

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO -
UENF**

GRAZIELA RANGEL SILVEIRA

**PRAZO DE VALIDADE DE TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*) MANTIDAS SOB
REFRIGERAÇÃO EM DIFERENTES PERÍODOS DE ESTOCAGEM**

**Campos dos Goytacazes – RJ
2013**

GRAZIELA RANGEL SILVEIRA

PRAZO DE VALIDADE DE TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*) MANTIDAS SOB REFRIGERAÇÃO EM DIFERENTES PERÍODOS DE ESTOCAGEM

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Francimar Fernandes Gomes

**Campos dos Goytacazes – RJ
2013**

GRAZIELA RANGEL SILVEIRA

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*)
MANTIDA SOB REFRIGERAÇÃO EM DIFERENTES PERÍODOS DE ESTOCAGEM**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

APROVADA EM 18/03/2013.

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof.^a Ana Bárbara Freitas Rodrigues (Doutora em Produção Animal) – UENF

Prof. Dirlei Molinari Donatele (Doutor em Produção Animal) – UFES

Prof. Fábio da Costa Henry (Doutor em Medicina Veterinária) – UFF

Prof. Leonardo Serafim da Silveira (Doutor em Produção Animal) – UENF

Prof. Francimar Fernandes Gomes (Doutor em Produção Animal) – UENF
(orientador)

Dedico este trabalho:

Aos meus pais Marly Siqueira Rangel Silveira e José Antônio Silveira

Que sempre reconheceram o valor de uma boa educação. Dedico a vocês também parte de meu futuro, pois vocês abriram mão de muitas coisas para reservar a mim e minha irmã uma educação e um futuro digno! Esta conquista também pertence a vocês acima de tudo.

À minha irmã Gleice Rangel Silveira Lima

Por toda a amizade e amor que existe entre nós, além da ajuda inestimável para a execução deste trabalho. Obrigado por tornar meus caminhos mais alegres, dedico a você também este trabalho.

Ao meu marido Leonardo Chaves Alvarenga

Ofereço a você meu amor, por todo carinho, apoio, incentivo e compreensão, que sempre me acompanhou em busca dos meus sonhos sem nenhuma cobrança, aceitou e apoiou minhas decisões. É por minha gratidão e amor que dedico a você esta dissertação.

AGRADECIMENTOS

Ao professor, Doutor Francimar Fernandes Gomes, minha gratidão pela oportunidade proporcionada, por toda sabedoria que pacientemente me ensinou.

Ao professor, Doutor Leonardo Serafim da Silveira, pela contribuição nos experimentos e na análise histológica.

Ao professor, Doutor Fábio da Costa Henry, pelas contribuições com ideias e por todo apoio e incentivo.

Ao professor, Doutor Dirlei Molinari Donatele pelas valiosas sugestões.

À professora, Doutora Ana Bárbara Freitas Rodrigues, que gentilmente cedeu o espaço para a execução deste trabalho.

Ao professor, Doutor Pedro Pierro Mendonça, que nos doou as amostras de Tilápias.

Aos professores Márcio Manhães Folly e Olney Vieira da Motta, por nos acolherem em seus laboratórios.

À professora Meire Lelis Leal Martins pelo empréstimo de materiais e permissão para uso de equipamentos.

Aos técnicos do LSA: Lourdes, Gina e Solange que contribuíram para o bom andamento deste trabalho.

Aos julgadores da análise sensorial: Inês, Liliana, Carolina, Marilena, Josias, Hingrid, Louise, Gleice, Gedson, Nathália e Isabel pela contribuição na parte experimental e pela paciência exigida pelo treinamento.

À UENF e FAPERJ pelo patrocínio do projeto.

RESUMO

Define-se como vida comercial dos alimentos o período necessário para que esses sejam comercializados sem oferecer riscos à saúde do consumidor. Durante sua vigência o fabricante deve informar as condições de preservação da matéria prima para que essa se mantenha apta ao consumo. Produtos comercializados fora do prazo podem apresentar alterações de natureza microbiológica, física ou química capazes de provocar intoxicações e infecções alimentares. No que concerne à comercialização de pescado fresco, não se observa na legislação brasileira a obrigatoriedade do cumprimento de um prazo específico, entretanto a estimativa desse intervalo é importante para se estabelecer um melhor monitoramento, por parte dos serviços de vigilância sanitária. A presente pesquisa teve como objetivo avaliar a qualidade de Tilápias (*Oreochromis niloticus*) mantidas sob o gelo e a 4°C. Durante o período de 25 dias a sequência de degradação foi avaliada a intervalos de dois ou três dias, por meio de análises histológica, sensorial, determinação de pH e quantificação de micro-organismos heterotróficos aeróbios mesófilos e psicotróficos. As contagens microbiológicas para as amostras refrigeradas a 4°C foram maiores do que para as estocadas sob o gelo durante todo o período experimental. O limite de aceitação de 10^7 UFC/grama foi encontrado após o nono dia para o grupo refrigerado, e 14° para as amostras contidas no gelo. A análise histológica mostrou boas condições até o 9° dia para ambos os tratamentos, a partir do qual foi observada acentuada desorganização do tecido e ruptura de fibras. A avaliação sensorial mostrou qualidade até o 11° dia para peixes refrigerados e 14 dias para amostras conservadas sob o gelo. A análise de pH (com limite de aceitação de 6,4) mostrou boas condições até o 11° e 18° dia, para as amostras refrigeradas e mantidas no gelo respectivamente. Considerou-se como prazo de validade comercial o período de 9 dias para amostras refrigeradas a 4°C e 14 dias para amostras conservadas sob o gelo.

Palavras-chave: peixe, deterioração, microbiologia, análise sensorial, histologia.

ABSTRACT

Shelf life of foods is defined as the period necessary for them to be marketed without any risk to consumer health. During its lifetime the manufacturer must inform the conditions of preservation of raw material so that it keeps fit for consumption. Products marketed after the deadline may show microbiologic, physical or chemical changes capable of causing food poisoning and infections. Regarding the marketing of fresh fish, it is not observed in the Brazilian legislation a mandatory compliance with a specific deadline; however the estimate of this interval is important to establish better monitoring, on the part of health surveillance services. This study aimed to evaluate the quality of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) stored under ice and at 4°C. During the 25 days degradation sequence was evaluated at intervals of two or three days, by histological analysis, sensory, pH determination and quantification of microorganisms heterotrophic aerobic mesophilic and psychrotrophic. Microbiological counts for samples chilled at 4°C were larger than for stored under ice throughout the experimental period. The limit of acceptance of 10^7 UFC/gram was found after the 9th day for refrigerated group, and 14° for the samples stored in ice. The histological analysis showed good conditions until the ninth day for both treatments, thereafter was observed pronounced tissue disorganization and fibers rupture. The sensory evaluation has showed quality until the 11th day to refrigerated fish and 14 days for samples preserved in the ice. The pH analysis (with a limit of acceptance 6.4) showed good condition until the 11th and 18th day to the samples refrigerated and maintained on ice respectively. It has considered as the shelf life a period of 9 days for samples refrigerated at 4°C and 14 days for samples stored under the ice.

Keywords: fish, deterioration, microbiology, sensory analysis, histology.

SUMÁRIO

RESUMO.....	V
ABSTRACT.....	vi
INTRODUÇÃO.....	9
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	11
Características gerais da carne do peixe.....	11
A pesca no cenário nacional.....	13
Conservação pelo frio.....	14
Risco a saúde pública.....	15
Qualidade dos produtos da pesca.....	17
OBJETIVOS.....	19
Objetivo geral.....	19
Objetivos específicos.....	19
TRABALHOS.....	20
Capítulo 1: AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE TILÁPIA (<i>Oreochromis niloticus</i>) INTEIRA MANTIDA SOB REFRIGERAÇÃO EM DIFERENTES PERÍODOS DE ESTOCAGEM.....	21
RESUMO.....	21
ABSTRACT.....	22
INTRODUÇÃO.....	23
MATERIAL E MÉTODOS.....	25
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
CONCLUSÕES.....	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37
Capítulo 2: PRAZO DE VALIDADE DE TILÁPIAS (<i>Oreochromis niloticus</i>) INTEIRAS MANTIDA SOB GELO.....	40
RESUMO.....	40
ABSTRACT.....	41
INTRODUÇÃO.....	42

MATERIAL E MÉTODOS.....	44
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
CONCLUSÕES.....	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55
CONSIDERAÇÕES.....	58
CONCLUSÕES.....	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72

1. INTRODUÇÃO

O peixe é um alimento completo devido ao seu elevado valor nutritivo. É rico em vitaminas do tipo A, D, B₁₂, tiamina, niacina, riboflavina e piridoxina. Sendo saboroso, de fácil digestão e muito procurado por uma ampla parcela da população mundial, particularmente nos países em desenvolvimento (FAO, 2002).

