

# **Avaliação microbiológica de *sushi* comercializado em supermercados e em restauração**

**Nicholas Sequeira Eliseu**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

**Engenharia Alimentar**

Orientadores: Professora Doutora Marília Catarina Leal Fazeres Ferreira  
Professora Doutora Teresa de Jesus da Silva Matos

**Júri:**

Presidente: Doutora Margarida Gomes Moldão Martins, Professora Associada com Agregação no Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

Vogais: Doutora Marília Catarina Leal Fazeres Ferreira, Professora Auxiliar na Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.

Doutora Ana Rita Sá Henriques, Professora Auxiliar Convidada na Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.

## **Agradecimentos**

Em primeiro lugar gostaria de agradecer ao Prof. Doutor António Barreto pela oportunidade concedida para a realização deste trabalho na Faculdade de Medicina Veterinária e pelo apoio e disponibilidade ao longo do trabalho.

De forma muito especial um grande agradecimento à minha orientadora Prof. Doutora Marília Ferreira por me ter acompanhado ao longo deste trabalho sempre com interesse, disponibilidade, motivação, boa disposição, incentivo, conselhos e sobretudo pelo grande apoio prestado e paciência.

À minha co-orientadora Prof. Doutora Teresa Matos pela sua orientação, disponibilidade e apoio no seguimento do trabalho.

À Engenheira Maria José Fernandes e à Maria Helena Fernandes por toda a disponibilidade, paciência, sugestões, apoio, partilha de conhecimento e sobretudo pelos ensinamentos prestados a nível laboratorial.

À Prof. Doutora Manuela Neves que ao longo do meu percurso académico esteve sempre disponível para prestar apoio, aconselhar e motivar, um grande obrigado.

Ao Prof. Doutor Jorge Cadima pelos esclarecimentos estatísticos e todo o apoio prestado ao longo do meu percurso académico.

À Prof. Doutora Maria João Fraqueza pelo apoio prestado na realização da análise estatística neste trabalho.

Ao meu amigo de longa data Chef Ricardo Ferreira pelo fornecimento das amostras de *sushi* e pela sua amizade ao longo dos anos.

Aos meus amigos de longa data Rui Vicente, Fábio Vaz, Tiago Frade por todo o apoio e conselhos prestados não só na realização deste trabalho mas também na minha vida pessoal ao longo destes anos de amizade.

Aos meus pais pelo apoio, carinho, amor e pela oportunidade que me deram tornando tudo isto possível. A vocês devo tudo.

A todas as pessoas, que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho e que não aparecem aqui especificamente mencionadas.

## Resumo

Os alimentos prontos a consumir como o *sushi*, seja na forma congelada, *in natura* ou embaladas em atmosfera protetora, são alimentos altamente perecíveis e suscetíveis de causarem intoxicações ou toxinfecções alimentares por não sofrerem tratamento térmico suficiente e conterem ingredientes crus. O objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar a qualidade microbiológica de *sushi* comercializado em supermercados sob a forma de congelado ou embalado em atmosfera protetora, e de *sushi* disponibilizado num restaurante. Neste estudo determinou-se o pH em 39 amostras de *sushi* e realizaram-se contagens de microrganismos aeróbios totais a 30 °C, *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Bacillus cereus* e pesquisas de *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* e *Vibrio parahaemolyticus*. Foram analisadas 5 variedades de *sushi*, *nigiri* de salmão (n=9), *nigiri* de camarão (n=9), *hosomaki* de salmão (n=9), rolo califórnia (n=6) e *futomaki* de salmão, pepino e cenoura (n=6). Os valores de pH médios globais obtidos para o *sushi* congelado, embalado em atmosfera protetora e restaurante foram de 5,72, 5,09 e 5,34; estes resultados demonstram que a qualidade microbiológica do *sushi* congelado e embalado em atmosfera protetora é semelhante, com valores de microrganismos aeróbios totais entre  $5,5 \times 10^5$  e  $2,2 \times 10^7$  ufc/g e de *Enterobacteriaceae* entre 10 e  $5,76 \times 10^3$  ufc/g. No *sushi* proveniente do restaurante, os valores para os microrganismos aeróbios totais variam entre  $5,39 \times 10^5$  e  $1,15 \times 10^8$  ufc/g, as *Enterobacteriaceae* entre  $2,27 \times 10^3$  e  $3,29 \times 10^5$  ufc/g e para os *Staphylococcus* coagulase positiva entre  $1,8 \times 10^2$  e  $6,18 \times 10^3$  ufc/g. Há valores estatisticamente diferentes nas *Enterobacteriaceae* entre o *sushi* de restaurante e embalado em atmosfera protetora e o congelado ( $p < 0,05$ ). Os valores de *E. coli* e *B. cereus* para todas as amostras foram inferiores a 10 ufc/g. Em todas as amostras analisadas não foi detetada a presença de *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* e *Vibrio parahaemolyticus*. Este estudo revela que Boas Práticas de Higiene e de Fabrico são cruciais na confeção do *sushi*.

**Palavras-chave:** *sushi*, qualidade microbiológica, congelado, embalado em atmosfera protetora, restaurante.

## Abstract

Ready-to-eat foods such as frozen *sushi* or *sushi* in modified atmosphere packaging are highly perishable foods that are likely to cause food poisoning, because they are not sufficiently heat treated and contain raw ingredients, therefore a greater attention to microbiological levels should be considered. The objective of this study was to evaluate and compare the microbiological quality of frozen *sushi* and *sushi* in modified atmosphere packaging sold in supermarkets versus *sushi* sold in a restaurant. For this study microbiological aerobic colony counts, *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus coagulase positive*, *Bacillus cereus* counts were made, investigation for the presence of *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* and *Vibrio parahaemolyticus* were also carried out. In this study 39 samples of *sushi* were analyzed in five different *sushi* varieties, salmon *nigiri* (N=9), shrimp *nigiri* (N=9), salmon *hosomaki* (N=9), california roll (N=6) and salmon *futomaki* with cucumber and carrots (N=6). In this study the pH of the samples were also determined, the global mean of the pH in the samples for frozen *sushi*, modified atmosphere packaging and restaurant was respectively 5,72, 5,09 and 5,34. The results obtained show that the microbiological quality between frozen and modified atmosphere packaging *sushi* are similar, with aerobic colony counts of  $5.5 \times 10^7$  and  $2.2 \times 10^7$  cfu/g and for *Enterobacteriaceae* was between 10 to  $5.76 \times 10^3$  cfu/g. For the *sushi* provided from the restaurant values for aerobic colony counts oscillate between  $5.39 \times 10^5$  and  $1.15 \times 10^8$  cfu/g. For *Enterobacteriaceae* values oscillate between  $2,27 \times 10^3$  and  $3,29 \times 10^5$  cfu/g and for the *Staphylococcus coagulase positive* values are between  $1,8 \times 10^2$  and  $6,18 \times 10^3$  cfu/g. The count in all samples for *E. coli* and *B. cereus* were less than 10 cfu/g. There was significant difference between groups in *Enterobacteriaceae* ( $p < 0,05$ ). In all the analyzed samples there was no presence of *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* and *Vibrio parahaemolyticus*. This study reveals that good hygiene and manufacturing practices in *sushi* is crucial.

**Keywords:** *sushi*, microbiological quality, frozen, modified atmosphere packaging, restaurant.

## Índice Geral

Agradecimentos .....	i
Resumo .....	ii
Abstract .....	iii
Índice Geral .....	iv
Índice de Figuras.....	vii
Índice de Tabelas .....	viii
Lista de Abreviaturas .....	ix
1 – Introdução .....	1
2 – Revisão Bibliográfica.....	3
2.1 – <i>Sushi</i> .....	3
2.2 – História.....	3
2.3 – Tipos de <i>Sushi</i> .....	8
2.3.1 – <i>Nigirizushi</i> .....	8
2.3.2 – <i>Makizushi</i> .....	8
2.3.2.1 – <i>Hosomaki</i> .....	8
2.3.2.2 – <i>Futomaki</i> .....	9
2.3.2.3 – <i>Uramaki</i> .....	9
2.3.2.4 – <i>Temaki</i> .....	10
2.3.3 – <i>Gunkanmaki</i> .....	10
2.3.4 – <i>Chirashizushi</i> .....	10
2.3.4.1 – Tokyo ou estilo <i>Edo Chirashi</i> .....	11
2.3.4.2 – <i>Bara Chirashi</i> .....	11
2.3.4.3 – <i>Gomoku Chirashi</i> .....	11
2.3.5 – <i>Oshizushi</i> .....	11
2.3.6 – <i>Inarizushi</i> .....	12
2.4 – Potenciais benefícios para a saúde no consumo de <i>sushi</i> .....	12
2.5 – Potenciais perigos para a saúde no consumo de <i>sushi</i> .....	14
2.6 – Globalização do <i>sushi</i> .....	17

2.7 – Microrganismos com importância no fabrico e consumo de <i>sushi</i> .....	18
2.7.1 – Microrganismos indicadores de qualidade.....	18
2.7.1.1 – Aeróbios Totais a 30 °C.....	18
2.7.2 – Microrganismos indicadores de higiene.....	19
2.7.2.1 – <i>Enterobacteriaceae</i> .....	19
2.7.2.2 – <i>Escherichia coli</i> .....	19
2.7.3 – Microrganismos patogénicos.....	20
2.7.3.1 – <i>Staphylococcus coagulase positiva</i> .....	20
2.7.3.2 – <i>Bacillus cereus</i> .....	21
2.7.3.3 – <i>Salmonella</i> spp.....	21
2.7.3.4 – <i>Listeria monocytogenes</i> .....	22
2.7.3.5 – <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	22
2.8 – Pescado.....	23
2.8.1 – Consumo de pescado em Portugal.....	23
2.9 – Tecnologias de Conservação de Alimentos.....	25
2.9.1 – Conservação por congelação.....	25
2.9.2 – Conservação por embalagem em atmosfera protetora.....	27
2.10 – Segurança dos Alimentos.....	30
2.10.1 – Critérios Microbiológicos.....	30
2.10.2 – Valores Guia.....	31
3 – Materiais e Métodos.....	34
3.1 – Delineamento experimental.....	34
3.2 – Análises Microbiológicas.....	35
3.2.1 – Preparação das amostras.....	35
3.2.2 – Microrganismos quantificados.....	35
3.2.2.1 – Contagem de Aeróbios Totais a 30 °C.....	35
3.2.2.2 – Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i> .....	35
3.2.2.3 – Contagem de <i>Escherichia coli</i> .....	36
3.2.2.4 – Contagem de <i>Staphylococcus coagulase positiva</i> .....	36
3.2.2.5 – Contagem de <i>Bacillus cereus</i> .....	36
3.2.3 – Microrganismos pesquisados.....	37
3.2.3.1 – Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.....	37

3.2.3.3 – Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i> .....	37
3.2.3.3 – Pesquisa de <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	38
3.3 – Determinação do pH .....	38
3.4 – Análise estatística.....	38
4 – Resultados .....	39
4.1 – Valores de pH.....	39
4.2 – Contagem de aeróbios totais a 30 °C .....	40
4.3 – Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i> .....	40
4.4 – Contagem de <i>Escherichia coli</i> e <i>Bacillus cereus</i> .....	40
4.5 – Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva .....	42
4.6 – Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp., <i>Listeria monocytogenes</i> e <i>Vibrio parahaemolyticus</i> ..	42
5 – Discussão.....	44
6 – Conclusões.....	50
7 – Bibliografia.....	51
8 – Anexos.....	59
Anexo 1 – Valores Guia para Microrganismos Aeróbios Totais em Alimentos Prontos a Consumir, elaborados pelo HPA (Reino Unido) expressos em ufc/g. ....	59
Anexo 2 – Valores Guia para Microrganismos Aeróbios Totais em Alimentos Prontos a Consumir, elaborado pelo CFS (Hong Kong) expressos em ufc/g. ....	61
Anexo 3 - Divisão dos Alimentos Prontos a Consumir em grupos elaborado pelo INSA...	63
Anexo 4 - Valores Guia para a avaliação da qualidade microbiológica de alimentos cozinhados Prontos a Consumir expressos em ufc/g.. ....	64
Anexo 5 - Valores Guia para Microrganismos Indicadores de Higiene e Patogénicos em Alimentos Prontos a Consumir em geral elaborado pelo CFS (Hong Kong) e HPA (Reino Unido) expressos em ufc/g.....	65

## Índice de Figuras

Figura 1 - Aspeto geral da forma ancestral do <i>narezushi</i> .....	4
Figura 2 - Aspeto geral do <i>funazushi</i> .....	4
Figura 3 - Aspeto geral do <i>hakozushi</i> .....	5
Figura 4 - Aspeto geral do <i>nigirizushi</i> .....	6
Figura 5 - Exemplo típico de uma bancada de venda de <i>sushi</i> no século XIX. ....	6
Figura 6 - Exemplo de vários tipos de <i>nigirizushi</i> .....	8
Figura 7 - Exemplo de vários <i>hosomakis</i> com diferentes ingredientes. ....	9
Figura 8 - Exemplo de vários <i>futomakis</i> .....	9
Figura 9 - Exemplo de diferentes <i>uramakis</i> com diferentes ingredientes.....	9
Figura 10 - Exemplo de vários <i>temakis</i> diferentes. ....	10
Figura 11 - Aspeto geral de um <i>gunkanmaki</i> .....	10
Figura 12 - Aspeto geral de um prato de <i>chirashi</i> .....	11
Figura 13 - Aspeto geral do <i>oshizushi</i> .....	12
Figura 14 - Aspeto típico do <i>inarizushi</i> .....	12
Figura 15 - Curva típica das fases de congelação dos alimentos. ....	26
Figura 16 - Valores de pH médios ( $\pm$ DP) do <i>sushi</i> nas diferentes condições para as diferentes variedades.....	44
Figura 17 - Contagens de aeróbios totais a 30 °C (valores médios $\pm$ DP) do <i>sushi</i> em diferentes condições para as diferentes variedades, expressas em log ufc/g. ....	45
Figura 18 –Contagens das Enterobacteriaceae (valores médios $\pm$ DP) do <i>sushi</i> nas diferentes condições para as diferentes variedades, expressas em log ufc/g. ....	47

## Índice de Tabelas

Tabela 1 - Disponibilidade de consumo <i>per capita</i> de pescado na União Europeia em 2013. .....	24
Tabela 2 - Disponibilidades de consumo <i>per capita</i> de pescado em Portugal em 2009, 2010, 2011 e 2013.....	24
Tabela 3 - Vantagens e desvantagens das embalagens em atmosfera protetora.....	29
Tabela 4 - Valores médios de pH ( $\pm$ DP) das amostras de <i>sushi</i> nas diferentes condições congelado, embalado em atmosfera protetora (E.A.P.) e preparado em restaurante para as diferentes variedades (V1-V5). ....	39
Tabela 5 - Resultados microbiológicos (valores médios $\pm$ DP) do <i>sushi</i> congelado, embalado em atmosfera protetora (E.A.P.) e restaurante para as diferentes variedades (V1 - V5) expressos em log ufc/g. ....	41
Tabela 6 - Resultados das pesquisas microbiológicas do <i>sushi</i> congelado, embalado em atmosfera protetora (E.A.P.) e restaurante para as diferentes variedades (V1 - V5). ....	43
Tabela 7 - Critérios Microbiológicos Guia expressos em log ufc/g para alimentos prontos a consumir, Reino Unido.....	46
Tabela 8 - Critérios Microbiológicos Guia expressos em log ufc/g para alimentos prontos a consumir, Hong Kong.....	46

## **Lista de Abreviaturas**

**a.C.** – Antes de Cristo

**APC** – Alimentos Prontos a Consumir

**AVC** – Acidente Vascular Cerebral

**A<sub>w</sub>** – Atividade da Água

**BAP** – Balança Alimentar Portuguesa

**CFS** – Centre for Food Safety

**DTA** – Doenças Transmitidas pelos Alimentos

**EAP** – Embalagem em Atmosfera Protetora

**EPA** – U.S. Environmental Protection Agency

**EUA** – Estados Unidos da América

**FAO** – Food and Agriculture Organization of the United Nations

**FDA** – U.S. Food and Drug Administration

**HACCP** – Hazard Analysis Critical Control Points

**HPA** – Health Protection Agency

**INE** – Instituto Nacional de Estatística

**INSA** – Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge

**L.A** – Los Angeles

**pH** – Potencial Hidrogeniônico

**SIDA** – Síndrome da imunodeficiência adquirida

**U.E** – União Europeia

**UFC** – Unidades formadoras de colónias

**XLD** – Xylose Lysine Deoxycholate Agar

**Ω-3** – Ómega três

**Ω-6** – Ómega seis

## 1 – Introdução

Os alimentos prontos a consumir (APC) são alimentos destinados ao consumo direto ou imediato, os quais não passam por qualquer tipo de processamento adicional, como por exemplo a cozedura. Estes APC fornecem refeições rápidas e nutritivas para o consumidor, no entanto, por vezes, surgem questões sobre a sua qualidade e segurança microbiológica, como é o caso do *sushi* (Liang *et al.*, 2016; Fang *et al.*, 2003).

O *sushi* é um prato tradicional japonês que se tornou muito popular ao longo dos anos em muitos países Europeus e no mundo, sendo considerado um alimento muito nutritivo que contém uma variedade de alimentos potencialmente benéficos para a saúde, chegando a ser por vezes, considerado um dos alimentos mais saudáveis do mundo. É confeccionado com vários tipos de peixes crus, marisco, vegetais e especiarias em combinação com arroz avinagrado cozido. Como APC, é considerado potencialmente perigoso para a saúde pública, porque os ingredientes usados no *sushi* estão sempre em contacto direto com as mãos dos manipuladores, resultando eventualmente na presença de microrganismos patogénicos suscetíveis de provocar doenças transmitidas pelos alimentos (DTA). À semelhança de outros APC, o *sushi* é consumido sem qualquer tratamento adicional o que aumenta o risco da presença de microrganismos potencialmente perigosos para a saúde. O peixe utilizado no *sushi* deve portanto satisfazer os mais elevados requisitos de qualidade e a qualidade microbiológica deve ser monitorizada a fim de prevenir tox infeções ou intoxicações alimentares (Atanassova *et al.*, 2008; Barber & Takemura, 2002).

O *sushi*, servido em restaurantes especializados em comida japonesa, está atualmente também acessível aos consumidores nos supermercados sob a forma de congelado, refrigerado ou embalado em atmosfera protetora (E.A.P.). O *sushi* congelado ou E.A.P. disponível em supermercados, geralmente é processado por indústrias alimentares que cumprem os critérios baseados na implementação de um plano de HACCP. A preparação dos alimentos segue cuidadosamente as Boas Práticas de Higiene e de Fabrico, em ambiente refrigerado e constantemente controlado. Já nos restaurantes, apesar de ser obrigatório segundo o Regulamento (CE) Nº 852/2004 ter um plano HACCP implementado, os trabalhadores nem sempre seguem rigorosamente os critérios impostos pelo HACCP (Atanassova *et al.*, 2008).

Segundo a Associação da Hotelaria, Restauração e Similares de Portugal (AHRESP) não se conhece ao certo quantos restaurantes de comida tradicional japonesa na vertente

do *sushi* existem, mas estima-se que o seu número seja bastante elevado e certamente com tendência a aumentar, acompanhando a crescente popularidade do *sushi* junto do consumidor português (Sousa *et al.*, 2012).

Os produtos alimentares E.A.P., estão muito presentes nas indústrias alimentares em grande parte devido ao facto da procura deste tipo de produtos ter aumentado. Sendo o *sushi* confeccionado maioritariamente com peixe, as E.A.P. revelam-se uma boa forma de preservação do mesmo e aumentam o tempo de vida útil do produto. Congelar o *sushi* já confeccionado também se mostrou uma boa forma de aumentar o seu tempo de vida útil (Sivertsvik *et al.*, 2002a).

Em Portugal não parecem existir muitos estudos sobre a qualidade microbiológica do *sushi*. Este trabalho teve como objetivo comparar a qualidade microbiológica de várias variedades de *sushi* comercializadas em diferentes condições: congelado, embalado em atmosfera protetora e servido em restaurante, com o intuito de perceber se existem diferenças microbiológicas consideráveis entre si, e se estão de acordo com a legislação portuguesa em vigor e os valores Guia do *Centre for Food Safety* (CFS) de Hong Kong e do *Health Protection Agency* (HPA) do Reino Unido.

## 2 – Revisão Bibliográfica

### 2.1 – *Sushi*

A definição simplista de *sushi* é “arroz com vinagre contendo recheio ou cobertura de peixe cru, cozido ou marinado e acompanhado com marisco, vegetais ou ovos” (Barber & Takemura, 2002).

É habitual ser consumido como aperitivo ou prato principal, sendo servido de várias maneiras desde em tijelas com arroz disperso juntamente com peixe e vegetais, até arroz enrolado e prensado com peixe e vegetais preparados à mão. No Japão, o *sushi* é um dos pratos mais típicos, sendo talvez o tipo de comida mais famosa, tornando-se até num ícone do país (Barber & Takemura, 2002).

