



FACULDADE DE VETERINÁRIA

Departamento de Produção Animal e Tecnologia de Alimentos

Secção de Tecnologia de Alimentos

Curso de Licenciatura em Ciência e Tecnologia de Alimentos

TRABALHO DE CULMINAÇÃO DO CURSO

**Relatório de estágio no Laboratório de Inspeção de Pescado de
Maputo**

Estudo de caso: Avaliação da qualidade microbiológica do gelo usado
na conservação do pescado fresco em três mercados da Cidade de
Maputo

Estudante:

Evlizy Flora Joaquim Namburete

Supervisor: Prof. Doutor Belisário Tomé
Moiane

Co-supervisor: Prof. Doutor Fabião Jorge

Maputo, Outubro de 2025

DECLARAÇÃO DE HONRA

Eu, Evlizzy Flora Joaquim Namburete, declaro por minha honra que o presente trabalho de culminação de estudos intitulado “Avaliação da qualidade microbiológica do gelo usado na conservação do pescado fresco em três mercados da Cidade de Maputo” é resultado de uma investigação por mim feita, com a orientação dos meus supervisores, para a obtenção do grau de Licenciatura em Ciência e Tecnologia de Alimentos e o mesmo nunca foi apresentado parcial ou totalmente para obtenção de grau académico ou quaisquer outros fins, estando indicadas as referências bibliográficas consultadas.

Maputo, Outubro de 2025

(Evlizzy Flora Joaquim Namburete)

AGRADECIMENTOS

A Deus, em primeiro lugar, por me conceder o dom da vida, por Seu amor e infinita misericórdia, pela força para superar desafios ao longo desta caminhada e pelas incontáveis bênçãos, especialmente nesta etapa tão significativa.

À minha família, em especial aos meus pais, Fátima Jamo Ibraimo e Joaquim Saúl Namburete, e aos meus irmãos, pelo amor, apoio incondicional e encorajamento. Cada gesto de motivação e cada ensinamento foram essenciais para que este sonho se tornasse realidade.

Ao meu supervisor, Prof. Doutor Belisário Tomé Moiane, expresso minha profunda gratidão pelo acompanhamento, paciência, incentivo e ensinamentos valiosos transmitidos ao longo deste trabalho. Ao meu co-supervisor, Prof. Doutor Fabião Jorge, do Laboratório de Inspeção de Pescado (LIP) de Maputo, pelo suporte e disponibilidade em todas as etapas da pesquisa.

Ao Instituto Nacional de Inspeção de Pescado, IP (INIP) de Maputo, pela autorização do estágio que viabilizou a realização deste estudo, e a todos os funcionários do Laboratório de Inspeção de Pescado, pelo acolhimento, apoio e fornecimento dos materiais necessários para o desenvolvimento do trabalho.

À Faculdade de Veterinária e ao corpo docente, pelo conhecimento compartilhado e pelo compromisso com a educação, que tornaram possível essa jornada de aprendizado, mesmo diante dos desafios enfrentados ao longo desses quatro anos.

Ao meu noivo Wagner José Devete, pelo apoio incondicional, incentivo constante e por estar presente nos momentos em que mais precisei de força e encorajamento.

Aos meus colegas da turma CTA 2019, aos amigos e, em especial, às minhas queridas amigas Palma Gemicene, Menalda Iguane, Inocência Mucavele, Benvinda Manjate e Fáusia Manuel, que sempre estiveram ao meu lado, oferecendo apoio, companheirismo e palavras de incentivo nesta longa jornada.

À Mércia Mulungu, por sua amizade e presença significativa nesta caminhada e a todos que, directa ou indirectamente, contribuíram para a concretização deste sonho, seja com conselhos, motivação, apoio ou orações.

Meu sincero e profundo agradecimento a todos!

LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÓNIMOS

- **BPH** – Boas Práticas de Higiene
- **BVT N** – Nitrogénio de Bases Voláteis Totais
- **FAO** – *Food and Agriculture Organization*
- **INIP** – Instituto Nacional de Inspeção do Pescado, IP
- **IPAC** – Instituto Português de Acreditação
- **ISO** – *International Organization for Standardization*
- **LIP-Maputo** – Laboratório de Inspeção de Pescado de Maputo
- **mL** – Mililitro
- **OMS** – Organização Mundial da Saúde
- **RIISPOA** – Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
- **UFC/mL** – Unidade formadora de colónia por mililitro
- **WHO** – *World Health Organization*

LISTA DE FIGURAS

Figura I: Ilustração da maneira errada e correcta de colocar gelo no pescado.....	14
Figura II: Localização geográfica da área de estudo	19
Figura III: Placas com colónias típicas de coliformes	21
Figura IV: Confirmação de coliformes totais e termotolerantes, turvação do meio com produção do gás	21

LISTA DE TABELAS

Tabela I: Quantidade de amostras recebidas durante o período de estágio.....	6
Tabela II: Número de amostras em função do tipo de análise	8
Tabela III: Codificação das amostras	20
Tabela IV: Resultado das contagens de coliformes totais nas amostras dos mercados A, B e C, expressos em log [UFC/100mL]	23
Tabela V: Resultado das contagens de coliformes termotolerantes nas amostras dos mercados A, B e C, expressos em log [UFC/100mL]	24

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico I: Presença e ausência de coliformes totais, termotolerantes e <i>E.Coli</i> nas amostras do mercado A, B e C.....	23
--	----

ANEXOS

Anexo I: Tabela de Limites máximos de sulfitos.....	36
Anexo II: Materiais, meios de Cultura, reagentes e equipamentos usados na pesquisa.....	36
Anexo III: Materiais usados.....	37
Anexo IV: Fragmentação do gelo com recurso a martelo e faca	38
Anexo V: Resultado das contagens de coliformes totais e termotolerantes nas amostras dos mercados A, B e C.....	38
Anexo VI: Resultado da confirmação bioquímica de <i>E. coli</i> nas amostras dos mercados A, B e C .	38

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	1
1.2. Problema de estudo	2
1.2 Justificativa	3
PARTE I – RELATÓRIO DO ESTÁGIO:	4
1. Objectivos.....	5
1.1 Objectivo geral.....	5
1.2 Objectivos específicos:	5
2. DESCRIÇÃO E AVALIAÇÃO DAS ACTIVIDADES DESENVOLVIDAS	6
2.1 Descrição das actividades.....	6
2.2 Recepção, codificação e preparação das amostras	6
2.3 Análises físico-sensoriais, químicas e microbiológicas do pescado	8
2.3.1 Análises físico-sensoriais.....	8
2.3.2 Análises químicas das amostras.....	9
2.4 Recomendações.....	11
Parte II. ESTUDO DE CASO:	12
1. OBJECTIVOS.....	13
1.1 Objectivo geral.....	13
1.2 Objectivos específicos	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1 Conservação do pescado.....	14
2.2 Importância da qualidade da água no gelo	15
2.3 Contaminação microbiológica no gelo	16
2.4 Parâmetros de qualidade microbiológica do gelo	16
2.5 Coliformes	17
2.5.1 Tipos de coliformes	17
2.6 Impacto da contaminação microbiológica na saúde pública	17
2.7 Medidas de controlo e prevenção	18
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.1 Área de estudo.....	18
3.2 Colecta de amostras	20
3.3 Análises laboratoriais	20
3.3.1 Identificação e quantificação de coliformes totais, termotolerantes e <i>E. Coli</i>	20
3.3.2 Confirmação de coliformes totais, termotolerantes e <i>E. coli</i>	21
3.4 Expressão dos resultados.....	22
3.5 Análise estatística dos resultados.....	22
4. RESULTADOS	23
4.1 Presença de coliformes totais, termotolerantes e <i>E. coli</i>	23
4.2 Contagem de coliformes totais	23
5. DISCUSSÃO	25

6.	CONCLUSÃO	28
7.	RECOMENDAÇÕES	29
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
9.	ANEXOS	36

RESUMO

A conservação adequada do pescado é fundamental para garantir sua qualidade e segurança alimentar. Neste contexto, o gelo utilizado durante o armazenamento desempenha um papel crucial na manutenção da temperatura ideal, evitando a deterioração precoce do produto. No entanto, sua qualidade microbiológica pode ser comprometida por contaminantes presentes na água utilizada na produção do gelo. A pesquisa centrou-se em avaliar a qualidade microbiológica do gelo usado na conservação do pescado em três mercados da cidade de Maputo. Foram colectadas 09 amostras em 3 mercados referenciados por (A, B e C) e as amostras foram analisadas no Laboratório de Inspecção do Pescado de Maputo (LIP-Maputo). Identificou-se e quantificou-se, os coliformes (totais, termotolerantes e *Escherichia coli*), onde usou-se a técnica de membrana filtrante. Foram confirmados, 5/9 (56%) de coliformes totais, 4/9 (44%) coliformes termotolerantes e 1/9 (11%) para *Escherichia coli*. As amostras do mercado A apresentaram maior contaminação para o grupo coliformes totais e termotolerantes em $2,5 \pm 0,36 \log [\text{UFC}/100\text{mL}]$ e $1,97 \pm 0,37 \log [\text{UFC}/100\text{mL}]$, sugerindo falhas no tratamento da água e possível exposição do gelo a ambientes insalubres. Já o Mercado B revelou a presença de *E. coli* onde a contagem total foi de $0,85 \log [\text{UFC}/100\text{mL}]$, indicando práticas de higienização ineficientes, que podem levar à contaminação cruzada e aumento dos riscos para os consumidores. A pesquisa reforça a importância de boas práticas de higiene na manipulação do gelo, do uso de água tratada na sua produção, além da necessidade de monitoramento contínuo por parte das autoridades sanitárias. Medidas como treinamento dos manipuladores, melhoria nos protocolos de desinfecção e fiscalização rigorosa dos mercados são essenciais para reduzir os riscos microbiológicos e garantir que o pescado comercializado seja seguro para o consumo.

Palavras-chave: qualidade microbiológica, coliformes totais, coliformes fecais, *E. coli*, gelo.

1. INTRODUÇÃO

A inspecção e a vigilância sanitária desempenham um papel fundamental na segurança dos alimentos, especialmente no que se refere ao pescado, um produto altamente perecível. Estas ações são complementadas por análises laboratoriais, que visam certificar a qualidade e segurança do pescado destinado ao consumo humano (Germano & Germano, 2008).

