



Instituto Politécnico de Santarém
2016

Estudo da estabilidade química, nutricional e microbiológica durante o processo tradicional de preparação do bacalhau salgado seco para congelação

Patrícia Moita

Estudo da estabilidade química, nutricional e microbiológica durante o processo tradicional de preparação do bacalhau salgado seco para congelação

Dissertação apresentada para a obtenção do grau de Mestre na área de Tecnologia Alimentar

Patrícia Alexandra Pereira Moita

Orientadora:

Dr.^a Ana Maria Gomes de Sousa Neves

Santarém, 2016



INSTITUTO POLITÉCNICO DE SANTARÉM

Escola Superior Agrária de Santarém

Mestrado em Tecnologia Alimentar

**ESTUDO DA ESTABILIDADE QUÍMICA, NUTRICIONAL E MICROBIOLÓGICA
DURANTE O PROCESSO TRADICIONAL DE PREPARAÇÃO DO BACALHAU
SALGADO SECO PARA CONGELAÇÃO**

Patrícia Alexandra Pereira Moita

Santarém, 2016

INSTITUTO POLITÉCNICO DE SANTARÉM

Escola Superior Agrária de Santarém

Mestrado em Tecnologia Alimentar

**ESTUDO DA ESTABILIDADE QUÍMICA, NUTRICIONAL E MICROBIOLÓGICA
DURANTE O PROCESSO TRADICIONAL DE PREPARAÇÃO DO BACALHAU SALGADO
SECO PARA CONGELAÇÃO**

Dissertação para a obtenção do grau de Mestre em Tecnologia Alimentar

Patrícia Alexandra Pereira Moita n.º 130391018

Orientador: Doutora Ana Maria Gomes de Sousa Neves

Santarém, 2016

DEDICATÓRIA

Dedico carinhosamente este trabalho às pessoas mais importantes da minha vida, em especial aos meus pais, Conceição e Luís, à minha irmã, Ana, aos meus avós maternos, Gina e João e ao meu namorado, David.

AGRADECIMENTOS

Concluído este trabalho, gostaria de agradecer a todos aqueles, que diretamente ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, pois sem eles não teria sido possível.

À Professora Doutora Ana Neves pela simpatia e pela sua disponibilidade demonstrada ao longo de todo o estágio e realização deste trabalho.

À Professora Antonieta Santana pela disponibilidade ao longo do estágio e revisão deste trabalho.

À Escola Superior Agrária de Santarém que permitiu a realização deste estágio nos laboratórios.

À Engenheira Conceição por toda a ajuda no laboratório de nutrição.

Às técnicas de laboratório, Sofia, Luzia, Ana e Anabela por toda a ajuda, disponibilidade demonstrada e amizade ao longo dos seis meses de estágio.

À colegas de estágio Ana Rita Barros e Patrícia Andrade Nunes por toda a ajuda que me deram ao longo do estágio.

A todos o meu sincero obrigada!

RESUMO

ESTUDO DA ESTABILIDADE QUÍMICA, NUTRICIONAL E MICROBIOLÓGICA DURANTE O PROCESSO TRADICIONAL DE PREPARAÇÃO DO BACALHAU SALGADO SECO PARA CONGELAÇÃO

O bacalhau salgado seco é utilizado regularmente pelo povo português na sua gastronomia, o que deu a este produto um estatuto privilegiado na dieta Portuguesa, comparativamente a qualquer outro alimento. Assim, pretendeu-se com este trabalho fornecer uma contribuição para o conhecimento sobre o bacalhau salgado seco, demolido e congelado em termos da sua composição química, nutricional e microbiológica.

Avaliaram-se as características químicas, nutricionais e microbiológicas de uma amostra (cinco unidades) de um lote de bacalhau salgado seco em venda no comércio, que foram submetidos a demolha a duas temperaturas (6°C e 20°C) e, depois, sujeitos a um processo de congelação a -20°C, durante cinco semanas.

Os resultados evidenciaram um elevado teor de proteína e um baixo teor de lípidos. Quanto à avaliação microbiológica os resultados evidenciaram a estabilidade e segurança do bacalhau salgado seco, demolido a 6°C e congelado, sendo de salientar a prevalência de leveduras *Candida polymorpha/Yamadzyma triangularis*.

Palavras-chave: bacalhau salgado seco; demolha; congelação; qualidade e segurança dos alimentos; *Candida polymorpha/Yamadzyma triangularis*.

ABSTRACT

STABILITY STUDY OF CHEMISTRY, NUTRITION AND MICROBIOLOGICAL DURING TRADITIONAL COD PREPARATION SALTED DRY FOR FREEZING

The dried salt cod is used regularly by the Portuguese people in its gastronomy, which gave this product a privileged status in the Portuguese diet, compared to any other food. Thus, it was intended with this work provide a contribution to the knowledge of dried salted cod, soaked and frozen in terms of their chemical composition, nutritional and microbiological.

Evaluated the chemical, nutritional and microbiological characteristics of a sample (five pieces) of a batch of dried salted cod commercially available, they were subjected to soaking at two temperatures (6°C and 20°C) and then subjected to a process freezing at -20°C for five weeks.

The results showed a high protein content and low fat content. As for microbiological evaluation results showed the stability and security of dried salted cod, soaked to 6°C and frozen, emphasizing the prevalence of *Candida yeast polymorpha* / *Yamadzyma triangularis*.

Keywords: dried salted cod; soaking; freezing; quality and food safety; *Candida polymorpha* / *Yamadzyma triangularis*

SIGLAS E ABREVIATURAS

BSS - Bacalhau Salgado Seco

BD6 - Bacalhau Demolhado a 6°C

BD20 - Bacalhau Demolhado a 20°C

BDC6 - Bacalhau Demolhado a 6°C e, posteriormente, Congelado

BDC20 - Bacalhau Demolhado a 20°C e, posteriormente, Congelado

INE - Instituto Nacional de Estatística

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations

DGPA - Direção - Geral das Pescas e Aquicultura

INSA - Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge

ÍNDICE

DEDICATÓRIA	I
AGRADECIMENTOS	II
RESUMO	III
ABSTRACT	IV
SIGLAS E ABREVIATURAS	V
ÍNDICE DE QUADROS	IX
ÍNDICE DE FIGURAS	XI
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
2.1. A atividade da pesca e o consumo de produtos da pesca	2
2.1.1. Caracterização do sector das pescas a nível mundial	2
2.1.1.1. O sector da pesca e o consumo <i>per capita</i> de pescado	4
2.1.2. Caracterização do sector da pesca em Portugal	5
2.1.2.1. Caracterização do consumo de produtos da pesca em Portugal	5
2.1.2.2. Evolução da pesca em Portugal	6
2.1.3. A importância dos produtos da pesca e de aquacultura na alimentação	7
2.2. O bacalhau	7
2.2.1. Enquadramento histórico e importância económica	7
2.2.2. Consumo de bacalhau em Portugal	8
2.2.3. Características do bacalhau	9
2.2.3.1. Descrição das principais características	9
2.2.3.2. Classificação taxonómica	10
2.2.3.3. Tipos de bacalhau e espécies afins	11
2.2.3.4. Diversidade dos produtos de bacalhau	12
2.2.4. Tecnologia de processamento do bacalhau	12

2.2.4.1. Descrição das etapas de processamento do bacalhau salgado seco.....	14
2.2.4.2. Descrição das etapas de processamento do bacalhau do bacalhau demolido ultracongelado.....	17
2.3. Caracterização química, nutricional e microbiológica do bacalhau	20
2.3.1. Caracterização química e valor nutricional	20
2.3.1.1. Água/humidade.....	21
2.3.1.2. Proteína e outros compostos azotados	21
2.3.1.3. Glúcidos.....	22
2.3.1.4. Lípidos totais	22
2.3.1.5. Vitaminas.....	22
2.3.1.6. Minerais	23
2.3.1.7. Cloretos.....	23
2.3.2. Caracterização microbiológica	23
2.3.2.1. Indicadores microbiológicos do bacalhau salgado seco, demolido e congelado	23
2.3.2.1.1. Indicadores de qualidade	24
2.3.2.1.2. Indicadores de higiene	26
2.3.2.1.3. Indicadores de segurança.....	28
3. METODOLOGIA	30
3.1. Caracterização da amostra.....	30
3.2. Metodologias	30
3.2.1. Análise química e nutricional.....	31
3.2.2. Análise microbiológica.....	34
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4.1. Avaliação da composição química	39
4.1.1. Teor de humidade	39
4.1.3. Teor de lípidos totais	41
4.1.4. Teor de glúcidos	42

4.1.5. Teor de cinza total	42
4.1.6. Teor de cloreto de sódio	44
4.1.7. Teor de fibra	45
4.2. Avaliação nutricional	45
4.2.1. Valor energético - Energia (kj/kcal)	45
4.3. Avaliação microbiológica	45
4.3.1. Indicadores de qualidade	45
4.3.1.1. Contagem de microrganismos halófilos	45
4.3.1.2. Contagem de bolores e leveduras halófilos e halotolerantes	46
4.3.1.3. Contagem de microrganismos a 30°C	47
4.3.1.4. Contagem de <i>Pseudomonas</i> spp.	49
4.3.2. Indicadores de higiene	50
4.3.2.1. Contagem de <i>Escherichia coli</i>	50
4.3.2.3 Contagem/Pesquisa de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	51
4.3.3. Indicadores de segurança	52
4.3.3.1. Pesquisa de Esporos de Clostrídios sulfito-redutores	52
4.3.3.2. Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	53
4.3.3.3. Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.	53
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	58
BIBLIOGRAFIA	59
APÊNDICE I	67
Resultados das análises químicas e nutricionais aos cinco bacalhaus nas diferentes fases do processo	67
APÊNDICE II	69
Resultados das análises microbiológicas aos cinco bacalhaus nas diferentes fases do processo	69

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1 - Produção e utilização da pesca e da aquacultura em todo o mundo	3
Quadro 2 - Tipos de bacalhau comercializáveis, classificados com base no teor de sal e humidade	16
Quadro 3 - Tempo de demolha para cada categoria de bacalhau.	19
Quadro 4 - Diferenças entre a congelação lenta realizada tradicionalmente pelos consumidores e a ultracongelação	19
Quadro 5 - Composição química e nutricional do Bacalhau (<i>Gadus morhua</i>) expressa em %	20
Quadro 6 - Classificação de microrganismos dependentes da concentração de sal	24
Quadro 7 - Metodologia das análises químicas	30
Quadro 8 - Avaliação microbiológica do bacalhau salgado seco, bacalhau demolhado e bacalhau congelado e respetivas metodologias referenciadas	36
Quadro 9 - Composição média do bacalhau demolhado referida por diferentes autores	38
Quadro 10 - Teor médio de humidade e comparação com outros autores (%)	39
Quadro 11 - Teor de proteína bruta e comparação com outros autores (%)	40
Quadro 12 - Teor de lípidos totais e comparação com outros autores (%)	41
Quadro 13 - Teor de cinzas total e comparação com outros autores (%)	43
Quadro 14 - Teor de cloreto de sódio e comparação com outros autores (%)	44
Quadro 15 - Teor de fibra e comparação com outros autores (%)	45
Quadro 16 - Valor energético dos cinco bacalhaus analisados nas diferentes fases do processo	45
Quadro 17 - Comparação da população de microrganismos halófilos no bacalhau salgado seco com resultados de outros autores (ufc/g)	47
Quadro 18 - Comparação da população de bolores e leveduras halófilos e halotolerantes no bacalhau salgado seco e congelado com resultados de outros autores (ufc/g)	49
Quadro 19 - Comparação da população de microrganismos a 30°C no bacalhau demolhado e congelado com resultados de outros autores (ufc/g)	50
Quadro 20 - Comparação da população de <i>Pseudomonas</i> spp. no bacalhau demolhado e congelado com resultados de outros autores (ufc/g).	51
Quadro 21 - Pesquisa de <i>Enterococcus</i> nas unidades da amostra de bacalhau salgado seco e após demolha e congelação	53
Quadro 22 - Frequência (%) de amostras com <i>Enterococcus</i> em amostras de bacalhau salgado seco, demolhado e ultracongelado	53
Quadro 23 - Avaliação da população de <i>Staphylococcus coagulase</i> positiva nas unidades da	54

amostra de bacalhau salgado seco e após demolha e congelação expresso em ufc/g

Quadro 24 - Pesquisa de Staphylococcus coagulase positiva nas unidades da amostra de bacalhau salgado seco e após demolha e congelação

54

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Zonas de pesca e áreas onde se efetuam as maiores capturas.	3
Figura 2 - Consumo médio per capita dos produtos da pesca a nível mundial	4
Figura 3 - Capturas pescado fresco ou refrigerado.	5
Figura 4 - Quantidades produzidas pela indústria transformadora da pesca (2012)	6
Figura 5 - Bacalhau do Atlântico (<i>Gadus morhua</i>)	9
Figura 6 - Distribuição do bacalhau no Atlântico Norte	10
Figura 7 - Taxonomia do Bacalhau	11
Figura 8 - Fluxograma de processamento do bacalhau salgado seco e do bacalhau demolido ultracongelado	13
Figura 9 - Corte do bacalhau em porções uniformes	30
Figura 10 - Bacalhau demolido a 6°C e 20°C (48 horas)	30
Figura 11 - Bacalhau congelado a -20°C (5 semanas)	30
Figura 12 - Valor médio do teor de humidade (%) das amostras analisadas nas diferentes fases do processo: bacalhau salgado seco (BSS); bacalhau demolido 6°C e 20°C (BD6 e BD20) e bacalhau demolido congelado (BDC6 e BDC20)	39
Figura 13 - Valor médio do teor de proteína bruta (%) das amostras analisadas nas diferentes fases do processo: bacalhau salgado seco (BSS); bacalhau demolido 6°C e 20°C (BD6 e BD20) e bacalhau demolido congelado (BDC6 e BDC20)	40
Figura 14 - Valor médio do teor lípidos totais (%) das amostras analisadas nas diferentes fases do processo: bacalhau salgado seco (BSS); bacalhau demolido 6°C e 20°C (BD6 e BD20) e bacalhau demolido congelado (BDC6 e BDC20)	41
Figura 15 - Valor médio do teor de cinza total (%) das amostras analisadas nas diferentes fases do processo: bacalhau salgado seco (BSS); bacalhau demolido 6°C e 20°C (BD6 e BD20) e bacalhau demolido congelado (BDC6 e BDC20)	43
Figura 16 - Valor médio do teor de cloreto de sódio (%) das amostras analisadas nas diferentes fases do processo: bacalhau salgado seco (BSS); bacalhau demolido 6°C e 20°C (BD6 e BD20) e bacalhau demolido congelado (BDC6 e BDC20)	44
Figura 17 - Valor médio do teor de fibra (%) das amostras analisadas nas diferentes fases do processo: bacalhau salgado seco (BSS); bacalhau demolido 6°C e 20°C (BD6 e BD20) e bacalhau demolido congelado (BDC6 e BDC20)	45
Figura 18 - Avaliação da população média de microrganismos halófilos no bacalhau salgado seco (BSS) expresso em ufc/g.	45

Figura 19 - Avaliação da população média de bolores e leveduras halófilos (ISO 21527-2/2008) e halotolerantes (ISO 21527-1/2008) bacalhau salgado seco (BSS) e no bacalhau demolido posteriormente congelado (BDC) expresso em ufc/g. 46

Figura 20 - Avaliação da população média de microrganismos a 30°C no bacalhau demolido a 6°C e 20°C (BD6; BD20) e no bacalhau congelado (BDC6; BDC20) expresso em ufc/g 48

Figura 21 - Avaliação da população média de *Pseudomonas* spp. no bacalhau salgado seco (BSS), bacalhau demolido a 6°C e 20°C (BD6; BD20) e no bacalhau congelado (BDC6; BDC20) expresso em ufc/g 49

1. INTRODUÇÃO

Os produtos da pesca constituem uma das maiores fontes de nutrientes para a dieta alimentar da população. Estudos confirmam que o consumo de pescado está relacionado com benefícios para a saúde (Jardim, 2011).

Portugal é um dos países mais consumidores de produtos da pesca associada à sua localização geográfica privilegiada. No que diz respeito ao consumo de bacalhau é uma das principais tradições do povo português, em média cada português consumo 11kg/ano de bacalhau. Entre 2008 e 2012 o bacalhau e outros peixes salgados registaram um aumento de 12,5% na quantidade diária *per capita* disponível para consumo. Em 2012 foram responsáveis por 17% das disponibilidades diárias totais de pescado para consumo (Jardim, 2011; INE, 2014_b).

O bacalhau apresenta uma ótima qualidade dado que a percentagem comestível do peixe fresco e de cerca de 75% do seu peso total, em média 80% corresponde à água, cerca de 18% corresponde à fração proteica e, apenas, 0,5% ao teor de gordura. A percentagem de osso e pele é de 21% e 6% respetivamente (Salvador, 2009; Gonçalves, 2011).

A indústria de produção e processos preparação de bacalhau, salga, seca, demolha e ultracongelação, devem obedecer e respeitar normas específicas, dado que a qualidade do produto final depende destes processos, bem como do tipo de sal utilizado e da qualidade da matéria-prima (Siopa, 2005; Viegas, 2013).

O bacalhau salgado seco é dos principais alimentos dos portugueses, considerando esta importância o estudo desenvolvido teve como principal objetivo a reprodução do processo tradicional de preparação do bacalhau salgado seco, *Gadus morhua*, para congelação e a avaliação de parâmetros químicos, nutricionais e microbiológicos no bacalhau salgado seco, no bacalhau demolhado a 6°C e a 20°C (durante 48 horas) e após congelação (-20°C, ao fim de 5 semanas).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. A atividade da pesca e o consumo de produtos da pesca

2.1.1. Caracterização do sector das pescas a nível mundial

Através de registos pré-históricos e outros testemunhos arqueológicos hoje conhecidos, a captura de produtos da pesca está associada ao estabelecimento do Homem na Terra o que poderá remontar há mais de 450 milhões de anos (Gonçalves, 2011).

O mar passou a assumir um papel de maior relevo no plano económico à escala mundial como fornecedor de alimentos e a utilização de produtos da pesca continua em crescimento quer em termos nominais quer *per capita* (FAO, 2009). Assim, os produtos da pesca têm presentemente um papel fundamental na alimentação mundial, proporcionando cerca de 12% das proteínas animais consumidas em todo o mundo (INE, 2010).

Nos últimos anos o sector das pescas a nível mundial apresentou uma evolução constante, apesar de se verificar uma alteração nas fontes produtoras, com o aumento da produção em aquacultura relativamente à pesca em mar (FAO, 2012). Em 2010 a captura de mar e a produção de aquacultura contribuíram com cerca de 148 milhões de toneladas de peixe e em 2011 os dados indicam um aumento da produção para 154 milhões de toneladas, sendo que o maior produtor mundial de produtos da pesca foi a Ásia (FAO, 2012).

A nível mundial, nos últimos anos o sector das pescas apresentou uma evolução constante apesar de se verificar alteração nas fontes produtoras, com aumento da produção em aquacultura relativamente à pesca em mar (FAO, 2012).

Segundo a FAO (2014) em todo o mundo, entre os anos de 2007 e 2012, as capturas de mar e a produção em aquacultura forneceram aproximadamente 148,6 milhões de toneladas, destas, cerca de 126,3 milhões de toneladas destinam-se a consumo humano (**Quadro 1**).

Quadro 1 - Produção e utilização da pesca e da aquacultura em todo o mundo

Anos	2007	2008	2009	2010	2011	2012
Produção Milhões de Toneladas						
Pesca de captura						
Continental	10,1	10,3	10,5	11,3	11,1	11,6
Marítima	80,7	79,9	79,6	77,8	82,6	79,7
Pesca de captura total	90,8	90,1	90,1	89,1	93,7	91,3
Aquacultura						
Continental	29,9	32,4	34,3	36,8	38,7	41,9
Marítima	20,0	20,5	21,4	22,3	23,3	24,7
Total de aquacultura	49,9	52,9	55,7	59,0	62,0	66,6
Produção pesqueira mundial total	140,7	143,1	145,8	148,1	155,7	158,0
Utilização						
Consumo humano	117,3	120,9	123,7	128,2	131,2	136,2
Uso alimentar	23,4	22,2	22,1	19,9	24,5	21,7
População (milhares de milhões)	6,7	6,8	6,8	6,9	7,0	7,1
Quantidade consumido <i>per capita</i> (kg)	17,6	17,9	18,1	18,5	18,7	19,2

Adaptado de FAO (2014)

Relativamente às regiões piscícolas marinhas mais produtivas do mundo, segundo a FAO, o Pacífico Noroeste e Sudeste foram as zonas com maiores quantidades capturadas (263210 e 15311 milhões de toneladas, respetivamente) (**Figura 1**).

