguma dessas informações não seja apresentada, é recomendável fornecer uma justificativa explicando a sua não pertinência, considerando a abordagem adotada.

9. ANÁLISE DOS DADOS E CONCLUSÃO DO ESTUDO

Um dos elementos mais importantes de um estudo de estabilidade é a avaliação científica dos dados gerados, utilizando técnicas estatísticas. Os dados gerados a partir dos estudos de estabilidade devem ser efetivamente avaliados.

O protocolo do estudo de estabilidade deve ser desenhado de forma a fornecer dados no formato e quantidade adequados a um estudo estatístico. Isso exige que se adote uma abordagem sistemática na apresentação e avaliação da informação derivada do estudo. A totalidade da informação deve ser considerada e deve incluir, quando apropriado, resultados de testes físicos, químicos, e microbiológicos e organolépticos/sensoriais, incluindo testes relacionados a atributos particulares da forma do alimento.

Os dados gerados a partir dos estudos devem ser avaliados para determinar os atributos críticos que podem influenciar a qualidade do produto durante a validade prevista. Cada atributo deve ser avaliado separadamente e, em seguida, uma avaliação geral de todos os dados deve ser realizada antes da definição do prazo de validade.

A validade de um produto será baseada no menor período que o produto leva para que algum dos atributos, de qualidade ou de segurança, deixem de atender aos critérios estabelecidos.

Enquanto os dados do estudo de estabilidade de longa duração não estiverem disponíveis, é possível que sejam utilizados para definir um prazo de validade provisório, dados intermediários de estudos de longa duração, resultados de estudos acelerados, extrapolações de estudos de estabilidade de produtos similares, dados bibliográficos e modelos matemáticos preditivos relevantes, os quais poderão subsidiar a aposição de uma validade provisória. Dependendo da categoria do produto o fabricante deverá avaliar se os dados que dispõe são suficientes. Os estudos serão úteis e respaldarão um prazo de validade provisório somente se os padrões de deterioração do alimento permanecerem semelhantes aos esperados nas condições de armazenamento normais.

Nos casos que um produto seja disponibilizado no comércio nacional com um prazo de validade provisório determinado a partir da análise de dados preliminares, ou extrapolados, é importante que um estudo de longa duração esteja em andamento. Se os resultados deste estudo não confirmarem o prazo de validade provisório, é necessário que a empresa tome as medidas cabíveis para alteração da validade do produto.

10. EXTRAPOLAÇÃO DOS DADOS

A extrapolação permite que dados conhecidos sejam analisados para inferir dados futuros, particularmente em termos de tendências.

A análise de tendência faz parte da análise estatística que compõe os estudos, e permite descobrir padrões e tendência de alteração do produto em função do tempo.

O princípio da extrapolação constitui a base do estudo acelerado, considerando que os dados obtidos no estudo são usados para prever o comportamento do produto ao longo dos meses.

Uma extrapolação pressupõe que todos os padrões de mudança identificados nos estudos acelerados continuarão a ser válidos até o final da validade prevista, desde que as condições externas (temperatura, umidade, oxigênio, luz etc.) permaneçam dentro de um intervalo aceitável.

A extrapolação de dados de estabilidade pode ser apropriada para o produto dependendo da extensão da informação disponível sobre o padrão de mudança no mesmo, do modelo matemático e da existência de dados de suporte relevantes (por exemplo, a partir de estudos sobre produtos similares ou da literatura científica).

11. ANEXOS

ANEXO I - Interações químicas das vitaminas que podem afetar a estabilidade

(Fonte: IADSA. Stability testing for the shelf life determination of supplements).

Abaixo estão descritos alguns exemplos bem estabelecidos de interações de vitaminas com outras vitaminas, minerais ou conservantes que podem afetar a estabilidade dos alimentos. A lista não é exaustiva e outras interações podem surgir com maior conhecimento ao longo do tempo.

Algumas interações que foram observadas em estudos experimentais, mas que não foram verificadas em produtos também foram incluídas.

A. Interações entre vitaminas

- Ácido ascórbico e folato: a clivagem de moléculas de ácido fólico pode ocorrer em alimentos líquidos, onde o ácido ascórbico também está presente. Isso é devido ao efeito redutor do ácido ascórbico. Esse efeito é mais rápido na faixa de pH 3,0 - 3,3 e mais lento a pH 6,5 - 6,7.
- Ácido ascórbico e vitamina B12: a vitamina B12 (como cianocobalamina) mostrou-se instável na presença de ácido ascórbico em solução aquosa. A instabilidade mostrou-se dependente do pH. Em termos relativos, a cianocobalamina é mais estável em presença de ácido ascórbico que a hidroxicobalamina.
- Tiamina e ácido fólico: a estabilidade do ácido fólico pode ser significativamente afetada na presença de tiamina, particularmente em soluções na faixa de pH de 5,9 a 7,0. Verificou-se também que a decomposição de tiamina em soluções pode afetar a taxa de degradação do ácido fólico, que é acelerada na presença dos produtos de degradação da tiamina, particularmente o sulfeto de hidrogênio.
- Tiamina e vitamina B12: a decomposição de tiamina pode aumentar a taxa de degradação da cianocobalamina devido a substâncias formadas durante a clivagem da tiamina.
- Riboflavina e Tiamina: a riboflavina pode exercer uma ação oxidativa sobre a tiamina, levando à formação e precipitação do tiocromo. Essa reação parece ser específica para soluções contendo as vitaminas B e não é vista em soluções que contenham riboflavina, tiamina e ácido ascórbico.

- Riboflavina e ácido fólico: a estabilidade do ácido fólico pode ser afetada pelas ações combinadas da riboflavina e da luz, que podem produzir uma reação oxidativa que resulta na clivagem do ácido fólico. Esse efeito ocorre mais rapidamente a pH 6,5 e pode ser reduzido, mas não eliminado, por desaeração.
- Riboflavina e ácido ascórbico: a oxidação do ácido ascórbico exposto à luz pode ser catalisada pela presença de riboflavina, que atua como um receptor de energia luminosa.
- Riboflavina e Niacinamida: Embora não seja tão aplicável à estabilidade, observou-se que a presença de niacinamida em concentrações superiores a 1% em solução aquosa pode aumentar a solubilidade da riboflavina. Isto é possivelmente devido à formação de um complexo entre as duas vitaminas.
- Niacinamida e ácido ascórbico: um complexo de niacinamida-ácido ascórbico, contendo uma molécula de cada, forma-se prontamente em solução pelo que parece ser uma reação de transferência de carga. A pré-formação deste complexo pode evitar dificuldades com o espessamento e endurecimento das misturas empregadas em cápsulas gelatinosas moles.
- Niacinamida e Ácido Fólico: Embora não seja tão aplicável à estabilidade, observou-se que a niacinamida atua como solubilizante do ácido fólico. Uma solução a 10% de niacinamida pode manter uma concentração de 5 mg/ml de ácido fólico a um pH 5,6, enquanto a solubilidade normal do ácido fólico a pH 6,0 é de 2 mg/ml.

