CAMILA BALTAZAR

**Qualidade do bacalhau salgado seco comercializado em
temperatura ambiente e refrigerado**

São Paulo

2012

CAMILA BALTAZAR

**Qualidade do bacalhau salgado seco comercializado em
temperatura ambiente e refrigerado**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Mestre em Ciências

Departamento:

Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

Área de Concentração:

Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses

Orientador:

Profa. Dra. Simone de Carvalho Balian

De acordo: _____

Orientador

São Paulo

2012

Obs: A versão original se encontra disponível na Biblioteca da FMVZ/USP

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.2595
FMVZ

Baltazar, Camila

Qualidade do Bacalhau Salgado Seco comercializado em temperatura ambiente e refrigerado / Camila Baltazar. -- 2012.
81 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, São Paulo, 2012.

Programa de Pós-Graduação: Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses.

Área de concentração: Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses.

Orientador: Profa. Dra. Simone de Carvalho Balian.

1. Bacalhau salgado seco. 2. Refrigeração. 3. Temperatura ambiente. 4. Qualidade. 5. Comércio. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Qualidade do bacalhau salgado seco comercializado em temperatura ambiente e refrigerado", protocolado sob o nº 2169/2011, utilizando amostras de bacalhau salgado, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Simone de Carvalho Balian, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 4/5/2011.

We certify that the Research "Quality of dried salt cod commercialized at ambient temperature and refrigerated", protocol number 2169/2011, utilizing samples of salt cod, under the responsibility Profa. Dra. Simone de Carvalho Balian, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethic Committee in the use of animals" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 5/4/2011.

São Paulo, 13 de março de 2012.

Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: BALTAZAR, Camila

Título: Qualidade do bacalhau salgado seco comercializado em temperatura ambiente e refrigerado

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Mestre em Ciências

Data: __/__/____

Banca examinadora

Prof. Dr. _____
Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____
Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____
Instituição: _____ Julgamento: _____

*Dedico esta dissertação aos meus pais Luíz e Cecília
que dedicaram suas vidas à minha.*

*Ao meu esposo Wagner,
pela compreensão, incentivo e amor.*

Agradecimentos

A Deus por minha saúde e por oportunidades incríveis como esta.

Ao meu irmão Marcelo e irmã Sarah, pela amizade e constante dedicação.

Aos familiares e amigos, sempre presentes e reconfortantes.

Aos médicos veterinários e amigos Ana Queiroz Alves, Camila Diniz Fontanesi, Cássia Martins Neves, Gustavo Heidy Yamashita e Leandro Lopes Camillo, pelo apoio e colaboração neste trabalho.

Ao Instituto Biológico do Estado de São Paulo e à Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, em especial às Dras. Simone Miyashiro e Rosa Maria Cerdeira Barros, pela atenção e profissionalismo.

A toda equipe do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal da FMVZ-USP, por me acolherem como graduanda, residente e mestranda.

A querida Sandra A. Sanches, por toda ajuda técnica, pela paciência e profunda dedicação durante o desenvolvimento de todo trabalho.

A Profa. Dra. Simone de Carvalho Balian, pela orientação, aprendizado, oportunidade e confiança.

RESUMO

BALTAZAR, C. **Qualidade do bacalhau salgado seco comercializado em temperatura ambiente e refrigerado**. [Quality of dried salt cod commercialized at ambient temperature and refrigerated]. 2012. 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

O comércio varejista brasileiro expõe o bacalhau salgado seco inteiro ou porcionado sem refrigeração. Esta condição, tradicionalmente aceita pelos consumidores, contraria as especificações do fabricante de manter o produto sob refrigeração, o que frequentemente gera conflitos entre as autoridades sanitárias e o comércio. Perante este fato, o presente estudo avaliou parâmetros microbiológicos e físico-químicos de 56 amostras de bacalhau obtidas no município de São Paulo, armazenadas sob refrigeração (0 a 5°C) e em temperatura ambiente (20°C a 25°C), nos tempos zero, sete e 14 dias de armazenamento. As amostras foram agrupadas em 4 categorias: A-amostras refrigeradas não manipuladas e B, C e D manipuladas, respectivamente, com zero, 7 e 14 dias de armazenamento em temperatura ambiente. A temperatura ambiente variou de 20,5 a 23,5°C e a umidade relativa do ar de 52,5 a 67%. Pesquisaram-se: *Staphylococcus coagulase positiva*, *Clostridium sulfito redutores*, *coliformes totais e termotolerantes*, *Salmonella spp*, bolores, leveduras e bactérias halofílicas. As análises físico-químicas realizadas foram: umidade, pH, atividade de água (Aa) e resíduo mineral fixo. Não houve diferenças nos resultados obtidos entre as 4 categorias e estes apresentaram-se dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira. Com relação às análises físico-químicas também não houve diferença estatística entre as 4 categorias. Os valores médios obtidos, por categoria, foram: A: 54,9% de umidade; Aa=0,748; pH=6.0; B: 54,0% de umidade; Aa=0,749; pH=6.0; C: 49,1% de umidade; Aa=0,749; pH=6.0 e para a categoria D: 50,7% de umidade; Aa=0,748; pH=6.0 e 21,6% de resíduo mineral fixo. Todos os valores de umidade encontrados estavam acima do padrão (45%); os valores de pH obtidos estavam de acordo com o padrão (6 a 7) e os valores de resíduo mineral fixo contemplaram a

legislação vigente (mín. 10%). Com relação à Aa, os valores sugerem que esta é uma importante barreira para o desenvolvimento microbiano e, embora não haja padrão para este parâmetro, julga-se necessário determinar um valor referência como limite máximo. Conclui-se que, nas condições do presente estudo, o comércio do bacalhau salgado seco mantido sob refrigeração ou em temperatura ambiente por 14 dias oferece as mesmas condições de segurança sanitária para o consumidor.

Palavras-chave: Bacalhau salgado seco. Refrigeração. Temperatura ambiente. Qualidade. Comércio.

ABSTRACT

BALTAZAR, C. **Quality of dried salt cod commercialized at ambient temperature and refrigerated.** [Qualidade do bacalhau salgado seco comercializado em temperatura ambiente e refrigerado]. 2012. 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

The Brazilian retail exposes the dried salt cod, whole or portioned without refrigeration. This condition is traditionally accepted by consumers, contrary to the manufacturer specifications to keep the product refrigerated, which often create conflicts between health authorities and traders. Given this fact, this study evaluated microbiological parameters and physico-chemical properties of 56 samples of cod collected in São Paulo, stored refrigerated (0-5 ° C) and ambient temperature (20 ° C to 25 ° C), for zero, seven and 14 storage days. The samples were grouped into four categories: A-refrigerated samples unmanipulated and B, C and D manipulated, respectively, zero, 7 and 14 days of storage at ambient temperature. The temperature ranged from 20.5 to 23.5 ° C and relative humidity from 52.5 to 67%. The following investigations were conducted: coagulase positive *Staphylococcus*, *Clostridium* sulfite reducer, total and fecal coliforms, *Salmonella* spp, molds, yeasts and bacteria halophilic. The following physic chemical analyzes were carried out: moisture, pH, water activity (Aw) and ash. The results presented no differences between the four categories and respected the limits established by Brazilian legislation. With respect to physical and chemical analyzes, they also showed no statistical differences among the four categories. The average results for each category were: A: 54.9% moisture, Aa = 0.748, pH = 6.0, B: 54.0% moisture, Aa = 0.749, pH = 6.0, C: 49.1% moisture, Aa = 0.749, pH = 6.0 and for D: 50.7% moisture, Aa = 0.748, pH = 6.0 and 21.6% of ash. All results had higher humidity values compared to the standard threshold (45%), pH results were obtained in accordance with the pattern limits (6-7) and the ash results contemplated the legislation limit (min. 10%). With respect to Aa,

the figures suggest that this is an important barrier to microbial growth and, although there is no standard limits for this parameter, it is necessary to determine a reference threshold for this parameter. We conclude that, under the conditions of the present study, the trade of dried salt cod kept refrigerated or at ambient temperature for 14 days offer the same health and safety conditions for the consumer.

Key-words: Dried salt cod. Refrigeration. Ambient temperature. Quality.Trading.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	13
3 REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1 Cultura do consumo de bacalhau no Brasil e Saúde Pública	14
3.2 Legislação	15
3.3 Avaliação físico-química	22
3.4 Avaliação microbiológica	23
4 MATERIAIS E MÉTODOS	27
4.1 Etapa 1- Descrição do sistema de comercialização do bacalhau na cidade de São Paulo	27
4.2 Etapa 2- Avaliação físico-química e microbiológica	29
4.3 Metodologia da coleta	31
4.4 Metodologia das análises-físico químicas	35
4.4.1 Monitoramento de temperatura ambiente e umidade relativa do ar	35
4.4.2 Resíduo Mineral Fixo	37
4.4.3 Umidade	37
4.4.4 pH	39
4.4.5 Atividade de Água (Aa)	40
4.5 Metodologia das análises microbiológicas	41
4.5.1 Preparação da amostra para as análises microbiológicas	42
4.5.2 Contagem de <i>Clostridium</i> sulfito redutores	44
4.5.3 Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	45
4.5.4 Contagem de bolores e leveduras	47
4.5.5 Contagem de bactérias halofílicas	48
4.5.6 Número Mais Provável de coliformes totais e termotolerantes	49
4.5.7 Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.	50
4.5.8 Pesquisa de parasitas	51
4.6 Análise estatística	52
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
5.1 Resultados Etapa 1 – Descrição do sistema de comercialização do bacalhau na cidade de São Paulo	53
5.1.1 Bacalhau: um alimento milenar	53
5.1.2 A industrialização na Noruega	55
5.1.3 A pesca do bacalhau em Portugal	56
5.1.4 O consumo de bacalhau no Brasil	56
5.1.5 Industrialização do legítimo bacalhau	57
5.1.6 Fatores que levam ao aumento do tempo de vida útil do produto	62
5.1.7 Importação	63
5.1.8 O Bacalhau Brasileiro	66
5.2 Resultados Etapa 2 : Avaliação físico-química e microbiológica	67
5.2.1 Resultados da avaliação físico-química	67
5.2.2 Resultados da avaliação microbiológica	74
6 CONCLUSÕES	77
REFERÊNCIAS	78

1 INTRODUÇÃO

No município de São Paulo é de longa data a assimetria de conceitos e condutas entre a vigilância sanitária de alimentos e o comércio varejista de peixe salgado seco, conhecido como bacalhau. Este fato ocorre porque tradicionalmente o comércio realiza a exposição do produto, inteiro ou porcionado, em temperatura ambiente, contrariando as informações técnicas de condições de armazenamento e prazo de validade determinadas pelos fabricantes, infringindo, portanto, a legislação.

As atividades de fiscalização pelas autoridades sanitárias são priorizadas considerando o risco à saúde, com a prerrogativa de aplicar a legislação sanitária (SÃO PAULO, 2004).

Através deste estudo pretende-se responder às seguintes questões: o bacalhau salgado seco comercializado em temperatura ambiente coloca em risco a segurança sanitária do produto? Qual a diferença da qualidade físico-química, higiênica e sanitária entre o bacalhau salgado seco refrigerado e aquele mantido em temperatura ambiente? A literatura científica é escassa para responder a questões que, uma vez sem respostas, dificultam assumir uma conduta padronizada tanto por parte dos comerciantes, quanto dos técnicos visando qualidade e segurança.

Sob esta ótica, realizaram-se a descrição da cadeia produtiva e da distribuição do bacalhau salgado seco, e análises físico-químicas e microbiológicas em amostras do comércio varejista do produto mantido em temperatura ambiente e refrigerado, sob condições experimentais controladas. Assim, buscou-se verificar a qualidade higiênico-sanitária do produto quando exposto a esta condição de venda e se esta condição compromete sua segurança sanitária.

2 OBJETIVOS

- Descrever o sistema de comercialização do bacalhau na cidade de São Paulo.

- Confrontar a qualidade físico-química e microbiológica do bacalhau armazenado sob refrigeração (entre 0 e 5°C) e sob temperatura e umidade ambiente (entre 20°C e 25°C e entre 52 e 67% UR), em três momentos da vida de prateleira do produto.

3 REVISÃO DE LITERATURA

Habitualmente o comércio varejista brasileiro expõe o bacalhau salgado seco para venda, inteiro ou porcionado em bandejas, em temperatura ambiente, ou seja, sem refrigeração. Esta condição, embora tradicional e culturalmente aceita pelos consumidores, contraria as informações técnicas de condições de armazenamento e prazo de validade determinadas pelos fabricantes, o que causa transtornos entre autoridades sanitárias e o comércio varejista, aspectos sobre os quais discorreremos.

3.1 Cultura do consumo de bacalhau no Brasil e Saúde Pública

A forma de comercialização de um determinado alimento está fortemente associada à maneira como foi introduzido na cultura de um povo e não exclusivamente por necessidades tecnológicas de conservação e prolongamento de sua vida de prateleira. A cultura influencia o comportamento social e diversifica enormemente a humanidade, apesar de sua comprovada unidade biológica (LARAIA, 2007).

O determinismo geográfico considera que as diferenças do ambiente físico condicionam a diversidade cultural. São explicações existentes desde a antiguidade, teorias desenvolvidas principalmente por geógrafos no final do século XIX e no início do século XX que ganharam grande popularidade (LARAIA, 2007). A partir de 1920, antropólogos como Boas, Wissler, Kroeber, entre outros, refutaram este tipo de determinismo e demonstraram que existe uma limitação na influência geográfica sobre os fatores culturais e que é possível e absolutamente comum existir uma grande diversidade cultural localizada em um mesmo tipo de ambiente físico (LARAIA, 2007).

As diferenças existentes entre seres humanos, portanto, não podem ser explicadas pelas limitações que lhes são impostas através do seu aparato biológico ou do meio ambiente (LARAIA, 2007).

O ser humano tem a capacidade de questionar os seus próprios hábitos e modificá-los, porém o isolamento retarda a velocidade de mudanças, enquanto a rapidez de fluxo de

informação e complexidade social acelera seu processo, resultando em sucessivas inovações (LARAIA, 2007).

Essa modificação talvez ocorra raciocinando-se em termos de padrões ideais e padrões reais de comportamento, já que nem sempre os padrões ideais podem ser efetivados (LARAIA, 2007). Neste contexto observamos que as tecnologias aplicadas à conservação de alimentos precisam adaptar-se às necessidades culturais de seu público consumidor, uma vez que determinadas intervenções tecnológicas podem provocar alterações organolépticas e sensoriais que descaracterizam o alimento para o consumidor.

A escolha do que será considerado "alimento" e de como, quando e por quem será consumido, está relacionada com uma classificação estabelecida culturalmente do que pode ser denominado alimento ou não. Há também a escolha da sua apresentação, como cru, cozido, assado, vivo ou em avançado estágio de deterioração, e da técnica utilizada para preservação, como salgado, defumado, congelado, entre outros (MACIEL, 2001).

A consideração da realidade do comércio de um produto, atendendo às exigências de seu público consumidor, é fundamental para o sucesso de qualquer intervenção tecnológica, mesmo que seja aparentemente simples, como exigir o comércio refrigerado de um produto que sempre foi comercializado em temperatura ambiente, neste caso o bacalhau.

3.2 Legislação

Na alimentação do ser humano, o pescado é uma fonte de proteínas de alto valor biológico, tão importante quanto a carne bovina. Em muitos países, principalmente da Europa e Ásia, é a proteína de origem animal mais consumida. O teor proteico das diferentes espécies de peixes varia de 15% a 20% (GERMANO; GERMANO, 2001).

Alimento de fácil decomposição exige cuidados especiais por estar sujeito a diversas contaminações como endoparasitas, biotoxinas e bactérias, durante as diferentes etapas de captura, transporte e distribuição (GERMANO; GERMANO, 2001).