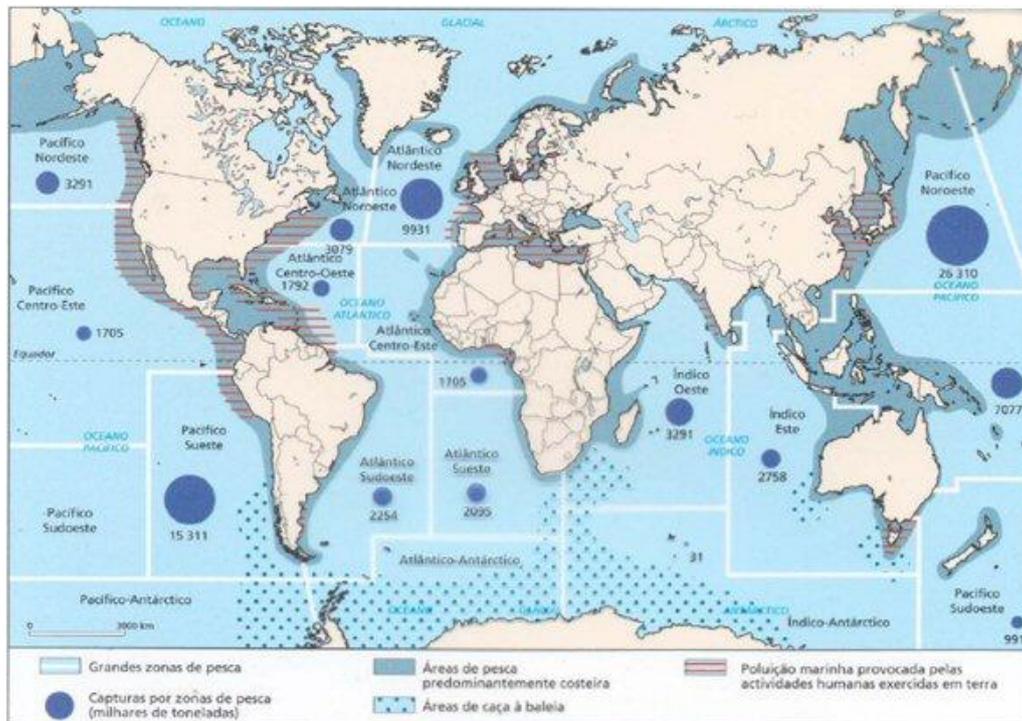


Figura 1 - Zonas de pesca e áreas onde se efetuam as maiores capturas.
Retirado de FAO (2014)

2.1.1.1. O sector da pesca e o consumo *per capita* de pescado

Com o aumento da população a nível mundial, principalmente após a Segunda Grande Guerra Mundial, assistiu-se a um aumento da procura de bens de consumo que exigiu, conseqüentemente, a produção de mais produtos alimentares, o que fez com que o mar passa-se a ter um papel fundamental como fornecedor de alimento (Gonçalves, 2011).

Os países com maiores consumos de pescado *per capita* são na maior parte localizados no litoral ou na zona de rios e áreas com águas interiores, existindo diferenças nos consumos entre os países mais e menos desenvolvidos (**Figura 2**).

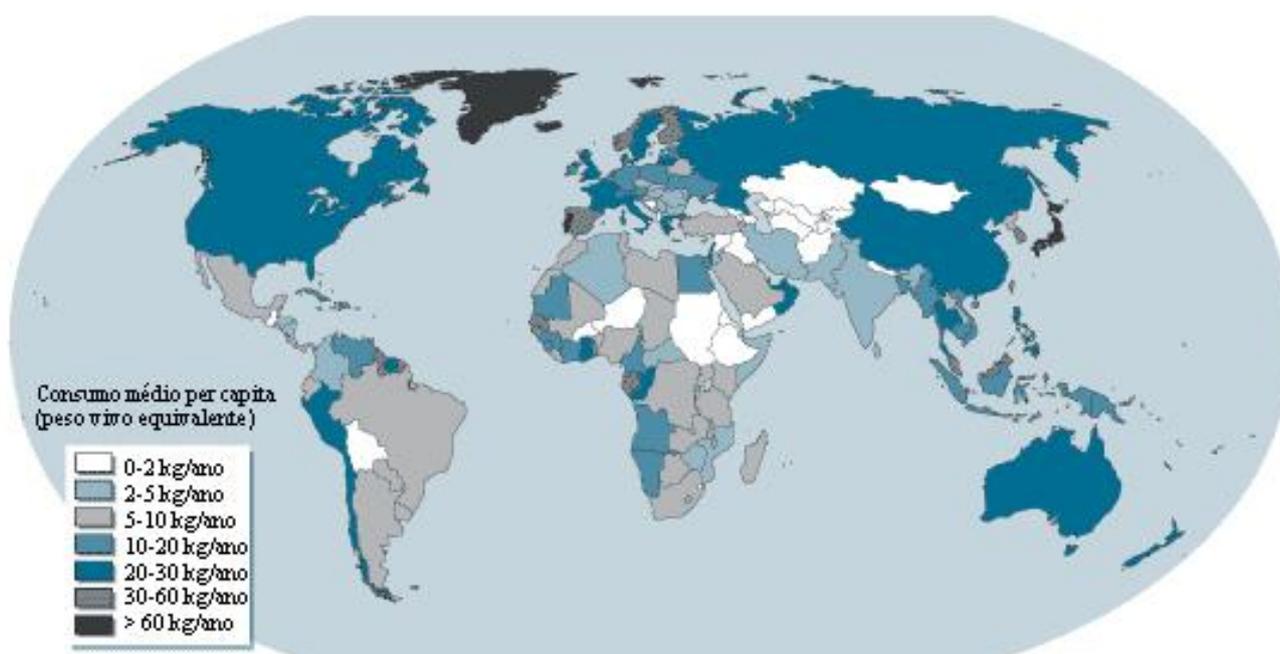


Figura 2 - Consumo médio *per capita* dos produtos da pesca a nível mundial.
Adaptado de FAO, 2012

De acordo com a FAO (2012), Portugal é o País da União Europeia com o consumo *per capita* de pescado mais elevado, cerca de 56 kg/ano/habitante, onde o valor médio situa-se próximo dos 22,7 kg/ano/habitante. O valor de consumo, em Portugal, representa um consumo individual de cerca de 160g de pescado por dia, correspondendo a mais de 32% do total da dieta proteica animal diária por habitante (FAO, 2012), consumo este que o coloca em 3º lugar a nível mundial, depois do Japão e da Islândia (DGPA, 2007_a). Este valor, que representa um consumo individual de cerca de 153g de pescado por dia/habitante, corresponde a mais de 32% do total da dieta proteica animal diária por habitante (DGPA, 2007_b;Viegas, 2013).

2.1.2. Caracterização do sector da pesca em Portugal

2.1.2.1. Caracterização do consumo de produtos da pesca em Portugal

Pela posição que ocupa face aos oceanos, Portugal encontra-se numa situação privilegiada no conjunto dos países europeus, dado que apresenta uma Zona Económica Exclusiva (ZEE) de cerca de 1.700.000 km² e uma costa de 942 km no Continente e duas vastas áreas insulares. A atividade da pesca é, desde sempre, uma importante fonte de subsistência, em especial para as comunidades ribeirinhas, sendo muitas delas quase totalmente dependentes da pesca e atividades relacionadas. Da atividade piscatória, é tributária a indústria de transformação de produtos da pesca, o abastecimento do mercado de produtos originários deste sector, bem como parte significativa da indústria de construção naval (Gonçalves, 2011).

No que se refere à distribuição regional das capturas de pescado fresco ou refrigerado (volume de descarga) em 2015 foram capturadas pela frota portuguesa 194 164 toneladas de pescado, o que relativamente a 2014 representou um acréscimo de 5,6% na produção da pesca nacional. Apesar da diminuição das capturas em pesqueiros externos (-12,7%), o maior volume de pesca em águas nacionais conduziu ao aumento global da captura de pescado. (**Figura 3**) (INE, 2015).

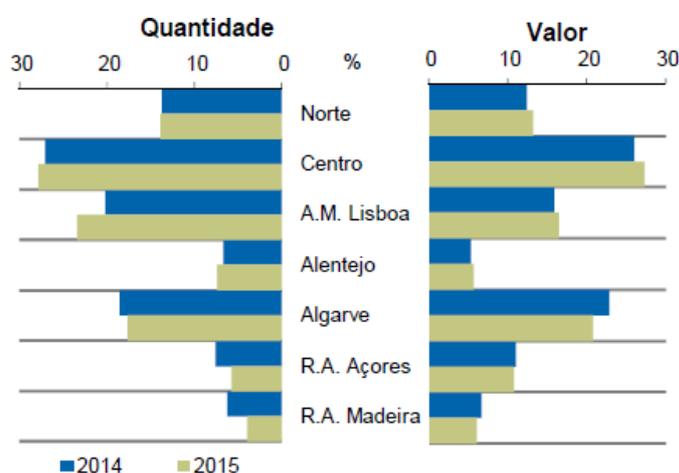


Figura 3 - Capturas pescado fresco ou refrigerado.
Retirado de INE (2015).

No que refere à indústria transformadora da pesca e aquicultura em 2014 de “congelados”, “secos e salgados” e “preparações e conservas” atingiu 241 mil toneladas (246 mil toneladas em 2013), cujas vendas representaram 92% da produção nacional (88% em 2014). Este volume de produção correspondeu a um decréscimo de 2,0% em relação ao ano anterior, tendo sido registadas menores quantidades, sobretudo das

"preparações e conservas“, que decresceram 3,9%,mas também dos “produtos congelados” (-2,1%) e dos “secos e salgados” (-0,5%).A produção de “secos e salgados” totalizou 69 mil toneladas, tendo o “bacalhau salgado seco” correspondido a 71,3% por este grupo (foi 82,0% em 2013), com uma produção de 49 mil toneladas ou seja uma diminuição de 13,4% quando comparada com a de 2013 (**Figura 4**) (INE, 2015).

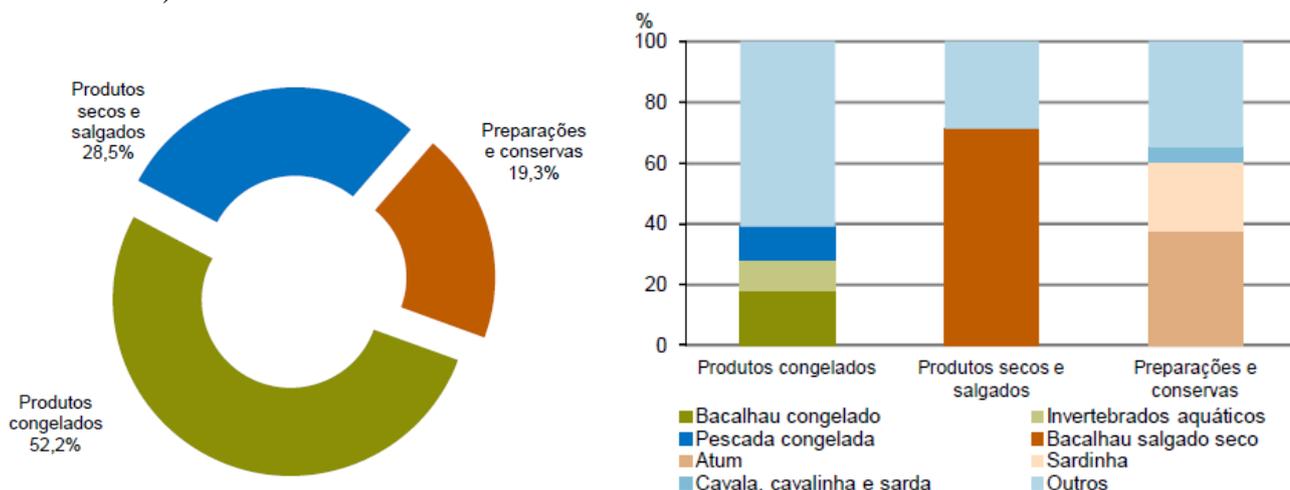


Figura 4 - Quantidades produzidas pela indústria transformadora da pesca (2012). Retirado de INE (2015).

2.1.2.2. Evolução da pesca em Portugal

Em 2015, foram capturadas pela frota portuguesa 194 164 toneladas de pescado, houve um acréscimo de 5,6% relativamente a 2014, e uma diminuição de 12,7% das capturas em pesqueiros externos (INE, 2015).

Em 2014 foram transacionadas em lota 119890 toneladas de peixe fresco e refrigerado, ou seja -17,1%, face 2013, constituindo a quantidade de pescado capturado mais baixa desde que se conhecem registos, 1969 (INE, 2015). No entanto, entre o período de 2008 e 2012, as disponibilidades de bacalhau e outros peixes salgados aumentaram 12,5%, sendo que em 2012 estes foram responsáveis por 17,0% das disponibilidades diárias totais de pescado para consumo (Viegas, 2013; INE, 2014b).

As 140 831 toneladas de pescado fresco ou refrigerado transacionado em lota (119 890 toneladas em 2014), no valor de 260 984 mil euros (250 501 mil euros em 2014), aumentaram 17,5% em volume e de 4,2% em valor, comparativamente a 2014 (INE, 2015).

2.1.3. A importância dos produtos da pesca e de aquacultura na alimentação

Ao longo de toda a História de Portugal os produtos da pesca constituem uma das principais fontes de abastecimento alimentar, sendo que a pesca é o meio de subsistência de grande parte da população, direta ou indiretamente (Teixeira, 2012). A nível mundial, estima-se que cerca de 14% da proteína animal é proveniente dos produtos da pesca (Afonso, 2009).

A nível nutricional os produtos de pesca e aquacultura apresentam uma composição rica e variada em nutrientes essenciais; destacando-se a água (66 a 81%), seguido das proteínas (16 a 21%), lípidos (0,2 a 25%), vitaminas e minerais (cerca de 1 a 2%) e, por fim os glúcidos (1 a 2%) (Assunção, 2014).

O consumo de produtos da pesca tem bastantes benefícios na saúde dos consumidores, diminui o risco de doenças cardiovasculares, hipertensão e cancro e tem benefícios nutricionais. São produtos ricos em proteínas de elevado teor biológico, teores baixos de colesterol e ricos em elementos minerais dos quais ácidos gordos essenciais, sendo produtos de digestão fácil. Numa dieta equilibrada recomenda-se o seu consumo regular, de modo a manter o bom funcionamento do organismo e prevenir algumas patologias, sobretudo do foro cardiovascular e oncológico (Afonso, 2009).

Segundo a *American Heart Association* (AHA) o consumo de duas refeições semanais é aconselhado (Afonso, 2009).

O hábito de consumo dos produtos da pesca direciona-se para o peixe congelado, bacalhau salgado seco, bem como pescado em estado “fresco”. O consumo de bacalhau é estimado em 30 kg/ano/habitante, ou seja, aproximadamente metade do consumo total de pescado (Viegas, 2013).

2.2. O bacalhau

2.2.1. Enquadramento histórico e importância económica

O bacalhau é originário das águas frias e límpidas dos mares que circulam o Pólo Norte sendo um alimento milenar que terá sido descoberto pelos Vikings, no século VIII, dado ser um peixe bastante abundante nos mares navegados por estes. Após a sua captura secavam-no ao ar livre e sem recurso a sal até endurecer fazendo com que este perdesse cerca de 1/5 do seu peso (Gonçalves, 2011; Jardim, 2011; Viegas, 2013).

Em Portugal, os primeiros registos de captura e consumo de bacalhau remontam ao século XV, que datam à época dos descobrimentos portugueses. Os portugueses

forma o primeiro povo a ter colónias fixas e a capturar bacalhau na Terra Nova (Canadá) que ficou conhecida pela Terra dos Bacalhaus pois o peixe era bastante abundante. Começou-se a assistir à introdução do bacalhau nos hábitos alimentares dos portugueses e em 1508 o bacalhau correspondia a 10% do pescado comercializado em Portugal (Gonçalves, 2011; Jardim, 2011; Cavém, 2013). O empenho na pesca do bacalhau foi de tal ordem que atingiu picos ainda hoje considerados históricos (Viegas, 2013)

No mercado nacional os preços de venda ao consumidor, praticados no comércio tradicional especializado neste tipo de iguaria, são em média mais elevados do que nas grandes superfícies. Nas lojas de comércio tradicional os preços variavam entre 5-6 euros/kg para o bacalhau crescido, 13-15 euros/kg para o graúdo e 18-20 euros/kg no caso do especial. Nos hipermercados os preços variam entre 5 e 16 euros/kg. No topo dos preços surge o bacalhau de cura amarela apresentando valores que rondam os 30 euros/kg (Dias, 2013).

De acordo com o relatório da *World Wildlife Fund* (WWF) de 2004, a espécie *Gadus morhua* encontra-se na lista de espécies vulneráveis à extinção, e que a captura de bacalhau nos últimos 30 anos diminuiu 70% dada a escassez da espécie, e se esta tendência continuasse, os stocks de bacalhau dentro de 15 anos desapareceriam (Salvador, 2009).

2.2.2. Consumo de bacalhau em Portugal

O bacalhau salgado seco é um dos produtos da pesca preferidos em Portugal, já desde tempos imemoriais, incorporado nos hábitos e culinária dos portugueses foi consagrado como o "fiel amigo" o que o tornou numa das principais tradições na mesa do povo português. Efetivamente existem registos do seu consumo em festividades que remontam ao século XV. Esta tradição manteve-se e ampliou-se ao longo dos tempos e na atualidade, em média, os portugueses almoçam ou jantam bacalhau salgado seco uma vez por semana (Gonçalves, 2011). O consumo de bacalhau pela população portuguesa traduz-se em cerca de 11kg/pessoa/ano (Jardim, 2011).

Entre 2008 e 2012 o bacalhau e outros peixes salgados registaram um aumento de 12,5% na quantidade diária *per capita* disponível para consumo. Em 2012 foram responsáveis por 17% das disponibilidades diárias totais de pescado para consumo (INE, 2014_b).

2.2.3. Características do bacalhau

2.2.3.1. Descrição das principais características

O bacalhau é um peixe pertencente à família dos *Gadídeos*, amplamente conhecido por toda a Europa. O corpo do bacalhau é muito robusto, ligeiramente achatado de lado, afilando para a cauda e com uma cabeça tão grande, que atinge cerca de 1/4 do comprimento total do peixe, de lábios carnudos e largamente fendida. O maxilar superior é mais saliente que o inferior, apresenta uma coloração verde azeitona claro ou acastanhado, frequentemente com numerosas manchas negras arredondadas, coloração que pode adaptar-se ao ambiente em que vive. A linha lateral é sempre mais clara, característica que distingue o bacalhau dos outros *Gadídeos*. Os olhos são grandes e cobertos por uma membrana transparente (**Figura 5**) (Gonçalves, 2011; Dias, 2013).

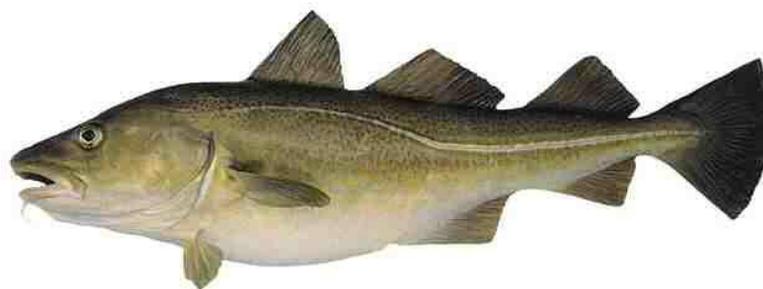


Figura 5 - Bacalhau do Atlântico (*Gadus morhua*).
Retirado de Viegas (2013).

O bacalhau é um peixe predominantemente de águas frias com temperatura inferior a 10°C, podendo suportar uma gama de temperaturas entre de 0°C e 20°C. Distribui-se geograficamente nos dois lados do Atlântico Norte. Estende-se para sul até ao Golfo da Biscaia, chega a Nordeste, e vai até ao Cabo Hateras, a Noroeste (**Figura 6**). É omnívoro e muito voraz. Na idade juvenil alimenta-se sobretudo de invertebrados mas na idade adulta qualquer presa lhe serve como alimento, com preferência pelo arenque, capelim e lulas (Dias, 2013).

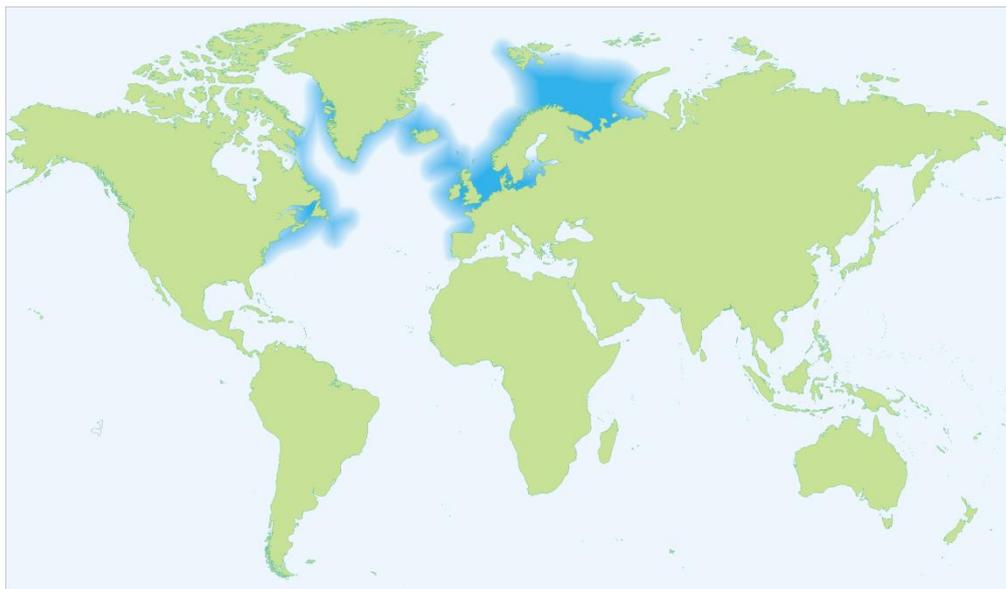


Figura 6 - Distribuição do bacalhau no Atlântico Norte.
Retirado de Dias (2013).

