

Guia de estudos de vida útil de alimentos

**Anderson S. Sant'Ana
Glaucia Maria Pastore
Mario R. Marostica Junior**

SUMÁRIO

1. **Introdução**
2. **Escopo**
3. **Mudanças que podem ocorrer com os alimentos durante o processamento e estocagem**
 - 3.1. Mudanças químicas / nutricionais
 - 3.2. Mudanças microbiológicas
 - 3.3. Mudanças sensoriais
4. **Fatores intrínsecos e extrínsecos que afetam a vida útil dos alimentos**
5. **Estudos de vida útil de alimentos**
 - 5.1. Alimentos nos quais patógenos são críticos
 - 5.2. Alimentos nos quais micro-organismos deteriorantes são críticos
 - 5.3. Alimentos nos quais compostos químicos e a degradação de nutrientes são críticos
 - 5.4. Alimentos nos quais características sensoriais são críticas
6. **Planejamento, condução e interpretação de estudos de vida útil de alimentos**
 - 6.1. Métodos diretos:**
 - 6.1.1. Métodos microbiológicos – estudos de durabilidade
 - 6.1.2 Métodos químicos
 - 6.1.3. Métodos sensoriais
 - 6.2. Métodos indiretos:**
 - 6.2.1. Métodos microbiológicos – testes desafio
 - 6.2.1.1. Modelagem preditiva
 - 6.2.1.2. *Challenge tests*
 - 6.2.2. Métodos microbiológicos – Uso de modelos preditivos

6.2.3. Métodos químicos – testes acelerados

6.3 Métodos de agrupamento (Determinação de prazo de validade por similaridade)

7. *Validação e monitoramento da vida útil dos alimentos*

7.1. Condições para validação/monitoramento da vida útil dos alimentos

7.2. Modificação (redução/aumento) da vida útil dos alimentos com base no monitoramento

8. Referências

1. Introdução

De maneira geral, os alimentos e bebidas se deterioram ao longo do tempo, seja durante o processamento ou estocagem, em taxas que podem variar muito caso a caso. Alterações em alimentos podem ser de origem física, química ou microbiológica e o impacto no produto pode ser uma pequena alteração sensorial, passando por perdas de nutrientes ou até gerar contaminação microbiológica, o que poderá ter impacto na saúde do consumidor. Desta forma, o comportamento de alimentos durante o armazenamento é de grande interesse às empresas e ao mercado consumidor.

2. Escopo

Esse guia tem o objetivo de apresentar, de uma forma concisa, critérios para a determinação do prazo de validade de um alimento com foco em seus parâmetros críticos, a saber: físico, químico, nutricional, microbiológico e sensorial. Esse guia é orientativo e não tem a pretensão de estabelecer metodologias para realização de testes e estabilidade, mas de **orientar** sobre critérios a serem estabelecidos para a condução de testes.

3. Mudanças que podem ocorrer com os alimentos durante o processamento e estocagem

3.1. Mudanças químicas e nutricionais

Muitas reações químicas e bioquímicas podem alterar a qualidade ou a segurança de um alimento durante o processo e a estocagem, tais como escurecimento não enzimático, escurecimento enzimático, oxidação, rancificação, interações com metais, isomerização de lipídeos, ciclização de lipídeos, isomerização cis – trans, oxidação e polimerização de lipídeos, desnaturação de proteínas, ligações cruzadas entre aminoácidos, entre outras. Algumas dessas alterações podem levar a perda de vitaminas instáveis. Já minerais, por se tratar de nutrientes estáveis não sofrerão perdas nutricionais com estas transformações químicas durante a vida útil do produto. Macronutrientes podem sofrer alterações devido a reação de Maillard, condensação de aminoácidos, oxidação lipídica e rancificação, entretanto, esses processos poderão ser perceptíveis em metodologias de análise sensorial, mas dificilmente serão detectados em métodos clássicos de análise de composição centesimal.

3.2. Mudanças microbiológicas

Os alimentos são matrizes complexas, que junto com as embalagens e o ambiente compreendem um sistema que afeta os tipos e concentração dos micro-organismos presentes. Sendo assim, o alimento em si (parâmetros intrínsecos) e a atmosfera que envolve os alimentos (parâmetros extrínsecos), associados às condições de processamento, estocagem e distribuição, definem o comportamento microbiano.

De fato, as principais mudanças que ocorrem com os micro-organismos nos alimentos são sobrevivência, morte e multiplicação. A sobrevivência pode ocorrer quando a contagem microbiana está acima do limite do processo de causar a inativação dos micro-organismos no nível requerido para se assegurar sua estabilidade ou segurança. Além disso, alguns micro-organismos possuem a capacidade de formar esporos e, por serem estruturas com elevada resistência física e química, permitem que micro-organismos esporulados sobrevivam ao processamento e posteriormente germinem e se multipliquem durante a estocagem, distribuição e/ou consumo dos alimentos. Sendo assim, fica evidente que o fenômeno microbiológico de maior importância que concorre para a redução da vida útil da maioria dos alimentos é a multiplicação. Todavia, a morte dos micro-organismos pode limitar a vida útil de determinadas categorias de alimentos, tais como aqueles adicionados de probióticos. Em virtude da multiplicação, os micro-organismos deterioradores podem atingir contagens suficientes para alterar a aparência, sabor/odor, cor e textura dos alimentos. Já os patógenos podem atingir contagens suficientes que poderão comprometer a segurança alimentar quando do consumo do alimento.

Assim, como comportamento microbiano nos alimentos é muito dinâmico, torna-se fundamental quantificar o impacto individual e combinado dos fatores intrínsecos e extrínsecos para otimização de formulações e/ou para determinação precisa da vida útil dos alimentos.

3.3. Mudanças sensoriais

Com o decorrer do tempo os alimentos e bebidas, podem apresentar mudanças de seus aspectos sensoriais, como aparência, textura, sabor e odor, em decorrência de alterações físicas, microbiológicas, reações químicas e bioquímicas, impactando na vida de prateleira.

A exposição à luz, por exemplo, pode levar à oxidação e hidrólise de lipídeos e degradação de 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 alterações de cor, além de outros aspectos. Essas alterações sensoriais, mesmo que não sejam nocivas à saúde, podem gerar a percepção de perda da qualidade do produto, impactando na sua aceitação por parte do mercado consumidor.

Algumas alterações, como a hidrólise e oxidação de lipídeos podem levar a *off-flavors* e rancidez, exposição à luz pode levar ao desenvolvimento de *off-flavor*, outras reações de oxidação podem levar ao escurecimento em determinados alimentos, sedimentação pode levar à separação de fases, escurecimento enzimático ou não enzimático pode levar a alterações na cor, além de outras alterações nas características sensoriais.

Tais parâmetros são fatores chave de decisão para a definição do prazo de validade.

4. Fatores intrínsecos e extrínsecos que afetam a vida útil dos alimentos

Muitos fatores podem interferir na vida de prateleira de um alimento, sendo que estes são classificados em duas grandes categorias, conforme a Tabela 1 abaixo. A combinação desses fatores em um alimento o tornará mais ou menos susceptível às alterações durante o processamento e armazenamento.

Tabela 1. Fatores intrínsecos e extrínsecos em alimentos

<i>Fatores intrínsecos</i>	<i>Fatores extrínsecos</i>
----------------------------	----------------------------

<ul style="list-style-type: none"> • Atividade de água • presença de O₂ • pH • acidez • potencial redox • composição • presença de micro-organismos e enzimas • uso de conservantes • estado físico (sólido, líquido) 	<ul style="list-style-type: none"> • Binômio tempo x temperatura (processamento térmico) • Controle das condições durante o armazenamento (tempo e temperatura) • Umidade relativa do ambiente (processamento e armazenamento) • Exposição à luz • Tipo de embalagem* • Atmosfera ** • Danos físicos à embalagem
---	---

***detalhe sobre o tipo de embalagem:** A umidade é um dos fatores determinantes na escolha da embalagem de um produto. O tipo de embalagem deve ser criteriosamente escolhido levando em consideração barreira e hermeticidade.

** Utilização de gás nas embalagens é permitida em alguns casos de produtos em pó, conforme a legislação vigente.

5. Estudos de vida útil de alimentos

O estudo da vida útil de alimentos deve levar em consideração os aspectos microbiológicos, nutricionais, físico-químicos e sensoriais. Dessa forma, considera-se que o tipo de alimento pode ser categorizado frente aos seus pontos críticos característicos, ou seja, aqueles mais relevantes para determinação de seu prazo de validade, conforme suas características específicas.

5.1. Alimentos nos quais patógenos são críticos

A composição do alimento, intensidade do processamento, sistema de embalagem, condições de estocagem e uso pretendido são os principais fatores que vão concorrer para tornar a multiplicação das bactérias patogênicas como fator limitante da vida útil dos alimentos. Na prática, tal afirmação indica que uma bactéria patogênica é capaz de atingir uma concentração de microrganismos em um alimento, capaz de trazer danos ao consumidor, antes que os aspectos sensoriais sejam percebidos.

No que concerne à composição do alimento, os principais parâmetros que podem tornar os alimentos susceptíveis à multiplicação de patógenos são o pH e atividade de água. Quanto maior o pH de equilíbrio final ($>4,6$) e/ou atividade de água ($>0,85$) do alimento em questão, maiores as chances de um ou mais patógenos se multiplicarem, se o processo aplicado e material de embalagem não garantirem a esterilidade comercial do produto. Um alimento com pH ($>4,6$) e/ou atividade de água ($>0,85$) se torna ainda mais crítico para a multiplicação de patógenos, se necessitar controle de temperatura durante a comercialização e se for um produto pronto para o consumo. Se ambos, pH e/ou atividade de água forem, respectivamente, menores que 4,6 e 0,85, bactérias patogênicas não serão críticas para a vida útil deste alimento. Este também será o caso de alimentos cujo pH e atividade de água forem, respectivamente, maiores que 4,6 e 0,85, porém submetidos a processos térmicos e embalados sob condições assépticas que não demandam controle de temperatura durante a estocagem.

Fatores como matérias-primas, intensidade e tipo de processamento, composição da formulação, sistema de embalagem, condições de estocagem e uso pretendido do produto devem ser considerados na definição do patógeno crítico para cada produto.

5.2. Alimentos nos quais micro-organismos deteriorantes são críticos

Definição de alimentos críticos quanto à deterioração microbiana é mais complexa quando comparada a patógenos, pois existem bactérias, fungos filamentosos e leveduras adaptados à multiplicação numa ampla faixa de parâmetros intrínsecos e extrínsecos e suas combinações. Todavia, a atividade de água tem um papel preponderante, e quanto maior, mais competitivas serão as bactérias frente a fungos filamentosos e leveduras. Em produtos com alta atividade de água ($>0,95$), porém com $\text{pH} < 4,6$, as leveduras são mais competitivas. Com a queda do pH e da atividade de água, os fungos filamentosos tendem a ser os micro-organismos que limitam a vida útil dos alimentos.