O controle de qualidade do pescado inicia-se com a inspeção sanitária da matéria-prima, estende-se aos entrepostos e sistemas de transporte, e por último às indústrias processadoras e comércio varejista (GERMANO; GERMANO, 2001).

O Brasil está entre os principais mercados consumidores mundiais de peixe salgado seco. Em 2009, importou da Noruega cerca de 30 mil toneladas desse produto, a um custo aproximado de 153 milhões de dólares (BRASIL, 2010).

No caso de peixes salgados ou salgados secos, a sua qualidade está intrinsecamente vinculada à da matéria-prima, ao método de salga, ao controle da temperatura e da umidade durante o transporte, entre outros requisitos do processamento (ANVISA, 2007).

Entende-se por peixe salgado seco o produto elaborado com peixe limpo, eviscerado, com ou sem cabeça, convenientemente tratado pelo sal (cloreto de sódio), com ou sem aditivos, não podendo conter mais de 40% de umidade para as espécies consideradas gordas, tolerando-se 5% a mais de umidade para as espécies consideradas magras (BRASIL, 2000).

Entretanto, no artigo 465 do RIISPOA, pescado salgado seco é o produto obtido pela dessecação do pescado íntegro tratado previamente pelo sal (cloreto de sódio) que não deve conter mais de 35% (trinta e cinco por cento) de umidade, nem mais de 25 (vinte e cinco por cento) de resíduo mineral fixo total (BRASIL, 1952). Embora ainda haja essa discussão em relação ao teor de umidade do produto, admite-se 45% como referência de umidade para o bacalhau salgado seco (BRASIL, 2000).

O *Gadus morhua* (cod) (LINNAEUS, 1758) é o legítimo bacalhau, também conhecido no Brasil como “bacalhau do Porto” ou “bacalhau do Porto Morhua”. É pescado no Atlântico Norte e considerado o mais nobre bacalhau, produto com altíssimo valor agregado (ANVISA, 2007). A denominação bacalhau também é utilizada para peixes salgados secos pertencentes ao gênero *Gadus macrocephalus*; as outras espécies, da família Gadidae (*Saithe*, *Ling* e *Zarbo*) também submetidas à salga, são peixes salgados, porém erroneamente denominados “bacalhau” (BRASIL, 2007; LIMA; SANT’ANA, 2011).

A comercialização desse tipo de produto deve atender a determinados padrões, baseados principalmente nos níveis de sal e umidade (LIMA; SANT’ANA, 2011).

Salga e secagem são técnicas antigas de conservação de pescado e objetivam essencialmente prolongar a vida de prateleira do alimento (FUENTES et al., 2008).

O objetivo dessa operação é diminuir a atividade de água (Aa) do produto para aumentar sua estabilidade microbiana, química, bioquímica e também para contribuir para o desenvolvimento de características desejáveis de aroma e sabor nos produtos (CHIRALT; FITO; BARAT, 2001).

Em um estudo realizado em 2011 com objetivo de analisar os teores de umidade, atividade de água e sal em bacalhau do Atlântico, bacalhau do Pacífico e peixes salgados secos, *Ling*, *Zarbo* e *Saithe* importados, observou-se que os limites legais de sal são muito

inferiores aos valores encontrados nas análises. Os teores de umidade estabelecidos para categorias de salga, conforme determinado pela legislação portuguesa, são mais confiáveis e sugeriu-se a inclusão da atividade de água como parâmetro de avaliação destes produtos (LIMA; SANT'ANA, 2011).

Em outro estudo com objetivo de verificar através de parâmetros físico-químicos a qualidade do peixe salgado seco (bacalhau) comercializado na Cidade do Rio de Janeiro, avaliaram-se 20 amostras de bacalhau do mercado varejista e observaram valores de umidade acima do limite máximo permitido em 75% das amostras. Os valores de Aa variaram entre 0,70 e 0,84, com pH predominante entre 5,7 e 6,0. Os valores de Bases Voláteis Totais (BVT) variaram de 1,76 a 10,58 mgN/100g. A quantidade de resíduo mineral fixo total foi maior do que o limite estabelecido em 25% das amostras e o índice de cloreto foi superior ao valor estabelecido em 100% das amostras analisadas. Em 14 de 20 amostras foi determinada a presença de ranço oxidativo; em uma amostra observou-se a ocorrência de fraude pela adição de sulfito de sódio, e em outra amostra a presença de histamina em quantidade de 2 a 5mg/100g. De modo geral os autores concluíram que a qualidade do bacalhau disponível ao consumo apresentou-se insatisfatória (MARISCO et al., 2009).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) classifica como não conformidades encontradas no bacalhau os seguintes indicadores (ANVISA, 2007):

- **vermelhão** – indicador de desenvolvimento de bactérias halofílicas, resultante de armazenagem incorreta, com perda e ganho de umidade ou calor excessivo;
- **bolor** – indicador de excesso de umidade ou calor excessivo;
- **deterioração** – indicador de bactérias deteriorantes e perceptível por limosidade superficial, amolecimento da carne e odor pútrido.

Durante as inspeções sanitárias questiona-se também a real gravidade de infestações deste pescado por endoparasitas, além dos aspectos já apontados.

Sobre este questionamento, os fornecedores noruegueses de bacalhau afirmam que o processo tecnológico da salga seria suficiente para inativar qualquer endoparasita presente no pescado, pronunciando-se como destacado (NORUEGA, 1997):

“ Uma das principais tarefas do Serviço de Controle da Qualidade e Inspeção de Peixes é garantir a integridade e a boa qualidade de peixes e produtos pesqueiros exportados a partir da Noruega. Visando isso, são realizadas análises químicas, físicas, microbiológicas e sensoriais. Os parasitas *Pseudoterranova decipiens*, *Phocascaris* spp e *Contracaedum* spp existem na maior parte das águas marinhas em todo o mundo, onde se pratica a pesca do bacalhau. No entanto, há algumas áreas mais seriamente afetadas que outras. Os parasitas podem ser encontrados na barriga ou mesmo na carne dos peixes, após haverem para ali migrado vindo de mamíferos hospedeiros, como a foca. Contudo, mediante o processamento para fazer o peixe

integralmente salgado (antes de proceder-se à secagem para torná-lo bacalhau salgado e seco) ou mediante processo de congelamento profundo, fica garantido que os parasitas morrem, tornando-se bastante inofensivos em termos de consumo humano”.

Conforme determinado pelo Regulamento de Boas Práticas e de Controle de condições sanitárias e técnicas das atividades relacionadas a alimentos no município de São Paulo (Portaria Municipal 2619/11), a forma de armazenamento e exposição de venda de um produto industrializado deve seguir as especificações de temperatura e prazo de validade estipuladas no rótulo do fabricante (BRASIL, 2011):

Art.6.30: “Os alimentos resfriados devem ser armazenados conforme os prazos de validade e nas temperaturas indicadas pelos fabricantes na rotulagem.”

Art. 6.31.1. “Alimentos que não observarem os parâmetros de temperatura e tempo estabelecidos nos itens 6.29 e 6.30 devem ser descartados.”

Com relação à exposição para venda, o Art.9.16 da mesma Portaria regulamenta que:

“Os produtos vendidos a granel devem ser identificados, de forma visível e clara, fornecendo aos consumidores as seguintes informações:

- I. Denominação de venda do produto;
- II. Marca;
- III. Data de validade segundo a recomendação do fabricante.

A legislação portuguesa classifica como bacalhau as espécies: *Gadus morhua* (bacalhau do Atlântico), *Gadus macrocephalus* (bacalhau do Pacífico), *Gadus ogac* (bacalhau da Groenlândia); os demais produtos recebem a denominação de espécies afins (PORTUGAL, 2005).

A entrada da Noruega na produção de peixes salgados levou à alteração dos métodos de salga, diferindo dos tradicionais métodos de salga e secagem desenvolvidos pelos portugueses, sendo necessário estabelecer normas para a comercialização destes produtos.

Para se adequar aos novos tempos, Portugal, que hoje é um grande importador de bacalhau salgado da Noruega, elaborou novas regras para comercialização do bacalhau e

espécies afins, quando foram definidos os parâmetros legais para conteúdo de sal e teores de umidade nas seguintes categorias: salgado verde, salgado semiseco, salgado seco e salgado seco de cura amarela (PORTUGAL, 2005).

No Brasil, normas para comercialização de peixes salgados secos foram propostas em uma consulta pública, descritas no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Salgado e Peixe Salgado Seco (BRASIL, 2000), a partir do qual foi fixado um limite mínimo de 10% de sal e um máximo de 45% de umidade para peixes salgados secos magros.

O peixe pode dividir-se em três grupos consoante o teor de gordura: peixe magro, peixe de gordura moderada e peixe gordo. O peixe magro tem um teor de gordura inferior a 2% (BRASIL, 2000), o peixe de gordura moderada de 2 a 8% e o peixe gordo, mais de 8%, sendo o bacalhau um exemplo de peixe magro.

O *Codex Alimentarius* estabelece que os teores de sal em peixes salgados e secos não devem ser inferiores a 12% (WHO, 1989).

Em 2005, Portugal propôs uma nova legislação para bacalhau e espécies afins, classificando os peixes como salgado verde, o qual deve ter teor de sal igual ou superior a 16% e teor de umidade entre 51% e 58%; o bacalhau e as espécies afins classificadas como salgado semiseco devem ter teor de sal igual ou superior a 16% e teor de umidade entre 47% e 51%; o bacalhau e as espécies afins classificadas como salgado seco devem ter teores de sal iguais ou superiores a 16% e teores de umidade inferiores a 47% (PORTUGAL, 2005).

A legislação portuguesa determina pelo Decreto-Lei nº.25, de 28/01/2005 os seguintes parâmetros que regulam a comercialização do bacalhau e espécies afins, salgados verdes e secos (PORTUGAL, 2005):

Art.3º. Definições

- a. O Bacalhau Salgado Verde contém um teor de sal (cloreto de sódio) não superior a 16% e um teor de humidade superior a 51% e inferior ou igual a 58%.
- b. O Bacalhau Salgado Seco (forma mais comum de comércio) contém um teor de sal (cloreto de sódio) igual ou superior a 16% e um teor de umidade igual ou inferior 47%.

Art.5º. Formas de apresentação

O bacalhau salgado, verde, semiseco ou seco, e as espécies afins salgadas, verdes, semissecas ou secas, podem ser comercializados sob as seguintes formas de apresentação:

- a) Peixe inteiro — peixe sangrado, eviscerado, descabeçado e escalado;
- b) Meio peixe— uma das partes resultantes do corte longitudinal de um peixe inteiro, ao longo da coluna vertebral;
- c) Posta — porção de peixe obtida por cortes efetuados a um peixe ou a um meio peixe;
- d) Outras formas, desde que se distingam das referidas nas alíneas anteriores.

Artigo 6º. Comercialização

1 — O bacalhau salgado seco e as espécies afins salgadas secas podem ser comercializados:

- a) Pré-embalados — em qualquer forma de apresentação;
- b) Não pré-embalados — em peixes inteiros ou em meios peixes, que poderão apresentar-se em postas obtidas por cortes transversais e perpendiculares ao plano da coluna vertebral que, uma vez juntas, permitem reconstituir o peixe inteiro ou o meio peixe.

2 — O bacalhau salgado verde ou semiseco e as espécies afins salgadas verdes ou semissecas, em qualquer forma de apresentação, bem como os subprodutos do bacalhau e das espécies afins, designadamente badanas, bochechas, línguas, pedaços e samos, só podem ser comercializados pré-embalados.

3 — Uma embalagem não pode conter uma mistura de espécies de peixes diferentes.

4 — As embalagens utilizadas nos produtos pré-embalados devem permitir a visualização do seu conteúdo.

5 — As caras de bacalhau salgadas verdes podem ser comercializadas não pré-embaladas, desde que a sua exposição para venda seja feita de forma a não permitir o manuseio do produto pelo consumidor.

Artigo 9º. Temperaturas de armazenamento e de exposição para venda

Os produtos a que se refere o presente diploma devem ser mantidos às seguintes temperaturas máximas:

a) Na armazenagem:

- i) 4°C, o bacalhau e espécies afins, salgados, verdes e semissecos, e respectivos subprodutos;*
- ii) 7°C, o bacalhau e espécies afins, salgados secos, e respectivos subprodutos;*

b) Na exposição para venda:

- i) 4°C, o bacalhau e espécies afins, salgados, verdes e semissecos, e respectivos subprodutos;*
- ii) 7°C, o bacalhau e espécies afins, salgados secos, quando sejam comercializados pré-embalados ou não pré-embalados em postas.*

A legislação brasileira define os parâmetros de identidade e qualidade do bacalhau através da Portaria no. 52 de 2001 que, embora não publicada após consulta pública, propõe o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Salgado e Peixe Salgado Seco, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – Secretaria de Defesa Agropecuária (BRASIL, 2000).

O referido regulamento cita:

Art. 2.1.2. Entende-se por peixe salgado seco, o produto elaborado com peixe limpo, eviscerado, com ou sem cabeça e convenientemente tratado pelo sal (cloreto de sódio), com nível de saturação mínima de 95%, com ou sem aditivos, devidamente seco, não podendo conter mais de 40% de umidade para as espécies consideradas gordas, tolerando-se 5% a mais de umidade para as espécies consideradas magras.

Art. 4.2.3 Os peixes salgados e/ou salgados secos devem ser convenientemente embalados e posteriormente armazenados em temperatura não superior a +5°C, sob a qual o produto deverá ser mantido durante o transporte, estocagem e distribuição, até o momento da sua venda final.

Art. 4.2.6.2. Peixe Salgado Seco Umidade:

Peixe gordo (*) - máximo de 40%.

Peixe magro - máximo de 45%.

Teor de Sal (Cloreto de Sódio) - mínimo de 10%.

(*) O peixe é considerado gordo quando contém na carne mais de 2% de gordura ou óleo.

Art. 7.1.2. O peixe utilizado na elaboração dos produtos deve ser submetido aos processos de inspeção prescritos no RIISPOA - Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal.

Art.7.2. Critérios Macroscópicos: O produto não deve conter materiais estranhos ao processo de industrialização, parasitas visíveis que possam comprometer a sua qualidade, causar repugnância ou que sejam nocivos para o homem.

Art. 7.3. Critérios Microbiológicos: Aplica-se a legislação vigente. O produto final deve estar isento de microrganismos capazes de se desenvolver nas condições normais de armazenamento, distribuição e comercialização, e não deve conter nenhuma substância, inclusive aquelas derivadas de microrganismos e em quantidades que possam se constituir em perigo para a saúde.

3.3 Avaliação físico-química

O processo de autólise ocorre com a ação de enzimas do próprio tecido muscular. Esse processo pode ser retardado através de tratamentos ou cuidados que devem ser tomados após a captura do pescado, como refrigeração, congelamento, processos térmicos e salga, por exemplo. É importante compreender o processo de autólise para que seja possível manter o grau de frescor por mais tempo (VIEIRA 2003).

Após a morte, há queda no nível de ATP intracelular, até esgotamento total. Quando esse valor chega a 1.0 $\mu\text{moles/g}$ de tecido, o músculo entra em *rigor mortis*. Os momentos que precedem a morte são determinantes para a qualidade da carne do peixe. Atividade física e estresse variam de acordo com a técnica de pesca. O estresse intenso no momento da pesca leva à rápida instalação do *rigor mortis* devido a acelerada degradação de reservas de glicogênio e acúmulo de ácido láctico, dando início, precocemente, às alterações de propriedades físicas do tecido muscular, com perda de água e consequente perda da maciez da carne (HUSS, 1995; VIEIRA, 2003).

