

# RELATÓRIOS CIENTÍFICOS E TÉCNICOS

SÉRIE DIGITAL

UTILIZAÇÃO DE POLIFOSFATOS NA INDÚSTRIA  
TRANSFORMADORA DO PESCADO: CONTROLO  
DOS NÍVEIS E EFEITO DO PROCESSAMENTO

Rogério Mendes, Bárbara Teixeira, Helena Vieira, Cátia  
Fernandes, Helena Lourenço, Susana Gonçalves e  
Fernanda Martins

2017

14



## **RELATÓRIOS CIENTÍFICOS E TÉCNICOS DO IPMA – SÉRIE DIGITAL**

Destinam-se a promover uma divulgação rápida de resultados de carácter científico e técnico, resultantes da actividade de investigação e do desenvolvimento e inovação tecnológica nas áreas de investigação do mar e da atmosfera. Esta publicação é aberta à comunidade científica e aos utentes, podendo os trabalhos serem escritos em Português, Francês ou Inglês.

### **Edição**

IPMA

Rua C – Aeroporto de Lisboa  
1749-007 LISBOA  
Portugal

### **Corpo Editorial**

Francisco Ruano – Coordenador

Aida Campos

Irineu Batista

Lourdes Bogalho

Mário Mil-Homens

Rogélia Martins

Teresa Drago

### **Edição Digital**

Anabela Farinha

As instruções aos autores estão disponíveis no sitio web do IPMA

<http://ipma.pt>

ou podem ser solicitadas aos membros do Corpo Editorial desta publicação

### **Capa**

Conceição Almeida

### **ISSN**

**2183-2900**

Todos os direitos reservados

# UTILIZAÇÃO DE POLIFOSFATOS NA INDÚSTRIA TRANSFORMADORA DO PESCADO: CONTROLO DOS NÍVEIS E EFEITO DO PROCESSAMENTO

Rogério Mendes<sup>1</sup>, Bárbara Teixeira<sup>1,2,3</sup>, Helena Vieira<sup>1</sup>, Cátia Fernandes<sup>4</sup>, Helena Lourenço<sup>1</sup>, Susana Gonçalves<sup>1</sup>, Fernanda Martins<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto Português do Mar e da Atmosfera, Departamento do Mar e dos Recursos Marinhos, Rua Alfredo Magalhães Ramalho, 6, 1495-006 Lisboa, Portugal.

<sup>2</sup> Universidade de Aveiro, Unidade de Química Orgânica, Produtos naturais e Agro-Alimentares, Campus Universitário de Santiago, 3810-193 Aveiro, Portugal.

<sup>3</sup> Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental, Universidade do Porto, Rua dos Bragas, 289, 4050-123 Porto, Portugal

<sup>4</sup> Instituto Superior de Agronomia, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal

Recebido em 25.10.2016

Aceite em 6.05.2017

## RESUMO

O projecto POLIFOSFATOS teve como objetivos: (i) a quantificação de fosfatos adicionados aos produtos da pesca em geral e ao bacalhau, em particular e (ii) o estudo do efeito do processamento industrial e doméstico nas alterações dos polifosfatos nos produtos finais. Este projeto permitiu: (i) adquirir e instalar um sistema de análise por cromatografia líquida iónica com deteção condutimétrica; (ii) montar e validar uma metodologia de deteção e quantificação por cromatografia iónica de diferentes tipos de polifosfatos em produtos da pesca; (iii) otimizar uma técnica de preparação de amostra de produtos da pesca processados; (iv) definir os incrementos nos tempos de secagem de bacalhau salgado em função dos níveis de polifosfatos; (v) documentar a especiação dos polifosfatos adicionados ao bacalhau durante o processamento industrial e após o tratamento culinário doméstico usual; (vi) determinar os níveis de polifosfatos e citratos existentes em diversos produtos derivados do pescado disponíveis comercialmente.

**Palavras-chave:** Fosfatos, bacalhau salgado seco, produtos da pesca, aditivos alimentares, método de cromatografia iónica

## ABSTRACT

The project POLYPHOSPHATES aimed at: (i) the quantification of phosphates added to seafood products in general and particularly to salted and dried cod and (ii) the study of the effect of industrial and domestic processing on polyphosphates content in the final products. This project enabled to: (i) acquire and install a system of analysis by ionic liquid chromatography with conductimetric detection; (ii) assemble and validate a methodology for ionic chromatography detection and quantification of different types of polyphosphates in fishery products; (iii) optimize a sample preparation technique of processed fishery products; (iv) define the increments in the drying time of salted cod as a function of the polyphosphates levels; (v) document the speciation of polyphosphates added to cod during the industrial processing and during the usual home food preparation; (vi) determine the levels of polyphosphates and citrates in various fish products commercially available.

**Keywords:** Phosphates, salted dried cod, seafood, food additives, ionic chromatography method.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

Mendes, R.; Teixeira, B.; Vieira, H.; Fernandes, C.; Lourenço, H.; Gonçalves, S.; Martins, F., 2016. Utilização de polifosfatos na indústria transformadora do peixe: controlo dos níveis e efeito do processamento. *Relat. Cient. Téc. do IPMA* (<http://ipma.pt>), nº 14, 31 pp.

# RELATÓRIO FINAL

PROMAR 31.03.01.FEP.0167 – AÇÕES COLETIVAS



## Projecto POLIFOSFATOS

Utilização de polifosfatos na indústria transformadora do pescado: controlo dos níveis e efeito do processamento



## ÍNDICE

Resumo.....	2
1. Caracterização do Projeto .....	3
1.1. Promotor .....	3
1.2. Informação do Projeto .....	3
1.3. Coordenador do Projeto .....	3
1.4. Equipa de investigação .....	3
2. Introdução .....	3
3. Ações e tarefas realizadas .....	6
3.1. Ações realizadas .....	6
4. Descrição detalhada das tarefas realizadas .....	8
Ação 1 – Separação e quantificação de polifosfatos em produtos da pesca, por método rápido de cromatografia líquida iónica com deteção condutimétrica e supressão química da condutividade de fundo.....	8
Ação 2 – Validação da metodologia de deteção e quantificação de polifosfatos .....	12
Ação 3 – Efeito do processamento e controlo dos níveis de polifosfatos nos produtos transformados da indústria da pesca .....	15
Ação 4 – Disseminação dos resultados .....	26
Ação 5 – Gestão das atividades.....	27
5. Indicadores mínimos de sucesso .....	27
6. Impacte do projeto: benefícios sócio-económicos .....	28
7. Nível de execução de objetivos.....	28
Referências bibliográficas.....	29

## AGRADECIMENTOS

Agradecimento particular à empresa Riberalves - Comércio e Indústria de Produtos Alimentares, S.A., que permitiu a realização dos ensaios em ambiente industrial nas suas instalações no Rosário, Moita e que nas pessoas do Eng.º Nelson Silva e Eng.ª Maria José Paulina foi de uma inexcédível colaboração. Agradecimento também às indústrias que se disponibilizaram a ceder amostras de bacalhau para que este trabalho pudesse ser realizado, nomeadamente: FRICAR - Comércio e Indústria de Peixe, Lda.; Frigoríficos da Ermida, Comercialização de Produtos Alimentares; Grupeixe - Produtos Alimentares, Lda.; LUGRADE - Bacalhau de Coimbra, S.A.; Manuel Marques, Lda.; Marserra Alimentar, Lda.; e Rui Costa e Sousa e Irmão, S.A..

**POLIFOSFATOS:****UTILIZAÇÃO DE POLIFOSFATOS NA INDÚSTRIA TRANSFORMADORA DO PESCADO:  
CONTROLO DOS NÍVEIS E EFEITO DO PROCESSAMENTO****Resumo**

A aplicação de polifosfatos no pescado foi discutida e aprovada na Comissão Europeia em 2013, em virtude da sua actividade sequestrante e do seu efeito antioxidante e estabilizador da cor branca. Porém, nesta autorização exceptua-se a utilização de polifosfatos no processamento do bacalhau salgado, pois estes compostos dificultam a extração da humidade do bacalhau nas unidades industriais, aumentando de forma significativa o período de secagem e os custos energéticos associados. Também não está provada a completa remoção dos polifosfatos na demolha, nem se conhecem as alterações nos níveis de polifosfatos, quando este processamento é efectuado pela indústria ou pelo consumidor final.

Sendo Portugal o segundo maior consumidor *per capita* de peixe do mundo e tendo o consumo de pescado congelado e salgado seco uma posição de destaque no total transacionado, constituindo por exemplo, o comércio de bacalhau salgado demolido 40 % do volume de negócios do setor de comercialização de peixe em Portugal, importa determinar a utilização de polifosfatos e o cumprimento da legislação recentemente aprovada, nos produtos da pesca e no bacalhau salgado seco, em particular.

Considerando que não existe metodologia instalada em Portugal, que permita a deteção e quantificação dos diferentes tipos de polifosfatos e que não é conhecido o efeito do processamento industrial durante a produção de pescado salgado seco nos níveis finais destes aditivos, foi objetivo do projeto POLIFOSFATOS abordar de forma global, os vários aspetos relacionados com a qualidade e segurança dos produtos da pesca congelados e salgados secos, nomeadamente na perspetiva da utilização dos polifosfatos.

O projeto POLIFOSFATOS teve como objetivo a quantificação de fosfatos adicionados intencionalmente aos produtos da pesca em geral e ao bacalhau, em particular e o estudo do efeito do processamento industrial e doméstico nas alterações dos polifosfatos nos produtos finais. Para este efeito o projeto foi dividido em cinco ações: 1) Separação e quantificação de polifosfatos em produtos da pesca, por método rápido de cromatografia líquida iónica com deteção condutimétrica e supressão química da condutividade de fundo, 2) Validação da metodologia de deteção e quantificação de polifosfatos, 3) Efeito do processamento e controlo dos níveis de polifosfatos nos produtos transformados da indústria da pesca 4) Gestão das atividades e 5) Disseminação dos resultados.

O desenvolvimento deste projeto permitiu nomeadamente: (i) adquirir e instalar um sistema de análise por cromatografia líquida iónica com deteção condutimétrica; (ii) montar uma metodologia de deteção e quantificação de diferentes tipos de polifosfatos por cromatografia líquida iónica; (iii) otimizar uma técnica de preparação de amostra de produtos da pesca processados; (iv) validar um método que permite determinar a concentração de diferentes tipos de polifosfatos em produtos da pesca, de forma confiável, com precisão e exatidão adequadas, dentro de uma faixa de deteção apropriada ao objetivo proposto; (v) usar com sucesso em amostras reais de interesse comercial, um método de cromatografia iónica com garantia de qualidade dos resultados; (vi) definir os incrementos nos tempos de secagem de bacalhau salgado em função dos níveis de polifosfatos; (vii) documentar a especiação dos polifosfatos adicionados intencionalmente ao bacalhau durante o processamento industrial e durante o tratamento culinário doméstico usual; (viii) determinar os níveis de polifosfatos e citratos existentes em diversos produtos derivados do pescado disponíveis comercialmente.

Com a informação recolhida sobre o efeito dos diferentes tipos e níveis de polifosfatos, nos tempos de processamento industrial e doméstico de bacalhau salgado seco e efetuado o rastreio dos níveis de polifosfatos em produtos da pesca no comércio alimentar por grosso ou a retalho, foi dado suporte à implementação de medidas, designadamente no plano legislativo e de fiscalização, relativas ao cumprimento da utilização dos polifosfatos, nos limites legais publicados.

## 1. Caracterização do Projeto

### 1.1. Promotor

**Instituto Português do Mar e da Atmosfera, I.P. (IPMA, I.P.)**

### 1.2. Informação do Projeto

Titulo do Projeto: Utilização de polifosfatos na indústria transformadora do pescado: controlo dos níveis e efeito do processamento.

Acrónimo: POLIFOSFATOS

Início do Projeto: 1 de Agosto de 2013

Final do Projeto: 31 de Dezembro de 2015

Tópico: Eixo 3 – Projetos-piloto

**NUTS II beneficiárias: Norte, Centro, Lisboa**

### 1.3. Coordenador do Projeto

Nome: Rogério Mendes

Nome da Companhia: Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA, I.P.)