2.2.3.2. Classificação taxonómica

A palavra bacalhau tem a sua origem no latim *baccalaureu*, e é o nome comum para o género *Gadus*, pertencente à ordem dos Gadiformes, que abrange cerca de 60 espécies. Dentre aquelas, a espécie mais conhecida e com uma importância comercial maior é, o bacalhau *Gadus morhua* (DL nº 25/2005).

A taxonomia do bacalhau é complexa e são várias as espécies e subespécies descritas, mas de uma maneira geral os estudos de biologia e esforço de pesca aplicados ao bacalhau referem-se ao bacalhau do Atlântico Norte - *Gadus morhua* (**Figura 7**) (Gonçalves, 2011).

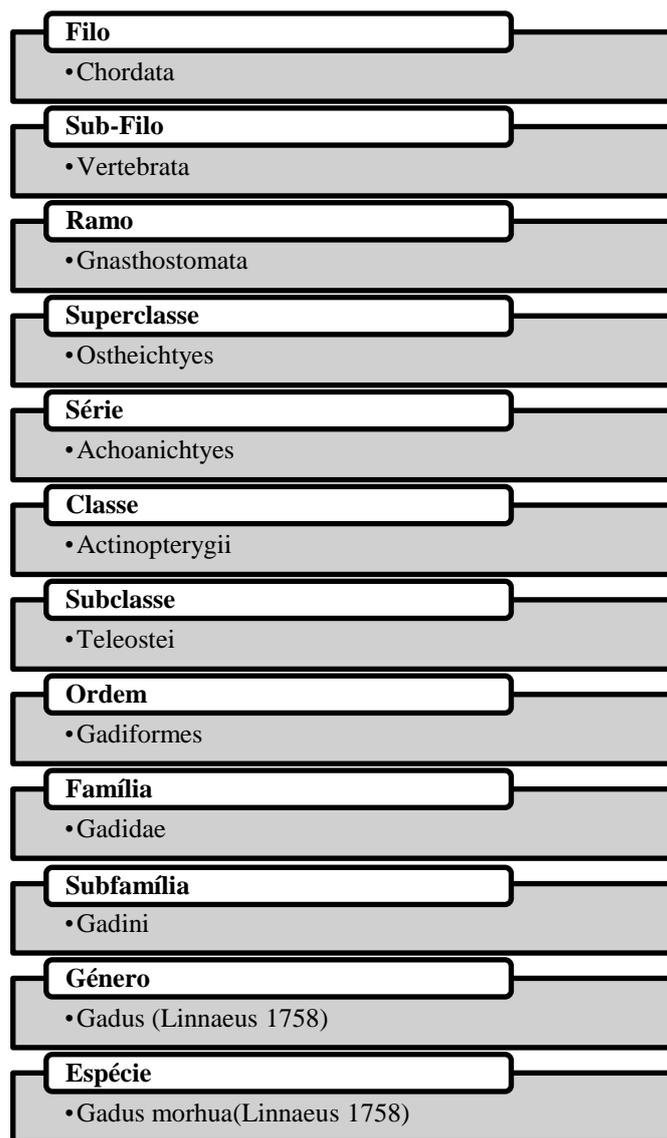


Figura 7 - Taxonomia do Bacalhau.
Adaptado de Gonçalves (2011).

2.2.3.3. Tipos de bacalhau e espécies afins

De acordo com o Decreto-Lei nº 25/2005 de 28 de Janeiro para efeitos comerciais são permitidas unicamente as seguintes denominações de bacalhau salgado seco, correspondentes a três espécies distintas:

- Bacalhau ou Bacalhau do Atlântico (*Gadus morhua*)
- Bacalhau da Gronelândia (*Gadus ogac*)
- Bacalhau do Pacífico (*Gadus macrocephalus*)

No que se refere às espécies afins do bacalhau são diversas, podendo mesmo serem confundidas com as espécies de bacalhau:

- Abrótea ou abrótea do alto (*Phycis blennoides*);

- Arinca ou alecrim (*Melanogrammus aeglefinus*);
- Bacalhau do Ártico (*Eleginus navaga*);
- Bacalhau polar (*Boreogadus saida*);
- Escamudo (*Pollachius virens*);
- Lingue (*Molva molva*);
- Paloco ou juliana (*Pollachius pollachius*);
- Paloco do Pacífico ou escamudo do Alasca (*Theragra chalcogramma*);
- Zarbo ou bolota (*Brosme brosme*).

2.2.3.4. Diversidade dos produtos de bacalhau

O bacalhau é considerado como o alimento principal da gastronomia tradicional portuguesa, sendo bastante apreciado pelo povo Português considerando-se os seus maiores consumidores mundiais. Pode ser comercializado de diversas formas, como fresco, fumado, salgado seco e recentemente demolhado ultracongelado (Viegas, 2013).

O cariz económico associado ao consumo de bacalhau é uma mais-valia. A longa duração do bacalhau quando seco, o facto de o seu consumo poder ser em posta, mas também em lascas ou desfiado, e um número infindável de receitas podendo ser consumido grelhado, frito, cozido, estufado e cru (Nunes e Batista, 2008; Viegas, 2013).

Para se adaptar às necessidades dos consumidores foi necessário introduzir no mercado novos produtos onde se incluem os pré-preparados, como o bacalhau demolhado ultracongelado, pré-cozinhados e produtos prontos a consumir, destinados a consumidores exigentes e que valorizam a rapidez e a facilidade na confeção das refeições (Viegas, 2013).

2.2.4. Tecnologia de processamento do bacalhau

Com a exigência dos consumidores a aumentar foi necessário o desenvolvimento de novos processos tecnológicos com o objetivo de conservar os alimentos por períodos de tempo mais longos retardando os processos de deterioração, sem grandes modificações nas qualidades nutricionais e sensoriais (Chaves, 2013; Viegas, 2013)

O principal objetivo do processo tecnológico do bacalhau é a diminuição da atividade da água (a_w) aumentando a estabilidade química, bioquímica e microbiológica contribuindo para o desenvolvimento de características apetecíveis ao consumidor como aroma e sabor do produto final (Salvador, 2009 citado por Chaves, 2013).

O bacalhau é comercializado sob várias formas, fresco, fumado, seco e recentemente demolido ultracongelado (Viegas, 2013).

Na **figura 8** é representado o processamento do bacalhau salgado seco e do bacalhau demolido ultracongelado.

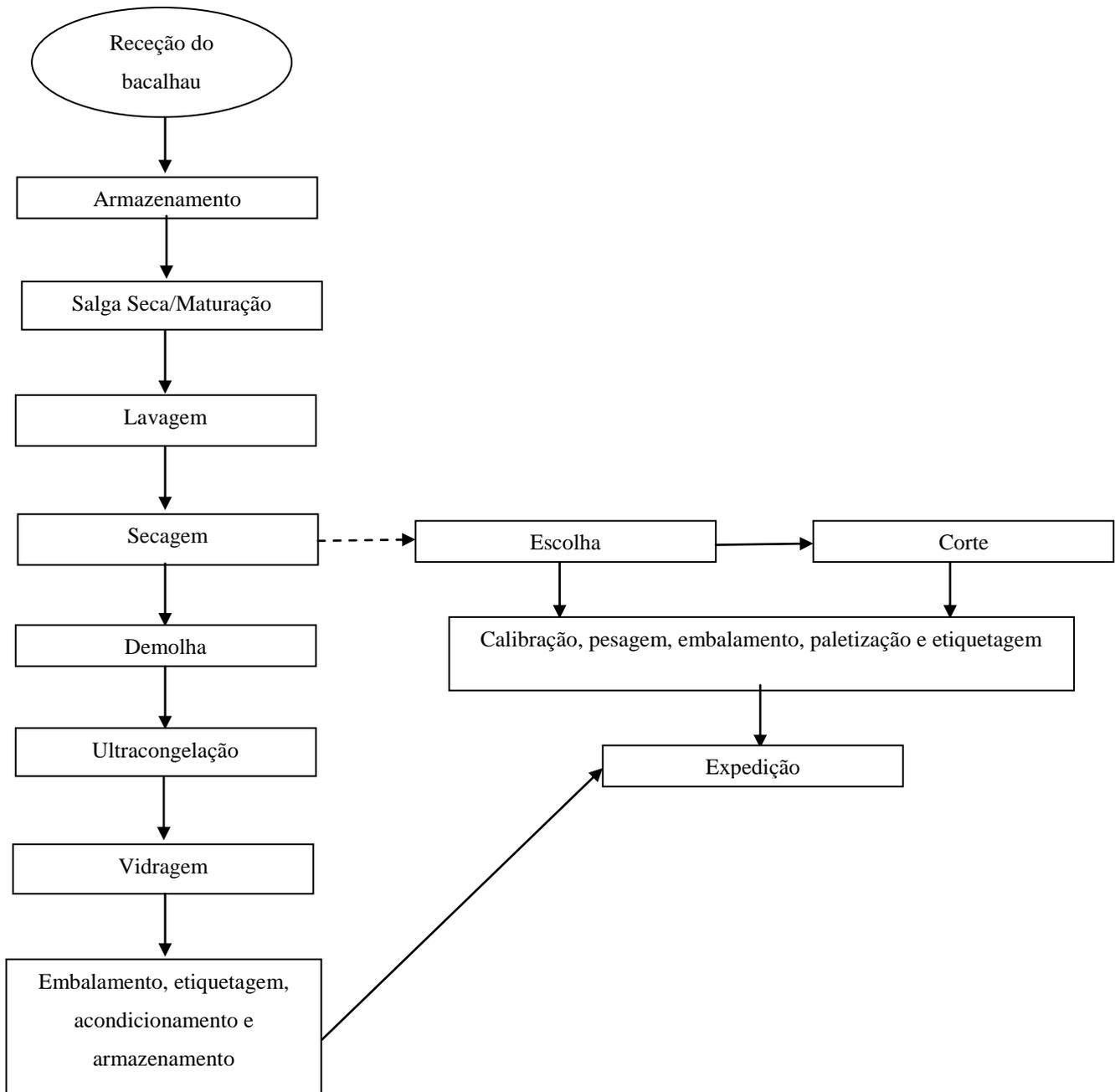


Figura 8 - Fluxograma de processamento do bacalhau salgado seco e do bacalhau demolido ultracongelado. Adaptado de Viegas, 2013.

2.2.4.1. Descrição das etapas de processamento do bacalhau salgado seco

Receção do bacalhau

O bacalhau é rececionado no cais de receção. Na receção da matéria-prima é realizada uma inspeção visual da integridade do produto. Procede-se à inspeção do veículo, sendo analisada a higiene, a temperatura e o acondicionamento das paletes. Pode ser rececionado de duas formas: salgado seco ou salgado verde inteiro. Nas duas formas, o bacalhau é rececionado, empilhado em paletes de madeira ou em caixas de cartão apresentando-se descabeçado, eviscerado, sangrado e salgado seco, exceto o bacalhau salgado verde que ainda não sofreu secagem (Siopa, 2005; Assunção, 2014).

Armazenamento

Em seguida, é armazenado em câmaras de refrigeração a temperatura (entre 4°C e 7°C) e humidade controladas efetuando-se registos ao logo do dia, de modo a preservar as suas características (Ferreira, 2014).

Salga Seca/Maturação

Antes de se proceder à salga o bacalhau é escalado permitindo aumentar a superfície de contacto com o sal (Dias, 2013).

A salga é um processo de conservação mais antigo que tem como finalidade a desidratação osmótica do pescado fresco (Lauritzsen, 2004 citado por Viegas, 2013). Este processo baseia-se na extração de água da constituição do músculo por ação da entrada de sal nos tecidos reduzindo a atividade da água (a_w) inibindo o crescimento microbiológico e ação enzimática (Ordóñez *et al.*, 2005 citado por Jardim, 2011).

O tempo que o bacalhau está em contacto com o sal é conhecido como tempo de salga, tempo de maturação ou tempo de cura, e depende da qualidade que se deseja no produto final, pode levar entre duas a oito semanas (Lauritzsen *et al.*, 2004, Andrés *et al.*, 2005 citados por Viegas, 2013). Pode ser realizada a seco (método de Kench) ou em salmoura (salga húmida). A salga seca adequa-se a peixes magros como o bacalhau e a salmoura é indicada para peixes gordos que ficam protegidos do ar evitando a oxidação das gorduras levando à rancificação (Dias, 2013).

O método original (cura branca) para o processamento de bacalhau salgado seco e o utilizado pelos portugueses é a salga seca realizada em caixas ou sobre estrados de madeira e consiste em estratificar o peixe e o sal (quantidade de sal é de 30 a 35% do peso do peixe), alternadamente e em pilhas, com perda da salmoura para o exterior (Gonçalves, 2013 citado por Assunção, 2014).

Lavagem

A lavagem tem como principal objetivo a remoção de restos de vísceras, sangue e de muco existentes nas dobras das barbatanas, para que o músculo fique perfeitamente limpo e branco, assim como a remoção de excesso de sal que este possa conter. Consiste em mergulhar rapidamente o bacalhau em tinas de água e posteriormente distribuir o bacalhau pelos diferentes calibres em paletes distintas. Após a lavagem, as paletes de bacalhau permanecem na zona de escoamento até entrarem nos túneis de secagem (Constantinos, 2014_a citado por Assunção, 2014).

Secagem

Este processo é fundamental para o processo de transformação do bacalhau porque a ação isolada do sal não constitui proteção total contra a deterioração sendo necessário uma complementação através da secagem (Chaves, 2013). Consiste em dois fenómenos; a evaporação da água da superfície do bacalhau e a passagem de água do centro do produto até à superfície (Ferreira *et al.*, 2002, citado por Chaves, 2013). A secagem demora entre três a cinco dias dependendo do tipo e características de cada lote (Viegas, 2013).

O processo de secagem utilizado é a secagem artificial que substitui a secagem natural pelas suas vantagens económicas e por permitir a continuidade do processo, originando um produto final de boa qualidade. Neste processo os peixes são suspensos ou colocados horizontalmente num ambiente controlado, com ventilação adequada e temperatura e humidade controladas (Gonçalves, 2011).

De acordo com a legislação em vigor, decreto-Lei n.º 25/2005, de 28 de Janeiro, após o processamento existem quatro tipos de bacalhau e espécies afins comercializáveis, diferenciados pelo teor de cloretos e humidade: o bacalhau salgado verde, o bacalhau salgado semi-seco, o bacalhau salgado seco e o bacalhau salgado seco de cura amarela (**Quadro 2**).

Quadro 2 - Tipos de bacalhau comercializáveis, classificados com base no teor de sal e humidade.

Bacalhaus e espécies afins	Características	Teor de sal	Humidade
Salgado verde	Sangrado, eviscerado, descabeçado, escalado ou filetado	≥ 16%	> 51% - ≤ 58%
Salgado semi-seco	Sangrado, eviscerado, descabeçado, escalado e Lavado	≥ 16%	Após lavagem e secagem > 47% - ≤ 51%
Salgado seco	Sangrado, eviscerado, descabeçado, escalado e lavado	≥ 16%	Após lavagem e secagem ≤ 47%
Salgado seco de cura amarela	Sangrado, eviscerado, descabeçado, escalado e lavado	≥ 12% - < 16%	Após lavagem e secagem ≤ 45%

Retirado de DEC-Lei nº 25/2005.

Escolha e Corte

Após a secagem e a escolha do produto, alguns são cortados, sendo esta uma etapa facultativa. Conforme a classificação de cada bacalhau, o corte procede-se de forma diferente. No fim do processamento obtêm-se dois tipos de bacalhau salgado seco: inteiro ou cortado (Constantinos, 2014_a citado por Assunção, 2014).

Calibração, pesagem, embalamento, paletização e etiquetagem

É efetuada uma classificação de qualidade do produto designada por 1^a escolha onde são retirados os bacalhaus com defeito. Para a classificação comercial do bacalhau, ou seja, 2^a escolha por peso, estes são colocados num tapete rolante com sensores de peso que vão pesar e distribuir o bacalhau consoante o peso. Após estas classificações o bacalhau é embalado e expedido, este é acondicionado em caixas de cartão e pesado, cada caixa pesa 25kg. O produto deve ser identificado através de etiquetas/rótulos que devem conter os seguintes parâmetros: nome científico, denominação comercial, tipo comercial, qualidade comercial, indicação do lote, estado físico, lista de ingredientes, informação nutricional, método de produção, zona de captura, peso bruto, data de validade, forma de apresentação e temperatura de conservação. Se este não for logo expedido haverá um acondicionamento a temperatura (4°C ±2°C) e humidade (68-72%) controladas (DEC-Lei nº 25/2005; Constantinos, 2014_a citado por Assunção, 2014).

Expedição

Finalmente o bacalhau é expedido no cais de expedição em transporte com circuito de frio. A temperatura deverá ser inferior a 10°C e ao longo do transporte há um controlo desta (Constantinos, 2014_a citado por Assunção, 2014).

2.2.4.2. Descrição das etapas de processamento do bacalhau do bacalhau demolido ultracongelado

A produção do bacalhau demolido ultracongelado inclui três importantes etapas de processamento após as referidas no ponto anterior (salga e a secagem), são elas: a demolha, a ultracongelação e a vidragem (Viegas, 2013).

Demolha

Durante o processo de demolha a matriz proteica do bacalhau é reidratada (teor de 50% de água para 85%) e ao mesmo tempo o teor de NaCl diminui (de 20% para 1-3%) para concentrações adequadas para consumo humano. Da demolha resultam melhorias nas qualidades sensoriais do bacalhau (Thórarinsdóttir *et al.*, 2002; Martínez-Alvarez, 2002; Barat *et al.*, 2004 citado por Viegas, 2013). O tempo de demolha é variável e depende das condições que o bacalhau apresenta como; o tipo de bacalhau (salgado seco, salgado semi-seco, salgado verde), a categoria comercial (1ª categoria ou 2ª categoria); a qualidade da cura (meia cura, cura completa); o tamanho (especial, graúdo, crescido, corrente, miúdo), espessura/altura do bacalhau, entre outras. É realizada a análise organolética durante o processo para controlo do tempo de demolha (Ferreira, 2014).

O processo de demolha como é referido por alguns autores é um processo de reidratação ou seja, o teor de humidade é semelhante ao do bacalhau fresco (cerca de 80,73%) (Thórarinsdóttir *et al.*, 2002 citado por Viegas, 2013).

Ultracongelação

Após o processo de demolha o tempo de vida útil do bacalhau diminui devido ao elevado conteúdo em água e à diminuição dos teores de sal aumentando o crescimento microbiano, causando mudanças a nível sensorial, motivo pelo qual deverá ser consumido ou processado sendo a congelação o método mais comum para a preservação a longo prazo de alimentos (Bjørkevoll *et al.*, 2003; Lorentzen *et al.*, 2010, citado por Viegas, 2013). A ultracongelação realiza-se em túneis de congelação e caracteriza-se por uma congelação rápida num curto espaço de tempo resultando um produto de qualidade superior (Ferreira, 2014).

De acordo com Lidon e Silvestre (2008), o processo de congelação dos alimentos é constituído por três fases; a primeira em que há uma diminuição rápida da temperatura até ao ponto de congelação (no bacalhau está situado entre -0,8 e 1°C), a segunda fase corresponde à fase de cristalização que deve ser curta onde ocorre a congelação de maior parte da água de constituição do alimento, nesta fase a temperatura

situa-se entre -1 e -5°C. Por fim, na terceira fase a temperatura deve ser reduzida até à temperatura de armazenamento final, normalmente -18°C.

Vidragem

O processo de vidragem pode ser realizado manual ou mecanicamente e consiste na aplicação por pulverização ou imersão com água potável ou com uma solução de aditivos apropriados, de uma camada de gelo uniforme à superfície do produto congelado o objetivo de formar uma camada protetora de gelo, protegendo dos efeitos da desidratação e da oxidação (Duarte, 2010; Vaz-Pires, 2006; Lidon e Silvestre, 2007 citado por Viegas, 2013).

Segundo o Decreto-Lei n.º 37/2004, de 26 de Fevereiro que estabelece para os produtos vidrados um “peso líquido” (peso do produto onde está incluído a água de vidragem) e um “peso líquido escorrido” (peso do produto com dedução da água de vidragem), sendo este último que deve ser faturado ao consumidor.

Embalamento, etiquetagem, acondicionamento e armazenamento

Após a vidragem o bacalhau é acondicionado, armazenado e expedido a um temperatura de congelação (-18°C) com circuito de frio controlado.

Processamento doméstico de demolha e congelação de bacalhau salgado seco

Para conservação das características do bacalhau, é recomendado que este seja dessalgado imediatamente após a compra.