### 2.2 – História

O *sushi* terá sido mencionado pela primeira vez num dicionário chinês supostamente do século IV, onde se refere que o peixe eviscerado, depois da salga era colocado juntamente com arroz cozido, que por sua vez sofria um processo de fermentação (produção de ácido láctico) o que preservava o peixe (Mouritsen, 2009). Outros autores referem que no século V a.C., no Sudoeste Asiático, o peixe já era preservado juntamente com o arroz (Barber & Takemura, 2002). Não é certo que o *sushi* realmente tenha sido inventado na China e não se sabe quando é que o *sushi* foi realmente inventado. Algumas teorias referem que o *sushi* chegou ao Japão com a introdução do cultivo de arroz, no século IV a.C., enquanto outras teorias, referem que a sua prática foi trazida pelos padres budistas no século VII, quando regressavam da China depois da sua formação. Era comum os japoneses beberem leite e comerem carne, mas com a entrada da religião budista, o consumo de carne foi proibido, obrigando a população a virar-se para o consumo de peixe e, por consequência, foi necessário encontrar novas formas de armazenar e conservar o peixe (Mouritsen, 2009; Barber & Takemura, 2002).

A forma ancestral de *sushi*, conhecida como *narezushi* (Figura 1) que significa *sushi* velho, era confeccionada com carpas e com arroz, era empacotado em camadas e deixado a fermentar durante um ano ou mais. Normalmente, apenas o peixe era consumido e o arroz descartado (Barber & Takemura, 2002). A forma mais antiga de *narezushi* é conhecida como *funazushi* (Figura 2) e terá sido preparado pela primeira vez em Shiga (Japão) há

mais de mil anos (Mouritsen, 2009). Funa é um tipo de carpa dourada que é comum no lago Biwa, situado perto de Kyoto (Japão). Esta carpa era apanhada e salgada no início do verão, depois lavada com água para remover o excesso de sal, e depois era colocada uma camada de arroz por cima ficando assim a fermentar durante mais de um ano. No final, era apenas consumido o peixe e o arroz era descartado (Mouritsen, 2009).



**Figura 1** - Aspecto geral da forma ancestral do *narezushi*. **Fonte:**

<https://twitter.com/hashtag/narezushi>.



**Figura 2** - Aspecto geral do *funazushi*. **Fonte:** <https://www.sushi.com/articles/funazushi-the-oldest-and-most-exotic-sushi-dish>.

Já nos séculos XV e XVI, considerou-se que o processo consumia muito tempo, além de implicar um desperdício muito grande de um bem valioso, o arroz, pelo que se desenvolveram novos processos de preparação, um dos quais o *namanare* ou *hannare*, que permitia encurtar o processo de maturação para apenas alguns dias (Ōmae & Tachiba, 1988). Por esta altura, os japoneses introduziram mais uma refeição, o “almoço”, e estavam agora a fazer três refeições por dia. Consumir arroz e peixe já era costume neste período, e o arroz passou então a ser cozido com água, em vez de a vapor. No início do século XVII, a capital do Japão mudava da antiga cidade imperial de Kyoto para Edo (hoje Tóquio), e com esta mudança houve a implementação de uma estrutura política e social nova que veio aumentar a produção de alimentos, nomeadamente o arroz (Barber & Takemura, 2002). O aumento da produção de arroz conduziu à ampla utilização de outros produtos com arroz, nomeadamente o vinagre. Na confeção do arroz de *sushi*, em vez de se deixar fermentar

naturalmente com produção de ácido láctico, como era feito usualmente, a introdução do vinagre no arroz, permitiu reduzir o tempo de preparação para apenas algumas horas em vez de vários dias. No entanto, o *sushi* ainda era prensado numa caixa e o peixe era marinado e fervido ou grelhado, mas nunca consumido cru. A invenção deste tipo de *sushi* é atribuída ao médico japonês Matsumoto Yoshiichi que terá percebido que adicionar vinagre ao arroz do *sushi* tornava o peixe mais tenro e ao mesmo tempo dava um gosto muito agradável ao arroz. Em meados do século XVIII, o período de fermentação já estava reduzido para apenas duas horas, com a introdução do *hakozushi* (Figura 3). O preparado consiste em colocar uma camada de arroz avinagrado cozido em conjunto com peixe em forma de filete, cortado às fatias, numa caixa de madeira onde o peixe é prensado. No final é cortado e servido em pedaços retangulares. Pela mesma altura, existia um tipo de *sushi* que era enrolado em folhas de algas chamado *makizushi*. Os rolos eram prensados utilizando um tapete simples de bambu, uma prática que ainda hoje é utilizada (Mouritsen, 2009).

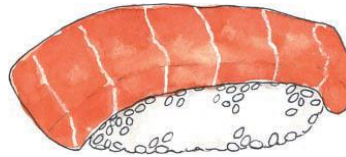


**Figura 3** - Aspeto geral do *hakozushi*. Fonte: <http://web-japan.org/nipponia/nipponia39/en/appetit/index.html>.

Durante a década de 1820, Hanaya Yohei (1799 – 1858) desenvolveu a forma moderna de *sushi*, a que deu o nome de *nigirizushi* (Figura 4), a qual consiste numa bola simples de arroz moldado à mão, com uma fatia de peixe cru por cima (Mouritsen, 2009).

No *nigirizushi*, ao arroz habitualmente cozinhado na hora é adicionado vinagre de arroz e sal. Sendo um processo tão rápido, este tipo de *sushi* é por vezes considerado o primeiro *fast-food*, e o *nigirizushi* tornou-se no símbolo de *sushi* que hoje se conhece em todo o mundo. Apesar da adição de vinagre ao arroz ter reduzido o tempo de preparação, muitos *Chefs* ainda continuavam a confeccionar o *sushi* de forma tradicional (prensado). Os residentes de Edo seriam, notoriamente, impacientes, ou muito ocupados, e talvez por isso o novo *nigirizushi* de Yohei, que demorava apenas alguns minutos a preparar, se tornou

muito famoso (Barber & Tekemura, 2002). De facto, não parecem restar dúvidas que o *nigirizushi* foi desenvolvido e dedicado a pessoas que não tinham tempo suficiente, durante o seu dia-a-dia, para confeccionarem uma refeição demorada (Mouritsen, 2009).



**Figura 4** - Aspeto geral do *nigirizushi*. **Fonte:** Mouritsen, 2009.

Em meados do século XIX terão surgido as bancadas de venda de *sushi* (Figura 5), as quais tinham rodas e eram empurradas para os lugares onde tinham o direito de operar à noite. Era estendida uma cortina (*noren*) como sinal indicativo que já estava pronto para dar início às vendas. As bancadas não possuíam bombas de extração de água, o que dificultava em muito a tarefa de obter água. O arroz de *sushi* era cozinhado em casa e trazido para a bancada num contentor de madeira. No inverno o contentor era embrulhado em palha, para o arroz não arrefecer e se tornar desagradável. Os clientes do *sushi*, nestas bancadas, seriam habitualmente pessoas que estavam de regresso das casas de banho públicas ou homens que em viagens de negócios estavam simplesmente a passar pela zona. Não havia o conceito de boas maneiras à mesa, pegava-se com os dedos no *sushi* e assim se molhava na tija de molho de soja acabando por sujar as mãos. A cortina (*noren*) acabava por servir de guardanapo para limpar as mãos, e no final da noite, uma cortina bem suja era sinal de boas vendas ou de pessoas muito esfomeadas (Ōmae & Tachibana, 1988).



**Figura 5** - Exemplo típico de uma bancada de venda de *sushi* no século XIX. **Fonte:** Mouritsen, 2009.

A transição destas bancadas para lojas e restaurantes mais elegantes foi um processo muito gradual e teve início depois do grande terramoto em 1923. Apesar da existência de lojas, a bancada de *sushi* ainda permanecia na entrada da loja. As cadeiras dentro da loja serviam sobretudo para as pessoas se sentarem enquanto esperavam que o *sushi* fosse empacotado em caixas para serem levadas. Havia quem não se sentasse nem dentro da loja nem fora, mas optasse por comer em pé numa área que apesar de ser na rua tinha uma cobertura. Nesta altura, a cortina (*noren*) era pendurada numa vara em frente à loja em vez de ser pendurada ao lado das bancadas. As bancadas só desapareceram das ruas de Tóquio depois da segunda guerra mundial, durante a ocupação dos aliados. Foram simplesmente transferidas para dentro das lojas, onde se converteram numa bancada de trabalho somente para o *Chef*. Com esta nova forma de confeccionar o *sushi*, os clientes passariam a comer sentados com todo o conforto, não tendo de se preocupar com o tempo que fazia na rua. No entanto, ainda se continuavam a usar as tijelas com o molho de soja e gengibre, o *Chef* ainda se sentava para confeccionar o *sushi* e os clientes levantavam-se para comer o que o *Chef* tinha preparado (Ômae & Tachibana, 1988).

A evolução do *sushi* não se ficou pelo *nigirizushi*, continuou-se a desenvolver não só como forma de refeições rápidas, mas também como forma de arte culinária, com uma grande riqueza de variedades, dependendo do local. Assim, por exemplo o *oshizushi*, muito característico da zona de Osaka, e considerado como uma versão moderna do *hakozushi*, ou *sugakazushi*, é confeccionado com o peixe inteiro cortado ao meio e preenchido depois com arroz (Mouritsen, 2009).

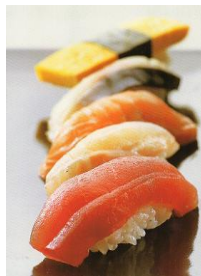
A grande mudança não aconteceu no Japão, mas sim nos Estados Unidos da América (E.U.A.), nomeadamente na Califórnia na década de 1960, quando surgiu a ideia de criar um rolo de *sushi*, chamado hoje rolo Califórnia, no qual o arroz ficaria no exterior e não no interior. O consumidor ocidental não estava habituado ao nori (folha de alga seca) e portanto a ideia do nori ficar no interior do rolo e o arroz no exterior aumentou em flecha a popularidade do *sushi* (Elliot & Cook, 2015). Durante a década de 1970, o interesse pelo *sushi* estendeu-se por toda a América do Norte, e desde então os melhores *Chefs* japoneses de *sushi* têm aberto restaurantes por todo o continente. Nos últimos anos o *sushi* tornou-se num fenómeno global, muito devido ao interesse pela cultura e cozinha Asiáticas, bem como pelo focus crescente pela comida mais saudável (Mouritsen, 2009). Juntamente com o *sushi*, introduziu-se também o *sashimi*, que basicamente é o peixe cortado em fatias ou em cubos e servido cru (Barber & Takemura, 2002). Antes considerado um luxo consumido apenas por empresários japoneses ricos, nos dias de hoje o *sushi* encontra-se

disponível por todo o mundo, desde restaurantes especializados em sushi até ao supermercado local (Elliot & Cook, 2015).

## **2.3 – Tipos de *Sushi***

### **2.3.1 – *Nigirizushi***

Em japonês a palavra *nigiri* significa “apertar”, é o tipo de *sushi* mais conhecido e frequentemente presente nos bares e restaurantes de *sushi*. A sua forma de preparar é simples, o arroz é moldado à mão até adquirir uma forma oval e sobre ele é colocado um pouco de pasta de wasabi (tempero) e usualmente uma fatia de peixe (Figura 6). Podem utilizar-se outros ingredientes, em vez de peixe, como camarão, fruta, vegetais ou até omelete (Dekura *et al.*, 2004).



**Figura 6** - Exemplo de vários tipos de *nigirizushi*. **Fonte:** Barber & Takemura, 2002.

### **2.3.2 – *Makizushi***

*Maki* significa rolo, e surgiu como forma de os clientes manterem as mãos limpas quando comiam *sushi* diretamente das bancadas de venda (Elliot & Cook, 2015). Consiste em enrolar o nori, em forma de cilindro juntamente com o arroz, peixe, vegetais ou omeletes (Barber & Tekemura, 2002). Este tipo de *sushi* inclui quatro categorias (Elliot & Cook, 2015).

#### **2.3.2.1 – *Hosomaki***

São rolos pequenos que contêm apenas um ingrediente, ou dois, no máximo (Figura 7).



**Figura 7** - Exemplo de vários *hosomakis* com diferentes ingredientes. **Fonte:** Kawasumi, 2001.

### 2.3.2.2 – *Futomaki*

São rolos grandes que contêm vários ingredientes (Figura 8).



**Figura 8** - Exemplo de vários *futomakis*. **Fonte:** Kawasumi, 2001.

### 2.3.2.3 – *Uramaki*

Foi através do famoso rolo Califórnia que este tipo de *sushi* surgiu. O arroz fica na parte externa e o nori na parte interna em vez do tradicional rolo onde o nori fica na parte externa (Figura 9). Não expor o nori à superfície, tornou o *sushi* mais atrativo para o consumidor que não estava habituado a consumir algas marinhas (nori). Foi concebido para substituir os *hosomakis* de atum, por este ser um peixe muito gordo e difícil de chegar aos E.U.A.



**Figura 9** - Exemplo de diferentes *uramakis* com diferentes ingredientes. **Fonte:** Kawasumi, 2001.

#### 2.3.2.4 – *Temaki*

É feito apenas com as mãos e consiste em enrolar o nori juntamente com o arroz e outros ingredientes em forma de cone (Figura 10).



**Figura 10** - Exemplo de vários *temakis* diferentes. **Fonte:** Kawasumi, 2001.

#### 2.3.3 – *Gunkanmaki*

Este tipo de *sushi* recebe o nome da sua aparência, por se assemelhar a um navio de guerra. É considerado um híbrido entre o *nigiri* e o *maki* e consiste em envolver o nori à volta do arroz em forma oval e por cima são colocadas ovas de peixes ou outros ingredientes (Figura 11). Em Ginza, no distrito de Tokyo, a um pequeno restaurante de *sushi* chamado Kyubey é dado o crédito de ter inventado este tipo de *sushi* por volta do ano de 1941.



**Figura 11** - Aspeto geral de um *gunkanmaki*. **Fonte:** Dekura *et al.*, 2004.

#### 2.3.4 – *Chirashizushi*

A palavra *chirashi* significa *sushi* disperso. É o tipo de *sushi* mais fácil de confeccionar sendo composto por peixe cru, vegetais, omelete fatiada ou em cubos e arroz. Normalmente é servido dentro de uma tigela individual ou num prato largo. Para os japoneses, a cor é uma componente muito importante na apresentação deste prato, o qual deve incluir as cinco cores (vermelho, amarelo, verde, preto e branco) usualmente presentes na cozinha japonesa. Há três tipos de estilos principais de *chirashi* (Elliot & Cook, 2015).

#### 2.3.4.1 – Tokyo ou estilo *Edo Chirashi*

Conhecida por conter uma variedade grande de ingredientes (Figura 12).

#### 2.3.4.2 – *Bara Chirashi*

O arroz é distribuído de forma dispersa juntamente com peixe cru, pepino, camarão, omelete em cubos e ovas de salmão.

#### 2.3.4.3 – *Gomoku Chirashi*

Um prato vegetariano servido em tigela contendo vegetais cozidos misturados com arroz, ervilhas tortas e tiras finas de omelete. Para além destes três tipos, um *Chef* de *sushi* pode usar a sua imaginação e acrescentar outros ingredientes e manter o estilo típico de *chirashi*.



**Figura 12** - Aspeto geral de um prato de *chirashi*. **Fonte:** Mouritsen, 2009.

#### 2.3.5 – *Oshizushi*

Antecessor do famoso *nigirizushi* a sua origem remontava ao século XIV, sendo provavelmente um dos tipos de *sushi* mais antigos. A técnica de confeção é simples: o peixe já preservado em vinagre e arroz é prensado num molde de madeira próprio, o *oshizushihako* ou *hako*, ficando assim em forma de bloco que depois podia ser cortado em fatias e servido de imediato (Figura 13). No século XIV, era usado essencialmente como uma técnica de preservação (Elliot & Cook, 2015).

Até à segunda metade do século XIX quando o *nigirizushi* foi concebido, todo o *sushi* era confeccionado desta forma. Hoje em dia, este tipo de *sushi* é feito com cavala (peixe) marinado em vinagre, sendo o mais popular *takeaway* comprado nos aeroportos pelos japoneses que estão em viagem (Barber & Tekemura, 2002).



**Figura 13** - Aspeto geral do *oshizushi*. **Fonte:** Mouritsen, 2009.

### **2.3.6 – Inarizushi**

O *inarizushi* ou *sushi* recheado (Figura 14) é feito com tofu frito, no qual se faz um pequeno corte de maneira a formar uma bolsa onde é colocado o arroz apenas ou juntamente com outros ingredientes (Patrocínio, 2009).



**Figura 14** - Aspeto típico do *inarizushi*. **Fonte:** Dekura *et al.*, 2004.

## **2.4 – Potenciais benefícios para a saúde no consumo de *sushi***

Há quem defenda que existem vários benefícios no consumo do *sushi*. Peixe, arroz, vegetais, soja e nori, os ingredientes tipicamente usados na confecção do *sushi*, encontram-se amplamente disponíveis no mercado e contêm excelentes propriedades nutricionais (Dekura *et al.*, 2004). O *sushi* é um alimento baixo em calorias, rico em proteínas, vitaminas e com quantidades moderadas de hidratos de carbono. Os ingredientes tradicionais do *sushi* ajustam-se bem à tendência atual para a redução do consumo de carnes vermelhas, e uma refeição típica de *sushi*, com sete a nove peças, tem aproximadamente cerca de trezentas calorias (Ōmae & Tachibana, 1988).

O peixe e o marisco são alimentos altamente nutricionais e baixos em calorias, pelo que a ingestão de apenas pequenas porções dos mesmos é suficiente para fornecer um terço a metade das necessidades proteicas diárias. São excelentes fontes de vitamina B12, essencial na produção e manutenção das células, alguns são ricos em iodo, um mineral fundamental para um bom funcionamento da tiróide. O atum, o salmão, a sardinha, a cavala e o arenque são peixes gordos e muito ricos em ácidos gordos do tipo  $\Omega$ -3 que podem

ajudar na prevenção de doenças cardiovasculares, risco de AVC e artrite (Dekura *et al.*, 2004).

Peixes brancos como o robalo e o pargo vermelho têm menos de cem calorias por 100g, e até peixes mais ricos como a enguia, cavala e o atum têm menos de duzentas calorias por 100g (Barber & Tekemura, 2002).

O arroz é um dos principais alimentos de, provavelmente, mais de metade da população mundial. É uma boa fonte de proteínas e hidratos de carbono, a sua digestão é lenta e consequentemente a energia obtida pelo consumo de arroz é libertada lentamente. O arroz não contém glúten e por isso pode ser consumido por pessoas que tenham intolerância alimentar ao trigo. Outro grande fator a favor do consumo de *sushi* tem a ver com o facto de o arroz ser relativamente firme e portanto, requer uma mastigação mais prolongada, o que permite que os sensores do apetite presentes no cérebro enviem sinais de saciedade o que vai por sua vez reduzir a sensação de fome (Dekura *et al.*, 2004; Barber & Takemura, 2002).

Produtos fermentados obtidos a partir da soja, tais como o molho de soja, missô e nattô são ricos em proteínas, magnésio, potássio e ferro. Os produtos derivados da soja contêm fitoestrogénios que atuam de forma semelhante ao estrogénio (hormona feminina). Sementes de soja têm sido usadas no tratamento de problemas pré-menstruais e de menopausa (Dekura *et al.*, 2004). A soja fortalece o sistema imunitário e possui ácidos gordos do tipo  $\Omega$ -6 que contribuem para a produção de certos eicosanóides (hormonas) vitais que regulam o fluxo sanguíneo (Mouritsen, 2009).

Nori é um tipo de alga marinha usada na confeção do *sushi*, extremamente rica em vitaminas do tipo A, B1, B2, B6, C e niacinas. Por outro lado, contém minerais tais como o iodo e parece ajudar na redução da acumulação do colesterol nos vasos sanguíneos (Barber & Tekemura, 2002). Alguns autores defendem que as algas marinhas ajudam na remoção de metais pesados e elementos radioativos como o estrôncio e podem ajudar na prevenção do cancro (Feng, 2012).

O wasabi é rico em betacarotenos, vitamina C, glucosinolatos, isotiocianatos e tem propriedades antimicrobianas. É um agente poderoso que mata algumas formas microbianas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus*. Alguns estudos médicos sobre asma e distúrbios congestivos mostraram que o wasabi parece ajudar na redução do excesso de muco na cavidade nasal e no pulmão que, por vezes, agrava este tipo de doenças (Feng, 2012). Os vários vegetais usados são uma fonte de vitaminas, minerais e fibra (Dekura *et al.*, 2004).

O gengibre tem propriedades antimicrobianas e um efeito natural antisséptico, auxilia a digestão e reforçar as defesas imunitárias contra constipações e gripes (Dekura *et al.*, 2004; Barber & Takemura, 2002).

## 2.5 – Potenciais perigos para a saúde no consumo de *sushi*

O *sushi* é um alimento que não sofre qualquer tipo de processamento térmico, à exceção do arroz que é cozinhado, e por isso encontra-se associado a vários perigos microbiológicos em especial pelo uso de peixe e marisco crus. Assim, práticas deficientes de higiene e fabrico por parte dos manipuladores na confeção do *sushi*, podem implicar perigos biológicos graves (Feng, 2012).

Quando presentes nos alimentos, e após ingestão, os microrganismos patogénicos ou as suas toxinas (bactérias) e micotoxinas (fungos) podem causar doença ao ser humano, as denominadas doenças transmitidas pelos alimentos (DTA). As DTA dividem-se em duas categorias (Rodrigues *et al.*, 2015):

Intoxicações alimentares: são causadas pela ingestão de alimentos em que estão presentes as toxinas e micotoxinas produzidas pelos microrganismos.