O Laboratório de Inspecção do Pescado de Maputo (LIP-Maputo), é uma entidade pública em Moçambique, subordinada do Instituto Nacional de Inspecção do Pescado (INIP) que tem a função de inspecção e certificação. Este Laboratório foi inaugurado em 2002, o LIP-Maputo destaca-se como um suporte do INIP no controle higiénico-sanitário e no processo de certificação do pescado em Moçambique, destinado à exportação e consumo interno. Com o crescimento das exigências internacionais, especialmente do mercado europeu, o LIP-Maputo passou por uma expansão para atender às normas sanitárias mais rigorosas, consolidando-se como uma referência no país (José, 2012).

Esse laboratório foi o primeiro de uma instituição pública de Moçambique a obter a acreditação para análises laboratoriais de alimentos, sendo acreditado pelo Instituto Português de Acreditação (IPAC), em conformidade com a norma ISSO/IEC 17025: 2005 (José, 2012). Composto por três secções (análises físico-sensoriais, análises químicas e análises microbiológicas), o LIP-Maputo é responsável por reduzir o risco de comercialização de produtos contaminados tanto no mercado interno quanto no internacional (Pinto, 2012).

O pescado é amplamente valorizado por seu alto valor proteico, baixo teor de gordura e riqueza em nutrientes essenciais, como ácidos graxos ômega-3, sendo uma das principais fontes de proteína animal em países tropicais (Martins, *et al.*, 2023). No entanto, devido à sua composição, o pescado fresco é susceptível à rápida deterioração, o que torna a conservação adequada essencial para garantir sua segurança e qualidade. A utilização de gelo é uma das principais formas de conservação do pescado fresco, uma vez que o gelo reduz a temperatura e inibe o crescimento de microrganismos. Contudo, para que essa estratégia seja eficaz, o gelo utilizado deve ser de excelente qualidade microbiológica, fabricado com água potável e armazenado em condições sanitárias adequadas, de forma a evitar a contaminação (Giampietro & Lago, 2009).

Estudos recentes destacam que o gelo pode ser um importante veículo de contaminação microbiana se não for fabricado e manuseado correctamente, impactando directamente a qualidade do pescado e colocando em risco a saúde dos consumidores (FAO, 2022; Lopes *et al.*, 2012). Assim, a avaliação da qualidade microbiológica do gelo utilizado para conservação de pescado é essencial para garantir a segurança dos alimentos ao longo de toda a cadeia de produção e distribuição, desde a captura até o consumidor final. Em

mercados como os de Maputo, onde o pescado fresco é amplamente consumido, a qualidade do gelo pode influenciar directamente a saúde da população.

Durante o estágio realizado no LIP-Maputo, foi possível aprofundar os conhecimentos sobre as metodologias de análise do pescado, com foco na qualidade e segurança. A avaliação microbiológica do gelo utilizado na conservação do pescado fresco nos mercados da cidade de Maputo constitui um tema de grande relevância, dada a necessidade de assegurar condições adequadas de higiene e qualidade microbiológica durante a cadeia de comercialização. Garantir que o gelo não apresente níveis de contaminação que possam representar risco para a segurança alimentar é fundamental para prevenir a presença de microrganismos patogénicos no pescado. O trabalho desenvolvido visa, portanto, contribuir para o aprimoramento das práticas de conservação e do controlo sanitário, promovendo a qualidade e a segurança do pescado disponibilizado ao consumidor.

1.2. Problema de estudo

O gelo utilizado na conservação do pescado desempenha um papel crucial na manutenção da sua qualidade e segurança. No entanto, quando o gelo é produzido a partir de água contaminada ou manuseado inadequadamente, pode actuar como veículo para microrganismos deteriorantes e patogénicos, comprometendo a segurança do pescado. Essa contaminação pode levar à proliferação de bactérias que não só aceleram a deterioração do produto, como também aumentam o risco de toxinfecções alimentares nos consumidores (González *et al.*, 2021).

O pescado fresco é altamente susceptível à contaminação microbiana devido ao seu alto teor de água e pH próximo da neutralidade, que favorecem o crescimento de microrganismos. O uso de gelo contaminado durante o transporte, armazenamento e comercialização pode agravar esse problema, transformando-o em um factor crítico de risco sanitário. Estudos mostram que a qualidade microbiológica do gelo utilizado em mercados de pescado é frequentemente negligenciada, o que pode resultar em falhas na segurança alimentar e consequentes riscos à saúde pública (Balcázar *et al.*, 2020).

Diante desse cenário, o presente estudo tem como objectivo avaliar a qualidade microbiológica do gelo utilizado na conservação do pescado fresco em três mercados da cidade de Maputo. A análise pretende verificar a presença de microrganismos patogénicos e deteriorantes no gelo, bem como identificar os possíveis impactos dessas contaminações na segurança alimentar do pescado comercializado. A necessidade de se garantir a segurança microbiológica do gelo torna-se imperativa para assegurar a qualidade e a integridade do pescado, preservando a saúde dos consumidores e reduzindo os riscos de surtos de toxinfecções alimentares (FAO, 2022).

1.2 Justificativa

As doenças de origem alimentar são consideradas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) um dos maiores problemas de saúde pública global. Estima-se que milhões de pessoas em todo o mundo sejam afectadas anualmente por doenças transmitidas por alimentos contaminados, muitas vezes resultando em complicações graves e até óbitos (WHO, 2023). No contexto da conservação de alimentos, o pescado fresco, devido à sua perecibilidade e alto teor de umidade, é particularmente susceptível à contaminação microbiana, sendo o gelo um recurso amplamente utilizado para prolongar sua vida útil (Barros *et al.*, 2023).

A garantia da qualidade microbiológica do gelo utilizado na conservação do pescado é essencial para a segurança alimentar. O gelo deve ser produzido, manuseado e armazenado em conformidade com as Boas Práticas de Higiene (BPH) para prevenir contaminações que possam ser transmitidas ao pescado. A ausência dessas práticas na produção, transporte e manuseio do gelo pode resultar em sérios riscos à saúde pública, uma vez que o gelo pode servir como veículo para a transmissão de microrganismos patogénicos, microrganismos indicadores de contaminação fecal e praticas higiénicas inadequadas como *E.coli*, coliformes totais e termotolerantes, e outros agentes deteriorantes (Oliveira *et al.*, 2022).

PARTE I – RELATÓRIO DO ESTÁGIO:
LABORATÓRIO DE INSPECÇÃO DO PESCADO DE MAPUTO

1. Objectivos

1.1 Objectivo geral

Adquirir conhecimentos práticos sobre técnicas de análises aplicadas à inspecção de pescado.

1.2 Objectivos específicos:

- Compreender o processo de funcionamento e os procedimentos de recolha de amostras de pescado no laboratório de inspecção de pescado;
- Participar no processo de análises físico-sensoriais, químicas, e microbiológicas bem como na interpretação dos resultados com base nos padrões estabelecidos;
- Contribuir para a organização e registo dos dados laboratoriais obtidos durante o período de estágio.

2. DESCRIÇÃO E AVALIAÇÃO DAS ACTIVIDADES DESENVOLVIDAS

2.1 Descrição das actividades

O estágio pré-profissional foi realizado durante cinco (5) meses (Novembro de 2022 a Março de 2023), no Laboratório de Inspeção do Pescado de Maputo (LIP-Maputo), localizado no Distrito Municipal Kampfumu, Cidade de Maputo, Rua Tavares de Almeida.

As actividades desenvolvidas no estágio formativo e pré-profissional, tiveram como foco a avaliação da qualidade das amostras de pescado provenientes de diversas indústrias nacionais que solicitaram análises no âmbito do controlo de qualidade dos seus produtos.

A partir de um plano de estágio detalhado, que incluiu a descrição das actividades e prazos para execução, a estagiária foi inserida nas diferentes secções do laboratório, tendo recebido treinamento e participado das actividades de rotina, sob supervisão de técnicos dos técnicos das diferentes secções do LIP. As actividades desenvolvidas seguiram a seguinte ordem:

2.2 Recepção, codificação e preparação das amostras

A recepção iniciava com a apresentação das amostras, seguido do registo dos dados sobre o tipo de pescado, proveniência, tipo de análises solicitadas, verificação da temperatura e posterior pesagem. Após pesagem, as amostras foram preparadas e repartidas entre as diferentes secções do laboratório (físico-sensorial, química e ou microbiológica), em função das análises solicitadas. As principais amostras recebidas naquele período foram peixes de várias espécies, caranguejo ou porções de caranguejo, miolo de caranguejo, camarão, lagosta, água e gelo (Tabela I).

Tabela I: Quantidade de amostras recebidas durante o período de estágio

Tipo de amostra	Quantidade de amostra				
	Novembro	Dezembro	Janeiro	Fevereiro	Março
Peixe	10	31	41	44	94
Caranguejo/porção de caranguejo	-	5	6	5	-
Camarão	-	-	-	40	23
Miolo de caranguejo	-	-	1	-	5
Miolo de camarão	-	1	-	-	-
Lagosta	-	2	-	17	3
Água	-	3	5	9	9
Gelo	-	-	1	3	6
Subtotal	10	42	54	118	140
Total	364				

Observou-se que os procedimentos adoptados para esta actividade, garantem que todas as etapas sejam realizadas de forma segura e com controlo rigoroso das amostras desde o início. As amostras são recebidas e, em seguida, codificadas e registradas no sistema de controlo, o que inclui a anotação em um livro de entrada e nas de análises de acordo com a solicitação do cliente para rastreamento. Este processo é fundamental para assegurar a rastreabilidade e evitar falhas que possam comprometer a integridade das amostras e, consequentemente, a confiabilidade dos resultados (Ozen *et al.*, 2022; Bumbudsanpharoke e Ko, 2021).

O técnico responsável da secção realiza a verificação das condições das amostras, durante a recepção incluindo sua validade e peso, em caso de irregularidade prontamente é comunicado aos superiores e ao cliente. Estudos destacam que este controle inicial da qualidade das amostras é essencial, pois previne a ocorrência de erros em etapas posteriores e garante que a amostra analisada esteja dentro dos parâmetros desejados (Hernández-Ortiz *et al.*, 2023). Este controle inicial contribui de maneira decisiva para a rastreabilidade e segurança das análises microbiológicas, conforme recomendado em normas internacionais de controlo de qualidade em laboratórios de análises (NP IEC 17025:2018).