Demolha

Após a aquisição do bacalhau salgado seco numa superfície comercial o processo de demolha deste é realizado tradicionalmente, sendo um processo demorado e realizado em casa pelo consumidor final. O bacalhau pode vir já cortado em postas das superfícies comerciais ou pode ser cortado em casa, em seguida é colocado em alguidares submerso com água da torneira refrigerada ou a temperatura ambiente (com a pele virada para cima) e são realizadas mudanças de água várias vezes ao dia (mais ou menos três vezes) durante o tempo de demolha, este depende do tamanho e da espessura das postas (**Quadro 3**). Para saber se o bacalhau está demolhado basta provar, caso ainda esteja salgado deve-se continuar a mudar a água (Salvador, 2009; Viegas, 2013)

Quadro 3 - Tempo de demolha para cada categoria de bacalhau.

Categoria	Peso	Tempo de demolha*
Corrente	0,5 a 1kg	36h
Crescido	1 a 2kg	48h
Graúdo	2 a 3kg	55h
Especial	+ de 3kg	72h

Retirado de Norge ([s.d.])

* Os tempos indicados dizem respeito às postas altas, retire as mais finas 6 horas antes.

Congelação

O processo de congelação do bacalhau a nível doméstico é bastante diferente do processo de ultracongelação realizado nas indústrias. Para a congelação do bacalhau em casa após a demolha deve-se enxaguar este em papel absorvente e apertando-o levemente de modo a secá-lo retirando o excesso de água, e é colocado em sacos apropriados para a congelação de alimentos e de seguida posto no congelador (Anvisa, [s.d.]). A congelação realizada pelos congeladores domésticos é caracterizada por congelação lenta dado que a temperatura desejada é obtida entre 3-72 horas. No **Quadro 4** são apresentadas as diferenças entre a congelação lenta realizada tradicionalmente pelos consumidores e a ultracongelação (Jay *et al.*, 2005 citado por Costa, 2010; Viegas, 2013).

Quadro 4 - Diferenças entre a congelação lenta realizada tradicionalmente pelos consumidores e a ultracongelação.

Congelação rápida/Ultracongelação	Congelação lenta
Formação de pequenos cristais de gelo	Formação de grandes cristais de gelo
Bloqueio ou supressão do metabolismo	Colapso da comunicação do metabolismo
Exposição rápida à concentração de constituintes adversos	Exposição prolongada a condições adversas ou fatores prejudiciais
Não há adaptação a temperaturas baixas	Adaptação gradual
Choque térmico	Não há efeito de choque
Não existe efeitos protetores	Acumulação de solutos concentrados com efeitos benéficos.
Evita o desequilíbrio metabólico interno	

Retirado de Jay *et al.*, 2005 citado por Costa (2010).

2.3. Caracterização química, nutricional e microbiológica do bacalhau

Para a avaliação da qualidade e da segurança do bacalhau é necessário a realização de análises para a caracterização química, nutricional e microbiológica.

2.3.1. Caracterização química e valor nutricional

Nutricionalmente o bacalhau apresenta uma ótima qualidade dado que a percentagem comestível do peixe fresco e de cerca de 75% do seu peso total, em média 80% corresponde à água, cerca de 18% corresponde à fração proteica e apenas 0,5% ao teor de gordura. A percentagem de osso e pele é de 21% e 6% respetivamente (Salvador, 2009; Gonçalves, 2011).

No **Quadro 5** é apresentado os valores de referência para a composição química e nutricional do Bacalhau (*Gadus morhua*) expressa em % e retirada de vários autores.

Quadro 5 - Composição química e nutricional do Bacalhau (*Gadus morhua*) expressa em %.

Ensaio prévio	Bacalhau Salgado Seco	Bacalhau Demolhado cru
Energia (kcal/kj)	-	80 ¹ 333 ¹
Determinação da proteína	26% ²	19% ¹
Determinação da gordura (com hidrólise)	-	0,4% ¹
Determinação da fibra	-	0,1% ¹
Determinação de cloretos	16% ³	-
Determinação da humidade	51% ²	76,2% ¹
Determinação das cinzas	-	3,40% ¹
Determinação de hidratos de carbono	-	0% ¹

Retirado de DEC-Lei 25/2005; INSA (2010); Despacho n.º 6006/2011.

¹ Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, 2006

² Despacho n.º 6006/2011 (O Regulamento (CE) n.º 509/2006 do Conselho, de 20 de Março)

³ Decreto-Lei n.º 25/2005 de 28 de Janeiro

2.3.1.1. Água/humidade

O teor de água varia de espécie para espécie, mas no geral no músculo o pescado o componente mais abundante é a água variando entre 60% a 82% (Huss, 1995; Belitz *et al.*, 2004 citado por Gonçalves, 2011).

De acordo com o DEC-Lei 25/2005 o teor de humidade deve ser:

- No bacalhau salgado verde e espécies afins salgadas verdes superior a 51% e inferior ou igual a 58%;
- No bacalhau salgado semi-seco e espécies afins salgadas semi-secas superior a 47% e inferior ou igual a 51%;
- No bacalhau salgado seco e espécies afins salgadas secas inferior ou igual a 47%;
- No bacalhau salgado seco de cura amarela após maturação físico-química pelo sal, apresenta um teor de sal igual ou superior a 12% e inferior a 16%, expresso em cloreto de sódio e após lavagem e posterior secagem por evaporação natural ou artificial, possui um teor de humidade igual ou inferior a 45%.

2.3.1.2. Proteína e outros compostos azotados

A maioria das espécies de pescado apresenta, no músculo, um teor de proteína entre 17% a 20% o que corresponde a aproximadamente 2% a 3% de azoto proteico (Afonso, 2009).

As proteínas do músculo dos produtos da pesca podem ser divididas em três grupos: as sarcoplasmáticas como a mioalbumina, globulina e enzimas, que representam cerca de 20 a 30 % do total de proteínas do músculo, as contrácteis ou estruturais, as quais se destacam a actina, miosina, actomiosina e tropomiosina), que constituem cerca de 70 a 80 % do total e as do tecido conjuntivo, ou seja, colagénio que atingem valores próximos de 3 % nos peixes teleósteos (peixes ósseos) e 10 % nos elasmobrânquios (peixes cartilagíneos) (Haard, 1995; Huss, 1995; Belitz *et al.*, 2004, citado por Afonso, 2009).

As proteínas dos produtos da pesca apresentam um elevado valor biológico, pois possuem todos os aminoácidos essenciais sendo também reconhecida a sua elevada digestibilidade (Gonçalves, 2011).

2.3.1.3. Glúcidos

Os glúcidos encontram-se no músculo estriado do pescado sob a forma de glicogénio e como parte integrante dos nucleótidos. A concentração de glúcidos no músculo do peixe é muito baixa, inferior a 0,3% sendo que este constituinte não é quantificado (Afonso, 2009; Gonçalves, 2011).

2.3.1.4. Lípidos totais

Os lípidos são uma fonte importante de energia metabólica e componentes essenciais a todas as membranas celulares (Jardim, 2011).

No peixe, os lípidos distribuem-se pelos tecidos subcutâneos: aba da barriga, tecido muscular, fígado, tecido mesentérico e cabeça (Chaveiro, 2012).

Os peixes, nomeadamente o bacalhau, apresentam teores reduzidos de lípidos saturados (Jardim, 2011).

O teor em lípidos no pescado varia de 0,1% a 45% existindo classificações para definir o teor de gordura no tecido muscular do peixe (Huss, 1995; Kołakowska *et al.*, 2003 citado por Afonso, 2009).

De acordo com Ackman (1994) os peixes podem ser divididos em quatro classes de acordo com o seu teor de matéria gorda:

- Magros (< 2% gordura): bacalhau, corvina, pescada, crustáceos;
- Pouco gordos (2 – 4% gordura): linguado; pregado, solha;
- Semi-gordos (4 – 8% gordura): salmão selvagem;
- Muitos gordos (> 8% gordura): salmão de aquacultura, cavala e arenque (Ribeiro, 2011).

Segundo Belitz *et al.* (2004) as espécies de peixe podem ser classificadas como magras se o seu teor em lípidos variar de 0,1-0,4 %; gordas se o teor em lípidos for superior a 16% e semi-gordas se variar de 0,4% a 16% (citado por Afonso, 2009).

2.3.1.5. Vitaminas

As vitaminas são compostos orgânicos que estão presentes em pequenas quantidades nos alimentos, mas são essenciais à manutenção das funções fisiológicas dos organismos (Afonso, 2009 citado por Assunção, 2014). São divididas em duas classes; lipossolúveis e hidrossolúveis.

O teor de vitaminas lipossolúveis no peixe é semelhante ao dos mamíferos, exceto os teores das vitaminas A e D que estão presentes em concentrações superiores

no tecido muscular de espécies de peixe consideradas gordas e no fígado de espécies magras como, por exemplo, o bacalhau e o alabote (Huss, 1995 citado por Afonso, 2009).

No pescado a vitamina E apresenta-se sob a forma de α -tocoferol que é um antioxidante natural e o mais eficiente nos seres vivos (Belitz, 2009; Nunes *et al.*, 2008 citado por Ribeiro, 2011).

2.3.1.6. Minerais

A presença de minerais nos alimentos é de extrema importância não só pelo seu papel nutricional e fisiológico como também da sua contribuição para os atributos sensoriais como o sabor e a textura (Afonso, 2009).

O bacalhau é uma importante fonte de minerais destacando-se o iodo, sódio, potássio, fósforo, cálcio e ferro (Viegas, 2013).

2.3.1.7. Cloretos

O sal ou cloreto de sódio (NaCl) é decisivo no bacalhau salgado seco porque é através dele que se processa a conservação deste alimento (Freixo, 1958 citado por Gonçalves, 2011).

De acordo com o DEC-Lei 25/2005 o teor de cloretos não devem ser:

- Inferior a 16% no bacalhau salgado, verde, semi-seco ou seco, e espécies afins salgadas, verdes, semi-secas ou secas;
- Nem inferior a 12% nem igual ou superior a 16% no bacalhau salgado seco de cura amarela.

2.3.2. Caracterização microbiológica

2.3.2.1. Indicadores microbiológicos do bacalhau salgado seco, demolhado e congelado

O termo microrganismos indicadores pode ser aplicado a qualquer grupo taxonómico, fisiológico ou ecológico de organismos cuja presença ou ausência fornece evidência indireta no que diz respeito a um aspeto particular no histórico da amostra (Lameiras, 2011).

Os microrganismos indicadores permitem a avaliação das condições gerais de qualidade, higiene e segurança; a potencial deterioração do produto; o tempo e

temperatura de conservação; a eficácia do tratamento e o tempo de vida útil do produto (Vieira, 2011).

Os microrganismos presentes no bacalhau, ou seja, a microbiota natural deste refletem o meio ambiente que este está inserido, o tipo de pesca e as condições higiosanitárias de manipulação, processamento, embalagem e armazenamento (Monraia, 1997; Dias, 2013).

Devido ao processo de salga a concentração de sais, como o cloreto de sódio (NaCl), é um fator com grande influência no desenvolvimento de microrganismos. No quadro 6 é caracterizado alguns microrganismos dependendo do seu crescimento na presença de sal.

As bactérias marinhas e *Vibrio parahaemolyticus* são fracamente halófilas. As bactérias do género *Micrococcus* e algumas espécies de *Vibrio* são halófilas moderadas, enquanto bactérias halófilas extremas pertencem ao género *Halobacterium*, encontrado em salinas (Jay, 2000). No **Quadro 6** é apresentada a classificação de microrganismos dependentes da concentração de sal.

Quadro 6 - Classificação de microrganismos dependentes da concentração de sal.

Grupos microbianos	Capacidade de desenvolvimento
Bactéria não halófila	
Bactéria sensível ao sal	Não se desenvolve em concentrações de sal >2%
Bactéria tolerante ao sal	Pode desenvolver-se em concentrações de sal >2%, mas o seu desenvolvimento é favorecido em concentrações <2%
Bactéria halófila	
Bactéria fracamente halófila	Concentração ótima para desenvolvimento é de 2 a 5%
Bactéria halófila moderada	Concentração ótima para desenvolvimento é de 2 a 5%
Bactéria halófila extrema	Concentração ótima para desenvolvimento é de 2 a 5%

Adaptado de Masayoshi *et al.*, 1999, citado por Teixeira, 2012

2.3.2.1.1. Indicadores de qualidade

Os microrganismos indicadores de qualidade refletem a qualidade microbiológica do produto fornecendo informações sobre a qualidade geral e a nível geral a higiene de acordo com o processamento e armazenamento deste obtendo informação sobre a vida útil do produto. Os microrganismos indicadores de qualidade do bacalhau salgado seco, demolhado e congelado avaliado ao longo deste trabalho são:

- **Bactérias e fungos halófilos**

As bactérias e os fungos que se desenvolvem em altas quantidades de sal, denominam-se halófilas.

Existem microrganismos ligeiramente halófilos, que sobrevivem a quantidades entre os 2% a 5% de sal, sendo estes de origem marinha, e incluem, principalmente, *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter* e *Flavobacterium*. Aqueles que crescem em meios contendo 5% a 20% de sal são conhecidos como moderadamente halófilas, como por exemplo, as bactérias dos gêneros *Bacillaceae*, *Micrococcaceae* e *Staphylococcus*. Já as bactérias que crescem em meio entre os 20% a 30% são extremamente halófilas, como a *Halobacterium spp* e *Halococcus spp* (Chaves, 2013).

O sal presente no bacalhau salgado seco pode estar contaminado contendo bactérias ou fungos que podem provocar alterações no produto (Dias, 2012). Seguidamente serão apresentados os microrganismos halófilos que mais predominam no bacalhau salgado seco:

As bactérias halófilas mais observadas pertencem a dois gêneros: *Halococcus* e *Halobacterium salinarium*. São bastonetes pleomórficos ou cocos, Gram negativas e halófilas extremas e aeróbias; o *Halococcus* é a bactéria responsável pela produção de bactorubeína, pigmento vermelho característico ao longo da espinha dorsal do bacalhau, quando a quantidade de sal está entre os 16 e 32% (Ventosa *et al.*, 1998).

O fungo halófilo que se encontra com mais frequência no bacalhau salgado seco é o *Wallemia sebi* que é responsável pelo "empoadado negro". O seu desenvolvimento é favorecido por pressões osmóticas elevadas e em locais secos. Desenvolve em alimentos com atividade de água (a_w) entre 0,69 e 0,75 (Dias, 2013; Chaves, 2013).

- **Microrganismos mesófilos**

Após o processo de demolha o bacalhau demolhado fica vulnerável à contaminação por microrganismos mesófilos que têm uma temperatura ótima de crescimento entre 20 a 45°C tolerando temperaturas mínimas até 15°C. O objetivo da flora aeróbia mesófila é avaliar o grau de contaminação do produto caracterizando-se por indicador de qualidade.

- ***Pseudomonas spp.***

Estudos de vários autores demonstram a presença de *Pseudomonas* presentes na pele (cerca de 10^2 a 10^7 ufc/cm²), guelras (10^3 a 10^6 ufc/g) e, especialmente no trato intestinal (10^3 a 10^8 ufc/g) (Austin, 2006; Dias 2013). As bactérias da espécie *Pseudomonas salinaria* são cocos Gram positivos que são responsáveis pelo aparecimento do vermelho na superfície do bacalhau e pelo odor desagradável (Pereira, 2008).

A multiplicação de microrganismos halotolerantes, ou moderadamente halófilos, psicrotróficos, sobreviventes à salga e secagem, é fomentada pela demolha em condições de refrigeração. Nestas condições de temperatura predominam os géneros *Pseudomonas spp.*, *Aeromonas spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Shewanella spp.* (Frazier e Westhoff, 1988 citado por Dias, 2013)

2.3.2.1.2. Indicadores de higiene

Os microrganismos indicadores de higiene quando presentes no alimento indicam fornecem informação sobre as condições sanitárias inadequadas durante o seu processamento, armazenamento ou distribuição indicando a contaminação de origem fecal presente no alimento. Os microrganismos indicadores de higiene do bacalhau salgado seco, demolido e congelado avaliado ao longo deste trabalho são:

- ***Escherichia coli***

A *Escherichia coli* é uma bactéria em forma de bastonete e Gram negativa, variam de tamanho, geralmente móveis por flagelos peritriquiaes, não formadoras de esporos, anaeróbias facultativas e fermentam glucose com a produção de ácido e gás, tem como habitat primário o trato intestinal do homem e animais homeotérmicos. A temperatura ótima de crescimento é de 37°C, mas podem crescer numa gama dos 15°C aos 45°C, algumas estirpes podem resistir a temperaturas de aquecimento de 55°C durante 60 minutos e ainda a 60°C durante 15 minutos (Ferreira, 2008). Este microrganismos é facilmente destruído pelo calor e pode morrer durante a congelação. Por esta razão considera-se que a presença deste indica contaminação fecal recente (Ferreira, 2013).

A prevenção das infeções com *E. coli*, numa indústria transformadora de bacalhau passa pelo cumprimento rigoroso das temperaturas ao longo da cadeia de frio e pelo uso de água tratada durante todo o processo de fabrico (ASAE, 2007a). De acordo

com Santos *et al.* (2005), o limite aceitável estabelecido para *E. coli* no peixe é $<1 \times 10^2$ ufc/g de produto (Carneiro, 2008).

- **Enterococcus**

O género *Enterococcus* tem mais de 22 espécies e tem como habitat principal o trato gastrointestinal dos seres vivos, são bastante resistentes e crescem numa gama de temperaturas de 10°C a 45°C e em concentrações de sódio de 6,5%. Algumas espécies como o *E. faecalis* e o *E. faecium* são resistentes ao calor podendo sobreviver a alguns processos de pasteurização e são resistentes ao processo de congelação tornando-os indicadores de contaminação fecal remota (Ferreira, 2013).

- ***Staphylococcus coagulase positiva***

As bactérias *Staphylococcus coagulase positiva* são bactérias Gram positivas e pertencem à família *Micrococcaceae*. Conseguem crescer em ambientes com temperaturas entre 7 e 46°C, com uma temperatura ótima de crescimento entre 35 e 37°C, apresentam uma elevada osmotolerância, o que lhes permite crescer em ambientes com uma a_w superior a 0,86 e com uma concentração de NaCl entre 5 e 7% (algumas estirpes crescem a concentrações de NaCl de 20%) (ASAE, 2007b).

O homem é o principal reservatório, sendo as bactérias encontradas na mucosa nasal e oral, cabelo e pele. Apesar de os manipuladores de alimentos serem a principal fonte de contaminação nos surtos, o equipamento e as superfícies do ambiente também podem ser fontes de contaminação de *Staphylococcus aureus* e outras espécies coagulase positiva (Jay, 2000).

Quando se encontram em condições favoráveis produzem toxinas, as enterotoxinas, que são o agente responsável pela intoxicação alimentar. São proteínas hidrossolúveis e termorresistentes, mantendo a sua atividade mesmo após a pasteurização. A destruição da enterotoxina obtém-se pelo tratamento a 100°C, durante pelo menos 30 minutos. A produção de enterotoxina ocorre a temperaturas entre 10 e 45°C. Resistem a ciclos de congelação/descongelação e sobrevivem durante períodos longos em alimentos armazenados a temperaturas inferiores a -20°C e em que as concentrações de NaCl entre 0-20% e em que os valores de a_w são superiores a 0,87 (ASAE, 2007b).

Segundo Santos *et al.* (2005), o valor aceitável para a presença destas bactérias num produto situa-se entre 1×10^2 ufc/g e 1×10^4 ufc/g.

Estes microrganismos funcionam como indicadores de higiene e de segurança do produto.

2.3.2.1.3. Indicadores de segurança

Os indicadores de segurança são usados para avaliar a segurança alimentar e inocuidade dos alimentos e posterior saúde do consumidor. Os microrganismos indicadores de segurança podem ser responsáveis por deteriorações dos alimentos e podem causar toxi-infecções alimentares nos consumidores. Os microrganismos indicadores de segurança do bacalhau salgado seco, demolido e congelado avaliado ao longo deste trabalho são:

- ***Esporos de Clostrídios sulfito-redutores***

O género *Clostridium* é composto por várias espécies e algumas destacam-se por reduzir o sulfito a sulfeto de hidrogénio (H₂S) a 37°C (Silva, 2012).

A sua aplicação na análise de alimentos é fornecer uma indicação simples e rápida da presença de *Clostridium perfringens* e *Clostridium botulinum*, duas espécies responsáveis por intoxicações alimentares (Jay, 2000). *Clostridium botulinum* é uma espécie de bactérias anaeróbias restritas, Gram positivas e produtoras de esporos. Os esporos são resistentes ao calor e podem sobreviver em alimentos processados incorretamente, onde germinam e multiplicam-se com produção da toxina botulina. Estas bactérias encontram-se no solo, nos sedimentos aquáticos e, conseqüentemente, nos peixes (INSA, 2009).

Assumindo a possibilidade dos esporos de Clostrídios sulfito-redutores estarem presentes em alimentos não processados, como o caso do bacalhau, as condições de processamento ou de conservação devem assegurar a destruição dos esporos ou prevenir a produção de toxinas. Em muitos alimentos é inibido pela combinação de fatores que atuam em simultâneo, tendo sido reconhecidos além dos nitritos, a ação de fatores como o processamento térmico, pH, temperatura, teor em sal e a utilização de alguns fosfatos e polifosfatos. No bacalhau são aplicadas técnicas de controlo sendo que neste alimento podem ser adicionados metabissulfitos como forma de barreira adicional para a prevenção (ASAE, 2007c).