Apesar dos benefícios ao comércio, este alimento é altamente perecível. Dentre os fatores que podem contribuir para a diminuição do prazo de validade destacam-se: poluição das águas dos rios, lagos, mares e reservatórios; as más condições de higiene dos manipuladores e dos instrumentos utilizados durante o transporte, evisceração, limpeza e estocagem do produto. Ressalta-se que o alto teor de umidade faz com que o pescado seja considerado altamente perecível e sua qualidade possa ser comprometida por micro-organismos, enzimas autolíticas e oxidação lipídica (OGAWA; MAIA, 1999), que determinam a ocorrência de alterações de natureza microbiológica, física ou química, que acarretam perdas do produto ocasionando risco à saúde do consumidor.

Com o objetivo de diminuir as chances de consumo de pescado de baixa qualidade o governo federal, por meio da Portaria nº 185 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento do Brasil que recomenda que durante a comercialização do peixe sejam observadas as seguintes características: corpo brilhante, limpo, rígido e com cores vivas; escamas aderentes; olhos brilhantes ocupando toda a cavidade orbitária; guelras úmidas e vermelhas; ventre roliço e cheiro de maresia (BRASIL, 1997b).

Avaliar a qualidade do pescado, exclusivamente por métodos sensoriais é relativamente difícil, por ser um método subjetivo. Em virtude disso, é de grande relevância a utilização de métodos complementares é de grande valia em pesquisas científicas.

A histologia muscular da carne pode fornecer informações importantes a respeito do grau de autólise, promovida durante a decomposição desse alimento. Por sua vez, a análise microbiológica permite avaliar a qualidade higiênica do pescado, incluindo falhas na cadeia produtiva, manutenção da temperatura e a

possível presença de micro-organismos patogênicos. O pH expressa a produção de compostos básicos associados à deterioração de frutos do mar.

Em especial, existe escassez de dados encontrados na literatura a respeito dessas análises, para avaliação do prazo de validade em peixes.

Desta forma, este trabalho teve como objetivo determinar o prazo de validade de Tilápia (*Oreochromis niloticus*) estocada sob refrigeração a 4°C e sob gelo em diferentes intervalos de tempo, mediante realização de análises sensoriais, microbiológicas, histológicas e de pH.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. CARACTERÍSTICAS GERAIS DA CARNE DO PEIXE

Pescado é a denominação genérica que se refere aos animais que vivem em água doce ou salgada que compreende os peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios e quelônios usados na alimentação humana (BRASIL, 1997a).

A carne de peixe é a porção comestível mais importante e constitui-se principalmente de tecido muscular, conectivo, e gordura (PEREDA et al., 2005b). O tecido muscular é rico em proteínas que contêm todos os aminoácidos essenciais, além disso, é de fácil degradação (RUITER et al., 1999) e apresenta alto valor nutritivo (RESENDE; OLIVEIRA; SOUZA, 2009).

As proteínas do sarcoplasma se apresentam em torno de 20 a 30% do total de proteínas, e de maneira geral possuem características semelhantes aos demais animais de abate, entretanto diferem no peso molecular médio, que é menor comparado aos mamíferos. Em relação às proteínas miofibrilares sua proporção é superior à carne dos animais de abate, variando de 65 a 75% do total. Esta carne apresenta, ainda, um balanceamento de aminoácidos essenciais (PEREDA et al., 2005b), isto é, aminoácidos que não podem ser sintetizados pelo organismo vivo (GAVA, 2002). Segundo a FAO (2010) uma porção de 150 g fornece cerca de 50-60% da proteína diária requeridos para um adulto.

Os lipídeos do pescado de água fria, por sua vez, são ricos em ácidos graxos poliinsaturados Ômega 3, que apresentam efeitos redutores sobre os teores de colesterol e triglicerídeos sanguíneos, logo a ingestão destes reduz o risco de acidentes cardiovasculares (RESENDE; OLIVEIRA; SOUZA, 2009), o que traz mais um benefício a favor de seu consumo.

Dentre os compostos nitrogenados não proteicos (CNNP), o pescado apresenta peptídeos, compostos de guanidina, ureia, betaínas, nucleotídeos, compostos de amônio quaternário (RUITER et al., 1999) aminoácidos livres (incluindo a histidina) e óxido de trimetilamina (PEREDA et al., 2005b), que ao

sofrerem decomposição bacteriana produzem odores desagradáveis, além de risco à saúde do consumidor.

Os minerais mais abundantes no pescado são o cálcio, fósforo, sódio, potássio e cloro. Em algumas espécies, a musculatura do pescado contém cobre em quantidade proporcional a carne dos demais animais domésticos. Além de cinco a dez vezes mais flúor, e cerca de cem vezes mais iodo (RUITER et al., 1999), todos esses minerais na dieta são essenciais para o bom funcionamento do organismo, por participarem da formação do esqueleto, fazerem parte da estrutura de compostos importantes ao organismo e serem necessários ao equilíbrio osmótico das células, ou transporte celular (GAVA, 2002).

Dentre as vitaminas, encontram-se as do tipo A, D, B₁₂, tiamina, niacina, riboflavina e piridoxina. Não sendo encontradas quantidades significativas de ácido fólico e vitamina C nas partes comestíveis (PEREDA et al., 2005b). Algumas dessas têm função de coenzimas em certas reações enzimáticas, e outras exercem funções biológicas específicas (GAVA, 2002).

A quantidade de água sofre grandes variações, de acordo com a espécie do pescado, podendo compreender de 53 a 80% do total. De maneira geral, há uma relação inversa entre o teor lipídico do animal e o conteúdo de água (PEREDA et al., 2005b).

Na tabela 1 verifica-se a porcentagem de nutrientes encontrados nos mais comuns tipos de carnes.

Tabela 1 – Composição de alguns tipos de carnes em porcentagem da parte comestível.

<i>Alimentos</i>	<i>Proteínas</i>	<i>Gorduras</i>	<i>Cinzas</i>	<i>Água</i>
Carne Bovina	17,5	22,0	0,9	60,0
Carne Suína	11,9	11,9	0,6	42,0
Carne de Galinha	20,2	20,2	1,0	66,0
Peixe (sem gordura)	16,4	0,5	1,3	81,8

Fonte: Adaptado de Gava (2002).

Conforme a tabela 1, a água é o composto encontrado em maior quantidade no peixe, sendo este um dos fatores mais importantes para o crescimento microbiano, visto que estes necessitam de umidade para se desenvolverem (GAVA, 2002). Esta

característica faz do pescado um alimento altamente perecível e susceptível a crescimento bacteriano.

2.2. A PESCA NO CENÁRIO NACIONAL

A pesca desempenha um papel econômico fundamental, não só para a subsistência de pescadores, mas também para os consumidores que se beneficiam de uma excelente fonte de proteína animal (FAO, 2010).

O consumo Per Capita aparente de pescado no Brasil em 2010 foi de 9,75 kg/hab./ano, com crescimento de 8% em relação ao ano anterior (9,03). Desse total, 66% do pescado consumido é produzido nas águas nacionais (IBAMA, 2010).

Em 2010, a produção aquícola nacional foi de 479.399 t, representando um aumento de 15,3% em relação à produção de 2009. Comparando-se a produção de 2010 com o montante produzido em 2008 (365.366 t), fica evidente o crescimento do setor no país, com um incremento de 31,2% na produção durante o triênio 2008-2010. Seguindo o padrão observado nos anos anteriores, a maior parcela da produção aquícola é oriunda da aquicultura continental, na qual se destaca a piscicultura continental, que representou 82,3% da produção total nacional (IBAMA, 2010).

A aquicultura continental em 2010 apresentou uma produção de 243.174,7 toneladas (t). As principais espécies de peixes utilizadas na aquicultura foram: o Curimatã, Piramutaba, Jaraqui, Pescada, Dourada, Pacu, Traíra e Tilápia (IBAMA, 2010).

Dentre as principais espécies de água doce produzidas no Brasil, a Tilápia ocupa posição de destaque. Sua produção era de 158,5 t em 2004 e passou para 1249 t em 2007, chegando a 9610,3 toneladas em 2010, sendo a 8ª espécie mais cultivada neste período (IBAMA, 2005; 2007; 2010).

No Brasil, cada região brasileira vem se especializando em determinados tipos de pescado. Na Região Norte predominam peixes como o Tambaqui e o Pirarucu. No Nordeste e Sudeste a preferência é pela Tilápia (BRASIL, 2011).

A Tilápia-do-nilo é uma espécie de grande interesse para a piscicultura, em razão de diversas qualidades, como rusticidade em relação a ambientes com baixo

oxigênio dissolvido e altas densidades de criação. Outra característica muito importante está relacionada à sua alimentação, que pode ser natural e/ou artificial (MEURER et al., 2008).