Endereço: Rua Alfredo Magalhães Ramalho, 6

Código Postal: 1445-006

Localidade: Lisboa

País: Portugal

Telefone: 00351 21 3027000

Fax: 00351 21 3015948

e-mail: [rogerio@ipma.pt](mailto:rogerio@ipma.pt)

Web: <http://www.ipma.pt>

### 1.4. Equipa de investigação

Dr. Rogério Mendes, IPMA, [rogerio@ipma.pt](mailto:rogerio@ipma.pt)

Dra. Helena Lourenço, IPMA, [helena@ipma.pt](mailto:helena@ipma.pt)

Dra. Susana Serra Gonçalves, IPMA, [sserra@ipma.pt](mailto:sserra@ipma.pt)

Dra. Maria Fernanda Martins, IPMA, [fmartins@ipma.pt](mailto:fmartins@ipma.pt)

Dra. Helena Vieira, Bolseira de Investigação Científica, nível 2 (habilitado com Mestrado), [lena\\_87@sapo.pt](mailto:lena_87@sapo.pt)

Dra. Bárbara Teixeira, Bolseira Pós-Doc FCT/IPMA/Univ. Aveiro [barbara.p.b.teixeira@gmail.com](mailto:barbara.p.b.teixeira@gmail.com)

Margarida Muro, Técnica, Lisboa, [mmuro@ipma.pt](mailto:mmuro@ipma.pt)

## 2. Introdução

Portugal é o maior consumidor *per capita* de pescado da Europa, sendo o consumo de pescado salgado seco, especialmente bacalhau, particularmente relevante. O processamento de bacalhau constitui uma atividade com enorme importância social e económica, especialmente na zona litoral Centro e Norte. A atividade da indústria de processamento de bacalhau movimenta anualmente um valor superior a 500 M€, representando as atividades de salga e secagem de bacalhau mais do que 50% (em valor) da indústria nacional de transformação do pescado (INE, 2015). Portugal é fortemente dependente das importações de bacalhau verde (cerca de 60%) e congelado, para satisfazer o seu consumo interno. Dada a natureza dos processos industriais utilizados, esta atividade é extremamente dependente dos custos energéticos, em particular no que se refere à energia elétrica que alimenta os sistemas de secagem.

Os fosfatos e polifosfatos são utilizados nos produtos alimentares maioritariamente para aumentar a capacidade de retenção de água das proteínas. Alguns estudos realizados no norte da Europa (Thorarinsdottir *et al*, 2010) têm mostrado que a aplicação de fosfatos minimiza também as reações de oxidação de proteínas e lípidos no peixe salgado, contribuindo assim para a obtenção de produtos mais claros e cheiros e sabores menos intensos. No entanto, a possibilidade de introdução do uso de polifosfatos em peixe salgado e posteriormente seco, constitui uma séria ameaça à viabilidade da indústria portuguesa de transformação do

bacalhau, já que os polifosfatos ao aumentarem a capacidade de retenção de água das proteínas tornam, por isso, mais difícil a eliminação da água durante a seca porque a água está mais fortemente ligada ao tecido muscular, impondo assim uma fatura energética ainda mais pesada aos transformadores portugueses. Ora, Portugal tem já hoje uma das tarifas energéticas mais elevadas do espaço europeu, pelo que o aumento do período de secagem (determinado pelo uso de polifosfatos) aumentaria de tal forma os custos de produção, que colocaria em causa a sobrevivência de várias empresas do setor. Para garantir a qualidade do bacalhau transformado em Portugal, a indústria está obrigada por lei a garantir que a percentagem de água no produto seja igual ou inferior a 47 %, uma obrigação que não se estende aos industriais noruegueses que exportam, para Portugal, bacalhau com mais de 50 % de água. Acrescem a tudo isto as dúvidas relativamente ao efeito dos polifosfatos no produto final e, por conseguinte, na saúde dos consumidores (EFSA, 2013). Ainda segundo os industriais do bacalhau, a introdução dos polifosfatos não traz nenhuma vantagem, qualitativa ou nutricional, ao produto, pelo que as autoridades portuguesas e os industriais do setor têm manifestado oposição à incorporação de polifosfatos no processamento de bacalhau salgado seco.

Apesar das reservas dos industriais, em 30 de outubro de 2013 foi aprovado o Regulamento (UE) N° 1068/2013 da Comissão que altera o anexo II do Regulamento (CE) n.° 1333/2008 do Parlamento Europeu e do Conselho no que respeita à utilização de difosfatos (E 450), trifosfatos (E 451) e polifosfatos (E 452) no peixe de salga húmida e que aprova a utilização de fosfatos unicamente em peixe salgado da família *Gadidae* que tenha sido pré-salgado por injeção e/ou imersão em salmoura com uma solução de pelo menos 18% de sal, frequentemente seguida de salga a seco (Tabela 1).

**Tabela 1 - Número E, designação, teor máximo e restrições/exceções dos aditivos alimentares constantes do anexo do Regulamento (UE) n.° 1068/2013 da Comissão de 30 de outubro de 2013 que altera o anexo II do Regulamento (CE) n.° 1333/2008 do Parlamento Europeu e do Conselho no que respeita à utilização de difosfatos (E 450), trifosfatos (E 451) e polifosfatos (E 452) no peixe de salga húmida.**

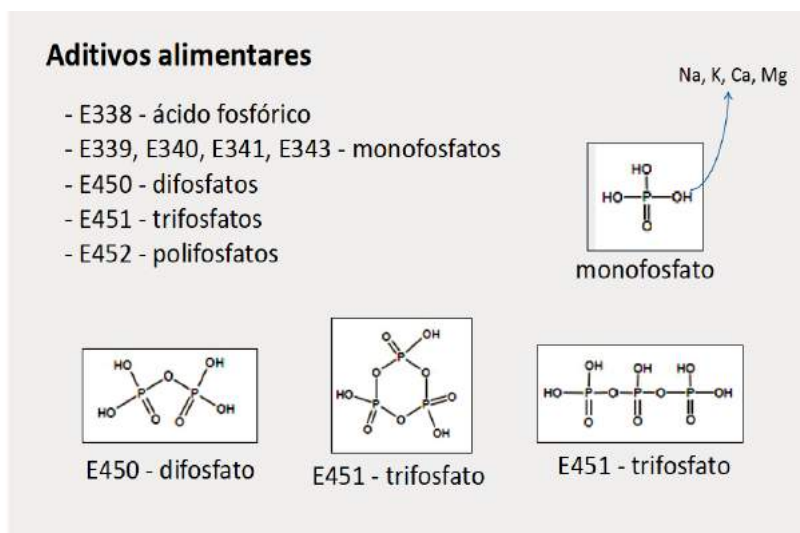
Número E	Designação	Teor máximo (mg de P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> /kg)	Restrições/ exceções	Período de aplicação
E 450	Difosfatos	5 000	Unicamente peixe salgado da família <i>Gadidae</i> que tenha sido pré-salgado por injeção e/ou imersão em salmoura com uma solução de pelo menos 18% de sal, frequentemente seguida de salga a seco	A partir de 31 de dezembro de 2013
E 451	Trifosfatos	5 000	Unicamente peixe salgado da família <i>Gadidae</i> que tenha sido pré-salgado por injeção e/ou imersão em salmoura com uma solução de pelo menos 18% de sal, frequentemente seguida de salga a seco	A partir de 31 de dezembro de 2013
E 452	Polifosfatos	5 000	Unicamente peixe salgado da família <i>Gadidae</i> que tenha sido pré-salgado por injeção e/ou imersão em salmoura com uma solução de pelo menos 18% de sal, frequentemente seguida de salga a seco	A partir de 31 de dezembro de 2013

Nota: O teor máximo é aplicável à soma de E450, E451 e E452 utilizados estremes ou em combinação

Ainda neste quadro e a fim de avaliar o impacte na disponibilidade de peixe de salga húmida para a produção de bacalhau, a Comissão monitorizará durante três anos a utilização de polifosfatos nos principais países produtores de bacalhau salgado. Assim e no domínio da qualificação de fornecedores, torna-se necessário dispor de ferramentas ao nível da deteção e quantificação de polifosfatos nos produtos importados, que permitam selecionar adequadamente o fornecedor e avaliá-lo continuamente.

Atualmente o controlo oficial dos níveis de polifosfatos nos produtos da pesca faz-se por estimativa e tendo em conta o teor de fósforo total, o que apresenta uma incerteza significativa na determinação dos teores de polifosfatos adicionados, pois não permite a diferenciação em relação aos fosfatos naturais, dificultando assim um adequado controlo da qualidade e da rotulagem. Em Portugal não existe metodologia instalada e validada, segundo as normas ISO, de deteção e quantificação dos diferentes tipos de polifosfatos, di-, tri-tetrapolifosfatos e outros, usados como aditivos alimentares (Fig. 1).





**Figura 1 - Polifosfatos autorizados como aditivos alimentares.**

Por outro lado, não são conhecidas as alterações que ocorrem nos polifosfatos durante o processamento industrial e no processo culinário usual de demolha e confeção do pescado salgado seco e também não são conhecidos, com exatidão, os níveis de polifosfatos existentes nos diferentes produtos da pesca comercializados em Portugal. Acresce ainda que, face à utilização de polifosfatos na salga do bacalhau por parte dos exportadores, não existe informação suficiente sobre o comportamento dos fosfatos adicionados durante todo o processamento (salga, seca e demolha), o que torna difícil propor limites máximos de incorporação destes aditivos.

Nesta medida foi desenvolvido o projeto POLIFOSFATOS, que teve como objetivos específicos nomeadamente:

1. Detetar e quantificar os diferentes tipos de polifosfatos adicionados aos produtos da pesca, por metodologia rápida de cromatografia líquida iónica com deteção condutimétrica e supressão química da condutividade de fundo.
2. Implementar uma metodologia de controlo de qualidade dos produtos da pesca que permita o seu controlo oficial e a qualificação de fornecedores por parte dos industriais do bacalhau, no domínio do teor de polifosfatos.
3. Validar a metodologia de deteção e quantificação de diferentes tipos de polifosfatos em produtos da pesca, considerando diversos parâmetros cromatográficos e em função de diretrizes pré-estabelecidas, utilizando os critérios de validação estabelecidos por organizações europeias competentes para a obtenção das condições necessárias à análise proposta.
4. Determinar os tempos de secagem industrial do bacalhau verde em função de diferentes níveis de polifosfatos presentes. Otimizar o processo de secagem em estufa do bacalhau salgado verde de forma a diminuir o consumo de energia, aumentar a produtividade da indústria transformadora e melhorar a qualidade dos produtos. Determinar as alterações registadas nos polifosfatos no bacalhau durante o processo de salga, seca e demolha, em ambiente industrial e de demolha de acordo com o processo culinário usual.
5. Determinar os níveis de polifosfatos em diferentes produtos congelados derivados do pescado, disponibilizados no comércio alimentar por grosso ou a retalho, em grandes superfícies comerciais ou no pequeno comércio, tendo em vista a aferição do cumprimento da legislação em vigor, a preservação da qualidade dos produtos e a proteção dos consumidores.
6. Participar em conferências, elaborar e divulgar para o setor os resultados através de relatórios, artigos científicos e brochuras. Disseminar os resultados junto dos profissionais do setor das pescas e autoridades competentes através da realização de seminários de formação e demonstração.

Este projeto inseriu-se no Programa Operacional Pesca 2007-2013 (PROMAR) - Portaria n.º 719-C/2008 de 31 de Julho, Artigo 5.º d), em particular pontos v) Contributo para a transparência dos mercados de produtos

da pesca e da aquicultura, nomeadamente para a rastreabilidade e vi) Melhoria da qualidade e da segurança dos alimentos.

### **3. Ações e tarefas realizadas**

#### **3.1. Ações realizadas**

O projeto POLIFOSFATOS foi desenvolvido segundo o fluxograma que se apresenta na figura 2 e foi dividido em 5 ações, sendo cada ação desenvolvida de acordo com diferentes tarefas:

**Ação 1:** Separação e quantificação de polifosfatos em produtos da pesca, por método rápido de cromatografia líquida iónica com deteção condutimétrica e supressão química da condutividade de fundo.

**Tarefa 1:** Instalação e desenvolvimento de metodologia de análise de polifosfatos por cromatografia líquida iónica com deteção por condutividade suprimida.

**Ação 2:** Validação da metodologia de deteção e quantificação de polifosfatos.

**Tarefa 1:** Realização de testes de demonstração da adequação à análise de polifosfatos do método de cromatografia líquida iónica com deteção condutimétrica e supressão química da condutividade de fundo.

**Ação 3:** Efeito do processamento e controlo dos níveis de polifosfatos nos produtos transformados da indústria da pesca.

**Tarefa 1:** Efeito dos diferentes tipos e níveis de polifosfatos nos tempos de processamento industrial de bacalhau salgado seco.

**Tarefa 2:** Rastreio dos níveis de polifosfatos em produtos da pesca e derivados do pescado, no comércio alimentar por grosso ou a retalho.

**Ação 4:** Disseminação dos resultados.

**Tarefa 1:** Participação em conferências, elaboração e divulgação de relatórios, artigos científicos e brochuras ao setor.