O armazenamento adequado das amostras é uma etapa crítica no laboratório, que é rigorosamente implementada seguindo os procedimentos. Durante o estágio, constatou-se que o Laboratório de Inspeção de Pescado de Maputo segue procedimentos internos de gestão de amostras, que garantem a rastreabilidade, a integridade e a conservação adequada do material recolhido. Após a recepção, as amostras são devidamente registadas, codificadas e acondicionadas conforme as normas internas, respeitando as condições de temperatura, tempo máximo de armazenamento e requisitos específicos de cada ensaio. Esses procedimentos asseguram que nenhum material seja utilizado fora do prazo recomendado e que os reagentes e consumíveis sejam controlados de acordo com os critérios de validade e necessidade de uso, mantendo a fiabilidade das análises realizadas.

Além disso, observou-se que o laboratório dispõe de sistemas de refrigeração devidamente monitorados para assegurar que as amostras sejam mantidas em condições adequadas de conservação, evitando a degradação e qualquer possibilidade de contaminação cruzada. Esse processo é monitorado e registrado diariamente, e todas as irregularidades de temperatura ou funcionamento dos equipamentos são reportadas aos responsáveis das secções ou ao gestor de qualidade.

2.3 Análises físico-sensoriais, químicas e microbiológicas do pescado

Após a recepção das amostras, estas foram submetidas a análises físico-sensoriais, químicas e microbiológicas conforme as necessidades de cada variedade do produto, obedecendo as normas técnicas e critérios dos exames e testes no âmbito de controlos aplicáveis aos produtos alimentares de origem aquática (INIP,2011). Na Tabela II estão ilustradas as quantidades de amostras recebidas durante o período de estágio e os tipos de análises às quais as amostras foram submetidas em cada sector.

Tabela II: Número de amostras em função do tipo de análise

Tipo de amostra	Quantidade de amostra em função do tipo de análise (Fs- Físico-sensorial; Q-Química; M- Microbiológica)														
	Novembro			Dezembro			Janeiro			Fevereiro			Março		
	FS	Q	M	Fs	Q	M	Fs	Q	M	Fs	Q	M	Fs	Q	M
Peixe	10	-	-	31	-	-	24	17	-	42	5	-	92	-	3
caranguejo	-	-	-	-	-	-	-	1	5	-	-	-	-	-	-
Camarão	-	-	-	-	-	-	-	-	-	45	45	45	23	23	20
Miolo de caranguejo	-	-	-	-	-	-	-	5	-	-	-	-	-	-	5
Miolo de camarão	-		-	-	1	-		-	-	-	2	-	-	-	-
Lagosta	-	-	-	2	2	-	-	-	-	17	17	8	3	3	-
Água	-	-	-	-	-	3	-	-	5	-	-	9	-	-	9
Gelo	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	3	-	-	6

2.3.1 Análises físico-sensoriais

Na Secção de análises físico-sensoriais, foram realizadas avaliações organolépticas para verificar aspectos como embalagem, rotulagem, peso líquido e possíveis defeitos físicos do pescado. Este processo envolveu a inspecção visual e sensorial de características como cor, odor e textura, seguindo os parâmetros estabelecidos para avaliação sensorial em produtos pesqueiros. As análises foram conduzidas pelo técnico responsável, utilizando uma ficha de análise sensorial padronizada para registar as observações de forma sistemática, o que facilita a rastreabilidade e a comparabilidade dos resultados (Silva *et al.*, 2023).

Apesar da metodologia utilizada nesta secção ser eficiente, foi observado que algumas análises sensoriais foram realizadas antes dos resultados das análises microbiológicas estarem disponíveis. Embora esta prática esteja prevista em determinados fluxos operacionais, ela pode exigir atenção adicional, uma vez que a confirmação laboratorial das

análises microbiológicas ainda não estava concluída no momento do contacto directo com o pescado. Assim, o registo desta observação não indica falha nos procedimentos, mas destaca a importância contínua do reforço das boas práticas de biossegurança, alinhadas às exigências da acreditação vigente (Zarei *et al.*, 2022).

A análise sensorial utiliza os órgãos dos sentidos humano para avaliar as características de qualidade do pescado. Esta análise é fundamental para a aceitação comercial e percepção de frescor e qualidade do produto. No entanto, a mesma deve ser conduzida num ambiente seguro, com a adopção de práticas que minimizem os riscos ocupacionais para os técnicos. De acordo com a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), as práticas de segurança durante as inspecções sensoriais são essenciais para evitar exposição a agentes microbiológicos que possam comprometer a saúde dos profissionais (FAO, 2022).

2.3.2 Análises químicas das amostras

Nesta secção, foi realizado o acompanhamento de métodos analíticos voltados para a avaliação dos parâmetros de qualidade química das amostras, que incluíram a determinação das bases voláteis totais (BVT), sulfitos (SO_2) e pH. Estes parâmetros são essenciais para a verificação da conformidade dos produtos com os padrões de qualidade definidos pela legislação moçambicana e internacionais, garantido a segurança e qualidade do pescado comercializado.

A análise de BVT N é um indicador amplamente utilizado para avaliar o grau de frescor do pescado. Este método mede compostos nitrogenados voláteis, como a trimetilamina e a dimetilamina, que são subprodutos do metabolismo bacteriano e indicam deterioração. As análises de BVT são frequentemente requisitadas pela secção de análise sensorial do laboratório quando surgem dúvidas sobre a frescura das amostras de pescado, visto que o odor característico de amónia é frequentemente associado a níveis elevados de compostos voláteis, indicando degradação do produto (Cardoso *et al.*, 2022; Kim *et al.*, 2021).

Outro parâmetro avaliado foi o teor de sulfitos (SO_2), um conservante amplamente utilizado na indústria alimentícia para retardar o crescimento de microrganismos e preservar a cor e a textura do pescado. No entanto, seu uso é regulado, pois concentrações elevadas de sulfitos podem representar riscos à saúde, especialmente para consumidores com sensibilidade ao composto (FDA, 2021). No laboratório, os níveis de SO_2 foram medidos para garantir que estivessem dentro dos limites permitidos pela legislação, assegurando que o pescado mantivesse características sensoriais aceitáveis e fosse seguro para o consumo. Segundo o artigo 1 do aviso N 02/INIP/2011 do Instituto Nacional de Inspeção de pescado, o limite máximo aceitável de sulfitos no pescado é de 150mg/kg (ppm).

Das amostras analisadas, todas apresentaram-se dentro do parâmetro excepto 2 amostras de miolo de camarão analisadas no dia 15 de Fevereiro de 2023, que apresentaram níveis altos de sulfito, com valores correspondentes a $179,8 \pm 4,1$ e $177,3 \pm 4,1$ respectivamente.

A determinação do pH é igualmente relevante, uma vez que mudanças no pH do pescado são indicadores de processos de degradação do mesmo. Valores de pH acima do recomendado (sendo que o limite aceitável é de 6,5) podem indicar aumento da actividade bacteriana e redução da qualidade do pescado. Esse controle permite que o laboratório avalie se o produto está em condições adequadas (isto é, aceitável) para o consumo, garantindo que não esteja comprometido por alterações microbiológicas ou químicas (Pereira *et al.*, 2023).

2.3.3 Análises microbiológicas

O principal objectivo das análises microbiológicas no LIP de Maputo é avaliar o grau de contaminação microbiológica do pescado, tanto na origem quanto ao longo do processo de manuseamento, o processamento e do profuto final. Isso permite determinar o nível de higiene dos estabelecimentos de processamento e sua contribuição para a contaminação final do pescado. Essas análises são fundamentais para garantir a segurança alimentar e o cumprimento das regulamentações sanitárias aplicáveis.

As principais análises realizadas nesta secção incluem a quantificação de microrganismos totais viáveis, a pesquisa de coliformes totais, fecais e *Escherichia coli*, bem como a detecção de microrganismos patogénicos específicos como *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Vibrio cholerae* e *Vibrio parahaemolyticus*. A presença desses microrganismos no pescado pode representar um risco significativo à saúde pública, uma vez que estes podem causar intoxicações alimentares graves se ingeridos com o pescado (Forsythe, 2010).

No decorrer das análises realizadas, todas as amostras apresentaram-se dentro dos limites estabelecidos para os microrganismos pesquisados, atendendo a conformidade da legislação.

Durante o período de estágio, além do controle de temperatura dos equipamentos de microbiologia, destacaram-se outras actividades essenciais para garantir a qualidade das análises. Entre elas, a preparação de meios de cultura, controle dos meios já preparados e a esterilização de materiais. A preparação dos meios de cultura envolveu a mistura e esterilização de substâncias adequadas para o crescimento de microrganismos, um procedimento essencial para garantir a precisão e confiabilidade das análises. De acordo com Vieira e Silva (2014), a preparação adequada dos meios de cultura é um passo crítico para detecção de microrganismos específicos.

Outro aspecto fundamental foi a lavagem, secagem e esterilização do material sujo utilizado nas análises. A esterilização correcta do material foi realizada em autoclaves, seguindo normas estabelecidas para eliminação de possíveis contaminantes. Como salientado por Russell (2003), a esterilização por calor húmido em autoclaves é uma das técnicas mais eficientes para garantir a destruição de microrganismos em ambientes laboratoriais.

A esterilização e a preparação de meios, embora rotineiras, são de extrema importância para assegurar que os resultados das análises microbiológicas sejam precisos e não comprometidos por contaminação cruzada ou erros procedimentais. A importância da limpeza rigorosa e esterilização do material é igualmente enfatizada por Madigan *et al.* (2015), que descrevem a prática como um dos pilares de qualquer laboratório microbiológico eficiente

Durante o estágio, foi proporcionada uma capacitação pela empresa Labotec (*Laboratory and Medical Technologies*), que se dedica ao fornecimento de equipamentos e reagentes para laboratórios que operam em Moçambique e África Austral. A capacitação focou no uso de equipamentos modernos para a análise de água, fortalecendo as habilidades técnicas e o conhecimento da estagiária sobre as tecnologias mais recentes utilizadas em laboratórios.

2.4 Recomendações

Durante o estágio, identificou-se a necessidade de melhorias operacionais, incluindo o reforço da capacitação contínua dos técnicos para lidar com tecnologias emergentes.