Essa é uma das espécies preferidas pelo mercado consumidor, por apresentar a carne branca de textura firme, sabor delicado e fácil filetagem, não ter espinha em “Y”, nem odor desagradável (SOUZA, 2002). Também possui alta produtividade, é de fácil manejo em todas as fases de cultivo, possui boa rusticidade, prolificidade, é de fácil domínio da reprodução, precocidade, e apresenta carne de alta qualidade (HEIN; BRIANENSE, 2004).

2.3. CONSERVAÇÃO PELO FRIO

De acordo com o método de preservação, o pescado pode ser classificado como fresco, resfriado, e congelado. É entendido como fresco aquele que não sofreu qualquer processo de conservação, a não ser o uso de gelo. Refrigerado é o pescado acondicionado em gelo e mantido a temperaturas compreendidas entre -0,2 e -0,5 °C. Congelado é tratado por processos de congelamento em temperatura não superior a -25°C (BRASIL, 1997a).

Qualquer alimento fresco contém um número variável de micro-organismos (GAVA, 2002), que poderão causar alterações no produto, dependendo do fornecimento de temperatura ótima para seu desenvolvimento. Com o objetivo de minimizar reações químicas e as atividades enzimáticas nos alimentos, assim como retardar ou deter a multiplicação e a atividade dos micro-organismos nos mesmos, são utilizadas às baixas temperaturas (GHALY et al., 2010; FRAZIER; WESTHOFF, 2000).

Conforme se reduz a temperatura, a velocidade de multiplicação dos micro-organismos diminui, haja vista o distanciamento de sua temperatura ótima de crescimento. Ocorre a redução da atividade metabólica (FRAZIER; WESTHOFF, 2000). A diminuição da temperatura do pescado a 5°C, por exemplo, inibe o crescimento de alguns micro-organismos à medida que para outros essa temperatura provoca apenas um retardo de sua multiplicação (GAVA, 2002).

Chang, Shiau e Pan (1998) estudaram alterações microbiológicas no peixe *Lateolabrax japonicus* em diferentes temperaturas e encontraram os seguintes resultados: em gelo a temperatura de armazenamento teve o prazo de validade de duas semanas. O congelamento parcial a -3°C estendeu o prazo de validade para mais de cinco semanas; os micro-organismos cresceram rapidamente durante o armazenamento a 5 e 10°C .

A refrigeração prolonga o prazo de validade por um período limitado (geralmente dias ou semanas). Este depende das características do produto e da temperatura de armazenamento, de forma que o metabolismo celular se mantém em baixa atividade (PEREDA et al., 2005a).

Durante o armazenamento sob refrigeração, os lipídeos estão propensos a hidrólise e oxidação, sendo os pescados gordos mais susceptíveis ao ranço oxidativo do que os magros, devido à maior disponibilidade lipídica (FRAZIER; WESTHOFF, 2000).

Junto a outras técnicas de conservação, o uso do frio é largamente utilizado em países desenvolvidos por causa da manutenção da qualidade do produto a ser preservado. É um processo bastante caro, visto que o frio deve ser mantido desde sua produção até o consumo (GAVA, 2002).

Há ainda nesse alimento, uma microbiota de bactérias psicrófilas, resistentes ao resfriamento, e como exemplos, temos as bactérias dos gêneros: *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moracella*, *Alcaligenes* e *Flavobacterium*. Os esporos de *Clostridium botulinum* do tipo E resistem ao congelamento, sendo possível que germinem e produzam toxina quando as temperaturas alcançam $3,3^{\circ}\text{C}$ ou temperaturas superiores (FRAZIER; WESTHOFF, 2000).

Em condições aeróbias de armazenamento três das espécies de *Pseudomonas*: *Ps. fragi*, *Ps. fluorescens* e *Ps. lundensis* são as mais importantes. À população de pseudomonas em nível arbitrário de 10^{7-8} UFC / g, tem sido atribuída a formação de limo superficial e odores indesejáveis. No entanto, na prática ambas características, quando presentes na carne, tornam-se evidentes, quando as pseudomonas esgotaram a glicose e o lactato da carne, e começaram a metabolizar os compostos azotados, como aminoácidos (NYCHAS et al., 2008).

2.4. RISCO A SAÚDE PÚBLICA

O pescado como todos os outros alimentos, pode ser vetor de micro-organismos patogênicos e/ou deteriorantes. Micro-organismos psicrotróficos e proteolíticos são os principais responsáveis pela deterioração em baixas temperaturas, e estes se encontram naturalmente em sua microbiota natural (ALVES et al., 2005).

Não existem dúvidas de que a atividade microbiana é a causa mais importante da deterioração em carnes (GRAM; DALGAARD, 2002; NYCHAS et al., 2008) resultando na formação de aminas, sulfuretos, álcoois, aldeídos, cetonas, e ácidos orgânicos com desagradáveis odores. A deterioração microbiana pode ser detectada pela descoloração, ou simplesmente pelo aparecimento de colônias (GRAM; DALGAARD, 2002).

No pescado, o nitrogênio não proteico, aminoácidos de grande valor nutricional e a glicose constituem um ótimo meio de cultura para as bactérias. A partir destes compostos, os micro-organismos produzem trimetilamina (TMA), amoníaco, aminas (putrescina, cadaverina), ácidos graxos inferiores, aldeídos, compostos sulfurados, mercaptano e indol, compostos que são indicadores de putrefação (FRAZIER; WESTHOFF, 2000).

Normalmente, durante o tempo em que a carne de pescado é mantida sob refrigeração, aumenta-se o número de *Pseudomonas* (por exemplo, *Ps. fluorescens* é responsável pela coloração esverdeada anormal na musculatura) e diminui o número de bactérias do gênero *Achromobacter*. No início, as bactérias se multiplicam na superfície e posteriormente penetram na massa muscular (FRAZIER; WESTHOFF, 2000).

Uma intoxicação muito comum é causada por bactérias como *Proteus morganii* e *Klebsiella pneumoniae*. Acredita-se, que estas produzem histamina em consequência à degradação da carne do pescado. Os sintomas dessa intoxicação incluem náuseas, avermelhamento da face, vômitos, edema de lábios, sensação de ardência na boca e prurido cutâneo (FRAZIER; WESTHOFF, 2000).

Além dos micro-organismos deteriorantes, o pescado pode ser portador de micro-organismos patogênicos responsáveis por surtos de toxinfecções alimentares,

dentre elas encontramos: *Shigella* sp., *Vibrio cholerae*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Proteus morgani* (ALVES et al., 2005).

Segundo Gava (2002) as infecções são ocasionadas pela ingestão de células viáveis de micro-organismos que produzem toxinas no trato gastrointestinal do hospedeiro, causando desordens fisiológicas. Os sintomas aparecem de 12 a 24 horas após a ingestão, quando o número de bactérias está na ordem de 10^5 , causando principalmente náuseas, vômitos, diarreia e febre.

Assim, um aspecto importante de distribuição e comercialização de carnes frescas é o monitoramento eficaz do tempo/condições de temperatura. Visto que estes afetam, tanto a segurança quanto a qualidade da carne, deteriorando em um período de tempo relativamente curto (NYCHAS et al., 2008).

2.5. QUALIDADE DOS PRODUTOS DA PESCA

Com o crescimento da população mundial e a necessidade de transporte e estocagem de alimentos de um local para outro, a preservação de pescado se faz necessária para manter seu valor nutricional, textura e sabor (GHALY et al., 2010).

Segundo a FAO (2002) a qualidade envolve aspectos relacionados à pureza, nutrição, segurança, consistência e equidade (em peso, rotulagem ou espécie), valor e excelência do produto. No comércio internacional de peixes, dois aspectos importantes são: a segurança e qualidade sensorial (relacionada com o nível de deterioração).

Diversos métodos tem sido usados para determinar a qualidade de peixes. Estes podem ser classificados em métodos sensoriais e instrumentais. Estes últimos compreendem métodos químicos, físicos e microbiológicos.

Métodos sensoriais têm a vantagem de serem simples, baratos e rápidos. No entanto, eles podem ser muito subjetivos, pois levam em consideração a avaliação dos indivíduos, seus gostos e desgostos. A subjetividade pode ser reduzida significativamente por treinamento adequado e escala estruturada (FAO, 2002).

Os métodos químicos contam com a avaliação de metabolito(s) produzido(s) durante o armazenamento ou transporte de peixe para obter um índice quantitativo.