B. Interações vitamina – sal mineral

- Ácido ascórbico e íons metálicos: traços de uma série de íons metálicos podem catalisar a degradação do ácido ascórbico. Estudos demonstraram que a ordem de eficácia dos íons metálicos principais é $\text{Cu}^{+2} > \text{Fe}^{+2} > \text{Zn}^{+2}$ e que a presença de íons de cobre a 0,85ppm (mg/kg) foi suficiente para catalisar a oxidação do ácido ascórbico.
- Ácido ascórbico e sais de ferro: a presença de ácido ascórbico e sais de ferro em formulações de comprimidos e cápsulas pode resultar em manchas pretas aparecendo no produto. Isso pode ser evitado com o revestimento da fonte de ferro.
- Retinol e traços de minerais: A oxidação do retinol e seus ésteres é catalisada pela presença de traços de minerais nas formulações.
- Tiamina e íons de cobre: a estabilidade da tiamina pode ser prejudicada pela presença de íons de cobre. Isso parece ocorrer principalmente quando o cobre é capaz de formar ânions complexos com outros constituintes da matriz.

C. Interações vitamina – conservantes

- Tiamina e sulfitos: a tiamina é muito sensível aos sulfitos e bissulfitos, que clivam a tiamina. A presença de sulfitos em xarope de glicose, glicose em pó e sucos de frutas ou concentrados utilizados como aromatizantes pode ser suficiente para que essa reação ocorra.
- Ácido ascórbico e benzoatos: a presença de ácido ascórbico e benzoatos em produtos líquidos pode resultar na produção de benzeno, substância de alta toxicidade.

D. Outras interações vitamínicas observadas em estudos experimentais

- Niacinamida, Riboflavina-5'-fosfato sódico e ácido ascórbico: Niacinamida adicionada a uma solução de riboflavina-5'-fosfato sódico e ácido ascórbico aumentou significativamente a perda de riboflavina-5'-fosfato durante a fotólise, enquanto o triptofano adicionado estabilizou as duas vitaminas.
- Piridoxal-5-fosfato e tiamina, difosfato de tiamina, riboflavina-5-fosfato, cobamamida, piridoxal ou piridoxina: a estabilidade do piridoxal-5-fosfato é pobre a pH 6 em solução aquosa. Um aumento da taxa de degradação pode ser causado por tiamina, difosfato de tiamina, riboflavina-5-fosfato, cobamamida, piridoxal ou piridoxina.
- Ergocalciferol e ácido ascórbico, ácido fólico, cloridrato de tiamina ou Cloridrato de piridoxina: o Ergocalciferol em preparações em pó pode ser facilmente isomerizado por ácido ascórbico, ácido fólico, cloridrato de tiamina ou cloridrato de piridoxina.

ANEXO II - Comparação da estabilidade de vitaminas

Exemplos de como fatores diferentes podem afetar a estabilidade das 13 vitaminas reconhecidas e do betacaroteno. Em alguns casos, um fator pode influenciar o efeito de outro. O grau de influência dos diferentes fatores dependerá da matriz do produto.

	Temperatura	Luz (UV)	Oxigênio atmosférico	Umidade	pH<7	pH>7	Agentes oxidantes	Agentes redutores	Íons metálicos	Radiação Ionizante	Informação adicional
Vitamina A	♦♦	♦♦♦	♦♦	♦	♦♦	♦	♦♦♦	♦	♦	♦	Suscetível à isomerização
Betacaroteno		♦	♦		♦						
Vitamina D	♦♦	♦♦♦	♦	♦	♦♦	♦♦	♦♦♦	♦			Suscetível à isomerização
Vitamina E	♦♦	♦♦		♦	♦	♦♦	♦♦	♦		♦	Ésteres da vitamina bem estáveis
Vitamina K	♦	♦♦	♦	♦	♦	♦♦♦	♦♦	♦		♦	Suscetível à isomerização
Vitamina C	♦♦	♦♦	♦	♦♦	♦♦♦	♦♦♦	♦♦♦	♦	Cu e Fe		Instável em soluções com oxigênio dissolvido
Tiamina (Vitamina B1)	♦♦♦	♦♦		♦♦	♦	♦♦♦	♦	♦		♦	Clivado por sulfitos
Riboflavina (Vitamina B2)	♦	♦♦♦		♦	♦	♦♦♦	♦	♦♦			
Niacina	♦	♦		♦	♦	♦	♦	♦♦			Normalmente bastante estável
Vitamina B6	♦	♦♦		♦	♦♦	♦♦	♦	♦			
Ácido fólico	♦	♦♦		♦	♦♦	♦♦	♦♦♦	♦♦♦			
Vitamina B12	♦	♦♦		♦♦	♦♦♦	♦♦♦	♦	♦♦♦			
Biotina	♦	♦		♦	♦♦	♦♦	♦	♦	♦♦	♦	Inativado por avidina
Ácido pantotênico	♦♦	♦		♦♦	♦♦♦	♦♦♦	♦	♦			Ácido pantotênico livre é bastante instável

Legenda: ♦ levemente sensível; ♦♦ sensível; ♦♦♦ altamente sensível (Fonte: IADSA. Stability testing for the shelf life determination of supplements).

ANEXO III – Alguns exemplos de métodos de conservação e seus efeitos nos micro-organismos

Efeito	Fator	Processo
Redução ou inibição da multiplicação	Baixa temperatura	Estocagem sob refrigeração ou congelamento
	Baixa atividade de água	Secagem, cura e conservação por adição de açúcar ou de substâncias antiulectantes
	Restrição da disponibilidade de nutrientes	Compartimentalização em emulsões água-óleo
	Baixo nível de oxigênio	Embalagem a vácuo ou atmosfera modificada
	Aumento de dióxido de carbono	Embalagem em atmosfera modificada
	Acidificação	Fermentação, adição de ácidos
	Fermentação alcoólica	Produção de cervejas e vinhos
Inativação de micro-organismos	Utilização de conservantes	Adição de conservantes inorgânicos (sulfitos e nitritos), orgânicos (propionato, sorbato, benzoato, parabeno), bacteriocinas (nisina, natomicina)
	Aquecimento	Pasteurização e esterilização
	Irradiação	Irradiação ionizante
	Alta pressão	Aplicação de altas pressões hidrostáticas

Fonte: mod. de OPAS. Tecnologias de conservação aplicadas à segurança dos alimentos. Washington, D.C.:OPAS, 2019.

ANEXO IV - Resumo não exaustivo de micro-organismos patogênicos de relevância para definição de vida útil para diferentes categorias de produtos perecíveis.