Parte II. ESTUDO DE CASO:
AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO GELO USADO
NA CONSERVAÇÃO DO PESCADO FRESCO EM TRÊS MERCADOS
DA CIDADE DE MAPUTO

1. OBJECTIVOS

1.1 Objectivo geral

Avaliar a qualidade microbiológica do gelo usado na conservação do pescado fresco em três mercados da Cidade de Maputo.

1.2 Objectivos específicos

- Identificar coliformes totais, termotolerantes e *Echerichia coli*;
- Quantificar os microrganismos acima citados no gelo;
- Comparar os resultados das contagens microbianas entre os três mercados da Cidade de Maputo.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Conservação do pescado

O pescado é um alimento altamente perecível, com uma taxa de deterioração acentuada devido à sua composição rica em proteínas, ácidos gordos insaturados e à sua alta actividade de água, o que o torna vulnerável à contaminação microbiana e à oxidação lipídica (Sivertsvik *et al.*, 2022). Para evitar perdas económicas e garantir a segurança alimentar, a conservação do pescado deve ser realizada de maneira eficiente e rápida após a captura. Entre as técnicas mais eficazes está o uso de gelo para refrigeração, que mantém o pescado em temperaturas próximas a 0°C, retardando o crescimento de microrganismos e processos de deterioração bioquímica (Koutsoumanis & Angelidis, 2021).

A utilização de gelo na conservação é amplamente praticada em países tropicais, como Moçambique, onde as condições climáticas aceleram o derretimento do gelo e, consequentemente, a deterioração dos produtos pesqueiros (Mejlholm *et al.*, 2019). No entanto, para que o processo de refrigeração seja eficiente, é fundamental que a quantidade de gelo seja adequada e distribuída de forma uniforme, geralmente na proporção de três partes de gelo para uma parte de pescado (Alasalvar *et al.*, 2021).

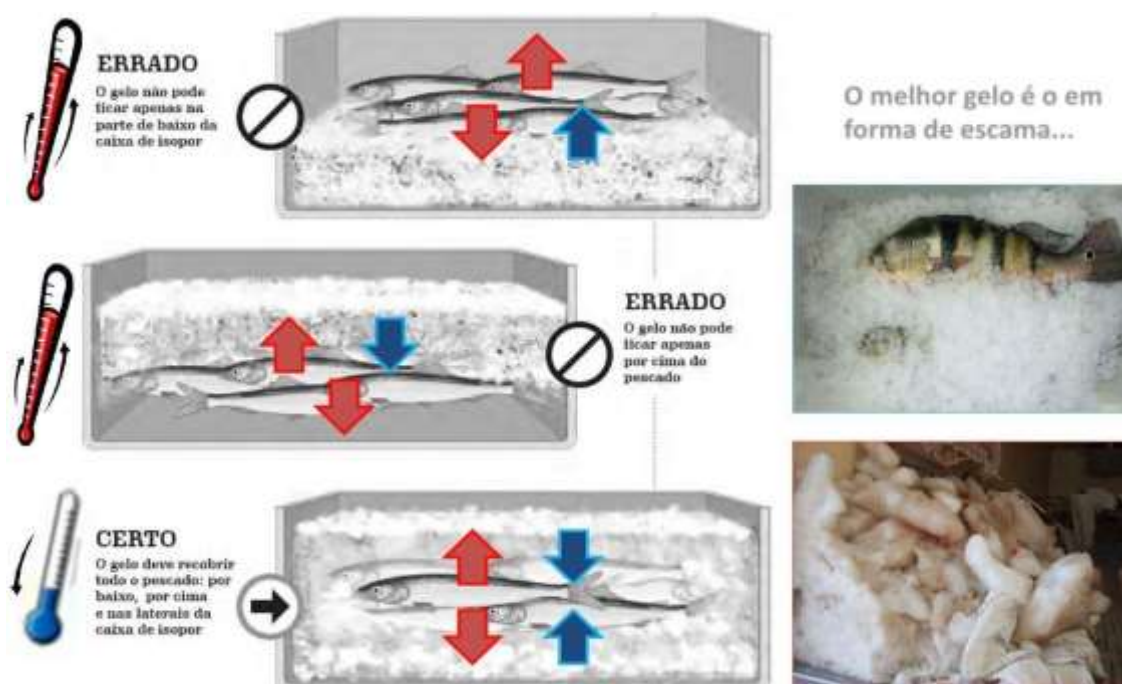


Figura I: Ilustração da maneira errada e correcta de colocar gelo no pescado. **Fonte:** (Lima, 2007).

Existem dois principais tipos de gelo utilizados nos mercados para a conservação do pescado:

a) Gelo industrial

É fabricado em máquinas específicas, geralmente em forma de escamas ou cubos, e quando produzido com água tratada apresenta menor risco de contaminação microbiológica. Contudo, falhas no transporte, armazenamento e higiene dos manipuladores podem comprometer sua qualidade (Eze & Ihuoma, 2021).

b) Gelo caseiro

É produzido artesanalmente, muitas vezes em recipientes reaproveitados, como garrafas plásticas, e armazenado em condições precárias. Estudos demonstram que esse tipo de gelo está mais associado à contaminação por coliformes, devido ao uso de água não tratada e ao contato com superfícies insalubres durante a quebra e manipulação (Mazivila, 2017).

2.2 Importância da qualidade da água no gelo

A qualidade da água utilizada na produção do gelo é um factor determinante na conservação dos alimentos, especialmente no pescado fresco. A água pode ser um veículo para a transmissão de microrganismos patogénicos, tais como *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., e outros microrganismos fecais (Cruz *et al.*, 2020). De acordo com as directrizes da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2017), a água utilizada para a produção de gelo em contacto com alimentos deve atender aos mesmos padrões de qualidade microbiológica da água potável, ou seja, não deve conter coliformes totais ou termotolerantes, como *E. coli*. Em países onde não existem normas específicas para o gelo, aplicam-se os mesmos padrões de qualidade estabelecidos para a água destinada ao consumo humano.

Em Moçambique, o Diploma Ministerial n.º 180/2004, de 15 de setembro (Ministério da Saúde, 2004), define os parâmetros de aceitação para a água potável, abrangendo critérios microbiológicos, físicos, químicos e organoléticos. Esses mesmos parâmetros servem também como base de referência na avaliação da qualidade do gelo.

De acordo com esse diploma, o limite máximo admissível para coliformes totais e coliformes termotolerantes é de ausência em 100 mL de amostra, o que significa que qualquer presença detectável indica contaminação e não conformidade com os padrões estabelecidos para a água tratada destinada ao consumo humano fornecida por sistemas de abastecimento público, redes de distribuição, camiões ou navios cisternas, ou utilizada numa empresa da indústria. Essa exigência reforça a necessidade de boas práticas de higiene e de manutenção adequada dos equipamentos de produção de gelo, de forma a prevenir a contaminação microbiológica e garantir a segurança do pescado durante a conservação (Ministério da Saúde, 2004).

O Instituto Nacional de Inspeção do Pescado através do Aviso 02/INIP/2011 estabelece que o

gelo destinado à conservação de pescado deve ser produzido a partir de água potável, atendendo a parâmetros microbiológicos que exigem a ausência de microrganismos patogênicos em volumes de até 1000 mL. Especificamente para *Escherichia coli*, o limite é de 0 UFC/100 mL de amostra, assegurando que a água utilizada não apresente contaminação fecal (INIP, 2011).

2.3 Contaminação microbiológica no gelo

Embora o gelo seja eficaz em retardar o crescimento bacteriano, devido às baixas temperaturas, ele não elimina os microrganismos já presentes na água usada para sua fabricação. Quando o gelo derrete, as bactérias podem se reactivar e proliferar, contaminando o pescado (Baird-Parker *et al.*, 2020). Entre os principais microrganismos indicadores encontrados no gelo contaminado, estão os coliformes totais (indicadores de contaminação higiênico sanitária), coliformes termotolerantes, (Indicadores de contaminação fecal), *E. coli* e *Salmonella* spp (Periago & Conesa, 2020).

A contaminação microbiológica pode ocorrer em diferentes pontos da cadeia produtiva do gelo, desde a fonte de água até o transporte e armazenamento (Kram *et al.*, 2018). Em mercados públicos, onde o manuseio do gelo é frequente e o ambiente favorece a proliferação de microrganismos, as práticas de higiene devem ser rigorosamente controladas para garantir a qualidade do gelo e do pescado (Eze & Ihuoma, 2021).

A infraestrutura de produção do gelo, como as máquinas e os sistemas de armazenamento, deve ser periodicamente desinfetada para evitar contaminação cruzada durante o processo de fabricação e transporte (Eze & Ihuoma, 2021).

2.4 Parâmetros de qualidade microbiológica do gelo

Os parâmetros microbiológicos usados para avaliar a qualidade do gelo incluem a contagem de coliformes totais e termotolerantes, *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., *Salmonella* spp., e *Staphylococcus aureus* (EFSA, 2019). Estes microrganismos são frequentemente utilizados como indicadores de contaminação fecal e práticas higiênicas inadequadas. A presença de *E. coli* no gelo ou no pescado indica uma contaminação fecal recente e representa um risco significativo para a saúde pública (Suo *et al.*, 2021).

Além dos indicadores de contaminação fecal, a contagem de bactérias heterotróficas mesófilas e psicotróficas também é um critério importante para avaliar a segurança e a qualidade microbiológica do gelo (Mejlholm *et al.*, 2019). As bactérias psicotróficas são especialmente preocupantes, pois conseguem se proliferar a baixas temperaturas, podendo reduzir a vida útil do pescado e comprometer sua segurança para consumo (Mohan *et al.*, 2020).

2.5 Coliformes

Coliformes são um grupo de bactérias que desempenham um papel importante na microbiologia da água e dos alimentos, sendo frequentemente usados como indicadores da qualidade microbiológica. Elas pertencem à família *Enterobacteriaceae* e podem ser encontradas no tracto intestinal de seres humanos e animais de sangue quente. A presença de coliformes, especialmente os termotolerantes, em água potável ou alimentos pode indicar contaminação fecal e a possível presença de patógenos mais perigosos, como *E. coli*, responsável por diversas doenças infecciosas.