O teste químico mais utilizado se baseia na detecção de bases voláteis totais (BVT), que mede o teor de trimetilamina (TMA) + dimetilamina + amônia + outros compostos nitrogenados básicos associados à deterioração de frutos do mar. Outros testes tem como princípio a medição separada da TMA, DMA, catabólitos nucleotídeos ou aminas biogênicas (BA). Os métodos químicos são rápidos, quantitativos e reprodutíveis. No entanto, nenhum deles é capaz por si só de dar uma imagem de todo o espectro de mudanças que ocorrem em peixes ao longo de sua deterioração (FAO, 2002).

Os métodos físicos envolvem a avaliação do pH do peixe, a textura ou as propriedades elétricas. Por sua vez, a análise microbiológica permite avaliar a qualidade higiênica do pescado, incluindo temperaturas inadequadas, e a possível presença de micro-organismos patogênicos nos peixes. Consiste em medir o total de bactérias aeróbias, também chamada contagem total (TPC), bactérias de deterioração, e várias bactérias patogênicas (FAO, 2002).

Na verdade, as indústrias de carne precisam de métodos analíticos para determinar que tipo de tratamento é adequado para a sua matéria-prima e prever a vida útil remanescente de seus produtos. As autoridades de inspeção precisam de métodos confiáveis para fins de controle. Varejo e atacado precisam de métodos válidos para garantir o frescor e a segurança dos seus produtos no caso de litígios entre compradores e vendedores. Assim, é fundamental dispor de métodos válidos para monitorar o frescor e a segurança, a fim de garantir a qualidade, independentemente da perspectiva, ou seja, a do consumidor, a indústria, a autoridade, ou o cientista (NYCHAS et al., 2008).

A falta de informação sobre a cronologia de deterioração das diferentes apresentações comerciais do pescado em temperaturas específicas é um dos obstáculos à comercialização em consonância com o conceito de segurança alimentar.

3. OBJETIVOS

3.1. GERAL

- Determinar os parâmetros de qualidade do pescado da espécie *Oreochromis niloticus* inteira em diferentes períodos de estocagem à temperatura de refrigeração.

3.2. ESPECÍFICOS

- Avaliar o crescimento das bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e psicotróficas da pele e do músculo da Tilápia (*Oreochromis niloticus*) inteira em diferentes períodos de estocagem mantidas sob gelo e refrigeração a 4°C;
- Determinar o pH, a característica sensorial e descrever o avanço das alterações da musculatura da Tilápia nas condições de estocagem acima referidas, para estimar o prazo comercial da Tilápia (*Oreochromis niloticus*).

4. TRABALHOS

IV – Capítulo 1: QUALIDADE DA TILÁPIA INTEIRA MANTIDA SOB REFRIGERAÇÃO EM DIFERENTES PERÍODOS DE ESTOCAGEM

RESUMO

A sequência de degradação da Tilápia (*Oreochromis niloticus*) sob refrigeração foi avaliada por meio da quantificação de micro-organismos heterotróficos aeróbios mesófilos e psicotróficos, análise histológica, análises sensoriais e determinação de pH. As amostras (n=20) foram mantidas a 4°C e analisadas a intervalos de dois ou três dias durante o período de 25 dias. Observa-se boas condições até o 11º dia de armazenamento a nível sensorial e de pH (limite de aceitação de 6,4), entretanto os resultados das análises histológica e microbiológica (limite de aceitação de 10^7 UFC/grama) mostram um prazo de validade menor (nove dias).

Termos para indexação: Peixe, prazo de validade, microbiologia, histologia, análise sensorial.

Chapter 1: QUALITY OF WHOLE TILAPIA STORED UNDER REFRIGERATION AT DIFFERENT STORAGE PERIODS

ABSTRACT

The tilapia's (*Oreochromis niloticus*) degradation sequence was assessed by quantifying microbial heterotrophic aerobic mesophilic and psychrotrophic, histology, sensory analysis and pH determination. The samples were stored under refrigeration (4°C) and analyzed every two or three days during the period of 25 days. Good conditions are observed until the 11th day of storage for sensory and pH analysis (6.4 acceptance limit), however the results of histological and microbiological (acceptance limit of 10^7 CFU / gram) shows a period of validity lower (nine days).

Index terms: Fish, shelf-life, microbiology, histology, sensory analysis.

INTRODUÇÃO

Dentre os peixes de água doce mais consumidos no Brasil, a Tilápia ocupa posição de destaque (IBAMA, 2010). Essa espécie apresenta características apreciadas pelo mercado consumidor, tais como carne branca de textura firme, sabor delicado e fácil filetagem, não tendo espinha em “Y”, nem odor desagradável (SOUZA, 2002).

Apesar dos benefícios desse alimento, seu alto teor de umidade faz com seja considerado altamente perecível sendo sua qualidade comprometida por micro-organismos, enzimas autolíticas e oxidação lipídica (OGAWA; MAIA, 1999), acarretando perdas do produto e risco à saúde do consumidor.

Para minimizar o avanço de reações químicas indesejáveis nos alimentos e retardar a multiplicação e atividade dos micro-organismos, são utilizadas as baixas temperaturas (FRAZIER; WESTHOFF, 2000).

A refrigeração prolonga o prazo de validade por um período limitado. Porém, este depende das características do produto e da temperatura de armazenamento, de forma que o metabolismo celular se mantém em baixa atividade (PEREDA et al., 2005).

A qualidade envolve aspectos relacionados a pureza, nutrição, consistência e equidade (em peso, rotulagem ou espécie), valor e excelência do produto (FAO, 2002). No comércio internacional de peixe, os aspectos importantes são segurança e qualidade sensorial (relacionada ao nível de deterioração).

Vários métodos são usados para determinar a qualidade do pescado. Estes podem ser classificados em métodos sensoriais e instrumentais. Estes últimos compreendem métodos químicos, físicos e microbiológicos (FAO, 2002).

A avaliação sensorial emprega métodos que permitem analisar reações características dos alimentos percebidas pelos órgãos dos sentidos. Esses têm a vantagem de serem simples, baratos e rápidos (FAO, 1997), e devem ser associados a outros para que tenham maior validade. Os métodos histológicos, ainda não foram bem desenvolvidos para esse tipo de avaliação, embora estes possam indicar o grau ou taxa de destruição das miofibrilas (OGAWA; MAIA, 1999).

A atual legislação brasileira não estabelece limites para contagem em placas de micro-organismos heterotróficos aeróbios mesófilos e psicotróficos no peixe fresco, porém a legislação internacional estabelece o limite máximo de unidades formadoras de colônia (UFC) em $7,0 \log (10^7)$ por grama (FAO, 1997).

O Manual do Laboratório Nacional de Referência Animal prevê o limite de pH maior ou igual a 6,4 para pescado, acima do qual tem início a decomposição (BRASIL, 1981) devido a multiplicação microbiana e produção de bases voláteis (OGAWA; MAIA, 1999).

A falta de informação sobre a cronologia de deterioração das principais espécies de peixe de interesse comercial é um dos obstáculos à comercialização destas em conformidade com o conceito de segurança alimentar, sendo portanto necessária a realização de um estudo acerca do prazo de validade de Tilápias mantidas sob refrigeração.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no município de Campos dos Goytacazes – RJ, durante o período de maio a outubro de 2012. Um total de 20 espécimes foi obtido junto à unidade de piscicultura do Instituto Federal do Espírito Santo (IFES) localizado no município de Alegre, no estado do Espírito Santo, Brasil. As Tilápias apresentavam peso médio de 800 ± 200 g, e foram divididas em dois lotes, cada um contendo dez animais. Estes foram submetidos à termonarcorese, na relação 1:1 (gelo: peixe), colocados em caixas isotérmicas com gelo em flocos e imediatamente transportados para o Setor de Inspeção de Produtos de Origem Animal do Laboratório de Morfologia e Patologia Animal, na Universidade Estadual do Norte Fluminense-Darcy Ribeiro. No laboratório, os animais foram lavados em água clorada a 5 ppm, pesados, e colocados em bandejas de polipropileno com prévia desinfecção e armazenados em geladeira a temperatura de 4°C.

As análises microbiológicas e de pH foram feitas em quadruplicata (n=4) a cada dois ou três dias, totalizando 12 dias de análises, sendo estes: dias zero; dois; quatro; sete; nove; 11; 14; 16; 18; 21; 23; 25.

O procedimento para contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos foi realizado de acordo com a Instrução Normativa nº 62 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento de 26 de agosto de 2003 (BRASIL, 2003).