O processo de decomposição do pescado, como atividade enzimática e a ação de bactérias, causa as modificações do pH, ou seja, na concentração de íons de hidrogênio livres. Pode-se dizer que valores de pH próximos a 7,0 são indicativos de decomposição e conforme esses valores aumentam (de neutro a alcalino), o produto torna-se impróprio para consumo (OGAWA; MAIA, 1999).

O pescado possui alto teor de proteínas e outros compostos com nitrogênio e diferentes níveis de gordura, sempre inferiores ao da carne bovina. Os compostos nitrogenados podem ou não estar na forma de proteínas, como: aminoácidos livres, bases voláteis nitrogenadas (amônia e trimetilamina) e histaminas (JAY, 2005; VIEIRA, 2003).

3.4 Avaliação microbiológica

A microbiota do pescado recém-capturado reflete a da água onde vive. Quanto mais poluídas as águas, mais variada será a microbiota do pescado. A origem do pescado é importante, pois em águas onde ocorre despejo de esgotos domésticos e industriais, ele pode revelar a má qualidade da água, transmitindo agentes patogênicos e tóxicos aos consumidores desse pescado. Outro importante fator na contaminação do pescado é seu manejo desde o momento da captura, a bordo e em todas as fases do processamento até sua destinação final (AHMED, 1991; GERMANO; GERMANO; 2001; VIEIRA, 2003; JAY, 2005;).

Microrganismos podem ser encontrados normalmente nas superfícies externas (brânquias, pele e muco) e nos intestinos de peixes vivos e recém-capturados (HUSS, 1995; JAY, 2005). Teoricamente, os tecidos internos de peixes vivos são considerados estéreis (JAY, 2005).

A contaminação do músculo ocorre provavelmente devido a difusão de enzimas bacterianas para o músculo e de nutrientes para fora dele, pois apenas uma pequena quantidade de bactérias atinge o músculo, no início a multiplicação microbiana ocorre principalmente na superfície (HUSS, 1995).

A decomposição bacteriana ocorre de maneira mais acentuada que a autolítica após o *rigor mortis*. Com a morte, a autólise se instala e a superfície do peixe fica permeável às bactérias. Com a liberação de compostos como, por exemplo, açúcares simples, aminoácidos livres e ácidos graxos livres há o estabelecimento de um meio nutritivo para a multiplicação bacteriana (VIEIRA, 2003).

A temperatura da água é fator determinante para a microbiota do pescado, a qual influenciará em seu tempo de vida útil (VIEIRA, 2003). A multiplicação microbiana se inicia primeiro (logo após a morte) para peixes capturados em águas temperadas e mantidos em gelo do que em relação aos peixes capturados em águas tropicais e mantidos em gelo. Apesar disso, ambos alcançarão o mesmo nível de carga microbiana na deterioração em até duas ou três semanas (HUSS, 1995).

Para a comercialização do pescado, este deve atender a determinados parâmetros microbiológicos. A ANVISA estabeleceu através da Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, item 7c, que em pescado seco e ou salgado deve haver ausência de *Salmonella* spp para 25g de amostra; limite máximo para coliformes termotolerantes de 10^2 /g de amostra e limite máximo para *Staphylococcus* coagulase positiva de 5×10^2 /g de amostra, em cinco amostras de um mesmo lote (ANVISA, 2001). Embora não contemplado pela Resolução RDC nº 12, o limite para *Clostridium* sulfito redutores em pescado em geral é de no máximo 2×10^3 /g de amostra, segundo o Decreto Estadual 12.486 de 1978 (SÃO PAULO, 1991).

Três gêneros fazem parte do grupo dos coliformes termotolerantes *Escherichia* spp, *Klebsiella* spp e *Enterobacter* spp. Desses, apenas a *E. coli* possui como habitat primário o trato intestinal do homem e de animais, enquanto que os outros dois gêneros podem ser encontrados em vegetais e solo (VIEIRA, 2003).

A *Escherichia coli* é a principal bactéria do grupo dos coliformes termotolerantes. É associada a diarreias, podendo apresentar quadros graves, como colite hemorrágica, septicemia e síndrome urêmica-hemolítica (GERMANO; GERMANO; 2001). A presença dessa bactéria em pescado está relacionada à contaminação fecal da água do local de pesca e/ou transporte e manipulação (VIEIRA, 2003).

Consideradas causas mais importantes das doenças transmitidas por alimentos, as salmoneloses são infecções causadas pelas bactérias do gênero *Salmonella* spp. A

contaminação de produtos alimentícios como o pescado, pode ocorrer por manipulação ou contaminação cruzada desde o barco de pesca, plantas industriais até o ponto de venda. O principal reservatório de salmonelas é o trato intestinal do ser humano e de animais de sangue quente e frio, com exceção de peixes, moluscos e crustáceos, os quais podem vir a se contaminar após a pesca. As aves são os reservatórios mais importantes desse microrganismo (GERMANO; GERMANO; 2001; VIEIRA, 2003).

Os alimentos contêm uma população microbiana mista. Cada um dos componentes desta população geralmente mostra uma progressão similar ao que se observa nos cultivos puros ou em lotes. A velocidade de crescimento de cada organismo depende de muitos fatores, o que influencia notavelmente o caráter da população que finalmente predominará (MOSSEL; GARCÍA; STRUIJK 2003). Esses fatores podem ser classificados em quatro principais grupos:

1. Fatores intrínsecos: aqueles que dependem das características do substrato de crescimento, ou seja, do próprio alimento. Incluem parâmetros químicos, como a quantidade de água disponível aos microrganismos (Aa); tipos e níveis de nutrientes; pH e capacidade tampão; presença de substâncias antimicrobianas naturais e a estrutura dos tecidos dos alimentos (MOSSEL; GARCÍA; STRUIJK, 2003).

2. Fatores de tratamento ou processamento: aqueles que são consequência dos tratamentos aplicados durante a elaboração dos alimentos, tanto em escala industrial quanto doméstica, que modificam primariamente a composição microbiana, como: os tratamentos que causam a sua morte, por exemplo, o aquecimento e a irradiação, e as mudanças de pH provocadas pela adição de acidulantes ou de microrganismos que produzem ácidos (MOSSEL; GARCÍA; STRUIJK, 2003).

3. Fatores extrínsecos: impostos pelo meio exterior, como a temperatura ambiente e a umidade do ar (MOSSEL; GARCÍA; STRUIJK, 2003).

4. Fatores implícitos: estes fatores dependem da microflora particular dominante que inicialmente se desenvolve em resposta aos fatores intrínsecos, extrínsecos e tratamentos. Os efeitos implícitos podem ser sinérgicos ou antagônicos, sendo que os sinérgicos alteram as condições que favoreçam o desenvolvimento de um grupo de microrganismos. Isto pode ocorrer como consequência de um microrganismo liberar substâncias inibidoras para outro ou

que produza fatores de crescimento para outro. Pode também ocorrer pela alteração de pH ou do conteúdo de água por ação microbiana (MOSSEL; GARCÍA; STRUIJK, 2003).

A estabilidade microbiana dos alimentos, ou seja, sua segurança ou inocuidade microbiológica dependem da combinação dos efeitos exercidos pelos quatro grupos de fatores mencionados, os quais são utilizados de maneira intencional para conservá-los.

As alterações organolépticas (limosidade, mau cheiro e cor avermelhada) causadas no bacalhau por bactérias halofílicas são uma reclamação frequente entre os consumidores.

As bactérias halofílicas são Gram negativas, aeróbicas estritas e necessitam de altas concentrações de sal para suas atividades enzimáticas, para a estabilidade de membranas e ribossomos e para síntese proteica, enfim para sua sobrevivência e multiplicação. Embora não sejam patogênicas são encontradas em alimentos salgados produzindo uma limosidade de odor extremamente desagradável e de coloração vermelha devido ao pigmento que produzem, a bactorrubeína (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Podem ser didaticamente agrupadas em levemente halofílicas, quando necessitam de um meio que contenha de 0,5% a 3% de sal; moderadamente halofílicas, com crescimento ótimo em meios contendo de 3% a 15% de sal e as extremamente halofílicas, quando necessitam de meios que contenham 15% a 30% de sal (BAROSS, 2001).

Considerando que a legislação exige uma concentração mínima de 10% de sal no bacalhau salgado seco, decidiu-se por pesquisar neste estudo o grupo de bactérias moderadamente halofílicas.

Até o ano de 2011 não foram estabelecidos limites para bactérias halofílicas, bolores e leveduras, entretanto estes microrganismos são indicadores higiênico-sanitários fundamentais para o acompanhamento da qualidade do bacalhau em cada uma das etapas do processo produtivo e de distribuição, por esse motivo rotineiramente as autoridades sanitárias utilizam-se desses indicadores para avaliação deste produto.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

A descrição do sistema de comercialização caracterizou-se como um estudo exploratório, considerando-se as classificações propostas por Gil, 1996 e Triviños, 2001.

A pesquisa exploratória é utilizada para realizar um estudo preliminar do principal objetivo da pesquisa, ou seja, familiarizar-se com o fenômeno investigado, de modo que pesquisas subsequentes possam ser realizadas com uma maior compreensão e precisão (GIL, 1996). Foram utilizados levantamento bibliográfico e entrevistas com pessoas que tiveram experiências práticas com o problema pesquisado, proporcionando uma visão geral do fato em estudo (GIL, 1996; TRIVIÑOS, 2001).

4.1 Etapa 1 – Descrição do sistema de comercialização do bacalhau na cidade de São Paulo

A escassez de publicações sobre a cadeia produtiva e de consumo do bacalhau no mercado brasileiro motivou a realização do levantamento de alguns aspectos históricos relativos à produção, comercialização e consumo do bacalhau na cultura brasileira. Buscou-se descrever como esse produto foi introduzido no país e exposto pelo comércio varejista, frente a constante problemática da quebra da cadeia de frio nesta última etapa.

Para elaboração de fluxogramas que pudessem descrever a cadeia produtiva e de consumo do bacalhau foi realizada pesquisa bibliográfica e a campo.

A pesquisa bibliográfica foi organizada considerando-se os seguintes tópicos:

- Definição do produto
- Origem
- Espécies utilizadas
- Industrialização
- Etapas do processamento
- Logística de importação: consumo no Brasil

A pesquisa a campo foi realizada através do contato com responsáveis técnicos de redes varejistas de supermercados que comercializassem o bacalhau na cidade de São Paulo no período de Novembro/2010 a Abril/2011, época de maior consumo deste produto na cidade devido ao natal e à páscoa. A proposta desta pesquisa foi apresentada a cinco grandes redes varejistas, verificando-se quais destas aceitariam participar do estudo. Duas redes aceitaram, entretanto apenas uma delas dispunha de informações suficientes para realizarmos a rastreabilidade do bacalhau, assim, houve a possibilidade de realizarmos a pesquisa com apenas uma rede, composta por sete lojas varejistas.

Os pré-requisitos estabelecidos às empresas para que participassem da pesquisa foram:

-as amostras deveriam partir de caixas lacradas, oriundas de entrepostos frigoríficos com SIF;

-a manipulação do produto deveria ser acompanhada no momento da coleta (não seriam coletadas amostras no varejo previamente embaladas, ou de peças expostas para manuseio do consumidor);

-as amostras deveriam ser oriundas de diversas lojas de uma mesma rede, ou seja, cuja origem do bacalhau pudesse ser identificada e comparável.

Estes pré-requisitos foram estipulados para que as amostras pudessem ser comparáveis entre si, ou seja, para minimizar as interferências de fatores externos como analisar um produto previamente embalado que tivesse sofrido manipulação em momentos e condições diferenciadas e desconhecidas, o que poderia trazer dúvidas a respeito dos resultados obtidos, ou até mesmo, obter amostras fraudadas, que não fossem realmente de bacalhau.

Foram realizadas visitas técnicas às sete lojas que compunham a rede participante da pesquisa, todas localizadas no município de São Paulo, com acompanhamento do responsável técnico, durante as quais se coletaram amostras do produto, registrando as seguintes informações:

- Tipo de transporte para distribuição no varejo
- Formas de armazenamento no varejo
 - local
 - embalagem
 - controle de temperatura

controle de umidade

controle de validade

- Formas de exposição de venda no varejo

Foi realizada também visita técnica ao entreposto frigorífico que armazenava e distribuía o produto, localizado nos municípios de Guarujá e São Paulo.

Realizou-se entrevista com o responsável técnico deste local, bem como com o corpo fiscal do Serviço de Inspeção Federal – SIF do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), estabelecido neste entreposto, abordando os seguintes tópicos:

- Países fornecedores
- Periodicidade de recebimento
- Transporte de importação
- Exigência legal
- Análises fiscais realizadas
- Critérios de aprovação e reprovação de lotes
- Formas de armazenamento no entreposto
 - local
 - embalagem
 - controle de temperatura
 - controle de umidade
 - controle de validade

4.2 Etapa 2 – Avaliação físico-química e microbiológica

Neste estudo o elemento amostral foi constituído de uma porção de 200g de bacalhau salgado seco obtido em sete supermercados varejistas no município de São Paulo, no período de 19 de maio a 04 de julho de 2011, que a partir de agora será denominado “amostra”.

Inicialmente buscaram-se amostras de diferentes caixas lacradas de uma mesma loja, entretanto, as lojas trabalhavam apenas com uma caixa lacrada por vez, devido a cada uma delas conter 50 Kg do produto e este ser de alto valor agregado. Portanto, foi possível obter apenas uma caixa lacrada por loja, da qual se retiraram as amostras.

Assim, foram avaliadas 56 amostras de bacalhau salgado seco, organizadas em grupos de 14 unidades, avaliados da seguinte maneira:

- 14 amostras obtidas diretamente das caixas lacradas enviadas pelo fornecedor e armazenadas sob refrigeração (0 a 5°C), denominadas grupo 1;
- 14 amostras manipuladas, embaladas em bandejas de isopor com filme plástico e logo em seguida processadas no laboratório (zero dia de armazenamento em temperatura e umidade ambiente), denominadas grupo 2;
- 14 amostras manipuladas, embaladas em bandejas de isopor com filme plástico, processadas após sete dias de armazenamento em temperatura e umidade ambiente (20°C a 25°C e 52 a 67% de umidade relativa do ar), denominadas grupo 3;
- 14 amostras manipuladas, embaladas em bandejas de isopor com filme plástico, processadas após 14 dias de armazenamento em temperatura e umidade ambiente (20°C a 25°C e 52 a 67% de umidade relativa do ar), denominadas grupo 4.

As amostras armazenadas para avaliações com sete e 14 dias foram mantidas na embalagem original utilizada pelo supermercado sobre uma bancada no Laboratório de Higiene e Inspeção de Alimentos da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade de São Paulo (FMVZ-USP).

A temperatura do ambiente, da amostra e a umidade relativa do ar foram monitoradas por todo período de armazenamento. Este período foi subdividido em semanas, considerando que as amostras eram submetidas às análises a cada sete dias, sendo assim, denominamos o período de estudo em semana 1, 2, 3, 4, 5, 6, e 7.

O esquema a seguir ilustra o plano amostral descrito (Figura 1). Os números de 1 a 4 identificam cada um dos grupos citados.

Figura 1 – Sequencia de obtenção de amostras, identificando os grupos 1, 2, 3 e 4

4.3 Metodologia da coleta

A coleta das amostras foi realizada em sete lojas do mercado varejista no município de São Paulo. O prazo de validade padrão do produto para as sete lojas era de 15 dias a contar da data da embalagem, exposto para venda em temperatura ambiente.