**Ação 5:** Atividades de gestão do projeto.

**Tarefa 1:** Gestão financeira e de pessoal, tarefas e patentes.

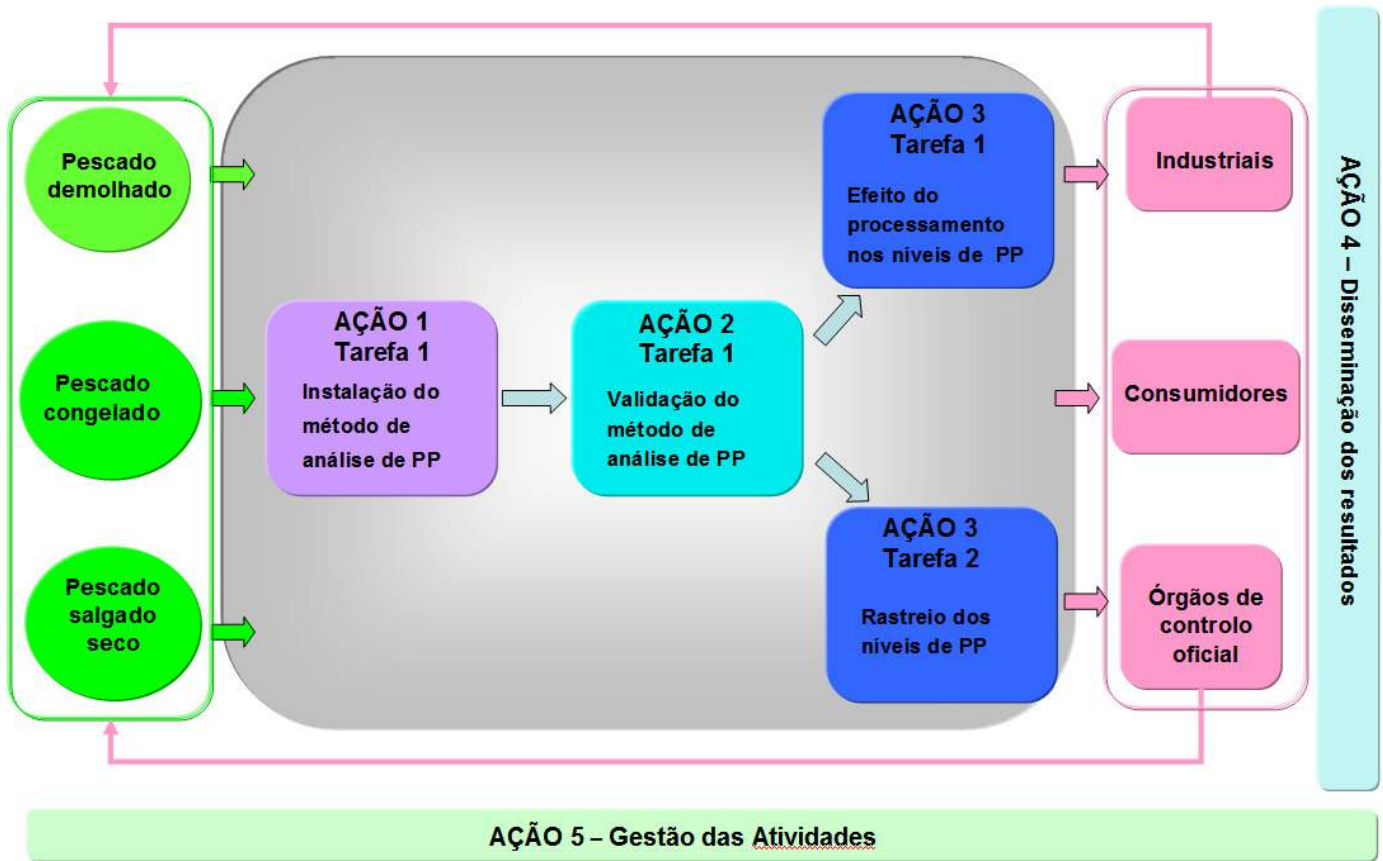


Figura 2 – Fluxograma de desenvolvimento do projeto POLIFOSFATOS. (PP) – Polifosfatos.

#### 4. Descrição detalhada das tarefas realizadas

##### *Ação 1 – Separação e quantificação de polifosfatos em produtos da pesca, por método rápido de cromatografia líquida iónica com deteção condutimétrica e supressão química da condutividade de fundo*

**Tarefa 1:** Instalação e desenvolvimento de metodologia de análise de polifosfatos por cromatografia líquida iónica com deteção por condutividade suprimida

#### Objetivos

- Detetar e quantificar os diferentes tipos de polifosfatos adicionados aos produtos da pesca, por metodologia rápida de cromatografia líquida iónica com deteção condutimétrica e supressão química da condutividade de fundo.
- Implementar metodologia de controlo de qualidade dos produtos da pesca que permita o seu controlo oficial e a qualificação de fornecedores por parte dos industriais do bacalhau, no domínio do teor de polifosfatos.

#### Resultados

Considerando os objetivos da ação e estando a metodologia de análise a instalar previamente definida, foi efetuada no início do projeto a aquisição de um sistema de cromatografia líquida iónica, com deteção condutimétrica e supressão química da condutividade de fundo, para quantificação dos polifosfatos.

Foi selecionado o sistema de cromatografia iónica de alta pressão Thermo Dionex 5000+ (Figs. 3 e 4) o qual é constituído por:

- bomba quaternária de gradiente;
- detetor eletroquímico em modo de condutividade, equipado com uma célula de condutividade com compensação de temperatura;
- injetor automático refrigerado;
- gerador automático de eluentes
- desarejador automático de eluentes
- supressor aniónico autorregenerativo AERS 500, usado para supressão eletroquímica com uma corrente de operação de 100 mA;
- compartimento termostaticado para coluna;
- coluna analítica IonPac AS16 (250 mm × 2 mm d.i., partícula: 9 µm);
- pré-coluna IonPac ATC-3 (4 mm x 35 mm);
- software de controlo, aquisição e processamento de dados Chromeleon 7.

Após instalação do sistema cromatográfico e efetuados pelos técnicos da Dionex os testes de validação do equipamento, este foi considerado operacional, tendo-se procedido em seguida à instalação da metodologia de separação e quantificação de polifosfatos de acordo com o método descrito por Nguyen et al. (2012). Com esta metodologia, os polifosfatos foram eluídos através de uma coluna de permuta aniónica IonPac AS16 (250 mm×2 mm d.i., partícula: 9 µm) com um gradiente de hidróxido de potássio [10 mM KOH (A) e 80 mM KOH (B)]. O supressor aniónico autorregenerativo (ASRS: anion self-regenerating suppressor) foi usado para suprimir as elevadas concentrações de hidróxido de potássio, necessárias para eluir as moléculas de grandes dimensões e multiplamente carregadas dos polifosfatos. Assim, devido à excecional capacidade de supressão do AERS 500, foram usados sem inconvenientes gradientes abruptos de hidróxido e sem um aumento substancial da condutividade de fundo. Como resultado, foi possível usar diretamente a deteção por condutividade suprimida, para produzir perfis de distribuição das cadeias dos polifosfatos, em função do seu tamanho.



**Figura 3 - Cromatógrafo iônico Dionex 5000+ com detector de condutividade e supressor iônico.**



**Figura 4 – Detalhe do interior do cromatógrafo iônico Dionex 5000+ com detector de condutividade e supressor iônico.**

O gradiente dos solventes de eluição foi ainda otimizado a partir da nota técnica nº 172 da Dionex, para análise de produtos de origem animal (Dionex, 2010). Em resumo e de acordo com o previsto, foi realizada uma primeira fase isocrática com KOH 25 mM de 0 a 5 min, KOH 25 mM a KOH 70 mM de 5 a 50 min e KOH 70 mM a KOH 25 mM de 50 a 60 min.

A preparação de amostras foi otimizada tendo sido efetuada de acordo com os passos descritos no esquema da figura 5. Em resumo, a amostra foi pesada, submetida a aquecimento em micro-ondas para inativação das fosfatases, homogeneizada com água ultrapura durante 1 min, centrifugada, as proteínas precipitadas com uma solução de ácido perclórico (PCA) 0,5 N, de novo centrifugada, o pH ajustado com KOH para prevenir a degradação dos fosfatos e finalmente filtrada em filtros descartáveis (0,2 µm) antes da análise cromatográfica. O método para extração de polifosfatos de amostras de pescado foi aplicado a diversas matrizes de pescado, incluindo corvina, pescada, bacalhau salgado seco demolhado e polvo, de modo a representar diferentes produtos da pesca, tendo sido necessário efetuar alterações ao método de extração para evitar a degradação dos polifosfatos.

Para efeitos de repetibilidade foram efetuadas duas análises para cada amostra e os resultados calculados com base na média das duas determinações.

Foram ainda analisadas amostras fortificadas com os diferentes compostos de interesse e determinada a sua recuperação. Foram igualmente realizados ensaios pela Norma Portuguesa 4495:2010 de determinação do teor de fósforo total (método por espectrofotometria) e comparados os resultados com os obtidos pela metodologia por cromatografia iónica. A comparação dos resultados obtidos pela nova metodologia de cromatografia iónica, com os obtidos através da NP 4495:2010 visou a avaliação da exatidão da técnica espectrofotométrica, pois esta técnica, por fazer recurso a material de mais fácil acesso e menos custo, é passível de ser realizada pelos laboratórios de controlo de qualidade das indústrias.

Em resumo e no âmbito da instalação do método de quantificação de polifosfatos foram:

- (i) Efetuados ajustamentos à técnica de extração da amostra para maximizar a recuperação;
- (ii) Testadas várias matrizes representativas de diferentes produtos da pesca;
- (iii) Comparados os resultados com técnicas espectrofotométricas não discriminativas de quantificação dos polifosfatos totais, seguindo a norma portuguesa NP 4495:2010 de determinação do teor de fósforo total (NP 4495, 2010).

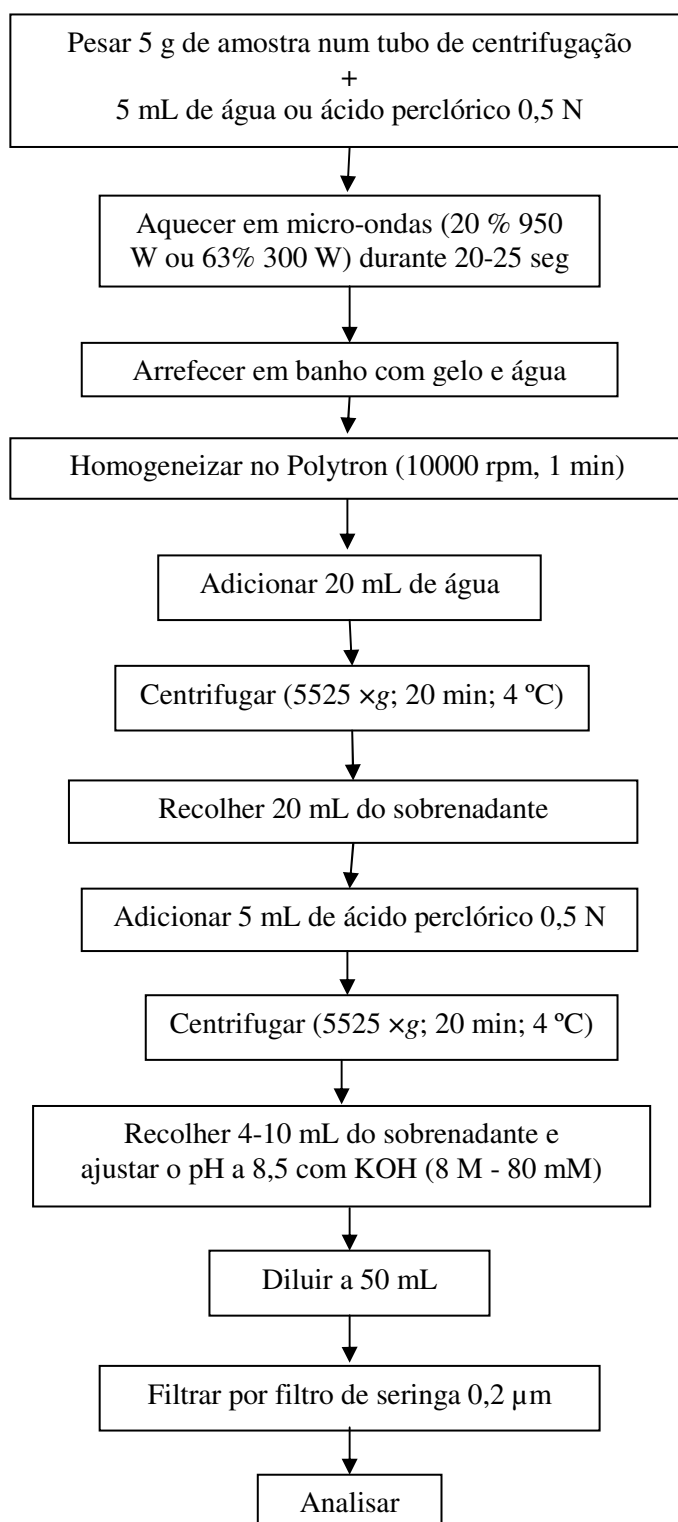


Figura 5 – Esquema de preparação de amostras para análise de polifosfatos por cromatografia iônica.

#### Indicadores de execução

- Adquirido, instalado e realizados os testes de validação de um sistema de análise por cromatografia líquida iônica com detecção condutimétrica.
- Instalada uma metodologia de detecção e quantificação de diferentes tipos de polifosfatos por cromatografia líquida instalada.
- Otimizada uma técnica de preparação de amostra de produtos da pesca processados.