	Grupo Genero/ espécie	Categoria de alimento de preocupação	Exemplos de tipos de alimentos
Bactérias Gram-negativas	Mesófilas <i>Salmonella spp, E. coli</i> patogenica	Carnes e derivados	Carne de suíno ou de bovino cruas
		Pescados e outros frutos do mar e derivados	Moluscos
		Frutas e hortaliças	Hortaliças e frutas in natura , picadas/ PPC (brotos vegetais, espinafre, etc), frutas
		Leite e derivados	queijos macios/ cottage, leite cru
		Alimentos preparados/ mistos	Saladas preparadas, sanduíches
	Psicrotróficas <i>Yersinia enterocolitica</i>	Carne e derivados	Carne crua moída
Bactérias Gram-positivas	Não toxigênicas <i>L. monocytogenes</i>	Produtos in natura , embalados PPC ^a	Saladas, sucos de frutas, frutas e hortaliças in natura contadas
		Alimentos PPC, expostos a contaminação após etapa de processamento que capaz de inativar o micro-organismo	Produtos cárneos cozidos, peixes defumados, queijos frescos, macios/ semi-macios
	Toxigenicos não esporulados <i>Staphylococcus aureus</i>	Carne e derivados	Carnes e derivados cozidos
		Pescados e derivados	Pescados e derivados cozidos
		Queijos e derivados lácteos	Queijo de leite cru, queijos macios
		Produtos de panificação	Tortas, doces recheados com creme
		Refeições preparadas	Pratos a base de peixes, de carnes e contendo queijo
	Esporulados aeróbicos <i>B. cereus</i> (diarreio genico e emético)	Alimentos de origem vegetal, especialmente os tratados termicamente	Pratos ou refeições contendo massa ou arroz
		Refeições preparadas PPC/ misturas (APRMPDE) ^b	Hortaliças cozidas e batatas, pure de vegetais, refeições a base de carnes combinadas com produtos de origem vegetal (molhos, hortaliças)
		Leite e derivados	Leite pasteurizado, produtos de laticínios e sobremesas lácteas
	Anaerobios esporulados		

	Psicitróficos <i>Clostridium botulinum</i> não proteolítico	Alimentos embalados em atmosfera reduzida, particularmente tratados termicamente (APRMPDE)	Peixes salgados, produtos cárneos cozidos (patês, embutidos), hommus
	Mesofílos <i>C. botulinum</i> proteolítico	Produtos cárneos e de pescados	Peixes enlatados (sardinhas, atum, etc) e produtos cárneos (patês, carnes enlatadas)

^a– PPC – prontos para o consumo ^b - APRMPDE - Alimentos processados refrigerados minimamente processados de durabilidade estendida

Fonte: EFSA Journal, 18(12):6306, 2020.

ANEXO V - Principais micro-organismos deteriorantes e alimentos embalados relevantes

Micro-organismo deteriorante	Alimento relevante/ comentários
Bactérias esporuladas aeróbias e/ou anaeróbias, incluindo gêneros <i>Bacillus</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Alicyclobacillus</i>	<p>Em alimentos termoprocessados (ex. pasteurização leve), esporos podem sobreviver ao tratamento o que pode levar a deterioração subsequente durante o período de armazenamento.</p> <p>Em carnes resfriadas embaladas a vácuo (não termoprocessadas), deterioração por estufamento do tipo blow pack pode ocorrer pela presença e multiplicação de clostrídios psicrotróficos e psicrófilicos (não patogênicos).</p>
Bactérias ácido lácticas, p. ex. gêneros psicrotróficos como <i>Leuconostoc</i> , <i>Weissella</i> e <i>Lactobacillus</i>	Em alimentos embalados a vácuo e em atmosfera modificada (p. ex. <i>Photobacterium phosphoreum</i> em produtos de pescado em atmosfera modificada)
Leveduras (p. ex. <i>Candida</i> e <i>Saccharomyces</i>) e fungos filamentosos (p. ex. <i>Penicillium</i> spp, <i>Botrytis</i> spp, <i>Alternaria</i> spp)	Leveduras e fungos filamentosos dominam a microbiota de um alimento quando as condições são menos favoráveis para o crescimento bacteriano p. ex. baixo pH, baixa a_w como em produtos de frutas e seus derivados (sucos, geleias, frutas in natura cortadas), iogurtes, queijos ou outros alimentos fermentados etc.

Fonte: EFSA Journal, 18(12):6306, 2020.

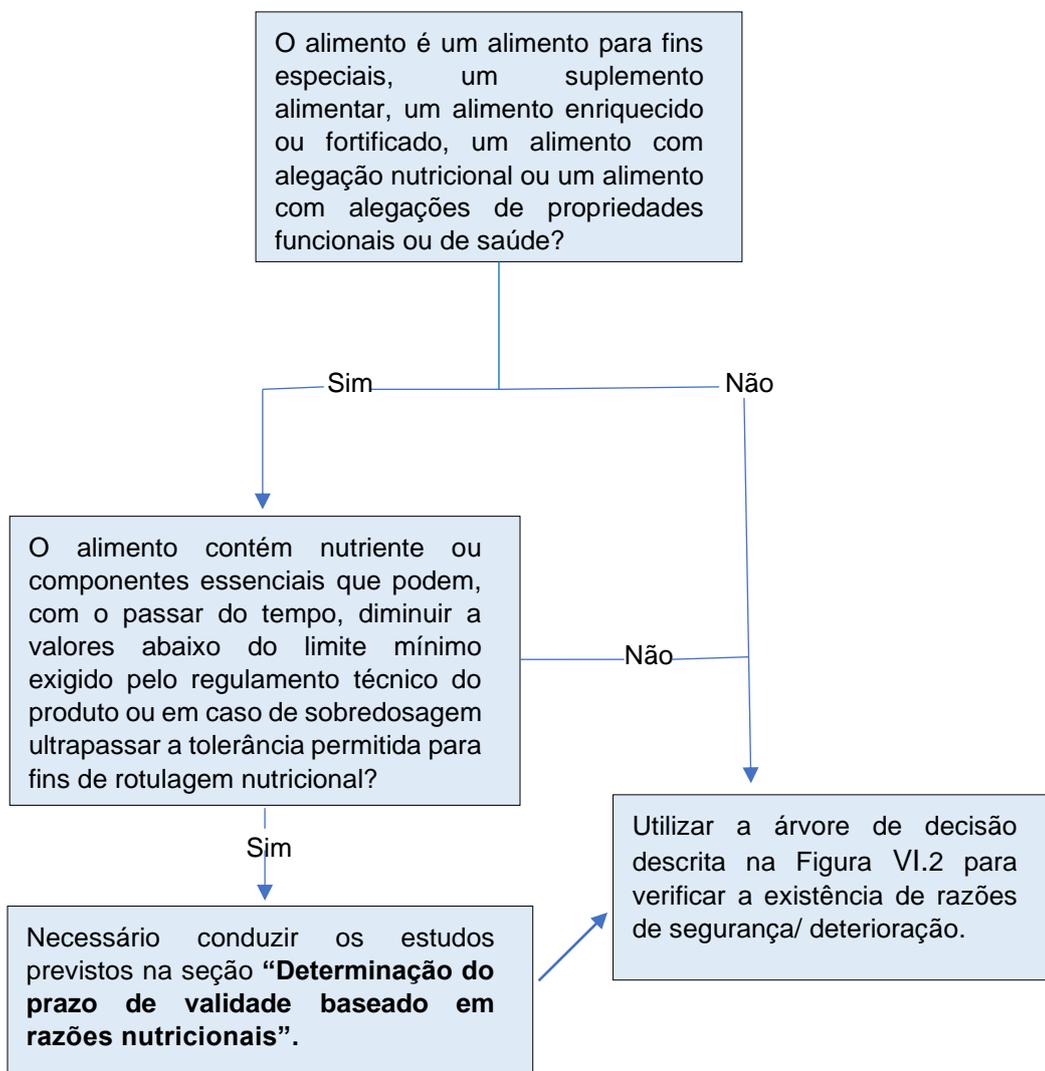
ANEXO VI - Árvores de decisão para definição do tipo de determinação do prazo de validade

Os fatores a serem considerados na determinação do prazo de validade variam conforme as características e a finalidade de uso do alimento. Definir se a aplicação do prazo de validade se dará por questões de saúde nutricionais, por razões de segurança ou por deterioração, ou pela combinação desses fatores é uma das primeiras atividades para determinar a validade do alimento. As árvores de decisão exibidas nas Figuras VI.1 e VI.2 deste anexo apresentam orientações para apoiar esta avaliação.