Em cada uma das lojas o procedimento seguido foi:

- 1- Abertura de uma caixa lacrada de bacalhau armazenada em câmara fria no mercado, com mensuração imediata da temperatura do produto com termômetro de infra-vermelho, marca Instrutherm, modelo TI-860 (sem contato com o produto) (Figuras 2 e 3);

- 2- Escolha aleatória de dois peixes da caixa (Figura 4);
- 3- Cada peixe foi apoiado com a parte dorsal em uma superfície de corte não estéril sobre uma bancada para manipulação dentro da área do açougue ou peixaria da loja (Figura 5);
- 4- Utilizando luvas de procedimento estéreis, pinça, tesoura e balança, retirou-se 200g da parte ventral (sem contato com a superfície de corte) de cada um dos peixes, acondicionando-os em sacos plásticos estéreis (Figura 5);
- 5- Identificação do produto com etiqueta com dados fornecidos pelo fabricante, registrados na caixa original, destacando ser uma amostra não manipulada;
- 6- Os mesmos dois peixes eram entregues ao funcionário para que fossem porcionados conforme procedimento padrão de cada loja (Figuras 6 a 11);
- 7- Cada um dos peixes tinha sua pele e espinha dorsal retirados com auxílio de faca e superfície de corte não estéreis; o manipulador usava luva de procedimento de látex (Figuras 6 e 7);
- 8- Com auxílio de faca ou serra elétrica e uma balança, cada um dos peixes foi porcionado pelo manipulador em três bandejas de isopor, cada uma com 200g (Figuras 8 e 9);
- 9- Com auxílio de uma seladora, as bandejas eram embaladas pelo manipulador com filme plástico – mesmo material normalmente utilizado para exposição do produto à venda (Figuras 10 e 11);
- 10- As amostras foram etiquetadas com a identificação dos dados do fabricante, adicionando-se a data da embalagem e o prazo de validade de 15 dias;
- 11- Todas as amostras eram numeradas e encaminhadas no mesmo dia para o Laboratório de Higiene e Inspeção de Alimentos da FMVZ-USP;
- 12- A amostra refrigerada não manipulada e uma amostra manipulada eram processadas no mesmo dia (dia zero). As outras duas amostras eram mantidas por sete e 14 dias sobre uma bancada no referido laboratório em temperatura e umidade ambiente (20°C a 25°C e 52 a 67% UR), monitoradas diariamente até serem processadas.

Figura 2 – Abertura da caixa

Figura 3 - Temperatura inicial do produto

Figura 4- Escolha de 2 peixes da caixa

Figura 5- Coleta de amostra sem manipulação

Figura 6- Manipulador retira espinha dorsal

Figura 7- Manipulador retira pele do peixe

Figuras 8 e 9 – Sequência do porcionamento do produto para elaboração das amostras, contendo 200g cada bandeja de isopor coberta com filme plástico

Figura 10 e 11 – Manipulador embala as amostras com filme plástico

Figura 12 - Amostras mantidas por sete e 14 dias sobre bancada no referido laboratório em temperatura e umidade ambiente, monitoradas diariamente através do Psicrômetro de Bulbo Seco e Bulbo Úmido: Dry and Wet Bulb Hygrometer SALCAS; Marca Salvi Casagrande Medição e Automação Ltda

4.4 Metodologia das análises físico-químicas

Foram realizadas avaliações físico-químicas, sendo estas:

- resíduo mineral fixo
- umidade
- pH
- atividade de água

A avaliação do resíduo mineral fixo foi realizada pelo Laboratório de Análises Físico-Químicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

As demais análises foram realizadas no Laboratório de Higiene e Inspeção de Alimentos da FMVZ-USP.

As metodologias aplicadas para as avaliações físico-químicas estão descritas a seguir.

4.4.1 Monitoramento de temperatura ambiente e umidade relativa do ar

Utilizando o Psicrômetro de Bulbo Seco e Bulbo Úmido: Dry and Wet Bulb Hygrometer SALCAS; Marca Salvi Casagrande Medição e Automação Ltda (Figura 13), realizou-se a leitura do bulbo seco e do úmido, e a partir dos resultados calculou-se a Umidade Relativa do Ar, segundo o Diagrama Psicrométrico para a cidade de São Paulo (Pressão Barométrica de 695,1mmHg) (FROTA; CHICHIERCHIO; SCHIFFER, 1990).

Estas medições foram realizadas uma vez ao dia, sempre pela manhã, no período compreendido entre 19 de maio e 04 de julho de 2011. Para descrição dos dados obtidos este período foi subdividido em semanas, considerando que as amostras eram submetidas às análises a cada sete dias, sendo assim, denominamos o período de estudo em semana 1, 2, 3, 4, 5, 6, e 7.

Figura 13 - Psicrômetro de Bulbo Seco e Bulbo Úmido: Dry and Wet Bulb Hygrometer SALCAS; Marca Salvi Casagrande Medição e Automação Ltda

Exemplo de leitura:

- Temperatura do bulbo seco (coluna vermelha): 20,5°C
- Temperatura do bulbo úmido (coluna azul): 16°C
- Umidade relativa do ar: 52,5% (leitura no disco inferior através da sobreposição dos valores de temperatura obtidos na leitura dos bulbos seco e úmido).

4.4.2 Resíduo Mineral Fixo

Foi realizado o procedimento descrito no manual de métodos físico-químicos para análise de alimentos do Instituto Adolfo Lutz, capítulo IV, página 105 (SÃO PAULO, 2008).

A técnica fundamenta-se na eliminação da matéria orgânica e inorgânica volátil à temperatura de 550°C, sendo o produto obtido denominado resíduo mineral fixo.

Aqueceu-se um cadinho de porcelana em forno mufla a 550°C durante 30 minutos, esfriando-o em seguida em dessecador para tarar. Em balança analítica, pesaram-se cinco gramas de bacalhau macerado e homogeneizado com auxílio de cadinho e pistilo, levando o conjunto ao bico de Bunsen até a carbonização completa e a seguir ao forno mufla a 550°C. O material foi incinerado até obter cinzas claras (calcinação), esfriado no dessecador e pesado novamente.

O cálculo foi feito da seguinte forma:

$$\% \text{ resíduo mineral fixo} = (100 \times P) \div A$$

Sendo:

P= diferença em gramas entre a massa do cadinho com amostra antes e após a calcinação.

A= massa total da amostra em gramas (neste caso, 5g).

Todas as amostras foram analisadas em triplicata.

4.4.3 Umidade

Foi realizado o procedimento descrito na Instrução Normativa nº 20, de 21 de julho de 1999 - Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes (BRASIL, 1999).

A técnica fundamenta-se na perda de água e substâncias voláteis à temperatura de 105°C.

Aqueceu-se um cadinho de porcelana em estufa a 105°C durante 1 hora, esfriando-o em seguida em dessecador para tarar. Em balança analítica, pesaram-se cinco gramas de bacalhau previamente macerado e homogeneizado com auxílio de cadinho e pistilo, levando o conjunto a estufa 105°C por 3 horas. Após este primeiro período, retirou-se o cadinho com a amostra

deixando-o esfriar no dessecador, pesando-o em seguida. Esta operação foi repetida de hora em hora até obter peso constante (Figura 14). Uma vez obtido o peso constante, considera-se esse valor como peso final.

O cálculo é feito da seguinte forma:

$$\% \text{ umidade} = (100 \times P) \div A$$

Sendo:

P= peso inicial – peso final (diferença em gramas entre a massa do cadinho com amostra antes e após a secagem).

A= massa total da amostra em gramas (neste caso, 5g).

Figura 14 - Equipamentos usados para análise de umidade

4.4.4 pH

Utilizando o Papel Indicador de pH 0-14 Merck – Chemicals, fabricado na Alemanha, realizou-se o seguinte procedimento:

- homogeneizou-se a amostra, colhendo, aproximadamente, 5 g em recipiente plástico;
- adicionou-se aproximadamente 1 mL de água destilada;
- embebeu-se a fita indicadora de pH de 1 a 3 segundos no centro da amostra;
- agitou-se leve e rapidamente a fita, lendo-a entre 1 a 30 segundos, na escala do fabricante, através do índice colorimétrico obtido, verificando o pH correspondente (Figura 15).

Figura 15 - Procedimento de leitura de pH

4.4.5 Atividade de Água (Aa)

Utilizando o equipamento AQUALAB® Braseq® Brasileira de Equipamentos LTDA. fabricado nos EUA, modelo: Series 3 TE Quick Start, Serial# 02038398, realizou-se o seguinte procedimento:

1- Ambiente:

Verificou-se se a superfície onde estava apoiado o equipamento estava nivelada;

Utilizou-se o aparelho em ambiente em que a temperatura se mantivesse estável.

2- Energia:

Conectou-se o aparelho na tomada 220V, ligando-o e aguardando aquecimento por 30 minutos;

3- Preparação da amostra (Figuras 16 e 17):

Colocou-se a amostra no recipiente plástico do aparelho, não ultrapassando a metade do recipiente (aproximadamente 7 mL);

Cuidou-se para que a amostra cobrisse o fundo do recipiente;

Assegurou-se que a borda e a parte externa do recipiente estivessem limpos e que a temperatura da amostra não estivesse mais de 4°C acima da temperatura ambiente.

4- Mensuração da amostra (Figuras 18 e 19):

Colocou-se o recipiente com a amostra na gaveta apropriada, fechando-a cuidadosamente para evitar derramamento da amostra;

Ligou-se o aparelho na posição “READ” para iniciar a mensuração;

O aparelho emite um “bip” quando inicia a mensuração da atividade de água, sendo a primeira leitura após aproximadamente 40 segundos;

O aparelho emite um segundo “bip” e o “LED” pisca quando a mensuração da atividade de água foi concluída;

O aparelho mostra então o valor da atividade de água final e a temperatura.

Figura 16 - Homogeneização da amostra

Figura 17- Alíquota da amostra para Aa

Figuras 18 e 19 - Utilização do equipamento Aqua Lab para leitura da Aa

4.5 Metodologia das análises microbiológicas

As 56 amostras de bacalhau salgado seco coletadas foram igualmente submetidas a todas as análises microbiológicas descritas a seguir com intuito de compará-las de acordo com a forma de armazenamento de cada uma delas, ou seja, sob refrigeração, ou em temperatura ambiente por zero, sete ou 14 dias.

4.5.1 Preparação da amostra para as análises microbiológicas

Cada amostra foi constituída de 25g de bacalhau, picado com auxílio de pinça e tesoura, pesado e separado em sacos estéreis para Stomacher. Acrescentou-se o volume de solução salina peptonada no mesmo saco, com as seguintes concentrações:

- 225mL de solução salina peptonada 0,1%: para pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva, coliformes totais e coliformes termotolerantes, bolores e leveduras (BRASIL, 2003);
- 225mL de solução salina peptonada 0,5% com 10% de NaCl: para pesquisa de bactérias halofílicas (BAROSS, 2001).
- 225mL de solução salina peptonada 1%: para pesquisa de *Salmonella* spp (BRASIL, 2003);

O conteúdo obtido foi homogeneizado em Stomacher por 60 segundos, para obtenção da diluição 10^{-1} , conforme ilustrado na figura 20.

Figura 20- Preparo de amostras para análises microbiológicas

PREPARO DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Dessa primeira diluição foram obtidas as diluições até 10^{-3} adicionando-se 1 mL a tubos contendo 9 mL de água peptonada 0,5% com 10% de NaCl para bactérias halofílicas ou 9 mL de água peptonada 0,1% para os demais microrganismos (Figura 21) e assim deu-se prosseguimento às seguintes análises:

- contagem de *Clostridium* sulfito redutores, em Ágar TSC (Tryptose-Sulfito-Cicloserina) (BRASIL, 2003);
- contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, em ágar Bair-Parker (BRASIL, 2003);
- contagem de bolores e leveduras, em Ágar Batata (BRASIL, 2003);
- contagem de bactérias halofílicas, em ágar PCA (Plate Count Agar) com 10% de NaCl (BAROSS, 2001).
- NMP/g (Número Mais Provável) de coliformes totais e termotolerantes (BRASIL, 2003);

Além disso, uma amostra homogeneizada foi incubada a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 16 a 20 horas para posterior pesquisa de *Salmonella* spp (BRASIL, 2003).

Figura 21 – Preparo das diluições para análises microbiológicas

O método de contagem padrão em placas (CPP) estima o número de células viáveis contido em determinado alimento. A partir do princípio de que uma colônia provém de uma única célula microbiana, o método baseia-se na ideia de que uma célula viável, isolada e homogeneizada em meio de cultura sólido originará uma colônia (VIEIRA, 2003).

Permite a visualização da formação de colônias a partir de um número fixo de células viáveis e permite obter a contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) presentes na amostra em análise (BRASIL, 2003).

A técnica de Número Mais Provável (NMP) é um método que permite estimar a densidade de microrganismos viáveis presentes em uma amostra sob análise. Esta técnica não permite a contagem fixa de células viáveis ou de unidades formadoras de colônias (UFC), o que acontece com a técnica de contagem em placas (BRASIL, 2003).

A análise por NMP é recomendada quando, devido ao processo tecnológico sofrido pelo alimento, as células presentes estejam lesadas fisiologicamente (células estressadas), não tendo condições de formar colônias em meios sólidos seletivos (BRASIL, 2003), o que se considerou neste caso, uma vez que o alimento em estudo tratava-se de um produto salgado e seco.

4.5.2 Contagem de *Clostridium* sulfito redutores

Este procedimento foi realizado pela equipe do laboratório de Bacteriologia Geral do Instituto Biológico de São Paulo, conforme técnica descrita na Instrução Normativa nº 62 de 26/08/2003 – MAPA - Anexo I - Capítulo IV (BRASIL, 2003).

A técnica baseia-se na inoculação da amostra em meios de cultura seletivos, com incubação em anaerobiose. Os *Clostridium* sulfito redutores formam colônias negras devido à reação de redução de sulfito a sulfeto, que reage com citrato de amônio e ferro III, formando um precipitado negro.

Assim, foi semeado 1 mL de cada diluição (10^{-1} a 10^{-3}) em placas de Petri estéreis e adicionado 15 mL de ágar TSC, em temperatura de aproximadamente 46°C. Foi homogeneizado cuidadosamente em movimentos de oito, sobre bancada, deixando-o solidificar. Após a solidificação, acrescentou-se mais 10 mL do mesmo meio, deixando-o solidificar novamente. As placas foram incubadas (sem inverter) em jarra de anaerobiose a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24h e após este período de tempo, procedeu-se a leitura das mesmas. Para a

contagem foram selecionadas as placas que apresentassem entre 20 e 200 colônias negras e de tamanho de 1 a 3 mm. Foi feita a média da duplicata de placas, a correção da diluição e expresso o resultado em UFC/g.

4.5.3 Contagem de *Staphylococcus coagulase positiva*

Foi semeado 0,1 mL de cada diluição (10^{-1} a 10^{-3} , de acordo com a Figura 22) sobre a superfície seca de ágar Baid-Parker, em placas de Petri em duplicata. Com auxílio de alça de Drigalski o conteúdo foi espalhado por toda superfície até sua absorção. Após a absorção as placas foram invertidas e incubadas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48h. Depois deste período, procedeu-se a leitura das placas. Para leitura foram selecionadas as placas que apresentaram entre 20 e 200 colônias. Foram contadas separadamente as colônias típicas (T- com 2 halos) e as atípicas (AT- sem halo ou com apenas 1).

Selecionaram-se três colônias de cada tipo (T e AT), as quais foram semeadas com auxílio de uma alça, cada colônia em um tubo contendo BHI (caldo cérebro-coração), incubados a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24h. Após este período foi transferido 0,3 mL de cada tubo de cultivo em BHI para tubos estéreis contendo 0,3 mL de plasma de coelho, sendo novamente incubados a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 6h. A leitura verificava a presença de coágulos. Esta prova da coagulase baseia-se na comprovação da capacidade de coagular o plasma de coelho pela ação da enzima coagulase produzida pelo microrganismo pesquisado (BRASIL, 2003).

Não foram realizadas provas complementares à prova da coagulase, pois todas tiveram reação negativa.