**Ação 2 – Validação da metodologia de detecção e quantificação de polifosfatos**

**Tarefa 1:** Realização de testes de demonstração da adequação à análise de polifosfatos do método de cromatografia líquida iônica com detecção condutimétrica e supressão química da condutividade de fundo

**Objetivos**

- Validar a metodologia de detecção e quantificação de diferentes tipos de polifosfatos em produtos da pesca, considerando diversos parâmetros cromatográficos e em função de diretrizes pré-estabelecidas, utilizando os critérios de validação estabelecidos por organizações europeias competentes para a obtenção das condições necessárias à análise proposta.

**Resultados**

Em virtude da inexistência de protocolos específicos, destinados a validar o procedimento analítico para a determinação de polifosfatos em alimentos, o método descrito foi validado por um modelo de validação interna, de acordo com a Decisão 657/2002/EC (European Commission, 2002) e Regulamento 882/2004/CE (European Commission, 2004), que descrevem os parâmetros analíticos para verificar a “fiabilidade” do método. Estes parâmetros foram:

- linearidade;
- especificidade;
- precisão;
- recuperação;
- limite de detecção;
- limite de quantificação;
- robustez.

O teste de linearidade foi realizado em várias sessões por injeção de cinco soluções-padrão (cada uma em triplicado) para monofosfatos, difosfatos, trifosfatos e trimetafosfatos e outra série de cinco soluções-padrão específicas para tetrapolifosfatos (Tabelas 2 e 3).

**Tabela 2 – Soluções padrão de trabalho de 1g/L usadas no estudo da linearidade dos diferentes polifosfatos.**

Pesar para 100 mL de solução:				
$\text{H}_2\text{NaPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	$\text{PO}_4$	Massa	$\text{PO}_4/\text{L}$	$\text{P}_2\text{O}_5/\text{L}$
137,99 g/mol	94,97 g/mol	145,3 mg	1 g $\text{PO}_4/\text{L}$	0,7473 g $\text{P}_2\text{O}_5/\text{L}$
119,97 g/mol (anidro)				
$\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$	$\text{P}_2\text{O}_7$			
446,06 g/mol	173,94 g/mol	256,4 mg	1 g $\text{P}_2\text{O}_7/\text{L}$	0,8161 g $\text{P}_2\text{O}_5/\text{L}$
$\text{Na}_3\text{P}_3\text{O}_9$	$\text{P}_3\text{O}_9$			
305,89 g/mol	236,92 g/mol	129,1 mg	1 g $\text{P}_3\text{O}_9/\text{L}$	0,8987 g $\text{P}_2\text{O}_5/\text{L}$
$\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	$\text{P}_3\text{O}_{10}$			
367,86 g/mol	252,92 g/mol	145,4 mg	1 g $\text{P}_3\text{O}_{10}/\text{L}$	0,8418 g $\text{P}_2\text{O}_5/\text{L}$
$\text{Na}_6\text{P}_4\text{O}_{13}$	$\text{P}_4\text{O}_{13}$			
469,83 g/mol	331,89 g/mol	141,56 mg	1 g $\text{P}_4\text{O}_{10}/\text{L}$	0,855 g $\text{P}_2\text{O}_5/\text{L}$



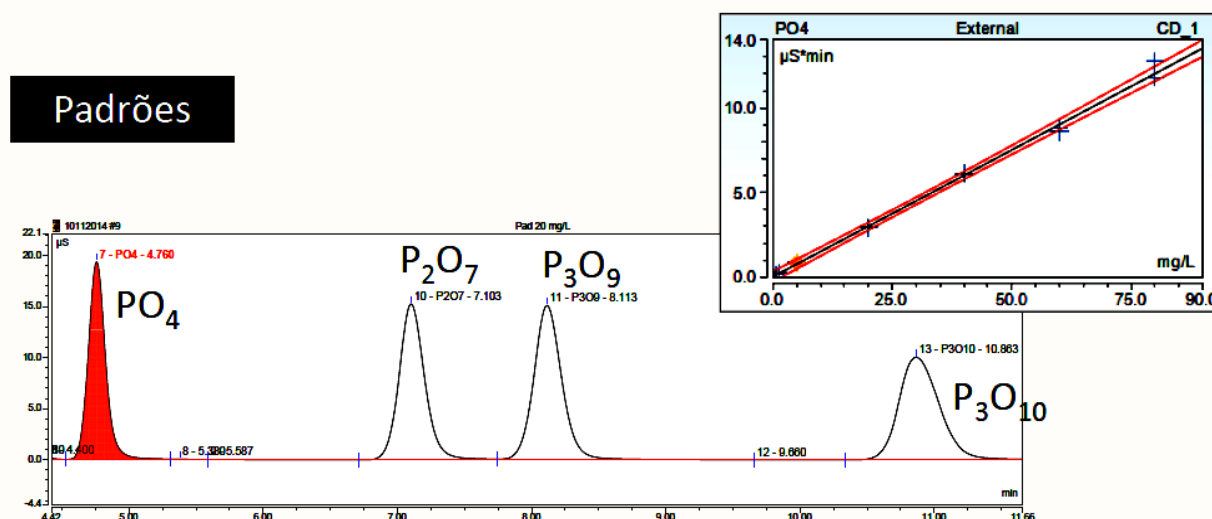
**Tabela 3 - Níveis de concentração (0,5 – 80,0 mg/L) dos padrões de polifosfatos usados na validação da metodologia de cromatografia iônica.**

	Volume a transferir da solução de trabalho (1 g/L) para 100 mL
0 mg/L	0
0,5 mg/L	50 µL
1,25 mg/L	125 µL
5 mg/L	500 µL
20 mg/L	2 mL
40 mg/L	4 mL
60 mg/L	6 mL
80 mg/L	8 mL

Para testar a especificidade do método, amostras independentes de produtos de pescado (considerados brancos) foram analisadas a fim de verificar a ausência de picos interferentes na janela de retenção do tempo de interesse ( $\pm 2,5$  % do tempo de retenção dos polifosfatos). A precisão e a recuperação foram determinadas pela realização de vários conjuntos de análises de amostras de pescado fortificado com monofosfatos, difosfatos e trifosfatos, trimetafosfatos e tetrapolifosfatos separadamente em diferentes concentrações.

Foram também realizadas outras sessões de trabalho para avaliar a precisão do método em concentrações baixas para os vários tipos de fosfatos (monofosfatos, difosfatos, trifosfatos e trimetafosfatos e tetrapolifosfatos). A fim de otimizar a precisão do método, as calibrações e as fortificações foram executadas para cada polifosfato separadamente, uma vez que os polifosfatos são degradáveis em água e pequenas quantidades de difosfatos e trifosfatos podem derivar da degradação dos trifosfatos e trimetafosfatos, respectivamente.

Foram efetuadas diversas retas de calibração independentes com padrões isolados e padrões mistos (Fig. 6) para avaliar os parâmetros de validação, no sentido de validar a metodologia. Detalhes dos resultados deste processo de validação são apresentados na Tabela 4.

**Figura 6 – Cromatograma de padrões dos diferentes tipos de polifosfatos analisados por cromatografia iônica e exemplo de reta de calibração de PO<sub>4</sub>.**

Realizaram-se ainda ensaios para avaliação da estabilidade dos polifosfatos em refrigerado. Avaliou-se a degradação dos polifosfatos após a preparação dos extratos e até à análise das amostras no cromatógrafo

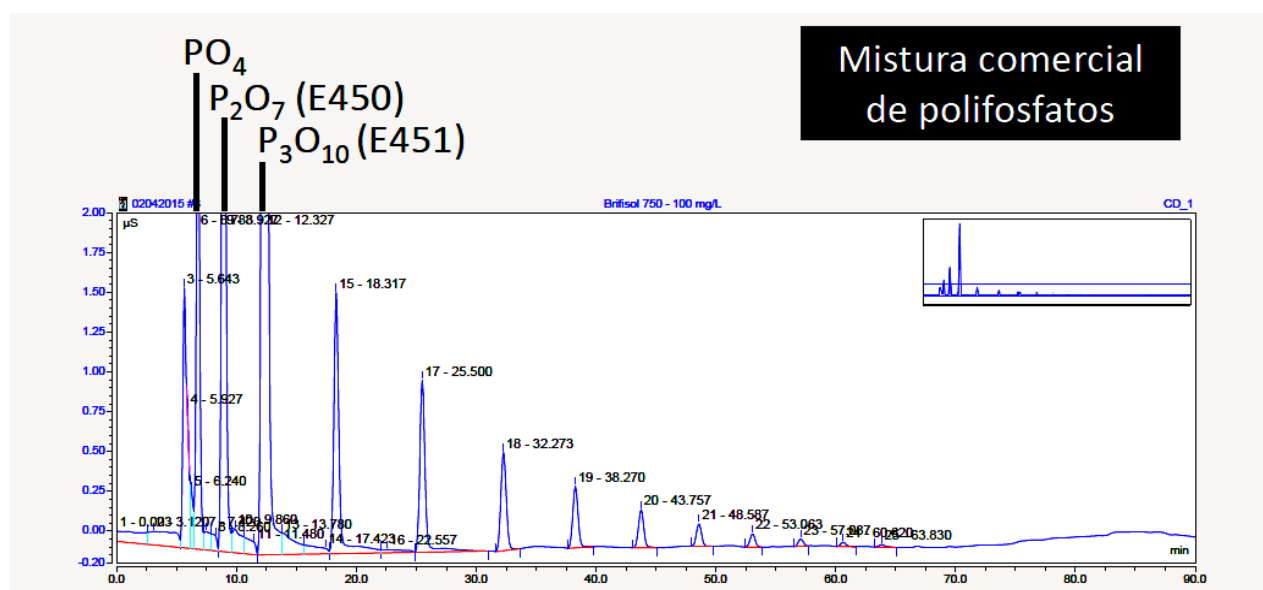
iónico considerando diversos intervalos de tempo e diferentes níveis e tipos de polifosfatos.

Em virtude de dificuldades relacionadas com a aquisição de Material de Referência Certificado com concentração conhecida de polifosfatos (Pork Muscle, Ref. FLUKA ERM-BB384 e Ref: 1546 Meat Homogenate National Institute of Standards & Technology, Estados Unidos da América, [https://www.nist.gov/srmors/view\\_detail.cfm?srm=1546a](https://www.nist.gov/srmors/view_detail.cfm?srm=1546a)) não foi possível efetuar a determinação da exatidão do método instalado de acordo com a regulamentação europeia, tendo esta sido estimada com base em testes de recuperação (Tabela 4).

**Tabela 4 – Validação da metodologia de análise de polifosfatos por cromatografia iónica. Gamas de linearidade testadas, intervalo dos declives das retas de calibração e das ordenadas na origem e percentagem de recuperação dos diferentes polifosfatos.**

	PO <sub>4</sub>	P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	P <sub>3</sub> O <sub>9</sub>	P <sub>3</sub> O <sub>10</sub>
<b>Gama de linearidade testada</b>	0,5 – 80 mg/L	0,5 – 80 mg/L	0,5 – 80 mg/L	0,5 – 80 mg/L
<b>Declive da reta (IC 95%)</b>	0,147 – 0,168	0,172 – 0,203	0,197 – 0,227	0,175 – 0,204
<b>Ordenada na origem (IC 95%)</b>	0,005 – 0,061	-0,051 – 0,049	-0,145 – 0,071	-0,068 – 0,091
<b>Recuperação (5 g/kg)</b>	104,2 ± 5,6 %	85,6 ± 7,4 %	104,6 ± 7,7 %	102,9 ± 6,0 %

Tendo ainda em vista a determinação da adequação da metodologia de quantificação de polifosfatos por cromatografia iónica com supressão foram analisadas misturas comerciais de polifosfatos. Os resultados obtidos mostram, como se pode ver pelo exemplo na figura 7, que a metodologia instalada permite uma boa separação dos diferentes polifosfatos e, em particular, dos mais relevantes no processamento do bacalhau (E 450, E451 e E452).



**Figura 7 – Perfil cromatográfico padrão dos polifosfatos detetados numa mistura comercial de fosfatos (Brifisol 750 – E450, E451, E452; 50 % P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) usados como aditivos em alimentos.**

**Indicadores de execução**

- Parcialmente validado um método que permite determinar a concentração de diferentes tipos de polifosfatos em produtos da pesca, de forma fiável, o qual apresenta resultados diretamente proporcionais à concentração dos compostos, com precisão e exatidão adequados dentro de uma faixa de deteção apropriada ao objetivo proposto.
- Usado com sucesso em amostras reais de interesse comercial, um método de cromatografia iónica com garantia de qualidade dos resultados.