Sabe-se que existem grupos de micro-organismos específicos que dominam a microbiota e são os principais responsáveis pela deterioração dos alimentos. Estes micro-organismos são frequentemente denominados *organismos deteriorantes específicos* (no inglês *specific spoilage organisms – SSOs*). A dominância de um *organismo deteriorante específico* é função da combinação da composição do alimento, intensidade do processamento, sistema de embalagem e condições de estocagem.

5. 3. Alimentos nos quais compostos químicos e as degradações de nutrientes são críticos

O processamento pode modificar macro e micronutrientes em alimentos. Para os macronutrientes essa alteração não será perceptível em termos de sua composição, pois raramente os métodos analíticos utilizados apontarão mudanças sensíveis que impactarão em alteração em nível de rotulagem. Entretanto, para vitaminas as alterações são sensíveis e podem gerar mudanças consideráveis no seu conteúdo. Alguns alimentos podem ser mais críticos com relação às reações químicas e alterações nutricionais, principalmente devido à sua composição ou declaração de nutrientes em seu rótulo. O conhecimento da composição química/nutricional dos alimentos a serem avaliados é de fundamental importância para determinar se esses fatores podem ser críticos nesses alimentos.

Dependendo da natureza dos produtos, várias propriedades ou índices de qualidade devem ser monitorados experimentalmente. Para tanto, um desenho experimental deve ser elaborado levando-se em consideração as variáveis críticas.

No caso de alimentos a degradação de nutriente é crítica. A condução de teste de estabilidade (acelerada ou não) deve monitorar os parâmetros pertinentes, que serão determinados pelo próprio fabricante em função do conhecimento da composição do produto. Geralmente para alimentos as vitaminas são conhecidas como os nutrientes mais sensíveis em relação à degradação. Já para macronutrientes, quando há degradação, é mínima, sem impacto nutricional, podendo ser detectada por análise sensorial. Os detalhes sobre níveis e métodos analíticos para cada nutriente/composto e para cada tipo de produto devem ser pertinentes à legislação vigente, a qual deve ser consultada antes de se iniciar um teste de estabilidade.

5.4. Alimentos nos quais características sensoriais são críticas

É amplamente conhecido que a aceitação de alimentos e bebidas por parte dos consumidores está intimamente relacionada aos seus aspectos sensoriais. Durante o processamento e armazenamento de alimentos, fatores como aparência, cor, sabor, odor, textura, além de outros, são susceptíveis 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.

No caso de alimentos nos quais as características sensoriais são críticas, a condução de teste de estabilidade (acelerada ou não) deve monitorar aquelas que são críticas ou pertinentes, as quais serão determinadas pelo próprio fabricante em função de seu conhecimento em relação ao comportamento esperado do produto. O tipo de teste sensorial 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. A leitura da legislação específica para cada produto é fundamental antes de se iniciar um teste de estabilidade para alimentos nos quais as características sensoriais são críticas.

6. Planejamento, condução e interpretação de estudos de vida útil de alimentos

6.1. Métodos diretos:

6.1.1. Métodos microbiológicos – estudos de durabilidade

Métodos diretos de determinação da vida útil se baseiam na exposição dos alimentos, não inoculados intencionalmente, às condições de comercialização, distribuição e consumo. Métodos diretos de determinação da vida útil 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-desafios devem ser usados (seção 6.1.2). Dependendo do alimento e do micro-organismo deteriorante que limita sua vida útil (fungos xerofílicos em alimentos de baixa umidade, por exemplo), este teste pode requerer um período de estocagem maior do que a vida útil esperada. Apesar disso, fornecem resultados mais precisos que os métodos indiretos, mas normalmente demandam longos períodos de testes (se a vida útil do produto for longa). Métodos diretos de determinação da vida útil 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. Enquanto os testes acelerados encontram grande aplicação para avaliar as alterações físico-químicas, para estudos microbiológicos têm aplicação limitada.

Para condução de testes microbiológicos diretos de avaliação da vida útil 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 se indica que o alimento não é mais aceitável para o consumo, e encontra-se deteriorado do ponto de vista microbiológico. Este limite pode ser direto (aparecimento de micélio fúngico) ou indireto (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 àquelas 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.*

Alguns cuidados específicos relacionados aos testes diretos de vida útil sob o ponto de vista microbiológico:

- ✓ Evitar provar alimentos, dando-se preferência a utilização de índices químicos ou físicos que indiquem a deterioração do alimento. Se provar o alimento for estritamente requerido, isto só deve ser feito após confirmação da ausência de patógenos e/ou toxinas microbianas;*
- ✓ O teste de determinação da vida útil deve ser repetido quando: 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);*
- ✓ Deve ser de responsabilidade do fabricante avaliar a necessidade de repetição do teste direto de determinação da vida útil.*

6.1.2. Métodos químicos

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 a se monitorar 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 para o atendimento aos requisitos da legislação específica do alimento em questão.

Critérios:

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. Análises a serem realizadas para determinação dos compostos de interesse;
2. Duração do estudo;
3. Número de amostras;
4. Temperatura do teste;
5. Para o estudo de estabilidade, os fatores críticos (aqueles escolhidos pelo fabricante na tabela 1) podem ser determinados, de forma geral, nos seguintes tempos, no mínimo:
 - tempo inicial (T_0)
 - tempo final (T_f)

Observações:

- 1) Alimentos compostos somente por nutrientes estáveis, sob as condições de processo e armazenamento, poderão apresentar apenas as justificativas técnicas para comprovação de sua composição nutricional.
- 2) O fabricante pode realizar a determinação em apenas um lote de produtos, o que deve acompanhar justificativa técnica de que o processo está devidamente controlado, reprodutível, mediante comprovação de informações sobre garantia da qualidade.
- 3) Caso haja troca de um fornecedor de matéria-prima cujos compostos sejam estáveis frente às condições de processo e armazenamento, o fabricante pode justificar a não necessidade de revalidação de todo o processo mediante apresentação de justificativas técnicas.

4) As condições do estudo de estabilidade (como temperatura, tempo, umidade) devem ser determinadas e justificadas pelo fabricante frente às condições a que o produto será exposto após sua fabricação, como armazenamento.

6.1.3. Métodos sensoriais

Para a condução de testes de estabilidade em alimentos nos quais as características sensoriais são críticas, deve-se planejar o estudo de forma a se monitorar as possíveis variações dessas características de tal modo que, ao final do estudo, o fabricante tenha ferramentas para 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 um deles responde a uma pergunta de interesse diferente e possui particularidades nas aplicações dos testes e na caracterização dos provadores. O fabricante deve escolher aquele teste ou aqueles testes que melhor se adequem aos objetivos de seu estudo sensorial para determinação das possíveis alterações sensoriais nos produtos.

Com relação ao desenvolvimento do teste da estabilidade em produtos, cujas características sensoriais são críticas, os mesmos critérios descritos no item **Métodos Químicos** podem ser utilizados.

Para interpretação dos resultados, entende-se que todos os fatores intrínsecos e extrínsecos podem levar a alterações das características sensoriais de alimentos e bebidas, de modo que a triagem daqueles críticos deve ser conhecida pelo fabricante.

6.2. Métodos indiretos:

6.2.1 Métodos microbiológicos – testes desafio

Os chamados testes-desafio (“*challenge tests*”, em inglês) envolvem a inoculação intencional de micro-organismo-alvo, seguindo-se avaliação do seu comportamento numa formulação e/ou condição específica de processo ou estocagem. O micro-organismo-alvo é enumerado em diversos períodos ao longo da estocagem para verificar se houve multiplicação e a extensão da multiplicação. Os testes-desafio servem, portanto, para

avaliar se uma formulação de um alimento ou bebida permite a multiplicação de um micro-organismo durante a estocagem e comercialização. Podem também ser usados para determinar se uma etapa ou processo produtivo é capaz de causar a inativação de um micro-organismo-alvo (letalidade requerida). Todavia, para efeito deste guia, o enfoque será dado no uso dos testes-desafio para avaliar se um micro-organismo-alvo pode ou não se multiplicar durante a estocagem e comercialização de um produto. A condução de testes-desafio objetivando-se validar etapas letais da cadeia produtiva dos alimentos requer abordagem específica e não necessariamente está diretamente relacionada a determinação da vida útil de alimentos e bebidas.

No que concerne aos micro-organismos, tanto patógenos quanto deterioradores, podem ser inoculados nos alimentos e bebidas para condução dos testes-desafio. Para se definir se um teste-desafio é necessário e para se escolher o micro-organismo-alvo é primordial o conhecimento prévio do produto em questão e de suas condições de estocagem e comercialização. O desenho e condução de testes-desafio é complexo e requer conhecimento do produto, processo produtivo 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 micro-organismo-alvo, preparo do inóculo e método de inoculação, concentração do inóculo, número de embalagens e lotes a serem testados, enumeração do micro-organismo-alvo, duração do teste, condições de estocagem e interpretação dos resultados.

Os testes-desafio podem ser utilizados com dois propósitos principais:

- *Determinar o potencial de multiplicação do micro-organismo-alvo* para validar a vida útil de um alimento sob condições esperadas de comercialização, distribuição e consumo, com o objetivo de verificar se o produto atende critérios microbiológicos específicos. Pode também ser usado para verificar se o produto permite a multiplicação do micro-organismo-alvo em condições específicas de comercialização, distribuição e consumo. O termo *potencial de multiplicação* pode ser definido como a diferença entre a maior contagem do micro-organismo-alvo (em log UFC/g ou mL) e sua contagem inicial (em log UFC/g ou mL);

- *Determinar os parâmetros cinéticos de multiplicação (tempo de lag e taxa de multiplicação) do micro-organismo-alvo para quantificar o efeito de parâmetros intrínsecos e extrínsecos. Estes dados, podem posteriormente, serem usados para o desenvolvimento de modelos preditivos visando-se a simulação do comportamento microbiano em função de mudanças nos parâmetros intrínsecos e extrínsecos, inclusive para verificar se critérios microbiológicos serão atendidos sob determinadas condições de comercialização, distribuição e consumo.*

Para condução de testes-desafio reitera-se a importância de sólidos conhecimentos do produto, processo e micro-organismo-alvo. Além disso, o uso de protocolos padronizados e reconhecidos internacionalmente é fundamental para garantir confiabilidade e comparabilidade de resultados. A ISO (*the International Organization for Standardization*) dispõe de guia 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.*

6.2.2. Métodos microbiológicos – Uso de modelos preditivos

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

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. A grande vantagem da microbiologia preditiva para o estudo de vida útil dos alimentos é que um modelo preditivo permite a rápida tomada de decisões, sem demandar a condução de testes adicionais: apenas substituindo-se termos numa equação e procedendo-se aos cálculos. Além disso, os modelos preditivos podem ser usados para otimização e desenvolvimento de formulações mais robustas. Uma limitação da microbiologia preditiva reside no fato de demandar pessoal treinado para desenho, condução, tratamento e interpretação/aplicação dos resultados.