Infeções alimentares: são causadas pela ingestão de alimentos com uma contaminação necessária para causar doença.

Peixe cru e marisco podem conter parasitas e bactérias. Sendo o peixe cru um alimento altamente perecível, suscetível ao desenvolvimento bacteriano, e fazendo parte de quase todos os pratos de *sushi*, pode representar um risco sério para a saúde, pelo que as boas práticas na manipulação destes alimentos são cruciais. Um parasita típico presente no peixe cru é o *Anisakis simplex* que causa anisaquidose. Um estudo efetuado por Ramos (2011) a dezoito refeições de *sushi* e *sashimi* não revelou presença de anisaquídeos, mas o autor alerta que a confeção de *sushi* em casa pode ser perigosa por haver desconhecimento por parte dos consumidores da possível presença deste parasita no peixe e sugere que se deveriam implementar ações de formação para o público em geral sobre este assunto. A inspeção visual do peixe para deteção de parasitas é fundamental (Regulamento (CE) Nº 2074/2005), bem como uma lavagem adequada do peixe, antes de o incluir no *sushi*. As bactérias reproduzem-se rapidamente se as condições forem favoráveis, e algumas bactérias têm a capacidade de formar esporos que as protegem de temperaturas elevadas e da congelação. Bactérias patogénicas típicas no *sushi* incluem *Escherichia coli*,

*Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Listeria* spp., *Vibrio* spp., entre outras. A bactéria *Vibrio parahaemolyticus* encontra-se normalmente no marisco, já o *Staphylococcus aureus* e a *Salmonella* podem ser introduzidas nos alimentos por contaminação cruzada ou por má manipulação durante o processo de confeção. O arroz usado no *sushi* pode conter *Bacillus cereus*, também devido a má manipulação ou incorreto armazenamento (Feng, 2012).

A incidência de infeções parasitárias é muito comum em países como o Japão, a Holanda e outros da Costa do Pacífico onde consumir peixe cru faz parte da gastronomia típica. Com a crescente globalização do consumo de *sushi* já há relatos de casos noutros países, como os E.U.A. e países da U.E. Um estudo efetuado ao arroz e ao peixe servidos em restaurantes japoneses na zona de Seattle, no ano de 1994, revelaram que 10% do salmão usado no *sushi* e 5% do peixe cavala estavam contaminados com parasitas (Feng, 2012).

Grupos de risco tais como mulheres grávidas, crianças, idosos e pessoas com o sistema imunitário comprometido (como por exemplo doentes com SIDA, diabetes *mellitus*, cancro, problemas gastrointestinais entre outras) devem evitar o consumo de *sushi* por este conter ingredientes crus. Estes grupos de pessoas são mais suscetíveis às DTA, nomeadamente a listeriose provocada pela bactéria *Listeria monocytogenes* que pode ser encontrada em alimentos prontos a consumir (APC) como é o caso do *sushi* (Elliot & Cook, 2015; Reames, 2012). As grávidas deverão ter especial atenção ao consumo de *sushi*. A *Academy of Nutrition and Dietetics* recomenda mesmo que durante a gravidez seja evitado o consumo de pescado cru ou mal cozinhado (Sousa *et al.*, 2012).

O molho de soja pode conter trigo e por isso deve ser evitado por pessoas com algum tipo de intolerância ao mesmo, além do que deve ser consumido com moderação por conter altos teores de sal. Já o camarão e a lula contêm teores elevados de colesterol e, portanto, devem ser consumidos com moderação, especialmente por indivíduos que sofram de problemas de colesterol alto (Dekura *et al.*, 2004).

Na preparação do arroz é adicionado açúcar, portanto pessoas que sofram de diabetes *mellitus* não devem consumir *sushi* com frequência. O marisco usado no *sushi* pode ser um sério perigo para pessoas intolerantes ou alérgicos, por conter alergénios. Segundo o Regulamento da (UE) N° 1169/2011, é obrigatória a informação ao consumidor da presença de alergénios nos alimentos, mas em caso de dúvida o consumidor deverá questionar o *Chef* sobre a composição do prato (Sousa *et al.*, 2012).

A histamina, formada no peixe na fase *post-mortem* através de bactérias que são capazes de descarboxilar o aminoácido histidina, também constitui uma preocupação. No

*sushi* são usados atum e cavala, peixes que possuem frequentemente elevados teores de histidina. A 10 °C as bactérias produtoras de histamina proliferam rapidamente, mas a 5 °C o seu desenvolvimento é retardado. Assim, deve evitar-se o consumo de peixe que visualmente não esteja em condições apropriadas ou com uma refrigeração inadequada (acima dos 6 °C) já que o risco de provocar doença é elevado se houver produção de histamina pois não há forma de destruí-la. Uma forma eficiente para prevenir a formação de histamina é o arrefecimento rápido do peixe após a sua captura e uma adequada refrigeração durante o seu manuseamento e armazenamento (Novotny *et al.*, 2014; Sousa *et al.*, 2012).

Outro grande perigo a ter em conta é a presença de mercúrio (Hg) no peixe. O peixe pode conter nos seus tecidos elementos tóxicos nomeadamente o Hg. A maioria dos pratos de *sushi* contém peixe, o que pode ser uma via de exposição ao Hg. O Hg pode ser encontrado no meio ambiente sob diversas formas químicas. Todas as formas de Hg são tóxicas mas o metil mercúrio (MeHg<sup>+</sup>) e o etil mercúrio são consideradas mais tóxicas que o próprio Hg e as suas formas inorgânicas. É bem conhecido que a exposição ao Hg é transmitida através do consumo de peixe sendo que 90% do Hg total está na forma de MeHg<sup>+</sup>. Isto pode representar um risco para os humanos quando se consome peixe que contenha elevados níveis de MeHg<sup>+</sup> (Paiva *et al.*, 2016; Burger *et al.*, 2014).

Segundo o Regulamento (CE) N° 1881/2006, o teor máximo permitido de Hg em produtos de pesca é de 0,50 ou 1,0 mg/kg dependendo do peixe. Peixes que se encontram no topo da cadeia alimentar como peixe-espada, cavala, truta e atum, estão entre os peixes com maior teor de Hg. Já o salmão e a enguia têm níveis considerados seguros (Feng, 2012). A exposição elevada ao Hg provoca deficiência no desenvolvimento neurológico, dificuldades no desenvolvimento cognitivo, aumento de problemas cardiovasculares, problemas neurológicos e défice de locomoção. Adicionalmente o MeHg<sup>+</sup> pode contrariar alguns dos efeitos benéficos do consumo de  $\Omega$ -3, nomeadamente os efeitos protetores a nível cardiovascular (Paiva *et al.*, 2016; Burger *et al.*, 2014).

Recentemente, a *Food and Drug Administration* (FDA) e a *Environmental Protection Agency* (EPA) alertaram para que as mulheres grávidas e as crianças variassem o tipo de peixe que consomem, escolhendo as espécies que contenham níveis mais baixos de Hg e façam uma restrição no consumo de peixe para duas a três vezes por semana (Paiva *et al.*, 2016).

Num estudo realizado por Paiva *et al.* (2016), sobre o teor de Hg em *sushi* comercializado nos restaurantes japoneses e supermercados do Brasil (Campinas, São

Paulo), os autores mostraram que o salmão e as delícias do mar usadas no *sushi* continham valores baixos de Hg, enquanto que o atum apresentava valores mais elevados, com uma média de 88% de Hg orgânico total. Outro estudo, efetuado por Burger *et al.* (2014), em lojas na Nova Jérсия (E.U.A.) e nos supermercados da cidade de Nova Iorque e Chicago (E.U.A.), sobre os níveis de Hg no *sushi*, revelou que existiam diferenças no valor de MeHg<sup>+</sup>, dependendo do tipo de *sushi* e da sua constituição. O atum destinado para o *sashimi* continha valores de MeHg<sup>+</sup>, em média, de 0,61 mg/kg, enquanto que o atum destinado aos rolos de *sushi* continha valores mais baixos, em média cerca de 0,41 mg/kg. Já no salmão destinado ao *sashimi*, o MeHg<sup>+</sup> apresentava valores médios de 0.02 mg/kg e, no salmão destinado aos rolos de *sushi*, 0,04 mg/kg, o que revela uma diferença considerável no teor de MeHg<sup>+</sup> comparativamente ao atum.

## 2.6 – Globalização do *sushi*

O chamado *sushi boom* começou nos Estados Unidos da América (E.U.A.) nos anos 1960 e 1970 e rapidamente se espalhou pelo mundo (Sakamoto & Allen, 2011).

Apesar de alguns tipos de *sushi* estarem disponíveis na época, na pequena cidade de Tokyo, a onda de popularidade do *sushi* em Los Angeles (L.A.) surgiu quando a economia japonesa se encontrava em crescimento através do movimento de executivos japoneses no ano de 1960 que estavam de passagem pelos E.U.A. em negócios. As suas chorudas contas bancárias permitiam apreciar e comer *sushi* que, na altura era dispendioso em L.A. Foi por esta altura que o *nigirizushi* e o *makizushi* começaram a tornarem-se mais disponíveis, e isto permitiu que mais restaurantes japoneses abrissem as suas portas, tornando assim o *sushi* mais visível ao consumidor americano. A imagem e o uso do atum no *sushi*, nos E.U.A., retraíram muito o seu consumo. O atum usado no *sushi* era de um vermelho robusto, vindo diretamente do oceano, servido em filetes meticulosamente cortados e sem tratamento, o que era completamente o oposto do atum branco e irregular a que o consumidor americano estava habituado (Caroll, 2009).

Nos anos 1970 os americanos começaram a consumir *sushi*, primeiro na costa oeste e depois noutras partes do país. Os fatores que terão contribuído para o seu consumo foi o facto de ser visto como uma comida saudável que continha uma variedade de vegetais e peixe em vez de carne (Sakamoto & Allen, 2011). A atitude perante o *sushi* começou a mudar, sobretudo quando o movimento de “ingredientes frescos e simples” começou a emergir. Expandiu-se a ideia de que comer *sushi* era saudável e visto como uma forma de manter uma dieta saudável. Perante esta atitude, mais restaurantes de *sushi* começaram a

abrir no Sul da Califórnia e noutras cidades da América do Norte. Pelos anos 1980 os restaurantes de *sushi* encontravam-se por toda a cidade de L.A. Com a proliferação de restaurantes e bancadas de *sushi* nos supermercados, o *sushi* começou a ser aceite pelos americanos e hoje encontra-se difundido por toda a parte, nos E.U.A. (Caroll, 2009).

O verdadeiro *boom* do *sushi* começou nos anos 1990 quando a Europa e o resto do mundo começaram a adotar as tendências dos E.U.A. no consumo de *sushi*. Hoje em dia existem muitos restaurantes de *sushi* em várias cidades da Europa, Ásia, Rússia, Índia, América Latina e Oceânia. Cada país e região servem a sua versão de *sushi*, baseada na gastronomia local. No Japão, a confeção do *nigirizushi* com atum cru, salmão cru, camarão ou polvo são os mais comuns, noutros lados, fora do Japão, o *sushi* em forma de rolo (*makizushi*) é o mais confeccionado e consumido. Novas combinações de recheios com vegetais e peixe cozido ou carne no rolo de *sushi* foram entretanto criados. Com este rápido crescimento global, o *sushi* tornou-se num “artigo” que gera centenas de milhões de dólares de receita no mundo inteiro e, portanto, tem um grande impacto na economia mundial (Sakamoto & Allen, 2011).

## **2.7 – Microrganismos com importância no fabrico e consumo de *sushi***

### **2.7.1 – Microrganismos indicadores de qualidade**

#### **2.7.1.1 – Aeróbios Totais a 30 °C**

Os microrganismos aeróbios totais a 30 °C podem ser utilizados como parte de uma avaliação geral da qualidade dos alimentos e do seu tempo de vida útil, mas não podem servir diretamente para a avaliação da segurança nos alimentos prontos a consumir (APC) como no caso do *sushi* embalado em atmosfera protetora, congelado ou servido em restaurantes (HPA, 2009).

Contagens elevadas destes microrganismos podem sugerir que existem problemas ao nível da qualidade mas, será necessário efetuar outras análises específicas para perceber quais os microrganismos predominantes que possam estar a causar estes elevados valores. Alimentos crus, como o peixe e vegetais usados no *sushi* podem apresentar contagens relativamente elevadas por não sofrerem qualquer tipo de tratamento térmico, como a cozedura por exemplo, ou pelo facto de os vegetais por si só já conterem uma elevada carga microbiana (HPA, 2009).

## **2.7.2 – Microrganismos indicadores de higiene**

A presença de organismos indicadores de higiene nos APC, como no caso do *sushi* embalado em atmosfera protetora, congelado ou servido em restaurantes, pode ser um indicativo de algumas más práticas de higiene, da reduzida qualidade das matérias-primas, limpeza deficiente ou inadequada, temperaturas de armazenamento incorretas, contaminações cruzadas ou uso de alimentos crus. Estes organismos são úteis na avaliação da higiene em geral dos alimentos (HPA, 2009).

### **2.7.2.1 – *Enterobacteriaceae***

As *Enterobacteriaceae* são uma família de bactérias Gram-negativas, em forma de bacilos com um tamanho entre 0,3 a 1,0  $\mu\text{m}$  x 1,0 a 6,0  $\mu\text{m}$ , anaeróbias facultativas, não esporuladas, catalase positivas, oxidase negativas, fermentam a glucose e reduzem o nitrato a nitrito (Murray *et al.*, 2010).

Bactérias desta família encontram-se em todo o lado, no solo, na água e na vegetação. Fazem parte da flora normal da maioria dos animais de sangue quente incluindo o Homem. Algumas destas bactérias podem causar uma variedade de doenças em humanos, com destaque para as infeções gastrointestinais (Murray *et al.*, 2010).

Algumas *Enterobacteriaceae* podem contribuir para a produção de histamina nos peixes como o atum e a cavala. Teores elevados de histamina são tóxicos para os humanos. A presença de contagens muito elevadas da família *Enterobacteriaceae* revela a existência de problemas de higiene, contaminações cruzadas entre alimentos, alimentos que não sofreram um processo térmico suficiente, limpeza deficiente do equipamento e das superfícies de contacto com os alimentos, entre outros (HPA, 2009).

### **2.7.2.2 – *Escherichia coli***

*Escherichia coli* pertence à família das *Enterobacteriaceae*. São bactérias anaeróbias facultativas, Gram-negativas, catalase-positivas, oxidase-negativas, fermentativas, e não esporuladas. É muito semelhante ao género *Shigella*, sendo que a *E. coli* distingue-se pelo facto de ter a capacidade de fermentar a lactose e ser mais ativa bioquimicamente que a *Shigella*. É um microrganismo mesófilo que cresce a temperaturas desde 7-10 °C até 50 °C com um crescimento ótimo a 37 °C e consegue sobreviver em alimentos refrigerados ou congelados por um extenso período. O  $a_w$  mínimo de crescimento é de 0,95, consegue crescer em pH baixos entre 3,6 a 3,8 sendo o ótimo perto do neutro (7). Contaminações

fecais da água e por má manipulação dos alimentos são as causas mais comuns da presença de *E. coli* nos alimentos (Adams *et al.*, 2016; Meng *et al.*, 2013; Feng, 2012).

### **2.7.3 – Microrganismos patogénicos**

Os microrganismos patogénicos capazes de causar doenças quando se encontram presentes nos APC, como no caso do *sushi*, podem significar um sério risco para a saúde do consumidor. Alguns microrganismos devem até estar completamente ausentes como é o caso da *Salmonella* e do *Vibrio parahaemolyticus*. No entanto números baixos de microrganismos como a *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* representam um risco menor em pessoas com um sistema imunitário saudável, ao contrário do que acontece com os imunocomprometidos. A presença destes microrganismos nos alimentos pode ser devida à má manipulação dos alimentos, contaminações cruzadas entre alimentos, temperaturas de confeção e armazenamento incorretas, entre outros (HPA, 2009).

#### **2.7.3.1 – *Staphylococcus aureus***

São bactérias pertencentes à família *Staphylococaceae*. São Gram-positivas anaeróbias facultativas com a capacidade de fermentar a glicose, catalase-positivas e oxidase-negativas. Possuem uma forma esférica ou oval e estão agrupadas em forma de cachos de uva. Dependendo da espécie e condições de cultura, as suas células podem ter diâmetros entre 0,5 e 1,5 µm. São mesófilos típicos, crescem a temperaturas entre os 7 e 48 °C, a temperatura ótima de crescimento é de 37 °C. As enterotoxinas produzidas por esta bactéria desenvolvem-se a uma temperatura entre 35 e 40 °C. O pH de crescimento ideal situa-se nos 6 a 7, com um mínimo de 4 e um máximo entre 9,8 a 10 (Adams *et al.*, 2016; Seo & Bohach, 2013; Hait, 2013).

A ingestão de enterotoxinas pré-formadas produzidas por *Staphylococcus aureus* está na origem da maioria das intoxicações alimentares existentes. Várias espécies de *Staphylococcus*, coagulase positivas e coagulase negativas, produzem enterotoxinas. O principal *habitat* desta bactéria é a pele e as mucosas dos animais de sangue quente, e nos humanos é encontrada usualmente no nariz e garganta. A intoxicação ocorre entre 1 a 7h após a ingestão das toxinas, e os sintomas típicos são náuseas, diarreia, vómitos, dores de cabeça e dores musculares. De acordo com a *Food and Drug Administration* (FDA), valores acima de 10<sup>5</sup> ufc/g já são suficientes para causar intoxicação, mas existem outros autores que referem um número entre 10<sup>5</sup> a 10<sup>8</sup> ufc/g. A fonte mais comum desta bactéria nos alimentos é má manipulação, mas a contaminação pode ocorrer através do equipamento usado na preparação dos alimentos tais como facas, tábuas de corte, serras de corte, etc. O

arroz utilizado nos pratos de *sushi*, sendo moldado à mão, é alvo de muita manipulação, pelo que é muito suscetível de conter *Staphylococcus* se não houver uma higienização adequada (Adams *et al.*, 2016; Seo & Bohach, 2013; Hait, 2012).

### **2.7.3.2 – *Bacillus cereus***

São microrganismos anaeróbios facultativos, com grandes células vegetativas que medem tipicamente 1  $\mu\text{m}$ , são Gram-positivos e formadores de esporos. Podem estar muito difundidos no ambiente mas normalmente encontram-se na vegetação e no solo. Crescem a temperaturas entre os 8 e 55 °C, sendo a temperatura ótima de crescimento 28 a 35 °C. Cresce bem a valores de pH 5 e 6 dependendo do alimento e o seu  $a_w$  mínimo é de 0,95. Toleram concentrações de NaCl de 7,5%, e a sua capacidade em produzir esporos resistentes a fatores como secagem e aquecimento faz com que a sua presença seja comum nos alimentos. Por norma, o número de bactérias presentes nos alimentos não, é suficiente para causar doença.

Pode contaminar diferentes alimentos, tais como carne, leite, peixe e vegetais. A toxina emética está muito associada a alimentos como o arroz, no entanto pode estar presente noutros alimentos contendo amido como as batatas e massa. Um problema comum associado a esta bactéria é a sua capacidade de crescer após tratamento térmico, a temperaturas baixas (< 48 °C). O tratamento térmico vai permitir que os esporos produzidos germinem e, como há falta de competição microbiana, o crescimento de *Bacillus cereus* acontece com facilidade (Adams *et al.*, 2016; Granum & Lindback, 2013; Bennett, 2012).

### **2.7.3.3 – *Salmonella* spp.**

A *Salmonella* pertence à família das *Enterobacteriaceae*. São bactérias móveis, Gram-negativas, não esporuladas, anaeróbias facultativas, catalase-negativas, oxidase-negativas, não têm a capacidade de fermentar a lactose e produzem gás sulfídrico. São microrganismos resilientes, capazes de se adaptarem e crescerem a diferentes condições de temperatura, pH e atividade da água ( $a_w$ ), o que representa um risco para a segurança dos alimentos. Ainda assim, o seu crescimento acontece normalmente entre os 5 e 47 °C, sendo o ótimo a 37 °C. São microrganismos muito termosensíveis que são destruídos pela pasteurização. Têm um  $a_w$  mínimo de crescimento de 0,93. O pH mínimo de crescimento é de 4,05, sendo o ótimo de 7 (Adams *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2013; Hammack, 2012).

#### **2.7.3.4 – *Listeria monocytogenes***

De entre as 17 espécies reconhecidas atualmente do género *Listeria*, *L. monocytogenes* é a única espécie patogénica importante a ter em conta para o ser humano. São bactérias Gram-positivas, anaeróbias facultativas, catalase-positivas e não esporoladas, apresentam-se em forma de bastonete e movem-se através de um flagelo. Crescem a temperaturas entre os 0 e 42 °C, a sua temperatura ótima é de 30 a 35 °C; o crescimento desta bactéria abaixo dos 5 °C é extremamente lento. O seu crescimento é inibido com um pH situado entre os 4,4 e 5,5, são tolerantes ao NaCl entre 10% a 12% e conseguem sobreviver até um ano com pH 6. De realçar que conseguem crescer a temperaturas de 1 °C e são persistentes em vários ambientes, tendo uma grande vantagem em relação a outras bactérias. Esta bactéria encontra-se presente no ambiente, na vegetação, no solo e em ambientes húmidos (Adams *et al.*, 2016; Orsi & Wiedmann, 2016; Ryser & Buchanan, 2013; Chen, 2012).