Figura 22 – Esquema do cultivo de *Staphylococcus* coagulase positiva

Destacamos que a metodologia aplicada, proposta na Instrução normativa nº 62 /2003 (BRASIL, 2003), estabelece procedimento para contagem de *Staphylococcus aureus*, entretanto, na mesma instrução, observa-se que: “...para os produtos destinados ao comércio no MERCOSUL, a contagem final se referirá apenas a *Staphylococcus* coagulase positiva” (BRASIL, 2003).

Isto ocorre porque a metodologia para contagem de *Staphylococcus aureus*, no que se refere aos resultados da prova da coagulase, apresenta limitações quanto à especificidade, devido ao fato de algumas espécies de *Staphylococcus* relacionadas a animais também serem coagulase positivas.

Considerando esta observação, adotou-se neste estudo a denominação *Staphylococcus* coagulase positiva.

4.5.4 Contagem de bolores e leveduras

Foi semeado 0,1 mL de cada diluição (10^{-1} a 10^{-3} , de acordo com a Figura 23) sobre a superfície seca de ágar batata glicose 2% acidificado a pH 3.5, em placas de Petri em duplicata. Com auxílio de alça de Drigalski o conteúdo foi espalhado por toda superfície até sua absorção. Após a absorção as placas foram invertidas e incubadas a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ por cinco dias. Após este período, procedeu-se a leitura das placas. Para a contagem foram selecionadas as placas que apresentaram entre 15 e 150 colônias. Foi feita a média da duplicata de placas, a correção da diluição e expresso o resultado em UFC/g.

Figura 23 - Esquema do cultivo de bolores e leveduras

4.5.5 Contagem de bactérias halofílicas

Foi semeado 1 mL de cada diluição (10^{-1} a 10^{-3} , de acordo com a Figura 24) em placas de Petri estéreis e adicionado 20 mL de ágar PCA fundido acrescido de 10% de NaCl. Foi homogeneizado por quatro vezes de um lado e quatro vezes de outro e uma vez em movimento de oito, sobre bancada. Após a solidificação as placas foram invertidas e incubadas a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ por cinco dias. Após este período, procedeu-se a leitura das placas. Para a contagem foram selecionadas as placas que apresentaram entre 25 e 250 colônias. Foi feita a média da duplicata de placas, a correção da diluição e expresso o resultado em UFC/g.

Figura 24 - Esquema do cultivo de bactérias halofílicas

4.5.6 Número Mais Provável de coliformes totais e termotolerantes

A partir de cada uma das diluições: diluição inicial 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , foi inoculado 1 mL em serie de 3 tubos contendo 9 mL de caldo lauril sulfato de sódio contendo tubos Durhan invertidos (Figura 25). Estes foram incubados a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas e os tubos negativos para a primeira leitura foram incubados por mais 24h. A leitura dos tubos consiste em verificar a formação de gás nos tubos Durhan (mín de 1/10 do volume total) ou efervescência quando agita gentilmente, causada pela presença de coliformes totais. (BRASIL, 2003).

Os tubos positivos teriam prosseguimento para as provas confirmativas de coliformes totais e termotolerantes, conforme previsto na Instrução Normativa nº 62 de 26/08/2003 - MAPA, Capítulo IX (BRASIL, 2003), entretanto não foram realizadas provas confirmativas devido a todas as provas presuntivas terem resultados negativos.

Figura 25 - Esquema do cultivo de coliformes

4.5.7 Pesquisa de *Salmonella* spp

A partir da amostra homogeneizada com água peptonada 1% em saco para Stomacher, mantida em estufa a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas para pré-enriquecimento, foi realizada a etapa de enriquecimento seletivo em dois meios líquidos: 0,1 mL em 10 mL de caldo Rappaport Vassiliadis (RV) e 1 mL em 10 mL de caldo Selenito-cistina (SC). Posteriormente, os tubos foram homogeneizados e incubados em banho-maria a $41 \pm 0,5^\circ\text{C}$ por 24 a 30 horas.

A partir de cada caldo (RV e SC) foi realizado o isolamento por esgotamento em dois meios sólidos: Agar Verde Brilhante (BVB) e o Agar Rambach. As placas foram incubadas invertidas, a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 18 a 24 horas. Após este período, foram selecionadas de 1 a 5 colônias suspeitas (ágar BVB – colônia translúcida; ágar Rambach – colônia vermelho rubro) por amostra e repicadas em tubos contendo caldo BHI (Brain Heart Infusion), incubados em estufa a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por no máximo 72 horas. Após este período, o material foi inoculado em ágar TSI através de picada profunda e estriamento na superfície inclinada do tubo e incubado a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 18 a 24 horas.

Os tubos de ágar TSI (Triple Sugar Iron) considerados suspeitos para *Salmonella* spp, apresentam as seguintes características: meio acidificado na base (amarelo), alcalino ou inalterado na parte inclinada, com ou sem produção de gás (formação de bolhas) e com produção de H_2S (enegrecimento do meio) e foram submetidos à prova sorológica. Essa prova foi realizada através da ressuspensão do cultivo em ágar TSI com 0,5 mL de solução salina 0,85%. Em uma lâmina de vidro foi colocado uma gota da ressuspensão e uma gota de soro anti-*Salmonella* polivalente “O”, diretamente do frasco. Com movimentos circulares da lâmina, foi realizada leitura: positiva com a presença de aglutinação e negativa ausência de aglutinação, conforme figura 26.

Figura 26 – Esquema do cultivo de *Salmonella* spp. Fonte: (MARTINS, 2011)

4.5.8 Pesquisa de parasitas

A procura por parasitas foi realizada no momento da coleta da amostra através de incisões na musculatura e inspeção visual. No preparo das amostras para análises físico-químicas e microbiológicas, através de corte com auxílio de pinça e tesoura, bem como, maceração em cadinho com auxílio de pistilo, foi realizada nova inspeção visual, para que parasitas e larvas encontrados fossem fixados em AFA (álcool, formol e ácido acético) para posterior identificação (MARTINS, 2011).

4.6 Análise Estatística

As análises das variáveis quantitativas estão apresentadas em tabelas com média, mediana e desvio-padrão.

A princípio foi realizado o teste de Kolmogorov-Smirnov, um teste de aderência que verifica a partir do grau de concordância entre a distribuição dos valores amostrais observados e teóricos se a distribuição desses valores é normal ou não (LATORRE, 2010).

Realizado o teste Kolmogorov-Smirnov, verificou-se que as variáveis não apresentaram distribuição normal, sendo assim, utilizaram-se testes não paramétricos para as análises posteriores.

Os testes não paramétricos são testes estatísticos “livres de distribuição”, ou seja, não é necessário que se façam suposições sobre a distribuição de probabilidades das variáveis em estudo. (LATORRE, 2010).

Para comparação de escalas foi utilizado o teste não paramétrico de Mann-Whitney para dois grupos de amostras independentes e, para mais de dois grupos, o teste de Kruskal-Wallis.

As amostras foram consideradas independentes uma vez que os grupos foram compostos cada qual por uma população, $n=14$ para cada um dos 4 grupos, exposta a tratamentos diferentes, cujas variáveis foram mensuradas em um único momento após o tratamento, não havendo pareamento de resultados antes e após o tratamento proposto (MAGALHÃES; LIMA, 2000).

O teste de Mann-Whitney verifica a diferença de duas médias de variáveis quantitativas, de amostras independentes e ao Kruskal-Wallis se aplica a mesma definição, sendo, utilizado para a comparação de três ou mais médias de amostras independentes (LATORRE, 2010).

No caso de mais de dois grupos, quando o teste Kruskal-Wallis apresentou significância, ou seja, quando as hipóteses nulas forem rejeitadas, utilizaram-se comparações múltiplas para encontrar qual dos grupos diferenciava dos demais.

O teste não paramétrico de Múltiplas Comparações busca verificar a diferença entre cada dois grupos, testando todas as possíveis diferenças para assim identificar entre quais grupos está a diferença entre as médias (LATORRE, 2010).

O nível de significância aplicado em todos os testes foi de 5%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das Etapas 1 e 2 serão apresentados nos subitens a seguir.

5.1 Resultados Etapa 1 – Descrição do sistema de comercialização do bacalhau na cidade de São Paulo.

Os resultados da Etapa 1 serão apresentados em oito subitens a seguir.

5.1.1 Bacalhau: um alimento milenar

O nome *bacalhau*, de acordo com o Dicionário Universal da Língua Portuguesa, tem origem no latim *baccalaureu*, que significa solteiro (LISBOA, 2002). Para os espanhóis, *bacalao* e para os italianos *baccalà*. A palavra *cod*, bacalhau em inglês, é de origem desconhecida, mas no século XVI significava “bolsa para guardar sementes”, supostamente porque a fêmea do peixe carrega milhões de ovos. A palavra francesa para bacalhau, *morue*, deu ao bacalhau do Atlântico a segunda parte de seu nome, mas curiosamente no século XIX esta palavra significava “prostituta”, talvez porque na época nada representava mais claramente o mercantilismo desenfreado que o bacalhau seco (KURLANSKY, 2000).

Existem mais de dez famílias de bacalhau e mais de duzentas espécies, quase todas vivem em águas salgadas e geladas no hemisfério norte. Supõe-se que o bacalhau evoluiu para as formas atuais há cerca de 120 milhões de anos, no mar Tétis, mar tropical que corria ao redor da Terra de leste para oeste e conectava todos os outros oceanos. O Tétis fundiu-se com um mar do norte e o bacalhau tornou-se um peixe do Atlântico Norte. Com o rompimento da ligação terrestre entre a Ásia e a América, o bacalhau chegou até o Pacífico Norte (KURLANSKY, 2000).

Mundialmente apreciado, a história do bacalhau é milenar, com registros de fábricas para seu processamento na Islândia e na Noruega desde o século IX (KURLANSKY, 2000).

Os Vikings(*) são considerados os pioneiros na descoberta do *cod*, *Gadus morhua*, espécie que era farta nos mares do Atlântico Norte. Como não tinham sal, apenas secavam o peixe ao ar livre, até que perdesse quase a quinta parte de seu peso e endurecesse, para ser consumido aos pedaços durante longas viagens (KURLANSKY, 2000).

*Vikings - O termo viking é habitualmente usado para se referir aos exploradores que invadiram, exploraram e colonizaram grandes áreas da Europa e das ilhas do Atlântico Norte a partir do final do século VIII até meados do século XI (LANGER, 2002).

Mas deve-se aos bascos, povo que habitava as duas vertentes dos Pirineus Ocidentais, do lado da Espanha e da França, o comércio do bacalhau. Os bascos conheciam o sal e existem registros de que no ano 1000 já realizavam o comércio do bacalhau salgado e seco. Foi na costa da Espanha, portanto, que o bacalhau começou a ser salgado e depois seco nas rochas, ao ar livre, para que o peixe fosse conservado por prolongados períodos de tempo (KURLANSKY, 2000).

O *Gadus morhua*, conhecido internacionalmente como *cod* pertence à família dos gadídeos e é o mais conhecido dos peixes de águas frias do mar Atlântico Norte, no Círculo Polar Ártico. Embora seja sempre um peixe de água fria, prefere águas entre 1 a 10°C. Alimenta-se de outros peixes menores, como o arenque. Uma fêmea de 1 metro de comprimento pode produzir cerca de 3 milhões de ovos em cada ciclo reprodutivo – mas poucos atingem a maturidade, servindo de alimento para outras espécies, principalmente até o primeiro ano de idade (KURLANSKY, 2000).

O bacalhau é facilmente capturado porque prefere águas rasas, raramente se aventura abaixo de 540 metros de profundidade, sendo encontrado a apenas 35 metros ou menos.

Em períodos de reprodução, postura no outono e eclosão dos ovos na primavera seguinte, o peixe migra para águas ainda mais rasas e calmas perto da costa e desova em locais mais quentes. Divididos em subgrupos, os peixes se adaptam às condições das áreas em que vivem, podendo variar tanto a cor como o tamanho: no mar escuro próximo a Islândia, eles são marrons com manchas amarelas; mas em apenas dois dias nadando em um oceano iluminado, eles ficam tão claros que parecem até albinos. Conforme as condições do ambiente variam do amarelo ao marrom ou do verde ao cinza (VAZ; LOPES; SOUSA, 2007).

Até o advento da geladeira, no século XX, o alimento estragado era um problema crônico e uma severa limitação ao comércio de vários produtos, especialmente o peixe, assim, o bacalhau foi uma revolução na alimentação no século XI, superando a dificuldade de perdas dos alimentos que estragavam pela precária conservação. (KURLANSKY, 2000).

Um produto de grande valor econômico sempre despertou o interesse comercial de diversos países com frotas pesqueiras. Por isso, ao longo dos séculos, várias legislações e tratados internacionais foram assinados para regulamentar os direitos de pesca e comercialização do tão cobiçado pescado (KURLANSKY, 2000). Foi então a Noruega que acabou por industrializar este produto para atender a crescente demanda.

5.1.2 A industrialização na Noruega

Foi o mercador holandês Yapes Ypess quem fundou a primeira indústria de transformação do bacalhau na Noruega e é considerado o pioneiro na industrialização deste peixe. A partir daí, a crescente demanda na Europa, América e África impulsionou o surgimento de barcos pesqueiros e de pequenas e médias indústrias pela costa norueguesa, transformando a Noruega no principal pólo mundial de pesca e exportação do bacalhau (KURLANSKY, 2000).

Ao longo do tempo a antiga salga ao ar livre foi substituída por processos em estufa, o que deixa a cor do *Gadus morhua* mais clara e com o sabor menos concentrado (KURLANSKY, 2000) do que aquele consumido no século XI.

Nas últimas décadas, a modernização da indústria pesqueira tornou a captura mais eficiente e acelerou o processo de extinção, motivo pelo qual o bacalhau de cativeiro tem conquistado espaço e outras espécies aparentadas vêm sendo mais consumidas no mundo (LAMOSA, 2008).

O fato de não ser produzido no Brasil e a atual escassez de bacalhau, decorrente desta pesca predatória, torna seu custo cada vez mais alto, o que traz grandes impactos econômicos tanto ao mercado varejista quanto atacadista. No que diz respeito a perdas por questões sanitárias, deve-se ter grande cautela na condenação deste produto, fato que reforça a necessidade de uma fiscalização bastante segura em suas decisões técnicas que protejam a saúde do consumidor, sem o risco de terem um caráter meramente administrativo que aumentem prejuízos econômicos.

Entende-se a partir deste estudo que seria um erro técnico condenar lotes inteiros de bacalhau pelo fato de serem comercializados em temperatura ambiente dentro do prazo de 15 dias, baseando-se exclusivamente no critério da rotulagem original do fabricante, que indica validade de um ano sob refrigeração.

Como citado anteriormente, a forma de se comercializar e consumir um produto é determinada culturalmente e ao longo do tempo vai se transformando conforme as novas exigências do consumidor. O presente estudo permite afirmar que a o hábito de se comercializar o bacalhau em temperatura ambiente foi incorporado nas práticas de comércio a partir da sua introdução no mercado brasileiro pelos portugueses desde o período da colonização e assim se manteve até o momento.

5.1.3 A pesca do bacalhau em Portugal

Embora não haja bacalhau em águas lusitanas, o peixe *Gadus morhua* também é conhecido como bacalhau do Porto, referência à cidade portuguesa de mesmo nome, importante centro de comércio do peixe seco e salgado que chega do Atlântico Norte, em especial da Noruega (KURLANSKY, 2000).

Os portugueses descobriram o bacalhau no século XV, na época das grandes navegações. Precisavam de produtos que não fossem perecíveis, que suportassem as longas viagens, que levavam meses de travessia pelo Atlântico (KURLANSKY, 2000).