2.5.1 Tipos de coliformes

Os coliformes podem ser classificados em três grupos principais:

- **Coliformes totais:** Incluem várias espécies de bactérias que podem fermentar a lactose a 35-37°C. Embora sua presença não indique directamente a contaminação fecal, sua detecção sugere condições inadequadas de higiene e tratamento da água ou alimentos (Hazen *et al.*, 2020).
- **Coliformes fecais ou termotolerantes:** São capazes de fermentar a lactose a 44- 45°C, temperatura que simula o ambiente do tracto intestinal. A presença desses coliformes é um indicador mais específico de contaminação fecal, indicando risco de transmissão de doenças causadas por microrganismos patogénicos (Gilbert *et al.*, 2021).

O coliforme fecal mais usado como indicador de contaminação fecal é a bactéria *E. coli*. Esta bactéria é especialmente relevante, pois algumas estirpes, tais, como a *E. coli* O157, são patogénicas e causam doenças graves, como intoxicação alimentar e infecções intestinais (Prussin *et al.*, 2020).

2.6 Impacto da contaminação microbiológica na saúde pública

A contaminação do gelo com microrganismos patogénicos pode levar à transmissão de doenças por alimentos, especialmente em ambientes de alta rotatividade, como mercados públicos, onde o pescado é constantemente manuseado e comercializado (Cruz *et al.*, 2020). Patógenos como *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. são responsáveis por surtos de gastroenterites e outras doenças alimentares que podem causar sérios problemas de saúde, especialmente em populações vulneráveis (WHO, 2017).

Estudos recentes têm demonstrado que, em muitos mercados de países em desenvolvimento, o gelo utilizado para a conservação de alimentos frequentemente não atende aos padrões microbiológicos recomendados, aumentando o risco de contaminação e doenças (Eze & Ihuoma, 2021). Isso ressalta a importância de práticas higiénicas rigorosas em todas as etapas de produção e uso do gelo para garantir a segurança alimentar.

2.7 Medidas de controlo e prevenção

A fim de reduzir o risco de contaminação microbiana no gelo utilizado para conservar o pescado, algumas medidas preventivas devem ser adoptadas. Primeiramente, é crucial o uso de água potável para a produção de gelo e a manutenção adequada dos equipamentos de fabricação e transporte (Koutsoumanis & Angelidis, 2021). A higienização adequada das máquinas de gelo e a capacitação dos operadores em boas práticas de higiene são fundamentais para evitar a contaminação cruzada (Baird-Parker *et al.*, 2020).

Além disso, o monitoramento constante da qualidade microbiológica do gelo deve ser implementado, com análises periódicas que contemplem a contagem de coliformes, *E. coli*, e outros indicadores microbiológicos (Periago & Conesa, 2020). O uso de tecnologias modernas, como o tratamento da água com cloro, pode ser uma solução eficaz para garantir a produção de gelo seguro (Mejlholm *et al.*, 2019).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de estudo

O presente estudo foi conduzido em 3 mercados, mercado de Xiquelene, mercado do peixe e mercado do Porto referenciados por A, B e C respectivamente, todos localizados na Cidade de Maputo. A Cidade de Maputo é localizada no extremo Sul de Moçambique e ocupa uma área geográfica de aproximadamente 347,8 km² com uma população de 1.101.170 habitantes (INE, 2017). Está administrativamente dividida em 7 distritos municipais, nomeadamente, KaMaxaquene, KaNpfumo, KaMavota, KaMubukwana, KaTembe, KaNyaka e KaLhamanculo. Esta Cidade, faz fronteira com distrito de Marracuene, a Noroeste e Oeste com município da Matola, a Oeste com o distrito de Boane e a Sul com o distrito de Matutuine, todos pertencentes à província de Maputo (Cumbane, 2015).

O mercado Xiquelene localiza-se, no distrito urbano KaMaxaquene, entre os bairros Polana Caniço B e Ferroviário e tem como principal referência a Praça dos Combatentes. Este mercado é tido como um dos maiores mercados informais da cidade de Maputo onde, o nível de investimentos realizados, a diversidade da oferta de produtos e o movimento de pessoas que aí circulam, tem crescido significativamente nos últimos anos.

O mercado do peixe está localizado na zona norte de Maputo (Costa do Sol). Sua posição estratégica facilita o acesso a produtos frescos, especialmente frutos do mar, devido à proximidade com a costa. O mercado está próximo a pontos de referência como o Estádio do Costa do Sol, um dos principais locais esportivos da cidade, e a Praia da Costa do Sol, que atrai turistas e moradores para momentos de lazer. A localização geográfica do mercado pode ser identificada pelas coordenadas latitude -25.89388° Sul e longitude 32.64603° Leste. Sua elevação é de aproximadamente 10 metros acima do nível do mar.

A escolha do local de estudo foi feita por conveniência e a razão para o estudo ter sido feito no mercado Xiquelene, mercado de peixe e mercado do porto reside no facto de que estes mercados são os mais frequentados por apresentarem uma diversidade de pescado e, estudar a qualidade de gelo utilizado na conservação de pescado, pode constituir uma medida de prevenção de ocorrências de doenças de origem alimentar.



Nestes mercados vendem pescado, seco, congelado e fresco. O pescado fresco é comercializado em bacias, onde adicionam o gelo proveniente das casas próximas aos mercados e de câmaras frigoríficas. No mercado A o gelo usado é proveniente de casas próximas e nos mercados B e C de câmaras frigoríficas.

3.2 Colecta de amostras

Para a realização deste procedimento experimental, foram colectadas em cada mercado, 3 amostras de gelo de forma faseada, onde em cada dia colheu-se por conveniência uma amostra totalizando 9 amostras. Estas foram de seguida acondicionadas em frascos estéreis previamente codificadas indicando a data, hora, local de colecta (Tabela III) e posteriormente transportadas numa caixa isotérmica até o Laboratório de Inspeção de Pescado de Maputo (LIP-Maputo), que sita no Distrito municipal Kampfumu, Rua Tavares de Almeida, onde prosseguiu-se com as análises microbiológicas.

Tabela III: Codificação das amostras em função da data e hora de colheita

Gelo	Nº de amostra	Código	Data	Hora
Mercado A	1	095	21/02/2023	09:26
Mercado B	1	094	21/02/2023	10:14
Mercado C	1	093	21/02/2023	11:00
Mercado A	1	197	06/03/2023	08:40
Mercado B	1	199	06/03/2023	09:58
Mercado C	1	198	06/03/2023	10:45
Mercado A	1	300	13/03/2023	08:18
Mercado B	1	301	13/03/2023	09:18
Mercado C	1	302	13/03/2023	10:40
Total	9	-	-	-

3.3 Análises laboratoriais

As análises microbiológicas foram realizadas de acordo com as metodologias descritas no manual de procedimentos laboratoriais da secção de Microbiologia do Laboratório de Inspeção do Pescado (2014). Dentre as quais, coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*.

3.3.1 Identificação e quantificação de coliformes totais, termotolerantes e *E. Coli*

A identificação e quantificação de coliformes totais, fecais e *E.coli* presentes no gelo foi feita com base nas normas descritas pela ISO 9308-1: 1990 e ISO 9308-1: 2000, onde foram filtrados 1,10, e 100mL de amostra num sistema de filtração através da membrana (0,45 µm) e de seguida colocada nas placas de Petri (60x15mm) previamente codificadas, contendo M-Endo Agar Less. As placas foram incubadas a $37,0 \pm 1,0$ °C por 18-24 horas. Após a

incubação, foi feita a contagem das colônias coliformes. As colônias de cor vermelha escura com brilho metálico verde-dourado foram contadas e identificadas como coliformes presumidos, como ilustra a Figura III.

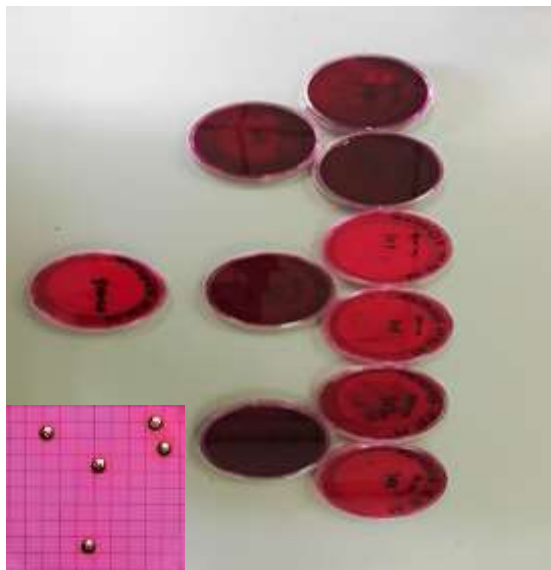


Figura III: Placas com colônias típicas de coliformes.

3.3.2 Confirmação de coliformes totais, termotolerantes e *E. coli*

A inoculação no tubo de ensaio contendo 10mL de *Lactose broth* foi feita em duplicado, onde um grupo de tubos foi incubado a $37,0 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 horas para a confirmação de coliformes totais e outro grupo foi incubado no banho-maria a $44 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 ± 2 horas para a confirmação de coliformes termotolerantes. Os tubos contendo *triptone water* foram incubados no banho-maria a $44 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 ± 2 horas. Após a incubação foi feita a leitura.

A produção de gás em *Lactose broth* a 37°C confirmou a presença de coliformes. A produção de gás em *Lactose* a 44°C confirmou a presença de coliformes termotolerantes). A formação de um anel de cor vermelha na superfície do *triptone water* após a adição do reagente de Kovacs confirmou a presença de presumível *E. coli*.



Figura IV: Confirmação de coliformes totais e termotolerantes, turvação do meio com produção de gás.

3.4 Expressão dos resultados

Os resultados foram expressos, pela seguinte equação:

$$NC = \frac{Ct \cdot Cp}{Cs}$$

Onde:

NC – Número de colónias;

Ct – Colónias totais;

Cp – Colónias positiva;

Cs – Colónias selecionadas;

Nota: O resultado se expressa por 100mL.

3.5 Análise estatística dos resultados

A análise dos dados foi feita com base no programa Microsoft Office Excel (versão 2019), onde foi feita a análise descritiva dos mesmos que incluiu o cálculo das médias e frequências relativas simples das contagens microbianas.

4. RESULTADOS

4.1 Presença de coliformes totais, termotolerantes e *E. coli*

Os dados analisados mostram a presença de coliformes totais, termotolerantes e *E. coli* em 37% das amostras analisadas. Do total de 9 amostras coletadas nos 3 mercados, 5 (56%) apresentaram coliformes totais, 4 (44%) apresentaram coliformes termotolerantes e 1 (11%) apresentou *E. coli* como ilustra o gráfico I.