Os alimentos normalmente contaminados por *L. monocytogenes* são vários, como são exemplo o leite e produtos lácteos, os vegetais crus, as carnes de aves, os produtos transformados de carne, o marisco e o peixe cru. Porque esta bactéria consegue sobreviver em meios refrigerados, representa um problema sério para a indústria alimentar, especialmente nos APC, e sobretudo se forem mantidos a temperaturas entre 8 a 15 °C durante o seu período de validade. Outras fontes de contaminação dos alimentos poderão vir dos manipuladores, das matérias primas e das superfícies de contacto direto com os alimentos (Adams *et al.*, 2016; Ryser & Buchanan, 2013; Chen, 2012).

#### **2.7.3.5 – *Vibrio parahaemolyticus***

Estas bactérias são Gram-negativas, catalase e oxidase positivas e anaeróbias facultativas. Apresentam-se sob a forma de bastonete curvo e encontram-se em águas salgadas e doces. O seu crescimento ótimo é a 37 °C mas podem crescer entre os 5 e 43 °C. O seu crescimento dá-se a valores de pH entre os 7,5 a 8,5, não costumam apresentar muita tolerância em meios ácidos mas, alguns estudos demonstram que podem crescer em meios com pH 4,5 a 5,5. O tempo de incubação da doença é de 4 a 90h e os principais sintomas de infeção são: diarreia ou diarreia líquida com presença de sangue, náuseas, vômitos, dores abdominais ou dores de cabeça (Adams *et al.*, 2016; Oliver *et al.*, 2013; Jones, 2012).

Infeções alimentares causadas por esta bactéria estão associadas ao consumo de peixe e marisco, especialmente crus. É a infeção mais frequente reportada nos E.U.A. e na Ásia, sendo o líder nas doenças intestinais. A sua prevalência no Japão é comum devido ao

consumo frequente de peixe cru, sendo uma das bactérias mais reportadas em infeções alimentares. Refrigeração incorreta do peixe e do marisco contaminados por esta bactéria, ajuda à sua proliferação e, mais tarde, a uma possível infeção (Adams *et al.*, 2016; Oliver *et al.*, 2013; Jones, 2012).

## **2.8 – Pescado**

Portugal possui uma linha costeira com cerca de 2830 Km<sup>2</sup> e uma zona económica exclusiva (ZEE) de 1,7 milhões de Km<sup>2</sup>. A pesca faz parte da herança social e cultural portuguesa, e para a população que vive nas zonas costeiras, a pesca e o peixe constituem um importante fator económico e social (Almeida, 2014).

### **2.8.1 – Consumo de pescado em Portugal**

A Balança Alimentar Portuguesa (BAP), publicada pelo Instituto Nacional de Estatística (INE) enquanto instrumento analítico de natureza estatística, indica as disponibilidades alimentares e a sua evolução em Portugal. Identifica os produtos, nutrientes e calorias mas não descreve os consumos alimentares reais dos residentes no país (INE, 2014).

Segundo a BAP, entre 2008 e 2012 as disponibilidades diárias *per capita* de pescado diminuíram 13,0% ou seja menos 3,2 kg de pescado disponível para consumo *per capita*. O bacalhau e outros peixes salgados secos, em anos anteriores, tinham perdido importância na estrutura das disponibilidades para consumo de pescado mas, durante o período de 2008 a 2012 registaram um aumento de 12,5% na quantidade diária *per capita* disponível para consumo (INE, 2014). Pela análise da mais recente publicação do INE da BAP, para o período de 2012 a 2016, as disponibilidades diárias *per capita* médias do pescado eram de 54,3 g/hab por dia o que revela um decréscimo em relação aos anos anteriores (2008 a 2012) que era de 62,8 g/hab por dia. Relativamente à disponibilidade do bacalhau e outros peixes salgados secos entre 2012 e 2016, manteve-se estável com cerca de 10,2 g/hab por dia, o equivalente a 3,7 kg/hab por ano (INE, 2017).

De acordo com os dados do ano de 2013 para as estatísticas da pesca e aquicultura publicadas pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), Portugal é o país da União Europeia (28) com o maior consumo *per capita* de pescado, cerca de 53,8 kg/ano como se pode ver na Tabela 1. Segundo a FAO, em 2013 a nível Mundial (excluindo a China) o consumo de pescado *per capita* foi de 19,7 kg/ano e na

Europa foi de 22,2 kg/ano *per capita*. Observando a Tabela 2 verifica-se que entre os anos 2009 e 2013, de acordo com a FAO, Portugal registou uma diminuição das disponibilidades de consumo de pescado *per capita* (kg/ano) aos longos dos anos (FAO, 2017; FAO, 2016b; FAO, 2014; FAO, 2013; FAO, 2012).

**Tabela 1** - Disponibilidade de consumo *per capita* de pescado na União Europeia em 2013 (adaptado de FAO, 2016a).

<b>País</b>	<b>kg/ano</b>	<b>País</b>	<b>kg/ano</b>
Alemanha	12,6	Hungria	5,1
Áustria	13,9	Irlanda	22
Bélgica	25,1	Itália	25,5
Bulgária	7	Letónia	28
Chipre	21,8	Lituânia	43,9
Croácia	19,1	Luxemburgo	33,9
Dinamarca	23,2	Malta	30,3
Eslováquia	8,6	Países Baixos	22,3
Eslovénia	10,6	Polónia	10,6
Espanha	42,4	<b>Portugal</b>	<b>53,8</b>
Estónia	14,7	Reino Unido	20,8
Finlândia	36,4	República Checa	9,2
França	33,5	Roménia	6,2
Grécia	19,3	Suécia	30,7

**Tabela 2** - Disponibilidades de consumo *per capita* de pescado em Portugal em 2009, 2010, 2011 e 2013 (adaptado de FAO 2017; FAO 2016b; FAO 2014; FAO 2013; FAO 2012).

<b>Ano</b>	<b>Disponibilidade de consumo de pescado <i>per capita</i> em Portugal (Kg/ano)</b>
2009	61,5
2010	56,7
2011	57,1
2013	53,8

## 2.9 – Tecnologias de Conservação de Alimentos

### 2.9.1 – Conservação por congelação

O método de conservação e o controlo das temperaturas de manutenção dos alimentos crus e confeccionados, nomeadamente os alimentos prontos a consumir (APC), são fatores críticos em relação ao tempo de vida útil durante o qual se podem manter os alimentos seguros para o consumidor. O controlo da temperatura assume um papel fulcral nos produtos alimentares que não possam ser mantidos e armazenados com segurança à temperatura ambiente, por isso deve-se assegurar que a cadeia de frio não é interrompida (Rodrigues *et al.*, 2015). A preservação dos produtos alimentares através da congelação é um dos métodos habitualmente usados pelas indústrias alimentares em todo o mundo (Rodrigues *et al.*, 2015; Singh & Heldman, 2014).

O processo de congelação é uma operação unitária pela qual a temperatura de um alimento é reduzida abaixo do seu ponto de congelação. Temperaturas abaixo dos  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  permitem uma redução ou a inibição da atividade microbiana, que é uma das principais causas de deterioração nos alimentos, bem como minimizar as reações enzimáticas e oxidativas que ocorrem nos alimentos. A mudança no estado físico da água nos alimentos impede que haja água no estado líquido disponível o que provoca uma diminuição na atividade da água ( $a_w$ ). A congelação e o armazenamento dos produtos alimentares congelados, quando efetuados de forma correta, implicam apenas pequenas mudanças a nível sensorial e nutricional, o que mantém os alimentos com uma alta qualidade para o consumidor (Singh & Heldman, 2014; Fellows, 2009).

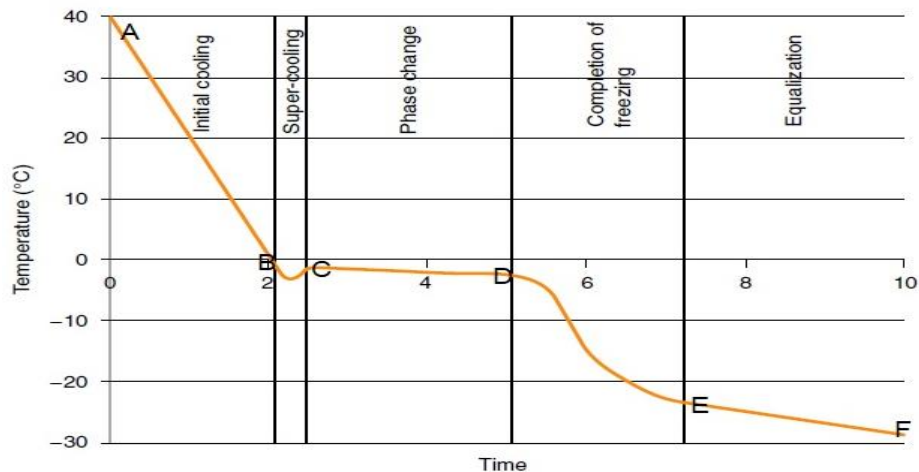
Existem vários métodos de congelação, nomeadamente (Singh & Heldman, 2014; Fellows, 2009; Karel & Lund, 2003):

- Circulação de ar frio por convecção forçada
- Congelamento por contacto indireto
- Congelamento por imersão
- Congelamento criogénica

O tempo de vida útil do peixe congelado depende, entre outros, do tipo de peixe, das suas características, do método usado para a sua congelação, das temperaturas de armazenamento e das flutuações de temperatura (Gokoglu & Yerlikaya, 2015). Os APC, congelados, como no caso do *sushi*, exigem uma preparação e um processamento prévio à congelação, o que pode aumentar a contaminação microbiana. Para minimizar as contaminações microbianas, as Boas Práticas de Higiene e Manipulação, a aplicação dos

planos HACCP e o controlo da temperatura, bem como a taxa de congelação são de extrema importância (Fellows, 2009; Bremer & Ridley, 2004).

A congelação dos alimentos pode ser dividida em cinco fases distintas e consecutivas (Figura 15), sendo iniciada quando o alimento é colocado em contacto direto ou indireto com o meio frio (líquido, sólido ou gasoso).



**Figura 15** - Curva típica das fases de congelação dos alimentos (adaptado de James & James, 2014).

Primeira fase (AB): Ocorre um período inicial de arrefecimento, entre a temperatura a que está o alimento, até 0 °C. Não há mudança de fase.

Segunda fase (BC): Acontece o período de super arrefecimento, no qual a temperatura do produto desce abaixo do ponto de congelação sem que ocorra uma mudança de estado físico devido à necessidade de uma energia de ativação alta para dar início à nucleação dos cristais de gelo.

Terceira fase (CD): Ocorre uma mudança de estado físico no produto que começa quando ocorre a nucleação e começa a congelar à superfície do alimento.

Quarta fase (DE): Período de congelação do produto.

Quinta fase (EF): Decorre um período de equilíbrio de temperatura entre o produto e o meio ambiente.

O processo de descongelação dos alimentos é mais lento que o processo de congelação, pelo que a temperatura a que ocorre é muito importante. Ainda que à temperatura (0 °C – 4 °C) haja já a possibilidade de crescimento microbiano, ele é muito

lento pelo que o ambiente refrigerado é ainda dos melhores processos de descongelação (James & James, 2014).

## 2.9.2 – Conservação por embalagem em atmosfera protetora

Durante as últimas décadas a tendência dos consumidores para adquirirem alimentos refrigerados com um tempo de vida útil alargado, aumentou. Os consumidores de hoje, muitas vezes sem disponibilidade de tempo para confeccionar uma refeição de modo convencional, preferem os produtos minimamente processados que sejam “frescos”, fáceis de preparar e sem aditivos. Os alimentos prontos a consumir (APC) pré embalados oferecem uma poupança considerável de tempo e dinheiro. Neste contexto, o desenvolvimento de tecnologias alternativas para a embalagem dos géneros alimentícios tem vindo a evoluir ao longo dos anos e assim surgiram as Embalagens em Atmosfera Protetora (E.A.P.). Produtos em E.A.P. encontram-se cada vez mais disponíveis, à medida que as indústrias alimentares tentam satisfazer a procura dos consumidores (Sivertsvik *et al.*, 2002a).

O peixe e o marisco usados na confeção do *sushi* são alimentos altamente perecíveis e a sua deterioração deve-se maioritariamente há presença de microrganismos. Foi demonstrado que os produtos da pesca embalados em atmosfera protetora tinham um tempo de vida útil mais alargado e a sua deterioração por causas microbianas eram menores ou inibidas. A deterioração do peixe e do marisco resulta de alterações causadas pela oxidação dos lípidos, de reações enzimáticas e da atividade microbiana. O *ratio* de deterioração do peixe depende muito da temperatura à qual este está exposto e pode ser retardado se o pescado for mantido a temperaturas mais baixas (Sivertsvik *et al.*, 2002a & Sivertsvik *et al.*, 2002b).

O princípio da E.A.P. consiste na retirada do ar existente no interior da embalagem e na sua substituição por uma mistura de gases de concentração fixa. Esta nova mistura, uma vez introduzida, não sofre qualquer controlo adicional na sua composição, sendo normal que ao longo do tempo a sua composição varie. Devem ser usadas temperaturas baixas em conjunto com a E.A.P. (Yousef & Balasubramaniam, 2013; Fellows, 2009; Robertson, 2009; Sivertsvik *et al.*, 2002a; Sivertsvik *et al.*, 2002b). De acordo com o Decreto-lei nº 148/2005, a utilização de atmosfera protetora deve vir indicada obrigatoriamente no rótulo da embalagem.

Os três principais gases utilizados nesta tecnologia de embalagem são o oxigénio (O<sub>2</sub>), o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e o azoto (N<sub>2</sub>). Para a maioria dos géneros alimentícios são usados diferentes combinações destes três gases, dependendo das propriedades dos

produtos a embalar e da sua utilização. O CO<sub>2</sub> é o gás mais importante usado nas E.A.P. que contêm peixe, pelas suas propriedades bacteriostáticas e fungicidas. Permite inibir o crescimento microbiano e quanto maior for a sua concentração na embalagem maior é o seu efeito. O CO<sub>2</sub> é altamente solúvel em água e em lípidos e a sua solubilidade aumenta conforme a temperatura vai descendo (Fellows, 2009; Floros & Matsos, 2005; Sivertsvik *et al.*, 2002a; Sivertsvik *et al.*, 2002b). O volume entre o gás e o produto deve estar numa proporção de 2:1 ou 3:1. Este *ratio* também permite evitar que haja um colapso da embalagem devido à alta solubilidade do CO<sub>2</sub> nos alimentos, especialmente os que contêm um maior teor de humidade (Fellows, 2009; Sivertsvik *et al.*, 2002a; Sivertsvik *et al.*, 2002b). O N<sub>2</sub> é um gás inerte e sem sabor, sendo usado maioritariamente como um gás de enchimento. A sua solubilidade é quase nula na água e nos lípidos, não é absorvido pelos alimentos, contrapondo assim o colapso da embalagem devido à dissolução do CO<sub>2</sub>. Atrás também os efeitos oxidativos, a rancificação e inibe o desenvolvimento de microrganismos aeróbios (Fellows, 2009; Floros & Matsos, 2005; Sivertsvik *et al.*, 2002a; Sivertsvik *et al.*, 2002b).

Na carne e no peixe, usa-se preferencialmente uma mistura de 30 a 60% de CO<sub>2</sub> sendo a mistura completada com N<sub>2</sub> (70 ou 40%). Para alimentos sensíveis ao O<sub>2</sub>, uma combinação de N<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> é usada. Nos vegetais e frutas é usada uma concentração de 5% de CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> sendo a restante preenchida por N<sub>2</sub> (Sivertsvik *et al.*, 2002b).

Existem outros gases aplicados a E.A.P. mas de forma restrita, seja devido a condicionantes de legislação ou porque apenas foram aplicados ao nível experimental (Santos, 2008). Spencer (2005) refere que a utilização de Argon em vez de azoto nas E.A.P. de alimentos prontos a consumir, mostrou melhores resultados ao nível sensorial, e no controlo da oxidação e crescimento microbiano, aumentando assim ainda mais o tempo de vida útil do produto.

Alguns autores referem que E.A.P. diminui o risco da presença de *Enterobacteriaceae*, *Salmonella* spp., *Vibrio parahaemolyticus* e outros microrganismos. *Listeria monocytogenes* consegue multiplicar-se em produtos E.A.P. em condições de anaerobiose, a baixas temperaturas e com níveis de CO<sub>2</sub> elevados e, por isso, as Boas Práticas de Higiene e Manipulação são fundamentais antes da embalagem (Velu *et al.*, 2013; Sivertsvik *et al.*, 2002a).

A eficácia das E.A.P. em prolongar o tempo de vida útil dos alimentos, depende de vários fatores tais como a qualidade inicial das matérias-primas, a mistura do gás a ser usada, a temperatura de armazenamento, as Boas Práticas de Higiene na manipulação dos

alimentos antes do embalamento, as propriedades dos materiais das próprias embalagens, da selagem entre outras (Sivertsvik *et al.*, 2002a).

As E.A.P. apresentam muitas vantagens para os consumidores e para as indústrias alimentares. Para o consumidor, permitem oferecer produtos alimentares de alta qualidade com um tempo de vida útil alargado; para as indústrias reduzem a necessidade do uso de conservantes químicos e assim permitem apresentar produtos mais naturais e saudáveis. As E.A.P. também têm desvantagens, por exemplo, a necessidade de adaptar o volume de gás a cada tipo de produto, o que requer o uso de equipamentos especializados e dispendiosos, bem como a formação especializada de trabalhadores. Algumas vantagens e desvantagens da utilização das E.A.P. encontram-se resumidas na Tabela 3 (Floros & Matsos, 2005 & Sivertsvik *et al.*, 2002b).

Embalar os alimentos tem como principais objetivos fornecer proteção ao produto contra efeitos deteriorativos causados pelo contacto com o ar, fornecer comunicação ao consumidor, e dar resposta a questões de marketing, conveniência e “confinamento” (Yam *et al.*, 2005). As características principais a considerar quando se seleciona o tipo de materiais a ser usado nas E.A.P. são a permeabilidade aos gases e ao vapor de água, propriedades mecânicas (força de tensão, fricção, etc), a capacidade de selagem da própria embalagem e a sua transparência (Velu *et al.*, 2013; Fellows, 2009; Robertson, 2009).

**Tabela 3** - Vantagens e desvantagens das embalagens em atmosfera protetora (adaptado de Floros & Matsos, 2005; Fellows, 2009; Sivertsvik *et al.*, 2002b)

<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>
Aumento do tempo de vida útil dos produtos em 40 a 400%	Necessário o controlo da temperatura
Boa apresentação dos produtos	Custos adicionais
Redução das perdas económicas devido ao produto ter um tempo de vida útil mais alargado	Diferentes formulações de gases para cada tipo de produto
Fornecer um produto de alta qualidade	Equipamento especializado e materiais
Melhor separação de produtos alimentares fatiados	Perda de benefícios após abertura da embalagem
Os consumidores têm uma clara visão dos produtos embalados	Formação específica para os trabalhadores é necessária
Pouca adição de conservantes	Maiores volumes ocupados pelas embalagens
Embalagens mais práticas e sem cheiros	Para alguns produtos a segurança tem de ser estabelecida
Embalagens seladas evitando contaminações	A dissolução do CO <sub>2</sub> no produto pode levar ao colapso da embalagem

## 2.10 – Segurança dos Alimentos

A segurança dos alimentos é assegurada pela aplicação de um controlo na origem e durante todo o processo de produção do produto, através da aplicação das Boas Práticas de Higiene e em conjunto com a aplicação do sistema HACCP (CAC, 1997).

### 2.10.1 – Critérios Microbiológicos

Segundo a comissão do *Codex Alimentarius* (1997), os critérios microbiológicos para os alimentos definem a aceitabilidade de um produto ou de um lote de alimentos, baseada na ausência/presença ou no número de microrganismos e parasitas, e/ou a quantidade das suas toxinas/metabolitos por unidade/s de massa, volume, área ou lote (van Schothorst *et al.*, 2009; CAC, 1997).

Os critérios microbiológicos referem (van Schothorst *et al.*, 2009; CAC, 1997):

- A apresentação do(s) microrganismo(s) mencionados e/ou as suas toxinas/metabolitos e o motivo porque são declarados;
- Os alimentos para os quais o critério foi aplicado;
- Os pontos específicos na cadeia alimentar onde os critérios microbiológicos deverão ser aplicados;
- Os limites microbiológicos considerados apropriados para os alimentos nos pontos específicos da cadeia alimentar;
- O plano de amostragem que define a quantidade e o tamanho das amostras a serem analisadas bem como o método e o manuseamento das mesmas;
- O número e o tamanho das unidades analíticas a serem testadas;
- Os métodos analíticos a serem utilizados para detetar e/ou quantificar os microrganismo(s) e a sua(s) toxinas/metabolitos;
- O número das unidades analíticas que devem cumprir os limites;
- Quais as medidas a tomar quando o critério não for cumprido.