Foram realizadas diversas tentativas com várias espécies de peixes da costa portuguesa, mas encontraram o peixe ideal perto do Polo Norte. Foram os portugueses os primeiros pescadores do bacalhau na Terra Nova (Canadá), descoberta em 1497 (KURLANSKY, 2000). O bacalhau foi imediatamente incorporado aos hábitos alimentares da época e se mantém como uma importante tradição.

A Noruega é o país que mais bacalhau exporta, surgindo assim um relacionamento comercial muito próximo com Portugal, considerando que este último importa praticamente todo o bacalhau salgado e seco que consome, além de importar muito o bacalhau "verde", que é salgado e curado nas próprias indústrias portuguesas (KURLANSKY, 2000), fato que explica o porquê do bacalhau consumido no Brasil ser de Portugal ou da Noruega.

5.1.4 O consumo de bacalhau no Brasil

Foi a vinda da Corte Portuguesa que efetivamente deu início ao processo de difusão do hábito de consumir bacalhau no Brasil, no início do século XIX. Data dessa época a primeira exportação oficial de bacalhau da Noruega para o Brasil, que aconteceu em 1843 (LAMOSA, 2008).

Após a 2ª Guerra Mundial, com a escassez de alimentos em toda a Europa, o preço do bacalhau aumentou, restringindo o consumo popular. Ao longo dos anos foi mudando o perfil do consumidor do bacalhau, e o consumo popular do peixe se concentrou, principalmente, nas principais festas cristãs: a páscoa e o natal (LAMOSA, 2008).

A Igreja Católica, na Idade Média, mantinha um rigoroso calendário onde os cristãos deveriam obedecer aos dias de jejum, excluindo de sua dieta alimentar as carnes consideradas "quentes" (LAMOSA, 2008). O bacalhau era considerado comida "fria" e seu consumo era incentivado pelos comerciantes nos dias de jejum. Com isso, passou a ter forte identificação com a religiosidade e a cultura do povo português, predominantemente católico (LAMOSA, 2008).

Entretanto o comércio varejista é feito quase que em sua totalidade fora de refrigeração, sendo inclusive muitas vezes exigido pelo consumidor escolher a peça inteira da qual deseja o porcionamento e embalagem, contrariando as boas práticas de manipulação, exigindo adequações que levem em consideração a necessidade das três partes envolvidas neste comércio: consumidor, varejista e autoridade sanitária.

5.1.5 Industrialização do legítimo bacalhau

Do ponto de vista técnico, entende-se por peixe salgado e seco o produto elaborado com peixe limpo, esviscerado, com ou sem cabeça e convenientemente tratado pelo sal (cloreto de sódio) (BRASIL, 2001; VAZ; LOPES; SOUSA, 2007).

Existem muitas técnicas consideradas boas para a conservação dos peixes. Entre os diferentes métodos de conservação temos a salga, defumação, marinada, conservação a quente (colocação em conserva ou pasteurização) e a conservação a frio (refrigeração ou congelamento) (VAZ; LOPES; SOUSA, 2007).

A salga de pescados é um dos mais antigos meios de conservação de alimentos conhecidos. Este método baseia-se na utilização do sal que, em concentração adequada, diminui ou até mesmo impede a decomposição do alimento pela ação de microrganismos (VAZ; LOPES; SOUSA, 2007).

Na salga a ação do sal é dupla: desidrata o pescado por diferença de pressão osmótica entre o meio externo e interno, e penetra na carne, baixando a atividade de água (VAZ; LOPES; SOUSA, 2007).

Processamento do bacalhau

Inicialmente o bacalhau é aberto longitudinalmente e são removidos dois terços da espinha dorsal por meio mecânico sendo depois lavado para serem removidos todos os restos de sangue e vísceras. Após a lavagem, o peixe é colocado, sobreposto, em tinas com sal (salmoura) formando uma pilha homogênea (VAZ; LOPES; SOUSA, 2007).

No processo de salga, o bacalhau é colocado em tanques cobertos por quilos de sal e assim fica por cerca de quatro semanas. Durante as duas primeiras semanas o peixe fica em salmoura. Depois, é retirado, lavado e armazenado em paletes para permanecer mais uma ou duas semanas descansando em sal. Conforme o tamanho e a espessura do peixe chega-se a trocar o sal mais de uma vez. Este tempo em sal garante uma cura ótima e uniforme, conferindo ao peixe o sabor e a textura tradicional do bacalhau (VAZ; LOPES; SOUSA, 2007).

Após essa etapa, o pescado vai para a secagem artificial ou natural. Na secagem artificial o peixe é colocado em tabuleiros e entra em um túnel de secagem onde permanece entre 36 a 120 horas dependendo do seu tamanho e espessura. Esta operação é várias vezes intercalada por períodos de repouso durante os quais o peixe volta a ser empilhado sobre paletes. Isto é fundamental para estabilizar o nível de umidade no peixe e conseguir, assim, uma secagem homogênea e com o teor de umidade permitido por lei (igual ou inferior a 47%).

Já na secagem natural o peixe é exposto ao vento e ao sol, sendo estendido de manhã e recolhido ao fim do dia. Este processo é repetido até o peixe apresentar o grau de umidade permitido por lei (inferior ou igual a 47%) (VAZ; LOPES; SOUSA, 2007).

Por fim o bacalhau segue para o controle de qualidade para ser pesado, embalado e exportado em containers refrigerados entre 2° e 4° graus. Todo o processamento do bacalhau é natural: não há uso de químicos e conservantes, o que permite a conservação integral de seus nutrientes (VAZ; LOPES; SOUSA, 2007) (Figura 27).

Fluxo do processamento do bacalhau

RECEBIMENTO DA MATÉRIA-PRIMA (A)

DESCONGELAMENTO

ABERTURA DO VENTRE (ESPALMADO) (B)

TOALETE

1ª SALGA ÚMIDA (C)

LAVAGEM (D)

2ª SALGA SECA (E)

SECAGEM (F)

CALIBRAÇÃO E CLASSIFICAÇÃO (G)

EMBALAGEM (H)

ARMAZENAGEM

EXPEDIÇÃO

Figura 27 – Fluxo ilustrativo do processamento do bacalhau. Fonte: (ANVISA, 2007)

(A)

(B)

(C)

(D)

(E)

(F)

(G)

(H)

Durante a pesca e o processamento, o peixe pode ser danificado, sofrer cortes e machucados. A partir do aspecto apresentado, o bacalhau é classificado em uma das três categorias: Imperial, Universal ou Popular (VAZ; LOPES; SOUSA, 2007):

Imperial / Superior - Nesta categoria, o produto advém de peixes que são inteiramente sangrados, bem lavados e enxaguados até a remoção total dos resíduos intestinais e de sangue, e com a pele da nuca incorporada. O peixe deve estar habilmente cortado e uniformemente salgado e bem prensado, bem como possuir coloração clara, estar sólido e sem manchas. A categoria pode incluir peixes com as seguintes características:

1. barrigas parcialmente sangradas;
2. pequenos rasgos ou rachaduras longitudinais;
3. não enxaguado de forma satisfatória;
4. alguns coágulos de sangue;
5. salgados de maneira não uniforme;
6. secos de modo muito rápido, mas não queimados;
7. presença de um pouco de sangue ressecado ;
8. inadequadamente prensados durante o processo de secura;

Universal - Nesta categoria, o peixe não deve possuir coloração amarelada e deve manter o seu formato natural. Marcas de desfiguração, coágulos de sangue seco e resíduos das vísceras devem ser removidos. Em geral, o pescado que não possuir os requisitos de Imperial/Superior deverá ser classificado como Universal. Essa categoria pode incluir peixes com as seguintes características:

1. inadequadamente cortado;
2. rabo redondo;
3. inadequadamente lavado ou enxaguado;
4. remoção insuficiente da espinha dorsal;
5. maiores coágulos de sangue seco;
6. grandes rasgos ou rachaduras longitudinais;
7. moderadas rachaduras;
8. ligeira incrustação de limo;
9. pequenas manchas de sangue, fígado e/ou bífis;

Popular – O pescado que não satisfaz os requisitos de Universal, mas que é adequado ao consumo humano, deve ser classificado como Popular. Contudo, esta categoria não incorpora peixe deteriorado, que tenha sido exposto à contaminação, ou que esteja muito rachado ou com a carne amolecida.

5.1.6 Fatores que levam ao aumento do tempo de vida útil do produto

Nos alimentos, tanto na forma 'in natura' como processado industrialmente, a multiplicação microbiana pode ocorrer em função do tipo de alimento e das condições ambientais.

Os processos de conservação baseiam-se na destruição total ou parcial dos microrganismos capazes de alterar o alimento, ou na modificação ou eliminação de um ou mais fatores que são essenciais para a sua multiplicação, de modo que o alimento não se torne propício ao desenvolvimento microbiano.

O sal provoca a diminuição da atividade de água dos alimentos, que é um fator de necessidade para a reprodução microbiana, aumentando desta forma sua conservação (VAZ; LOPES; SOUSA, 2007).

A salga dos alimentos pode ser feita a seco ou através de salmoura. Na salga a seco, o sal é aplicado na superfície da carne e tende a retirar a umidade e penetrar até que a concentração de sal (igual ou superior a 16%) seja praticamente uniforme em todo o produto (VAZ; LOPES; SOUSA, 2007).

Na salga em salmoura, usa-se imersão do produto em solução salina, podendo também auxiliar a penetração através de injeções do sal. Outra possibilidade é o sistema misto - passar o alimento em uma salmoura primeiro, e em seguida utilizar a salga a seco (VAZ; LOPES; SOUSA, 2007).

Os microrganismos mais problemáticos para os alimentos salgados são os bolores (Figura 28), associados ao excesso de calor e umidade (ANVISA, 2007) e as bactérias halofílicas, oriundas do próprio sal utilizado, que produzem nos alimentos o "vermelhão" (Figura 29), sendo importante, portanto, a utilização de um sal de boa qualidade (VAZ; LOPES; SOUSA, 2007).

Figura 28 – Bolors em peça de bacalhau. Fonte: (ANVISA, 2007)

Figura 29 – “Vermelhão”, não conformidade causada por bactérias halofílicas. Fonte: (ANVISA, 2007)

Também é importante salientar que, após a retirada do sal (dessalga) dos alimentos, o mesmo se torna suscetível ao ataque dos demais microrganismos, pois a atividade de água deixou de ser limitante, motivo pelo qual o alimento deverá ser rapidamente consumido ou processado (VAZ; LOPES; SOUSA, 2007).

5.1.7 Importação

Em 2009, o Brasil importou da Noruega cerca de 30 mil toneladas de bacalhau salgado seco, a um custo aproximado de 153 milhões de dólares (BRASIL, 2010).

O principal item de pescado importado pelo Brasil em 2010 foi o bacalhau, originário principalmente da Noruega, especialmente nas espécies *Gadus morhua* e *G. macrocephalus*,

ambos em maior quantidade na forma salgado-seco. O segundo maior fornecedor de bacalhau para o Brasil foi Portugal (BRASIL, 2012).

Comparando-se os dois anos em análise, destaca-se o crescimento das importações do produto de 35 mil toneladas em 2009 para mais de 43 mil toneladas em 2010, representando uma elevação de 23,5%. Em termos de valor, o crescimento foi ainda maior: 46%, passando de US\$ 200 milhões em 2009 para mais de US\$ 292 milhões em 2010 (BRASIL, 2012).

A importação é feita por "entrepósitos-frigoríficos", isto é, estabelecimento destinado à estocagem de produtos pelo emprego de frio industrial (BRASIL, 1952). Funcionam como postos intermediários entre os portos e o comércio atacadista e varejista, os quais locam câmaras frias para estocagem do produto antes da sua distribuição.

Nos meses que antecedem as comemorações como o natal e a páscoa há um aumento do número de entrepostos estocando este produto, nos demais períodos ocorre a redução na importação no bacalhau.

Essa flutuação do estoque do produto nos entrepostos limitou a nossa entrada nas empresas, permitindo-nos a visita técnica a apenas um entreposto no município de São Paulo, que dispunha do estoque deste produto por praticamente todo o ano.

O bacalhau chega ao Brasil em containers refrigerados, os quais são desembarcados nos mais diversos portos distribuídos na costa brasileira.

Cada container passa por inspeção alfandegária e posteriormente por inspeção sanitária, sendo que amostras aleatórias são retiradas de caixas lacradas, de madeira ou papelão, pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF), do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) para avaliação microbiológica e físico-química.

Os containers refrigerados são transportados dos navios para pátios de entrepostos, sendo posteriormente descarregados e todo produto armazenado em câmaras frias com temperatura entre 0 e 5°C, de uso exclusivo para este tipo de produto.

Uma vez aprovado, o lote recebido passa a ser distribuído pela empresa responsável pelo produto à rede varejista ou atacadista, através de transporte rodoviário também refrigerado.

Na rede varejista ou atacadista, as caixas de bacalhau são mantidas sob refrigeração até o momento de sua abertura. Após abertas, passam a ser duas as possíveis condutas: manutenção do produto sob refrigeração ou exposição do produto para venda inteiro ou porcionado em temperatura ambiente.

Fluxo de importação e distribuição

Foi a partir deste ponto da cadeia que se passou a avaliar o produto sob o aspecto higiênico-sanitário, considerando que até este momento houve manutenção da cadeia de frio e o produto fora anteriormente aprovado pelo SIF.

O bacalhau está totalmente incorporado à cultura culinária brasileira e frequentemente os restaurantes oferecem em sua carta o nobre pescado, em diversas preparações com destaque para o bolinho de bacalhau que é preferência nacional nos bares e botequins (LAMOSA, 2008). A aceitação do pescado salgado seco, vem despertando o interesse de investimento na produção nacional de um novo produto que possa futuramente suprir a escassez do legítimo bacalhau, surgindo assim o chamado “Bacalhau Brasileiro”.

5.1.8 O Bacalhau Brasileiro

Na região Amazônica encontra-se um número muito grande de espécies de peixe, alimento saboroso, altamente nutritivo e muito apreciado na culinária de todo o mundo (FRANCO; LANDGRAF, 1996). O armazenamento, transporte e a comercialização do pescado, na maioria das vezes, são feitos de forma inadequada, sendo este um dos grandes problemas da pesca do Médio Amazonas, pois vem causando uma perda considerável na qualidade do produto, até que ele chegue ao consumidor (MELONIO, 2012).

O pescado é um dos alimentos mais suscetível à deterioração, devido à atividade de água elevada, a sua composição química que varia em função da espécie, da época do ano e das condições de alimentação, ao teor de gorduras insaturadas facilmente oxidáveis e, principalmente, ao pH próximo da neutralidade, o que favorece o desenvolvimento microbiano (FRANCO; LANDGRAF, 1996). Na elaboração do pescado salgado seco, um dos aspectos de maior importância e que leva muitas vezes a diminuir a qualidade final do produto, é a qualidade do sal, pois se o cloreto de sódio (NaCl) estiver contaminado por bactérias halofílicas, causará pigmentação vermelha, odor desagradável e limosidade nos produtos (VAZ; LOPES; SOUSA, 2007).

Na produção do “Bacalhau Brasileiro”, a principal espécie comercializada na Amazônia é o pirarucu (*Arapaima gigas*). Maior peixe de água doce do mundo, o pirarucu chama a atenção não só pelo porte, que pode chegar a três metros de comprimento e pesar até 250 quilos, como também pelo sabor capaz de agradar os mais apurados paladares, considerado uma iguaria à semelhança do bacalhau da Noruega. É um peixe exclusivo da Bacia Amazônica e característico das águas calmas de suas várzeas, vive em lagos e rios de águas claras, brancas e pretas ligeiramente alcalinas e com temperaturas que variam de 24 °C a 37 °C, não sendo encontrados em zonas de fortes correntezas e águas ricas em sedimentos. Frequentemente é capturado pela pesca comercial, com peso variando entre 30 a 40 kg, cuja carne apresenta um rendimento médio em torno de 57% e na Região Amazônica, o pirarucu é comercializado principalmente na forma de mantas, que podem ser frescas, congeladas e salgadas (MELONIO, 2012).