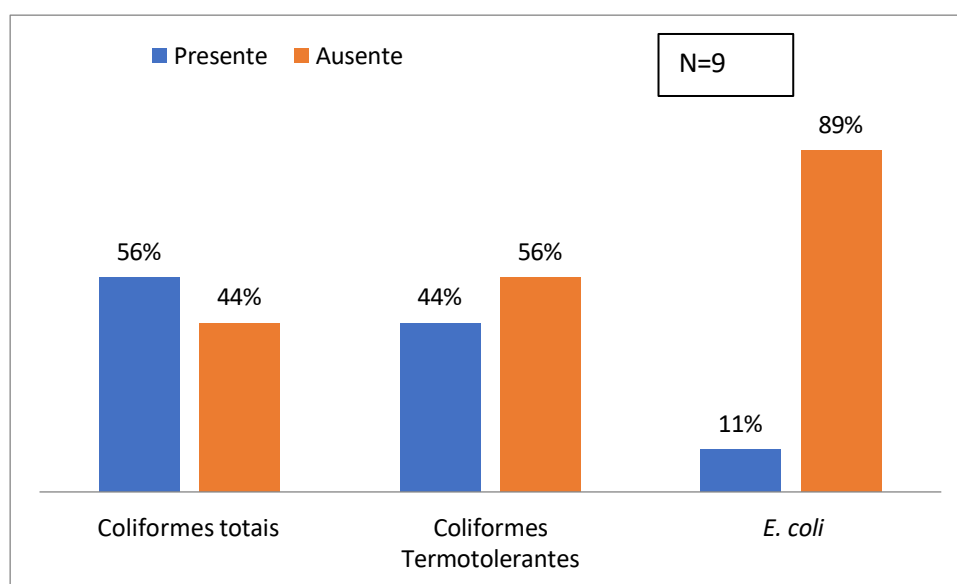


Gráfico I: Presença e ausência de coliformes totais, termotolerantes e *E. coli* nas amostras do mercado A, B e C.

4.2 Contagem de coliformes totais

Verificou-se que das 9 amostras analisadas, 5 (56%) foram consideradas positivas para coliformes totais. O mercado A apresentou maior contaminação por coliformes totais com uma média de $2,5 \pm 0,36$ log [UFC/100mL]. A média de contagem de coliformes totais para o mercado B foi de $1,5 \pm 0,57$ log [UFC/100mL] e o mercado C por sua vez apresentou menor contaminação por coliformes totais, onde apenas uma amostra foi considerada positiva com 1,45 log [UFC/100mL] (Tabela IV).

Tabela IV: Resultado das contagens de coliformes totais nas amostras dos mercados A, B e C, expressos em log [UFC/100mL]

	Nº de amostra	Contagem de coliformes totais log [UFC/100mL]
Mercado A	095	Ausente
	197	2,76
	300	2,25

Mercado B	094	Ausente
	199	1,83
	301	1,17
Mercado C	093	Ausente
	198	Ausente
	302	1,45

Foram identificadas 4 amostras positivas a coliformes termotolerantes, das quais 2 pertencentes ao mercado A, uma ao mercado B e uma ao mercado C. As amostras do mercado A apresentaram maior contaminação por coliformes termotolerantes, com uma média de $1,97 \pm 0,37 \log [\text{UFC}/100\text{mL}]$. O mercado C apresentou menor contaminação (Tabela V).

Tabela V: Resultado das contagens de coliformes termotolerantes nas amostras dos mercados A, B e C, expressos em log [UFC/100mL]

	Nº de amostra	Contagem de coliformes termotolerantes Log [UFC/100mL]
Mercado A	095	Ausente
	197	2,23
	300	1,70
Mercado B	094	Ausente
	199	1,15
	301	Ausente
Mercado C	093	Ausente
	198	Ausente
	302	0,85

Quanto a *E.coli*, após as análises de confirmação bioquímica, esta foi identificada como ausente em todas as amostras colhidas excepto na amostra 199 pertencente ao mercado B, onde a contagem total foi de 0,85 log [UFC/100mL].

5. DISCUSSÃO

A presença de contaminação do gelo utilizado na conservação do pescado por coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* representa um risco significativo para a segurança alimentar e saúde pública.

As amostras do mercado A, apresentaram maior contaminação por coliformes totais e termotolerantes e isto pode ter ocorrido devido a baixa qualidade da água usada no fabrico do gelo, armazenamento inadequado do gelo e a práticas de higiene pouco eficientes durante a manipulação do gelo. Ao decorrer do processo de colecta de amostras, verificou-se que o gelo utilizado no mercado A, era fabricado de forma caseira em garrafas plásticas recolhidas nas ruas e a quebra do gelo era feita no chão com recurso a utensílios não higienizados, isso pode ter contribuído para proliferação desses microrganismos.

De acordo com Cribb *et. al.* (2018), a prática de partir gelo no chão utilizando utensílios não higienizados durante a conservação de peixe representa um risco significativo para a segurança alimentar e a saúde pública. O contacto do gelo com superfícies contaminadas pode facilitar a proliferação de microrganismos como coliformes totais, fecais e *Salmonella* spp., aumentando o risco de toxinfecções alimentares. Além disso, utensílios inadequadamente higienizados podem transferir resíduos orgânicos e bactérias para o gelo, comprometendo a qualidade do pescado armazenado.

Resultados similares para coliformes, foram observados por Giampietro e Rezende-Lago (2009), em que ao estudar a qualidade do gelo usado na conservação do pescado em quatro estabelecimentos comerciais localizados na cidade do Rio de Janeiro, Brasil, verificou que das 30 amostras analisadas, 96,7% (29) e 73,3% (22), apresentaram, respectivamente, contaminação por coliformes totais e termotolerantes, associando a práticas inadequadas de higiene e a água não potável.

Vieira *et al.* (2020) obtiveram 19 (24,3%) amostras positivas para coliformes termotolerantes o que levou a suspeita de que água não clorada foi utilizada ou que houve contaminação do gelo após sua saída da fábrica.

Mazivila (2017), no seu trabalho sobre avaliação da Qualidade Microbiológica do Gelo usado na Conservação do Pescado nos mercados da Cidade Quelimane na Província da Zambézia, verificou elevada contaminação por coliformes em cerca 66,7% das amostras analisadas, estando associada ao uso da água contaminada para o fabrico do gelo e hábitos não higiénicos dos comerciantes. Segundo o mesmo, o gelo era derretido numa água do poço para posterior fragmentação com recurso a um fero enferrujado, e em alguns casos nas bancadas de comercialização húmidas e sujas. Para o acondicionamento, usavam garrafas de óleo vegetal sujas e durante o transporte havia falta de protecção do gelo. Para este caso,

a água utilizada no mercado A vinha do furo, no entanto, suspeita-se que, a higienização das garrafas usadas para acondicionar o gelo não tenha sido eficiente e juntamente com método usado para quebra do gelo e a conservação do pescado, tenha contribuído para contaminação.

A presença de coliformes totais indica contaminação ambiental ou orgânica, sugerindo que a água ou o gelo pode ter entrado em contacto com materiais poluídos, como solos, vegetação ou superfícies inadequadamente higienizadas (Silva *et al.*, 2018). A presença de coliformes termotolerantes é um indicativo de contaminação por matéria orgânica de origem fecal, podendo apontar para falhas no tratamento da água utilizada na produção do gelo ou condições sanitárias inadequadas durante o armazenamento e manuseio.

O gelo usado no mercado B apresentava-se em forma de escamas e era produzido em máquinas de gelo próprias. O local era devidamente higienizado e organizado, no entanto, os funcionários não atendiam a prática de higienização das mãos antes da manipulação do gelo e isso pode ser considerado como causa da presença de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *E. coli*.

De acordo com Freitas *et al.* (2018), a falta de higienização das mãos é um dos principais factores que contribuem para a presença de microrganismos no gelo utilizado na conservação de pescado. As mãos são um veículo de transmissão de patógenos, e quando manipuladores de alimentos seguem protocolos inadequados de higiene, podem transferir bactérias como coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* para o gelo.

A presença de *Escherichia coli*, no gelo pode resultar em surtos de doenças gastrointestinais pela transmissão deste para o pescado (Silva *et al.*, 2018). A *Escherichia coli* (*E. coli*) é uma bactéria frequentemente associada à contaminação fecal e sua relação com a higienização das mãos é bem documentada em pesquisas sobre segurança alimentar e controle de infecções. A ausência de higienização adequada das mãos antes da manipulação do gelo usado na conservação do pescado pode levar à disseminação não só de *E. coli* como também de outros patógenos prejudiciais à saúde através da contaminação cruzada.

A lavagem das mãos pode reduzir significativamente a carga microbiana presente na pele, prevenindo a contaminação cruzada. A Organização Mundial da Saúde (2009) destaca que a higienização correcta das mãos pode evitar surtos de doenças transmitidas por alimentos, especialmente em ambientes de manipulação de pescado.

Mazivila (2017) no seu estudo, detectou a presença de *E. coli* em 5 (41,7%) amostras que associou a potencial contaminação fecal, provavelmente resultante da manipulação de gelo ou da utilização de utensílios contaminados.

A presença desta bactéria denuncia a existência de bactérias patogénicas, estas que produzem toxinas causadoras de infecções graves no homem principalmente em crianças, idosos, gestantes e imunodeprimidos (Silva, 2009). A *E. coli* é um coliforme que não sobrevive durante longo período na água, por isso a sua presença revela-se o melhor indicador de poluição fecal recente (Serrano e Sousa, 2008).

O gelo do mercado C era produzido em máquinas de gelo tal como no mercado B, o local era limpo e os manipuladores eram higienizados. As amostras deste mercado apresentaram menor contaminação por coliformes totais e termotolerantes em relação aos mercados A e B. A presença de coliformes nas amostras deste mercado (embora a carga microbiana tenha sido inferior) já caracteriza não conformidade com o Diploma Ministerial n.º 180/2004, que estabelece ausência de coliformes totais e termotolerantes em 100 mL (Ministério da Saúde, 2004). A detecção, ainda que em níveis baixos, pode estar associada a falhas pontuais nas condições higiénico-sanitárias ou na manipulação do gelo, evidenciando a necessidade de maior controle na produção e no armazenamento.