Estes critérios podem ser utilizados para definir a qualidade microbiológica das matérias-primas, dos ingredientes e dos produtos finais. Em qualquer ponto da cadeia alimentar ou podem ser também usados para comparar o rigor e requisitos dos sistemas e processos alternativos de controlo alimentar. Os testes microbiológicos por si só, não garantem a segurança dos alimentos e devem ser usados em conjunto com as Boas Práticas de Higiene e a implementação de um plano HACCP. São utilizados também na análise e avaliação de alimentos incluindo matérias-primas e ingredientes de origem desconhecida ou não especificada quando os outros meios de verificação de eficácia nos

sistemas HACCP não estão disponíveis e onde também não existe um manual de Boas Práticas de Higiene (HPA, 2009; van Schothorst *et al.*, 2009; CAC, 1997).

Existem três classes de critérios microbiológicos (Jarvis, 2016; van Schothorst *et al.*, 2009; INSA, 2005):

**Leis e Regulamentos:** Critérios microbiológicos que são legislados pelos governos. O seu cumprimento é obrigatório, quaisquer infrações detetadas são sujeitas a coimas.

**Especificações Microbiológicas:** Critérios acordados entre compradores e produtores, os quais definem a qualidade do produto e os atributos de segurança requisitados pelo comprador. O incumprimento destes critérios implica a rejeição do produto ou uma redução no preço.

**Valores guia:** Contêm os critérios microbiológicos que orientam as indústrias alimentares acerca dos níveis microbiológicos aceitáveis ou não aceitáveis durante o controlo da produção. São utilizados pelos produtores para avaliar os seus próprios processos e também pelas autoridades governamentais durante as auditorias executadas.

Na União Europeia, o Regulamento (CE) Nº 2073/2005 é que estabelece os critérios microbiológicos para certos microrganismos e as regras de higiene gerais e específicas a cumprir pelos operadores das empresas do sector alimentar referidas no artigo Nº 4 do Regulamento (CE) Nº 852/2004. O Regulamento (CE) Nº 2073/2005 já sofreu algumas alterações pelos Regulamentos (CE) Nº 1441/2007, Nº 365/2010, Nº 1086/2011, Nº 209/2013, Nº 1019/2013 e pelo Nº 217/2014.

### **2.10.2 – Valores Guia**

A legislação portuguesa e europeia é omissa no que se refere à grande maioria dos alimentos prontos a consumir (APC) como é o do caso do *sushi*. Assim sendo, é necessário o uso de Valores Guia para a apreciação dos resultados analíticos, ou seja os limites a partir dos quais as determinações microbiológicas quantitativas e qualitativas permitem classificar o produto segundo os níveis de qualidade e segurança (HPA, 2009; INSA, 2005).

Os valores guia para os produtos alimentares não servem para substituir os critérios microbiológicos estabelecidos pela legislação nacional ou Europeia, contudo ajudam a complementar a falta de dados ou inexistência dos mesmos. Ao contrário dos critérios microbiológicos legais, os valores guia não têm qualquer tipo de plano de amostragem associado sendo constituídos pela recolha de amostras simples (CFS, 2014; HPA, 2009).

Em Portugal, o laboratório de Microbiologia dos Alimentos do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (INSA) elaborou Valores Guia para alimentos prontos a consumir, preparados em estabelecimentos de restauração coletiva, para a avaliação de resultados analíticos, permitindo qualificar o produto segundo níveis de qualidade e/ou segurança.

Como os valores guia para APC publicado pelo INSA não contêm referências específicas ao *sushi*, foram investigados valores guia para APC de outros países onde existe o *item sushi*, a fim de se poder comparar os resultados. Um dos guias é de um país europeu (Reino Unido, HPA) e outro é de fora da Europa (Hong Kong, CFS).

Comparando os 3 Valores Guia analisados, verifica-se que o guia do Reino Unido (HPA) no que se refere à contagem de microrganismos aeróbios totais a 30 °C, agrupa os APC em 13 categorias (Anexo 1), enquanto que o Guia de Hong Kong (CFS) os agrupa em 14 categorias (Anexo 2), e em Portugal, o Guia do INSA agrupa os diferentes APC em apenas 3 grupos (Anexo 3) (CFS, 2014; HPA, 2009; INSA, 2005 ).

De realçar que no Guia do INSA, os grupos onde se inserem os diferentes APC são aplicados a todos os microrganismos totais a 30 °C, indicadores de higiene, e patogénicos (Anexo 4), enquanto que os Guias do Reino Unido (HPA) e de Hong Kong (CFS) agrupam em categorias os alimentos de acordo com os microrganismos aeróbios totais a 30 °C, mas os valores para os microrganismos indicadores e patogénicos (Anexo 5) estes aplicados para os APC em geral, sem os colocar em categorias (CFS, 2014; HPA, 2009; INSA, 2005).

Para a *Escherichia coli*, no Guia do INSA os valores encontram-se divididos em três categorias diferentes consoante o tipo de alimento, sendo os valores mais restritos que nos outros dois países. Nos Guias HPA e CFS a quantificação de *Escherichia coli* é aplicada para os APC em geral (CFS, 2014; HPA, 2009; INSA, 2005).

As *Enterobacteriaceae* apenas são referidas nos guias do Reino Unido e Hong Kong, substituindo a análise dos coliformes totais que eram tradicionalmente usados como indicadores de higiene. Esta substituição deve-se sobretudo pelo grupo das *Enterobacteriaceae* ser mais abrangente do que apenas analisar os coliformes totais. Já no caso de Portugal o INSA refere ainda a contagem de coliformes totais em vez de *Enterobacteriaceae* (CFS, 2014; HPA, 2009; INSA, 2005).

Relativamente ao *Vibrio parahaemolyticus* em Portugal (INSA), um alimento é considerado satisfatório quando este microrganismo está ausente em 25g e inaceitável/potencialmente perigoso quando presente em 25g, não havendo um valor para os critérios de aceitável e não satisfatório. Já no HPA e no CFS existem valores para todos

os critérios considerados (satisfatório, aceitável, não satisfatório) (CFS, 2014; HPA, 2009; INSA, 2005).

Quanto ao *Staphylococcus* coagulase positiva, no Guia do INSA os valores são restritos, considerando satisfatórios os valores inferiores a  $10^2$  ufc/g e não satisfatórios a valores entre  $10^2$  e  $10^4$ . Nos Guias de HPA e CFS existem valores para todos os critérios sendo os valores mais alargados que os do INSA (CFS, 2014; HPA, 2009; INSA, 2005).

Para o *Bacillus cereus* os valores são muito semelhantes entre os guias, mas são mais restritos no caso do INSA. Relativamente à *Salmonella* spp. os critérios em todos os guias são iguais. Quanto à *Listeria monocytogenes* o Guia do INSA considera satisfatório a sua ausência em 25g e aceitável valores  $<10^2$  ufc/g. Já no caso dos Guia do Reino Unido e de Hong Kong existem valores para todos critérios (satisfatório, aceitável, não satisfatório) (CFS, 2014; HPA, 2009; INSA, 2005).

### 3 – Materiais e Métodos

#### 3.1 – Delineamento experimental

O estudo foi realizado com 39 amostras de *sushi*, 3 amostras de cada variedade (V1-V5) em cada umas condições (congelado, E.A.P. e restaurante).

As amostras analisadas foram adquiridas diretamente em supermercados locais e num restaurante especializado em comida japonesa, nomeadamente na vertente de *sushi*. As amostras de *sushi* provenientes dos supermercados vinham acondicionadas em embalagens com atmosfera protetora (E.A.P.) mantidas refrigeradas, ou embaladas em caixa de cartão congeladas. Apresentavam-se em cuvetes retangulares compostas por diferentes variedades de *sushi dos quais*, *nigiri* de salmão (V1), *nigiri* de camarão cozido (V2), *hosomaki* de salmão (V3), califórnia rolls com salmão e pepino (V4) e *futomaki* de salmão, pepino e cenoura (V5), na forma de pequenos e grandes rolos ou retângulos. As amostras do restaurante foram recolhidas no próprio dia da sua preparação e acondicionadas em cuvetes com tampa curva. O transporte de todas as amostras foi feito em mala isotérmica, com acumulador até ao laboratório e foram imediatamente processadas.

Da embalagem de *sushi* congelado foram usados quatro variedades, *nigiri* de salmão (V1C), *nigiri* de camarão cozido (V2C), *hosomaki* de salmão (V3C) e califórnia rolls com salmão e pepino (V4C).

A E.A.P., refrigerada, continha quatro variedades de *sushi*, *nigiri* de salmão (V1EAP), *nigiri* de camarão cozido (V2EAP), *hosomaki* de salmão (V3EAP) e *futomaki* de salmão, pepino e cenoura (V5EAP).

Do restaurante foram recolhidas amostras de cinco variedade de *sushi*, *nigiri* de salmão (V1R), *nigiri* de camarão cozido (V2R), *hosomaki* de salmão (V3R), califórnia rolls com salmão e pepino (V4R) e *futomaki* de salmão, pepino e cenoura (V5R).

Foram realizadas determinações microbiológicas e de pH ao *sushi* embalado em atmosfera protetora refrigerado, ao *sushi* congelado comercializado em supermercados e ao *sushi* proveniente de restaurante. As determinações microbiológicas englobaram a contagem de microrganismos aeróbios totais a 30 °C, *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Bacillus cereus* e pesquisas de *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* e *Vibrio parahaemolyticus*.

## **3.2 – Análises Microbiológicas**

### **3.2.1 – Preparação das amostras**

Para a obtenção da amostra para análise do *sushi* congelado, embalado em atmosfera protetora e do restaurante pesaram-se 10g para as contagens e 25g para as pesquisas.

Para as contagens microbianas do *sushi*, cada amostra das diferentes variedades (V1 a V5) foram cortadas em pedaços menores com o auxílio de uma pinça e um bisturi esterilizados e transferidos para um saco Stomacher com filtro lateral até obter as 10g. Adicionaram-se 90 mL de Triptona sal e homogeneizou-se num Stomacher (Lab Blender 400) durante 60s, obtendo a suspensão inicial  $10^{-1}$ .

Para as pesquisas de microrganismos no *sushi*, cada amostra das diferentes variedades (V1 a V5) foram cortadas em pedaços menores com o auxílio de uma pinça e um bisturi esterilizados e transferidos para um saco Stomacher com filtro lateral até obter as 25g. Adicionaram-se 225 mL de água peptonada tamponada e homogeneizou-se num Stomacher (Lab Blender 400) durante 60s, obtendo a suspensão inicial  $10^{-1}$ .

A partir da diluição  $10^{-1}$  procedeu-se às várias diluições decimais seriadas de acordo com a norma ISO 6887-2:2003. As análises microbiológicas efetuadas foram todas realizadas em triplicado.

### **3.2.2 – Microrganismos quantificados**

#### **3.2.2.1 – Contagem de Aeróbios Totais a 30 °C**

Da suspensão inicial ( $10^{-1}$ ) e das diluições seriadas consideradas convenientes foi retirado 1 mL, respetivamente. A seguir foi efetuada uma sementeira por incorporação em placas de Petri, em meio Triptona Glucose Extract Agar (TGE) (Scharlau, Espanha), incubadas depois a 30 °C durante 48 a 72h. Após a incubação procedeu-se à contagem das colónias presentes e os resultados foram expressos em ufc/g de acordo com a norma NP 4405:2002.

#### **3.2.2.2 – Contagem de *Enterobacteriaceae***

Foi retirado 1 mL da diluição inicial  $10^{-1}$  e das diluições seriadas escolhidas, efetuando uma sementeira por incorporação em placas de Petri em meio de cultura seletivo

Violet Red Bile Glucose (VRBD) (Scharlau, Espanha). Procedeu-se depois à incubação das placas a 37 °C durante 48h. Após este tempo, efetuou-se a contagem de colónias típicas, de cor avermelhado, e os resultados foram expressos em ufc/g de acordo com a norma ISO 21528-2:2004.

### **3.2.2.3 – Contagem de *Escherichia coli***

A contagem de *E. coli* foi feita através de uma sementeira por incorporação, em placas de Petri, inoculando 1 mL retirado da diluição inicial  $10^{-1}$  e de diluições seriadas, em meio de cultura seletivo Tergitol Agar (TBX) (Scharlau, Espanha). Depois da incubação a 44 °C durante 24h, procedeu-se à contagem de colónias típicas, de cor azul-turquesa, e os resultados foram expressos em ufc/g de acordo com a norma NP 4396:2002.

### **3.2.2.4 – Contagem de *Staphylococcus coagulase positiva***

Para esta contagem foi efetuada uma sementeira em superfície de 0,1 mL da diluição inicial  $10^{-1}$  e das diluições seriadas, convenientes, em meio de Baird Parker (Scharlau, Espanha) suplementado com emulsão de gema de ovo e com 5% de telurito de potássio (Scharlau, Espanha). Após a incubação de placas a 37 °C durante 48h, verificou-se se existiam colónias típicas, de cor negra rodeadas por com um halo transparente. As colónias suspeitas foram repicadas e transferidas para tubos contendo 0,1 mL de água destilada e 0,1 mL de plasma de coelho (Biomérieux, França) para verificar se eram coagulase positivas. Os tubos foram postos a incubar a 37 °C. Procedeu-se à verificação dos tubos de hora em hora para verificar se houve coagulação do plasma. Os resultados da contagem de colónias de *Staphylococcus coagulase positiva* foram expressos em ufc/g de acordo com a norma NF ISO 6888-1:1999.

### **3.2.2.5 – Contagem de *Bacillus cereus***

Retirou-se 0,1 mL da diluição inicial  $10^{-1}$  e das diluições seriadas seguintes, efetuando uma sementeira em superfície usando placas de Petri com meio Mannitol Salt Agar (Scharlau, Espanha) suplementado com Polimixina B (Scharlau, Espanha) e emulsão de gema de ovo esterilizada (Scharlau, Espanha). Após incubação das placas a 30 °C durante 48h, efectuou-se a contagem de colónias típicas, de cor rosa, e os resultados foram expressos em ufc/g de acordo com a norma NP 4062:1990.

### **3.2.3 – Microrganismos pesquisados**

#### **3.2.3.1 – Pesquisa de *Salmonella* spp.**

A pesquisa de *Salmonella* spp. foi feita sobre 25g de amostra a que se adicionaram 225 mL de água peptonada tamponada (Scharlau, Espanha). A incubação desta suspensão a 37 °C durante 18 a 24h, constitui o pré-enriquecimento. Para a sementeira de enriquecimento seletivo, foi transferido 1 mL do pré-enriquecimento que se adicionaram a 10 mL de caldo Muller Kauffman Medium (Scharlau, Espanha) suplementado com Brilliant Green mais Novobiocina (Scharlau, Espanha), que se incubou a 37 °C durante 24h. Retirou-se ainda 0,1 mL do pré-enriquecimento que se inoculou em 10 mL de caldo Rappaport Vassiliadis com soja (Scharlau, Espanha), incubando depois a 42 °C durante 24h. Após as 24h de incubação foi feita uma sementeira em superfície com ansas calibradas estéreis (10 µL) das duas culturas anteriores, para dois meios seletivos, Hektoen Enteric Agar (HKT) (Scharlau, Espanha) e Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD Agar) (Scharlau, Espanha). As placas foram postas a incubar a 37 °C durante 24h. Nas placas HKT, colónias de cor verde ou verde com um centro negro podem representar a presença de *Salmonella* spp.; nas placas XLD Agar, colónias de cor vermelha, transparentes ou com um halo negro, podem representar a presença de *Salmonella* spp. Se houver suspeita de presença de *Salmonella* spp. são feitos testes bioquímicos e serológicos de acordo com a norma ISO 6579:2002.

#### **3.2.3.3 – Pesquisa de *Listeria monocytogenes***

Para a pesquisa de *Listeria monocytogenes* foi efetuado um pré-enriquecimento com 25g de amostra colhida e pesada de forma assética em 225 mL de Listeria Selective Agar Base (Frazer) (Oxoid, Espanha) que se incubou a 30 °C durante 24h. Para o processo de enriquecimento retirou-se 1 mL do pré-enriquecimento que se inoculou em 10 mL de Frazer suplementado com citrato de ferro e amónia (Frazer II) e incubou-se a 37 °C durante 24h. Em paralelo, retirou-se 10 µL do pré-enriquecimento, com uma ansa estéril e efetuou-se uma sementeira em superfície em placas de petri com meio de Oxford (Oxoid, Espanha) as quais foram postas a incubar a 37 °C durante 24h. Após 24h, nas placas Oxford, a presença de colónias pretas e concavas podem representar a presença de *Listeria monocytogenes*. Da inoculação feita em Frazer II fez-se uma sementeira em superfície também em placas de petri com meio de Oxford e incubou-se a 37 °C durante 24h. Passado esse tempo colónias pretas e concavas podem representar a presença de *Listeria monocytogenes*. Se houver suspeita de presença de *L. monocytogenes* são efetuados testes bioquímicos de acordo com a norma ISO 11290-1:1995.

### **3.2.3.3 – Pesquisa de *Vibrio parahaemolyticus***

Para a pesquisa de *Vibrio parahaemolyticus* foi efetuado um pré-enriquecimento com 25g de amostra em 225 mL de água de peptona salina alcalina suplementado com L-Arabinose (Difco, França), incubando depois a 37 °C durante 18h. Do pré-enriquecimento foi retirado 10 µL com uma ansa estéril, e efetuou-se uma sementeira em superfície em placas de Petri com meio T.C.B.S Agar (Scharlau, Espanha), que se incubaram a 37 °C durante 24h. Após as 24h procedeu-se à verificação da existência de colónias típicas, de cor verde, que podem significar a presença de *Vibrio parahaemolyticus*. Se houver suspeita de presença de *Vibrio parahaemolyticus* são efetuados testes bioquímicos de acordo com a ISO 21872-1:2004.

### **3.3 – Determinação do pH**

O pH foi determinado usando um medidor de pH (HI-9025, HANNA instruments, USA) equipado com um eletrodo de pH (FC 203B, Hanna-Intruments, USA). Cada valor de pH medido resulta de uma média de três medições diferentes na mesma amostra através da introdução direta do eletrodo.

### **3.4 – Análise estatística**

Para análise estatística dos resultados obtidos, realizou-se uma análise de variância a 2 fatores (two-way ANOVA) de modo a determinar as diferenças estatisticamente significativas com teste de Tukey. Neste trabalho, foram considerados como fatores a condição do *sushi* (congelado, E.A.P. e restaurante) e as diferentes variedades (V1-V3) comuns a todas as condições. Todas as análises de variância foram feitas com o programa IBM SPSS Statistics versão 23 para o Windows.

## 4 – Resultados

Os resultados deste estudo para a determinação do pH, contagens e pesquisas microbiológicas nas diferentes condições (congelado, embalado em atmosfera protetora e restaurante) para as diferentes variedades (V1-V5) encontram-se descritas na Tabela 4, 5 e 6, respetivamente.

Como a legislação portuguesa e europeia é omissa no que se refere à grande maioria dos alimentos prontos a consumir (APC) como é o caso do *sushi*, foram usados os valores microbiológicos Guia emitidos pelo HPA no Reino Unido em 2009 (Tabela 7) e pelo CFS de Hong Kong em 2014 (Tabela 8) para a comparação dos resultados e classificação microbiológica de amostras utilizadas neste estudo.

### 4.1 – Valores de pH

O valor médio global do pH (Tabela 4) para as amostras da condição de *sushi* congelado foi de 5,72 com valores a oscilar entre 5,44 e 6,20. A variedade V1 tem o valor mais baixo com 5,44 e a variedade V2 com o valor mais elevado de 6,20. Para o *sushi* embalado em atmosfera protetora (E.A.P.) o valor médio global foi de 5,09 com valores a variar entre 5,06 e 5,10. A variedade V2 tem um valor de pH de 5,06 e o V1, V3 e o V5 tem o mesmo valor de pH 5,11. No caso do *sushi* de restaurante o valor médio global foi de 5,34, os valores de pH oscilam entre 4,75 e 5,85. A variedade V2 tem o valor mais elevado com 5,85 e a variedade V4 com o valor mais baixo de 4,75

**Tabela 4** - Valores médios de pH ( $\pm$ DP) das amostras de *sushi* nas diferentes condições congelado, embalado em atmosfera protetora (E.A.P.) e preparado em restaurante para as diferentes variedades (V1-V5).

Variedade do <i>sushi</i>	pH		
	n Congelado	n E.A.P	n Restaurante
<i>Nigiri</i> de Salmão (V1)	3 5,44 $\pm$ 0,15	3 5,10 $\pm$ 0,10	3 5,56 $\pm$ 0,74
<i>Nigiri</i> de Camarão (V2)	3 6,20 $\pm$ 0,39	3 5,06 $\pm$ 0,15	3 5,85 $\pm$ 0,99
<i>Hosomaki</i> de Salmão (V3)	3 5,57 $\pm$ 0,27	3 5,10 $\pm$ 0,26	3 5,16 $\pm$ 0,71
Rolo Califórnia (V4)	3 5,65 $\pm$ 0,12		3 4,75 $\pm$ 0,41
<i>Futomaki</i> de Salmão, Pepino e Cenoura (V5)		3 5,10 $\pm$ 0,20	3 5,32 $\pm$ 0,70
<b>Média global</b>	<b>5,72 <math>\pm</math>0,90</b>	<b>5,09 <math>\pm</math>0,02</b>	<b>5,34 <math>\pm</math>0,42</b>

#### 4.2 – Contagem de aeróbios totais a 30 °C

A Tabela 5 mostra os valores médios das contagens microbiológicas das diferentes variedades de *sushi*, nas diferentes condições. A média global dos aeróbios totais do *sushi* congelado foi de 3,70 log ufc/g, com valores a variar entre 3,24 a 4,42 log ufc/g. A variedade V1C tem a contagem mais baixa, com cerca de 3,24 log ufc/g e a variedade V2C a mais alta, com um valor de 4,42 log ufc/g.