Todavia, uma vez que um modelo é desenvolvido, e não havendo mudanças na formulação, tem-se como consequência direta a redução de custos e ganho de competitividade, dentre outros.

Os modelos cinéticos e probabilísticos encontram grande aplicação no estudo da vida útil dos alimentos. A partir dos modelos cinéticos são obtidos 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). Os modelos probabilísticos encontram grande aplicação na etapa de desenvolvimento de formulações, permitindo a racionalização, e portanto, redução de trabalho e custos para a obtenção de formulações mais robustas. Os modelos preditivos também podem ser usados na resolução de problemas de deterioração, já que permitem avaliar inúmeros cenários de maneira rápida.

Os modelos preditivos são ainda classificados em primários, secundários e terciários. Os modelos primários descrevem mudanças relacionadas aos micro-organismos em função do tempo. Por exemplo, tempo de lag, taxa de multiplicação e população máxima de um micro-organismo são parâmetros obtidos de modelos primários. Já os modelos secundários descrevem como os parâmetros dos modelos primários mudam em função da variação de um ou mais fatores ambientais (pH, temperatura, dentre outros). Os modelos terciários são programas/ferramentas computacionais ou aplicativos que contém os modelos primários e/ou secundários numa interface amigável, para facilitar o uso dos modelos preditivos.

As etapas de desenvolvimento de modelos preditivos são:

- a. **Planejamento:** demanda conhecimento do problema a ser estudado (micro-organismo e características do alimento);
- b. **Geração e análise dos dados:** demanda conhecimento do produto, processo e micro-organismo, além de modelagem preditiva, para que o desenho experimental e coleta de dados permitam o ajuste do modelo preditivo e seu uso pretendido;
- c. **Ajuste do modelo:** através de diversos procedimentos matemáticos e/ou da utilização de programas computacionais ou protocolos, faz-se o ajuste da

equação aos dados e a partir daí, obtém-se os parâmetros relacionados ao comportamento microbiano;

- d. **Validação do modelo:** um modelo preditivo deve ser validado internamente, utilizando-se dados obtidos em condições diferentes das quais foi desenvolvido e, preferencialmente, também validado com dados externos. Os modelos preditivos só devem ser usados após validação, confirmada pelo cálculo de índices estatísticos apropriados a cada caso.

Para o desenvolvimento e uso destes modelos requerem-se sólidos conhecimentos do produto, processo, micro-organismo-alvo e de modelagem preditiva. 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.

6.2.3. Métodos químicos – testes acelerados

A indústria tem grande necessidade de determinar a validade de um alimento em um tempo relativamente curto. Desta forma, métodos acelerados podem ser uma ferramenta útil para abreviar o tempo da estimativa da vida de prateleira de alimentos.

Os métodos acelerados podem ser utilizados para um processo de deterioração química que possa ser quantitativamente expresso por um modelo validado. Esse modelo deve seguir as mudanças na vida de prateleira expressando o valor de uma determinada deterioração ou a falha na extensão da vida de prateleira de um produto sob uma determinada condição.

O método mais comum para estabilidade acelerada é aumentar a temperatura para acelerar processos de deterioração. A determinação da temperatura usada no teste é crucial para o seu desenvolvimento e deve ser escolhida com critério e de maneira justificada. De maneira geral, para os testes de estabilidade acelerada, a temperatura sugerida é 10°C acima daquela à qual o produto está geralmente exposto durante o armazenamento, pois, via de regra, a velocidade das reações dobra com aumento de 10°C na temperatura. Entretanto, para casos em que a variável escolhida para acelerar as degradações não seja somente a temperatura, ou seja, um teste com uso de múltiplas variáveis para aceleração das degradações, a literatura técnica específica deve ser consultada.

Com relação ao desenvolvimento do teste da estabilidade acelerada, os mesmos critérios descritos no item **Métodos Químicos** podem ser utilizados.

6.3. Métodos de agrupamento (Determinação de prazo de validade por similaridade)

O agrupamento de produtos, de um mesmo fabricante, com composição química e nutricional e processados e estocados em condições similares, pode ser realizado desde que se apresente justificativa técnica de que os compostos presentes não sofram alterações que afetem sua estabilidade. Este agrupamento não deve ser utilizado para determinação da vida útil de alimentos cujo fator limitante sejam micro-organismos.

CrITÉrios para agrupar os produtos podem ser:

1. Composição química;
2. Estado físico;
3. Nutrientes a serem declarados no rótulo;
4. Formulação;
5. Processamento;
6. Atividade de água;
7. pH;
8. Acidez total;
9. Embalagem.

7. Validação e monitoramento da vida útil dos alimentos

Como forma de validação da vida de prateleira do produto, o fabricante deve apresentar dados de monitoramento de parâmetros que são críticos, e que, portanto, limitam sua vida útil, tais como físicos, químicos, nutricionais, microbiológicos e sensoriais. Os parâmetros a serem monitorados deverão ser levantados pelo fabricante frente às características do produto.

Quando o prazo de validade for determinado por um método acelerado, o prazo de validade deve ser recomendado pelo fabricante, de acordo com as condições recomendadas de armazenamento e distribuição do produto.

7.1. Condições para validação/monitoramento da vida útil dos alimentos

No caso de um teste de validação, para determinar as condições experimentais, o fabricante precisa levantar os parâmetros sob os quais o alimento é transportado e armazenado e replicar essas condições no teste, para que seja o mais similar possível às condições reais. Parâmetros como temperatura, umidade, exposição à luz, tipo de

embalagem, atmosfera, e outros que sejam pertinentes devem ser determinados e justificados pelo fabricante para realização do estudo. Os parâmetros relevantes (físicos, químicos, nutricionais, microbiológicos, sensoriais) devem ser determinados e apresentados de maneira justificada antes do início do teste. Os mesmos critérios descritos no item **Métodos Químicos** podem ser utilizados.

7.2. Modificação (redução/aumento) da vida útil dos alimentos com base no monitoramento

Os testes de estabilidade indicarão o tempo durante o qual o alimento permanecerá estável ao longo do armazenamento. Os valores encontrados nos testes de estabilidade devem ser utilizados para o fabricante estabelecer o prazo de validade de um novo produto ou para que avalie a necessidade de modificar a vida de prateleira de um produto já comercializado. Tipicamente, a vida de prateleira é determinada pela condução de estudos de estabilidade, mas não exclusivamente, pois o prazo de validade de um produto declarado em seu rótulo pode levar em conta outras condições, como aspectos comerciais associados à imagem do produto e a margem de segurança requerida.

8. Referências

1. David Kilcast, and Persis Subramaniam. The stability and shelf life of vitamin-fortified foods R. Burch, Leatherhead Food Research, UK Food and Beverage Stability and Shelf Life : Food and Beverage Stability and Shelf Life, edited , , Elsevier Science & Technology, 2011. ProQuest Ebook Central.
2. Kong F, Singh RP. *Chemical deterioration and physical instability of foods and beverages*, University of California, Davis, USA. Food and Beverage Stability and Shelf Life, edited , , Elsevier Science & Technology, 2011. ProQuest Ebook Central.
3. Mizrahi, S. Accelerated shelf life testing of foods. R. Burch, Leatherhead Food Research, UK Food and Beverage Stability and Shelf Life: Food and Beverage Stability and Shelf Life, edited, , Elsevier Science & Technology, 2011. ProQuest Ebook Central.
4. Ottaway P.B. (1993) Stability of vitamins in food. In: Ottaway P.B. (eds) The Technology of Vitamins in Food. Springer, Boston, MA.
5. Leif H. Skibsted, Jens Risbo and Mogens L. Andersen. *Chemical Deterioration and Physical Instability of Food and Beverages*, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Elsevier, 2010.
6. Persis Subramaniam, *The Stability and Shelf Life of Food*. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Elsevier 2016.
7. Laurence Melton, Fereidoon Shahidi and Peter Varelis, *Encyclopedia of Food Chemistry*, Elsevier, 2019.
8. Lawless, HT; Heymann, H. *Sensory Evaluation of Food*. DOI 10.1007/978-1-4419-6488-5. Springer-Verlag New York. 1998.
9. Fanbin Kong and R. Paul Singh. *Effect of Processing on Nutrients in Foods*. Innovation in Healthy and Functional Foods. 2012. CRC Press.
10. FAO. <http://www.fao.org/3/t0207e/T0207E07.htm>. Acessado em 26/09/2019.
11. Jackson LS; Knize MG; Morgan JN, *Impact of processing on Food Safety*. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Vol. 459. 1999.
12. DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. *Fennema's Food Chemistry*. 4th ed. Boca Raton: CRC Press, 2008. ISBN 9780849392726.
13. BELITZ, H; GROSCH, W; SCHIEBERLE, P. *Food chemistry*. Berlin, Heidelberg : Springer, 2009. ISBN: 9783540699330.
14. Man CMD, *Food Storage trials: an introduction*. Elsevier 2011.

Food and Beverage Stability and Shelf Life : Food and Beverage Stability. Elsevier Science & Technology, 2011.

15. National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods (NACMCF). 2010. Parameters for determining inoculated pack/challenge study protocols. *Journal of Food Protection*, 73(1), 140-202. doi:10.4315/0362-028X-73.1.140

CAPÍTULO I

Fatores que afetam a vida útil dos alimentos para fins especiais – ALIFINS (Fórmulas Enterais e Fórmulas Infantis)

SUMÁRIO

1. SUMÁRIO EXECUTIVO: PRINCÍPIOS FUNDAMENTAIS.....	
2. ÍNDICE.....	
3. OBJETIVO DO DOCUMENTO GUIA	
4. ESCOPO DO GUIA	
4.1. DEFINIÇÃO E METAS DOS TESTES DE PRAZO DE VALIDADE	
5. RECOMENDAÇÕES PARA TESTES DE PRAZO DE VALIDADE PARA ALIFINS	
5.1. PARÂMETROS QUE IMPACTAM A VALIDADE	
5.2. ANÁLISES RECOMENDADAS PARA DETERMINAR A VALIDADE DE ALIFINS	
5.3. RESUMO: ANÁLISES A SEREM INCLUÍDAS NOS TESTES DE PRAZO DE VALIDADE	
5.4. FREQUÊNCIA DE ANÁLISE DURANTE OS TESTES DE PRAZO DE VALIDADE	
5.5. NÚMERO DE LOTES NECESSÁRIOS	
6. BIBLIOGRAFIA.....	