Para cada análise foram colhidas assepticamente 25 g de músculo com a pele e 25 g de músculo sem a pele. Para tanto se procedeu a realização de cortes nas regiões dorsal e caudal, seguido de mistura em 0,1% (w/v) de peptona (Himedia n.º 0001), durante dois minutos em Stomacher (Lab Blender 400, Seward Medical). Diluições em série adequadas foram plaqueadas em Ágar Padrão Contagem (Himedia n.º 0091) incubação das placas a 35°C durante 48h e 7°C, durante 10 dias, para micro-organismos mesófilos e psicrotrófilos, respectivamente. As contagens foram determinadas pelo somatório e média das unidades formadoras de colônia (UFC), utilizando o contador de colônias (Phoenix, Modelo CP600).

As contagens obtidas pelas análises bacteriológicas foram transformadas em valores logarítmicos para realização da análise estatística.

Para avaliação histológica, foi coletado em cada dia de análise um fragmento de 1 cm² de tecido da musculatura dorsal, sendo estes fixados em formol tamponado neutro a 10% (PROPHET et al., 1994). Em seguida, foram clivados, armazenados em histossetes plásticos, processados por inclusão em parafina (Processador Automático de Tecidos – LEICA TP1020), incluídos em parafina para serem cortados (Micrótomo Semi-automático – LEICA RM2145) em seções de 5 micras (5µm) e corados pela Hematoxilina e Eosina (HxE). Posteriormente, o material foi observado em microscopia óptica e fotografado. A análise das imagens foi feita com o auxílio de um programa de morfometria digital (Software Image J, versão 1.33). As fotomicrografias obtidas foram documentadas e arquivadas, utilizando máquina fotográfica digital Nikon Coolpix 995, adaptada em microscópio óptico (Olympus BX 41).

A análise sensorial foi conduzida junto a uma equipe de 12 julgadores treinados (SHEWAN et al., 1953), de acordo com os critérios propostos pela Comunidade Europeia (EU) de análise sensorial (HOWGATE et al., 1992) mostrados no quadro 1.

Quadro 1. Escala empregada para avaliação da qualidade de tilápias mantidas em condições de refrigeração (4°C).

Atributo	Alta qualidade (E)	Boa Qualidade (A)	Qualidade Razoável (B)	Inaceitável (C)
Pele	Pigmentação muito intensa; muco transparente	Muco leitoso; insignificante perdas de pigmentação	Muco levemente acinzentado; pigmentação sem brilho	Muco amplamente opaco; importante perda de pigmentação
Odor externo	Cheiro característico da espécie	Cheiro fraco	Levemente azedo e pútrido	Azedo e pútrido
Brânquias	Brilantemente vermelho, sem odor; lâminas perfeitamente separadas	Cor rosa, sem odor; lâminas aderidas em grupos	Ligeiramente pálida; leve odor de peixe; lâminas aderidas em grupos	Cinza-amarelada; odor de amônia intensa; lâminas totalmente aderidas
Olhos	Convexos; córnea transparente; pupila brilhante e preta	Convexos levemente côncavos; córnea levemente opaca; pupila negra e nublada	- Plana, córnea opalescente; pupila opaca	Córnea côncava e leitosa; turvo
Consistência	Presença de consistência ou desaparecimento parcial de sintomas de <i>rigor mortis</i>	Firme e elástica; pressão digital desaparece imediatamente	Presença de sinais mecânicos, elasticidade nomeadamente reduzida	Importantes mudanças no formato devido a fatores mecânicos

Fonte: Adaptado de HOWGATE et al. (1992)

Foram estabelecidas quatro categorias: Alta qualidade (E); Boa qualidade (A); Qualidade razoável (B) e Inaceitável (C). O julgamento sensorial das tilápias incluiu os seguintes parâmetros: características da pele, odor externo, brânquias, olhos e consistência. Os resultados obtidos foram tabulados e submetidos à estatística descritiva.

Para a análise do potencial hidrogeniônico (pH) foi utilizado o método do potenciômetro (BRASIL, 1981). Com o auxílio de um bastão de vidro, 50 g da amostra foi homogeneizada com 10 mL de água destilada. A leitura foi realizada com o eletrodo do potenciômetro diretamente na amostra. Os dados foram analisados estatisticamente para obtenção de uma regressão linear.

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com quatro repetições. As análises de variância e de regressão foram realizadas utilizando-se o programa computacional SAEG, versão 9.0 (Universidade Federal de Viçosa, 1997).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das contagens médias logarítmicas de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e psicrotróficas das amostras de músculo com e sem pele da tilápia mantida à 4°C estão expostos na Tab. 1.

Tabela 1. Valores médios das contagens de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (BHAM) e Bactérias Heterotróficas Aeróbias Psicrotróficas (BHAP) nas amostras de músculo com e sem pele de Tilápias inteiras mantidas sob refrigeração a 4°C.

Dias de estocagem	MÚSCULO			
	SEM PELE		COM PELE	
	Mesófilas (log)	Psicrotróficas (log)	Mesófilas (log)	Psicrotróficas (log)
0	1,8266	2,000	2,9480	2,6901
2	2,9418	2,6276	3,1907	3,2204
4	2,1883	2,4771	2,5680	2,7236
7	3,5307	2,9044	4,8766	3,8040
9	2,7251	3,7817	4,7107	5,2331
11	5,1070	6,0646	7,0613	8,1869
14	8,1944	7,6518	8,1772	7,7837
16	8,7867	8,5481	10,1935	9,8294
18	9,2698	9,4401	10,2364	10,0962
21	9,9281	9,9771	10,7287	10,7927
23	9,4771	9,2781	9,9162	10,1590
25	10,6871	10,9195	12,2832	12,3659

Como pode ser observado na Tab. 2, a contagem inicial de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e psicrotróficas no dia zero foi de 1,83 e 2,00 log, respectivamente, para amostras extraídas de tecido muscular sem pele, e 2,95 e 2,69 log, respectivamente, para amostras musculares com pele. Esses resultados indicam boas condições higiênicas e de abate dos animais, visto que os resultados se distanciam da ordem de 10^4 log UFC/g do limite estabelecido.

Em estudo com corvinas (*Micropogonias furnieri*), Borges (2005) encontrou contagens similares as deste trabalho. Todavia, autores como Özden et al. (2007), Papadopoulos et al. (2003), Rong et al. (2009), encontraram valores entre 3,00 e 4,34 log bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e psicrotróficas, enquanto que, Taliadourou et al. (2003) encontrou valores superiores (4,9 log UFC/g). Essa

variação pode ser devido a diversos fatores, dentre os quais associados a forma de captura, manejo e qualidade da água do criatório.

Verifica-se no gráfico 1, a ascensão da curva para os dois tratamentos empregados ($P < 0,001$), que pode ser comprovada pelo coeficiente angular das equações de regressão.

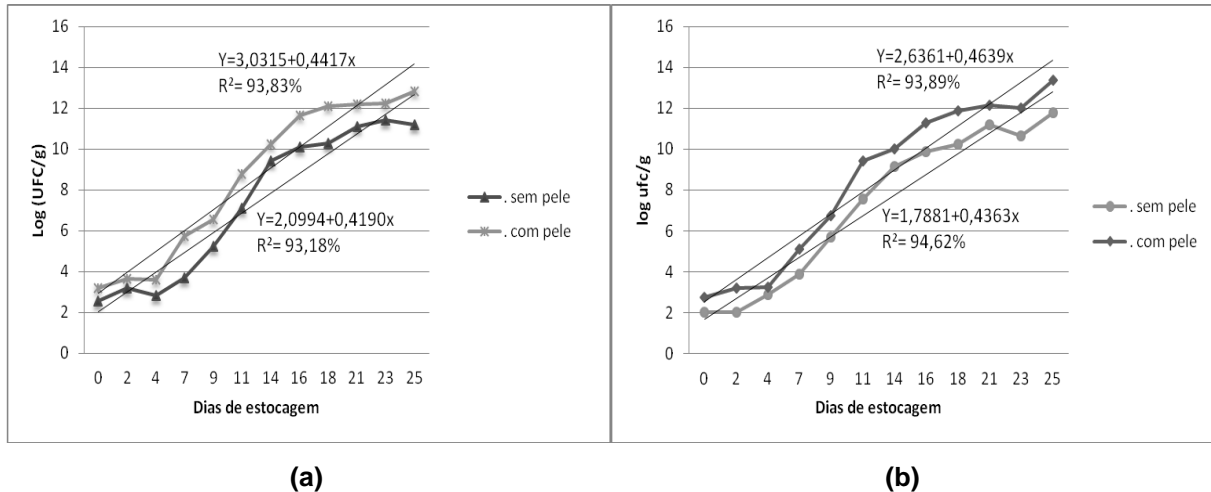


Gráfico 1. Curva de crescimento de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (a) e Bactérias Heterotróficas Aeróbias Psicrófilas (b) de amostras de músculo com e sem pele de Tilápias inteiras mantidas sob refrigeração a 4°C.