No *sushi* em E.A.P., a média global dos aeróbios totais foi de 3,96 log ufc/g com valores a variar entre 3,71 e 4,20 log ufc/g. A variedade V1EAP representa a contagem mais baixa, cerca de 3,71 log ufc/g e a variedade V5EAP a mais alta com 4,20 ufc/g.

No caso das amostras provenientes de restaurante, a média global dos aeróbios totais foi de 6,92 log ufc/g com valores a variar entre 6,02 a 7,80 log ufc/g. A variedade V2R tem a contagem mais baixa com 6,02 log ufc/g e a variedade V5R a mais alta com 7,80 log ufc/g.

#### 4.3 – Contagem de *Enterobacteriaceae*

Na condição de *sushi* congelado, pela Tabela 5, a média global da contagem de *Enterobacteriaceae* para todas amostras provenientes das diferentes variedades (V1C a V4C) foi de 2,33 log ufc/g com valores a oscilar entre 1,88 log ufc/g e 2,83 ufc/g. A variedade V1C tem o valor médio mais baixo com 1,88 ufc/g e a variedade V2C tem o valor mais alto com 2,83 log ufc/g. Para o *sushi* E.A.P. a média global foi de 2,05 log ufc/g com valores a variar entre 1,82 log ufc/g e 2,34 log ufc/g. A variedade V5EAP tem o valor médio mais alto com 2,34 log ufc/g e a variedade V2EAP tem o valor mais baixo com de 1,72 log ufc/g. Pela Tabela 5 na condição de *sushi* de restaurante a média global foi de 4,53 log ufc/g, a variedade V5R tem o valor médio mais alto com 5,17 log ufc/g e a variedade V2R tem o valor mais baixo com 4,11 log ufc/g.

#### 4.4 – Contagem de *Escherichia coli* e *Bacillus cereus*

Verifica-se pela Tabela 5 que, para todas as condições de *sushi* em todas as variedades (V1 a V5), a média da contagem global de *E. coli* e *B. cereus* é inferior a 1 log ufc/g.

**Tabela 5** – Resultados microbiológicos (valores médios  $\pm$ DP) do *sushi* congelado, embalado em atmosfera protetora (E.A.P.) e restaurante para as diferentes variedades (V1 - V5) expressos em log ufc/g.

		<b>Contagem microbiana (log UFC/g)</b>					
<b>Variedade do <i>sushi</i></b>		<b>n</b>	<b>Aeróbios totais</b>	<b><i>Enterobacteriaceae</i></b>	<b><i>E. coli</i></b>	<b><i>S. coagulase +</i></b>	<b><i>B. cereus</i></b>
<b>Congelado</b>	<i>Nigiri</i> de Salmão (V1C)	3	3,24 $\pm$ 1,16	1,88 $\pm$ 0,29	< 1	< 1	< 1
	<i>Nigiri</i> de Camarão (V2C)	3	4,42 $\pm$ 2,55	2,83 $\pm$ 2,83	< 1	< 1	< 1
	<i>Hosomaki</i> de Salmão (V3C)	3	3,44 $\pm$ 1,94	1,95 $\pm$ 0,09	< 1	< 1	< 1
	Rolo Califórnia (V4C)	3	3,69 $\pm$ 2,14	2,67 $\pm$ 0,49	< 1	< 1	< 1
	<b>Média global</b>		3,70 $\pm$ 0,52	2,33 $\pm$ 0,56			
		<b>Contagem microbiana (log UFC/g)</b>					
<b>Variedade do <i>sushi</i></b>		<b>n</b>	<b>Aeróbios totais</b>	<b><i>Enterobacteriaceae</i></b>	<b><i>E. coli</i></b>	<b><i>S. coagulase +</i></b>	<b><i>B. cereus</i></b>
<b>E.A.P.</b>	<i>Nigiri</i> de Salmão (V1EAP)	3	3,71 $\pm$ 1,13	1,82 $\pm$ 1,58	< 1	< 1	< 1
	<i>Nigiri</i> de Camarão (V2EAP)	3	3,83 $\pm$ 1,12	1,72 $\pm$ 0,48	< 1	< 1	< 1
	<i>Hosomaki</i> de Salmão (V3EAP)	3	4,09 $\pm$ 0,76	2,33 $\pm$ 0,73	< 1	< 1	< 1
	<i>Futomaki</i> de Salmão e Abacate (V5EAP)	3	4,20 $\pm$ 0,63	2,34 $\pm$ 1,31	< 1	< 1	< 1
	<b>Média global</b>		3,96 $\pm$ 0,21	2,05 $\pm$ 1,03			
		<b>Contagem microbiana (log UFC/g)</b>					
<b>Variedade do <i>sushi</i></b>		<b>n</b>	<b>Aeróbios totais</b>	<b><i>Enterobacteriaceae</i></b>	<b><i>E. coli</i></b>	<b><i>S. coagulase +</i></b>	<b><i>B. cereus</i></b>
<b>Restaurante</b>	<i>Nigiri</i> de Salmão (V1R)	3	7,12 $\pm$ 0,14	4,11 $\pm$ 0,12	< 1	1,69 $\pm$ 1,49	< 1
	<i>Nigiri</i> de Camarão (V2R)	3	6,02 $\pm$ 0,27	3,95 $\pm$ 0,56	< 1	2,67 $\pm$ 0,56	< 1
	<i>Hosomaki</i> de Salmão (V3R)	3	6,80 $\pm$ 0,41	4,36 $\pm$ 0,18	< 1	2,64 $\pm$ 0,35	< 1
	Rolo Califórnia (V4R)	3	6,85 $\pm$ 0,01	5,05 $\pm$ 0,50	< 1	2,63 $\pm$ 0,41	< 1
	<i>Futomaki</i> de Salmão e Abacate (V5R)	3	7,80 $\pm$ 0,29	5,17 $\pm$ 0,38	< 1	2,18 $\pm$ 1,96	< 1
<b>Média global</b>		6,92 $\pm$ 0,64	4,53 $\pm$ 0,35		2,36 $\pm$ 0,95		

#### **4.5 – Contagem de *Staphylococcus coagulase positiva***

Para as condições de *sushi* congelado e E.A.P. (Tabela 5), em todas as amostras das diferentes variedades (V1 a V5) a média da contagem de *Staphylococcus coagulase positiva* global é inferior a 1 log ufc/g.

Já para a condição de *sushi* proveniente de restaurante (Tabela 5) a média global das contagens foi de 2,36 log ufc/g e os valores médios oscilam entre 1,69 e 2,67 log ufc/g. A variedade V1R apresenta a contagem média mais baixa com 1,69 ufc/g e a variedade V2R a média mais alta com 2,67 ufc/g.

#### **4.6 – Pesquisa de *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* e *Vibrio parahaemolyticus***

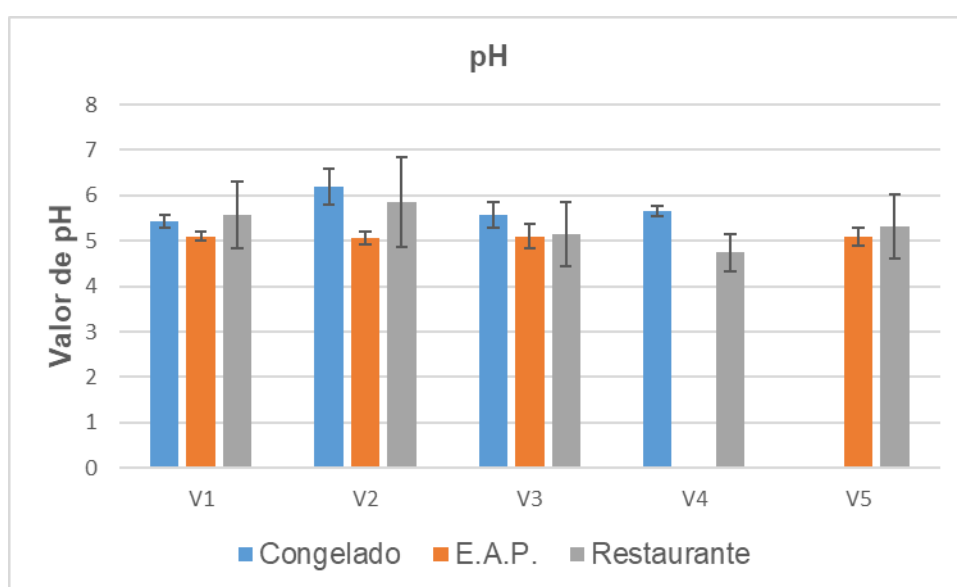
De acordo com os resultados da Tabela 6, em todas as condições de *sushi* em todas as amostras testadas de todas as variedades (V1 a V5), não foi detetada a presença de *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* ou *Vibrio parahaemolyticus*, em 25g de amostra.

**Tabela 6** - Resultados das pesquisas microbiológicas do *sushi* congelado, embalado em atmosfera protetora (E.A.P.) e restaurante para as diferentes variedades (V1 - V5).

		Pesquisa			
	Variedade do <i>sushi</i>	n	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
Congelado	<i>Nigiri</i> de Salmão (V1C)	3	Ausente em 25g	Ausente em 25g	Ausente em 25g
	<i>Nigiri</i> de Camarão (V2C)	3	Ausente em 25g	Ausente em 25g	Ausente em 25g
	<i>Hosomaki</i> de Salmão (V3C)	3	Ausente em 25g	Ausente em 25g	Ausente em 25g
	Rolo Califórnia (V4C)	3	Ausente em 25g	Ausente em 25g	Ausente em 25g
		Pesquisa			
	Variedade do <i>sushi</i>	n	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
E.A.P.	<i>Nigiri</i> de Salmão (V1EAP)	3	Ausente em 25g	Ausente em 25g	Ausente em 25g
	<i>Nigiri</i> de Camarão (V2EAP)	3	Ausente em 25g	Ausente em 25g	Ausente em 25g
	<i>Hosomaki</i> de Salmão (V3EAP)	3	Ausente em 25g	Ausente em 25g	Ausente em 25g
	<i>Futomaki</i> de Salmão e Abacate (V5EAP)	3	Ausente em 25g	Ausente em 25g	Ausente em 25g
		Pesquisa			
	Variedade do <i>sushi</i>	n	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
Restaurante	<i>Nigiri</i> de Salmão (V1R)	3	Ausente em 25g	Ausente em 25g	Ausente em 25g
	<i>Nigiri</i> de Camarão (V2R)	3	Ausente em 25g	Ausente em 25g	Ausente em 25g
	<i>Hosomaki</i> de Salmão (V3R)	3	Ausente em 25g	Ausente em 25g	Ausente em 25g
	Rolo Califórnia (V4R)	3	Ausente em 25g	Ausente em 25g	Ausente em 25g
	<i>Futomaki</i> de Salmão e Abacate (V5R)	3	Ausente em 25g	Ausente em 25g	Ausente em 25g

## 5 – Discussão

Relativamente ao pH, de acordo com a Figura 16, verifica-se que os valores médios obtidos entre as várias condições para as diferentes variedades, se encontram muito próximos, variando entre 4,75 e 6,20 (Tabela 4). De realçar que estes valores médios de pH foram medidos no produto final, e que eventualmente se poderiam ter obtido valores diferentes se fossem medidos o pH do peixe, do arroz e dos vegetais em separado. Apesar do *sushi* conter alguns ingredientes que potencialmente causam uma certa inibição microbiana, os valores obtidos de pH permitem a multiplicação de alguns microrganismos. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas para o pH do *sushi* ( $p < 0,05$ ).



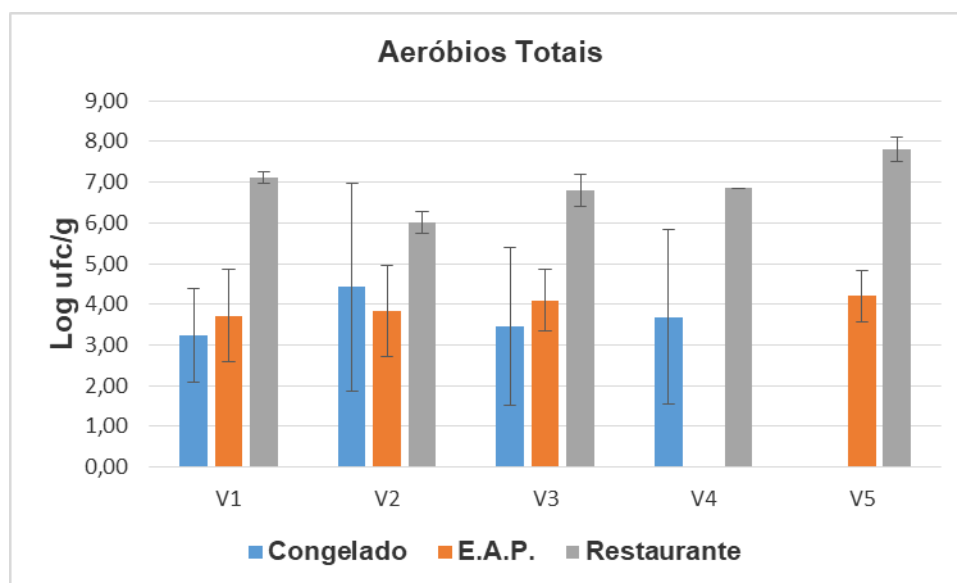
**Figura 16** - Valores de pH médios ( $\pm$ DP) do *sushi* nas diferentes condições para as diferentes variedades.

Neste estudo, a contagem de microrganismos aeróbios totais a 30 °C (Figura 17) foi usada como indicador geral da qualidade do *sushi* e como tal pode refletir a existência de potenciais problemas na qualidade das matérias-primas, no seu armazenamento bem como no seu tempo de vida útil (Liang *et al.*, 2016; CFS, 2014; HPA, 2009).

De acordo com os critérios microbiológicos propostos pela HPA (2009) e pela CFS (2014), Tabela 7 e Tabela 8, as amostras de *sushi* congeladas e em E.A.P., nas diversas variedades, são consideradas satisfatórias, o que revela não existir problemas na qualidade das matérias-primas bem como no seu armazenamento. Já para a condição de *sushi* proveniente de restaurante (Tabela 5), 40% das amostras testadas (V1R e V5R) são classificadas como não satisfatórias e 60% (V2R, V3R e V4R) como aceitáveis. De facto, a

Figura 17, mostra claramente que o *sushi* de restaurante tem um número médio de aeróbios totais mais elevado comparativamente ao *sushi* congelado e E.A.P., o que revela que podem existir possíveis problemas na qualidade das matérias-primas, na manipulação durante a confeção do *sushi* ou até um incorreto armazenamento das matérias-primas ou do produto acabado, por exemplo pela utilização de temperaturas de refrigeração incorretas. Um fator a ter em conta é que a variedade V4R e V5R continham vegetais crus o que pode resultar num valor mais elevado nas contagens de aeróbios totais, já que os vegetais, por si só, já contêm normalmente um valor alto de microrganismos aeróbios totais (HPA, 2009). O *sushi* congelado mostra um número de microrganismos mais baixo, provavelmente também por se encontrar a temperaturas muito baixas (-18 °C), as quais inibem a atividade microbiana, ainda que as Boas Práticas de Higiene e Fabrico, na fábrica tenham certamente um papel decisivo. O mesmo se passa com o *sushi* E.A.P. que contém níveis baixos de O<sub>2</sub>, o que inibe o crescimento microbiano, mas a preparação do *sushi* previamente ao embalamento deve seguir as condições de higiene adequadas.

O resultado de médias elevadas na contagem de aeróbios totais a 30 °C do *sushi* proveniente de restaurante, poderá ser expectável, atendendo a que é confeccionado *in natura* e a probabilidade de contaminação cruzada e pela manipulação é maior do que num ambiente mais controlado como numa fábrica, onde as Boas Práticas de Higiene e de Fabrico são mais apertadas. Apesar dos resultados, o *sushi* de restaurante encontra-se aceitável para consumo, à exceção das variedades V1R e V5R classificadas como sendo não satisfatórias para consumo.



**Figura 17** - Contagens de aeróbios totais a 30 °C (valores médios  $\pm$ DP) do *sushi* em diferentes condições para as diferentes variedades, expressas em log ufc/g.

**Tabela 7** - Critérios Microbiológicos Guia expressos em log ufc/g para alimentos prontos a consumir, Reino Unido (adaptado de HPA, 2009)

Critério	Qualidade Microbiológica (log UFC/g)			
	Satisfatório	Aceitável	Não Satisfatório	
<b>Indicadores de Qualidade</b>				
Contagem de Aeróbios Totais a 30 °C	E.A.P	< 6	6 a < 8	≥ 8
	APC	< 6	6 a < 7	≥ 7
<b>Indicadores de Higiene</b>				
<i>E. coli</i>		< 1,3	1,3 a ≤ 2	> 2
<i>Enterobacteriaceae</i>		< 2	2 a ≤ 4	> 4
<b>Patogénicos</b>				
<i>S. aureus coagulase +</i>		< 1,3	1,3 a ≤ 4	> 4
<i>B. cereus</i>		< 3	3 a ≤ 5	> 5
<i>Salmonella</i> spp.		Ausente em 25 g	N/A	Presente em 25g
<i>V. parahaemolyticus</i>		< 1,3	1,3 a ≤ 3	> 3
<i>L. monocytogenes</i>		Ausente em 25 g	1 a ≤ 2	> 2

**E.A.P** - Embalado em atmosfera modificada  
**APC** - Alimentos prontos a consumir  
**N/A** - Não aplicável

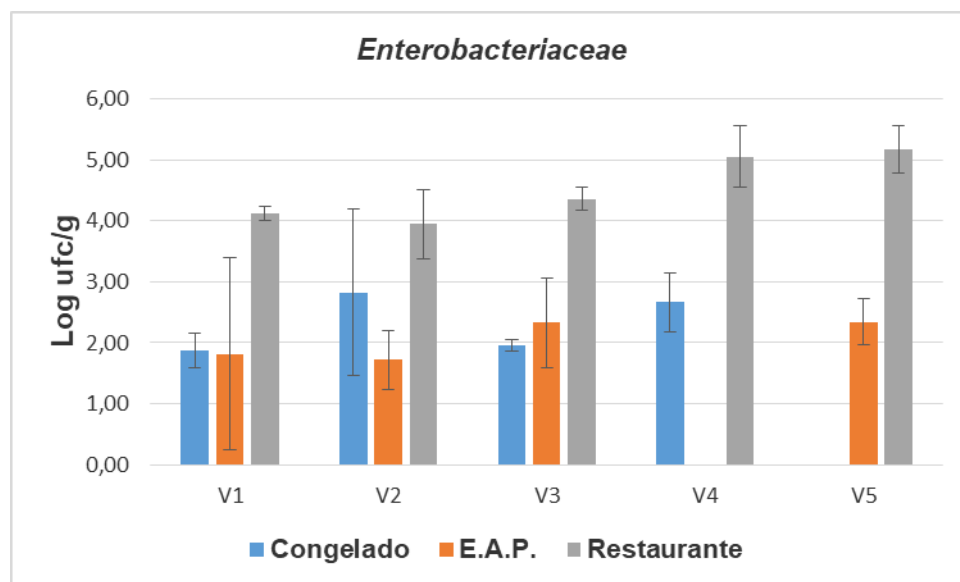
**Tabela 8** - Critérios Microbiológicos Guia expressos em log ufc/g para alimentos prontos a consumir, Hong Kong (adaptado de CFS, 2014).

Critério	Qualidade Microbiológica (log UFC/g)			
	Satisfatório	Aceitável	Não Satisfatório	
<b>Indicadores de Qualidade</b>				
Contagem de Aeróbios Totais a 30 °C	E.A.P	< 6	6 a < 8	≥ 8
	APC	< 6	6 a < 7	≥ 7
<b>Indicadores de Higiene</b>				
<i>E. coli</i>		< 1,3	1,3 a ≤ 2	> 2
<i>Enterobacteriaceae</i>		< 2	2 a ≤ 4	> 4
<b>Patogénicos</b>				
<i>S. aureus coagulase +</i>		< 1,3	1,3 a ≤ 4	> 4
<i>B. cereus</i>		< 3	3 a ≤ 5	> 5
<i>Salmonella</i> spp.		Ausente em 25 g	N/A	Presente em 25g
<i>V. parahaemolyticus</i>		< 1,3	1,3 a ≤ 3	> 3
<i>L. monocytogenes</i>	A.C	< 1	1 a ≤ 2	> 2
	A.R	Ausente em 25 g	N/A	Presente em 25g

**E.A.P** - Embalado em atmosfera modificada    **A.C** - Alimentos congelados  
**APC** - Alimentos prontos a consumir    **A.R** - Alimentos refrigerados  
**N/A** - Não aplicável

A Figura 18 demonstra claramente uma grande diferença na contagem média de *Enterobacteriaceae* entre as várias condições, destacando-se o *sushi* proveniente do restaurante com as médias mais elevadas. Já para o *sushi* congelado e E.A.P. as médias são muito idênticas. Há diferenças estatisticamente significativas nas contagens de *Enterobacteriaceae* entre o *sushi* de restaurante e o *sushi* E.A.P. e entre o *sushi* de restaurante e congelado ( $p < 0,05$ ).