1.SUMÁRIO EXECUTIVO

PRINCÍPIOS FUNDAMENTAIS:

Os princípios fundamentais destacados abaixo e a justificativa para estabelecê-los são explanados mais detalhadamente ao longo do documento.

1. Testes de prazo de validade devem ser conduzidos na receita produzida em uma fábrica ou planta piloto em embalagem primária com propriedades de barreira equivalentes à embalagem comercial e armazenada em condições de temperatura que simulem condições típicas. Os testes de estabilidade em condições de umidade controlada não são necessários para produtos com embalagem primária impermeável à umidade, o que geralmente é o caso dos alimentos para fins especiais. Testes realizados em condições de umidade ou temperatura mais extremas são suficientes (mas não obrigatórios) para justificar o prazo de validade dos ALIFINS.

2. Requisitos e diretrizes relacionados à estabilidade de medicamentos são inadequados para ALIFINS.

3. A duração do prazo de validade pode ser definida de forma apropriada, apenas com base nos resultados em tempo real obtidos, no mínimo, no início e no final do período de validade. Se dados em tempo real ao final da validade não estiverem disponíveis, podem ser usados para definir o prazo de validade, dados intermediários em tempo real, testes acelerados, estudos de estabilidade de produtos similares e extrapolação de dados bibliográficos e modelos matemáticos preditivos relevantes.

4. Os testes de prazo de validade devem se concentrar nas características do produto que estão sujeitas a alterações durante o armazenamento e que podem afetar a qualidade, segurança, níveis de nutrientes, alegações ou eficácia do produto.

5. Os parâmetros e nutrientes mais lábeis do produto devem ser considerados como os principais determinantes do prazo de validade. Assim, os nutrientes estáveis só precisam ser quantificados analiticamente uma vez, normalmente logo após a produção dos ALIFINS. As propriedades organolépticas e a estabilidade física devem fazer parte dos testes de prazo de validade quando apropriado e como definido melhor neste guia.

6. Os fatores de monitoramento normalmente considerados para a segurança do alimento, incluindo testes de contaminantes, patógenos, carga microbiana ou avaliação da esterilidade, não são necessários para determinar o prazo de validade dos ALIFINS.

7. Os dados de um lote são suficientes para definir a duração da validade.

3. OBJETIVO DO GUIA

Este documento tem como objetivo fornecer orientações práticas sobre o que deve ser considerado ao desenvolver protocolos de estudo de validade para estabelecer ou confirmar a duração da validade de Alimentos para Fins Especiais (ALIFINS). O conteúdo deste guia é baseado em conhecimento exclusivo e extenso e dados acumulados ao longo dos anos pela indústria de alimentos para fins especiais.

Alimentos para fins especiais, também conhecidos como alimentos médicos ou nutrição médica, são definidos pelo Codex Alimentarius como *“uma categoria de alimentos para usos dietéticos especiais que são especialmente processados ou formulados e apresentados para o manejo dietético de pacientes e só podem ser utilizados sob supervisão médica. Destinam-se à alimentação exclusiva ou parcial de pacientes com capacidade limitada ou reduzida de ingerir, digerir, absorver ou metabolizar alimentos comuns ou certos nutrientes neles contidos, ou que tenham outros requisitos nutricionais especiais determinados pelo médico, cujo manejo dietético não pode ser alcançado apenas por modificação da dieta normal, por outros alimentos para usos dietéticos especiais, ou por uma combinação dos dois”* (CODEX STAN 180-1991).

Alimentos para fins especiais são os alimentos especialmente formulados ou processados, nos quais se introduzem modificações no conteúdo de nutrientes, adequados à utilização em dietas diferenciadas e ou opcionais, atendendo às necessidades de pessoas em condições metabólicas e fisiológicas específicas (Portaria nº 29/1998).

ALIFINS são alimentos altamente especializados projetados para atender às necessidades nutricionais ou dietéticas decorrentes de uma ampla gama de condições médicas que afetam pacientes de todas as idades, desde a infância até a velhice. São voltados para o manejo dietético de pacientes que têm um distúrbio, uma doença ou condição médica que afeta temporária ou permanentemente sua capacidade de atingir uma ingestão nutricional adequada apenas com alimentos normais. ALIFINS podem ser usados apenas sob supervisão médica ou de nutricionista e podem ser consumidos em hospitais, outros ambientes de saúde ou na casa do paciente. Mais informações e detalhes sobre as Normas Codex de ALIFINS estão disponíveis no **Documento sobre Alimentos para Fins Especiais**.

ALIFINS são produtos alimentícios altamente complexos com vários ingredientes e/ou nutrientes interagindo na matriz que podem afetar a estabilidade dos nutrientes e a estabilidade geral do produto. Juntos, esses múltiplos nutrientes fornecidos pelos ALIFINS melhoram a qualidade de vida e reduzem a morbidade e mortalidade dos pacientes que os consomem¹.

¹ **Veja mais sobre este tópico:**

- WHO Guidelines on Integrated Care for Older People (ICOPE) (<https://www.who.int/ageing/publications/guidelines-icope/en/>)
- Gomes et al. Association of Nutritional Support With Clinical Outcomes Among Medical Inpatients Who Are Malnourished or at Nutritional Risk An Updated Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Network Open*. 2019; 2(11):e1915138. doi:10.1001/jamanetworkopen.2019.15138 (<https://jamanetwork.com/journals/jamanetworkopen/fullarticle/2755665>)
- Hudson L, Chittams J, Griffith C, Compher C. Malnutrition Identified by Academy of Nutrition and Dietetics/American Society for Parenteral and Enteral Nutrition Is Associated With More 30-Day Readmissions, Greater Hospital Mortality, and Longer Hospital Stays: A Retrospective Analysis of Nutrition Assessment Data in a Major Medical Center. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2018;42(5):892-897.
- Smith TR, Cawood AL, Walters ER, Guildford N, Stratton RJ. Ready-Made Oral Nutritional Supplements Improve Nutritional Outcomes and Reduce Health Care. *Nutrients*. 2020 Feb 18;12(2). pii: E517. doi: 10.3390/nu12020517 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7071441/>)

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 ou viscosidade adequada para ALIFINS destinados a pacientes disfágicos — pacientes com dificuldades de deglutição). 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.

Embora existam numerosos tratados e estudos encontrados na literatura científica que discutem a estabilidade relativa de uma única vitamina, lipídio ou outros ingredientes alimentares presentes em ALIFINS^{2,3}, resultados e conclusões relatados não são facilmente aplicáveis à estabilidade dos mesmos compostos em matrizes alimentares de ALIFINS. Os estudos de estabilidade publicados para produtos alimentícios gerais finalizados são escassos e não estão disponíveis para ALIFINS.

Da mesma forma, existem diretrizes sobre como realizar testes de estabilidade, mas são relevantes apenas para suplementos alimentares^{4,5} ou medicamentos⁶. Essas diretrizes existentes, especialmente aquelas relacionadas à estabilidade de medicamentos, são inadequadas para ALIFINS. As propriedades e composição de ALIFINS e medicamentos diferem amplamente. Os medicamentos normalmente contêm um ou apenas alguns ingredientes farmacêuticos ativos (IFA). ALIFINS não contêm IFA, mas geralmente contêm mais de 40 nutrientes que podem interagir uns com os outros.

² Chapter 26 - The Stability and shelf life of vitamin-fortified foods, in Food and Beverage Stability and Shelf Life; Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition; 2011, Pages 743-754

³ Vitamin C degradation during storage of fortified foods, Journal of Food and Nutrition Research, Vol. 45, 2006, 2, 66-61

⁴ ASEAN Guidelines on Stability Study and Shelf-Life of Health Supplements,

⁵ ADSA : Stability Testing for the Shelf Life Determination of Supplements

⁶ ICH Q1A (R2) Stability testing of new drug substances and drug products.

Consequentemente, ALIFINS e medicamentos devem cumprir requisitos diferentes e são regulamentados de forma diferente. Esta abordagem impacta os protocolos de estudo de prazo de validade. Os requisitos de estabilidade do medicamento aplicados aos ALIFINS não são os mais adequados em certos aspectos que, embora críticos para a determinação do prazo de validade de um medicamento, são irrelevantes para a determinação do prazo de validade de um alimento para fim especial. Outros aspectos (por exemplo, sensoriais) que são críticos para o prazo de validade dos ALIFINS são, ao contrário, não (tão) críticos para os medicamentos.

Nesse contexto, o objetivo deste documento é fornecer:

1. Orientação específica sobre quais princípios fundamentais devem orientar o desenho de testes de estabilidade de ALIFINS; e,
2. Características específicas do produto que devem ser monitoradas.

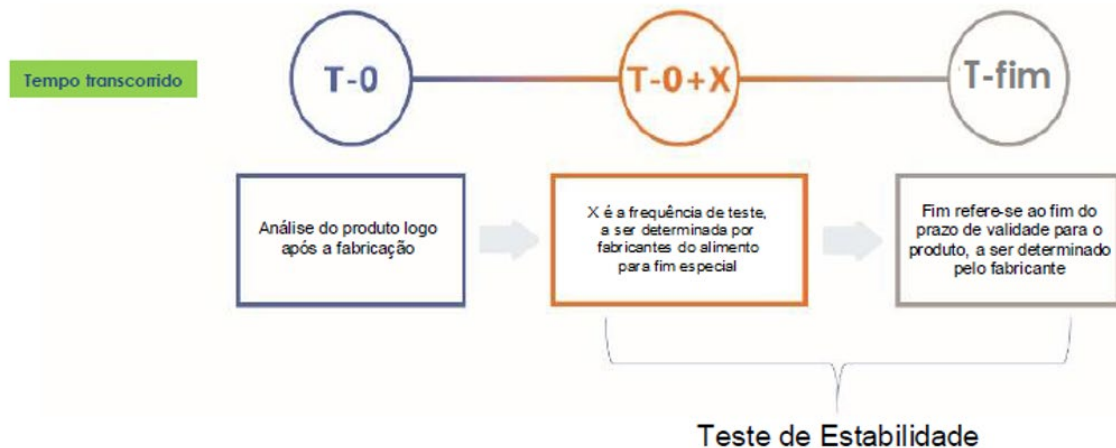
4. ESCOPO DO GUIA

4.1 Definição e objetivos dos testes de prazo de validade

Os testes de prazo de validade são todos os testes e análises realizados durante a validade pretendida de um produto para garantir que o prazo de validade seja adequado — ou seja, que o produto seja seguro, adequado e aceitável para consumo até o final da validade. Os testes de prazo de validade devem ser representativos, relevantes, baseados em fatos e cientificamente orientados.