Segundo Santos *et al.* (2005), o critério definido para o aparecimento de esporos de Clostrídios sulfito-redutores deverá ser inferior ou igual a 1×10^3 ufc/g de produto.

- ***Listeria monocytogenes***

As bactérias psicotrópicas também resistem em meios com estes parâmetros. As bactérias psicotrópicas são aquelas capazes de se desenvolver em temperaturas abaixo dos 7°C como a *Listeria monocytogenes*. É um microrganismos ubiquitário, largamente distribuído no ambiente, e patogénico, o principal reservatório desta são o solo, forragem e água; outros reservatórios incluem animais domésticos e selvagens infetados. Os alimentos mais associados a casos de listeriose são leite cru, queijos, gelados, vegetais crus, salsichas, aves cozinhadas ou cruas, carnes cruas e peixe cru ou fumado, mas a infeção pode ser transmitida diretamente por animais infetados aos humanos ou entre humanos. É uma bactéria muito resistente à congelação e ao calor (Ferreira, 2008; INSA, 2009).

- ***Salmonella spp.***

O género *Salmonella* é dividido em 2 espécies: *S. enterica* e *S. bongori*. A *S. enterica* é posteriormente dividida em 6 subespécies e a maior parte das salmonelas pertence a espécie *S. enterica* subespécie *enterica*. Os nomes desta subespécie tem usualmente o nome onde o serotipo foi isolado pela primeira vez, existindo mais de 2500 serotipos de Salmonelas zoonotica. O reservatório comum da salmonela e o trato intestinal de animais domésticos e selvagens. Os alimentos onde mais se deteta a presença de *Salmonella* são carne crua, aves, ovos, leite e derivados, peixe, camarão, cogumelos, coco, molhos de saladas, bolos, sobremesas, gelatina, manteiga de amendoim, chocolate e cacau e as fontes ambientais onde se encontra incluem água, solo, insetos, superfícies industriais e de cozinha, fezes de animais, carnes cruas, aves e alimentos do mar crus (INSA, 2009).

São bactérias da família *Enterobacteriaceae*, anaeróbias facultativas, móveis, não esporuladas e termosensíveis. Crescem numa gama de temperaturas entre 7°C e 48°C sendo a temperatura ótima de crescimento entre 35 e 37° (Jay, 2000; ASAE, 2007a).

O limite mínimo de a_w que permite crescimento é 0,93. O seu crescimento é inibido em meios com concentrações de NaCl entre 3 e 4%. As salmonelas são extremamente resistentes aos processos de secagem aplicados aos alimentos (ASAE, 2007e).

3. METODOLOGIA

3.1. Caracterização da amostra

No presente trabalho foi avaliada uma amostra de um lote em venda bacalhau salgado seco crescido com origem no Atlântico. A amostra foi constituída por cinco unidades, peixes de 1ª categoria com peso compreendido entre 1kg e 2kg, da espécie *Gadus morhua* (DEC-Lei nº 25/2005).

3.2. Metodologias

A comparação dos valores analíticos químicos, nutricionais e microbiológicos foi efetuada com a legislação em vigor, de modo garantir a qualidade e segurança do produto ao longo de todo o estudo.

Preparação da amostra para demolha e congelação

Cada um dos cinco bacalhaus inteiros salgados seco, foram cortados em porções uniformes (em média 15 porções com 100g) (**Figura 9**) e demolhados com água da rede de distribuição, a 6°C (em média 6 porções) e 20°C (em média 6 porções), durante 48h, com duas mudanças de água por dia (8 em 8 horas) e com um proporção peso/volume de 1/3 (**Figura 10**). A congelação das porções, após a demolha a 6°C e 20°C, foi efetuada dentro de embalagem adequada (em média 3 porções), a -20°C durante 5 semanas (**Figura 11**).



Figura 9 - Corte do bacalhau em porções uniformes



Figura 10 - Bacalhau demolhado a 6°C e 20°C (48 horas)



Figura 11 - Bacalhau congelado a -20°C (5 semanas)

3.2.1. Análise química e nutricional

Para a análise química e nutricional triturou-se a amostra inicial e pesou-se de acordo com a metodologia analítica de cada análise. As análises são realizadas em triplicado.

As análises realizadas (**Quadro 7**) foram as mesmas durante todo o processo (bacalhau salgado seco, bacalhau demolhado e bacalhau congelado).

Quadro 7 - Metodologia das análises químicas.

Análise	Metodologia	Referência
Proteína	Método de KJELDAHL	NP 4488/2009
Gordura	Método de extração do tipo SOXHLET	NP 2282/2009
Fibra	Método de WEENDE	Velp scientific, 2013
Cloretos	Método de VOLHARD	NP 2929/2009 e Decreto-Lei n.º 25/2005
Humidade	Secagem em estufa	NP 2282/2009
Cinzas	Método gravimétrico	NP 2032/2009
Glúcidos	Por cálculo	-
Energia	Por cálculo	-

De acordo com o **Quadro 7** foram realizadas as análises seguidos os procedimentos adequados.

Determinação da Proteína

A determinação da proteína foi realizada de acordo com a NP 4488/2009 em que se pesou 1g da amostra e adicionou-se 2 pastilhas de catalisador e 12mL de ácido sulfúrico, colocaram-se os tubos na unidade de destilação e ligou-se o vácuo. Regulou-se a temperatura para os 420°C durante 45min e abriu-se a torneira de refrigeração. Retiraram-se os tubos da unidade de digestão e colocaram-se na unidade de destilação automática para a titulação. Anotou-se a % proteína. Os reagentes utilizados na unidade de destilação automática são o ácido bórico e o hidróxido de sódio.

Determinação da Gordura

A determinação da gordura foi realizada de acordo com a NP 2282/2009. O bacalhau é um produto de origem animal é necessário a realização da hidrólise nas amostras. Para a hidrólise pesou-se 5g da amostra para balões de hidrólise, adicionou-se 50 mL de HCl a 4 N e colocaram-se na manta a 100°C durante 1 hora. Filtrou-se a amostra e passou-se esta por papel de filtro com água quente até o pH deste ser de 7 e coloram-se os papéis de filtro na estufa para secar.

Para a determinação da gordura colocou-se os papeis de filtro dentro do cartuxo de extração de celulose. Pesaram-se os copos de extração e adicionou-se nestes 70mL de éter de petróleo. Colocaram-se no equipamento. Fechou-se a unidade de extração com a alavanca e abriu-se a torneira de água para iniciar o aquecimento. Quando o solvente borbulhar submergir o dedal de extração no solvente e pressionar a seta para posição I, durante 30min. Passar à posição *washing*, pressionando a seta para a posição w durante 60min. Colocar na posição *recover* pressionando a seta para a posição R, fechando as torneiras e injetando ar durante 20min. Finalizando estas etapas fechar o ar e só depois desligar o aparelho. Levar os copos de extração à estufa durante 30min. Arrefecer e pesar. Retirar os cartuxos e recuperar o éter

A *matéria gorda total* expressa em percentagem é:

$$\frac{(m3 - m2)}{m1} \times 100$$

m3 - massa do copo antes da determinação

m2 - massa do copo depois da determinação

m1 - massa da amostra

Determinação da Fibra

A determinação da fibra foi realizada de acordo com o procedimento do equipamento utilizado (Velp scientific, 2013).

Pesou-se 0,5g da amostra nos cadinhos, colocaram-se no equipamento verificando se estavam direitos. Confirmou-se a posição off das válvulas e abriu-se o circuito de refrigeração. Adicionou-se 150 mL de ácido sulfúrico a 1,25% (*heating* maximo, posição *closed*), ferveu-se durante 30minutos. Abriu-se o circuito de vácuo (*heating* no mínimo). Lavou-se com água pré-aquecida (3 vezes). Adicionou-se 150mL de hidróxido de potássio a 1,25% (*heating* maximo, posição *closed*), deixando ferver durante 30minutos. Abriu-se o circuito de vácuo (*heating* no mínimo). Lavou-se com água pré-aquecida (3 vezes). Lavou-se com acetona (1/3 do cadinho). Retirou-se os cadinhos a estufa e pesou-se no fim de arrefecidos, levando-os à mufla durante cerca de 6 horas e pesando após arrefecerem.

A *% de fibra bruta* é calculada através da fórmula:

$$\% \text{ fibra bruta} = \frac{F1 - F2}{F0} \times 100$$

F0 - massa da amostra

F1 - massa após estufa

F2 - massa após mufla

Determinação de Cloretos

A determinação de cloretos foi realizada de acordo com a NP 2929/2009 e o Decreto-Lei n.º 25/2005.

Pesou-se 10g da amostra para um frasco de erlenmeyer 1000mL, adicionou-se 800mL de água e ferveu-se durante 45 minutos. Deixou-se arrefecer e filtrou-se por gaze para um balão aferido de 1000mL completando-se o volume com água destilada. Retirou-se 10mL do filtrado anterior para um frasco de erlenmeyer de 250mL, adicionou-se 20mL de solução de nitrato de prata 0,1N, 20mL de ácido nítrico e ferveu-se durante 15 minutos. Depois de arrefecer adicionou-se 50mL de água e 5mL de solução saturada de sulfato de ferro e amónio, por fim, titulou-se com solução de tiocianato de amónio 0,1N.

Para o ensaio em branco em vez de se retirar 10mL da amostra adiciona-se 10mL de água destilada.

Para o cálculo do *teor de cloretos*:

$$\text{Teor de cloretos} = \frac{5,845 \times (v1 - v2) \times N}{m}$$

v1 - branco N - 0,1N

v2 - amostra m - massa

Determinação da Humidade

A determinação da humidade foi realizada de acordo com a NP 2282/2009.

Pesou-se 5g de amostra para o cadinho. Colocaram-se na estufa a 110°C e pesaram-se a cada 2 horas até o peso aumentar comparativamente com o peso da pesagem anterior.

O cálculo para a *determinação da humidade* é:

$$W = \left[\frac{m1 - m2}{m1 - m0} \right] \times 100$$

w - humidade

m2 - Pesa filtro após secagem

m1 - peso amostra

m0 - peso dos pesa filtros

Determinação das Cinzas

A determinação das cinzas foi realizada de acordo com a NP 2032/2009

Na determinação das cinzas são utilizados os mesmo cadinhos após determinação da humidade que são colocados na mufla à temperatura de 550°C-600°C durante 4/5h e pesam-se após arrefecerem.

Para o cálculo da % de cinzas é utilizada a fórmula:

$$\%Cinzas = 100 \times \frac{(m3 - m0)}{(m1 - m0)}$$

m0 - peso do cadinho vazio

m1 - peso do cadinho com a amostra antes da mufla

m3 - peso do cadinho com a amostra depois da mufla

3.2.2. Análise microbiológica

A preparação de cada uma das cinco unidades que constituíram a amostra para a avaliação microbiológica do bacalhau salgado seco, demolhado e congelado, seguiu as recomendações e regras para análise microbiológica de alimentos (ISO/DIS 7218 de 2007). De cada unidade foram analisadas 25 gramas.

De modo a adequar a preparação da amostra às características da matriz em estudo, as 25g das amostras de bacalhau salgado seco foram homogeneizadas em solução de Triptona-Sal (10% de NaCl; 1% triptona), sendo as diluições restantes decimais realizadas numa solução com 10% de NaCl (Barat *et al.*, 2006). Na preparação das amostras do bacalhau demolhado e congelado, a homogeneização das 25g foi realizada em solução de Triptona-Sal (1% de NaCl; 1% triptona), sendo as diluições restantes decimais realizadas numa solução com 1% de NaCl (Barat *et al.*, 2006). Para as pesquisas de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* foram utilizadas 25g de amostra.

Os grupos microbianos ou microrganismos selecionados foram analisados de acordo ou com base nas normas nacionais e internacionais referenciadas no **Quadro 8**.

Quadro 8 - Avaliação microbiológica do bacalhau salgado seco, bacalhau demolido e bacalhau congelado e respectivas metodologias referenciadas.

	Bacalhau Salgado Seco	Bacalhau Demolido	Bacalhau Congelado	Referências
Contagem de halófilos	○			Monraia, 1997
Contagem de microrganismos a 30°C		○	○	NP 4405/2002/Monraia, 1997/Rodrigues <i>et al.</i> , 2003
Contagem de bolores e leveduras halófilos	○		○	ISO 21527-2/2008
Contagem de bolores e leveduras halotolerantes			○	ISO 21527-1/2008
Contagem de <i>Pseudomonas</i> spp.	○	○	○	Biokar diagnostic, 2015
Contagem de <i>Escherichia coli</i>	○	○	○	NP 4396/2002
Pesquisa de enterococos	○	○	○	NP 4137/1991
Pesquisa de esporos de clostrídios sulfito redutores	○	○	○	NP 2261/1986
Contagem/Pesquisa de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	○	○	○	NP 4400-2/2002 NP 2260/1986
Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.			○	ISO 6579/2002
Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>			○	ISO 11290-1/1996

Contagem de halófilos

A contagem de halófilos foi realizada de acordo com Monraia (1997), usando o meio *Plate Count Agar* (PCA) suplementado com 15% de NaCl e incubação a 30°C durante 30 dias. A expressão dos resultados efetuou-se em ufc/g ou em log de ufc/g.

Contagem de microrganismos a 30°C

A contagem de microrganismos a 30°C foi realizada de acordo com a NP 4405/2002, Monraia, 1997 e Rodrigues *et al.*, 2003, usando o meio *Plate Count Agar* (PCA) suplementado com 1% de NaCl e selagem com meio não nutritivo e incubação a 30°C durante 24-48h. A expressão dos resultados efetuou-se em ufc/g ou em log de ufc/g.

Contagem de bolores e leveduras halófilos e halotolerantes

A contagem de bolores e leveduras foi realizada de acordo com duas normas ISO 21527-2/2008 em que foi utilizado o meio Dichloran Glycerol (DG-18) para bolores e leveduras halófilos e a ISO 21527-1/2008 onde se utilizou o meio Cooke Rose

Bengal (CRB) para bolores e leveduras halotolerantes e incubação de 25°C durante 5 dias. A expressão dos resultados efetuou-se em ufc/g ou em log de ufc/g.

Contagem de *Pseudomonas* spp.

A contagem de *Pseudomonas* spp. foi realizada de acordo com o protocolo da Biokar diagnostic, 2015 e incubação a 30°C durante 24h. A expressão dos resultados efetuou-se em ufc/g ou em log de ufc/g.

Contagem de *Escherichia coli*

A contagem de *Escherichia coli* foi realizada de acordo com a NP 4396/2002, usando meio TBX agar e incubação a 44°C durante 24h. A expressão dos resultados efetuou-se em ufc/g ou em log de ufc/g.

Pesquisa de Enterococos

A pesquisa de Enterococos foi executada de acordo com a NP 4137/1991 usando meio Rothe e incubação a 37°C durante 48h com confirmação em meio Litsky seguido e incubação a 37°C durante 48h. A expressão dos resultados é sob a forma de presente ou ausente em x g.

Pesquisa de esporos de Clostrídios sulfito redutores

A pesquisa de esporos de Clostrídios sulfito redutores foi realizada de acordo com a NP 2261/1986. usando Meio OPSP e incubação a 37°C até 5 dias. A expressão dos resultados é sob a forma de presente ou ausente em x g.

Contagem/Pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva

A pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva foi realizada de acordo com a NP 2260/1986 e a contagem foi realizada de acordo com a NP 4400-2/2002. Na pesquisa usou-se Meio de Chapman e incubação a 37°C durante 48h. Na contagem usou-se meio “Baird -Parker” e incubação a 37°C durante 24-48h. A expressão dos resultados é sob a forma de presente ou ausente em x g para a pesquisa e ufc/g ou em log de ufc/g para a contagem.

Pesquisa de *Salmonella* spp.

A pesquisa de *Salmonella* spp. foi realizada de acordo com a ISO 6579/2002 usando meio Rappaport Vassiliadis soja (RVS) e incubação a 42°C durante 24h e meio Mueller-Kauffmann Tetracionato-Novobiocina (MKTTn) e incubação a 37°C durante 24h. A expressão dos resultados é sob a forma de presente ou ausente em x g.

Pesquisa de *Listeria monocytogenes*

A pesquisa de *Listeria monocytogenes* foi realizada de acordo com a ISO 11290-1/1996 usando caldo Fraser e incubação a 37°C durante 48 horas e meio Agar PALCAM e incubação a 30°C durante 24 horas. A expressão dos resultados é sob a forma de presente ou ausente em x g.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo, proceder-se-á à apresentação, análise e discussão dos resultados obtidos, ao longo da realização do trabalho, relativo à avaliação química, nutricional e microbiológica do bacalhau salgado seco, demolido e congelado.

4.1. Avaliação da composição química

No **Quadro 9** encontram-se valores de composição média do bacalhau demolido referida por diferentes autores para a análise resultados e comparação com os resultados obtidos durante todo o processo.

Quadro 9 - Composição média do bacalhau demolido referida por diferentes autores.

Humidade (%)	Proteína (%)	Gordura (%)	Cinzas (%)	Referências
76,2	19,0	0,4	3,4	Bandarra <i>et al.</i> (2004) e INSA (2010)
78-83	15-19	0,1-0,9	-	Vaz-Pires (2006)
82	17	0,64	1,2	Belitz <i>et al.</i> (2009)
73,8	22,4	0,71	2,81	Gonçalves (2011)

Retirado de Viegas (2013).

4.1.1. Teor de humidade

Na **Figura 12** é apresentado o gráfico dos valores médios de humidade das amostras nas diferentes fases do processo (%) e no **Quadro 10** é apresentada a comparação com resultados de outros autores (%).

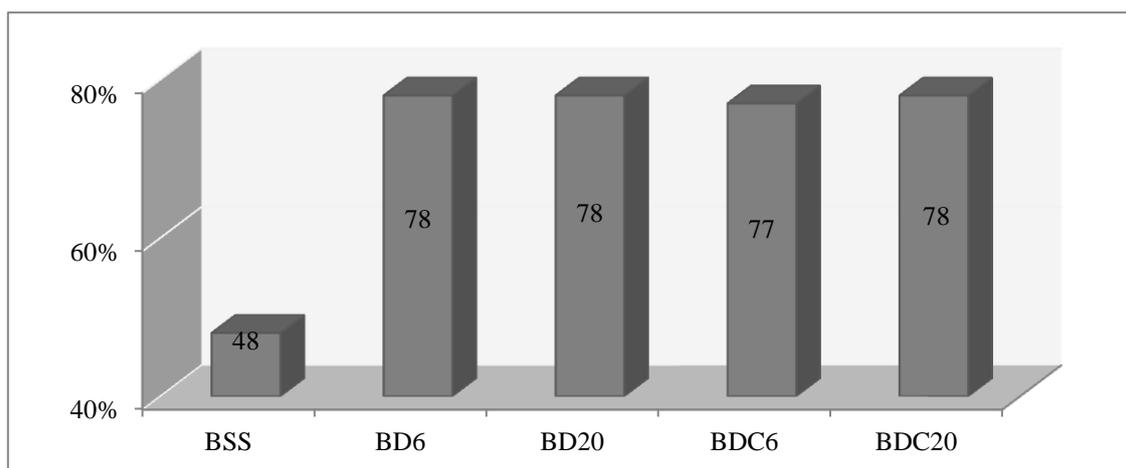


Figura 12 - Valor médio do teor de humidade (%) das amostras analisadas nas diferentes fases do processo: bacalhau salgado seco (BSS); bacalhau demolido 6°C e 20°C (BD6 e BD20) e bacalhau demolido congelado (BDC6 e BDC20)

Quadro 10 - Teor médio de humidade e comparação com outros autores (%).

Bacalhau	Média \pm δ	INSA, 2010	Despacho n.º 6006/2011	Baltazar <i>et al.</i> , 2013	Decreto-lei n.º 25/2005	Viegas, 2013	Gonçalves, 2011	Vaz-Pires, 2006	Belitz <i>et al.</i> , 2009	Rodrigues <i>et al.</i> , 2003
BSS	48,0 \pm 2		51,0	51,8	47,0		44,7			47,4
BD6	78,0 \pm 1	76,2					73,8	81,0	82,0	79,2
BD20	78,0 \pm 1									
BDC6	77,0 \pm 1					78,8				
BDC20	78,0 \pm 1									

Pela análise dos resultados verificou-se que o processo de demolha e congelação caracterizam-se por um aumento do teor de humidade derivado à adição de água na demolha. O valor médio de humidade no bacalhau salgado seco (48% \pm 2%) encontra-se semelhante ao valor de referência do Despacho n.º 6006/2011 (51%). No bacalhau demolido quer a 6°C e 20°C foi de 78% \pm 1% sendo semelhante ao valor de referência do INSA (76,2%) e de outros autores, Vaz-Pires (2006), Belitz *et al.* (2009), Gonçalves (2011) e Rodrigues *et al.* (2003) 81%, 82%, 73,8% e 79,2% respetivamente.

4.1.2. Teor de proteína bruta

Na **Figura 13** é apresentado o gráfico dos valores médios de proteína bruta das amostras nas diferentes fases do processo (%) e no **Quadro 11** é apresentada a comparação com resultados de outros autores (%).