As mantas salgadas são o principal meio de preservação e comercialização do produto, daí a denominação de “Bacalhau Brasileiro”. Embora não faça parte da ordem dos Gadiformes, sua carne se adapta muito bem ao processo de salga utilizado, o que faz com que

possa ser vendido dessa forma. Além da pesca artesanal, existem empresas que o produzem em cativeiro, devido à redução dos estoques naturais (MELONIO, 2012).

A primeira indústria de “Bacalhau Brasileiro” da América do Sul, a Agroindústria de Maraã, localiza-se na Reserva de Desenvolvimento Sustentável de Mamirauá – RDSM/Amazonas, e recebeu o investimento de R\$ 1,5 milhão a partir do Estado e da Financiadora de Estudos e Projetos (Finep). Sua produção é tida como melhor exemplo de alternativa para desenvolvimento sustentável, pois gera emprego para 80 operários locais e recebe peixes de exatos 1.001 pescadores, que têm participação nos lucros. Considerando que na reserva de Mamirauá há oito mil habitantes, a instalação da indústria impacta positivamente social e economicamente a região, com a instalação de creches e áreas de lazer (MELONIO, 2012).

5.2 Resultados Etapa 2 : Avaliação físico-química e microbiológica

Os resultados serão apresentados no decorrer do período total de sete semanas de análises, respeitando a determinação dos grupos: **1-** produto não manipulado, zero dia em temperatura ambiente (retirado de caixa lacrada e refrigerada); **2-** produto manipulado, mantido zero dia em temperatura ambiente (manipulado e embalado pelo funcionário da loja); **3-** produto manipulado e embalado, mantido sete dias em temperatura ambiente e **4-** produto manipulado e embalado, mantido por 14 dias em temperatura ambiente.

5.2.1 Resultados da avaliação físico-química

Os resultados observados mostram que embora dentro de uma mesma semana tenha ocorrido variações de temperatura e umidade, no decorrer das sete semanas de estudo não ocorreu nenhuma grande variação destes indicadores (Tabela 1), considerando que a pesquisa foi realizada durante sete semanas entre maio e junho.

Cabe ressaltar que para os valores médios encontrados de temperatura ambiente e umidade relativa do ar o bacalhau ao longo do tempo tende a perder umidade para o ambiente,

consequentemente perdendo peso, fenômeno este indesejável tanto para o comerciante, que vende o produto por peso, quanto para o consumidor que, dependendo das condições de umidade e temperatura ao longo do ano, poderia identificar problemas na qualidade do produto.

Para que se conseguisse um equilíbrio entre umidade do produto e umidade do ambiente, a umidade absoluta do ar atmosférico (grama de vapor de água por quilo de ar seco) deveria ser de 45%, valor máximo permitido para o bacalhau na legislação brasileira vigente. Nesta situação não haveria trocas de moléculas de água entre produto e ambiente e não haveria perda de peso do bacalhau. Porém, em condições naturais, para se obter essa umidade absoluta a temperatura ambiente deveria ser mantida a aproximadamente 33°C (FROTA; CHICHIERCHIO; SCHIFFER, 1990), valor impraticável em um ambiente de comércio de alimentos.

Uma alternativa para se reduzir a perda de peso do bacalhau na gôndola seria expor pequenas quantidades de produto embalado, sob temperatura ambiente (média de 21°C a 22°C, obtida neste estudo), para que fosse vendido no menor período possível. Outra possibilidade seria acondicionar esses pequenos volumes de produtos porcionados embalados em equipamentos específicos que permitam controlar a umidade do ar.

A exposição de volumes pequenos de alimentos é sempre uma boa prática recomendada, pois facilita a verificação dos prazos de validade evitando perdas, principalmente de produtos rotulados pelos próprios comerciantes, pois o período de validade normalmente é curto, neste caso 15 dias.

Tabela 1 - Médias semanais de temperatura do ambiente e da umidade relativa do ar onde as amostras de bacalhau ficaram armazenadas entre sete e 14 dias, no período total de estudo de sete semanas entre maio e junho - São Paulo - 2012

Variáveis		Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6	Semana 7
Temperatura Ambiente (°C)	Média	22,3	22,5	21,2	21	22	21,9	21,2
	Desvio Padrão	0,45	0,70	0,27	0	1,0	1,3	0,6
Umidade relativa do ar (%)	Média	60,2	58,5	61,1	59,4	60,2	59,3	56
	Desvio Padrão	0,44	1,54	2,45	0,54	1,09	7,3	4,09

Na tabela 2 observam-se os resultados das análises estatísticas para a variável resíduo mineral fixo ou cinzas analisadas somente no grupo 4 estudado.

O valor de cinzas (resíduo mineral fixo) indica o teor de sal (NaCl) presente no bacalhau. Como a legislação determina um teor mínimo de 10% e verificou-se um teor médio bastante acima (21,59%), optou-se por realizar a análise estatística também para valores de referência de 15% e 20%. Assim, utilizando o teste de Wilcoxon comparou-se a variável cinzas para testar se os resultados foram significativamente maiores do que 10%, 15% e 20% como referência. Mesmo considerando o dobro do limite estabelecido pela legislação observou-se significância no resultado, o que indica que todo grupo estudado estava devidamente salgado, ainda que o teor de sal exigido fosse de 20% ao invés de 10%, ou seja, observou-se que as cinzas encontradas foram significativamente maiores que os três valores estabelecidos, sendo estatisticamente superiores aos valores mínimos estabelecidos pela proposta legal brasileira (BRASIL, 2000).

Tabela 2 – Média, mediana, desvio padrão, máximo, mínimo, valor de referência e p-valor das cinzas das amostras do grupo 4 e o nível descritivo (p-valor) - São Paulo - 2012

Variável	Média	Mediana	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	Valor de referência	p-valor
Cinzas (%)	21,59	21,15	1,52	19,82	24,87	10	<0,0001
						15	<0,0001
						20	0,0002

Na tabela 3 observamos os resultados das análises estatísticas para as variáveis umidade, atividade de água e temperatura das amostras, em sete semanas de estudo.

Apenas as variáveis Peso Antes-Depois e umidade foram significativas a 5% (p-valor =0,0008). Esse resultado era esperado, considerando-se que o cálculo da umidade baseia-se na variável Peso Antes-Depois, devendo o p-valor ser igual para ambas variáveis. Houve diferença estatística entre os grupos com relação à variável umidade, e a média obtida nos 4 grupos estava acima do estabelecido, máximo de 45% de umidade para peixes salgados secos magros (BRASIL, 2000).

Tabela 3 – Média, mediana, desvio padrão e p-valor, de acordo com as variáveis estudadas nas amostras de bacalhau salgado seco refrigerado (grupo 1) e embalado armazenado em temperatura ambiente por 0, 7 e 14 dias (grupos 2, 3 e 4 respectivamente) – São Paulo – 2012

Variáveis	Grupo	Média	Mediana	Desvio Padrão	p-valor
Peso do Cadinho* (g)	1	23,87	21,85	3,50	0,8637
	2	25,29	22,45	5,96	
	3	24,53	22,70	4,24	
	4	24,17	22,70	4,80	
Peso Antes (g)	1	28,87	26,85	3,50	0,8637
	2	30,29	27,45	5,96	
	3	29,53	27,70	4,24	
	4	29,17	27,70	4,80	
Peso 3h (g)	1	26,31	24,90	3,38	**
	2	27,56	24,70	5,96	
	3	27,17	25,20	4,19	
	4	26,64	25,20	4,77	
Peso.4h (g)	1	26,21	24,50	3,44	**
	2	27,51	24,70	5,93	
	3	27,07	24,75	4,19	
	4	26,64	25,20	4,78	
Peso Antes-Depois (g)	1	2,70	2,65	0,20	0,0008
	2	2,79	2,70	0,16	
	3	2,46	2,50	0,55	
	4	2,54	2,55	0,15	
Umidade (%)	1	54,00	53,00	4,00	0,0008
	2	55,71	54,00	3,12	
	3	49,14	50,00	11,03	
	4	50,71	51,00	3,10	
T°C	1	24,69	24,45	0,62	0,3456
	2	24,60	24,50	0,41	
	3	24,58	24,55	0,25	
	4	24,38	24,40	0,39	
Aa	1	0,75	0,75	0,00	0,8541
	2	0,75	0,75	0,00	
	3	0,75	0,75	0,00	
	4	0,75	0,75	0,00	

* O peso do cadinho foi incluído na tabela por fazer parte do cálculo da umidade.

** para as variáveis Peso 3h e 4h não foram calculados os p-valores, pois o interesse era observar o ganho/perda final de peso.

Para a variável pH encontramos a média de pH=6.0 para os 4 grupos, não havendo, portanto, diferença significativa entre eles.

Realizando a análise de comparações múltiplas, descrita no quadro 1 e 2 , pode-se identificar entre quais grupos ocorreu diferença significativa na variável umidade. Observou-

se que em ambas as variáveis (Peso e Umidade) o grupo 2 é diferente dos grupos 3 e 4 (Quadro 2). Também temos que os p-valores entre as variáveis são praticamente os mesmos. Isto ocorre pelo fato de as variáveis Peso Antes-Depois estarem correlacionadas com a Umidade ($R^2=1$, p-valor $<0,0001$).

Comparando-se o grupo 1 com os grupos 2, 3 e 4, verificou-se que não houve diferença estatística entre eles, ou seja, quando comparado o grupo 1, considerado como padrão, pelo fato do produto ter sido mantido refrigerado e sem manipulação, com os outros três grupos, nos quais o produto foi mantido em condições de temperatura consideradas impróprias, não se observou diferença na umidade.

Quando comparado o grupo 2, manipulado com zero dia em temperatura ambiente com o grupo 3 e 4, mantidos respectivamente 7 e 14 dias em temperatura ambiente, observou-se diferença, isto é, o produto perdeu umidade, aproximando-se do valor estabelecido pelo padrão.

Considerando-se apenas o valor máximo de umidade estabelecido pela legislação brasileira, inicialmente os quatro grupos estariam reprovados (umidade acima de 45%) e contraditoriamente, quanto maior o tempo do produto exposto a temperatura ambiente (7 e 14 dias) menor sua umidade, aproximando-se assim do estabelecido por lei, fato que indica que a umidade talvez não seja bom parâmetro para definir aprovação ou reprovação do bacalhau.

Quadro 1 – P-valor das comparações múltiplas da variável Peso Antes-Depois

Comparações		p-valor
1	2	0,3183
1	3	0,2573
1	4	0,1249
2	3	0,0096
2	4	0,0001
3	4	0,9996

Quadro 2 – P-valor das comparações múltiplas da variável Umidade

Comparações		p-valor
1	2	0,3183
1	3	0,2573
1	4	0,1248
2	3	0,0096
2	4	0,0001
3	4	0,9996

A partir dos resultados obtidos, entende-se que a umidade não representa um parâmetro estável para definir o padrão de identidade e qualidade do bacalhau seco salgado.

A umidade é uma variável que pode sofrer grande oscilação entre um lote e outro de bacalhau devido a interferências externas como o peso inicial do peixe, o seu tamanho (espessura e tamanho da superfície exposta ao sal), e variações de umidade ambiental, tanto sob refrigeração quanto não refrigerado. Outro fato que desfavorece a variável umidade como melhor parâmetro de avaliação da qualidade do bacalhau foram os resultados obtidos para a variável cinzas (Tabela 2).

A tabela 2 mostra que os valores encontrados para cinzas foram significativamente maiores que o limite mínimo estabelecido pela legislação (10%), sendo inclusive significativos para o dobro do valor estabelecido (20%), o que mostra que o produto estava devidamente salgado, entretanto, mesmo assim, os valores de umidade encontrados ainda mostraram-se insatisfatórios, acima de 45% nos quatro grupos, independente de serem expostos ou não à condição de armazenamento em temperatura ambiente.

Analisando os resultados obtidos para as variáveis temperatura e atividade de água, observou-se que não houve diferença estatística significativa entre os quatro grupos (p -valor = 0,3456 e 0,8541, respectivamente).

Os valores de atividade de água (Aa) obtidos dos quatro grupos não apresentaram diferença estatística significativa, o que demonstra, do ponto de vista físico-químico, que as condições intrínsecas das diferentes amostras, com relação à disponibilidade de água para desenvolvimento microbiano, eram as mesmas para os quatro grupos, independente da exposição do produto à temperatura ambiente por zero, sete ou 14 dias ou mantido sob refrigeração. Os resultados de Aa obtidos (média de 0,75) indicam baixa atividade de água, importante fator inibidor da proliferação microbiana no bacalhau, como se pode observar no Quadro 3, considerando os valores mínimos de Aa necessários para o desenvolvimento dos principais microrganismos patogênicos e deteriorantes em alimentos.

Quadro 3 – Valores mínimos de Aa exigidos para multiplicação dos microrganismos responsáveis, com maior frequência, por toxinfecções de origem alimentar – São Paulo – 2012

Microorganismo	Aa (mín)
<i>Vibrio cholerae</i>	0,97
<i>Clostridium</i> spp	0,95
<i>Salmonella</i> spp	0,94
<i>Bacillus cereus</i>	0,93
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,92
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,83

Fonte: Adaptado de ICMSF, 1996.

Estes resultados exigem maior detalhamento sobre o conceito de atividade de água.

A água presente no alimento ocorre como livre, chamada atividade de água, e água ligada, resultando em conteúdo total de água (umidade). A água livre, (atividade de água) está disponível para as reações físicas (evaporação), químicas (escurecimento) e microbiológicas, tornando-se a principal responsável pela deterioração do produto. Esta água pode ser medida e através do seu valor pode-se determinar a suscetibilidade do produto a degradação (MOSSEL; GARCÍA; STRUIJK, 2003).

A velocidade das reações químicas desejáveis ou não, dependem da mobilidade e concentração dos compostos e enzimas envolvidos, que são conferidas pela quantidade de água livre (MOSSEL; GARCÍA; STRUIJK, 2003).

O comportamento microbiano frente a Aa é extremamente variável, sendo que as bactérias são mais exigentes, quanto à disponibilidade de água do que os bolores e leveduras. Tem-se que a maioria das bactérias deterioradoras não se desenvolve em meio com Aa inferior a 0,91 (ICMSF, 1996) e está comprovada a existência de algumas relações entre Aa e temperatura, sendo que a qualquer temperatura, a capacidade dos microrganismos se desenvolverem reduz-se à medida que diminui a Aa (GERMANO; GERMANO, 2001).

A diferença entre a umidade do produto e a atividade de água pode ser compreendida quando se comparam dois produtos diferentes com teor de umidade idênticos. Por exemplo, quando amostras de trigo e soja com umidade de 12% e atividades de água igual a 0,65 e 0,60, respectivamente, são colocadas em contato, ocorre o intercâmbio de umidade entre elas devido a diferença de atividade de água. Isto é explicado pela existência de uma força motriz que transporta a água de pontos de atividade de água mais alta para pontos de atividade de água mais baixos (BRASEQ, 2012).

Ao se adicionar um soluto em um líquido a evaporação das moléculas para a fase gasosa torna-se menor, assim a pressão de vapor é reduzida. Assim, a atividade de água (Aa) de uma solução ou alimento é definida como relação entre a pressão de vapor da solução P e a pressão de vapor do solvente (água pura =1) na mesma temperatura: $Aa = \frac{\text{pressão de vapor da água no produto}}{\text{pressão de vapor da água pura}}$ (MOSSEL; GARCÍA; STRUIJK, 2003):

A determinação da atividade de água de um produto é essencial para a sua qualidade, preservação e tempo de vida. No tocante ao seu valor econômico, um produto com atividade de água estabelecida pode ter maior rendimento, melhor preservação e tempo de vida determinado com maior rigor.