Os protocolos de teste de vida útil aplicam-se desde o Tempo 0 (T0) (logo após a fabricação) ao Tempo X (com X a ser determinado pelos fabricantes de ALIFINS).

Desenvolvimento do Produto & Lançamento



5. RECOMENDAÇÕES PARA TESTES DE PRAZO DE VALIDADE PARA ALIFINS

5.1. Parâmetros que Impactam a Validade

Os seguintes fatores podem impactar a composição ou estabilidade de ALIFINS e, portanto, sua validade:

Fatores extrínsecos (ou seja, ambientais):	Fatores intrínsecos (ou seja, específicos do produto):
<ul style="list-style-type: none">• Temperatura• Umidade• Luz• Oxigênio	<ul style="list-style-type: none">• pH do Produto• Umidade do produto• Embalagem primária

As seções a seguir explicam como esses fatores podem afetar a validade dos ALIFINS e as implicações práticas que têm no desenho dos testes de prazo de validade do alimento.

Temperatura e umidade

A temperatura durante o armazenamento do produto pode afetar as características deste, como 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. Geralmente, temperaturas mais altas aumentam a taxa de reações químicas responsáveis pela degradação de nutrientes. A temperatura é, portanto, um parâmetro fundamental de controle na realização de testes de validade.

As condições de armazenamento usadas durante os testes de validade devem refletir aquelas esperadas durante a validade do alimento para fim especial e devem corresponder à zona climática do país em que serão comercializados.

Deve se atentar para o Conselho Internacional para Harmonização de Requisitos Técnicos para Produtos Farmacêuticos para Uso Humano (ICH)^{7,8}, que divide o mundo em quatro zonas climáticas⁹. Embora o ICH seja relevante para produtos farmacêuticos, não é aplicável em si a ALIFINS.

Testes de estabilidade sob condições de umidade controlada não são necessários para ALIFINS porque a embalagem primária é impermeável à umidade.

Uma vez que a umidade não é relevante para os testes de estabilidade de ALIFINS, considera-se que as quatro zonas climáticas ICH podem ser simplificadas para três com testes de estabilidade avaliados usando as seguintes zonas de temperatura:

⁷ International Conference of Harmonisation Q1A(R2) and Q1F: (link; accessed on 20 FEB 2021)

⁸ World Health Organisation, Technical Report Series, No. 953, 2009 (link; accessed on 20 FEB 2021)

⁹ Para referência

- Zona I: “Temperada” 21 °C +/- 2 °C | 45% +/- 5% UR
- Zona II: “Subtropical” 25 °C +/- 2 °C | 60% +/- 5% UR
- Zona III: “Quente/seca” 30 °C +/- 2 °C | 35 +/- 5% UR
- Zona IVa: “Quente/úmida” 30 °C +/- 2 °C | 65% +/- 5% UR
- Zona IVb: “Quente/muito úmida” 30 °C +/- 2 °C | 75% +/- 5% UR

Zona I: “Temperada” 21° +/- 2 °C

Zona II: “Subtropical” 25° +/- 2 °C

Zona III: “Quente” 30° +/- 2 °C

Os testes de prazo de validade são chamados de testes em tempo real quando são realizados durante toda a validade esperada do produto e quando o produto é armazenado em temperaturas que representam a zona de temperatura do mercado de venda. 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 alimento para fim especial será comercializado são aceitáveis para justificativa/validação do prazo de validade em zonas climáticas mais frias. Por exemplo, os testes de prazo de validade conduzidos em um ALIFINS na Zona II ou III são suficientes para justificar sua validade na Zona I.

Testes de prazo de validade acelerados (em temperaturas mais altas às quais o alimento será exposto durante a validade para gerar uma aceleração na taxa de alteração, reduzindo assim a duração do teste) às vezes são realizados devido à determinação da validade do produto com base em dados de estabilidade em tempo real podem consumir muito tempo e atrasar a disponibilidade dos produtos para pacientes com necessidades críticas. No entanto, deve-se considerar que esses testes frequentemente resultam em desvios significativos na textura e sabor do produto, e são de valor limitado para prever a estabilidade física de ALIFINS. Além disso, como a maioria das reações de degradação de vitaminas seguem uma cinética de primeira ordem¹⁰, uma alta temperatura de armazenamento constante (por exemplo, 30 °C) durante o estudo de validade pode causar taxas de reação que nunca ocorreriam em baixas temperaturas de armazenamento (por exemplo, 21 °C). As temperaturas de armazenamento utilizadas para estudos acelerados de validade de ALIFINS não devem ser mais do que 10 °C acima de temperaturas ambientes normais de armazenamento. Temperaturas excessivamente altas devem ser evitadas, pois podem levar à

¹⁰ Effect of Storage Temperature on the Chemical Stability of Enteral Formula; Advance Journal of Food Science and Technology 4(5): 235-242,2012

instabilidade dos nutrientes e outras alterações que não refletem as condições típicas. Temperaturas específicas utilizadas para esses estudos variam dependendo do tipo de alimento para fim especial e são determinadas pelo fabricante do produto com a justificativa apropriada. Dados gerados em um único estudo de temperatura acelerada podem ser suficientes para estabelecer a validade do produto se a correlação apropriada entre os dados de estabilidade acelerados e em tempo real disponíveis, for estabelecida para os nutrientes mais instáveis por modelos matemáticos preditivos.

Recomendações:

- Temperatura é um parâmetro fundamental a controlar na realização de testes de validade.
- As condições de armazenamento utilizadas durante os testes de validade devem refletir aquelas esperadas durante a validade dos alimentos para fins especiais e devem corresponder à zona de temperatura do país em que serão comercializados.
- No caso de ALIFINS, testes de estabilidade sob condições de umidade controlada não são necessários porque a embalagem primária é impermeável à umidade.
- Para ALIFINS, o mundo pode ser dividido em três zonas de temperatura:

Zona I: “Temperada” 21 °C +/- 2 °C

Zona II: “Subtropical” 25 °C +/- 2 °C

Zona III “Quente” 30° +/- 2 °C

- Testes de prazo de validade em tempo real realizados em uma zona climática 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.

- Temperaturas de armazenamento utilizadas para estudos acelerados de validade de ALIFINS não devem ser mais do que 10 °C acima de temperaturas ambientes normais de armazenamento. Devem ser evitadas temperaturas excessivamente altas, pois podem levar à instabilidade dos nutrientes e outras alterações que não refletem as condições típicas. Temperaturas específicas utilizadas para esses estudos variam dependendo do tipo de alimento para fim especial e são determinadas pelo fabricante do produto com a justificativa apropriada.
- Dados gerados em um único estudo de temperatura acelerada podem ser suficientes para estabelecer a validade do produto se a correlação apropriada entre os dados de estabilidade acelerados e em tempo real disponíveis for estabelecida para os nutrientes mais instáveis por modelos matemáticos preditivos.

Luz

Luz, especialmente a luz ultravioleta (comprimentos de onda < 460 nm), pode levar à perda por degradação de vitaminas.

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 presente¹¹.

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.

¹¹ Factors influencing the stability of ascorbic acid in total parenteral nutrition infusions; J Clin Hosp Pharm. 1984 Jun;9(2):75-85.

pH do Produto

O pH do produto pode impactar a qualidade organoléptica do produto, bem como a estabilidade dos nutrientes e componentes. Algumas vitaminas são particularmente suscetíveis à perda por degradação em condições de baixo pH¹². Isso é de particular relevância para baixo pH ou ALIFINS acidificados (ou seja, ALIFINS que têm $\text{pH} \leq 4,6$)¹³, 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

A embalagem primária usada para ALIFINS pode ser classificada nas seguintes categorias:

- 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.

¹² Source: (1) The Vitamins, 5th Ed.; Fundamental Aspects in Nutrition and Health; GF Combs, JP McClung, 2017 (2) Food and Beverage Stability and Shelf Life, Woodhead Publishing (2012); Chapter 26; “Factors Affecting the Stability and Shelf Life of Vitamin-Fortified Foods”; pp 743-749.

¹³ Section 2.2. from the Codex Code of Hygienic Practice for Low and Acidified Low Acid Canned Foods (CXC 23-1979)

Os materiais que compõem a embalagem protegem o produto dos fatores extrínsecos acima mencionados por meio de várias propriedades de barreira que variam de um tipo de embalagem para outro (ou seja, diferentes capacidades de prevenção de luz externa, luz ultravioleta, oxigênio e umidade). O tipo de embalagem usada pode afetar a qualidade e a validade de um alimento para fim especial.

5.2. Análises recomendadas para determinar a validade de ALIFINS

Cada ALIFINS é definido por seus atributos principais, incluindo:

- Parâmetros de segurança do produto;
- Conteúdo de nutrientes e ingredientes ativos; e,
- Propriedades organolépticas e físicas (incluindo estabilidade do produto).

Embora todos esses atributos devam ser mantidos ao final da validade, alguns não mudam (de forma alguma ou significativamente) com o tempo e, portanto, não devem ser incluídos nos testes de estabilidade. **Os testes de prazo de validade devem se concentrar nas características do produto que estão sujeitas a alterações durante o armazenamento com o tempo e que podem afetar a qualidade, segurança, níveis de nutrientes, alegações ou eficácia do produto e, portanto, definem a validade do produto.** O presente capítulo lista as análises que devem fazer parte dos testes de validade do alimento e as que não são necessárias.

Recomendação:

- Os testes de prazo de validade devem se concentrar nas características do produto que estão sujeitas a alterações durante o armazenamento com o tempo e que podem afetar a qualidade, segurança, níveis de nutrientes, alegações ou eficácia do produto.

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, os fabricantes realizam rigorosas qualificações de ingredientes regularmente, implementam programas de monitoramento de qualidade de ingredientes de rotina e adotam boas práticas de fabricação (BPF). Além disso, os ingredientes usados na fabricação de ALIFINS devem estar em conformidade com a Resolução RDC nº 331/2019 para garantir que os produtos colocados no mercado sejam seguros e estejam em conformidade.

Durante a fabricação de produtos líquidos, processos como pasteurização e tratamento com Ultra alta Temperatura (UHT) eliminam os patógenos que possam estar presentes e garantem que o produto, quando embalado, tenha sido adequadamente tratado termicamente. 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 para eliminar a introdução de esporos, leveduras ou patógenos. O controle da carga microbiológica logo após a fabricação é suficiente e não é necessário monitorar o conteúdo de patógenos e alterações durante os estudos de prazo de validade.

ALIFINS em pó contêm um teor de umidade muito baixo na formulação, tornando o ambiente fundamentalmente muito mais hostil para o crescimento de patógenos do que em produtos líquidos. O principal parâmetro de controle microbiológico para produtos em pó é medir a Atividade da Água (A_w), que é uma medida do vapor de água livre e disponível que pode auxiliar o crescimento microbiano. A maioria dos organismos requer um mínimo de 0,7 a_w para crescer. Para produtos em pó, garantir que A_w logo após a fabricação é inferior a 0,7¹⁴ é suficiente e torna desnecessários quaisquer outros testes microbiológicos.