A avaliação realizada não apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os mercados analisados; contudo, foram identificadas diferenças biológicas relevantes, sobretudo pela deteção de microrganismos indicadores como, coliformes totais, coliformes termotolerantes e *E. coli*. A presença destes microrganismos, mesmo em níveis variáveis entre os mercados, sugere potenciais diferenças nas condições de higiene e manuseio do gelo e do pescado. No entanto, importa referir que o número reduzido de amostras recolhidas não permite uma comparação estatística robusta entre os locais avaliados, uma vez que seriam necessárias, no mínimo, dez amostras por mercado para assegurar poder estatístico adequado. Assim, os resultados obtidos devem ser interpretados como indicativos de tendências biológicas que merecem atenção e investigação aprofundada, embora não permitam estabelecer conclusões definitivas sobre diferenças entre os mercados.

A pesquisa destas bactérias no gelo utilizado na conservação do pescado é importante para avaliar a qualidade do pescado e desta forma contribuir para a garantia da segurança alimentar da população.

6. CONCLUSÃO

A qualidade microbiológica do gelo utilizado na conservação do pescado mostrou-se insatisfatória devido a presença de coliformes totais, fecais e *E. coli*. Das nove amostras avaliadas, quatro cumpriram os critérios legais para coliformes totais, cinco estavam em conformidade quanto aos coliformes termotolerantes e apenas uma apresentou presença de *E. coli*.

O Mercado A apresentou os maiores índices de contaminação por coliformes totais e termotolerantes, indicando possíveis falhas no tratamento da água utilizada na produção do gelo e na higienização dos recipientes de armazenamento.

A presença elevada de coliformes totais e termotolerantes no gelo do Mercado B sugere contaminação ambiental e fecal, aumentando os riscos de transmissão de patógenos para o pescado e, conseqüentemente, para os consumidores.

Comparando com o Mercado C, os níveis de contaminação foram menores, sugerindo melhores práticas de higiene e armazenamento. A implementação de medidas correctivas, como o uso de água tratada, higienização rigorosa dos equipamentos e treinamento dos manipuladores, é essencial para reduzir os riscos microbiológicos.

Dessa forma, os resultados evidenciam a necessidade de monitoramento contínuo e inspecções sanitárias periódicas para garantir que o gelo utilizado na conservação do pescado esteja dentro dos padrões de segurança alimentar.

7. RECOMENDAÇÕES

À Comunidade Científica:

- ✓ Promover pesquisas sobre impacto da qualidade do gelo na conservação do pescado e na saúde pública, considerando um tamanho de amostra representativo, de modo a permitir inferência dos resultados a população.
- ✓ Colaborar com autoridades sanitárias para a formulação de protocolos e normas de controlo de qualidade e segurança do gelo.

Ao Mercado:

- ✓ Realizar análises periódicas de água usada no fabrico do gelo.
- ✓ Adoptar práticas de higiene rigorosas no armazenamento e manuseio do gelo.

Às Entidades Políticas:

- ✓ Treinar funcionários sobre segurança alimentar, enfatizando a importância da higiene das mãos e dos utensílios.
- ✓ Implementar auditorias sanitárias para verificar a qualidade microbiológica do gelo e pescado.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alasalvar, C., Taylor, K. D., & Shahidi, F. (2021). Seafood quality assessment and preservation. Oxford, Reino Unido: Wiley-Blackwell.
2. Antonioli, P. R., Mendes, L. C., & Silva, T. F. (2021). Aplicação do método FEFO na gestão de materiais em laboratórios de análise: benefícios e desafios operacionais. Curitiba: Revista Brasileira de Gestão e Inovação. Obtido de <https://doi.org/10.1590/rbgi.v12n4.2021>
3. Baird-Parker, A. C., Gould, G. W., & Lund, B. M. (2020). Microbiological safety and quality of food: Volume II – Case studies in food safety and quality. Woodhead Publishing: Cambridge, UK.
4. Baird-Parker, T. C., Bolton, D. J., & Nychas, G.-J. E. (2020). Microbial safety and quality of ice used in seafood preservation. Dublin, Irlanda: Food Safety Authority of Ireland.
5. Balcázar, J. L., Subirats, J., & Borrego, C. M. (2020). Microbial contamination of ice used in fresh fish markets: implications for food safety and public health. Food Microbiology. Obtido de <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103455>
6. Barros, F. S., Lima, R. T., & Oliveira, M. C. (2023). Uso do gelo na conservação de pescado fresco: efeitos na qualidade e segurança alimentar. Revista Brasileira de Tecnologia de Alimentos. Obtido de <https://doi.org/10.1590/rbta.v27n1.2023>
7. Cardoso, R. C., Almeida, T. S., & Vieira, L. A. (2022). Aplicação da análise de bases voláteis totais (BVT) na determinação da frescura de pescado comercializado no Brasil. Pernambuco.: Revista Brasileira de Ciência Animal.
8. Cribb, A. Y., Filho, J. T., Mello, S. C. (2018). Manual técnico de manipulação e conservação de pescado. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Agroindústria de Alimentos Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 118p.
9. Cribb, A., Kokkinos, P., Papadopoulos, D., & Vantarakis, A. (2018). Food hygiene practices and microbial risks associated with fish handling in open markets. Athens, Greece: Hellenic Food Safety Authority.
10. Cruz, A. G., Pinto, U. M., & Silva, C. A. (2020). Qualidade da água e segurança alimentar na indústria pesqueira. São Paulo, Brasil: USP.
11. Cumbane, R. B. (2015). A cidade de Maputo e seus desafios de ordenamento territorial. Maputo, Moçambique: Universidade Eduardo Mondlane.
12. EFSA, E. F. (2019). Microbiological criteria for food safety: Evaluation of microbiological parameters in ice used for food preservation. Parma, Itália: EFSA Journal.
13. Eze, C. U., & Ihuoma, S. O. (2021). Hygiene practices and microbial contamination risks in ice handling at public markets. Lagos: Universidade de Lagos.

14. Eze, E. A., & Ihuoma, C. (2021). Hygienic practices in ice production and storage for seafood preservation. Lagos, Nigéria: University of Lagos Press.
15. FAO, F. a. (2022). Food safety and quality guidelines for fish inspection. Roma: Occupational risk prevention in sensory analysis. Obtido de <https://www.fao.org/3/ca9229en/CA9229EN.pdf>
16. FAO. (2022). The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Rome, Italy : FAO. Obtido de <https://doi.org/10.4060/cc0461en>
17. FAO. 2022. The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. Rome, FAO. <https://doi.org/10.4060/cc0461en>
18. FDA, F. a. (2021). Guidance for industry: Fish and fishery products hazards and controls guidance (4º ed.). (M. U. ilver Spring, Ed.) Obtido de <https://www.fda.gov/media/80637/download>
19. Forsythe, S. J. (2010). The Microbiology of Safe Food . Oxford: Wiley-Blackwell.
20. Francine Alves Nascimento, L. R. (2023). Controle de qualidade em laboratório de análises clínicas. ResearchGate. Obtido de <https://www.researchgate.net/publication/371543259>
21. Freitas de Paula, M. L. (2024). Importância do controle interno de qualidade no laboratório de análises clínicas. Zenodo. doi: <https://doi.org/10.5281/zenodo.14014861>
22. Freitas, L. M., Sousa, A. C., & Almeida, R. P. (2018). Influência da higienização das mãos na qualidade microbiológica do gelo utilizado na conservação de alimentos. Revista de Saúde Pública e Segurança Alimentar.
23. Freitas, L.S., Cabral, A.D., Santiago A. (2018). Higienização das mãos: hábito simples que pode evitar infecções por micro-organismos contaminantes. Artigo. V congresso Nacional de Educação. Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Brasil.
24. Germano, P. M., & Germano, M. I. (2008). Higiene e vigilância sanitária de alimentos: qualidade das matérias-primas, doenças transmitidas por alimentos, treinamento de recursos humanos. Barueri, SP: Manole.
25. Giampietro, L., & Rezende-Lago, N. C. (2009). Avaliação microbiológica do gelo utilizado na conservação de pescado em estabelecimentos comerciais de Belém, PA, Brasil: Universidade Federal do Pará.
26. Gilbert, R. J., Thompson, D., & Martinez, L. (2021). Detection and significance of thermotolerant coliforms in food and water safety. London, UK.: International Journal of Food Microbiology.
27. González, M., Pérez, R., & Sánchez, L. (2021). Impacto da qualidade do gelo na conservação do pescado: riscos microbiológicos e segurança alimentar. Revista Brasileira de Tecnologia de Alimentos. Obtido de <https://doi.org/10.1590/rbta.v25n3.2021>
28. Hazen, K. C., Xu, J., & Torres, C. R. (2020). Indicator bacteria for water quality

- assessment: Implications for public health. Atlanta, USA.: Journal of Applied Microbiology.
29. INE, I. N. (2017). Anuário Estatístico da Cidade de Maputo. Maputo, Moçambique: Instituto Nacional de Estatística.
30. Instituto Nacional de Inspeção do Pescado. (2010) Procedimentos de aplicação dos requisitos hígiosanitários, 1a Edição 2-5 pp;
31. Instituto Nacional de Inspeção do Pescado (2011). Aviso n.º 02/INIP/2011: Critérios e limites para os exames e testes no âmbito de controlos oficiais aplicáveis aos produtos alimentares de origem aquática. Maputo: Ministério das Pescas.
32. International Organization for Standardization – ISO 9308-1:1990 Detection and enumeration of coliform organisms, thermotolerant coliform organisms and presumptive *E. coli* – membrane filtration method.
33. International Organization for Standardization – ISO 9308-1:2000 Detection and enumeration of *E. coli* and coliform bacteria – membrane filtration method.
34. International Organization for Standardization - ISO. (2007). ISO 9308-1:2000 Detection and enumeration of *E. coli* and coliform bacteria – membrane filtration method. ISO.
35. International Organization for Standardization - ISO. (2014). ISO 9308-1:2014 Water quality — Enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria (3ª ed.). ISO.
36. IPQ. (2018). NP ISO/IEC 17025:2018 — Requisitos gerais de competência para laboratórios de ensaio e calibração. Instituto Português da Qualidade.
37. José, M. (18 de setembro de 2012). Laboratório passa a certificar pescado. MMO Notícias. Obtido em 03 de julho de 2024, de <https://noticias.mmo.co.mz/2012/09/laboratorio-passa-certificar-pescado.html>
38. José, M. (2012). Laboratório de Inspeção de Pescado de Maputo recebe acreditação internacional. MMO Notícias. Obtido em 03 de Julho de 2024, de <https://noticias.mmo.co.mz/2012/08/laboratorio-de-inspecao-de-pescado-de.html>
39. Kim, J. H., Lee, S. H., & Park, S. Y. (2021). Volatile nitrogen compound analysis as a quality assessment tool for seafood freshness: A comprehensive review. Coreia do Sul: Seoul National University: Journal of Food Chemistry.
40. Koutsoumanis, K. P., & Angelidis, A. S. (2021). Fish preservation and safety: Advances in refrigeration techniques. Atenas, Grécia: Universidade Aristóteles de Salônica.
41. Kram, L., Weber, A., & Schmidt, H. (2018). Microbial risks and control measures in ice production and handling. Berlin, Alemanha: Instituto Federal de Avaliação de Riscos (BfR).
42. Lima, Leandro Kanamaru Franco de. (2007). Pescado: Métodos de Conservação. Apresentação, Embrapa Pesca e Aquicultura.
43. Lopes, A. C., Ferreira, M. S., & Andrade, R. J. (2022). Avaliação da qualidade do gelo utilizado na cadeia do pescado e seus impactos na segurança alimentar. Pernambuco.:Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal. Obtido de