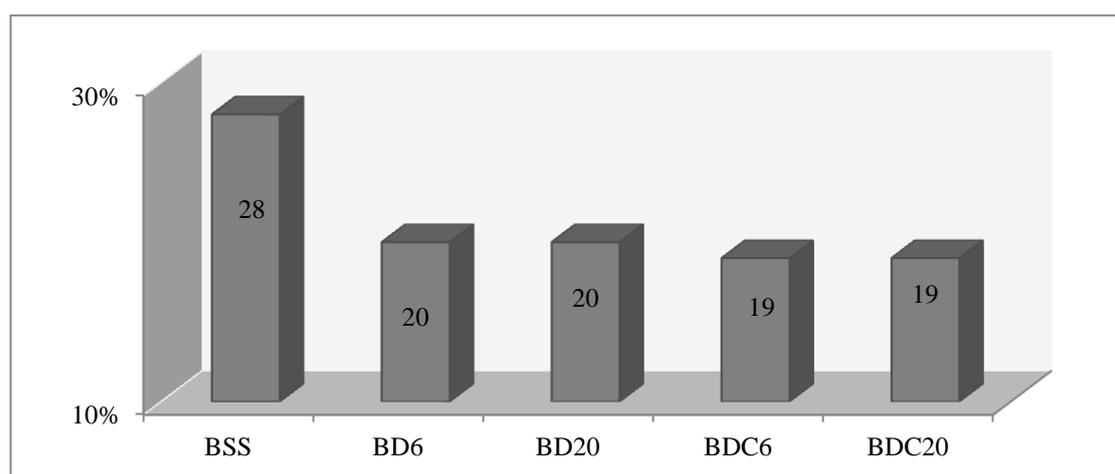


Figura 13 - Valor médio do teor de proteína bruta (%) das amostras analisadas nas diferentes fases do processo: bacalhau salgado seco (BSS); bacalhau demolido 6°C e 20°C (BD6 e BD20) e bacalhau demolido congelado (BDC6 e BDC20)

Quadro 11 - Teor de proteína bruta e comparação com outros autores (%).

Bacalhau	Média ± δ	INSA, 2010	Despacho n° 6006/2011	Viegas, 2013	Gonçalves, 2011	Vaz-Pires, 2006	Belitz <i>et al.</i> , 2009
BSS	28,0±2		26,0		29,1		
BD6	20,0±1	19,0			22,4	17,0	17,0
BD20	20,0±1						
BDC6	19,0±1			18,7			
BDC20	19,0±1						

Após a demolha verifica-se a diminuição da proteína associado à variação da humidade. As amostras que apresentam teor de humidade mais elevado (bacalhau demolhado e bacalhau congelado) apresentam menor teor de proteína.

No geral, o teor de proteína está inversamente relacionado com o teor de água (Huss, 1995; Nunes *et al.*, 2006 citado por Gonçalves, 2011).

O valor médio do teor de proteína no bacalhau salgado seco foi de 28% sendo semelhante ao valor de referência do Despacho n.º 6006/2011, ou seja, 26%. No bacalhau demolhado quer a 6°C ou a 20°C o valor médio foi de 20% estando de acordo com o valor de referência do INSA (19%), e de outros autores: Vaz-Pires (2006), Belitz *et al.* (2009) e Gonçalves (2011), 17%, 17% e 22,4% respetivamente.

Em relação ao bacalhau demolhado a 6°C e 20°C e posteriormente congelado a média de proteína bruta foi de 19% em ambos, encontrando-se perto do valor de Viegas (2013) para bacalhau ultracongelado (18,7%).

4.1.3. Teor de lípidos totais

Na **Figura 14** é apresentado o gráfico dos valores médios de lípidos totais das amostras nas diferentes fases do processo (%) e no **Quadro 12** é apresentada a comparação com resultados de outros autores (%).

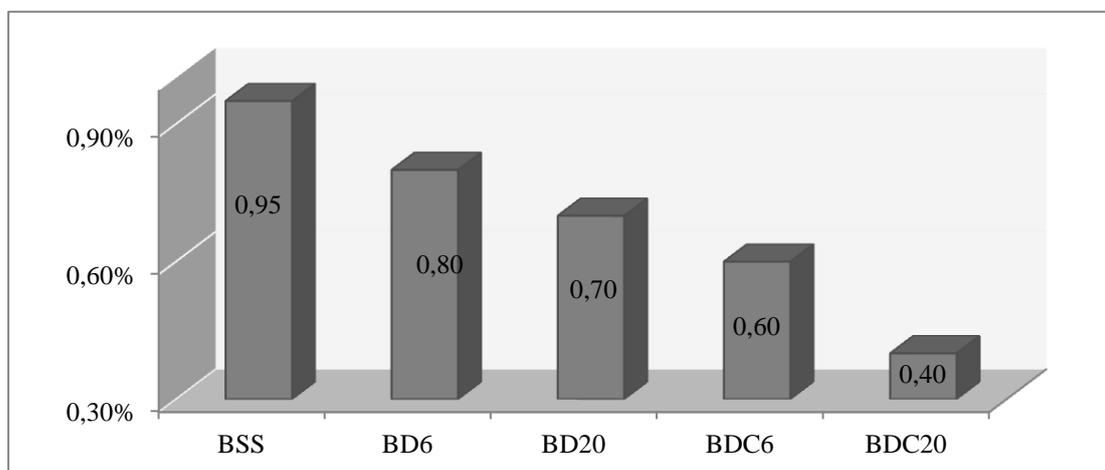


Figura 14 - Valor médio do teor lípidos totais (%) das amostras analisadas nas diferentes fases do processo: bacalhau salgado seco (BSS); bacalhau demolhado 6°C e 20°C (BD6 e BD20) e bacalhau demolhado congelado (BDC6 e BDC20)

Quadro 12 - Teor de lípidos totais e comparação com outros autores (%).

Bacalhau	Média ± δ	INSA, 2010	Gonçalves, 2011	Viegas, 2013	Vaz-Pires, 2006	Belitz <i>et al.</i> , 2009
BSS	0,95±0,10		0,57			
BD6	0,80±0,21	0,40	0,71		0,50	0,64
BD20	0,70±0,17					
BDC6	0,60±0,07			0,07		
BDC20	0,40±0,08					

De acordo com vários autores o teor de gordura é idêntico ou teor de proteína ou seja, está inversamente relacionado com o teor de água. Quanto mais elevado é o teor de água menor é o teor de lípidos.

Comparando os resultados com o de outros autores verifica-se que para o bacalhau salgado seco o valor médio de lípidos totais foi de 0,95% sendo superior ao valor de Gonçalves (2011) (0,57%).

O valor médio do teor de lípidos totais no bacalhau demolhado é de 0,80% no bacalhau demolhado a 6°C e de 0,7% no bacalhau demolhado a 20°C, encontrando-se dentro dos valores de referência e ordem de grandeza do INSA (0,40%), tal como de outros autores Vaz-Pires (2006), Belitz *et al.* (2009) e Gonçalves (2011), 0,5%, 0,64 e 0,71 respetivamente. Em relação ao bacalhau demolhado a 6° e 20°C que sofreu posteriormente congelação as médias foram de 0,60% e 0,40% respetivamente encontrando-se superiores à média para o bacalhau ultracongelado de Viegas (2013) de 0,07%.

Atendendo aos resultados obtidos e à classificação proposta por Kolakowska *et al.* (2003a), o bacalhau salgado seco utilizado neste trabalho pode ser considerado magro, pois apresenta um teor de gordura menor que 2%. Este facto é também referido por outros autores (Batista & Nunes, 1992).

4.1.4. Teor de glúcidos

A presença de glúcidos no bacalhau é inexistente sendo desprezada, ou seja considerada 0% por todos os autores, incluindo o INSA (2010).

4.1.5. Teor de cinza total

Na **Figura 15** é apresentado o gráfico dos valores médios de cinza total das amostras nas diferentes fases do processo (%) e no **Quadro 13** é apresentada a comparação com resultados de outros autores (%).

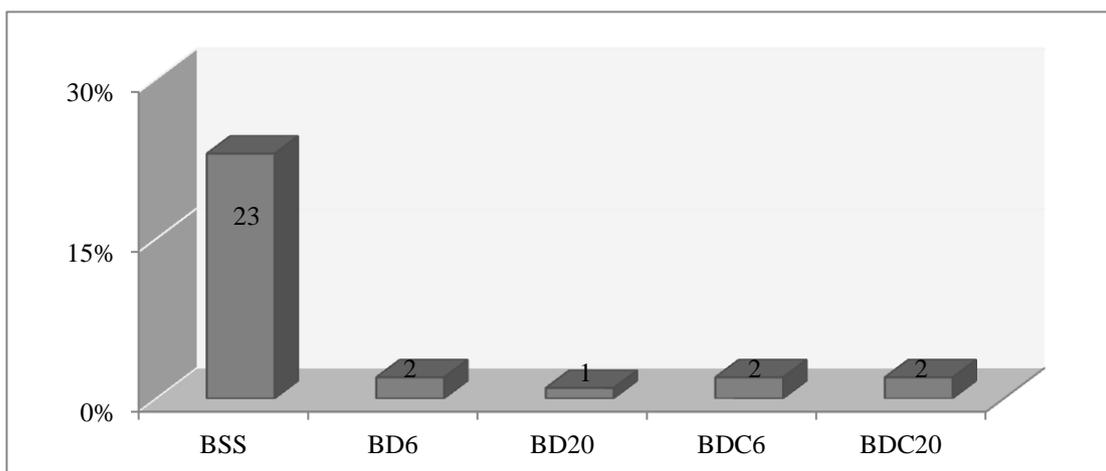


Figura 15 - Valor médio do teor de cinza total (%) das amostras analisadas nas diferentes fases do processo: bacalhau salgado seco (BSS); bacalhau demolhado 6°C e 20°C (BD6 e BD20) e bacalhau demolhado congelado (BDC6 e BDC20)

Quadro 13 - Teor de cinzas total e comparação com outros autores (%).

Bacalhau	Média ± δ	INSA, 2010	Gonçalves, 2011	Viegas, 2013	Baltazar <i>et al.</i> , 2013	Belitz <i>et al.</i> , 2009
BSS	23,0±1		24,2		21,6	
BD6	2,0±1	3,4	2,8			1,2
BD20	1,0±1					
BDC6	2,0±0			2,0		
BDC20	2,0±1					

A cinza é o resíduo mineral obtido por incineração da amostra. A demolha caracteriza-se por uma perda de minerais como a cinza.

Comparativamente com o bacalhau fresco que apresenta um teor em cinza de 1,40% (INSA, 2010), o bacalhau em estudo apresenta um teor em cinza superior e está relacionado com a incorporação do cloreto de sódio no processo de cura.

A média do bacalhau salgado seco foi de 23,0% sendo aproximada com a de outros autores: Gonçalves (2011) e Baltazar *et al.* (2013) que foram de 24,2% e 21,6% respetivamente.

O valor médio de cinzas total no bacalhau demolhado a 6°C é de 2% e no demolhado a 20°C é de 1% encontrando-se abaixo do valor de referência do INSA (3,4%) mas bastante próximo de outros valores encontrados por diferentes autores, Belitz *et al.* (2009) e Gonçalves (2011) de 1,2% e 2,8% respetivamente. No que diz respeito ao bacalhau demolhado e posteriormente congelado a média foi de 2% em ambos, sendo igual ao valor de Viegas (2013) para bacalhau ultracongelado (2%).

4.1.6. Teor de cloreto de sódio

Na **Figura 16** é apresentado o gráfico dos valores médios de cloreto de sódio das amostras nas diferentes fases do processo (%) e no **Quadro 14** é apresentada a comparação com resultados de outros autores (%).

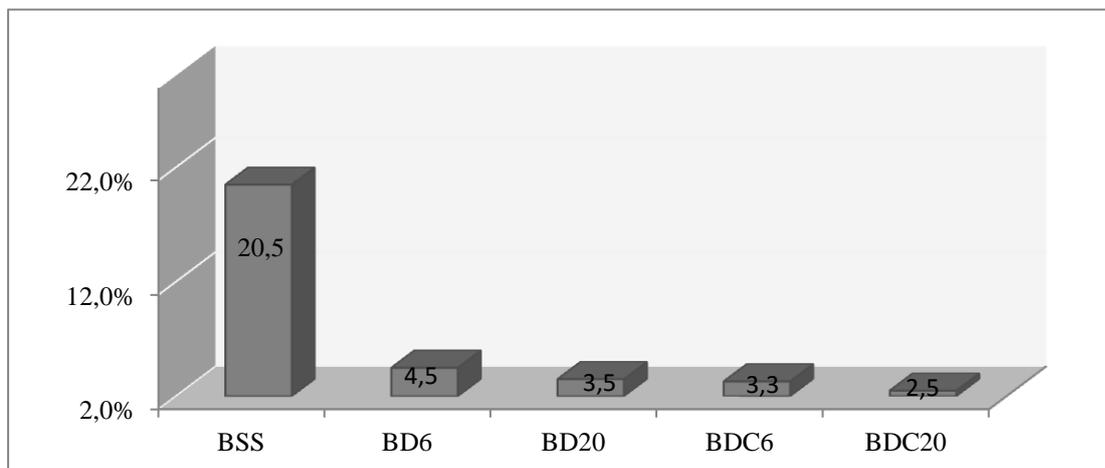


Figura 16 - Valor médio do teor de cloreto de sódio (%) das amostras analisadas nas diferentes fases do processo: bacalhau salgado seco (BSS); bacalhau demolhado 6°C e 20°C (BD6 e BD20) e bacalhau demolhado congelado (BDC6 e BDC20)

Quadro 14 - Teor de cloreto de sódio e comparação com outros autores (%).

Bacalhau	Média ± δ	Decreto-lei nº 25/2005	Gonçalves, 2011	Viegas, 2013	Rodrigues <i>et al.</i> , 2003
BSS	20,5±2	16,0	22,8		20,6
BD6	4,5±2		2,4		0,9
BD20	3,5±1				
BDC6	3,3±2			1,6	
BDC20	2,5±1				

O objetivo principal do processo de demolha é retirar do bacalhau o excesso de sal daí a diminuição do teor de cloretos em cerca de 10%.

O valor médio do teor de cloretos no bacalhau salgado seco foi de 20,5% encontrando-se um pouco acima do valor de referência do decreto-lei n.º 25/2005 (16%) e inferior a outros autores: Gonçalves (2011) e Rodrigues *et al.* (2003) com valores de 22,8% e 20,6% respetivamente. Em relação ao bacalhau demolhado a 6°C obteve-se uma média de 4,5% e no demolhado a 3,5°C de 3,5%, sendo superiores ao valor de Rodrigues *et al.* (2003) de 0,9% e de Gonçalves (2011) de 2,4%. No bacalhau demolhado a 6°C e 20°C que foram posteriormente congelados as médias foram de 3,3% e 2,5% respetivamente, que comparado com o valor de Viegas (2013) de 1,6% para bacalhau ultracongelado é superior.

4.1.7. Teor de fibra

Na **Figura 17** é apresentado o gráfico dos valores médios de fibra das amostras nas diferentes fases do processo (%) e no **Quadro 15** é apresentada a comparação com resultados de outros autores (%).

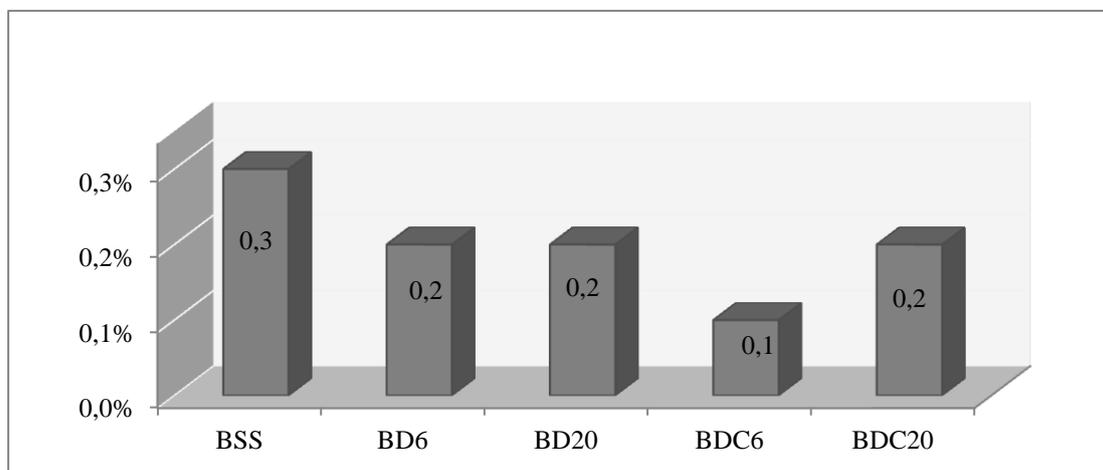


Figura 17 - Valor médio do teor de fibra (%) das amostras analisadas nas diferentes fases do processo: bacalhau salgado seco (BSS); bacalhau demolhado 6°C e 20°C (BD6 e BD20) e bacalhau demolhado congelado (BDC6 e BDC20)

Quadro 15 - Teor de fibra e comparação com outros autores (%).

Bacalhau	Média	INSA, 2010
BSS	0,3	
BD6	0,2	0,1
BD20	0,2	
BDC6	0,1	
BDC20	0,2	

A fibra alimentar mantém-se na mesma ordem de grandeza durante todo o processo (aproximadamente 0,2%), sendo superior à valor indicado pelo Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (0,1%) para o bacalhau demolhado.

4.2. Avaliação nutricional

4.2.1. Valor energético - Energia (kj/kcal)

No **Quadro 16** é apresentado o valor energético médio das amostras analisados nas diferentes fases do processo

Quadro 16 - Valor energético dos cinco bacalhaus analisados nas diferentes fases do processo.

Bacalhau	Média	Valores de referência (INSA, 2010)
BSS	504 120	-
BD6	356 85	333 80
BD20	355 85	
BDC6	349 83	-
BDC20	336 80	-

O valor energético médio do bacalhau demolhado foi de 355Kj/85Kcal encontrando-se um pouco acima do valor de referência do INSA (333 Kj/80Kcal).

4.3. Avaliação microbiológica

Os resultados da avaliação microbiológica da amostra de bacalhau salgado seco e das etapas de demolha e congelação encontram-se apresentadas no Apêndice II.

4.3.1. Indicadores de qualidade

4.3.1.1. Contagem de microrganismos halófilos

Na **Figura 18** é apresentado o valor médio referente à contagem de microrganismos halófilos (ufc/g) no bacalhau salgado seco.

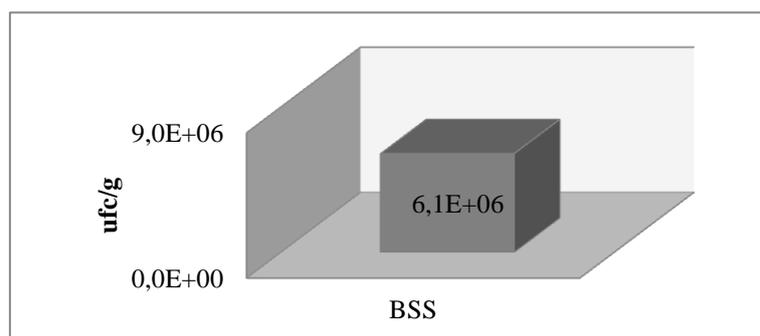


Figura 18 - Avaliação da população média de microrganismos halófilos no bacalhau salgado seco (BSS) expresso em ufc/g.

De acordo com os resultados obtidos a população de microrganismos halófilos varia de $7,0 \times 10^2$ a $3,0 \times 10^7$, sendo o valor médio é de $6,1 \times 10^6$ ufc/g.

Quadro 17 - Comparação da população de microrganismos halófilos no bacalhau salgado seco com resultados de outros autores (ufc/g).

Bacalhau	Valor médio do estudo	Assunção, 2014	Monraia, 1997	Baltazar <i>et al.</i> , 2013	Ventosa <i>et al.</i> , 1998	Ribeiro, 1974
BSS	$6,1 \times 10^6$	$2,9 \times 10^2$	$1,0 \times 10^6$	$4,6 \times 10^3$	$1,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^5$

No **Quadro 17** são apresentados os resultados encontrados por outros autores para as populações de microrganismos halófilos em amostras de bacalhau salgado seco. O valor médio da população de microrganismos halófilos deste estudo ($6,1 \times 10^6$ ufc/g), encontra-se na mesma ordem de grandeza dos resultados de Monraia (1997) e Ventosa (1998), sendo superior aos valores referidos por Ribeiro (1974), Baltazar *et al.* (2013) e Assunção (2014).

4.3.1.2. Contagem de bolores e leveduras halófilos e halotolerantes

Na **Figura 19** é apresentada a avaliação da população média de bolores e leveduras halófilos (meio DG18) e halotolerantes (meio CRB) bacalhau salgado seco (BSS) e no bacalhau demolido posteriormente congelado (BDC) expresso em ufc/g.