Como consequência, fatores de monitoramento tipicamente considerados para segurança do alimento, incluindo testes para contaminantes, patógenos, carga

¹⁴ Water Activity (a_w) in Foods; Food and Drug Administration, 1984 April 16 (link; accessed on 20 FEB 2021)

microbiana ou avaliação de esterilidade, não são necessários ao determinar o prazo de validade do ALIFINS.

Recomendação:

- Fatores de monitoramento normalmente considerados para a segurança do alimento, incluindo testes de contaminantes, patógenos, carga microbiana ou avaliação da esterilidade, não são necessários para determinar o seu prazo de validade.

Conteúdo de nutrientes e ingredientes ativos

Nem todos os nutrientes têm a mesma suscetibilidade ou taxa de degradação ao longo do período de validade. Conforme explicado nos respectivos capítulos acima, temperatura, luz, oxigênio, pH e umidade do produto podem, em níveis diferentes, afetar a estabilidade dos nutrientes.

ALIFINS normalmente contêm uma mistura complexa de macro e micronutrientes. No entanto, o prazo de validade dos ALIFINS é definido principalmente pelos nutrientes mais propensos à degradação. **Enquanto os minerais permanecem estáveis, outros nutrientes se degradam com o tempo e em velocidades diferentes.** São esses nutrientes mais lábeis que definem e reduzem a vida útil dos ALIFINS. 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, os níveis dos outros nutrientes mais estáveis também devem ser adequados.

Portanto, normalmente os testes de validade para ALIFINS devem exigir apenas uma análise quantitativa de um número limitado de marcadores de nutrientes identificados¹⁵. Os minerais devem ser excluídos dos testes de validade, pois são estáveis. Se o produto contiver probióticos, as

¹⁵ Uma lista dos métodos de referência atuais pode ser encontrada em AOAC, ISO e Codex. Outros métodos podem ser usados. Nesses casos, a proficiência do método deve ser demonstrada usando matrizes adequadas que representam ALIFINS, de preferência com comparação e alinhamento dos resultados com aqueles gerados usando métodos de análise de referência.

contagens de probióticos (número de unidades formadoras de colônias) também devem ser incluídas no teste de validade.

Recomendações:

- Enquanto os minerais permanecem estáveis, alguns outros nutrientes se degradarão com o tempo e em velocidades diferentes.
- Os testes de validade para ALIFINS devem, portanto, conter uma análise quantitativa de um a três marcadores de nutrientes.
- Minerais devem ser excluídos dos testes de validade, já que são estáveis.
- Se o produto contiver probióticos, as contagens de probióticos (número de unidades formadoras de colônias) também devem ser incluídas no teste de validade.

Propriedades organolépticas e físicas

Alterações organolépticas durante o armazenamento de ALIFINS incluem alterações em aparência e cor, odor e sabor, textura e sensação na boca. Essas mudanças podem ocorrer em todos os tipos de alimentos durante o armazenamento. Embora nem todas as alterações desses tipos causarão sabor ou textura indesejáveis ou desagradáveis, elas são, no entanto, indicadores de que o produto está apresentando um grau de instabilidade durante o prazo de validade.

Essas alterações são provocadas pelo oxigênio, luz, umidade, temperatura ou quando os ingredientes reagem entre si. As principais alterações químicas incluem oxidação de lipídios¹⁶ e escurecimento enzimático¹⁷ e não enzimático¹⁸, e todos os três podem ocorrer simultaneamente em um alimento para fim especial. A oxidação de lipídios, por exemplo, produz compostos de sabor estranho por meio da produção de peróxidos que são convertidos em álcoois, cetonas e aldeídos, bem como ácidos graxos livres. Embora incomum em

¹⁶ Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Sixth Edition, Six Volume Set. Edited by Fereidoon Shahidi, 2005 John Wiley & Sons, Inc.

¹⁷ Food Chemistry, Third edition, edited by Owen R. Fennema, 1996 Marcel Dekker, Inc., page 492-499

¹⁸ S. Martins et al., A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling, Trends in Food Science & Technology, 11 (2001), 354-373

produtos comercialmente estéreis, o escurecimento enzimático é provocado pela lipase e produz ácidos graxos livres com um sabor estranho distinto que pode tornar o sabor inaceitável. Finalmente, o escurecimento não enzimático (reação de Maillard) é responsável pela coloração marrom e alterações de sabor.

Além de monitorar as propriedades sensoriais ao longo da validade, o fabricante avaliará as alterações nos parâmetros físicos e determinará quais níveis de alterações são aceitáveis. O objetivo é avaliar o impacto na experiência do usuário ao preparar (se necessário) e/ou consumir o produto, conforme recomendado pelo fabricante. Isso é considerado um elemento crítico dos estudos de prazo de validade, uma vez que se concentra na etapa necessária que determina o consumo e a aceitabilidade do consumidor.

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, processamento 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).

Recomendação:

- Em geral, as avaliações físicas, organolépticas e sensoriais devem ser adaptadas à forma de administração e à meta de aceitação do paciente quanto à preparação e ingestão (por exemplo, produtos administrados exclusivamente por sonda não precisam ser organolepticamente

aceitáveis, mas devem ser isentos de grumos e exibir uma viscosidade adequada).

5.3 Resumo:

Análises a serem incluídas nos testes de prazo de validade dos ALIFINS

Os testes de prazo de validade devem se concentrar nas características do produto que estão sujeitas a alterações durante o armazenamento com o tempo e que podem afetar a qualidade, segurança, rotulagem nutricional, alegações ou eficácia do produto.

Com base neste princípio, as seguintes análises são recomendadas para testes de validade do produto:

- i. Análise quantitativa de um número limitado de marcadores de nutrientes lábeis identificados.
- ii. Enumeração de unidades formadoras de colônias, se o alimento contiver probióticos.
- iii. Avaliação qualitativa das características sensoriais do produto.
- iv. Avaliação qualitativa das propriedades físicas do produto identificadas (incluindo, quando relevante, adequação para uso com alimentação por tubo de ALIFINS de administração por via oral)

Por outro lado, as seguintes características do produto não estão sujeitas a alterações durante o armazenamento, não afetam a qualidade do produto, segurança, rotulagem nutricional, alegações ou eficácia e não são necessárias para testes de validade do alimento:

- i. Contaminantes.
- ii. Esterilidade, patógenos e contagens microbianas, desde que a embalagem permaneça lacrada e intacta: o teste logo após a fabricação é considerado suficiente. Para produtos em pó, garantir, além disso, que A_w logo após a fabricação seja inferior a 0,7 o que torna desnecessários os testes microbiológicos subsequentes.

- iii. Nutrientes estáveis, como minerais, e
- iv. Nutrientes não-lábeis, não marcadores.

5.4. Frequência de análise durante os testes de prazo de validade

Testes de prazo de validade em tempo real.

A duração do prazo de validade pode ser definida de forma apropriada apenas com base nos resultados em tempo real obtidos, no mínimo, no início e no final do período de validade. Resultados em tempos intermediários não são obrigatórios.

Se os dados em tempo real no final da validade não estiverem disponíveis, dados intermediários em tempo real podem ser usados para definir uma validade inicial mais curta ou preliminar. Alterações significativas nas propriedades sensoriais, propriedades físicas e conteúdo de nutrientes em condições em tempo real (não aceleradas) normalmente requerem mais de 3 meses para se materializarem, portanto, uma frequência de análise inferior a três meses não é necessária.

Recomendação:

- A duração do prazo de validade pode ser definida de forma apropriada apenas com base nos resultados em tempo real obtidos, no mínimo, no início e no final do período de validade. Nestes casos, a obtenção de resultados em tempos intermediários não é obrigatória.

Testes de validade acelerados

A frequência e o escopo das análises devem ser definidos caso a caso e com base na zona de temperatura do mercado e no tipo de produto. No caso de adição de probióticos no produto acabado, não é recomendada a aplicação de teste de validade acelerado.

5.5. Número de lotes necessários

A vida útil do produto pode ser determinada pela análise de um único lote porque os seguintes processos garantem que diferentes lotes da mesma receita de produto não apresentem diferenças significativas:

1. A Norma de Validação de Embalagem (ISO/TS 22002-4): Programas de pré-requisitos específicos para a fabricação de embalagens de alimentos garantem que as propriedades de barreira de uma determinada embalagem não sejam diferentes de uma embalagem para a outra. Os processos físico-químicos responsáveis pela deterioração do produto e pela determinação da vida útil do produto serão, portanto, qualitativa e quantitativamente idênticos entre os diferentes lotes de fabricação.
2. De acordo com a RDC n. 91/01, embalagem para alimentos é o artigo que está em contato direto com alimentos, destinado a contê-los, desde a sua fabricação até a sua entrega ao consumidor, com a finalidade de protegê-los de agente externos, de alterações e de contaminações, assim como de adulterações.

2. Normas de fabricação e higiene: A implementação de Boas Práticas de Fabricação de Alimentos (BPFs) e Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) garante que a composição e as propriedades do produto permaneçam constantes em diferentes lotes de produção¹⁹. As pequenas variações residuais e inevitáveis na fabricação entre lotes diferentes podem resultar em pequenas diferenças no conteúdo de nutrientes. Essas diferenças permanecem dentro das tolerâncias legais e não afetam o prazo de validade do produto. Elas podem afetar a quantidade de alguns nutrientes presentes no início do período de validade do produto*, apesar de que a amplitude relativa de perda de cada nutriente com o tempo (expressa como porcentagem) entre os lotes não será significativamente diferente.

¹⁹ General Principles of Food Hygiene CAC/RCP 1-1969

*Uma vez lançado comercialmente, os fabricantes de alimentos monitoram rotineiramente a composição do produto na liberação do lote.

A implementação dessas normas garante uma pequena variabilidade entre lotes. Dados gerados em um único lote são representativos de todos os lotes da receita e suficientes para definir a validade do alimento para fim especial. A coleta de dados de validade em vários lotes, portanto, não é necessária.

Recomendação:

- A validade de um produto pode ser determinada pela análise de um único lote.

6. BIBLIOGRAFIA

ASEAN (2017) Guidelines on Stability Study and Shelf-Life of Health Supplements, (link; accessed on 20 FEB 2021)

Bailey's Industrial Oil and Fat Products (2005)

Codex Alimentarius, Standard for the labelling of and claims for Foods for Special Medical Purposes (CODEX STAN 180-1991) (link; accessed on 20 FEB 2021).