**Ação 3 – Efeito do processamento e controlo dos níveis de polifosfatos nos produtos transformados da indústria da pesca**

**Tarefa 1:** Efeito dos diferentes tipos e níveis de polifosfatos nos tempos de processamento de bacalhau salgado seco.

**Objetivos**

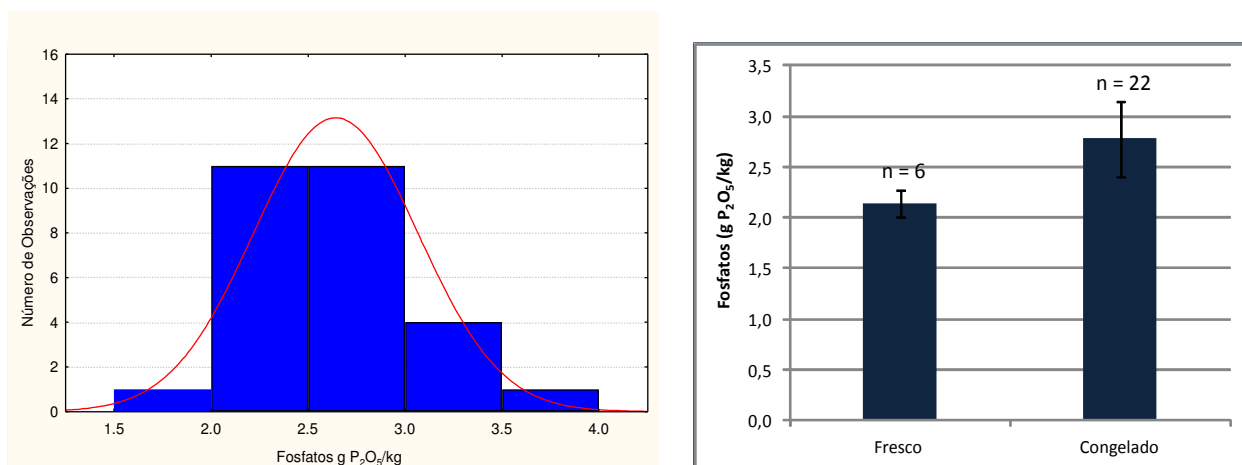
- Determinar os tempos de secagem industrial do bacalhau verde em função de diferentes níveis de polifosfatos presentes.
- Otimizar o processo de secagem em estufa do bacalhau salgado verde de forma a diminuir o consumo de energia.
- Determinar as alterações registadas nos polifosfatos no bacalhau durante o processo de demolha, tanto em ambiente industrial, como a nível do processo culinário doméstico.

**Resultados**

Com recurso à colaboração com os parceiros que apoiam este projeto (Riberlves, S.A.), foram realizados ensaios em meio industrial para: (i) determinação do efeito do processamento industrial (salga, seca e demolha), nos níveis de polifosfatos em pescado salgado seco; (ii) estudo da degradação dos polifosfatos adicionados durante a salga, cura e rehidratação de bacalhau e investigação do efeito do processamento culinário doméstico (demolha) nos níveis de polifosfatos de bacalhau.

Em meio industrial foram ainda realizados estudos de secagem de pescado salgado com diferentes níveis de polifosfatos e determinados os tempos de secagem associados. Com a informação recolhida e conhecidos previamente os níveis de polifosfatos, por exemplo, no bacalhau verde importado, foi possível ter uma estimativa mais exata dos tempos de secagem associados a determinado lote e tornar mais organizada e rentável a gestão de todo o processo industrial. Para o controlo de qualidade dos produtos foram efetuadas determinações analíticas dos níveis de polifosfatos, humidade e cloretos (de acordo com o decreto-lei n.º 25/2005, 28 de Janeiro) nos laboratórios do IPMA.

Tendo em vista determinar os níveis de base de fosfatos em bacalhau, foram analisadas amostras provenientes da indústria e recolhidas na entrada antes do processamento. Como se pode ver pela figura 8, os valores mostraram uma variação entre as amostras frescas (2,1 g P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/kg) e congeladas (2,8 g P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/kg), todavia num intervalo bastante reduzido e provavelmente justificado pela diferente humidade das amostras.



**Figura 8 - Níveis de base de fosfatos em bacalhau em amostras provenientes da indústria e recolhidas à entrada antes do processamento. *Gadus morhus*; Abril 2015; FAO 27 Atlântico NE; n= 28.**

Os polifosfatos podem ser adicionados ao bacalhau utilizando salmouras, mas a concentração de polifosfatos na salmoura ou a duração da aplicação da mesma são determinantes na concentração de polifosfatos que vai ficar incorporada no bacalhau. Para efeitos de cumprimento da legislação é necessário conhecer estes parâmetros pois o valor máximo que é permitido ser adicionado diz respeito à concentração de polifosfatos incorporados no bacalhau, e não à concentração nos tratamentos que são aplicados. Numa escala laboratorial, realizou-se um ensaio que permitiu concluir que uma solução com uma mistura comercial de polifosfatos a 3 % (em salmoura com NaCl a 18 %) ao fim de 1 dia apresenta um acréscimo de cerca de 5 g P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/kg no bacalhau. Outros valores, mais elevados de incorporação de polifosfatos, podem ser observados na figura 9. Noutro ensaio, uma solução com o dobro da concentração de polifosfatos (6 % em salmoura com NaCl a 18 %) resultou numa incorporação de polifosfatos de cerca de 12 g P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/kg no bacalhau, considerando a mesma duração da salmoura. O valor de 5 g P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/kg é o valor máximo permitido a ser adicionado e foi obtido utilizando concentrações de misturas comerciais aconselhadas pelos fabricantes.

Posteriormente este ensaio foi também efetuado em ambiente industrial usando exemplares com cerca de 1,3 kg, em salmouras de 24 h, pois os processos de difusão também dependem do tamanho e formato do produto. Após a salmoura em ambiente industrial, o bacalhau apresentou um acréscimo de  $3.7 \pm 0.3$  e  $9.0 \pm 1.1$  g P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/kg nos tratamentos com 3 e 6 % de polifosfatos, respectivamente.

Noutras matrizes de pescado, como é o caso do polvo, a adição de polifosfatos apresenta um comportamento diferente, quando comparado com o bacalhau. Submergir polvos numa solução com 5 % de trifosfato de sódio durante apenas 4 h é suficiente para que os polvos incorporem 5 g P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/kg (figura 10). Tendo em conta o teor de fosfatos naturais com o de polifosfatos adicionado, apenas 200 g de polvo (ou 120 g de polvo cozido) apresentam os níveis máximos de fósforo recomendado para consumo diário (700 mg P/dia). A adição de polifosfatos perto dos limites máximos permitidos em produtos alimentares, que podem constituir importantes frações das refeições diárias é preocupante, pois os consumidores ficam mais expostos a compostos que já se demonstraram prejudiciais para a saúde humana.

### Efeito dos polifosfatos no processamento industrial

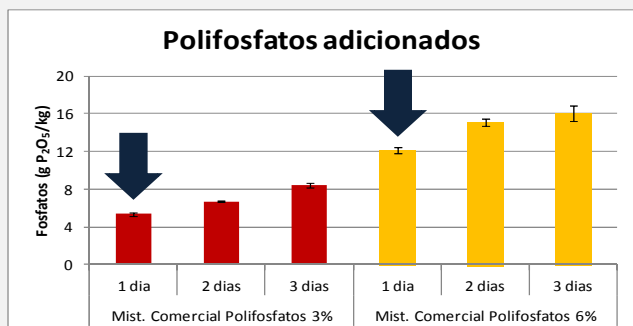
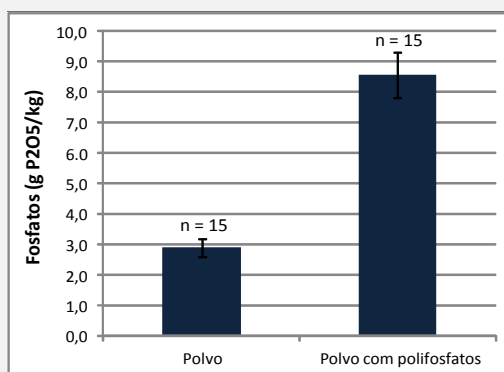


Figura 9 - Níveis de polifosfatos incorporados no bacalhau após serem submetidos em salmouras (NaCl a 18 %) com misturas comerciais de polifosfatos.

### Polvos

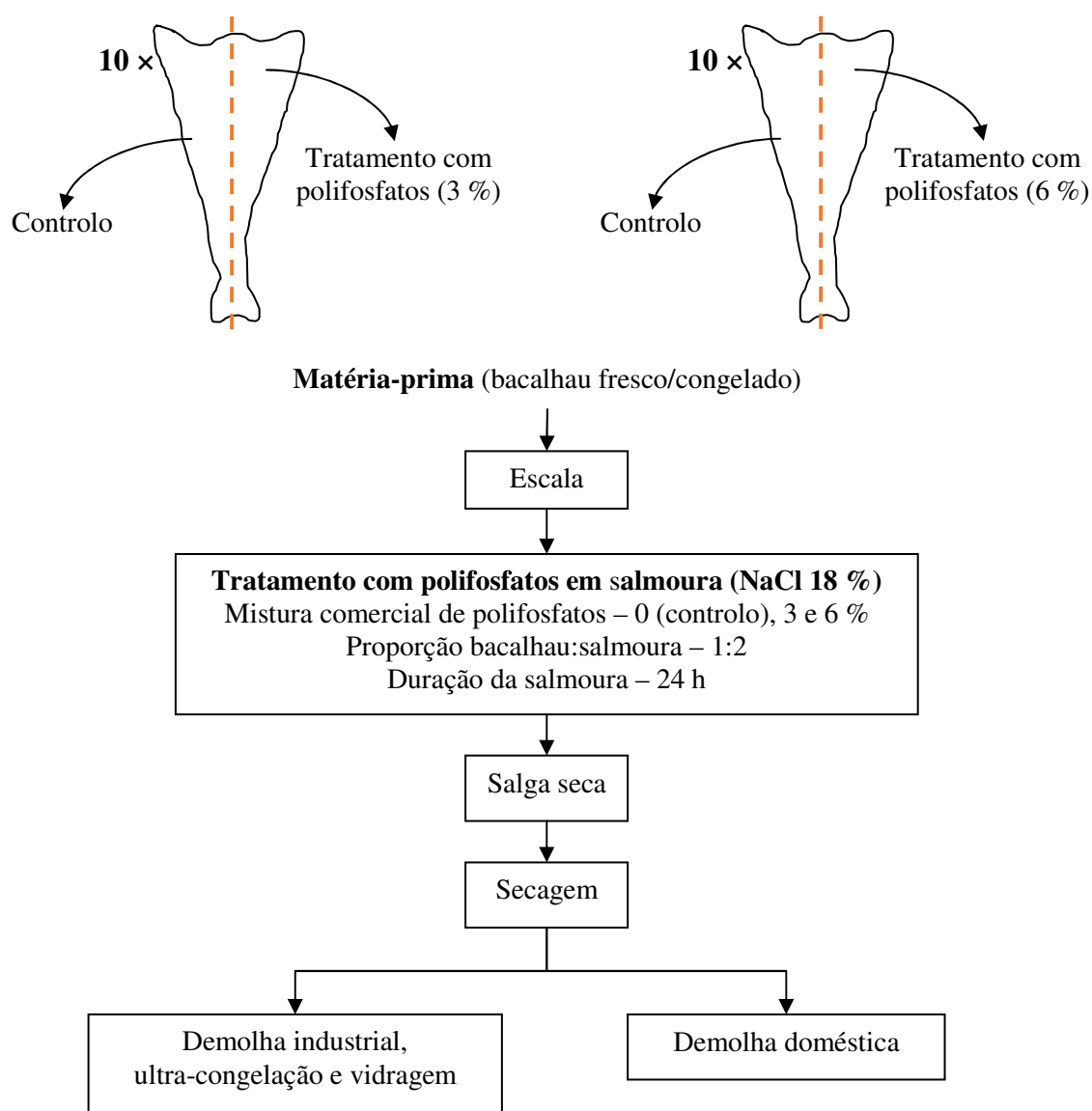


5 % trifosfato (2,9 % P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)  
4 h



Figura 10 - Efeito da adição de polifosfatos em polvo.

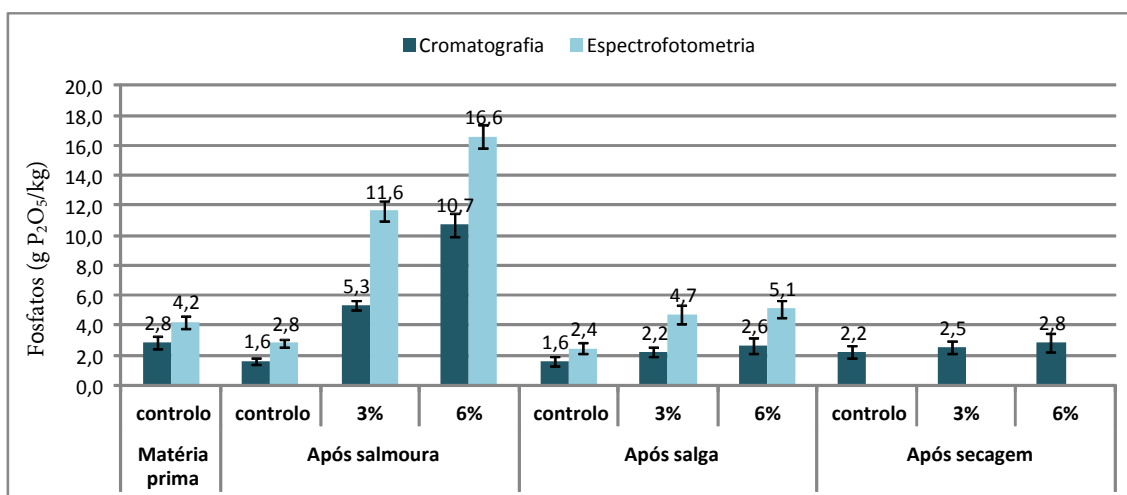
Relativamente ao efeito do processamento industrial (salga, seca e demolha) nos níveis de polifosfatos em bacalhau, foram realizados tratamentos com misturas comerciais de polifosfatos tal como indicado no esquema da figura 11. Utilizaram-se exemplares com cerca de 2,6 kg, os quais foram divididos de modo a eliminar as diferenças entre os indivíduos, tendo sido seguidos ao longo do processamento industrial.