Foram observados decréscimos no dia quatro, entretanto logo em seguida a ascensão da curva voltou a ser observada. De acordo com Gram e Huss (1996) esse fato ocorre devido a adaptação dos micro-organismos às baixas temperaturas. Situações semelhantes foram encontradas por Borges (2005), Campos et al. (2005), Özden et al. (2007) e Rodríguez et al. (2004).

Nota-se também, um crescimento significativo nas contagens de bactérias mesófilas e psicrófilas entre o nono e o 11º dia de armazenamento, provavelmente tal fato ocorreu devido ao extravasamento do conteúdo intestinal neste período (Fig. 1), visto que este apresenta contagens que variam entre 3,00 e 8,00 log do conteúdo intestinal (OGAWA; MAIA, 1999). Esse resultado corrobora com a pesquisa de Borges (2005), que encontrou valores semelhantes entre os dias nove e 12.



Fonte: LMPA/UENF (2012)

Figura 1. Extravasamento do conteúdo gastrointestinal aos 11 dias de armazenamento sob refrigeração a 4°C. Observa-se na ausência dos músculos intercostais a penetração do conteúdo para as demais musculaturas.

A legislação brasileira não prevê limites para contagem em placas de bactérias mesófilas no músculo do peixe fresco, porém a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO, 1997) estabelece o limite máximo de 10^7 (7,0 log UFC/grama).

Da mesma forma, não se observa na legislação do Brasil um limite para micro-organismos heterotróficos aeróbios psicotróficos, entretanto observa-se que contagens elevadas desse grupo de bactérias contribuem para a redução do prazo de validade, em virtude de suas características proteolíticas e lipolíticas e, também, em virtude de se desenvolverem em baixas temperaturas (Lazarin et al., 2011).

Para as contagens de bactérias mesófilas e psicotróficas as amostras de músculo sem pele apresentaram boa qualidade até o 11º dia de estocagem, visto que no dia 14 atingiram contagens de 8,19 e 7,65 log, respectivamente (Tab. 1). Esse prazo foi reduzido para nove dias em amostras de músculo com pele, visto que estas apresentaram valores de 7,06 e 8,19 log para bactérias mesófilas e psicotróficas aos 11 dias. Resultados similares foram encontrados por Sharifian et al. (2011) que encontraram valores aceitáveis até o 10º dia para a espécie *Epinephelus coioides*. Todavia, Elotmani et al. (2004) encontraram esse limite no oitavo dia em sardinhas (*Sardina pilchardus*).

No comércio de pescado, não há a comercialização de peixe inteiro sem pele, porém, os dados da presente pesquisa confirmam que a contaminação externa de fato contribui para redução do prazo de validade, visto que para o músculo com pele o prazo de validade foi menor, assim como nos resultados encontrados por Borges (2005).

Os resultados dos exames histológicos da Tilápia são mostrados na Fig. 2. Observa-se que no dia zero as fibras musculares das amostras demonstraram formas uniformes e regulares condizentes com o grau máximo de frescor (grupo controle).

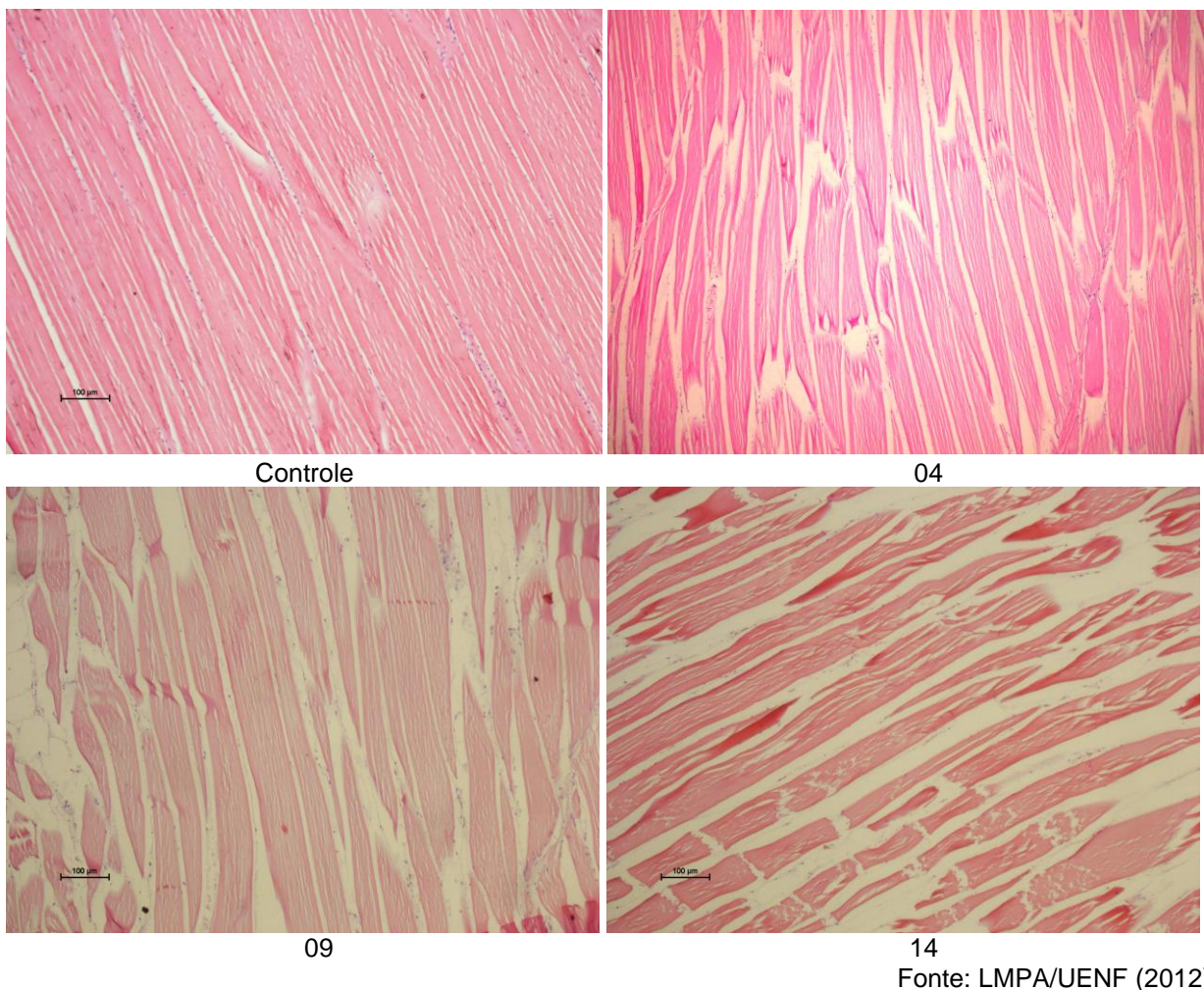


Figura 2. Fotomicrografias de tecido muscular de tilápias mantidas em condição de refrigeração. Cortes longitudinais (HE), em aumento de 10x. O número abaixo das figuras indica o tempo de estocagem (em dias).

No quarto dia de armazenamento em refrigeração, algumas estrias desapareceram, havendo diminuição da largura das fibras e leve aumento do espaço intersticial.

As estriações eram escassas aos nove dias, quando se observou desorganização mais visível, sendo traduzida como aumento do espaço intersticial. Resultados similares foram encontrados em garoupas (*Epinephelus coioides*) por Sharifian et al. (2011), que perceberam estas mesmas alterações após sete dias de armazenamento sob refrigeração.

A fragmentação das fibras musculares foi constatada aos 14 dias, com completa perda de sua integridade, sendo difícil reconhecê-las a partir desse período. Resultados semelhantes foram encontrados por Sharifian et al. (2011), que após o mesmo intervalo de tempo também observaram a destruição das miofibrilas.

De acordo com Ogawa e Maia, (1999) as mudanças nessas estruturas são devido a decomposição por reações enzimáticas intrínsecas e por enzimas bacterianas. Com base nos dados da presente pesquisa, infere-se que a qualidade do tecido muscular foi mantida até os nove dias de estocagem em refrigeração a 4°C, uma vez que este correspondeu ao período que antecedeu o rompimento das fibras.

Considerando o resultado das análises sensoriais (quadro 2), observa-se que a aparência do globo ocular foi o principal fator negativo relacionado à perda de qualidade no lote.

Quadro 2. Aceitabilidade sensorial da Tilápia mantida sob refrigeração em diferentes períodos de estocagem.