Effect of Storage Temperature on the Chemical Stability of Enteral Formula; Advance Journal of Food Science and Technology (2012) 4(5): 235-242

Gomes et al. Association of Nutritional Support With Clinical Outcomes Among Medical Inpatients Who Are Malnourished or at Nutritional Risk An Updated Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Network Open*. 2019; 2(11):e1915138.doi:10.1001/jamanetworkopen.2019.15138 (link; accessed on 20 FEB 2021)

Hudson L, Chittams J, Griffith C, Compher C. Malnutrition Identified by Academy of Nutrition and Dietetics/American Society for Parenteral and Enteral Nutrition Is Associated With More 30-Day Readmissions, Greater Hospital Mortality, and Longer Hospital Stays: A Retrospective Analysis of Nutrition Assessment Data in a Major Medical Center. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2018;42(5):892-897.

IADSA (2016) Stability Testing for the Shelf Life Determination of Supplements International Conference of Harmonisation, Q1A(R2) and Q1F: (link; accessed on 20 FEB 2021)

Martins et al., A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling, *Trends in Food Science & Technology*, 11 (2001), 354-373

Owen R. Fennema, (1996) *Food Chemistry*, 3rd edition, pp 492-499 The Stability and shelf life of vitamin-fortified foods, in *Food and Beverage Stability and Shelf Life*; Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition; 2011, Pages 743-754

Smith TR, Cawood AL, Walters ER, Guildford N, Stratton RJ. Ready-Made Oral Nutritional Supplements Improve Nutritional Outcomes and Reduce Health Care Use-A Randomised Trial in Older Malnourished People in Primary Care. *Nutrients*. 2020 Feb 18;12(2). pii: E517. doi: 10.3390/nu12020517 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7071441/>)

Vitamin C degradation during storage of fortified foods, *Journal of Food and Nutrition Research*, Vol. 45, 2006, 2, 66-61

World Health Organisation, Technical Report Series, No. 953, 2009 (link; accessed on 20 FEB 2021)

World Health Organisation, Guidelines on Integrated Care for Older People (ICOPE) (link, accessed on 20 FEB 2021)

CAPÍTULO II

Fatores que afetam a vida útil dos Suplementos Alimentares e Probióticos

RECOMENDAÇÕES PARA TESTES DE PRAZO DE VALIDADE PARA SUPLEMENTOS ALIMENTARES E PROBIÓTICOS

Tipos de estudo aplicáveis:

- a) Estudos de longa duração constituem métodos diretos clássicos para determinação do prazo de validade e cuidado de conservação de armazenamento e distribuição do alimento. Tais estudos são aplicáveis ao desenvolvimento do produto e/ou à ocorrência de alterações com significativo potencial de influenciar sua estabilidade. Não se deve exigir que estejam completos durante a notificação (lançamento) do produto, contanto que se disponha de estudos acelerados completos provisoriamente.
- b) Estudos de acompanhamento são estudos de longa duração com finalidade confirmatória da validade do produto e devem ser realizados periodicamente (exemplo: anuais) no cuidado de conservação pré-estabelecido para verificar tendências na estabilidade. A periodicidade deve levar em consideração a programação de produção de lotes do produto.
- c) Estudos de estabilidade acelerada são realizados em condições de armazenamento mais intensas como prévia do comportamento do produto ao final do dado prazo de validade pleiteado nos estudos de longa duração. Sua utilização em etapas de desenvolvimento de produto pode ser aceita pela autoridade sanitária como comprovação de validade para lançamento do produto até que estudos de longa duração estejam completos (exemplo – estudo acelerado completo até 6 meses na solicitação de prazo de validade provisório de 24 meses). A utilização desta abordagem deve ser facultativa, o fabricante que optar por utilizá-la deve levar em consideração características do

produto (exemplo: caramelos, gomas e barras em geral não suportam condições aceleradas e ocorre perda de amostra). Quando esta abordagem indireta é utilizada, os estudos de estabilidade de longa duração confirmatórios devem ser conduzidos com os mesmos lotes do estudo acelerado. Se estudos de longa duração completos já estão disponíveis, estudos acelerados não devem ser exigidos por serem desnecessários.

Alguns tipos de estudo não são aplicáveis a todas as formas farmacêuticas por não trazer informação valiosa na determinação de sua validade. Portanto, deve ficar a critério do fabricante justificar sua execução ou não em casos em que se dispõe de racional científico existente para embasar a determinação da validade do produto.

Estudos de Degradação Forçada: prestam-se à determinação de impurezas potenciais e vias de degradação dos componentes da formulação. Estes estudos não devem ser exigidos para alimentos uma vez que interações de degradação dos componentes da formulação ocorrem de forma inerente (exemplo: alimentos *in natura*) e seus produtos não são considerados como risco significativo para a saúde humana. Adicionalmente, diferentemente do que ocorre com medicamentos, tais estudos não são tecnicamente viáveis em razão da complexidade da matriz do produto e número de ingredientes ativos, os quais, tornam o número de interações possíveis infinito para mapeamento. Em resumo, a realização dos estudos é impraticável e onerosa, sem apresentar uma contrapartida de valor para a qualidade e segurança do alimento. Os contaminantes relevantes para cada categoria de alimento são determinados pela legislação vigente, já levando-se em consideração os potenciais riscos existentes, seja para alimentos *in natura* ou processados.

Dadas as considerações apontadas, a prática da indústria é a mensuração da extensão da degradação dos nutrientes (independentemente do perfil das impurezas geradas) para atribuir uma sobredosagem adequada para garantir que os nutrientes estejam em concentrações rotuladas ao final da validade.

Assim, não existe prejuízo para o consumidor decorrente da não realização destes estudos.

Número de Lotes: Estudos de desenvolvimento de produto e validação devem utilizar um mínimo de 1 lote do produto. Estudos confirmatórios podem ser realizados com 1 lote do produto.

Crítérios de Seleção de Lotes: Idealmente os lotes selecionados devem ser gerados nas mesmas exatas condições do lote comercial (mesmo fabricante, equipamentos, processo, tamanho, entre outros). A utilização de lotes piloto de menor escala deve ser permitida contanto que representativos das condições de geração do lote industrial de forma devidamente justificada tecnicamente pelo fabricante. O mais importante neste critério é assegurar que o lote selecionado seja gerado de forma representativa das condições de produção comercial conforme justificativa do fabricante. A validade do lote deve ser contada a partir de sua fabricação e deve-se assegurar que o ingresso às câmaras climáticas ocorra o mais breve possível.

Pontos de Teste: Estudos de estabilidade devem ser conduzidos com um mínimo de 2 pontos de análise relativos ao início e ao final do estudo contemplando, segundo um racional do pior caso, o prazo de validade proposto pleiteado. Tal abordagem constitui também o mínimo necessário para estabelecer e/ou confirmar as sobredosagens necessárias aos nutrientes da composição. Estudos acelerados devem ser conduzidos até 6 meses para prever o comportamento do produto em até 24 meses. A utilização de abordagens de protocolo de estudo que envolvem pontos de análise intermediários devem ficar a critério do fabricante conforme sua experiência e perspectivas dos riscos de falha dos estudos.

Nota: para situações em que o fabricante desejar realizar testes em pontos intermediários, recomenda-se testar a cada 3 meses no primeiro ano, a cada 6 meses no segundo ano e, posteriormente, em frequência anual, conforme guias internacionalmente aceitos.

Condições de armazenamento:

Idealmente, os estudos de estabilidade de longa duração, devem ser conduzidos em condições de armazenamento ambientes de zona IVb. Entretanto, condições alternativas de armazenamento distintas na realização do estudo devem ser permitidas, contanto que sejam representativas daquelas de distribuição e armazenamento real do produto.

Exemplos: produtos refrigerados, suplementos sensíveis à temperatura, dentre outros para os quais não se aplicam condições de armazenamento de zona IVb.

Crítérios de Seleção de Embalagem: a seleção da embalagem deve levar em consideração as características do produto e interações possíveis (migrações e adsorções) e ser representativa do produto a ser distribuído comercialmente. Deve-se permitir abordagens de agrupamento e racional do pior caso na seleção de embalagens para realização do estudo, contanto que de forma devidamente justificada tecnicamente.

Perfil de Testes considerados necessários: Vide planilha MS Excel anexa, a qual provê a lista de testes por forma farmacêutica / tipo de alimento.

Frequência de Testes: Testes microbiológicos devem ser realizados, no mínimo, no início e no fim do estudo, a menos que haja outros testes indicando que o produto não comporta o crescimento microbiano (exemplo: conteúdo e atividade de água, produto estéril em embalagem selada hermeticamente). Testes físico-químicos indicados nos perfis da planilha devem ser realizados em todos os pontos de análise. No que concerne particularmente a testes de teor, deve-se permitir abordagens alternativas ao teste de todos os nutrientes, tais como: a utilização de marcadores (nutrientes cujo teor é considerado atributo de qualidade crítico limitante da estabilidade do produto por exceder mais precocemente os limites aceitáveis), de modo que os outros componentes não limitarão o prazo de validade, não havendo valor em sua realização. Como exemplo de testes não necessários em estudos de estabilidade citam-se os minerais, os quais são inerentemente estáveis e não limitarão a estabilidade do produto.

Análise de Dados: Análise estatística, extrapolação e interpolação devem ser baseadas nos dados de estudos de estabilidade de desenvolvimento do produto. Por isso, deve ser permitido ao fabricante a utilização de tendências de dados e abordagens de extrapolação estatística para previsão do comportamento do produto. Tal abordagem constitui outro tipo de método indireto de determinação de prazo de validade (além da estabilidade acelerada) e deve ser permitida contanto que esteja devidamente validada tecnicamente (Métodos de agrupamento (Determinação de prazo de validade por similaridade). As tendências previstas poderão ser posteriormente confirmadas com dados reais de estabilidade de longa duração ou acompanhamento (métodos diretos).

Abordagens de desenvolvimento de produto:

A utilização de modelos preditivos de estabilidade pode ser realizada para determinação da validade que se baseiem na comparação da formulação proposta com dados passados de produtos de mesma família, contanto que devidamente justificado. Tal abordagem é popularmente conhecida como desenvolvimento por similaridade e é válida tecnicamente. Sua aplicabilidade ocorre nas seguintes condições: quando a matriz do produto proposto possa ser considerada qualitativa e quantitativamente representativa a do produto já existente (para o qual se dispõe de dados de estabilidade prévios) ou quando a matriz do produto proposto possa ser considerada qualitativa e quantitativamente um pior caso em relação ao do produto existente. A validade de tal modelo preditivo se baseia em princípios físico-químicos bem estabelecidos de cinética e dinâmica de interações químicas. Por constituir um método indireto, a validade estimada com base nestas abordagens poderá ser confirmada por métodos diretos, como estudos de acompanhamento.