**Figura 11 - Esquema do ensaio realizado para determinação do efeito do processamento industrial (salga, seca e demolha) nos níveis de polifosfatos em bacalhau.**

Os resultados obtidos neste ensaio indicam que o tratamento com polifosfatos, após a salmoura, provocou um aumento da concentração dos polifosfatos de 1,6 para 5,3 e 10,9 g  $P_2O_5$ /kg nos tratamentos com 3 e 6% de polifosfatos respetivamente, quando analisados pelo método cromatográfico (Fig. 12). Durante a salmoura também se registou um decréscimo nos níveis naturais de fosfatos no bacalhau controlo, que foi devido à sua difusão para a salmoura.

O processo de salga utilizado foi a salga seca, no qual o sal é alternado em camadas com o bacalhau, e durante este processo a salmoura que se forma é drenada livremente. Durante a salga seca, os teores de humidade no bacalhau diminuíram de cerca de 80 % para 60 %. Os resultados mostram que, após esta fase do processamento, os valores de polifosfatos no bacalhau foram consideravelmente menores quando comparados com a fase de processamento anterior, o que se pode dever à eliminação dos polifosfatos com a salmoura que é drenada. De qualquer modo, os exemplares de bacalhau dos tratamentos 3 e 6% apresentaram sempre níveis de polifosfatos superiores ao do bacalhau controlo.



**Figura 12 - Efeito do processamento industrial nos níveis de polifosfatos em bacalhau determinados por cromatografia iónica e por espectrofotometria.**

Relativamente à secagem do bacalhau, os exemplares tratados com polifosfatos apresentaram teores mais elevados que o bacalhau do controlo, mantendo a tendência obtida anteriormente. Nesta fase do processamento industrial, o resultado mais relevante está relacionado com o facto da adição de polifosfatos aumentar consideravelmente o tempo de secagem do bacalhau. O bacalhau do controlo ficou seco após 67 horas, enquanto o bacalhau tratado com polifosfatos necessitou de ser mantido nos secadores por um período extra de 85 horas, para apresentarem um equivalente estado de secagem (Fig. 13). Embora não seja possível visualizar na mesma figura, o bacalhau tratado com polifosfatos apresentou uma cor mais branca do que os bacalhau controlo, o que reflete uma alteração no aspeto característico do bacalhau.



**Figura 13 - Efeito da adição de polifosfatos no aspeto e rigidez do bacalhau após a secagem industrial por um período de 67 h.**

Embora os resultados deste ensaio indiquem que durante a salga os polifosfatos adicionados são na sua maioria eliminados através da drenagem da salmoura libertada, os polifosfatos apresentam efeitos negativos no processamento. Os tempos de secagem dos bacalhaus tratados com polifosfatos aumentaram para mais do dobro o que implica custos consideravelmente maiores para os industriais.



Após a demolha, observou-se que nos tratamentos com polifosfatos a superfície do bacalhau apresentou um aspeto manchado de cor branca que foi distinto entre os dois tratamentos com polifosfatos (Fig. 14).

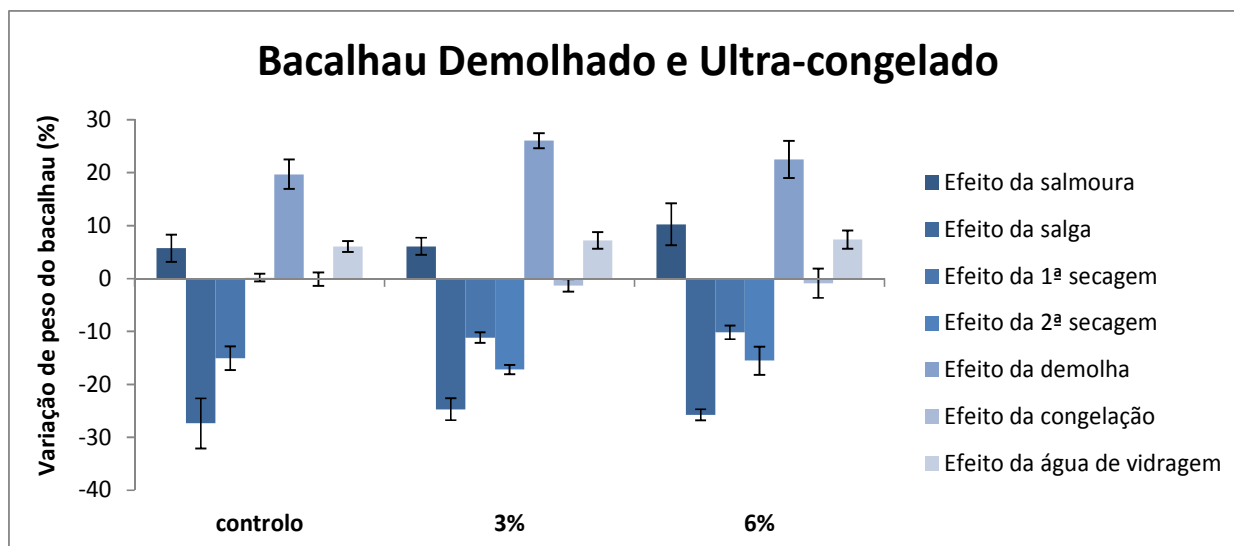


**Figura 14. Efeito da adição de polifosfatos no aspeto da superfície do bacalhau após demolha doméstica**

No tratamento com 3%, as manchas brancas encontram-se distribuídas de um modo mais uniforme e apresentam dimensões menores do que no tratamento a 6%, em que as manchas brancas apresentam maiores dimensões em resultado da coalescência das zonas de precipitação. Esta alteração no aspeto característico do bacalhau após a demolha poderá ser avaliada de forma negativa pelos consumidores, levando mesmo à sua rejeição e pode ser um elemento importante na identificação do uso de polifosfatos no processamento do bacalhau. As amostras obtidas após a demolha industrial e doméstica foram analisadas em termos dos teores de polifosfatos e os resultados mostraram que estes depósitos são constituídos por polifosfatos, com uma concentração 8x superior à existente no interior do bacalhau.

Os tratamentos com polifosfatos apresentaram também efeitos na variação de peso do bacalhau em diversas etapas do processamento industrial do bacalhau (Fig. 15). Salienta-se um maior peso do bacalhau tratado com polifosfatos após a salga e após os ciclos de secagem habituais (identificado na figura como 1.<sup>a</sup> secagem). Desta forma, tanto o bacalhau verde como o bacalhau seco não apresentaram os teores de humidade definidos na legislação, levando que que seja necessário modificar o processamento, no caso de terem sido adicionados polifosfatos ao bacalhau.





**Figura 15 - Efeito da adição de polifosfatos (3 e 6%) na variação de peso do bacalhau ao longo do processamento industrial para obtenção de bacalhau demolhado e ultra-congelado.**

### Colaborações

O desenvolvimento desta ação contou com as parcerias estabelecidas com a Associação dos Industriais do Bacalhau e, em particular, com a empresa Riberlvalves, S.A., que forneceram a matéria-prima indispensável para a realização dos estudos. Esta parceria mostrou-se de grande interesse, na medida em que permitiu desenvolver os ensaios em ambiente industrial e nas condições reais de produção. Permitiu ainda melhorar a ligação entre o sector da produção e o da investigação, contribuindo para aumentar a produtividade da indústria transformadora do bacalhau e melhorar a qualidade dos produtos salgados secos.

### Indicadores de execução

- Definidos os incrementos nos tempos de secagem de bacalhau salgado em função dos níveis de polifosfatos.
- Documentada a especificação dos polifosfatos adicionados intencionalmente ao bacalhau e degradação química durante o processamento industrial e durante o tratamento culinário doméstico usual.

**Tarefa 2:** Rastreio dos níveis de polifosfatos em produtos da pesca e derivados do pescado, no comércio alimentar por grosso ou a retalho.

### Objetivos

- Determinar os níveis de polifosfatos em diferentes produtos congelados derivados do pescado, disponibilizados no comércio alimentar por grosso ou a retalho, em grandes superfícies comerciais ou no pequeno comércio, tendo em vista a aferição do cumprimento da legislação em vigor, a preservação da qualidade dos produtos e a proteção dos consumidores.

### Descrição da ação

Tendo em conta a necessidade de ter uma imagem real do cumprimento da legislação em Portugal, sobre a utilização de polifosfatos em produtos da pesca congelados e da sua utilização no processo de salga/seca de bacalhau e presença em produtos salgados secos ou demolhados, foi efetuado um rastreio de mercado, dos níveis de polifosfatos existentes em produtos derivados do pescado disponíveis ao nível do comércio por grosso ou a retalho, em grandes superfícies comerciais ou no pequeno comércio.

A avaliação da qualidade dos produtos, passou em primeiro lugar pelo controlo das especificações da rotulagem, em termos de utilização de polifosfatos e pelo confronto com a legislação em vigor, nomeadamente o Decreto-Lei n.º 134/2002 de 14 de maio. Laboratorialmente, foram efetuados os testes de qualidade que envolvem a determinação do teor de humidade e dos níveis dos diferentes polifosfatos presentes nos diversos produtos congelados (i.e., miolo de camarão, cefalópodes, filetes de pescado, delicias

do mar, pescado em posta congelado, pastas de pescado, etc.) e nos produtos salgados/secos e/ou demolhados. Foram ainda determinados os níveis de cloretos, nos produtos salgados secos ou demolhados para controlo do cumprimento da legislação em vigor.

Em termos do rastreio do mercado, foram recolhidas 39 amostras de bacalhau do Atlântico (*G. morhua*) e do Pacífico (*G. macrocephalus*) e escamudo do Alasca (*Theragra chalcogramma*), num total de vinte e cinco lotes diferentes, em oito indústrias de transformação de bacalhau, localizando-se sete destas indústrias na região centro e uma na área metropolitana de Lisboa. A recolha foi efetuada nos meses de julho e agosto de 2015. A caracterização das amostras analisadas encontra-se na Tabela 5.

**Tabela 5 - Caracterização das amostras de bacalhau analisadas**

Nº de amostras	Estado Físico	Espécie	País exportador
2	Congelado	<i>G. morhua</i>	China
8	Salgado verde	<i>G. morhua</i>	Islândia
1	Salgado verde	<i>G. morhua</i>	Inglaterra
4	Salgado verde	<i>G. morhua</i>	Noruega
15	Salgado verde	<i>G. morhua</i>	n.d.
1	Salgado semi-seco	<i>G. morhua</i>	Islândia
3	Salgado seco	<i>G. morhua</i>	Islândia
2	Salgado seco	<i>G. morhua</i>	Noruega
1	Salgado seco	<i>G. macrocephalus</i>	Alasca (EUA)
1	Salgado seco	<i>T. chalcogramma</i>	Alasca (EUA)
1	Demolhado ultracongelado	<i>G. morhua</i>	n.d.