Para estabelecer se existem questões nutricionais a serem consideradas na determinação do prazo de validade de alimentos, recomenda-se aplicar a árvore de decisão descrita na Figura VI.1.

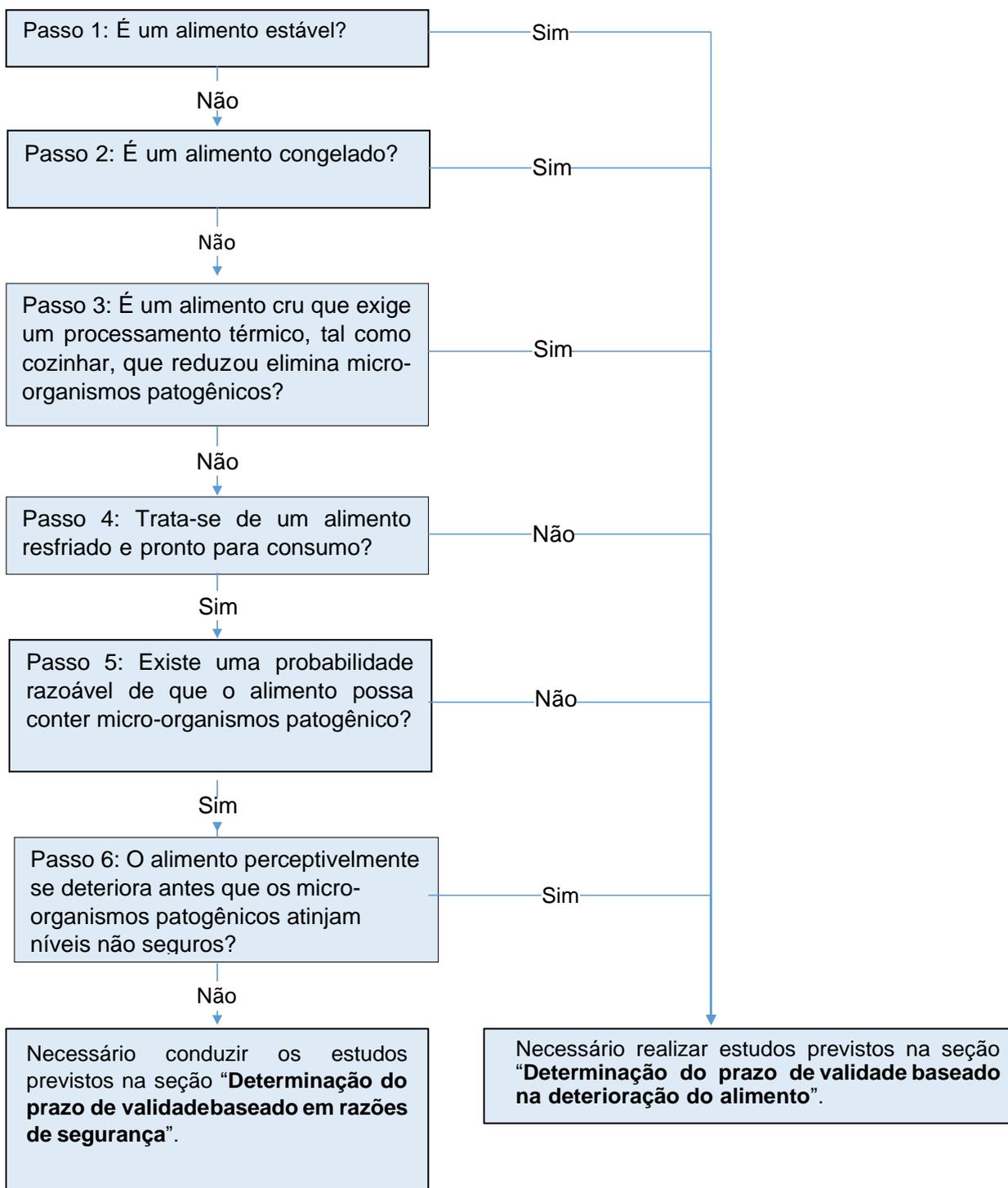
Após a avaliação das questões nutricionais, é recomendado que seja avaliado se existem também questões de segurança/ deterioração utilizando a árvore de decisão apresentada na Figura VI.2. Cada uma das perguntas da árvore foi numerada e um texto explicativo fornecido na sequência.

FIGURA VI.1 - Árvore de decisão para aplicação do prazo de validade por razões nutricionais do consumidor.



Fonte: adaptado de FSANZ, *User guide to standard 1.2.5 – Date marking of food*, 2013.

FIGURA VI.2 - Árvore de decisão para aplicação do prazo de validade por razões de segurança ou deterioração.



Fonte: adaptado de *New Zealand Ministry of Primary Industries. How to determine the shelf life of food. 2016.*

Texto explicativo da árvore de decisão apresentada na Figura VI.2

Passo 1. Alimentos estáveis são aqueles que não necessitam de condições especiais de conservação, pois não fornecem condições adequadas para o crescimento de micro-organismos por serem secos ou por possuírem alto teor de ácido, açúcar ou sal. Os alimentos preservados dessa forma acabarão por apresentar deterioração no sabor e na aparência, mas isso pode demorar muito. Os alimentos que foram submetidos a um processo capaz de eliminar tanto as células vegetativas quanto os esporos bacterianos também resultarão em alimentos estáveis desde que não haja possibilidade de recontaminação após o processamento (ex. conservas e produtos esterilizados/ tratados na embalagem final).

Passo 2. Não há micro-organismos patogênicos e há muito poucos micro-organismos que causam deterioração de alimentos que se multipliquem à temperatura de congelamento, com exceção de alguns fungos que podem crescer em alimentos congelados. No entanto, se for esperado que o alimento seja descongelado antes do consumo, avance para o passo 3, uma vez que se houver um período prolongado entre o descongelamento do alimento e o consumo sem cozimento adicional, eventuais micro-organismos presentes poderão atingir níveis não seguros.

Passo 3. Os alimentos que devem ser cozidos antes de serem consumidos necessitam de preparo e armazenamento adequados para reduzir, a níveis seguros, a população de qualquer micro-organismo patogênico presente.

Passo 4. Algumas bactérias patogênicas tolerantes ao frio podem crescer em alimentos durante o armazenamento refrigerado, de forma a atingir níveis inseguros ou a produzir toxinas. Estas bactérias podem ter sobrevivido ao processamento ou podem ter sido introduzidas no alimento após o processamento, por exemplo durante o processo de embalagem.