Pela análise da Tabela 5, e de acordo com o proposto nas Tabelas 7 e 8, 75% das amostras foram classificadas como satisfatórias enquanto as restantes 25% foram classificadas de aceitáveis quer para o *sushi* congelado quer em E.A.P. Por seu lado, na condição de *sushi* proveniente de restaurante, apenas 20% das amostras foram classificadas como aceitáveis (V2R) enquanto os outros 80% foram classificadas como não satisfatórias (V1R, V3R, V4R e V5R). Permitindo a contagem de *Enterobacteriaceae* para este estudo avaliar a higiene geral do alimento, estes resultados sugerem que existem problemas claros de higiene ou contaminações cruzadas por parte dos manipuladores na confeção do *sushi* no restaurante.



**Figura 18** – Contagens das *Enterobacteriaceae* (valores médios  $\pm$ DP) do *sushi* nas diferentes condições para as diferentes variedades, expressas em log ufc/g.

A *Escherichia coli* é uma bactéria que se encontra geralmente no trato intestinal de todos os animais incluindo o Homem, e a sua presença nos alimentos indica normalmente que houve contaminação fecal por via direta ou indireta. Se os manipuladores de *sushi* não assegurarem uma higiene pessoal correta, podem transferir microrganismos ao alimento, entre eles *E. coli*, enquanto, por exemplo, manipulam com as mãos o arroz para o *sushi*. A

permanência a temperaturas inadequadas pode resultar num aumento da multiplicação deste microrganismo (Liang *et al.*, 2016; CFS, 2014; HPA, 2009; NSW, 2008).

O microrganismo *Bacillus cereus* pode encontrar-se naturalmente presente no arroz cru. A forma como o arroz é preparado e armazenado é de extrema importância atendendo a que este microrganismo está frequentemente associado a intoxicações alimentares. A permanência do arroz cozido a temperaturas acima dos 10 °C e até aos 18 °C, pode permitir o crescimento deste microrganismo em larga escala (CFS, 2014; Cronin & Wilkinson, 2009; HPA, 2009; NSW, 2008).

Relativamente aos resultados obtidos para as contagens de *E. coli* e *Bacillus cereus* a Tabela 5 mostra que 100% das amostras analisadas (n=39) nas diferentes condições de *sushi* (congelado, E.A.P. e de restaurante) foram classificadas como satisfatórias de acordo com as Tabelas 7 e 8, o que revela a ausência de possíveis contaminações fecais e um correto armazenamento do arroz usado na confeção do *sushi* visto que este é preparado com antecedência.

Os resultados para as contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva (Tabela 5) demonstram novamente diferenças entre o *sushi* proveniente de restaurante e o *sushi* congelado ou em E.A.P. Consultando as Tabelas 7 e 8, para as condições de *sushi* congelado e E.A.P. todas as amostras foram classificadas como satisfatórias. No caso de *sushi* de restaurante todas as amostras foram classificadas como aceitáveis. A ocorrência deste microrganismo nos alimentos indica uma falha de Boas Práticas de Higiene por parte dos manipuladores ou a possibilidade das matérias-primas adquiridas já se encontrarem contaminadas (Liang *et al.*, 2016; Santos *et al.*, 2012; Atanassova *et al.*, 2008,).

Em nenhuma das amostras testadas, para todas as condições (Tabela 6), foram encontradas em 25g de amostra a presença de *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* e *Vibrio parahaemolyticus*.

Foram efetuados alguns estudos sobre a qualidade microbiológica de *sushi*. Um estudo efetuado por Liang *et al.* (2016), em 120 amostras de *sushi* (*nigiri* de salmão) comercializadas em lojas de *sushi* autorizadas em 19 distritos em Hong Kong, mostraram uma contagem média de aeróbios totais de 5,5 log ufc/g, com 94,2% das amostras classificadas como satisfatórias e 5,8 % como aceitáveis. Apenas 5% das amostras continha *E.coli*. A média para a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva foi de 2,3 log ufc/g. Não foi detetada a presença de *Salmonella* spp. Estes resultados, mostram valores superiores aos obtidos neste estudo quer para o *sushi* congelado quer para o *sushi* E.A.P., e

inferiores aos obtidos para as amostras colhidas em restaurante, com as quais eventualmente seriam mais comparáveis.

Atanassova *et al.*, (2008), realizaram um estudo comparativo da qualidade microbiológica entre *sushi* congelado e *sushi* fresco. Das 250 amostras analisadas, o *sushi* congelado revelou uma contagem média de microrganismos aeróbios mesófilos de 2,7 log ufc/g, valores um pouco inferiores aos obtidos neste estudo, enquanto que o *sushi* fresco continha em média 6,3 log ufc/ g, mais comparável aos das amostras de restaurante. As contagens de *Staphylococcus aureus* foram maiores no *sushi* fresco, tal como obtido neste trabalho. Estes resultados são semelhantes aos obtidos neste estudo apesar do número de amostras ser maior.

Por seu lado, Leisner *et al.* (2014), realizaram um estudo em diferentes bares de *sushi* na Dinamarca, no qual em 80 amostras de *sushi*, a média das contagens de aeróbios totais foi de 5,53 log ufc/g e de *Staphylococcus* spp. foi de 2,75 log ufc/g. Estes valores, sendo mais baixos do que os obtidos neste estudo, não são, ainda assim, muito diferentes.

Santos *et al.* (2012), analisando 35 amostras de *sushi* comercializado em restaurantes de Aracaju, Sergipe, não detetaram a presença de *Salmonella* spp, tal como aconteceu neste estudo.

Já num estudo realizado por Moura *et al.* (2015), a *sushis* à base de salmão comercializados em restaurantes especializados em culinária Japonesa na região do Agreste Paraibano (Brasil), das 15 amostras testadas 13,3% revelaram a presença de *Salmonella* spp., mas nenhuma mostrou a presença de *B. cereus*. No entanto, a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva encontrava-se acima do limite permitido em 6,6% das amostras. Estes resultados mostram um *sushi* de qualidade claramente inferior ao estudado neste trabalho.

## 6 – Conclusões

Os resultados deste estudo mostram que o *sushi* congelado e E.A.P., provenientes de supermercados, têm valores microbiológicos semelhantes entre si o que poderia revelar Boas Práticas de Fabrico e Higiene. A contagem de microrganismos no *sushi* congelado é mais baixa, provavelmente porque a congelação dos alimentos reduz a atividade microbiana; já no caso do *sushi* E.A.P., os níveis baixos de O<sub>2</sub> presentes inibem o crescimento microbiano. Apesar das contagens de *Enterobacteriaceae* serem relativamente baixas, 50% das amostras do *sushi* congelado foram classificadas como aceitáveis enquanto que os outros 50% foram classificadas como satisfatórias, o mesmo se passa com o *sushi* E.A.P. As Boas Práticas de Higiene e Fabrico, os planos de HACCP implementados e uma correta utilização da temperatura tomam um papel crucial e decisivo no controlo da multiplicação dos microrganismos eventualmente presentes.

Para a condição de *sushi* proviente de restaurante, os resultados elevados das contagens de *Enterobacteriaceae* revelam possíveis más práticas de higiene ou contaminações cruzadas. Das amostras, 80% foram classificadas como não satisfatórias. Sugere-se um controlo e vigilância mais apertada no cumprimento do plano de HACCP e nas Boas Práticas de Higiene e Fabrico.

A monitorização dos restaurantes de comida japonesa com a vertente de *sushi*, parece importante e as autoridades competentes deverão ter isso em conta, de modo a evitar possíveis doenças de origem alimentar. A legislação Portuguesa não indica especificamente limites para os valores microbiológicos do *sushi*, mas com o aumento do consumo deste alimento, será fundamental uma maior atenção por parte das autoridades competentes relacionadas com esta matéria em Portugal. O público em geral deverá de estar consciente e informado sobre os potenciais perigos associados ao consumo de *sushi*.

## 7 – Bibliografia

Adams, M. R.; Moss, M. O. & McClure P. (2016). Food Microbiology. (4<sup>th</sup> ed.). The Royal Society of Chemistry, 2016. 562p.

Almeida, C. P. (2014). Seafood consumption in Portugal: Patterns, drivers and sustainability. Tese de doutoramento em Ciências do Mar. Faculdade de Ciências – Departamento de Biologia Animal. Universidade de Lisboa. 145p.

Atanassova, V.; Reich, F. & Klein, G. (2008). Microbiological Quality of *Sushi* from *Sushi* Bars and Retailers. Journal of Food Protection Vol. 71:860-864.

Barber, K. & Takemura, H. (2002). Sushi – taste and technique. (1<sup>st</sup>ed.). United States: DK Publishing, Inc, 2002. 256p.

Bennett, R. (2012). *Bacillus cereus*. In: Bad Bug Book: Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook (2<sup>nd</sup> ed.). Lampel, K. A.; Al-Khaldi, S. & Cahill, S. M. Food and Drug Administration.

Bremer, P. J. & Ridley, S. C. (2004). Safety of Frozen Foods. In: Handbook of Frozen Foods. Hui, Y. H.; Cornillion, P.; Legaretta, I. G.; Lim, M. H.; Murrell, K. D. & Nip, W. Marcel Dekker, Inc.

Burger, J.; Gochfeld, M.; Jeitner, C.; Donio, M. & Pittfield, T. (2014). *Sushi* consumption rates and mercury levels in *sushi*: ethnic and demographic differences in exposure. Journal of Risk Research, 17:8, 981-997.

CAC (1997). CAC/GL 21-1997 - Principles for the Establishment and Application of Microbiological Criteria for Foods. Codex Alimentarius. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/005/y1579e/y1579e04.htm>. Acedido em: Outubro de 2016.

Carroll, W. F. (2009). SUSHI: Globalization through Food Culture: Towards a Study of Global Food Networks. Journal of East Asian cultural interaction studies 2, 451-456. Kansai University.

CFS (2014). Microbiological Guidelines for FOOD. For ready-to-eat food in general and specific food items. Centre for Food Safety, Hong Kong. Disponível em: [http://www.cfs.gov.hk/english/food\\_leg/food\\_leg.html](http://www.cfs.gov.hk/english/food_leg/food_leg.html). Acedido em: Outubro de 2016.

Chen, Y. (2012). *Listeria monocytogenes*. In: Bad Bug Book: Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook (2<sup>nd</sup> ed.). Lampel, K. A.; Al-Khaldi, S. & Cahill, S. M. Food and Drug Administration.

Cronin, U. P. & Wilkinson, M. G. (2009). The growth, physiology and toxigenic potential of *Bacillus cereus* in cooked rice during storage temperature abuse. *Food Control* Vol. 20: 822-828.

Decreto-Lei nº 148/2005 de 29 de Agosto, Diário Da Republica, I Série A, nº 165.

Dekura, H.; Treloar, B. & Yoshii, R. (2004). *The Complete Book of Sushi*. Periplus Editions (HK) Ltd, 2004. 240p.

Doyle, M. P. & Buchanan, R. L. (2013). *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. (4<sup>th</sup> ed.). ASM Press, 2013. 1138p.

Elliot, J. & Cook, R. (2015). *The Complete Guide to Sushi & Sashimi*. Robert Rose Inc., 2015. 306p.

Fang, T.; Wei, Q.; Liao, C.; Hung, M. & Wang, T. (2003). Microbiological quality of 18 °C ready-to-eat food products sold in Taiwan. *International Journal of Food Microbiology*. 80: 241-250.

FAO (2012). *FAO yearbook. Fishery and Aquaculture Statistics. 2010*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, 2012. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/publications/yearbooks/en>. Acedido em: Outubro de 2016.

FAO (2013). *FAO yearbook. Fishery and Aquaculture Statistics. 2011*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, 2013. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/publications/yearbooks/en>. Acedido em: Outubro de 2016.

FAO (2014). *FAO yearbook. Fishery and Aquaculture Statistics. 2012*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, 2014. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/publications/yearbooks/en>. Acedido em: Outubro de 2016.

FAO (2016a). *FAO yearbook. Fishery and Aquaculture Statistics. 2014*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, 2016. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/publications/yearbooks/en>. Acedido em: Outubro de 2016.

FAO (2016b). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, 2016. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/sofia/en>. Acedido em: Outubro de 2016.

FAO (2017). *FAO yearbook. Fishery and Aquaculture Statistics. 2015*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, 2017. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/publications/yearbooks/en>. Acedido em: Fevereiro de 2018.

Fellows, P. (2009). Food Processing Technology: Principles and Practice (3<sup>rd</sup> ed.). Woodhead Publishing Limited, 575p.

Feng, C. H.-I. (2012). The Tale of *Sushi*: History and Regulations. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. Vol. 11: 205-220.

Feng, P. (2012). *Escherichia coli*. In: Bad Bug Book: Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook (2<sup>nd</sup> ed.). Lampel, K. A.; Al-Khaldi, S. & Cahill, S. M. Food and Drug Administration.

Floros, J. D. & Matsos, K. I. (2005). Introduction to modified atmosphere packaging. In: Innovations in Food Packaging. Han, J. H. Elsevier Academic Press.

Gokoglu, N. & Yerlikaya, P. (2015). Seafood Chilling, Refrigeration and Freezing: Science and Technology. Wiley-Blackwell, 2015. 236p.

Granum, P. E. & Lindback, T. (2013). *Bacillus cereus*. In: Food Microbiology: *Fundamentals and Frontiers* (4<sup>th</sup> ed.) Doyle, M. P. & Buchanan, R. L. ASM Press.

Hait, J. (2012). *Staphylococcus aureus*. In: Bad Bug Book: Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook (2<sup>nd</sup> ed.). Lampel, K. A.; Al-Khaldi, S. & Cahill, S. M. Food and Drug Administration.

Hammack, T. (2012). *Salmonella* species. In: Bad Bug Book: Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook (2<sup>nd</sup> ed.). Lampel, K. A.; Al-Khaldi, S. & Cahill, S. M. Food and Drug Administration.

HPA (2009). Guidelines for Assessing the Microbiological Safety of Ready-to-Eat Foods, Health Protection Agency. London.

INE (2014). Balança Alimentar Portuguesa 2008 – 2012. Instituto Nacional de Estatística. Lisboa, 02 de Abril de 2014. Disponível em: [https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine\\_destaques&DESTAQUESdest\\_boui=209480091&DESTAQUESmodo=2](https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_destaques&DESTAQUESdest_boui=209480091&DESTAQUESmodo=2). Acedido em: Outubro de 2016.

INE (2017). Balança Alimentar Portuguesa 2012 – 2016. Instituto Nacional de Estatística. Lisboa, 07 de Abril de 2017. Disponível em: [https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine\\_publicacoes&PUBLICACOESpub\\_boui=289818234&PUBLICACOESmodo=2&xlang=pt](https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_publicacoes&PUBLICACOESpub_boui=289818234&PUBLICACOESmodo=2&xlang=pt). Acedido em: Fevereiro de 2018.

INSA (2005). Valores Guia para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos a comer preparados em estabelecimentos de restauração. Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, Março de 2005. Disponível em:

[http://www2.insa.pt/sites/INSA/Portugues/Publicacoes/Outros/Documents/AlimentacaoNutricao/Valores\\_Guia\\_Qualid\\_Microb\\_Alim.pdf](http://www2.insa.pt/sites/INSA/Portugues/Publicacoes/Outros/Documents/AlimentacaoNutricao/Valores_Guia_Qualid_Microb_Alim.pdf). Acedido em: Outubro de 2016.

ISO 6579:2002. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.

ISO 6887-2:2003. Microbiology of food animal feeding stuffs. Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination – Part 2: Specific rules for the preparation of meat and meat production.

ISO 11290-1:1996. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* – Part 1: Detection method.

ISO 21528-2:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae* – Part 2: Colony count method.

ISO 21872-2:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of presumptive enteropathogenic *Vibrio* spp. – Part 1: Detection of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio cholerae*.

James, S. J. & James, C. (2014). Food Technologies: Freezing. Encyclopedia of Food Safety. Vol. 3: 187-195.

Jarvis, B. (2016). Statistical Aspects of the Microbiological Examination of Foods. (3<sup>rd</sup> ed.). Academic Press, 2016. 352p.

Jones, J. L. (2012). *Vibrio* species. In: Bad Bug Book: Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook (2<sup>nd</sup> ed.). Lampel, K. A.; Al-Khaldi, S. & Cahill, S. M. Food and Drug Administration.

Karel, M. & Lund, D. B. (2003). Physical Principles Of Food Preservation (2<sup>nd</sup> ed.). Marcel Dekker, Inc., 2003. 640p.

Kawasumi, K. (2001). The Encyclopedia of *Sushi* Rolls. (1<sup>st</sup> ed.). Japan Publications Trading Co., Ltd, 2001. 192p.

Leisner, J. J.; Lunda, T. B.; Frandsen, E. A.; Andersen, N. B. E.; Fredslund, L.; Nguyen, V. P. T. & Kristiansen. (2014). What consumers expect from food control and what they get – A case study of the microbial quality of *sushi* bars in Denmark. Food Control, 45: 76-80.

Li, H.; Wang, H.; D'aoust, J.-Y. & Maurer, J. (2013). *Salmonella* species. In: Food Microbiology: *Fundamentals and Frontiers* (4<sup>th</sup> ed.) Doyle, M. P. & Buchanan, R. L. ASM Press.

Liang, W.; Pan, Y.; Cheng, H.; Li, T.; Yu, P. H. & Chan, S. (2016). The microbiological quality of take-away raw salmon finger sushi sold in Hong Kong. *Food Control* Vol. 69: 45-50.

Meng, J.; LeJeune, J. T.; Zhao, T. & Doyle, M. P. (2013). *Enterohemorrhagic Escherichia coli*. In: *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers* (4<sup>th</sup> ed.) Doyle, M. P. & Buchanan, R. L. ASM Press.

Moura, R. F.; Costa, G. F.; Araújo, C. D. L.; Cunha, J. C.; Silva, C. R. M. & Santos, J. G. (2015). Avaliação microbiológica de *sushis* à base de salmão preparados em restaurantes especializados em culinária Japonesa da Região do Agreste Paraibano. *Alimentação Humana* Vol. 21 N° 1,2,3.

Mouritsen, O. G. (2009). *Sushi – Food for the eye, the body & the soul*. United States: Springer Science+Business Media B.V, 2009. 330p.

Murray, P. R.; Rosenthal, K. S. & Pfaller M. A. (2010). *Microbiologia Médica* (6<sup>th</sup> ed.). Elsevier Editora Ltda., 2010. 4393p.

NF EN ISO 6888-2:1999. Méthods horizontale pour le dénombrement des *staphylocoques* à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces) – Partie 2: Technique utilisant le milieu gélosé au plasma do lapin et au fibrinogène.

Novotny, L.; Dvorska, L.; Lorencova, A.; Beran, V. & Pavlik, I. (2014). Fish: a potencial source of bacterial pathogens for human beings. *Veterinární medicína*. 49(9): 343-358.

NP 4062:1990. Microbiologia alimentar – Regras gerais para a contagem de *Bacillus cereus* a 30 °C.

NP 4396:2002. Microbiologia alimentar – Regras gerais para a contagem de *Escherichia coli*. Método corrente.

NP 4405:2002. Microbiologia alimentar – Regras gerais para a contagem de microrganismos. Contagem de colónias a 30 °C.

NSW Food Authority (2008). Report on food handling practices and microbiological quality of sushi in Australia. Disponível em: [http://www.foodauthority.nsw.gov.au/Documents/scienceandtechnical/report\\_quality\\_sushi\\_australia.pdf](http://www.foodauthority.nsw.gov.au/Documents/scienceandtechnical/report_quality_sushi_australia.pdf). Acedido em: Fevereiro de 2018.

Oliver, J. D.; Pruzzo, C.; Vezzulli, L. & Kaper, J. B. (2013). *Vibrio* species. In: *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers* (4<sup>th</sup> ed.) Doyle, M. P. & Buchanan, R. L. ASM Press.

Ōmae, K. & Tachibana, Y. (1988). *The Book of Sushi*. Tokyo: Kodansha International Ltd., 1988. 127p.

Orsi, R. H. & Wiedmann, M. (2016). Characteristics and distribution of *Listeria* spp., including *Listeria* species newly described since 2009. *Appl Microbiotechnol* 100:5273-5287.

Paiva, E. L.; Alves, J. C.; Milani, R. F.; Boer, B. S.; Quintaes, K. D. & Morgano, M. A. (2016). Sushi commercialized in Brazil: Organic Hg levels and exposure intake evaluation. *Food Control*. Vol. 69: 115-123.

Patrocínio, I. D. R. (2009). *A Segurança Alimentar no Consumo de Pescado Cru com Valência para a Produção de Sushi*. Tese de Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar. Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa. 129p.

Ramos, P. (2011). *Anisakis* spp. em bacalhau, *sushi* e *sashimi*: risco de infeção parasitária e alergia. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias* Vol. 106 (Nº 277-580): 87-97.

Reames, E. (2012). *Nutritional Benefits of Seafood*. Southern Regional Aquaculture Center. SRAC Publication No. 7300. October. USDA.

Regulamento (UE) Nº 209/2013 da Comissão de 11 de março de 2013, que altera o Regulamento (CE) Nº 2073/2005 no que diz respeito aos critérios microbiológicos aplicáveis a rebentos e às regras de amostragem de carcaças de aves de capoeira e carne fresca de aves de capoeira.