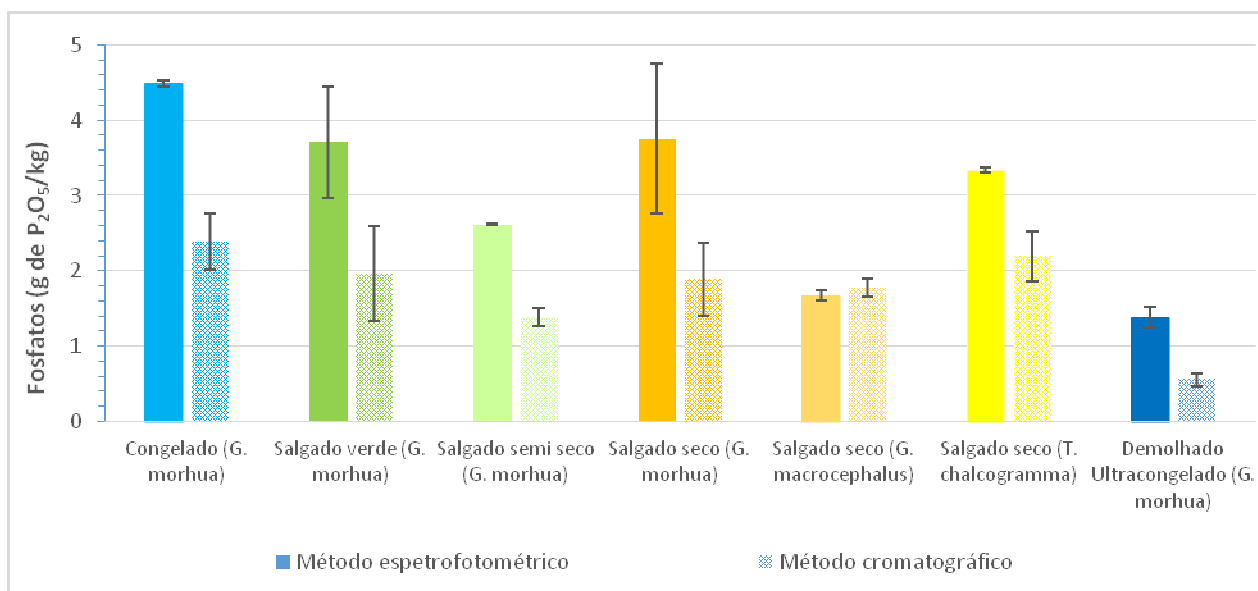
n.d. – informação não disponível

Após chegada ao laboratório as amostras foram armazenadas, sendo as amostras salgadas verdes, semi-secas e secas armazenadas a + 3 °C e as congeladas e ultracongeladas a – 19 °C. O teor de fosfatos, expresso em g de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/kg de amostra, foi determinado por dois métodos diferentes: o método espectrofotométrico e o método cromatográfico. Os valores obtidos pelo método espectrofotométrico variam entre 1,4 ± 0,1 g de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/kg de amostra para o bacalhau demolhado ultracongelado (*G. morhua*) e 4,5 ± 0,0 g de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/kg de amostra para o bacalhau congelado (*G. morhua*) enquanto os valores obtidos pelo método cromatográfico variam entre 0,6 ± 0,1 g de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/kg de amostra para o bacalhau demolhado ultracongelado (*G. morhua*) e 2,4 ± 0,4 g de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/kg de amostra para o bacalhau congelado (*G. morhua*).

Os resultados obtidos pelo método espectrofotométrico são superiores aos valores obtidos através do método cromatográfico (Fig. 16). Nguyen *et al.* (2012) também verificaram que os valores dos fosfatos determinados por cromatografia iónica eram inferiores aos níveis obtidos através de quantificação do fósforo total (método espectrofotométrico). Os autores desse estudo justificaram esta diferença referindo que o método cromatográfico identifica e quantifica a espécie exata presente no extrato, ou seja os fosfatos solúveis, enquanto o método espectrofotométrico determina o fósforo total presente no alimento, resultado da combustão de todas as espécies de fosfatos em ortofosfatos, incluindo os fosfatos naturais presentes no músculo e os fosfatos adicionados.

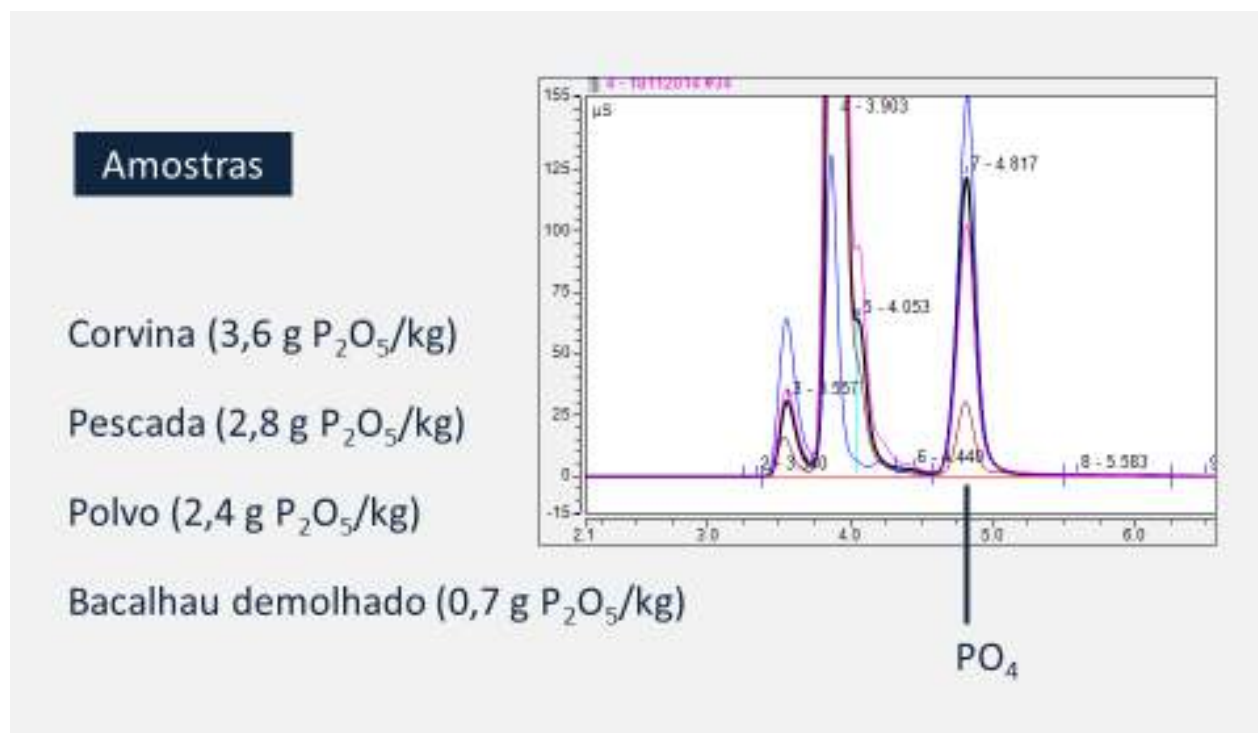
Os resultados deste estudo, obtidos por espectrofotometria, para as diferentes amostras de bacalhau (*G. morhua*) congelado, salgado verde e bacalhau demolhado ultracongelado, e por comparação com os valores publicados noutros trabalhos (Thorarinsdottir *et al.*, 2001; Schröder, 2010) indicam que não há suspeita da adição de polifosfatos. Mais acresce que embora não tenham sido encontrados estudos com indicação dos valores naturais de fosfatos no bacalhau salgado semi-seco e seco, os valores relativamente baixos de fosfatos e de pH, por um lado, e o teor de humidade dentro dos valores considerados normais, por outro, apontam no mesmo sentido de não ter havido adição de polifosfatos ao bacalhau analisado.

A cromatografia iónica permitiu detetar apenas ortofosfatos ( $\text{PO}_4$ ), indicando que se existissem inicialmente, outras espécies como difosfatos e trifosfatos estes tinham sido degradados durante a armazenagem. Assim, pode-se concluir que os dados obtidos nas trinta e nove amostras colhidas indicam não haver suspeitas da adição de polifosfatos, sendo de considerar que os níveis naturais (determinados por espectrofotometria) se encontram entre  $1,4 \pm 0,1$  g de  $\text{P}_2\text{O}_5/\text{kg}$  para o bacalhau demolhado ultracongelado e  $4,5 \pm 0,1$  g de  $\text{P}_2\text{O}_5/\text{kg}$  para o bacalhau congelado (sem processamento). Considerando estes valores como sendo representativos dos níveis de base, valores acima destes indicarão, possivelmente, a adição de polifosfatos.



**Figura 16 - Teor médio de fosfatos determinados por espectrofotometria e cromatografia, expressos em g de  $\text{P}_2\text{O}_5/\text{kg}$  de amostra, no músculo das espécies *G. morhua*, *G. macrocephalus* e *T. chalcogramma* com diferentes tipos de apresentação (congelado, salgado verde, salgado semi-seco, salgado seco, demolhado ultracongelado). As barras de erro representam o desvio padrão.**

No que respeita a esta tarefa foi ainda efetuada a quantificação dos níveis naturais de fosfatos em polvo e corvina, e a quantificação de fosfatos em amostras comerciais de pescada e bacalhau salgado seco demolhado, utilizando a metodologia de cromatografia iónica (Fig. 17).



**Figura 17 – Cromatogramas tipo e valores de base de ortofosfato (PO<sub>4</sub>) determinados por cromatografia iónica em amostras de corvina, pescada, polvo e bacalhau demolhado.**

A utilização de polifosfatos e citratos no processamento do polvo de amostras comerciais foi também objeto de estudo neste projeto. Assim, com a colaboração de uma associação de consumidores foi feita, durante o mês de junho de 2015, uma pesquisa no mercado a fim de conhecer as marcas de polvo congelado presentemente comercializadas no mercado nacional. O universo de estudo compreendeu as marcas de polvo congelado vendido sobre a forma embalada ou a granel no comércio tradicional (minimercados e lojas de congelados) e grande distribuição (híper/supermercados). A recolha de informação ocorreu em 40 estabelecimentos, de cinco distritos de Portugal Continental (Lisboa, Porto, Guarda, Braga e Faro) e Ilhas Madeira e Açores.

Destas marcas foi selecionado um conjunto de 25 marcas, assente na representatividade geográfica e frequência da marca no mercado (isto é, nº de vezes que uma mesma marca se repete nos vários estabelecimentos visitados). Tomou-se também em consideração a representatividade por canal de distribuição (grande distribuição e comércio tradicional). Com efeito e dado a crescente importância das MDD (marcas próprias da grande distribuição), cerca de metade da amostra é composta por marcas próprias (56 % de marcas de fabricante e 44 % marcas de distribuição). A amostra não inclui marcas com distribuição regional, nem com distribuição restrita às Regiões Autónomas da Madeira ou dos Açores. A amostra assentou também num critério de homogeneidade das amostras no que se refere ao tipo de produto: polvo inteiro ultracongelado das espécies *Octopus vulgaris*, *O. minus*, *O. cyane* e *O. maya*.

Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 6 e a sua avaliação permite concluir que:

1. Todas as amostras apresentaram valores baixos de fosfatos em comparação com os valores conhecidos para amostras naturais de polvo 2,2 - 3,0 g P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/kg), O elevado teor de humidade (perto de 90 %; os níveis naturais são entre 78-80 %) poderá ter contribuído para esta redução dos valores.
2. Não foram detetados polifosfatos inorgânicos adicionados, embora tenham sido indicados como ingrediente numa amostra (03-25), pelo que a notação usada foi “menor que o limite de deteção” (< LD).
3. Existem várias amostras com citratos e falha de indicação no rótulo.

**Tabela 6 - Teor Total de Fosfatos, Polifosfatos e Citratos em amostras de polvo.**

Referência	Fosfatos totais (g P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> /kg)*	Polifosfatos (g P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> /kg)**				Citratos (g/kg)***
		PO <sub>4</sub>	P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	P <sub>3</sub> O <sub>9</sub>	P <sub>3</sub> O <sub>10</sub>	
01	1,67	0,89	<LD	<LD	<LD	0,29
02	1,53	0,79	<LD	<LD	<LD	<LD
03	1,77	0,73	<LD	<LD	<LD	0,33
04	2,32	1,25	<LD	<LD	<LD	<LD
05	2,68	1,01	<LD	<LD	<LD	<LD
06	1,69	0,90	<LD	<LD	<LD	0,28
07	2,04	1,08	<LD	<LD	<LD	0,20
08	1,76	0,99	<LD	<LD	<LD	0,24
09	1,89	0,91	<LD	<LD	<LD	<LD
10	1,43	0,68	<LD	<LD	<LD	<LD
11	1,56	0,79	<LD	<LD	<LD	<LD
12	1,90	0,87	<LD	<LD	<LD	<LD
13	1,42	0,71	<LD	<LD	<LD	0,23
14	1,36	0,65	<LD	<LD	<LD	<LD
15	0,99	0,50	<LD	<LD	<LD	0,19
16	1,92	0,97	<LD	<LD	<LD	0,48
17	1,80	0,72	<LD	<LD	<LD	0,60
18	2,10	1,37	<LD	<LD	<LD	1,47
19	1,73	0,85	<LD	<LD	<LD	0,12
20	1,67	0,79	<LD	<LD	<LD	0,10
21	1,53	0,67	<LD	<LD	<LD	0,33
22	2,05	0,81	<LD	<LD	<LD	0,15
23	1,31	0,62	<LD	<LD	<LD	0,18
24	1,85	0,79	<LD	<LD	<LD	0,86
25	1,41	0,79	<LD	<LD	<LD	<LD

\* Calculados pelo teor de fósforo total segundo a NP 4495, Esta análise sobrestima o valor dos fosfatos totais pois baseia-se na transformação do teor total de fósforo em fosfatos expressos em P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

\*\* Polifosfatos determinados por cromatografia iônica (Dionex application update 172, 2010), Esta análise deteta os fosfatos naturais (PO<sub>4</sub>) e também os polifosfatos inorgânicos adicionados (P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>; P<sub>3</sub>O<sub>9</sub>; P<sub>3</sub>O<sub>10</sub>), que são suscetíveis de se degradarem e converterem em PO<sub>4</sub>.