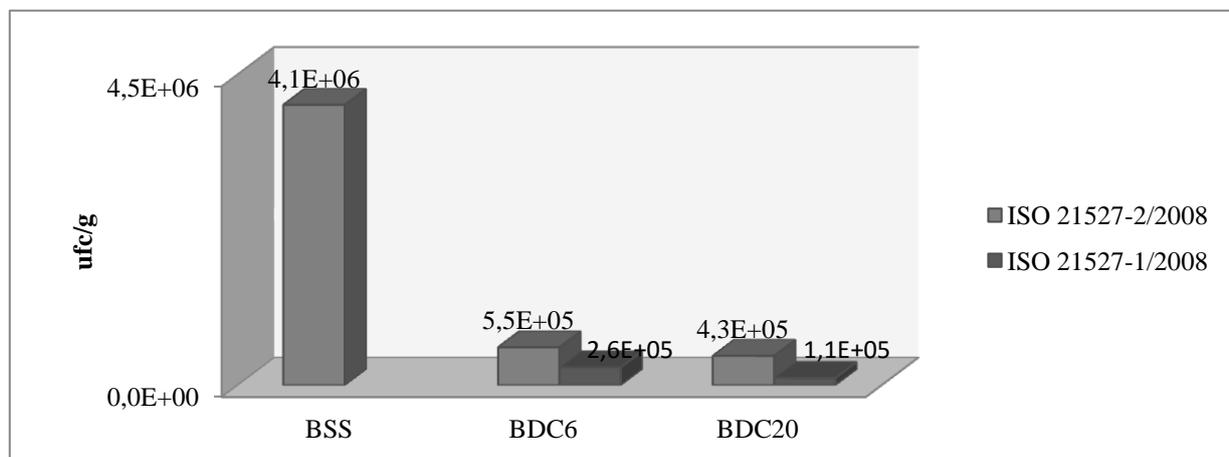


Figura 19 - Avaliação da população média de bolores e leveduras halófilos (ISO 21527-2/2008) e halotolerantes (ISO 21527-1/2008) bacalhau salgado seco (BSS) e no bacalhau demolido posteriormente congelado (BDC) expresso em ufc/g.

A contagem de bolores e leveduras halófilas foi realizada de acordo com a norma ISO 21527-2/2008 com a_w (atividade da água) inferior ou igual a 0,95. A contagem de bolores e leveduras halotolerantes foi realizada de acordo com a norma ISO 21527-1/2008 com a_w (atividade da água) superior a 0,95.

A avaliação da população de fungos halófilos característicos do bacalhau salgado seco foi delineada para ser estudada de acordo com a metodologia descrita pela norma ISO 21527-2/2008, no entanto considerou-se avaliar a presença deste grupo no produto final (bacalhau demolido e posteriormente congelado) uma vez que após a demolha a % de cloreto de sódio era de 3%. A amostra foi analisada em todas as suas unidades utilizando a norma ISO 21527-2/2008 para fungos halófilos ou halotolerantes utilizando a norma ISO 21527-1/2008 onde o meio está adaptado aos fungos com a_w superior a 0,95.

Analisando o resultado do gráfico anterior verificou-se um crescimento elevado no salgado seco, em que os valores situam-se na ordem de grandeza de $4,0 \times 10^2$ e $2,0 \times 10^7$ ufc/g, sendo a média de $4,1 \times 10^6$ ufc/g. Em relação ao bacalhau demolido a 6°C e congelado analisado pelo método a traduz um crescimento com ordens de grandeza entre $1,0 \times 10^0$ e $2,0 \times 10^6$ ufc/g, onde a média é de $5,5 \times 10^5$ ufc/g, e analisado pela norma ISO 21527-1/2008 o crescimento situa-se entre ordens de grandeza de $1,0 \times 10^0$ e $7,0 \times 10^5$ ufc/g com média de $2,6 \times 10^5$ ufc/g. Em relação ao bacalhau demolido a 20°C e

congelado analisado pela norma ISO 21527-2/2008 o crescimento encontra-se entre as ordens de grandeza de $7,0 \times 10^1$ e $2,0 \times 10^6$ ufc/g em que a média é de 4×10^5 ufc/g, e analisado pela norma ISO 21527-1/2008 não se verifica diferenças significativas onde o crescimento se situa em valores com ordem de grandeza entre $3,0 \times 10^1$ e $2,0 \times 10^4$ ufc/g onde a média é de 1×10^5 ufc/g.

No **Quadro 18** é efetuada a comparação da população de bolores e leveduras halófilos e halotolerantes no bacalhau salgado seco e congelado com resultados de outros autores (ufc/g).

Quadro 18 - Comparação da população de bolores e leveduras halófilos e halotolerantes no bacalhau salgado seco e congelado com resultados de outros autores (ufc/g).

Bacalhau	Bolores e leveduras halófilos	Bolores e leveduras halotolerantes	Feitosa, 1995	Oliveira, 2013	Assunção, 2014	Ribeiro, 1975
BSS	$4,1 \times 10^6$		$8,0 \times 10^2$		$1,0 \times 10^1$	$1,0 \times 10^5$
BDC6	$5,5 \times 10^5$	$2,6 \times 10^5$		$4,8 \times 10^2$		
BDC20	$4,3 \times 10^5$	$1,1 \times 10^5$				

Nos estudos dos autores não foi possível saber quais as normas utilizadas durante o processo.

O valor médio da população bolores e leveduras halófilos no bacalhau salgado seco ($4,1 \times 10^6$ ufc/g) é superior aos valores referidos por Feitosa (1995), Assunção (2014) e Ribeiro (1975). Os valores médios da população de bolores e leveduras halófilos e halotolerantes do bacalhau demolido a 6°C e, posteriormente, congelado ($5,5 \times 10^5$ ufc/g e $2,6 \times 10^5$ ufc/g respetivamente) é superior ao valor referido por Oliveira (2013), assim como os valores médios da população de bolores e leveduras halófilos e halotolerantes do bacalhau demolido a 20°C e, posteriormente, congelado ($4,3 \times 10^5$ ufc/g e $1,1 \times 10^5$ ufc/g respetivamente).

4.3.1.3. Contagem de microrganismos a 30°C

Na **Figura 20** são apresentados os valores médios do estudo referente à contagem de microrganismos a 30°C nas unidades de bacalhau demolido (6°C e 20°C) e de bacalhau demolido e, posteriormente, congelado. No **Quadro 19** são apresentados resultados de outros autores e comparados com o valor médio da população de microrganismos a 30°C deste estudo.

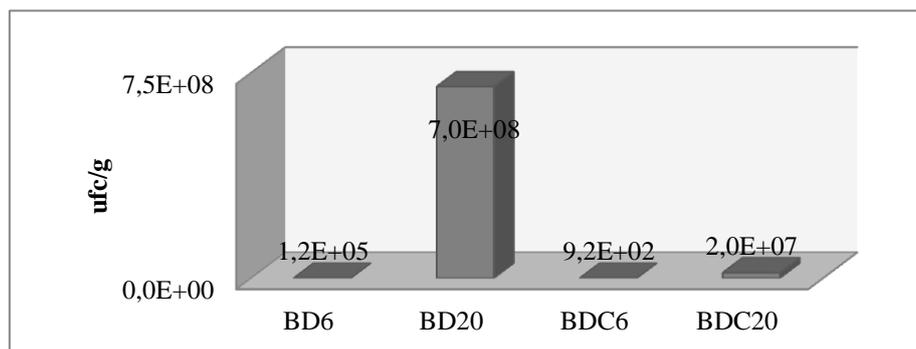


Figura 20 - Avaliação da população média de microrganismos a 30°C no bacalhau demolhado a 6°C e 20°C (BD6; BD20) e no bacalhau congelado (BDC6; BDC20) expresso em ufc/g.

No bacalhau demolhado a 6°C o crescimento mesófilo observado nas unidades analisadas varia entre $3,0 \times 10^1$ a $6,0 \times 10^5$ ufc/g, podendo a população total ser avaliada por um valor médio de $1,2 \times 10^5$ ufc/g. Após congelação, a microbiota mesófila diminuí para valores entre $1,0 \times 10^2$ e $4,0 \times 10^3$ ufc/g, apresentando um valor médio de $9,2 \times 10^2$ ufc/g. No bacalhau demolhado a 20°C, o crescimento mesófilo varia entre $2,0 \times 10^8$ e $1,0 \times 10^9$ ufc/g, sendo a população média de $7,0 \times 10^8$ ufc/g. Após congelação a microbiota mesófila apresenta valores entre $7,0 \times 10^5$ e $9,0 \times 10^7$ ufc/g, sendo a população média de 2×10^7 ufc/g. Assim, na demolha verificou-se aumento da microbiota mesófila total ou de microrganismos a 30°C, especialmente quando o bacalhau foi demolhado a 20°C.

No **Quadro 19** são apresentados os resultados de outros autores e comparados com o valor médio da população de microrganismos a 30°C deste estudo

Quadro 19 - Comparação da população de microrganismos a 30°C no bacalhau demolhado e congelado com resultados de outros autores (ufc/g).

Bacalhau	Valor médio do estudo	Ferreira, 2014	Oliveira, 2013	Barros & Neves, 2016
BD6	$1,2 \times 10^5$	$4,9 \times 10^7$	$4,9 \times 10^4$	$2,1 \times 10^6$ a $8,9 \times 10^7$
BD20	$7,0 \times 10^8$			
BDC6	$9,2 \times 10^2$			
BDC20	$2,0 \times 10^7$			

O valor médio da população de microrganismos a 30°C no bacalhau demolhado a 6°C ($1,2 \times 10^5$ ufc/g), é superior ao valor referido por Oliveira (2013) e inferior ao de Ferreira (2014), enquanto que o valor médio da população no bacalhau demolhado a 20°C ($7,0 \times 10^8$ ufc/g) é superior aos valores referidos por Oliveira (2013) e Ferreira (2014). O valor médio da população no bacalhau demolhado a 6°C e, posteriormente,

congelado ($9,2 \times 10^2$ ufc/g) é inferior ao intervalo de valores referidos por Barros & Neves, 2016*, enquanto que o valor médio da população no bacalhau demolido a 6°C e, posteriormente, congelado ($2,0 \times 10^7$ ufc/g) encontra-se na mesma ordem de grandeza dos resultados de Barros & Neves, 2016.

No estudo de Ferreira (2014) a temperatura de demolha encontrou-se entre os 8°C e 10°C e no de Oliveira (2013) a temperatura foi de 6°C. No estudo de Barros & Neves (2016) o bacalhau é ultracongelado adquirido no mercado retalhista.

4.3.1.4. Contagem de *Pseudomonas* spp.

Na **Figura 21** são apresentados os valores médios do estudo referente à contagem de *Pseudomonas* spp. nas unidades de bacalhau salgado seco, bacalhau demolido (6°C e 20°C) e de bacalhau demolido e, posteriormente, congelado. No **Quadro 20** são apresentados resultados de outros autores e comparados com o valor médio da população de *Pseudomonas* spp. deste estudo.

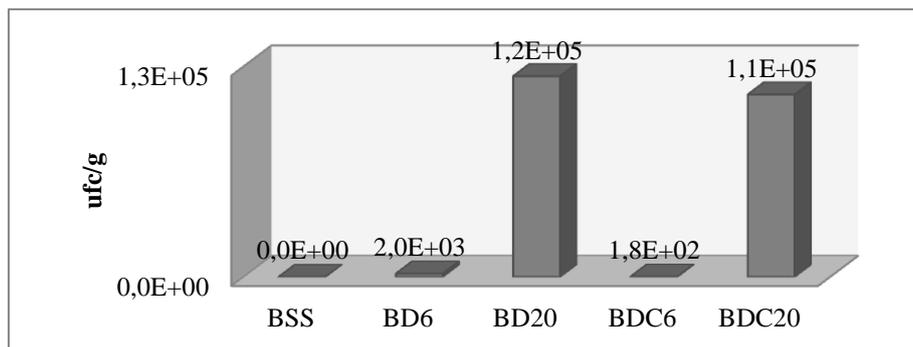


Figura 21 - Avaliação da população média de *Pseudomonas* spp. no bacalhau salgado seco (BSS), bacalhau demolido a 6°C e 20°C (BD6; BD20) e no bacalhau congelado (BDC6; BDC20) expresso em ufc/g.

Analisando os resultados da figura verifica-se um aumento significativo de *Pseudomonas* spp. com o processo de demolha particularmente a 20°C, verifica-se ainda uma pequena diminuição com o processo de congelação. A média de crescimento no bacalhau demolido a 6°C foi de $2,0 \times 10^3$ ufc/g, no bacalhau demolido a 20°C foi de $1,2 \times 10^5$ ufc/g. As médias do bacalhau demolido a 6°C e congelado e do bacalhau demolido a 20°C e congelado foram de $1,8 \times 10^2$ ufc/g e $1,1 \times 10^5$ ufc/g, respetivamente.

Quadro 20 - Comparação da população de *Pseudomonas* spp. no bacalhau demolhado e congelado com resultados de outros autores (ufc/g).

Bacalhau	Valor médio do estudo	Oliveira, 2013	Ferreira, 2014	Barros & Neves, 2016
BSS	<1		8,6x10 ³	
BD6	2,0x10 ³	1,4x10 ³	1,7x10 ⁷	
BD20	1,2x10 ⁵	1,1x10 ⁵		
BDC6	1,8x10 ²			2,6x10 ² a 1,4x10 ⁷
BDC20	1,1x10 ⁵			

O valor médio da população de *Pseudomonas* spp. no bacalhau salgado seco (<1 ufc/g) é inferior ao valor referido por Ferreira (2014). No bacalhau demolhado a 6°C o valor médio da população (2,0x10³ ufc/g) encontra-se na mesma ordem de grandeza que o valor referido por Oliveira (2013), sendo inferior ao referido por Ferreira (2014), enquanto que valor médio da população no bacalhau demolhado a 20°C (1,2x10⁵ ufc/g) encontra-se na mesma ordem de grandeza que o valor referido por Oliveira (2013), sendo inferior ao referido por Ferreira (2014). O valor médio da população no bacalhau demolhado a 6°C e, posteriormente, congelado (1,8x10² ufc/g) encontra-se na mesma ordem de grandeza do intervalo de resultados de Barros & Neves, 2016, assim como o valor médio da população no bacalhau demolhado a 20°C e, posteriormente, congelado (1,1x10⁵ ufc/g).

No estudo de Ferreira (2014) a temperatura de demolha encontrou-se entre os 8°C e 10°C e no de Oliveira (2013) a temperatura foi de 6°C e 18°C. No estudo de Barros & Neves, 2016* o bacalhau é ultracongelado adquirido no mercado retalhista.

4.3.2. Indicadores de higiene

4.3.2.1. Contagem de *Escherichia coli*

Os resultados da contagem de *Escherichia coli* revelaram-se sempre >1 ufc/g nas unidades da amostra de bacalhau salgado seco, bem como após demolha e congelação. Resultados idênticos foram observados nos estudos de Monraia (1997), Pedro *et al.* (2004) e Santos *et al.* (2005).

4.3.2.2. Pesquisa de Enterococcus

No **Quadro 21** são apresentados os resultados da pesquisa de Enterococcus nas amostras de bacalhau salgado seco, bacalhau demolhado e bacalhau demolhado congelado.

Quadro 21 - Pesquisa de Enterococcus nas unidades da amostra de bacalhau salgado seco e após demolha e congelação.

Unidades da Amostra	1	2	3	4	5
BSS	P até 10 ⁻¹ g	P até 10 ⁻¹	A em 1g	A em 1g	P em 1g
BD6	P até 10 ⁻¹ g	P até 10 ⁻¹ g	P até 10 ⁻¹ g	P em 1g	A em 1g
BD20	P até 10 ⁻⁵ g	P até 10 ⁻³ g	P até 10 ⁻² g	P até 10 ⁻³ g	P até 10 ⁻² g
BDC6	P até 10 ⁻¹ g	P em 1g	P em 1g	A em 1g	P em 1g
BDC20	P até 10 ⁻⁴ g	P até 10 ⁻³ g			

A- Ausência; P - Presença

A análise dos resultados mostra que os *Enterococcus* estão presentes no bacalhau seco salgado e em todas as fases do processo até à congelação. A demolha a 20°C favorece o seu desenvolvimento, não se verificando alteração após a congelação. Também nos estudos de Monraia (1997) e Pedro *et al.* (2008) a presença de *Enterococcus* foi encontrada em amostras de bacalhau salgado seco e demolhado a duas temperaturas. Segundo Barros & Neves, 2016 a presença de Enterococcus foi detetadas em todas as amostras de bacalhau ultracongelado, recolhidas no comércio retalhista (**Quadro 22**).

No estudo realizado por Monraia (1997) a demolha foi realizada a temperatura ambiente e a 4°C, no estudo de Pedro *et al.* (2008) a demolha foi realizada a 3°C e 20°C.

Quadro 22 - Frequência (%) de amostras com Enterococcus em amostras de bacalhau salgado seco, demolhado e ultracongelado

Bacalhau	Monraia (1997)	Pedro <i>et al.</i> (2008)	Barros & Neves, 2016
BSS	18%	15%	
BD (t° C refrigeração)	70%	10%	
BD (t° C ambiente)	94%	27%	
Bacalhau demolhado e ultracongelado			100%

*

4.3.2.3 Contagem/Pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva

No **Quadro 23** é apresentada a Avaliação da população de *Staphylococcus* coagulase positiva nas unidades da amostra de bacalhau salgado seco e após demolha e

congelamento expresso em ufc/g e no **Quadro 24** são apresentados os resultados a pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva nas unidades da amostra de bacalhau salgado seco e após demolha e congelamento.

Staphylococcus coagulase positiva é um microrganismos indicador de higiene mas também de segurança sendo necessário realizar duas técnicas neste estudo: contagem e pesquisa. Este microrganismos dá-nos informação do estado higiénico em que o bacalhau salgado seco foi preparado e comercializado, dado que é pertence à flora natural dos Humanos podendo afetar a segurança dos consumidores. A pesquisa é uma metodologia que permite avaliar a população existente no bacalhau enquanto que a contagem permite uma estimativa da mesma.

Quadro 23 - Avaliação da população de *Staphylococcus* coagulase positiva nas unidades da amostra de bacalhau salgado seco e após demolha e congelamento expresso em ufc/g.

Unidades da Amostra	1	2	3	4	5
BSS	<1	<1	<1	<1	<1
BD6	<1	<1	<1	6×10^2	<1
BD20	<1	<1	<1	<1	1×10^2
BDC6	<1	<1	<1	<1	<1
BDC20	5×10^2	<1	<1	1×10^2	4×10^1

Quadro 24 - Pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva nas unidades da amostra de bacalhau salgado seco e após demolha e congelamento.

Unidades da Amostra	1	2	3	4	5
BSS	A em 1g	A em 1g	A em 1g	A em 1g	A em 1g
BD6	P em 1g	P em 10^{-1} g	A em 1g	-	A em 1g
BD20	P em 1g	P em 1g	A em 1g	P em 10^{-1} g	-
BDC6	P em 1g	P em 0,1g	P em 1g	A em 1g	P em 1g
BDC20	-	P em 1g	P em 10^{-1} g	-	-

A- Ausência; P - Presença

A análise dos resultados mostra que os *Staphylococcus* coagulase positiva não estão presentes no bacalhau seco salgado mas no geral estão em todas as fases do processo até à congelamento. Resultados idênticos foram encontrados nos estudos de Ferreira (2014), Monraia (1997) e Pedro *et al.* (2008).

4.3.3. Indicadores de segurança

4.3.3.1. Pesquisa de Esporos de Clostrídios sulfito-redutores

Os resultados da pesquisa de Esporos de Clostrídios sulfito-redutores revelou-se sempre ausência nas unidades da amostra de bacalhau salgado seco, bem como após demolha e congelação. Resultados idênticos foram observados nos estudos de Barros & Neves, 2016* nas amostras de bacalhau ultracongelado. Em estudos de Pedro *et al.* (2008) apenas foram detetados em amostras de bacalhau salgado seco e demolhado a 20°C sendo que foi negativa no bacalhau demolhado a 3°C.

4.3.3.2. Pesquisa de *Listeria monocytogenes*

Os resultados da pesquisa de *Listeria monocytogenes* revelou-se sempre ausência nas unidades da amostra de bacalhau demolhado, posteriormente, congelado. Resultados idênticos foram observados nos estudos de Barros & Neves, 2016, Assunção (2014) e Ferreira (2014) nas amostras de bacalhau ultracongelado.

4.3.3.3. Pesquisa de *Salmonella* spp.

Os resultados da pesquisa de *Salmonella* spp. revelou-se sempre ausência nas unidades da amostra de bacalhau demolhado, posteriormente, congelado. Resultados idênticos foram observados nos estudos de Barros & Neves, 2016, Assunção (2014) e Ferreira (2014) nas amostras de bacalhau ultracongelado.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O bacalhau é um dos produtos mais consumidos em Portugal, por esta razão é um alimento interessante do ponto de vista químico, nutricional e microbiológico.

No decurso do trabalho realizado estudaram-se diversas amostras de bacalhau permitindo comparar o mesmo bacalhau salgado seco antes e após processamento (demolhado e congelado). Nas amostras foram avaliados parâmetros químicos, nutricionais e microbiológicos.

Na avaliação química, nutricional e microbiológica de uma amostra de bacalhau salgado seco, demolhado a 6°C e 20°C e congelado), verificou-se que os resultados se encontram-se dentro dos valores aconselháveis. Face aos resultados da composição química e nutricional, conclui-se que o bacalhau salgado seco é um produto interessante sob o ponto de vista nutricional, sobretudo devido ao facto de ser uma espécie magra, com teores inferiores a 1% de gordura, de conter um teor proteico assinalável e com baixo valor energético. Uma análise global aos resultados obtidos permite-nos concluir que o processo de demolha caracteriza-se por um aumento significativo do teor de humidade e a perda de minerais, nomeadamente de cloreto de sódio.