Passo 5. Existem algumas bactérias tolerantes ao frio que podem causar doença de origem alimentar, tais como *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* e *Yersinia enterocolitica*. Esporos de *B. cereus* e *C. botulinum* podem permanecer no produto se o processo foi desenhado apenas para eliminar células vegetativas. Esse produto é seguro para ser consumido desde que os esporos não tenham possibilidade de germinar e multiplicar a níveis não seguros durante o armazenamento. *L. monocytogenes* e *Y. enterocolitica* são

contaminantes potenciais de alimentos que são minimamente processados ou que não foram submetidos a processos que possam eliminar o risco microbiológico. Alguns alimentos, após um processamento validado, podem ser contaminados por micro-organismos presentes no ambiente de processamento, antes da embalagem.

A validade do alimento deve ser baseada na capacidade desses agentes patogênicos, se presentes, de sobreviver e multiplicar sob as condições de armazenamento pretendidas.

Passo 6. Se houver a possibilidade de bactérias patogênicas tolerantes ao frio estarem presentes nos alimentos e se multiplicarem durante o armazenamento, o prazo de validade deve ser determinado considerando as razões de segurança. No entanto, este seria o caso apenas se o nível dessas bactérias patogênicas pudesse tornar o alimento inseguro antes do crescimento de micro-organismos que deteriore o alimento, tornando-o inaceitável. Nas Figuras VI.3, VI.4 e VI.5 deste anexo estão apresentados três cenários possíveis para o crescimento de micro-organismos deteriorantes e bactérias patogênicas em alimentos.

Figura VI.3 - Cenário A: O alimento é um substrato que permite o crescimento de bactérias patogênicas e deteriorantes durante o armazenamento, sendo que as bactérias patogênicas atingem níveis inseguros antes que o alimento apresente características de deterioração. Neste caso, o prazo de validade deve ser estabelecido de forma a garantir que o alimento não seja consumido quando os níveis de patógenos possam ser inseguros.

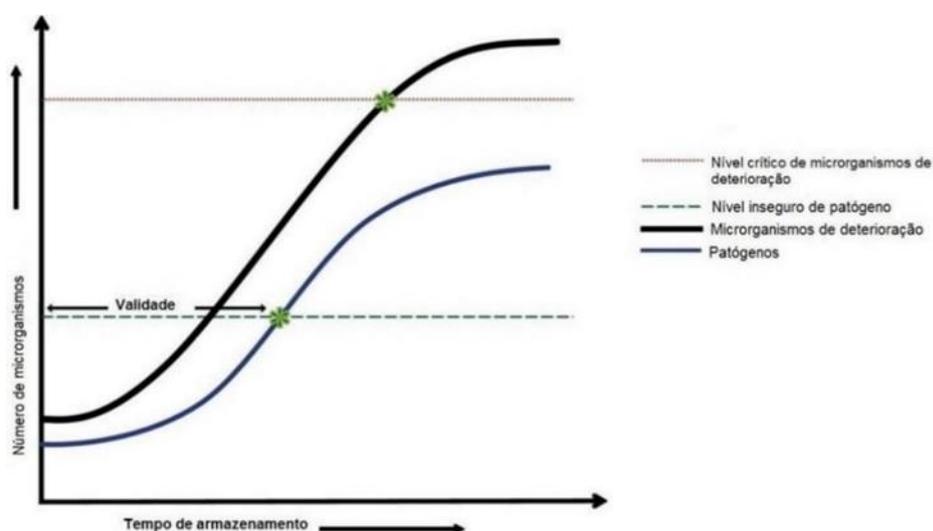


Figura VI.4 - Cenário B: O alimento é um substrato que permite o crescimento de bactérias patogênicas e deteriorantes durante o armazenamento, mas o alimento apresenta características de deterioração antes que as bactérias patogênicas tenham atingido níveis inseguros. Neste caso, o prazo de validade será estabelecido com base no tempo de deterioração do alimento.

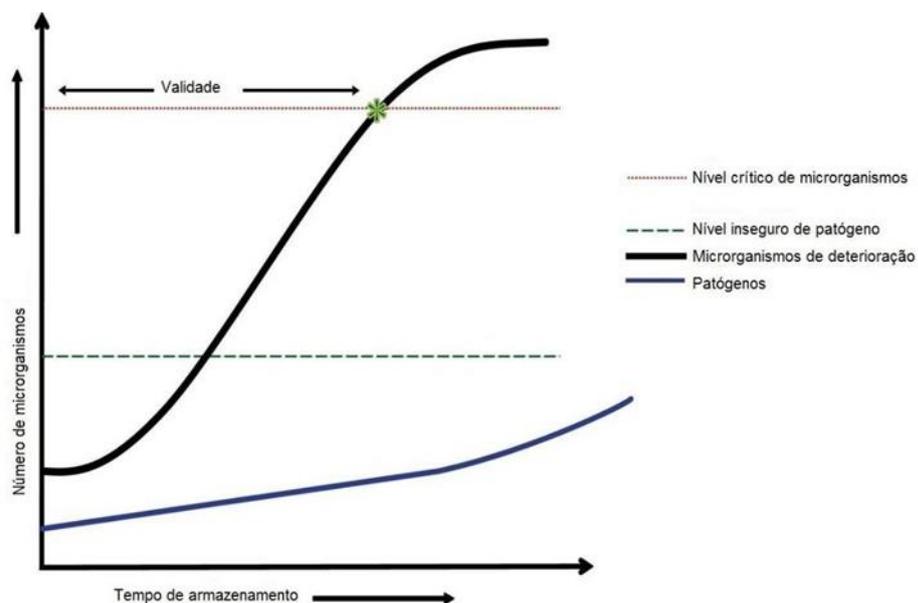
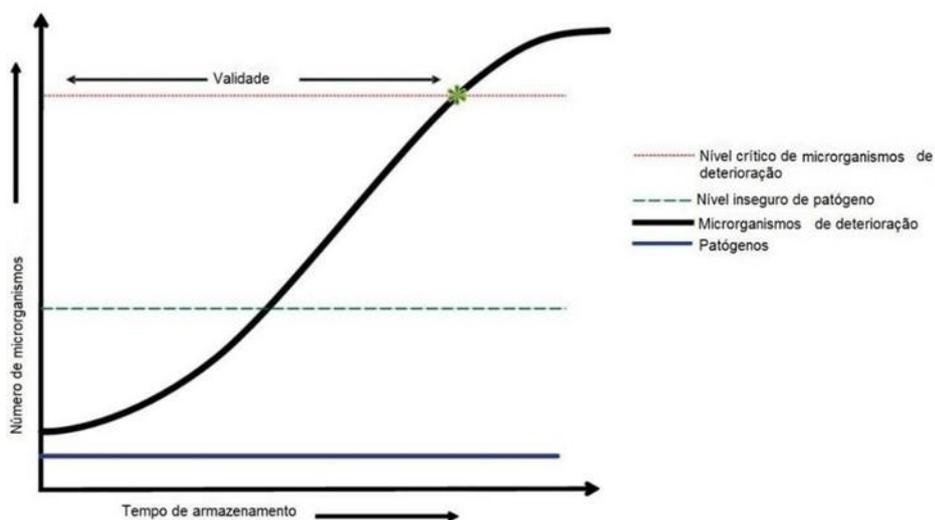


Figura VI.5 - Cenário C: As bactérias patogênicas às vezes podem estar presentes em níveis muito baixos (seguros) e não crescerem nos alimentos. Por outro lado, as bactérias deteriorantes podem crescer e o alimento apresentar características de deterioração. Neste caso, o prazo de validade será estabelecido com base no tempo de deterioração do alimento.