Atributo	Dias de estocagem*								
	0	2	4	7	9	11	14	16	18
Pele	E	E	A	B	B	B	C	C	C
Odor	E	E	A	A	A	B	B	C	C
Brânquias	E	E	A	A	B	B	C	C	C
Olhos	E	E	A	B	B	C	C	C	C
Consistência	E	E	A	A	B	B	C	C	C
Classificação	E	E	A	A	B	B	C	C	C

*Alta qualidade (E), Boa qualidade (A), Qualidade razoável (B) e Inaceitável (C)

Fonte: LMPA/UENF (2012)

As Tilápias mantidas sob refrigeração mantiveram boa qualidade para todos os atributos até o quarto dia de armazenamento (categoria A). A partir do 7º dia, aumentaram as qualificações na categoria B (razoável) que foram predominantes

aos nove e 11 dias de estocagem. Após esse período, constatou-se a queda de qualidade (14º dia) quando os espécimes de Tilápia não eram aceitáveis para a maioria dos atributos analisados (categoria C). Resultados similares foram encontrados por Taliadourou et al. (2003) e Özden et al. (2007), que encontraram níveis inaceitáveis aos 13 dias.

A variação do pH do músculo de Tilápia durante 25 dias de armazenamento sob refrigeração foi analisada (gráfico 2).

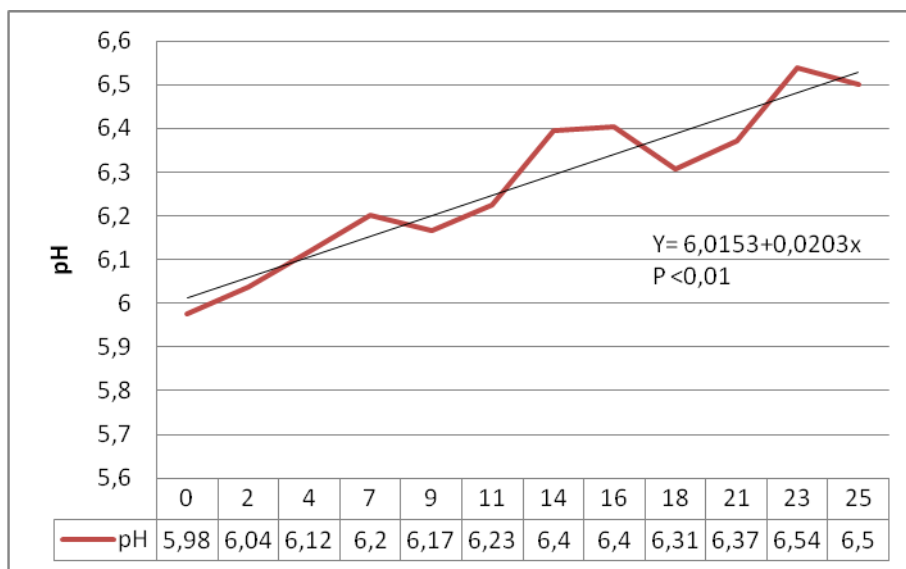


Gráfico 2. Alterações de pH *post-mortem* no músculo de Tilápias (*Oreochromis niloticus*) armazenados sob refrigeração (4°C) durante 25 dias. Os valores são relativos à média de n = 4 para cada dia de amostragem.

O pH no dia zero foi de 5,98, esse valor é semelhante ao relatado por Rodrigues et al. (2008). No entanto, é mais baixo do que o relatado por El-Hanafy et al. (2011) e Rong et al. (2009), que encontraram valores de 6,51 e 6,90 respectivamente. Variações entre os valores iniciais de pH podem ser devido à diversos fatores, dentre os quais a estação do ano, espécies, dieta, nível de atividade ou estresse durante a captura (OCAÑO-HIGUERA et al., 2009).

Pode-se notar pequenas oscilações no valor de pH, possivelmente em razão da formação anaeróbica de ácido láctico (LAZARIN et al., 2011), porém, observa-se um aumento significativo ($P < 0,01$), com comportamento linear em função dos dias de estocagem, segundo a equação: $Y = 6,0153 + 0,0203x$, atingindo um valor de 6,4 no dia 16. Isto sugere o crescimento bacteriano como resultado da produção de

amoníaco e de outras bases voláteis (OCAÑO-HIGUERA et al., 2009; OGAWA; MAIA, 1999).

Segundo o Laboratório Nacional de Referência Animal LANARA (BRASIL, 1981), o limite máximo de aceitação para o pH é de 6,4. Este valor foi encontrado após o 14º dia, sugerindo que o prazo de validade se encontra até o 11º dia de estocagem.

A seguir, verificam-se os prazos de validade observados em cada método analítico empregado (quadro 3).

Quadro 3. Qualidade de Tilápias avaliadas de acordo com o método analítico empregado na escala de tempo em dias.

MÉTODO ANALÍTICO	DIAS DE ESTOCAGEM								
	0	2	4	7	9	11	14	16	18
Microbiológico	Apto	Apto	Apto	Apto	Apto	Inapto	Inapto	Inapto	Inapto
Histológico	Apto	Apto	Apto	Apto	Apto	Inapto	Inapto	Inapto	Inapto
Sensorial	Apto	Apto	Apto	Apto	Apto	Apto	Inapto	Inapto	Inapto
pH	Apto	Apto	Apto	Apto	Apto	Apto	Inapto	Inapto	Inapto

Fonte: LMPA/UENF (2012)

Considerando os resultados do quadro 3, o prazo de validade que oferece maior segurança ao consumidor é de nove dias de armazenamento sob refrigeração a 4°C, visto que neste intervalo de tempo todos os métodos analíticos empregados apresentaram qualificação positiva.

Para a determinação do prazo de validade do pescado é de fundamental importância a realização de estudos que contemplem a associação entre os resultados de diferentes métodos analíticos. Diversos autores têm desenvolvido estudos com esse enfoque (BORGES, 2005; RONG, et al.,2009), assim as informações geradas tornam-se mais válidas garantindo ao consumidor a compra de produtos que não ofereçam risco à saúde.

Na literatura especializada constatou-se a existência de divergências quanto ao prazo de validade do pescado (ÖZDEN et al., 2007; LAZARIN et al., 2011). Os diferentes períodos de aceitação assinalados certamente estão relacionados às diferentes espécies avaliadas, bem como, as variações de metodologia. É importante que se padronize os métodos de avaliação para que se possa determinar

com segurança o intervalo de tempo em que cada tipo de pescado se mantém apto ao consumo.

Conhecendo o prazo de validade das diferentes espécies, os comerciantes saberão determinar o intervalo de tempo que o peixe poderá ser comercializado como fresco, de forma a atender os consumidores que preferem esta apresentação comercial, em detrimento do pescado congelado, e ao mesmo tempo diminuir as chances de difusão de doenças transmissíveis por alimentos (DTA's).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A associação de diferentes metodologias para a determinação do prazo de validade é uma ferramenta útil;

O prazo de validade de Tilápias (*Oreochromis niloticus*) é de nove dias quando armazenados em condições de refrigeração a 4°C;

A qualidade de Tilápias pode ser avaliada pela integridade das fibras musculares, pois estas são as primeiras a sofrerem alterações degradativas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSURANCE of seafood quality: FAO, Roma, 1997. 174p. (Fisheries technical paper 334).

BORGES, A. *Qualidade da corvina (Micropogonias furnieri) eviscerada e inteira estocadas em diferentes períodos à temperatura de 0°C*. 2005. 81f. Dissertação (Mestrado em medicina veterinária) – Faculdade de veterinária. Universidade Federal Fluminense.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Laboratório Nacional de Referência Animal. *Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes*. Brasília: Ministério da Agricultura, 1981. v.2, cap.11. (Pescado Fresco).

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 62 de 26 de agosto de 2003, que oficializa os métodos analíticos para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. *Diário Oficial da União*. Brasília, DF, 2003.

CAMPOS, C. A.; RODRÍGUEZ, O.; LOSADA, V. et al. Effects of storage in ozonised slurry ice on the sensory and microbial quality of sardine (*Sardina pilchardus*). *International Journal of Food Microbiology*, v.103, p.121–130, 2005.

EL-HANAFY A.E.A.; SHAWKY H.A. and RAMADAN M.F. Preservation Of *Oreochromis Niloticus* Fish Using Frozen Green Tea Extract: Impact On Biochemical, Microbiological and Sensory Characteristics. *Journal of Food Processing and Preservation*, v.35, p.639–646, 2011.

ELOTMANI, F.; ASSOBEI, O.; JUNELLES, A.M.R.; MILLIÈRE, J.B. Microflora de la sardina (*Sardina pilchardus*) fresca y refrigerada de la Costa Atlântica Marroqui. *Ciencias marinas*, v.30, n.4, p.627-635, 2004.

FRAZIER, W.C. e WESTHOFF D.C. *Microbiología de los alimentos*. Zaragoza (Espanha): Acribia, 2000. 681p.

GLOBAL Production, Fishery Statistical Collections: FAO, Roma, 2002. [online]. Disponível em: <<http://www.fao.org/fishery/topic/12319/en>>. Acessado em: 07 abr. 2012.