Nos dados da análise microbiológica evidenciou-se a presença de microrganismos já descritos noutros estudos, embora seja de salientar o isolamento de uma população de leveduras, presente em todas as unidades da amostra, cuja identificação por métodos de biologia molecular (colaboração da solicitada Doutora Célia Quintas do Instituto Superior de Engenharia da Universidade do Algarve), revelou ser *Candida polymorpha/Yamadzyma triangularis* (forma assexuada/forma sexuada, respetivamente). Esta prevalência precisa de ser esclarecida, existindo referências na bibliografia do seu isolamento em ambientes halófilos e halotolerantes

BIBLIOGRAFIA

Afonso, C. (2009). *Produtos da Pesca capturados na Costa Portuguesa: Benefícios perigos associados ao seu consumo*. Dissertação de Doutoramento em Farmácia, Bromatologia. Lisboa: Universidade de Lisboa - Faculdade de Farmácia.

ANVISA (2007). Comercialização de Pescado Salgado Seco: Cartilha Orientativa. [s.d.]. Acedido em mai.26, 2014 disponível em: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/informes/cartilha_bacalhau.pdf.

ASAE (2007a) *Escherichia coli*. Editado em 2 de janeiro. Acedido em dez. 23, 2015 disponível em: <http://www.asae.pt/>.

ASAE (2007b) *Staphylococcus aureus*. Editado em 2 de janeiro. Acedido em dez. 23, 2015 disponível em: <http://www.asae.pt/>.

Assunção, C. F. B. (2014). *Avaliação química, nutricional e microbiológica do bacalhau salgado seco*. Trabalho realizado com vista à obtenção de grau de Licenciada em Nutrição Humana e Qualidade Alimentar. Santarém: Escola Superior de Agrária de Santarém – Peniche Instituto Politécnico de Santarém.

Austin, B. (2006). The Bacterial Microflora of Fish, Revised. *The Sci World J.* 6, 931–945.

Baltazar, C. (2012), *Qualidade do bacalhau salgado seco comercializado em temperatura ambiente e refrigerado*. Dissertação apresentada na pós-graduação em Epidemiologia Experimental: Universidade de São Paulo - São Paulo.

Baltazar, C. Telles, O. E., Sanches, A. S., Merusse, B. L. J. & Balian, C. S. (2013), . *Qualidade do bacalhau salgado seco comercializado à temperatura ambiente e refrigerado*. Dissertação Mestrado em Ciências. São Paulo: Universidade de São Paulo – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootécnica.

Barat, J.M., Rodríguez-Barona, S., Andrés, A. & Visquert, M. (2004). Mass transfer analysis during the cod desalting process. *Food Research International*, 37: 203-208.

Barros, R. & Neves, A. (2016). Avaliação da microbiota em bacalhau ultracongelado embalado a vácuo disponível no comércio. *Revista da UIIPS*, 4(2), 143-148.

Belitz, H.D., Grosch, W. & Schieberle, P. (2009). *Food Chemistry*. 4th revised and extended Edition. Berlin: Springer-Verlag.

Bjørkevold, I., Olsen, R.L. & Skjerdal, O.T. (2003). Origin and spoilage potential of the microbiota dominating genus *Psychrobacter* in sterile rehydrated salt-cured and dried salt-cured cod (*Gadus morhua*). *International Journal Food Microbiology*, 84: 175-87.

Carneiro, C. L. (2008). *Avaliação de Escherichia coli em manipuladores de alimentos da cidade de morrinhos - go*. Mestre em Bioquímica e Biologia Molecular. Professora da Universidade Estadual de Goiás – UEG e da Faculdade União de Goyazes.

Cavém, S. A. C. (2013). *Implementação e seleção das condições ótimas da linha de demolha e congelação de bacalhau numa empresa de pescado congelado*. Dissertação de Mestrado em Gestão da Qualidade e Segurança Alimentar. Leiria: Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar – Peniche Instituto Politécnico de Leiria.

Chaveiro, N. (2012). *Bioacessibilidade de ácidos gordos em salmão e corvina de aquacultura*. Dissertação de Mestrado em Engenharia Alimentar – Processamento de alimentos. Lisboa: Instituto Superior de Agronomia – Universidade Técnica de Lisboa.

Chaves, M. (2013). *Pescado Salgado Seco: O Bacalhau (Uma Revisão)*. Monografia e conclusão de Curso de Medicina Veterinária. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária – Universidade de Brasília.

Comissão Europeia (2009). *A Política Comum da Pesca - guia do utilizador*. Luxemburgo: Serviço das Publicações Oficiais das Comunidades Europeias. ISBN 978-92-79-09887-1

Comissão Europeia (2014). Factos e números sobre a política comum das pescas. Dados estatísticos de base. (Edição de 2014). Luxemburgo: Serviço das Publicações da União Europeia. ISSN 1830-9151

Constantinos (2014a). *Manual de Higiene e Segurança Alimentar*. Versão 5 de Janeiro.

Costa, B. A. H. (2010), *Cadeia de frio e segurança alimentar – controlo estatístico da temperatura*. Tese de Mestrado em Engenharia Zootécnica: Universidade dos Açores - Angra do Heroísmo.

Decreto-lei N.º25/2005. Diário da República, I Série, N.º20 de 28 de Janeiro de 2005. Ministério da Agricultura, Pescas e Florestas.

Despacho n.º 6006/2011. *D.R. II Série*. 68 (06-04-2011) 15895-15896.

DGPA (2007b). Plano estratégico nacional para a pesca 2007-2013. MADRP – Direção Geral das Pescas e Aquicultura. Lisboa, 84 p.

Dias, S. (2013). *Processo de Cura Amarela do Bacalhau: Dinâmica de Populações Microbianas, Indicadores Químicos e Descritores Sensoriais*. Dissertação de Doutoramento em Engenharia Alimentar. Lisboa: Instituto Superior de Agronomia - Universidade de Lisboa.

FAO (2012). The state of world fisheries and aquaculture 2012. Roma: ISSN 1020-5489, 230 pp.

FAO (2014). *Composition of fish*. [s.d.]. Acedido em setembro. 23, 2015 disponível em: [http://www.fao.org/wairdocs/tan/x5916e/x5916e01.htm#Why composition is important](http://www.fao.org/wairdocs/tan/x5916e/x5916e01.htm#Why%20composition%20is%20important).

Feitosa, T. (1995). Avaliação microbiológica do pescado salgado seco: *Universidade Federal do Ceará* - Fortaleza. n.º 8 p. 61-63.

Ferreira, F. I. S. (2014), *Estudo Microbiológico da Demolha do Bacalhau Salgado Verde*. Dissertação de Mestrado Integrado em Engenharia Biológica Ramo Tecnologia Química e Alimentar: Universidade do Minho - Escola de Engenharia.

Ferreira, S. F. J (2013), *Estudo de vida útil do bacalhau salgado seco*. Trabalho de fim de curso em Engenharia Alimentar: Instituto Politécnico de Santarém - Escola Superior Agrária de Santarém.

Gonçalves, S. (2011). *Bacalhau Salgado Seco: Influência da demolha e do tratamento culinário na sua qualidade*. Dissertação de Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar. Lisboa: Universidade Nova de Lisboa - Faculdade de Ciência e Tecnologia.

High Temperatures. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 13:3, 39-48.

Huss, H. (1995). *Quality and quality changes in fresh fish*. FAO Fisheries Technical Paper, 348. [s.d] Acedido a abr, 17, 2014 disponível em: <http://www.fao.org/docrep/v7180e/V7180e06.htm#5.1> Sensory changes.

INE (2010). *Estatísticas da Pesca 2012*. (Edição 2013). Lisboa: Instituto Nacional de Estatística, I.P. ISBN 978-989-25-0199-4.

INE (2013). *Estatísticas da Pesca 2013*. (Edição 2014). Lisboa: Instituto Nacional de Estatística, I.P. ISBN 978-989-25-0263-2.

INE. (2014a). *Estatísticas da Pesca 2014*. (Edição 2015). Lisboa: Instituto Nacional de Estatística, I.P. ISBN 978-989-25-0303-5.

INE. (2014b). *Balança Alimentar Portuguesa - 2008-2012*. Informação à comunicação social.

INE (2015). *Estatísticas da Pesca 2015*. (Edição 2016). Lisboa: Instituto Nacional de Estatística, I.P. ISBN 978-989-25-0354-7

INSA (2010), Tabela de Composição de Alimentos. (1ª Edição). Centro de Segurança Alimentar e Nutrição do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge. online disponível em <http://www.insa.pt>.

Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, Centro de Segurança Alimentar e Nutrição, 64, 67-68.

Jardim, A. (2011). Efeitos da origem e da espécie na qualidade nutricional do bacalhau consumido em Portugal. Dissertação de Mestrado em Segurança Alimentar. Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa - Faculdade de Medicina Veterinária.

Jay, J. (2000). *Microbiologia de alimentos*. (6.ª ed.). Porto Alegre: Artmed Editora, 711 pp.

Lameiras, C. (2011). *Levantamento dos principais perigos/riscos na Segurança Alimentar numa Rede de Hipermercados da Região de Lisboa*. Dissertação de Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar. Lisboa: Universidade Nova de Lisboa – Faculdade de Ciências e Tecnologia.

Lidon, F. & Silvestre, M.M. (2007). *Indústrias Alimentares: Aditivos e Tecnologia*. Lisboa: Escolar editora. ISBN 978-972-592-203-3.

Lidon, F. & Silvestre, M.M. (2008). *Conservação de alimentos: princípios e metodologias*. Lisboa: Escolar editora. ISBN 978-972-592-227-9.

Lorentzen, G., Olsen, R.L., Bjørkevoll, I., Mikkelsen, H. & Skjerdal, T. (2010). Survival of *Listeria innocua* and *Listeria monocytogenes* in muscle of cod (*Gadus morhua* L.) during salt-curing and growth during chilled storage of rehydrated product. *Food Control*, 21: 292-297.

Manso F., Cruz O., (1984). *A epopeia dos Bacalhaus*. DistriEditora, Porto, 111 p.

Martínez-Alvarez, O. (2002). Desalt del bacalao (*Gadus morhua*) seco salado y su conservación en fresco. *Alimentación, Equipos y Tecnol* (Madrid), 169: 51-54.

Monraia, C. (1997). Caraterização da flora microbiológica do bacalhau salgado seco. *Rev Port Nutrição*, VII, N°3: 45-52.

Nunes, M.L., Batista, I., Bandarra, N.M., Morais, M.G. & Rodrigues, P.O. (2008). Produtos da pesca: Valor nutricional e importância para a saúde e bem-estar dos consumidores. (n°18) Lisboa: Publicações avulsas do IPIMAR. 77 p.

Oliveira, C. I. H. (2013), *Studies on salt-curing and desalting processes of salted cod (Gadus morhua)*. Tese de doutoramento em Ciências do Mar e do Ambiente. Universidade de Aveiro, Universidade do Porto - Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar.

Oliveira, H., Pedro, S., Nunes, M., Costa, R. & Vaz-Pires, P. (2012). *Processing of salted cod (Gadus spp.): A Review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11, 546-564.

Pedro, S., Albuquerque, M., Nunes, M. & Bernardo, M. (2008). Pathogenic Bacteria and Indicators in Salted Cod (*Gadus morhua*) and Desalted Products at Low and High Temperatures. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. Vol. 13(3) 2004.

Pinto, J., Neves, R. (2010). Análise de riscos no processamento alimentar. Porto: Publindústria, Edições Técnicas.

Ribeiro, A. (1975) Padrões bacteriológicos de alimentos portugueses. *Revista Microbiologia*, 5, (1), 17-25.

Rodrigues, M. J., Hob, P., Lopez-Caballero, M. E., Vaz-Pires, P. & Nunes, M. L. (2003). Characterization and identification of microflora from soaked cod and respective salted raw materials. *Food Microbiology*. Volume 20, Issue 4, Pages 471–481.

Rodrigues, M.J., Ho, P., López-Caballero, M.E., Bandarra, N.M. & Nunes, M.L. (2005). Chemical, microbiological, and sensory quality of cod products salted in different brines. *Journal Food Science*, 70: M1-6.

Rodrigues, N. (2012). *Caracterização molecular da comunidade bacteriana da pele de bacalhau*. Dissertação de mestrado em Biologia Aplicada. Aveiro: Universidade de Aveiro.

Salvador, A. (2009). *Efeito de alta pressão no processamento de demolha do Bacalhau*. Dissertação de Mestrado em Bioquímica e Química dos Alimentos. Aveiro: Universidade de Aveiro.

Santos, M., Correia, C., Cunha, M., Soraia, M. & Novais, M. (2005). Valores guias para a avaliação microbiológica de alimentos prontos a comer preparados em estabelecimentos de restauração. *Perpectivas*.

Silva, C. M. (2002), Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos com a utilização de metodologias convencionais e do sistema simplate: Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

Siopa, M. (2005). *Importância de aplicação do Decreto-Lei n.º25/2005 na comercialização de bacalhau salgado seco: estudo caso*. Relatório de Trabalho Fim de Curso de Licenciatura Biotécnica Engenharia Alimentar. Santarém: Escola Superior Agrária de Santarém – Instituto Politécnico de Santarém, 47 pp.

Teixeira, A. (2012). *Avaliação da Qualidade e Segurança Alimentar de Carapau (Trachurus trachurus) Descarregado na Lota de Peniche. Influência e Características Gerais da Água de Lavagem no Pescado Descarregado*. Dissertação de Mestrado em Gestão de Qualidade e Segurança Alimentar. Peniche: Instituto Politécnico de Leiria - Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar.

Thórarinsdóttir, K.A., Arason, S., Geirsdóttir, M., Bogason, S.G., e Kristbergsson, K. (2002). Changes in myofibrillar proteins during processing of salted cod (*Gadus morhua*) as determined by electrophoresis and differential scanning calorimetry. *Food Chemistry*, 77(3): 377-385.

Vaz-Pires, P. (2006). Tecnologia do pescado. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar - Universidade do Porto. Porto.

Ventosa, A., Nieto, J.J. & Oren, A. (1998). Biology of moderately halophilic aerobic bacteria. *Microbiology and molecular biology reviews*, 62(2):504-44

Viegas, H. (2013). *Caracterização de Lombos de Bacalhau Demolhado Ultracongelado Produzidos com Diferentes Tempos de Cura*. Dissertação de Mestrado em Inovação e Qualidade na Produção Alimentar. Castelo Branco: Instituto Politécnico de Castelo Branco - Escola Superior Agrária.

APÊNDICE I

Resultados das análises químicas e nutricionais aos cinco bacalhaus nas diferentes fases do processo

	1º Bacalhau					2º Bacalhau					3º Bacalhau					4º Bacalhau					5º Bacalhau				
	BSS	BD		BDC		BSS	BD		BDC		BSS	BD		BDC		BSS	BD		BDC		BSS	BD		BDC	
		6°C	20°C	6°C	20°C		6°C	20°C	6°C	20°C		6°C	20°C	6°C	20°C	6°C	6°C	20°C	6°C	20°C		6°C	20°C	6°C	20°C
Energia	470	342	343	332	332	524	364	370	359	366	523	369	369	357	332	-	-	-	355	335	497	348	337	340	315
(Kj/Kcal)	112	82	82	79	79	125	87	88	86	87	125	88	88	85	79	-	-	-	85	80	119	83	81	81	75
Determinação da proteína	26%	19%	20%	18%	19%	29%	20%	21%	20%	21%	31%	21%	21%	20%	19%	28%	-	-	19%	18%	28%	20%	19%	19%	18%
Determinação da gordura	0,8%	0,9%	0,8%	0,6%	0,4%	1%	1%	0,9%	0,7%	0,4%	1%	0,6%	0,7%	0,6%	0,6%	-	-	-	0,5%	0,4%	1%	0,6%	0,5%	0,6%	0,4%
Determinação da fibra	0,3%	0,2%	0,2%	0,1%	0,2%	0,2%	0,3%	0,3%	0,1%	0,2%	0,3%	0,2%	0,2%	0,2%	0,1%	-	-	-	0,1%	0,2%	0,3%	0,2%	0,2%	0,1%	0,2%
Determinação de cloretos	18%	2%	2%	1%	0,8%	20%	12%	11%	7%	6%	21%	6%	5%	5%	4%	22%	6%	3%	4%	2%	21%	4%	4%	3%	3%
Determinação da humidade	51%	78%	78%	78%	79%	46%	77%	78%	76%	76%	47%	77%	77%	77%	77%	46%	79%	77%	77%	78%	49%	77%	79%	78%	78%
Determinação das cinzas	22%	3%	2%	2%	2%	24%	2%	1%	2%	2%	23%	2%	2%	1%	1%	25%	2%	0,8%	2%	1%	23%	3%	1%	2%	2%
Determinação de glúcidos	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	-	-	-	0%	0%	0%	0%	0,1%	0%	0%

Legenda:

BSS - Bacalhau Salgado Seco;

BD - Bacalhau demolido;

BDC - Bacalhau demolido congelado

APÊNDICE II

Resultados das análises microbiológicas aos cinco bacalhaus nas diferentes
fases do processo

	1º Bacalhau					2º Bacalhau					3º Bacalhau					4º Bacalhau					5º Bacalhau				
	BSS	BD		BDC		BSS	BD		BDC		BSS	BD		BDC		BSS	BD		BDC		BSS	BD		BDC	
		6°C	20°C	6°C	20°C		6°C	20°C	6°C	20°C		6°C	20°C	6°C	20°C		6°C	20°C	6°C	20°C		6°C	20°C	6°C	20°C
Contagem de halófilos <i>ufc/g</i>	7x10 ²	-	-	-	-	6x10 ⁴	-	-	-	-	3x10 ³	-	-	-	-	5x10 ⁵	-	-	-	-	3x10 ⁷	-	-	-	-
Contagem de microrganismos a 30°C <i>ufc/g</i>	-	7x10 ²	6x10 ⁸	1x10 ²	3x10 ⁶	-	6x10 ⁵	1x10 ⁹	1x10 ²	1x10 ⁶	-	3x10 ²	7x10 ⁸	2x10 ²	5x10 ⁶	-	3x10 ¹	2x10 ⁸	2x10 ²	7x10 ⁵	-	3x10 ¹	1x10 ⁹	4x10 ³	9x10 ⁷
Contagem de <i>Pseudomonas</i> spp. <i>ufc/g</i>	<1	9x10 ¹	7x10 ⁴	4x10 ²	5x10 ²	<1	1x10 ⁴	2x10 ⁵	2x10 ²	2x10 ⁴	<1	2x10 ¹	1x10 ⁵	<1	4x10 ⁴	<1	<1	5x10 ⁴	<1	3x10 ³	<1	9x10 ¹	2x10 ⁵	3x10 ²	5x10 ⁵
(a) Contagem de bolores e leveduras halófilos <i>ufc/g</i>	4x10 ²	-	-	<1	7x10 ¹	1x10 ⁴	-	-	4x10 ²	3x10 ⁴	3x10 ³	-	-	8x10 ¹	7x10 ²	3x10 ⁵	-	-	2x10 ⁵	2x10 ⁶	2x10 ⁷	-	-	2x10 ⁶	1x10 ⁵
(b) Contagem de bolores e leveduras halófilos <i>ufc/g</i>	-	-	-	<1	3x10 ¹	-	-	-	<1	1x10 ⁴	-	-	-	2x10 ¹	3x10 ²	-	-	-	6x10 ⁵	5x10 ⁵	-	-	-	7x10 ⁵	2x10 ⁴
Contagem de <i>Escherichia coli</i> <i>ufc/g</i>	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva <i>ufc/g</i>	<1	<1	<1	<1	5x10 ²	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	6x10 ²	<1	<1	1x10 ²	<1	<1	1x10 ²	<1	4x10 ¹
Pesquisa de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	N em 1g	P em 1g	P em 1g	P em 1g	-	N em 1g	P em 10 ⁻¹ g	P em 1g	P em 0,1g	P em 1g	N em 1g	N em 1g	N em 1g	P em 1g	P em 10 ⁻¹ g	N em 1g	-	P em 10 ⁻¹ g	N em 1g	-	N em 1g	N em 1g	-	P em 1g	-
Pesquisa de <i>Enterococcus</i>	P até 10 ⁻¹ g	P até 10 ⁻¹ g	P até 10 ⁻⁵ g	P até 10 ⁻¹ g	P até 10 ⁻⁴ g	P até 10 ⁻¹ g	P até 10 ⁻¹ g	P até 10 ⁻³ g	P em 1g	P até 10 ⁻³ g	N em 1g	P até 10 ⁻¹ g	P até 10 ⁻² g	P em 1g	P até 10 ⁻³ g	N em 1g	P em 1g	P até 10 ⁻³ g	N em 1g	P até 10 ⁻³ g	P em 1g	N em 1g	P até 10 ⁻² g	P em 1g	P até 10 ⁻³ g
Pesquisa de Esporos de <i>Clostrídios</i> sulfito redutores <i>Em 1g</i>	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp. <i>Em 25g</i>	-	-	-	N	N	-	-	-	N	N	-	-	-	N	N	-	-	-	N	N	-	-	-	N	N
Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Em 25g</i>	-	-	-	N	N	-	-	-	N	N	-	-	-	N	N	-	-	-	N	N	-	-	-	N	N