Aspectos Aleatórios

- a) A execução de estudos não deve estabelecer localidade específica.

- b) Deve ser consultada a legislação vigente quanto à variabilidade do teor de nutrientes permitida ao final do prazo de validade, para justificativa dos casos em

que se adota a utilização de sobredosagem como método de garantia da qualidade nutricional do produto acabado.

c) Os estudos devem continuar a ser conduzidos pelo fabricante para retenção interna e disponibilização somente mediante solicitação da autoridade sanitária competente, sem necessidade de sua submissão na notificação inicial do produto.

d) a repetição ou não de estudos acelerados e longa duração posteriormente ao desenvolvimento do produto, como para avaliação de impacto de alterações, deve ficar a critério da empresa (com base na avaliação da criticidade da alteração pelo fabricante para determinação da necessidade de estudos de longa duração prévios ou apenas de acompanhamento), observadas as disposições e os amparos legais vigentes quando da alteração (Validação e monitoramento da vida útil dos alimentos).

TESTES DE PRAZO DE VALIDADE PARA SUPLEMENTOS ALIMENTARES E PROBIÓTICOS



Testes Estabilidade
Suplem. Alim._Probi

Atividade de Água	Condição de Limpeza (Presença ou Ausência)	Solvente Resíduos	Descrição	ruptura de cloreto	Dissolução	Floculação	Durante	Viscosidade	pH	Tamanho de Partículas	Uniformidade de Dose	Volume Estocado	
Opcional (Seja justificar, por exemplo, ausência de testes de microbiologia na estabilidade Não aplica (verificar))	Opcional (verificar)	NÃO APLICAR O produto não contém solventes orgânicos voláteis (VOC) e não contém compostos orgânicos halogenados (COH) e outros compostos orgânicos.	SIM Conforme disposto nos critérios de USP-CO2 e a outros compostos orgânicos.	NÃO APLICAR	Opcional Se realizado, seguir conforme disposto nos critérios de USP-CO2 e a outros compostos orgânicos.	NÃO APLICAR	Opcional A empresa poderá também justificar a ausência de teste na liberação.	Opcional Recomendado, entretanto deve ser feita a empresa justificar a não liberação em processo.	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	
Opcional (Seja justificar, por exemplo, ausência de testes de microbiologia na estabilidade Não aplica (verificar))	Opcional (verificar)		NÃO APLICAR O produto não contém solventes orgânicos voláteis (VOC) e não contém compostos orgânicos halogenados (COH) e outros compostos orgânicos.	SIM Conforme disposto nos critérios de USP-CO2 e a outros compostos orgânicos.	Opcional (Recomendado: Força e tempo)	Opcional Se realizado, seguir conforme disposto nos critérios de USP-CO2 e a outros compostos orgânicos.	NÃO APLICAR	Opcional A empresa poderá também justificar a ausência de teste na liberação.	Opcional Recomendado, entretanto deve ser feita a empresa justificar a não liberação em processo.	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	
Opcional (Seja justificar, por exemplo, ausência de testes de microbiologia na estabilidade Não aplica (verificar))	Opcional (verificar)		NÃO APLICAR O produto não contém solventes orgânicos voláteis (VOC) e não contém compostos orgânicos halogenados (COH) e outros compostos orgânicos.	SIM Conforme disposto nos critérios de USP-CO2 e a outros compostos orgânicos.	Opcional (Recomendado: Força e tempo)	Opcional Se realizado, seguir conforme disposto nos critérios de USP-CO2 e a outros compostos orgânicos.	NÃO APLICAR	Opcional A empresa poderá também justificar a ausência de teste na liberação.	Opcional Recomendado, entretanto deve ser feita a empresa justificar a não liberação em processo.	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR
Opcional (Seja justificar, por exemplo, ausência de testes de microbiologia na estabilidade Não aplica (verificar))	Opcional (verificar)		NÃO APLICAR O produto não contém solventes orgânicos voláteis (VOC) e não contém compostos orgânicos halogenados (COH) e outros compostos orgânicos.	SIM Conforme disposto nos critérios de USP-CO2 e a outros compostos orgânicos.	Opcional (Recomendado: Força e tempo)	Opcional Se realizado, seguir conforme disposto nos critérios de USP-CO2 e a outros compostos orgânicos.	NÃO APLICAR	Opcional A empresa poderá também justificar a ausência de teste na liberação.	Opcional Recomendado, entretanto deve ser feita a empresa justificar a não liberação em processo.	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR
Aplicar	Aplicar	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	
NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	
NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	Aplicar	Aplicar	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	
NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	Aplicar	Aplicar	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	
Aplicar	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	
Aplicar	Aplicar	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	
NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	
NÃO APLICAR - para teste	NÃO APLICAR - para teste	NÃO APLICAR - para teste	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	Quando aplicar	Aplicar em 10 x 10 cm, em pontos de teste fixos.	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	
NÃO APLICAR - para teste	NÃO APLICAR - para teste	NÃO APLICAR - para teste	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	Quando aplicar	Quando aplicar	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	
Quando aplicar	Quando aplicar	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	Aplicar	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	NÃO APLICAR	

05 November 2021

Patrícia Ferrari Andreotti
Food Regularization Management – GREG/ANVISA

Thalita Antony de Souza Lima
General Management of Foods – GGALI

National Health Surveillance Agency – ANVISA

Re: ISDI workshop on Shelf-Life Determination for Foods for Special Medical Purposes

In 2019, following a literature review that emphasized the lack of relevant references and studies, the International Special Dietary Industry (ISDI) launched a multiyear project to develop guidance on shelf-life tests for Food for Special Medical Purpose (FSMP).

At a time where the experts involved from different regions of the world did not have the opportunity to meet and could only work virtually, it represented a major investment in resources and time from dedicated experts in the field.

A dedicated Stability Test Working Group was established with 5 participating companies – Abbott, Danone (Nutricia), Fresenius-Kabi, Nestlé (Health Science) and Reckitt Benckiser.

WORKING GROUP LEAD

- **Laurent Ameye**, PhD, Nestlé Health Science, Global Regulatory Affairs Compliance Manager

WORKING GROUP MEMBERS

- **Amy Chu**, Reckitt Benckiser, Global Category Quality Manager
- **Donald Gilliland**, PhD FAOACI, Abbott, Nutrients and Bioanalytical Global Analytical & Food Safety
- **Francisco Moya**, Abbott, Technology Center Laboratory Manager for Product R&D
- **Jean Christophe Kremer**, ISDI Secretary General
- **Julia Heckmann**, PhD, Fresenius Kabi, Scientist Product Characterization Innovation & Development Enteral Nutrition
- **Kaushik Janakiraman**, Reckitt Benckiser, Global Head Regulatory and Intelligence
- **Vanessa Zammit**, Danone, SN Senior Stability Specialist R&I, Food Science & Technology
- **Xavier Lavigne**, Abbott, Regulatory and Policy Intelligence Director, ISDI Vice President and Board member

The broad range of expertise in the WG allowed it to consider all relevant aspects of the topic from products types to manufacturing processes.

PROJECT DESCRIPTION

The project was developed in phases with two parallel work-streams.

Phase I – Initiation (Q4 2019 – Q1 2020) **COMPLETED**

Project launched with two parallel workstreams:

Workstream A

Aim: to develop a first general guideline (based on experience of experts in the field & gap analysis of available existing materials - including food supplements/drugs GMPs)

Workstream B

Aim: to develop a second guideline containing fact-based recommendations on which nutrients to include in FSMP stability tests. This workstream includes data collection, analysis & reporting.

Phase II – Execution (Q1 2020 – Q4 2021)

Workstream A

Development of the First Guidelines (Q1 2020 – Q2 2021) **COMPLETED**

Workstream B

- A. Establishment of contracts with the third-Party contractor SOCAR¹, which specializes in Biostatistics & statistical programming. Contracts were established with ISDI and each of the 5 companies (Q4 2019-Q1 2020). **COMPLETED**
SOCAR is in charge of the anonymization of the data and of all the statistical analyses.
- B. Data collection:
 - a. Establishment of the template for data collection (Q1 2020) **COMPLETED**
 - b. Collection and submission of data to SOCAR by companies (Q2-Q3 2020) **COMPLETED**

- C. Data analysis by Third Party and statistical expert: SOCAR (Q4 2020-Q4 2021)

To provide an idea of the complexity of the in-depth analysis that is ongoing, the data collected comprised 32,798 data points and 1,471 datasets (or recipes) covering more than 70 nutrients. The datasets were categorized in 9 categories (physical state, temperature, humidity, pH of product, level of protein hydrolysis, presence/absence of fat, adult vs infant FSMP, type of packaging, protective atmosphere) with 29 subcategories. For each nutrient, statistical analyses were performed to identify which factors among these 29 subcategories were responsible for losses and to which extent.

Phase III Peer reviewed publication & communication (Q1 2022 – Q4 2022):

Workstream A

Publication of the First Guidelines: completed (Q3 2021) **COMPLETED**

Workstream B

- A. Publication of the second guideline (Q1-2 2022)

¹ SOCAR Research SA is a privately-owned Service Provider founded in Switzerland in 1986 with a head office located in Nyon. It specializes in Biostatistics & statistical programming (<https://www.socar-research.com/>).

- B. Peer reviewed publication in a scientific journal of the study results in collaboration with SOCAR for statistical analysis integrity (2022-2023)

ISDI Workshop

Based on discussion with our ISDI member ABIA - (Associação Brasileira da Indústria da Alimentação) and recognizing the interest and relevance of the ISDI project in relation to the ongoing discussions in Brazil, ISDI is happy to suggest organizing a **2-hour workshop** with ANVISA to share the current status and main outcome of the study.

This workshop, involving all the relevant partners: ABIA (Associação Brasileira da Indústria da Alimentação), ABIAD (Associação Brasileira da Indústria de Alimentos para Fins Especiais e Congêneres), Sindusfarma/GENE (Grupo Estratégico de Nutrição Especializada), Unicamp (Universidade Estadual de Campinas) would see the following topics covered by experts of the ISDI WG on Stability Testing:

- Introduction to the ISDI project
- First Guideline (Workstream A)
- Workstream B:
 - Data set: detailed explanations on the data collected
 - Data Analysis: detailed explanations based on representative examples
 - Results: an overview of main results including recommendations for tracers
 - Next Steps in the ISDI project

ISDI would be happy to align on availability for this 2-hour workshop. Once the most convenient date for ANVISA is identified, we will look for the support of our partner associations based in Brazil to facilitate the organization of the event.

ISDI believes that this timing is most opportune to engage in a first discussion on stability testing.

We thank you in advance for your kind consideration of the above and remain at your disposition for any questions.

Best regards,



Jean Christophe Kremer
Secretary General



Laurent Ameye
ISDI Stability Testing WG Lead