Fonte das figuras VI.3, VI.4 e VI.5: New Zealand Ministry of Primary Industries. How to determine the shelf life of food. 2016.

ANEXO VII - Indicação de parâmetros que podem ser considerados nos estudos de estabilidade de suplementos

(Fonte: IADSA. *Stability testing for the shelf life determination of supplements*. 2016).

a. Comprimidos:

- Aspecto da embalagem;
- Marcadores químicos (quando relevante);
- Aparência, cor, odor, sabor e/ou textura;
- Teor (ingredientes declarados na rotulagem);
- Produtos de degradação dos ingredientes, se houver a possibilidade de formação de substâncias potencialmente tóxicas;
- Dureza e friabilidade;
- Taxa de desintegração e dissolução;
- Teor de umidade ou perda por dessecação;
- Oxidação da gordura, se aplicável; e
- Análise microbiológica.

b. Cápsulas gelatinosas (duras e moles):

- Aspecto da embalagem;
- Aparência, cor, odor, sabor e/ou textura;
- Marcadores químicos (quando relevante);
- Teor (ingredientes declarados na rotulagem);
- Produtos de degradação dos ingredientes, se houver a possibilidade de formação de substâncias potencialmente tóxicas;
- Taxa de dissolução;
- Integridade da cápsula, como fragilidade ou vazamento;
- Teor de umidade ou perda por dessecação;
- Oxidação da gordura, se aplicável; e
- Análise microbiológica.

c. Líquidos e semissólidos (géis):

- Aspecto da embalagem;
- Aparência, cor, odor, sabor e/ou textura;
- Marcadores químicos (quando relevante);
- Teor (ingredientes declarados na rotulagem);

- Produtos de degradação dos ingredientes, se houver a possibilidade de formação de substâncias potencialmente tóxicas;
- pH;
- Viscosidade e/ou textura;
- Teor de umidade e/ou atividade da água;
- Análise microbiológica;
- Teor de conservantes;
- Oxidação da gordura, se aplicável;
- Estabilidade da emulsão, se aplicável;
- Precipitação; e
- Separação de fases.

d. Pós

- Aspecto da embalagem;
- Aparência, cor, odor e sabor;
- Marcadores químicos (quando relevante);
- Teor (ingredientes declarados na rotulagem);
- Produtos de degradação dos ingredientes, se houver a possibilidade de formação de substâncias potencialmente tóxicas;
- Teor de umidade e/ou atividade da água;
- Oxidação da gordura, se aplicável;
- Higroscopicidade;
- Análise microbiológica;
- Distribuição de tamanho de partícula; e
- Propriedades de fluxo do pó/ adesão.

ANEXO VIII – Lista não exaustiva de informações que devem constar no documento apresentado à autoridade sanitária para subsidiar o prazo de validade definido

- Nome e endereço da empresa responsável pela execução do estudo;
- Formulação do produto incluído no estudo;
- Tipo de embalagem do produto submetido ao estudo;
- Tipo de estudo realizado incluindo o racional para sua escolha;
- Número dos lotes submetidos ao estudo;
- Data de fabricação dos lotes submetidos ao estudo;
- Condições de armazenamento das amostras;
- Número total de amostras;
- Testes que foram realizados, acompanhados de especificações e limites ou critérios de aceitação numéricos e/ou descritivos;
- Frequência de testes;
- Data de início do Estudo;
- Duração do Estudo;
- Resultados;
- Observações; e
- Avaliação técnico-científica dos dados gerados, incluindo avaliação estatística e de extrapolação de dados, se pertinente, e conclusão referente ao prazo de validade adotado.

12 GLOSSÁRIO

Alifins - produtos especialmente formulados ou processados com modificações na composição nutricional, de forma a atender às necessidades de indivíduos com condições metabólicas e fisiológicas específicas.

Alimento - toda substância ou mistura de substâncias, no estado sólido, líquido, pastoso ou qualquer outra forma adequada, destinadas a fornecer ao organismo humano os elementos normais à sua formação, manutenção e desenvolvimento.

Alimento enriquecido ou fortificado – alimento que recebe a adição de um ou mais nutrientes essenciais, contidos naturalmente ou não no alimento, com o objetivo de reforçar o seu valor nutritivo ou de prevenir ou corrigir deficiências nutricionais

Alimento estável - alimento que, devido à sua natureza, mantém a segurança e características originais, mesmo quando armazenado em temperatura ambiente, desde que a integridade da embalagem seja mantida.

Atividade da água - é a relação entre a pressão de vapor de água de um alimento e a pressão de vapor da água pura à mesma temperatura. No contexto de alimentos, a atividade da água é uma medida da propensão ao crescimento microbológico e às reações químicas. Quanto maior a atividade da água, mais instável o produto.

Auto-oxidação (de um ingrediente) - oxidação espontânea de um ingrediente a temperatura ambiente na presença de oxigênio.

Cadeia produtiva - Conjunto de atividades que se articulam progressivamente desde os insumos básicos até o produto final, incluindo distribuição e comercialização.

Desintegração - o tempo necessário para um comprimido se quebrar em partículas de um tamanho especificado (ou menor) em uma solução sob condições específicas cuidadosamente controladas.

Dissolução - um processo pelo qual uma substância sólida como uma cápsula ou comprimido se dissolve em um solvente para produzir uma solução. O tempo de dissolução é o tempo necessário para conseguir a dissolução sob determinadas condições controladas.

Embalagem - todas as operações, incluindo envase, selagem e rotulagem, que um produto a granel deve sofrer para se tornar um produto acabado.

Embalagem impermeável: embalagem que provê barreira completa à passagem de vapores, gases ou solventes.

Estabilidade - capacidade de uma substância, ou produto, permanecer inalterada ao longo do tempo sob as condições declaradas ou razoavelmente esperadas de armazenamento e uso.

Equação de Arrhenius – equação que relaciona a constante de velocidade de uma reação química com a temperatura. Dada pela expressão:

$$k = Ae^{\frac{-E_a}{RT}}$$

Onde k = constante de velocidade; A = constante pré-exponencial; E_a = energia de ativação; R = constante dos gases; T = temperatura.

Fabricação - o ciclo completo de produção e controle de qualidade de um alimento, incluindo a produção, industrialização, armazenamento, fracionamento, transporte, distribuição, importação ou comercialização de alimentos para consumo humano.

Fabricante - pessoa ou empresa envolvida na fabricação de um produto acabado.

Homogeneidade - uniformidade em toda a sua estrutura ou composição. Quando aplicado a etapa de mistura, todas as partes de uma mistura contendo vários componentes devem ter a mesma composição. Para lotes indica que todos os produtos foram submetidos às mesmas condições de manuseio, embalagem, armazenamento etc.