Os relatos históricos fazem crer que os bascos já conheciam o sal e no século XI se utilizavam dele para reduzir a água livre no produto, gerando o bacalhau salgado e seco, permitindo conservabilidade prolongada, facilitando a sua comercialização, fato que lhes

permitiu causar uma verdadeira revolução na alimentação, com a possibilidade de conservá-lo por prolongados períodos de tempo (KURLANSKY, 2000).

É comum se atribuir a proliferação microbiana nos alimentos a maior ou menor umidade. Entretanto, não é a umidade (água total = água combinada + atividade de água) que propicia a proliferação microbiana, visto que somente a atividade de água é utilizada pelo metabolismo microbiano (BRASEQ, 2012).

A partir da imposição de procedimentos tecnológicos que permitam atingir valores de atividade de água que impeçam a multiplicação microbiana e a ocorrência de reações metabólicas e fisiológicas, alcança-se estabilidade nos produtos que possibilitam a sua estocagem por um período de tempo, sob temperatura ambiente e de forma segura, no que se refere aos microrganismos patogênicos, assegurando também estabilidade ao produto (BRASEQ, 2012).

A aplicação da Aa como parâmetro de segurança microbiológica do bacalhau salgado seco evitaria que fosse excessivamente desidratado para se obter um baixo teor de umidade, sendo que poderia ser mantido mais úmido, desde que estivesse garantida uma baixa Aa.

Além disso, a certificação de uma baixa atividade de água propiciaria a manutenção segura do bacalhau em temperatura ambiente por um determinado período de dias, possibilitando redução de gastos com refrigeração e desperdício de energia elétrica.

Frente aos resultados físico-químicos encontrados, ressalta-se que a umidade não é o melhor parâmetro para determinação do padrão de identidade e qualidade do bacalhau, mas sim a atividade de água, a qual deveria ser definida e padronizada através de estudos futuros para o produto bacalhau e avaliar a real condição da proliferação bacteriana neste alimento.

A avaliação microbiológica reforça os resultados apontados pelas análises físico-químicas, não ocorrendo diferença estatística significativa entre os quatro grupos estudados.

5.2.2 Resultados da avaliação microbiológica

Os resultados das pesquisas de *Clostridium* sulfito redutores, *Staphylococcus* coagulase positiva, bolores e leveduras, coliformes totais e termotolerantes indicaram valores inferiores ao nível de detecção da técnica, ou seja, negativo para todas as amostras. Na pesquisa de *Salmonella* spp, os resultados indicaram ausência/25g do produto também em todas as amostras e na inspeção visual não foi detectada a presença de nenhum parasita.

Na tabela 4 observam-se os resultados absolutos em UFC/g da pesquisa de bactérias halofílicas e na tabela 5, as análises estatísticas para esta variável, mostrando que não houve crescimento significativo em nenhum dos grupos, em nenhuma diluição, com $p > 0,05$.

Tabela 4 – Contagem de bactérias halofílicas de amostras de bacalhau salgado seco refrigerado (grupo 1) e embalado armazenado em temperatura ambiente por 0, 7 e 14 dias (grupos 2, 3 e 4 respectivamente) – São Paulo – 2012

Loja	bacalhau	Grupo 1 (UFC/g)	Grupo 2 (UFC/g)	Grupo3 (UFC/g)	Grupo 4 (UFC/g)
1	1	$1,3 \times 10^4$	$> 2,5 \times 10^5$	$6,2 \times 10^4$	$> 2,5 \times 10^5$
	2	$1,3 \times 10^4$	$7,4 \times 10^3$	$5,4 \times 10^2$	$> 2,5 \times 10^5$
2	1	9×10^1	$1,3 \times 10^3$	$8,6 \times 10^2$	$2,7 \times 10^2$
	2	$1,5 \times 10^2$	$1,7 \times 10^3$	$9,7 \times 10^2$	8×10^1
3	1	< 25	$6,5 \times 10$	< 25	3×10^2
	2	< 25	< 25	5×10^1	$1,6 \times 10^2$
4	1	$2,2 \times 10^2$	< 25	$2,3 \times 10^2$	$2,6 \times 10^2$
	2	$2,1 \times 10^2$	< 25	$7,3 \times 10^2$	$3,3 \times 10^2$
5	1	$1,2 \times 10^2$	$2,9 \times 10^2$	< 25	$1,2 \times 10^3$
	2	< 25	$3,2 \times 10^2$	$2,5 \times 10^2$	$2,5 \times 10^1$
6	1	< 25	$1,5 \times 10^2$	$3,2 \times 10^2$	$1,5 \times 10^2$
	2	< 25	$1,3 \times 10^2$	$2,1 \times 10^2$	$1,2 \times 10^2$
7	1	8×10^1	$4,3 \times 10^2$	5×10^1	$4,4 \times 10^2$
	2	$7,5 \times 10^1$	$1,4 \times 10^2$	< 25	$2,1 \times 10^2$

Tabela 5 – Média, mediana, desvio padrão e p-valor das bactérias halofílicas de amostras de bacalhau salgado seco refrigerado (grupo 1) e embalado armazenado em temperatura ambiente por 0, 7 e 14 dias (grupos 2, 3 e 4 respectivamente) – São Paulo – 2012

Diluição	Grupo	Média* (UFC/g)	Mediana* (UFC/g)	Desvio Padrão* (UFC/g)	P-valor
10^{-1} (UFC/g)	1	42,50	8,50	88,24	0,3592
	2	67,64	22,00	91,48	
	3	47,93	23,75	66,74	
	4	59,93	23,50	85,39	
10^{-2} (UFC/g)	1	18,68	0,00	47,18	0,2106
	2	23,61	0,00	68,05	
	3	20,36	1,25	66,19	
	4	36,11	0,00	90,62	
10^{-3} (UFC/g)	1	0,00	0,00	0,00	0,0991
	2	17,86	0,00	66,82	
	3	4,57	0,00	16,53	
	4	35,71	0,00	90,78	

*Os valores de média, mediana e desvio padrão estão apresentados agrupados por diluição, em valores absolutos.

Observou-se no presente estudo que, a manutenção do bacalhau em temperatura ambiente, durante o período de 14 dias, tempo comumente estabelecido no comércio varejista como prazo de validade, não revelou variações significativas nos parâmetros estudados com relação àquele mantido sob refrigeração. Sugere-se que, garantida a cadeia de frio até o momento da exposição de venda do produto, este possa ser exposto para venda em temperatura ambiente com validade de até 14 dias.

Este estudo permite formular a seguinte questão: Com os valores de Aa encontrados e adotando-a como parâmetro de identidade e qualidade do produto, seria possível a comercialização do bacalhau salgado seco em temperatura ambiente por um período superior a 14 dias?

Com a realização de futuras pesquisas que respondam positivamente esta questão, seria possível evitar a condenação desnecessária do produto, economizar a energia com a geração de frio e garantir respaldo técnico para as ações da vigilância sanitária, sem oferecer risco ao consumidor, com relação a microrganismos patogênicos.

6 CONCLUSÕES

O presente estudo conclui que:

- o bacalhau comercializado no Brasil é um produto importado da Noruega e de Portugal. Desde a importação até os entrepostos e o estoque nas redes varejistas é mantido refrigerado. A partir da sua exposição no comércio é, predominantemente, mantido em temperatura ambiente;

- não houve diferenças significativas dos indicadores físico-químicos e microbiológicos entre o bacalhau salgado seco refrigerado e o bacalhau salgado seco mantido à temperatura ambiente nos intervalos de zero, sete e 14 dias, oferecendo as mesmas condições de segurança sanitária;

- propõe-se que a Aa seja adotada como parâmetro de identidade e qualidade do bacalhau pelos órgãos oficiais em detrimento da umidade, uma vez que os valores encontrados não permitem o desenvolvimento dos microrganismos patogênicos;

- sugere-se que o bacalhau salgado seco possa legalmente ser exposto para venda no varejo embalado e em temperatura ambiente, com validade de até 14 dias, desde que mantida a cadeia de frio até o momento da exposição no comércio.

REFERÊNCIAS

- AHMED, F. E. (Ed.). **Seafood Safety**. Food and Nutrition Board Institute of Medicine Washington, D.C.: Comittee on Evaluation of Safety of Fishery Products. National Academic Press, 1991. p. 432.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos**. Resolução RDC nº 12, ANVISA, 2 de janeiro de 2001.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Comercialização de Pescado Salgado e Pescado Salgado Seco: Cartilha Orientativa**. 2007. Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acesso em: 8 dez 2011.
- BAROSS, J. A. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4 ed. Washington: American Public Health Association, 2001. p. 187-193.
- BRASEQ. **Boletim Técnico Informativo BRASEQ: Entendendo a Atividade de água (Aa) e sua importância para a qualidade de alimentos e outros produtos em geral**. Disponível em: www.braseq.com.br. Acesso em: 2 mar. 2012.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA)**. MAPA, 1952.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – sal e salmoura. **Instrução Normativa**, nº 20, MAPA, 1999.
- BRASIL. Portaria nº 52, de 29 de dezembro de 2000. Regulamento técnico de identidade e qualidade de peixe salgado e peixe salgado seco. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 4 jan. 2001. Seção 1, p. 9.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Instrução Normativa**, nº 62. 2003.
- BRASIL. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. **Estatísticas de Comércio Exterior: Países e Blocos Econômicos**. Jan./Dez. 2009. Brasília: Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior, 2010. Disponível em: www.desenvolvimento.gov.br. Acesso em: 29 mar. 2010.
- BRASIL. Secretaria Municipal de Saúde de São Paulo. Portaria 2619/11. **Regulamento de Boas Práticas e de Controle de condições sanitárias e técnicas das atividades relacionadas a alimentos**. SMS, 2011.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura Brasil 2010**. Brasília: Ministério da Pesca e Aquicultura, 2012. Disponível em: www.mpa.gov.br. Acesso em: fev. 2012.

CHIRALT, A.; FITO, P.; BARAT, J. M. Use of vacuum impregnation in food salting process. **Journal of Food Engineering**; v. 49, p. 141-151, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO. **Codex Alimentarius**: codex standard for salted fish and dried salted fish of the Gadidae family of fishes. Roma: WHO/FAO, 1989. 10 p. odex Stan, 167.

FRANCO, M. G. D. B; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. cap. 1, p. 7-8.

FROTA, A. B.; CHICHIERCHIO, L. C.; SCHIFFER, S. R. **Conforto Térmico**. São Paulo: Departamento de Tecnologia da Arquitetura da FAU-USP, 1990.

FUENTES, A.; BARAT, J. M.; FERNÁNDEZ-SEGOVIA, I.; SERRA, J. A. Study of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) salting process: Kinetic and thermodynamic control. **Food Control**; v. 19, n. 8, p. 757-763, 2008.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. São Paulo: Varela, 2001.

GIL, A. C. **Como elaborar projetos de pesquisa**. 3. ed. São Paulo: Atlas, 1996.

HUSS, H. H. **Quality and quality changes in fresh fish**. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1995. FAO Fisheries Technical Paper – 348.

ICMSF. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. **Microorganisms in foods**: characteristics of microbial pathogens. London: Blackie Academic & Professional, 1996. v. 5, 524 p.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. cap. 6. p. 119-130.

KURLANSKY, M. **Bacalhau**: a história do peixe que mudou o mundo. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 2000. 253p.

LAMOSA, E. **Bacalhau**: um alimento milenar. Rio de Janeiro. 2008. Disponível em: www.bacalhau.com.br. Acesso em: 29 fev.2012.

LANGER, J. The origins of the imaginary viking. **Viking Heritage Magazine**; n. 4, p.6-9, 2002.

LARAIA R, B. **Cultura um conceito antropológico**. 21. ed. Rio de Janeiro: Jorge Zahar Editora, 2007.

LATORRE, M. R. D. O. **Estatística Não Paramétrica**. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 2010. Apostila Disciplina HEP-5762.

LIMA, E. J. V. M. O.; SANT'ANA, L. S. Determinação de atividade de água, umidade e sal em peixes salgados e secos importados. **Brazilian Journal of Food Technology**; v. 14, n. 2, p. 125-129, 2011.

LINNAEUS, C. **Systema Naturae**. 10. ed., 1758. v. 1. p. 230-338. Disponível em: www.linnean-online.org. Acesso em: 5 mar. 2012.

LISBOA. **Dicionário universal da língua portuguesa: novos vocábulos, antropónimos, topónimos, estrangeirismos**. 8 ed. Lisboa: Texto Editora, 2002. p.1653.

MACIEL, M. E. Cultura e Alimentação ou o que têm a ver Macaquinhos de Koshima com Brillat-Savarin. **Horizontes Antropológicos**, v. 7, n. 16, p. 145-156, 2001.

MAGALHÃES, M.N. ; LIMA, A.C.P. **Noções de probabilidade e estatística**. 2a.ed. São Paulo: IME-USP, 2000. p 289-307.

MARISCO, E. T.; MORAES, I. A.; SILVA, C.; BARREIRA, V. B.; MANTILLA, S. P. S. **Parâmetros físico-químicos de qualidade de peixe salgado e seco (bacalhau) comercializado em mercados varejistas**. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, v. 68, n. 3, p. 406-410, 2009.

MARTINS, C.N. **Parâmetros de qualidade e valoração de pescada da espécie *Macrodon ancylodon* (Bloch & Schneider, 1801): características sensoriais, físico-químicas, microbiológicas, parasitológicas e contaminantes inorgânicos**. 2011. 195 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

MELONIO, N. **A Amazônia agora tem seu próprio bacalhau**. Associação O Eco. 2012. Disponível em: www.oeco.com.br/noticias/25711. Acesso em: fev. 2012.

MOSSEL, D. A. A.; GARCÍA, B. M.; STRUIJK, C. B. **Microbiología de los alimentos**. 2 ed. Zaragoza: Editorial Acribia, S.A., 2003. p 89-98.

NORUEGA. Diretoria de Pesca – Laboratório Central. Universidade de Bergen – Departamento Zoológico. **Declaração referente a parasitas em bacalhau salgado seco**. Pesquisa de Bjorn Torn Lunested. 1997. Disponível em: <http://www.bacalhau.com.br/parasita.htm>. Acesso em: 20 jun. 2011.

OGAWA, M.; MAIA, E. L. **Manual de pesca: ciência e tecnologia de pescado**. São Paulo: Livraria Varela, 1999. v. 1, 430 p.

PORTUGAL. Ministério da Agricultura, Pescas e Florestas. Decreto-Lei nº 25/2005, de 28 de janeiro de 2005. Define novas normas de comercialização para o bacalhau e espécies afins, salgados, verdes e secos. **Diário da República**, Lisboa, 28 jan. 2005. a. I Série A, n. 20, p. 696.

SÃO PAULO, Estado. **Código Sanitário**. Decreto 12.486, de 20 de outubro de 1978. São Paulo: IMESP, 1991. 4ª.ed. p 167-168.

SÃO PAULO, Município. **Código Sanitário do Município de São Paulo**. Lei Municipal 13.725, de 9 de janeiro de 2004. São Paulo, 2004.

SÃO PAULO, Estado. Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

TRIVIÑOS, A. N. S. Bases Teórico-Metodológicas da Pesquisa Qualitativa em Ciências Sociais: idéias gerais para elaboração de um projeto de pesquisa. **Cadernos de Pesquisa Ritter dos Reis**, Porto Alegre, 2001. v. 4, 151 p.

VIEIRA, R. H. S. F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado**. São Paulo: Varela, 2003. 380 p.

VAZ, J.; LOPES, B.; SOUSA, J. **Processamento de bacalhau salgado seco**. Processamento Geral de Alimentos. Coimbra: Instituto Politécnico de Coimbra. Escola Superior Agrária, 2007.