Regulamento (UE) Nº 217/2014 da Comissão de 7 de março de 2014, que altera o Regulamento (CE) Nº 2073/2005 no que diz respeito a *Salmonella* em carcaças de suínos.

Regulamento (UE) Nº 365/2010 da Comissão de 28 de Abril de 2010, que altera o Regulamento (CE) Nº 2073/2005 relativo aos critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios no que diz respeito a *Enterobacteriaceae* no leite pasteurizado e noutros produtos lácteos líquidos pasteurizados e a *Listeria monocytogenes* no sal alimentar.

Regulamento (CE) Nº 852/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de Abril de 2004, relativo à higiene dos géneros alimentícios.

Regulamento (UE) Nº 1019/2013 da Comissão de 23 de outubro de 2013 que altera o anexo I do Regulamento (CE) Nº 2073/2005 no que se refere à histamina em produtos da pesca.

Regulamento (UE) Nº 1086/2011 da Comissão de 27 de Outubro de 2011 que altera o anexo II do Regulamento (CE) Nº 2160/2003 do Parlamento Europeu e do Conselho e o

anexo I do Regulamento (CE) Nº 2073/2005 da Comissão no que diz respeito a *Salmonella* em carne fresca de aves de capoeira.

Regulamento (UE) Nº 1169/2011 do Parlamento Europeu e Do Conselho de 25 de Outubro de 2011, relativo à prestação de informação aos consumidores sobre os géneros alimentícios

Regulamento (CE) Nº 1441/2007 da Comissão de 5 de Dezembro de 2007 que altera o Regulamento (CE) Nº 2073/2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios.

Regulamento (CE) Nº 1881/2006 da Comissão de 19 de Dezembro, que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios.

Regulamento (CE) Nº 2073/2005 da Comissão de 15 de Novembro de 2005, relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios.

Regulamento (CE) Nº 2074/2005 da Comissão de 5 de Dezembro de 2005, que estabelece medidas de execução para determinados produtos.

Remtula, A. (2016). *SUSHI@HOME: A case of customer retention and acquisition*. Tese de Mestrado em Gestão. Católica Lisbon School of Business & Economics. 60p.

Robertson, G. L. (2009). Food packaging: Packaging systems. In Food Science and Technology (1<sup>st</sup> ed.). Platt-Campbell, G. Wiley-Blackwell.

Rodrigues, C. I. C.; Guiné, R. P. F.; Correia, P. M. R. (2015). Manual de Segurança Alimentar – da origem ao consumo. Publindústria, 2015. 168p.

Ryser, E. T. & Buchanan, R. L. (2013). *Listeria monocytogenes*. In: Food Microbiology: *Fundamentals and Frontiers* (4<sup>th</sup> ed.) Doyle, M. P. & Buchanan, R. L. ASM Press.

Santos, A. A.; Simões G. T. N.; Cruz, M. M.; Ferreira, N. S. S.; Lima, R. T. C. & Tunon, G. I. L. (2012). Avaliação da qualidade microbiológica de *sushi* comercializado em restaurantes de Aracaju, Sergipe. Scientia Plena. Vol. 8, Num. 3

Santos, J. M. S. (2008). Filetes de Pregado (*Psetta maxima*) Embalados em Atmosfera Modificada: Avaliação da qualidade física, química e microbiológica. Tese de Mestrado em Controlo de Qualidade na área Científica Água e Alimentos. Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto. 154p.

Sakamoto, R. & Allen R. (2011). There's something about that *sushi*: how Japan interprets the global *sushi* boom. Japan Forum, 23:1, 99-212.

- Seo, K. S. & Bohach, G. A. (2013). *Staphylococcus aureus*. In: Food Microbiology: *Fundamentals and Frontiers* (4<sup>th</sup> ed.) Doyle, M. P. & Buchanan, R. L. ASM Press.
- Singh, R. P. & Heldman R. (2014). Introduction to Food Engineering (5<sup>th</sup> ed.). Academic Press, 2014. 892p.
- Sivertsvik, M.; Jeksrud, W. K. & Rosnes, J. T. (2002a). A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products – significance of microbial growth, activities and safety. *International Journal of Food Science and Technology*. Vol. 37: 107-127.
- Sivertsvik, M.; Rosnes, J. T. & Bergslien, H. (2002b). Modified atmosphere packaging. In: *Minimal processing technologies in the food industry*. Ohlsson, T. & Bengtsson, N. Woodhead Publishing Limited.
- Sousa, M.; Amaral, R. & Oliveira, B. (2012). Boas Práticas que Contribuem para a Qualidade do Sushi em Estabelecimentos de Restauração. *Revista Nutricias* 15: 31-33, APN.
- Spencer, K. C. (2005). Modified atmosphere packaging of read-to-eat foods. In: *Innovations in Food Packaging*. Han, J. H. Elsevier Academic Press.
- van Schothorst, M.; Zwietering, B.; Ross, T.; Buchanan, R. L. & Cole, M. B. (2009). Relating microbiological criteria to food safety objectives and performance objectives. *Food Control*. Vol. 20:967-979.
- Velu, S.; Abu Bakar, F.; Mahyudin, N. A.; Saari, N. & Zaman, M. Z. (2013). Effect of modified atmosphere packaging on microbial flora changes in fishery products. *International Food Research Journal*. Vol. 20 (1): 17-26.
- Yam, K. L.; Takhistov, P. T. & Miltz, J. (2005). Intelligent Packaging: Concepts and Applications. *Journal of Food Science*, Vol. 70: R1 – R10.
- Yousef, A. E. & Balasubramaniam, V. M. (2013). Physical Methods of Food Preservation. In: *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers* (4<sup>th</sup> ed.) Doyle, M. P. & Buchanan, R. L. ASM Press.

## 8 – Anexos

**Anexo 1** – Valores Guia para Microrganismos Aeróbios Totais em Alimentos Prontos a Consumir, elaborados pelo HPA (Reino Unido) expressos em ufc/g (Adaptado de HPA, 2009).

Categoria de alimentos <sup>a</sup>	Exemplos	Resultados (ufc/g)		
		Satisfatório	Aceitável	Não Satisfatório
1 - Alimentos contidos em sacos, cartões, engarrafados e em latas imediatamente após a remoção do contentor <sup>b</sup>	Produtos enlatados tais como: atum, salmão, sopas, produtos UHT, sobremesas, fruta, guisados	< 10	NA	<sup>c</sup>
2 - Alimentos cozinhados imediatamente antes da venda ou consumo	Hambúrgueres, kebabs, salsichas, pizza, alimentos prontos a comer cozinhados e refrigerados/congelados	< 10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup> - < 10 <sup>5</sup>	≥ 10 <sup>5</sup>
3 - Alimentos cozinhados e refrigerados mas com um mínimo de manuseamento antes da venda ou consumo. Alimentos em lata pasteurizados que requerem refrigeração	Tartes inteiras, rolos de salsichas, chamuças, quiches, porções de galinha, presunto enlatado, alimentos pasteurizados incluindo: sumos de fruta e sopas, sobremesas	< 10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup> - < 10 <sup>7</sup>	≥ 10 <sup>7</sup>
4 - Produtos de pastelaria e confeitaria sem creme. Alimentos em pó	Bolos sem creme, sopa em pó, leite em pó, produtos láteos em pó, outros alimentos pronto a consumir após reconstituição ou aquecimento	< 10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup> - < 10 <sup>6</sup>	≥ 10 <sup>6</sup>
5 - Alimentos cozinhados refrigerados com algum manuseamento antes da venda ou consumo	Carnes fatiadas, tartes fatiadas, patés, sanduiches sem saladas, peixe fumado quente, moluscos, crustáceos	< 10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup> - < 10 <sup>7</sup>	≥ 10 <sup>7</sup>
6 - Produtos láteos não fermentados e sobremesas à base de leite. Maionnase e produtos à base de maionnase, molhos cozinhados	A maioria das manteigas, queijo fresco, bolos com creme	< 10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup> - < 10 <sup>7</sup>	≥ 10 <sup>7</sup>
7 - Alimentos misturados com molhos e pastas	Salada de repolho, molhos, taramasalata	< 10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup> - < 10 <sup>7</sup>	≥ 10 <sup>7</sup>
8 - Produtos alimentares com prazos de validade longo que requerem refrigeração	Produtos embalados em atmosfera protetora ou a vácuo como por exemplo: carne, peixe, frutas e vegetais	< 10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup> - < 10 <sup>8</sup>	≥ 10 <sup>8</sup> <sup>d</sup>
9 - Alimentos prontos a comer como carne e peixe, peixe fumado	Sushi, salmão fumado	< 10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup> - < 10 <sup>7</sup>	≥ 10 <sup>7</sup>
10 - Produtos alimentares conservados - salgados, marinados	Peixe salgado, marisco cozinhado em vinagre, vegetais em vinagre ou óleo, ervas, especiarias	NA	NA	NA

11 - Alimentos secos	Frutas, nozes, passas, bagas, especiarias, peixe seco, sementes de girassol, ervas	NA	NA	NA
12 - Fruta e vegetais frescos, produtos que contenham vegetais crus	Fruta, salada de fruta pré preparada, saladas mistas contendo vegetais crus, sanduíches com saladas	NA	NA	NA
13 - Carne fermentada, curada ou seca. Vegetais fermentados e queijos curados	Salsichas/salames, azeitona, tofu, cheddar, iogurtes, bebidas de leite fermentadas	NA	NA	NA

a - Nos alimentos que não estão incluídos nesta categoria de alimentos, as contagens de aeróbios totais devem ser interpretados tendo em conta os ingredientes usados e a sua natureza antes da sua venda

b - A maioria dos produtos são estéreis quando é feita a amostragem, mas se forem consumidos após preparação devem ser colocados na categoria 5

c - Estes produtos são considerados não satisfatórios se existirem microrganismos formadores de esporos mas estes requerem testes específicos para a sua deteção e contagem.

Aeróbios formadores de esporos não são encontrados usualmente em alimentos que foram cozinhados na sua embalagem mas podem existir em níveis baixos em produtos de peixe enlatados

d - Procurar por sinais de deterioração. Bactérias ácido lácticas conseguem multiplicar-se em temperaturas de refrigeração mas não crescem bem em ambientes anaeróbios.

Se os microrganismos predominantes forem bactérias Gram-negativas.

NA - Não aplicável

**Anexo 2** – Valores Guia para Microrganismos Aeróbios Totais em Alimentos Prontos a Consumir, elaborado pelo CFS (Hong Kong) expressos em ufc/g (Adaptado de CFS, 2014).

Categoria de alimentos <sup>a</sup>	Exemplos	Resultados (ufc/g)		
		Satisfatório	Aceitável	Não Satisfatório
1 - Alimentos contidos em sacos, cartões, engarrafados e em latas imediatamente após a remoção do contentor <sup>b</sup>	Produtos enlatados tais como: atum, salmão, sopas, produtos UHT, sobremesas, fruta, guisados	< 10	NA	<sup>c</sup>
2 - Alimentos cozinhados imediatamente antes da venda ou consumo	Hambúrgueres, kebabs, salsichas, pizza, alimentos prontos a comer cozinhados e refrigerados/congelados	< 10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup> - < 10 <sup>5</sup>	≥ 10 <sup>5</sup>
3 - Alimentos cozinhados e refrigerados mas com um mínimo de manuseamento antes da venda ou consumo. Alimentos em lata pasteurizados que requerem refrigeração	Tartes inteiras, rolos de salsichas, chamuças, quiches, porções de galinha, presunto enlatado, alimentos pasteurizados incluindo: sumos de fruta e sopas, sobremesas	< 10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup> - < 10 <sup>7</sup>	≥ 10 <sup>7</sup>
4 - Produtos de pastelaria e confeitaria sem creme. Alimentos em pó	Bolos sem creme, sopa em pó, leite em pó, produtos láteos em pó, outros alimentos pronto a coconsumir após reconstituição ou aquecimento	< 10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup> - < 10 <sup>6</sup>	≥ 10 <sup>6</sup>
5 - Alimentos cozinhados refrigerados com algum manuseamento antes da venda ou consumo	Carnes fatiadas, tartes fatiadas, patés, sanduiches sem saladas, peixe fumado quente, moluscos, crustáceos	< 10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup> - < 10 <sup>7</sup>	≥ 10 <sup>7</sup>
6 - Produtos láteos não fermentados e sobremesas à base de leite. Maionnaise e produtos à base de maionnaise, molhos cozinhados	A maioria das manteigas, queijo fresco, bolos com creme	< 10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup> - < 10 <sup>7</sup>	≥ 10 <sup>7</sup>
7 - Alimentos misturados com molhos e pastas	Salada de repolho, molhos, taramasalata	< 10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup> - < 10 <sup>7</sup>	≥ 10 <sup>7</sup>
8 - Produtos alimentares com prazos de validade longo que requerem refrigeração	Produtos embalados em atmosfera protetora/modificada ou a vácuo como por exemplo: carne, peixe, frutas e vegetais	< 10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup> - < 10 <sup>8</sup>	≥ 10 <sup>8</sup> <sup>d</sup>
9 - Alimentos prontos a comer como carne e peixe, peixe fumado	Sushi, salmão fumado	< 10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup> - < 10 <sup>7</sup>	≥ 10 <sup>7</sup>

10 - Produtos alimentares conservados - salgados, marinados	Peixe salgado, marisco cozinhado em vinagre, vegetais em vinagre ou óleo, ervas, especiarias	NA	NA	NA
11 - Alimentos secos	Frutas, nozes, passas, bagas, especiarias, peixe seco, sementes de girassol, ervas	NA	NA	NA
12 - Fruta e vegetais frescos, produtos que contenham vegetais crus	Fruta, salada de fruta pré preparada, saladas mistas contendo vegetais crus, sanduíches com saladas	NA	NA	NA
13 - Carne fermentada, curada ou seca. Vegetais fermentados e queijos curados	Salsichas/salames, azeitona, tofu, cheddar, iogurtes, bebidas de leite fermentadas	NA	NA	NA
14 - Produtos cárneos cozidos que possam ser dispostos para venda à temperatura ambiente por um período de tempo limite.	Galinhãs escalfadas chinesas, porco assado e pato assado	$< 10^5$	$10^5 - <10^6$	$\geq 10^6$

a - Nos alimentos que não estão incluídos nesta categoria de alimentos, as contagens de aeróbios totais devem ser interpretados tendo em conta os ingredientes usados e a sua natureza antes da sua venda

b - A maioria dos produtos são estéreis quando é feita a amostragem, mas se forem consumidos após preparação devem ser colocados na categoria 5

c - Estes produtos são considerados não satisfatórios se existirem microrganismos formadores de esporos mas estes requerem testes específicos para a sua deteção e contagem.

Aeróbios formadores de esporos não são encontrados usualmente em alimentos que foram cozinhados na sua embalagem mas podem existir em níveis baixos em produtos de peixe enlatados

d - Procurar por sinais de deterioração. Bactérias ácido lácticas conseguem multiplicar-se em temperaturas de refrigeração mas não crescem bem em ambientes anaeróbios.

Se os microrganismos predominantes forem bactérias Gram-negativas.

NA - Não aplicável

**Anexo 3 - Divisão dos Alimentos Prontos a Consumir em grupos elaborado pelo INSA.**

Fonte: INSA, 2005.

Grupo	Produto	Exemplos
Grupo 1	Refeições/Sandes/Bolos/ Sobremesas doces com ingredientes totalmente cozinhados, ou adicionados de especiarias, ervas aromáticas secas, desidratadas ou tratadas por radiação ionizante, de produtos UHT e de maionese industrializada.	Feijoada Pizza Bacalhau à Brás com salsa previamente processada Salada de batata com maionese industrial Pastéis de bacalhau/Croquetes/ Rissóis Sandes de carne assada Sandes de pâté de atum (maionese industrial) Omeleta de Queijo /fiambre Mousse de chocolate instantânea Bolo de chocolate Arroz doce com ou sem canela Gelatinas Salada de fruta/fruta laminada em calda
Grupo 2	Refeições/Sandes/Bolos/ Sobremesas doces cozinhadas adicionadas de ingredientes crus e/ou com flora específica própria	Salada de batata com tomate/alface Salada de feijão frade com atum, salsa e cebola picada ou molho vinagrete Prato de peixe/carne/ovos adicionado de salada de vegetais ou frutos Bacalhau à Brás c/ salsa crua e/ou azeitonas Sandes com carne assada e alface Sandes de fiambre, queijo ou enchidos Mousse de chocolate Pudins com fruta ao natural Salada de fruta em calda adicionada de fruta ao natural
Grupo 3	Saladas/ Vegetais/Frutos crus	Alface Tomate Cenoura Couve roxa Salada de frutas Fruta ao natural laminada Morangos

**Anexo 4** - Valores Guia para a avaliação da qualidade microbiológica de alimentos cozinhados Prontos a Consumir expressos em ufc/g. Fonte: INSA, 2005.

Microorganismo	Grupo de alimentos	Qualidade Microbiológica (ufc/g quando não indicado)			
		Satisfatório	Aceitável	Não satisfatório	Inaceitável / potencialmente perigoso
Microorganismos a 30°C	1	$\leq 10^2$	$>10^2 \leq 10^4$	$>10^4$	NA
	2	$\leq 10^2$	$>10^2 \leq 10^5$	$>10^5$	NA
	3	$\leq 10^4$	$>10^4 \leq 10^6$	$>10^6$	NA
Leveduras	1* e 2	$\leq 10^2$	$>10^2 \leq 10^4$	$>10^4$	NA
	3	$\leq 10^2$	$>10^2 \leq 10^5$	$>10^5$	NA
Bolores	1* e 2	$\leq 10$	$>10 \leq 10^2$	$>10^2$	#
	3	$\leq 10^2$	$>10^2 \leq 10^3$	$>10^3$	#
Coliformes totais	1	$\leq 10$	$>10 \leq 10^2$	$>10^2$	NA
	2	$\leq 10$	$>10 \leq 10^3$	$>10^3$	NA
	3	$\leq 10^2$	$>10^2 \leq 10^4$	$>10^4$	NA
<i>E. coli</i>	1, 2	$<10$	NA	$\geq 10$	NA
	3	$\leq 10$	$>10 < 10^2$	$\geq 10^2$	NA
<i>Listeria spp.</i>	1, 2 e 3	$<10^2$	NA	$\geq 10^2$	NA
Anaeróbios sulfito redutores	1, 2 e 3	$\leq 10$	$>10 \leq 10^2$	$>10^2 < 10^4$	$\geq 10^4$ #
<b>Patogénios</b>					
<i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	1, 2 e 3	$<10^2$	NA	$\geq 10^2 \leq 10^4$	$>10^4$
<i>Bacillus cereus</i>	1, 2 e 3	$\geq 10^2$	$>10^2 \leq 10^3$	$>10^3 < 10^5$	$\geq 10^5$
<i>Clostridium perfringens</i>	1, 2 e 3	$<10$	$\geq 10 \leq 10^2$	$>10^2 < 10^4$	$\geq 10^4$
<i>Salmonella spp.</i>	1, 2 e 3	Ausente em 25g			Presente em 25g
<i>Listeria monocytogenes</i>	1, 2 e 3	Ausente em 25g	Presente em 25g $<10^2$ #	-	$\geq 10^2$
<i>Campylobacter spp.</i>	1, 2 e 3	Ausente em 25g			Presente em 25g
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1, 2 e 3	Ausente em 25g			Presente em 25g
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1, 2 e 3	Ausente em 25g			Presente em 25g

- \*- Aplicável em produtos conservados no frigorífico
- # - Equacionado caso a caso
- NA - Não aplicável

**Anexo 5** - Valores Guia para Microrganismos Indicadores de Higiene e Patogénicos em Alimentos Prontos a Consumir em geral elaborado pelo CFS (Hong Kong) e HPA (Reino Unido) expressos em ufc/g (Adaptado de CFS, 2014 & HPA, 2014).

Critério	Qualidade Microbiológica (ufc/g)		
	Satisfatório	Aceitável	Não Satisfatório
<b>Indicadores de Higiene</b>			
<i>E. coli</i>	< 20	20 a ≤ 10 <sup>2</sup>	> 10 <sup>2</sup>
<i>Enterobacteriaceae</i>	< 10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup> a ≤ 10 <sup>4</sup>	> 10 <sup>4</sup>
<b>Patogénicos</b>			
<i>S. aureus coagulase +</i>	< 20	20 a ≤ 10 <sup>4</sup>	> 10 <sup>4</sup>
<i>B. cereus</i>	< 10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup> a ≤ 10 <sup>5</sup>	> 10 <sup>5</sup>
<i>Salmonella</i> spp.	Ausente em 25 g	N/A	Presente em 25g
<i>V. parahaemolyticus</i>	< 20	20 a ≤ 10 <sup>3</sup>	> 10 <sup>3</sup>
<i>L. monocytogenes</i> <sup>a</sup>	<b>A.P.C</b>	< 10	10 a ≤ 100
	<b>A.R</b>	Ausente em 25 g	N/A
<i>L. monocytogenes</i> <sup>b</sup>	< 10	10 a ≤ 10 <sup>2</sup>	> 10 <sup>2</sup>

**A.R:** Alimentos refrigerados (excluindo alimentos congelados)

**APC:** Alimentos pronto a consumir

**N/A:** Não aplicável

**a** – Valores elaborados pelo CFS (Hong Kong)

**b** – Valores elaborados pelo HPA (Reino Unido)