Lote - conjunto de produtos de um mesmo tipo, processados pelo mesmo fabricante ou fracionador, em um espaço de tempo determinado, sob condições essencialmente iguais.

Micro-organismos –agentes biológicos, geralmente de tamanho microscópico, de várias espécies, grupos e até reinos, incluindo, bolores, leveduras, bactérias, alguns parasitas, vírus e até príons.

Módulo para nutrição enteral: fórmula para nutrição enteral composta por um dos principais grupos de nutrientes: carboidratos, lipídios, proteínas, fibras alimentares ou micronutrientes (vitaminas e minerais).

Prazo de validade - é o intervalo de tempo durante o qual o alimento permanece seguro e adequado ao consumo, desde que armazenado em embalagens intactas e de acordo com as condições estabelecidas pelo fabricante.

Produto acabado - um alimento que passou por todas as fases de fabricação.

Sobredose - quantidade de uma substância acima da declarada no rótulo que é adicionada ao alimento durante a fabricação para cobrir perdas que podem ocorrer por degradação durante o processamento e armazenamento do produto.

Suplemento alimentar - produto para ingestão oral, apresentado em formas farmacêuticas, destinado a suplementar a alimentação de indivíduos saudáveis com nutrientes, substâncias bioativas, enzimas ou probióticos, isolados ou combinados.

13 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN HERBAL PRODUCTS ASSOCIATION. Shelf life dating of botanical supplement ingredients and products. AHPA: Silver Spring, MD, 2011.

ANVISA, Instrução Normativa nº 161 de 01 de julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos., **Diário Oficial da União**, 2022.

ANVISA. Orientação de Serviço nº 30, de 04 de maio de 2017. Determina os trâmites para elaboração e aprovação de guias. **Boletim de Serviço Anvisa nº 19**, p. 3, 2017a.

ANVISA. Orientação de Serviço nº 61, de 01 de abril de 2019.

ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada - Resolução nº 429/2020. Dispõe sobre a rotulagem nutricional dos alimentos embalados. **Diário Oficial da União**, 2020.

ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada - Resolução nº 727/2002. Rotulagem dos alimentos embalados., **Diário Oficial da União**, 2002.

ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada - Resolução nº 724//2022. Dispõe sobre os padrões microbiológicos dos alimentos e sua aplicação. **Diário Oficial da União**, 2022.

ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada - Resolução nº 512/2021. Dispõe sobre as boas práticas para laboratórios de controle de qualidade. **Diário Oficial da União**, 2021.

ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada - Resolução nº 714/2022. Dispõe sobre os requisitos sanitários para enriquecimento e restauração de alimentos. **Diário Oficial da União**, 2022.

ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada - Resolução nº 243/2018. Dispõe sobre os requisitos sanitários dos suplementos alimentares. **Diário Oficial da União**, 2018.

ANVISA. **Temas de alimentos da Agenda Regulatório da Anvisa**. Disponível em: < <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/regulamentacao/agenda-regulatoria> >. Acesso em: maio de 2023.

BOYLSTON, T. D. Understanding and measuring the shelf life of food. **Journal of Food Quality**, v. 28, nº 4, p. 403–404, 2005.

BRASIL. Lei no 6.437, de 20 de agosto de 1977. Configura infrações à legislação sanitária federal, estabelece as sanções respectivas, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, 1977.

BRASIL. Lei no 8.078, de 11 de setembro de 1990. Dispõe sobre a proteção do consumidor e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, 1990.

CANADA. Canadian Food Inspection Agency. Shelf life studies. <https://inspection.canada.ca/en/preventive-controls/shelf-life-studies>. Acesso: 25 de Agosto de 2024.

CCMAS/CODEX. CXG 28-1995: Food control laboratory management: recommendations. Rev.1-1997. **CODEX**, p. 1, 1997.

CCMAS/CODEX. CXG 54-2004: Guidelines on measurement uncertainty. **CODEX**, p. 1–7. Adopted in 2004. Amended in 2021.

CCMAS/CODEX. CXG 65-1997: Harmonized guidelines for internal quality control in analytical chemistry laboratories. **CODEX**, p. 1, 1997.

CHARALAMBOUS, G.(ed.) The shelf life of foods and beverages: **Proceedings of the Fourth International Flavour Conference**, Rhodes, Greece, 23–26 July 1985. Developments in Food Science 12. Elsevier, Amsterdam, 1986. 828 p.

CODEX ALIMENTARIUS. Guidelines for the validation of food safety control measures CXG 69-2008. **Codex**. p. 1–10, Adopted in 2008. Amended in 2013.

COMISSÃO INTERMINISTERIAL DE SAÚDE E AGRICULTURA- CISA. Resolução CISA/MA/MS nº 10, de 31 de julho de 1984. Dispõe sobre instruções para conservação nas fases de transporte, comercialização e consumo dos alimentos perecíveis, industrializados ou beneficiados, acondicionados em embalagens. **Diário Oficial da União**, 1984.

CORREIA, L. F. M.; FARAONI, A. S.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Efeito do processamento industrial de alimentos sobre a estabilidade de vitaminas. **Alimentos Nutrição**, Araraquara, v. 19, nº1, p. 83-95, jan/mar 2008.

CURIALE, M. S.; VESTERGAARD, E. M. Do you need microbial challenge testing. **Food Safety Magazine**, v. April/May, p. 30–53, 2001.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.; FENNEMA, O. (eds) Fennema's Food Chemistry. 4^a. ed., CRC Press, 2007.

DECKER E. A., ELIAS, R. J., MC CLEMENTS, D. J., (eds.) Oxidation in foods and beverages and antioxidant applications Volume 1: **Understanding mechanisms of oxidation and antioxidant activity**. Woodhead Publishing, UK. 2010. ISBN: 978 1 84569 648 1.

EFSA BIOHAZ Panel (EFSA Panel on Biological Hazards), Koutsoumanis K, Allende A, Alvarez-Ordóñez A, Bolton D, *et al.* Guidance on date marking and related food information: part 1 (date marking). **EFSA Journal**,18(12):6306, 2020, 74 p.

ESKINM, ROBINSON, DS. (eds). **Food shelf-life stability: chemical, biochemical, and microbiological changes**, CRC, EUA. 2000.

FRANCO, B.D.G.M., LANDGRAF, M. Microbiologia dos Alimentos. 2 Ed., Atheneu, Rio de Janeiro, 2023.

FOOD STANDARDS AUSTRALIA NEW ZEALAND (FSANZ). User Guide to standard 1.2.5 Date marking of food, 2013.

FOOD SUPPLEMENTS EUROPE. Guide to good manufacturing practice for manufacturers of food supplements. Bruxelas, 2014. 108p.

GRIMM, W. 1986. Storage conditions for stability testing (Part 2). **Drugs Made in Germany**, 29:39 - 47.

GRIMM, W. 1998. Extension of the International Conference on Harmonisation Tripartite Guidelines for stability testing of new drug substances and products to countries of Climatic Zones III and IV. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, 24:313-325.