PO<sub>4</sub> – LD = 0,10 g P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/kg – LQ = 0,34 g P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/kg

P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> – LD = 0,12 g P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/kg – LQ = 0,41 g P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/kg;

P<sub>3</sub>O<sub>9</sub> – LD = 0,11 g P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/kg – LQ = 0,38 g P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/kg;

P<sub>3</sub>O<sub>10</sub> – LD = 0,16 g; P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/kg – LQ = 0,53 g; P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/kg

\*\*\* Citratos – LD = 0,02 g/kg

Em conclusão pode-se dizer que a utilização de polifosfatos no processamento de polvo não constitui um problema que possa pôr em risco a saúde do consumidor, pois todos os produtos têm valores muito baixos, embora a correta informação da presença destes não esteja assegurada, dadas as deficiências registadas na rotulagem dos produtos.

Outra atividade realizada nesta tarefa, relativa à verificação do cumprimento do valor máximo legislado do teor de fosfatos permitidos nos produtos da pesca (5 g P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/kg), baseou-se na análise dos resultados obtidos nas amostras de controlo de qualidade dos clientes do Laboratório de Controlo de Qualidade da Divisão de Aquacultura e Valorização do IPMA e analisadas durante 20 anos (1995-2015).

As “delícias do mar” (sucédâneos de caranguejo) apresentaram os valores médios de fosfatos totais mais baixos (1,3 g P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/kg), enquanto nalgumas amostras de camarão, pescada e bacalhau seco e salgado se registaram teores superiores a 10 g P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/kg. Apesar destes valores elevados, a maioria das amostras analisadas estava dentro dos limites permitidos.

Para um controlo adequado dos fosfatos adicionados, os níveis de base dos fosfatos também foram caracterizados. Usando dados de amostras naturais foi possível determinar que o teor médio de fosfatos naturais, expresso em P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, variou entre 3,4 g/kg em dourada selvagem e 6,5 g/kg em cavala.

A fim de testar a validade da utilização do fator 10,6 mg P/g de proteína para estimar o teor de fosfatos orgânicos em todos os produtos da pesca, determinou-se esta relação em vários produtos. Verificou-se que dependia grandemente da espécie, sendo 16,1 mg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/g de proteína em dourada selvagem e cerca de 33 mg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/g de proteína em sardinha e lula. Estes valores do fator de conversão proteína:fósforo obtidos para diferentes produtos da pesca, permitem estabelecer o limite dos teores naturais de fosfatos em diferentes espécies de pescado e assim estimar a quantidade de fosfatos eventualmente adicionados.

### Colaborações

O desenvolvimento desta ação contou com o apoio das seguintes empresas que forneceram as amostras de bacalhau indispensáveis para a realização deste estudo: FRICAR - Comércio e Indústria de Peixe, Lda.; Frigoríficos da Ermida, Comercialização de Produtos Alimentares; Grupeixe - Produtos Alimentares, Lda.; LUGRADE - Bacalhau de Coimbra, S.A.; Manuel Marques, Lda.; Marserra Alimentar, Lda.; Riberalves-Comércio e Indústria de Produtos Alimentares, S.A. e Rui Costa e Sousa e Irmão, S.A. Colaborou ainda nesta ação uma associação de defesa do consumidor (EDIDECO) que teve a seu cargo a realização de um estudo de mercado das amostras de polvo mais consumidas em Portugal, que incluiu a aquisição das amostras e entrega no IPMA.

### Indicadores de execução

- Determinados os níveis de polifosfatos e citratos existentes em diversos produtos derivados do pescado disponíveis comercialmente.
- Elaborada uma tese de mestrado (Fernandes, 2016), fundamentada no rastreio de polifosfatos nos produtos da pesca, com conclusões sobre medidas a adotar a nível oficial e industrial para controlo da utilização destes compostos no processamento do bacalhau salgado seco.

### Ação 4 – Disseminação dos resultados

**Tarefa 1:** Participação em conferências, elaboração e divulgação de relatórios, artigos científicos e brochuras para o setor

### Objetivos

- Proporcionar a maior disseminação possível dos resultados obtidos entre os participantes do projeto, o setor da fileira da pesca nacional, a restante comunidade científica nacional e internacional e os consumidores.

### Descrição da tarefa

Preparou-se um resumo de comunicação oral sobre o tema “Phosphate levels in seafood products in Portugal: where to after two decades of quality control?” enviado para a International Conference on Food Safety and Regulatory Measures realizada entre 17 a 19 de Agosto de 2015 em Birmingham, UK.

Foi elaborado para apresentação na 5th Trans-Atlantic Fisheries Technology (45th WEFTA meeting) Conference em, Nantes, France o trabalho “Characterization of baseline levels of phosphates and quantification of added phosphates in seafood products in Portugal”. Na sequência da aceitação do trabalho, dificuldades na execução do projeto impediram a participação nesta conferência.

Está a ser preparado um artigo de revisão sobre o tema “Polifosfatos em produtos da pesca”, e foi submetido um outro artigo científico no qual são apresentados e discutidos os dados dos níveis naturais de fosfatos em produtos da pesca e dos níveis de fosfatos adicionados a amostras comerciais de produtos da pesca, “Phosphate levels in seafood products from the Portuguese market: is there a need for concern?”

### **Indicadores de sucesso**

- Em fase de finalização a elaboração de dois artigos científicos a serem apresentados em revistas científicas internacionais indexadas com revisores.

### **Ação 5 – Gestão das atividades**

**Tarefa 1:** Gestão financeira, de pessoal, tarefas e patentes

### **Objetivos**

- Conduzir todas as atividades de gestão e coordenação do projeto.

### **Resultados**

Sendo a adequada gestão do projeto uma ação crucial durante todo período de execução, pois permite assegurar que o mesmo decorre dentro dos parâmetros definidos inicialmente entre os intervenientes como forma de atingir os objetivos propostos, tem-se a referir que foram encontradas dificuldades que limitaram a total prossecução dos objetivos enunciados inicialmente. Estas limitações afetaram não só a aquisição de reagentes e consumíveis, que prejudicaram a realização de ensaios e análises previstas, como afetaram algumas das atividades de disseminação inicialmente previstas no projeto.

### **Indicadores de execução**

- Asseguradas dentro dos prazos previstos as tarefas planeadas.
- Garantida uma boa gestão do pessoal em relação às tarefas desenvolvidas e assegurada a execução financeira do projeto nos moldes autorizados superiormente.

## **5. Indicadores mínimos de sucesso**

Com os resultados das ações coletivas desenvolvidas no projeto considera-se que se contribuiu, de um modo geral, para a implementação e teste de novas metodologias analíticas e para um melhor conhecimento das tecnologias de conservação e processamento do pescado, em particular do bacalhau, como forma de melhorar a qualidade para consumo humano. Assim, tendo em consideração os indicadores mínimos de sucesso de desenvolvimento tecnológico previstos no projeto, foram as seguintes as metas alcançadas:

- Instaladas e desenvolvidas técnicas analíticas que permitam o controlo dos níveis de polifosfatos adicionados ao pescado.
- Disponibilizados aos órgãos de controlo oficial da qualidade dos produtos da pesca, sob a forma de apoio analítico, instrumentos de aferição do cumprimento da legislação no domínio dos níveis de polifosfatos adicionados aos produtos derivados do pescado (bacalhau em particular).
- Efetuada colaboração com as atividades produtivas de modo a estimular e implementar a capacidade competitiva das empresas do setor da transformação do pescado, através da transferência de resultados de I&D obtidos à escala laboratorial para a escala piloto/protótipo.
- Elaboradas recomendações e linhas de orientação para as unidades de processamento de bacalhau salgado seco, aplicando as estratégias de processamento determinadas.

## **6. Impacte do projeto: benefícios sócio-económicos**

Com o desenvolvimento deste projeto e efetuada a instalação e a aplicação, a médio prazo, em rotina das novas metodologias de controlo dos níveis de polifosfatos nos produtos da pesca, estão criadas no sector as condições que permitem um melhor controlo dos polifosfatos no pescado e, em particular, no bacalhau importado, não só ao nível do mercado de retalho, salvaguardando a qualidade dos produtos e a segurança dos consumidores, mas também por parte das indústrias processadoras de bacalhau. Com a disponibilização de adequadas ferramentas de controlo, as empresas poderão, por seu lado, validar também a qualidade do pescado importado e qualificar os fornecedores.

No médio prazo, os resultados deste projeto permitem ainda ao setor a prossecução dos objetivos enunciados nos princípios e regras da Política Comum de Pesca, como por exemplo a aposta na inovação e na qualidade dos produtos e aproveitando melhor todas as possibilidades da pesca. A transferência de resultados e a incorporação do conhecimento tecnológico nas PME será o último elemento chave de toda a estratégia, pois permitirá melhorar a competitividade e rentabilidade do setor e promoverá a aproximação registada durante este projeto entre a investigação científica e os profissionais do setor da fileira da pesca.

No domínio das prioridades do programa PROMAR, considera-se que este projeto teve um impacte significativo na área geográfica da maioria das empresas do setor industrial da fileira da pesca e também nas áreas da comercialização e transformação. Os objetivos atingidos são particularmente relevantes para as regiões Norte e Centro, uma vez que estas representam as principais zonas de transformação dos produtos da pesca em Portugal Continental, sendo que nestas regiões, se concentra uma grande parte da indústria transformadora de pescado, nomeadamente de bacalhau salgado seco e de produtos da pesca congelados.

## **7. Nível de execução de objetivos**

Em termos de execução dos objetivos específicos estabelecidos para o projeto, foram atingidos com sucesso os seguintes pontos:

1. Deteção e quantificação dos diferentes tipos de fosfatos adicionados aos produtos da pesca, por metodologia rápida de cromatografia líquida iónica com deteção condutimétrica e supressão química da condutividade de fundo.
2. Implementação de metodologia de controlo de qualidade dos produtos da pesca que permita o seu controlo oficial e a qualificação de fornecedores por parte dos industriais do bacalhau, no domínio do teor de polifosfatos.
3. Validação parcial (exatidão e incerteza pendentes da existência de Material de Referência Certificado) da metodologia de deteção e quantificação de diferentes tipos de polifosfatos em produtos da pesca, considerando diversos parâmetros cromatográficos e em função de diretrizes pré-estabelecidas, utilizando os critérios de validação estabelecidos por organizações europeias competentes para a obtenção das condições necessárias à análise proposta.
4. Determinação do incremento dos tempos de secagem industrial do bacalhau verde em função de diferentes níveis de polifosfatos presentes. Determinação das alterações registadas nos polifosfatos no bacalhau durante o processo de salga, seca e demolha, em ambiente industrial e de demolha de acordo com o processo culinário usual.
5. Determinação dos níveis de polifosfatos em diferentes produtos congelados derivados do pescado, disponibilizados no comércio alimentar por grosso ou a retalho, em grandes superfícies comerciais ou no pequeno comércio, tendo em vista a aferição do cumprimento da legislação em vigor, a preservação da qualidade dos produtos e a proteção dos consumidores.



6. Disseminação dos resultados junto de profissionais do setor das pescas, autoridades competentes e associação de consumidores, através da realização de ensaios de colaboração e elaboração de trabalhos de divulgação.

### Referências bibliográficas

- Dionex, 2010. Determination of Polyphosphates Using Ion Chromatography. Application Update 172, Dionex Corporation, LPN 2496 PDF 4/10.
- EFSA, 2013. Assessment of one published review on health risks associated with phosphate additives in food. *European Food Safety Authority Journal* 2013, 11(11):3444, 27pp. doi:10.2903/j.efsa.2013.3444.
- European Commission, 2002. Decision (EC) No. 657/2002. 12 August 2002. *Official Journal of the European Union*, L221, 8–36.
- European Commission, 2004. Regulation (EC) No. 882/2004. 29 April 2004. *Official Journal of the European Union*, L165, 1–141.
- Fernandes, C., 2016. Monitorização da utilização de polifosfatos no processamento de bacalhau. Tese de mestrado em engenharia alimentar. Instituto Superior de Agronomia.
- INE, 2015. Estatísticas da Pesca 2014. Instituto Nacional de Estatística, I.P., Direcção-Geral de Recursos Naturais Segurança e Serviços Marítimos, edição 2015, Lisboa, Portugal, 146 p.
- Nguyen, M. V., Jonsson, J. O., Thorkelsson, G., Arason, S., Gudmundsdottir, A., Thorarinsdottir, K. A., 2012. Quantitative and qualitative changes in added phosphates in cod (*Gadus morhua*) during salting, storage and rehydration. *LWT-Food Science and Technology*. 47, 126-132.
- NP 4495, 2010. Norma Portuguesa, Determinação do teor total de fósforo, Método espectrofotométrico, Produtos da pesca e aquicultura. Instituto Português da Qualidade, Caparica, Portugal.
- Schröder, U., 2010. Changes in phosphate and water content during processing of salted pacific cod (*Gadus macrocephalus*). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 19: p. 16-25.
- Thorarinsdottir, K. A., Arason, S., Bogason, S. G., e Kristbergsson, K., 2001. Effects of phosphate on yield, quality and water-holding capacity in the processing of salted cod (*Gadus morhua*). *Journal of Food Science*, 66: p. 821- 826.
- Thorarinsdottir, K. A., Arason, S. e Torkelsson, G., 2010. The role and fate of added phosphates in salted cod products. *Icelandic Food and Biotech R&D, Report Summary, Matís*. July 2010. p1-28.