<https://doi.org/10.5935/rsan.v16n1.2022>

44. Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., & Stahl, D. A. (2015). *Brock Biology of Microorganisms* (14^a ed.). Boston: Pearson Education.
45. Martins, L. T., Oliveira, D. C., Paulino, R. R., Galuppo, M. R., Soares, R. R., Borges, R. A., & Freitas, R. T. (2023). Qualidade e Segurança do Pescado. Em *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Agron Food Academy. doi:<https://doi.org/10.53934/9786585062060-29>
46. Mazivila O.J. (2017). Avaliação da Qualidade Microbiológica do Gelo usado na Conservação do Pescado nos Mercados da cidade Quelimane Província da Zambézia. Monografia, Universidade Eduardo Mondlane, Quelimane.
47. Mejlholm, O., Dalgaard, P., & Huss, H. H. (2019). *Seafood preservation practices in tropical climates: Challenges and solution*. Copenhagen: Universidade Técnica da Dinamarca (DTU).
48. Ministério da Saúde. (2004). Diploma Ministerial n.º 180/2004, de 15 de setembro: Estabelece os parâmetros de aceitação para a água potável. Maputo: Ministério da Saúde.
49. Mohan, C. O., Choudhury, D., & Gopal, T. K. (2020). Psychrotrophic bacteria and their impact on fish spoilage. Kochi, India.: A review. *Journal of Food Science and Technology*.
50. Nattinee Bumbudsanpharoke, S. K. (2022). *Packaging technology for home meal replacement: Innovations and future prospective*. Kasetsart: Elsevier.
51. Oliveira, J. P., Santos, R. M., & Carvalho, T. L. (2022). Qualidade microbiológica do gelo utilizado na conservação de pescado e implicações para a saúde pública. São Paulo: *Revista de Segurança Alimentar e Nutricional*. Obtido de <https://doi.org/10.20396/rsan.v29i2.2022>
52. Organização Mundial da Saúde [OMS] (2009). *Directrizes sobre higiene das mãos nos cuidados de saúde*. Organização Mundial da Saúde. Disponível em: <https://hivpreventioncoalition.unaids.org/pt-pt/resources/who-guidelines-hand-hygiene-health-care>. Acesso a 23 de Abril de 2025.
53. Ozen, B. F. (2002). *Effects of ozone exposure on the structural, mechanical and barrier properties of select plastic packaging films*. Chichester: Packaging Technology and Science. doi:<https://doi.org/10.1002/pts.602>
54. PDST. (2017). *Sensory Analysis Teacher's Manual - Home Economics Support Service* 2004. Dublin.
55. Pereira, M. A., Silva, R. F., & Costa, L. J. (2023). Avaliação do pH como indicador de frescor em filés de pescado comercializados na região Norte do Brasil. Belém, PA: Universidade Federal do Pará: *Revista Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Obtido de <https://doi.org/10.1590/rbcta.v38n2.2023>
56. Periago, P. M., & Conesa, M. A. (2020). *Microbial contamination of ice used in food preservation: Indicators and implications*. Madrid, Espanha: Instituto de Salud Carlos III.

57. Pinto, A. M. (2012). Laboratório de Inspeção de Pescado de Maputo recebe acreditação internacional. Nandiwe. Obtido em 03 de Julho de 2024, de <https://nandiwe.blogspot.com/2012/08/creditacao-internacional-do-laboratorio.html>
58. Prussin, A. J., Garcia, E. B., & Marr, L. C. (2020). Survival of fecal indicator bacteria in environmental waters: A review of factors influencing persistence. Seattle, USA.: Environmental Science & Technology.
59. Russell, A. D. (2003). Principles and practice of disinfection, preservation and sterilization (4^a ed.). Oxford, Reino Unido: Blackwell Science.
60. Serrano, N., & Sousa, C. (2008). Incidência de Coliformes, Staphylococcus coagulase positivo e Pseudomonas spp. em gelo produzido e comercializado na cidade de São Carlos – SP. Universidade Federal de São Carlos, departamento de Enfermagem, Departamento de Morfologia e Patologia. São Carlos: Centro de Ciências Biológicas e da Saúde.
61. Silva, C. A., Oliveira, T. R., Santos, M. R., & Lima, A. G. (2018). Avaliação microbiológica de gelo utilizado na conservação de alimentos em estabelecimentos comerciais. Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal.
62. Silva, G. D. (2009) Análise Microbiológica do Gelo em estabelecimentos de alimentação das Universidades Federais de Pernambuco. São Paulo. 376 pp;
63. Silva, M. A., Rocha, D. L., & Pereira, V. S. (2023). Padronização da análise sensorial em laboratórios de alimentos: uma abordagem prática para a rastreabilidade de resultados. Minas Gerais: Revista Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Obtido de <https://doi.org/10.11606/rbcta.v38i1.2023>
64. Silva, M., Dantas, A., Pilan, G., Oliveira, A., & Fernandes, S. (2018). *Efeitos do resfriamento sobre a qualidade do pescado*. VII simpósio de Ciências da UNESP, (p.4). Dracena.
65. Suo, C., Wang, L., Liu, Y., & Zhang, J. (2021). Assessment of microbial contamination in ice used for food preservation and its public health implications. Beijing, China: Journal of Food Safety and Hygiene.
66. Vieira, A. P., & Silva, M. R. (2014). Técnicas básicas em microbiologia: preparo e uso de meios de cultura. Revista de Microbiologia Aplicada. Lisboa: Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz.
67. Vieira, G. P. (2020). Qualidade microbiológica do gelo utilizado na conservação de pescado em feiras livres no nordeste brasileiro. Aracaju, SE, Brasil: Universidade Federal de Sergipe.
68. Viera, L. Gabyy. D., Scherer, R. Daniel. (2020). Avaliação da qualidade microbiológica do gelo utilizado na conservação de pescado. 2011. xi, 39 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

69. World Health Organization. (2017). Guidelines for drinking-water quality (4th ed.). Geneva: WHO. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549950>
70. WHO, W. H. (2023). Foodborne diseases: burden and prevention. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/foodborne-diseases>: Geneva: WHO.
71. Zarei, M., Hosseini, H., & Shariatifar, N. (2022). Risk assessment of premature sensory analysis in seafood quality control: Overlapping timelines with microbiological testing. Tehran: Journal of Food Safety and Hygiene. Obtido de <https://doi.org/10.18502/jfsh.v8i3.2022>.

9. ANEXOS

Anexo I: Tabela de Limites máximos de sulfitos

Géneros	Limites máximos (nas partes comestíveis) mg/kg (ppm)
Crustáceos e cefalópodes	
– frescos, congelados e ultracongelados	150 (*)
– crustáceos, família <i>penaeidae</i> , <i>solenceridae</i> , <i>aristeidae</i>	
– até 80 unidades / kg	150 (*)
– entre 80 e 120 unidades / kg	200 (*)
– mais de 120 unidades / kg	300 (*)
– cozidos	50 (*)

(*) nas partes comestíveis

Fonte: (INIP, 2011).

Anexo II: Materiais, meios de Cultura, reagentes e equipamentos usados na pesquisa.

Materiais	Equipamentos	Meios de cultura e reagentes
Caixa isotérmica, luvas, esferográfica, bloco de notas, frascos de 1000mL de colecta de amostra, colheres, Erlenmeyer (200-1000mL), pipetas (5, 10, 15 e 25 mL), placas de Petri (60 e 90 mm), membrana filtrante de 0,45µm, alça de platina, tubos de ensaio e de Durham, agitador magnético, pipetas Pasteur, bolsas stomacher, bico de Bunsen, máscara, bata, provetas (500, 1000mL) e suportes de tubos. Amostra: gelo.	Geleiras (5 ± 3° C), Congelador (-18 ± 5° C) incubador (22 ± 1° C, 37 ± 1° C e 44 ± 1° C), banho-maria (45 ± 1° C), estufa, micropipetas, contador de colónias.	Água peptonada, LES Endo agar, Lactose <i>broth</i> , Tryptone <i>water</i> , reagente de Kovac's, Álcool a 70%.

Fonte: (Dados da pesquisa, 2023).

Nota: Disponível no LIP excepto a amostra.

Anexo III: Materiais usados



Anexo IV: Fragmentação do gelo com recurso a martelo e faca



Anexo V: Resultado das contagens de coliformes totais e termotolerantes nas amostras dos mercados A, B e C

	Nº de amostra	Contagem de coliformes totais UFC/100mL	Contagem de coliformes termotolerantes UFC/100mL
Mercado A	095	Ausente	Ausente
	197	574	168
	300	174	49.7
Mercado B	094	Ausente	Ausente
	199	68	14
	301	15	Ausente
Mercado C	093	Ausente	Ausente
	198	Ausente	Ausente
	302	28	7

Anexo VI: Resultado da confirmação bioquímica de *E. coli* nas amostras dos mercados A, B e C

	Nº de amostras	Confirmação de <i>E. Coli</i> UFC/100mL
Merdacdo A	095	Ausente
	197	Ausente
	300	Ausente
Merdacdo B	094	Ausente
	199	7
	301	Ausente
Merdacdo C	093	Ausente
	198	Ausente
	302	Ausente