IADSA - **The International Alliance of Dietary / Food Supplement Associations. Global Guide to Good Manufacturing Practice for Supplements**. 2011, Disponível em <[http://www.iadsa.org/images/userfiles/IADSA Global GMP Guide.pdf](http://www.iadsa.org/images/userfiles/IADSA%20Global%20GMP%20Guide.pdf)>. Acesso em: 20 de agosto de 2024.

IADSA. Stability testing for the shelf life determination of supplements. **The International Alliance of Dietary / Food Supplement Associations**, p. 1–84, 2016.

IFT/FDA. Evaluation and definition of potentially hazardous foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, V. 2, p. 1-109, 2003.

IFT/FDA. microbiological challenge testing. **Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety**, v. 2 (supplement), p. 46-50, 2003.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use (ICH) **Harmonised tripartite guideline: bracketing and matrixing designs for stability testing of new drug substances and products (Q1D)**. 2002. 11p.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH) **Harmonised tripartite guideline: evaluation for stability data (Q1E)**. 2003. 19p.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH) **Harmonised tripartite guideline: stability testing of new drug substances and products Q1A (R2)**, 2003. 24p.

INTERNATIONAL LIFE SCIENCES INSTITUTE EUROPE. **Report Series: Validation and verification of HACCP**. Bruxelas. 1999. 24p.

IRELAND FOOD SAFETY AUTHORITY. Validation of product shelf-life (revision 5), 2022.

ISO. ISO 22000: Food safety management systems — Requirements for any organization in the food chain. **International Standard**, p. 1–48, 2018.

ISO. ISO/IEC 17025: General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. **International Standard**, p. 1–36, 2017.

ISO. ISO/IEC 20976-1 Microbiology of the food chain - Requirements and guidelines for conducting challenge tests of food and feed products - Part 1: Challenge tests to study growth potential, lag time and maximum growth rate. **International Standard**, 2019.

KILCAST D, SUBRAMANIAM P (eds). The stability and shelf-life of food. Woodhead Publishing Series. In: **Food Science, Technology and Nutrition**, n° 48. Woodhead Publishing. 2000.

KILCAST D., SUBRAMANIAM, P. (eds.) **Food and beverage stability and shelf life**.

Woodhead Publishing, UK. 2011.

LABUZA, T. P. Application of chemical kinetics to deterioration of foods. **Journal of Chemical Education**, v. 61, nº 4, p. 348-358, 1984.

LABUZA, T.; RIBOH, D. Theory and application of Arrhenius kinetics to the prediction of nutrient losses in food. **Food Technology**, p. 66–74, 1982.

LAWLESS HT, HEYMANN H. **Sensory evaluation of food: principles and practices**, 2nd Edition. Springer, NY. 2010.

MAN, C. M. D. Shelf-life testing. In: **Understanding and measuring the shelf life of food**. Steele, R. (ed). CRC, p. 340-356, 2004.

MEILGAARD, M. C, CARR, B.T., CIVILLE, G.V. **Sensory evaluation techniques**, 4th ed. CRC Press, EUA. 2006.

MICHIELS, Y.; PUYVELDE, P.; SELS, B. Barriers and chemistry in a bottle: mechanisms in today's oxygen barriers for tomorrow's materials. **Applied Sciences**, v. 7, nº 7, p. 665, 2017.

NACMCF. Parameters for determining inoculated pack/challenge study protocols. **J. Food Protection**. v. 73, nº 1, p. 140-202, 2010.

NEW ZEALAND MINISTRY FOR PRIMARY INDUSTRIES (MPI). How to determine the shelf life of food - Guidance document, p. 1–43, junho 2016.

NSF STABILITY TESTING WORKING GROUP. **Stability testing guideline for dietary supplements**. Disponível em: <http://www.nsf.org/newsroom_pdf/Stability_Testing_Dietary_Supplements.pdf>. Acesso em: 17 junho de 2018.

OLIVEIRA, G. S.; COSTA, J. M. C. DA; AFONSO, M. R. A. Caracterização e comportamento higroscópico do pó da polpa de cajá liofilizada. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, nº 10, p. 1059–1064, 2014.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). Tecnologias de conservação aplicadas à segurança de alimentos. Washington, D.C.: OPAS; 2019. 84p.

OMS. Annex 2 - Stability testing of active pharmaceutical ingredients and finished pharmaceutical products. **WHO Technical Report Series**, No. 953, p. 44, 2009.

OMS. Guidelines on good manufacturing practices: validation. Appendix 7: non-sterile process validation. **WHO Technical Report Series**, nº 992, n. Annex 3, p. 75–86, 2015.

OTTAWAY, P. B. Food fortification and supplementation: **Technological, safety and regulatory aspects**. [s.l.] CRC, 2008.

OTTAWAY, P. B. The stability of vitamins in fortified foods and supplements. In: **Food Fortification and Supplementation**. Ottaway BP (ed). CRC Press Ltd., USA. 2008. ISBN 9781845694265.

PHIMOLSIRIPOL, Y.; SUPPAKUL, P. Techniques in shelf-life evaluation of food products. In: **Reference Module in Food Science**. Elsevier, 2016. 8p.

PORTER, W. R. Stability by design. **Journal of Validation Technology**, v. 17, p. 82–96, 2011.

SCHLOSSMAN, N. *et al.* Accelerated shelf life studies: methods and results relating to new and upgraded food aid products. **Food Aid Quality Review Phase II**. 2015.

SHERAZ, M. A. *et al.* Photo, thermal and chemical degradation of riboflavin. **Beilstein Journal of Organic Chemistry**, v. 10, p. 1999–2012, 2014.

SKIBSTED L, RISBO J, ANDERSEN M (eds.) **Chemical deterioration and physical instability of food and beverages**. Woodhead Publishing, UK. 2010.

STABILITY SYSTEM. ARRENIUS EQUATION: EFFECT OF TEMPERATURE ON REACTION. 2006, **ScienTek Documents on Stability Theory**, ScienTek Software, www.StabilitySystem.com

THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. The International Harmonized Protocol for the proficiency testing of analytical chemistry laboratories (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 78, n° 1, p. 145–196, 2006.

THOMPSON, M.; WOOD, R. Harmonized guidelines for internal quality control in analytical chemistry laboratories (Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 67, n° 4, p. 649–666, 1995.

USP. <1225> Validation of compendial procedures. **The United States Pharmacopeia (USP)**, n. c, p. 778–782, 2011.

USP. <1226> Verification of compendial procedures. **The United States Pharmacopeia (USP)**, n. c, p. 2014–2015, 2015.

USP. <1671> The application of moisture vapor transmission rates for solid oral dosage forms in plastic packaging systems. In: **The United States Pharmacopeia (USP)**. [s.l: s.n.].

USP. <2040> Disintegration and dissolution of dietary supplements. In: **The United States Pharmacopeia (USP)**. 41° ed. Rockville (EUA): **The United States Pharmacopeia**, 2018a. p. 8178–8185.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa

SIA Trecho 5, Área Especial 57, Lote 200

CEP: 71205-050

Brasília – DF

www.anvisa.gov.br

www.twitter.com/anvisa_oficial

Anvisa Atende: 0800-642-9782

ouvidoria@anvisa.gov.br