GRAM, L. e HUSS, H.H. Microbiological spoilage of fish and fish products. *Int. J. Food Microbiol.*, v.33, p.121-137, 1996.

HOWGATE, P., JOHNSTON, A., WHITTLE, K.J. (Eds.). Multilingual Guide to EC Freshness Grades for Fishery Products. Aberdeen, Marine Laboratory, Scottish Office of Agriculture, Environment and Fisheries Department. 1992

IBAMA. *Estatística de pesca 2010*. Brasil. Grandes regiões e unidades da federação. Brasília: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis: 2005. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br>>. Acessado em: 28 abr. 2012.

LANZARIN, M.; ALMEIDA FILHO, E. S.; RITTER, D. O. et al. Ocorrência de *Aeromonas* sp. e microrganismos psicrófilos e estimativa do prazo de validade comercial de filé de pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*) mantidos sob refrigeração. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.63, n.6, p.1541-1546, 2011.

OCAÑO-HIGUERA V.M.; MARQUEZ-RÍOS, E.; CANIZALES-DÁVILA, M. et al. Postmortem changes in cazon fish muscle stored on ice. *Food Chemistry*, v.116, p.933–938, 2009.

OGAWA, M., MAIA, E.L. Manual de pesca: Ciência e Tecnologia do Pescado. São Paulo: Varela, 1999. 430p.

ÖZDEN, O.; INUGUR, M.; ERKAN, N. Effect of different dose gamma radiation and refrigeration on the chemical and sensory properties and microbiological status of aqua cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Radiation Physics and Chemistry*, v.76, p.1169–1178, 2007.

PAPADOPOULOS, V.; CHOULIARA, I.; BADEKA, A. et al. Effect of gutting on microbiological, chemical, and sensory properties of aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice. *Food Microbiology*, v.20, p.411–420, 2003.

PEREDA, A.O.; RODRÍGUEZ, M.I.C.; ÁLVAREZ, L.F. et al. Tecnologia de alimentos: alimentos de origem animal. Porto Alegre: Artmed, v.2, 2005. 279p.

PROPHET, E.B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J.B. et al. (Eds.). AFIP laboratory methods in histotechnology. Washington: American Registry of Pathology, 1994. 274p.

RODRIGUES, T. P.; FREITAS, M. Q.; MARSICO, E. T. et al. Avaliação da qualidade de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) cultivada, eviscerada e estocada em gelo. *Rev. Bras. Cienc. Vet.*, v.15, p.67-71, 2008.

RODRÍGUEZ, Ó.; LOSADA, V.; AUBOURG, S. P.; BARROS-VELÁZQUEZ, J. Enhanced shelf-life of chilled European hake (*Merluccius merluccius*) stored in slurry ice as determined by sensory analysis and assessment of microbiological activity. *Food Research International*, v.37, p.749–757, 2004.

RONG, C.; CHANG-HU, X.; QI, L.; BANG-ZHONG, Y. Microbiological, chemical and sensory assessment of (I) whole ungutted, (II) whole gutted and (III) filleted tilapia (*Oreochromis niloticus*) during refrigerated storage. *International Journal of Food Science and Technology*, v.44, p.2243–2248, 2009.

SHARIFIAN, S.; ALIZADEH, E.; MORTAZAVI, M. S.; MOGHADAM, M. S. Effects of refrigerated storage on the microstructure and quality of Grouper (*Epinephelus coioides*) fillets. *Food Scientists & Technologists (India)*, 1007, 2011.

SHEWAN, J. M.; MACINTOSH, R. G.; TUCKER, C. G.; EHRENBERG, A. S.C. The development of a numerical scoring system for the sensory assessment of the spoilage of wet white fish stored in ice. *J. Sci. Food Agric.*, v.4, n.6, p.283-298, 1953.

SOUZA, M. L. R. Comparação de Seis Métodos de Filetagem, em Relação ao Rendimento de Filé e de Subprodutos do Processamento da Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.3, p.1076-1084, 2002.

TALIADOUROU, D.; PAPADOPOULOS, V.; DOMVRIDOU, E. et al. Microbiological, chemical and sensory changes of whole and filleted Mediterranean aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice. *J Sci Food Agric*, v.83, p.1373–1379, 2003.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. SAEG - *Sistema de análises estatísticas e genéticas: Versão 9.0*. Viçosa, MG: UFV, 1997. 150p.

V – Capítulo 2: PRAZO DE VALIDADE DE TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*) INTEIRAS MANTIDA SOB O GELO

RESUMO

O armazenamento em gelo é um método amplamente empregado para manutenção da qualidade do pescado. Neste trabalho, o avanço da degradação da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) inteira, estocada sob gelo foi avaliado mediante análises sensoriais, físico-químicas, bacteriológicas e histológicas. Durante o intervalo de 25 dias, o total de vinte amostras foi mantido sob o gelo em flocos e analisado a intervalos de dois ou três dias. Os resultados das análises de pH (limite de aceitação de 6,4) denotaram o maior prazo de validade do experimento (18 dias). Na verificação histológica foi constatado o menor prazo de validade (09 dias), entretanto, devido a convergência dos resultados sensoriais e microbiológicos (limite de aceitação de 10^7 UFC/grama), considerou-se como prazo de validade comercial o período de 14 dias, quando as Tilápias inteiras estocadas em gelo ainda mantinham boa qualidade.

Palavras-chave: Peixe, qualidade, microbiologia, histologia, análise sensorial.

Chapter 2: WHOLE TILAPIA's (*Oreochromis niloticus*) SHELF LIFE STORED UNDER ICE

ABSTRACT

The ice storage is a widely used method for maintaining the fish quality. In this work the advancement of degradation of whole Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) stored under ice was evaluated by sensory, physico-chemical, bacteriological and histological analysis. During the interval of 25 days, twenty samples was kept under the flake ice and analyzed every two or three days. The results of the analyzes of pH (acceptance limit of 6.4) indicated the greatest validity of the experiment (18 days). On histological examination it was found the lowest shelf life (09 days), however, due to the convergence of sensory and microbiological results (acceptance limit of 10^7 CFU/g) was considered the shelf life a period of 14 trading days when whole tilapia stocked in ice still maintained good quality.

Keywords: Fish, quality, microbiology, histology, sensory analysis.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos a comercialização de Tilápia vem ocupando posição de destaque no cenário internacional (RAMSEYER, 2005). O aumento no cultivo se deve às características como: elevado valor nutricional; excelentes textura e paladar; proporcionando uma boa aceitação do filé (SOUZA; MARANHÃO, 2001).

Essa espécie está entre os peixes de água doce mais consumidos no Brasil (IBAMA, 2010), tendo se tornado a mais cultivada, sendo responsável por aproximadamente 40% do volume da aquicultura nacional (MARENGONI, 2006). Tem ainda, grande potencial para ocupar o topo deste ranking, sendo para isso necessário melhorias na qualidade do produto oferecido (RAMSEYER, 2005), de forma a estender o prazo pelo qual esse alimento possa ser comercializado sem riscos à saúde do consumidor.

Características como valor nutricional, textura e sabor devem ser sempre preservadas nos produtos que se encontram dentro do prazo comercial. As mudanças nessas características são derivadas de três mecanismos principais: autólise enzimática; oxidação; e crescimento microbiano. As baixas temperaturas são as mais comumente usadas na indústria (GHALY et al., 2010).

O armazenamento em gelo prolonga o prazo de validade por um período limitado (PEREDA et al., 2005). Este método de manutenção da temperatura é o mais utilizado pelo mercado varejista, onde o gelo promove, além da manutenção da temperatura, uma lenta lavagem na pele do animal, à medida que ocorre a fusão do gelo.

Informações sobre a qualidade podem ser obtidas pela execução de experimentos, cujas variáveis envolvidas no avanço do processo deteriorativo sejam controlados desde o momento da pesca. O frescor e a deterioração podem ser monitorados, uma vez que a dinâmica e a taxa das mudanças sejam medidas (ÓLAFSDBTTIR et al., 1997).

A associação do crescimento, análises químicas, avaliação sensorial e modelos matemáticos mostram-se de grande importância para avaliar a qualidade (GRAM; DALGAARD, 2002).

O objetivo deste trabalho foi determinar a qualidade de Tilápias (*Oreochromis niloticus*) inteiras armazenadas sob o gelo, mediante a combinação dos métodos analíticos microbiológico, físico-químico, sensorial e microscópico, a fim de estimar seu prazo de validade.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no município de Campos dos Goytacazes – RJ, durante o período de maio a outubro de 2012. Um total de 20 espécimes foi obtido junto à piscicultura do Instituto Federal do Espírito Santo (IFES), localizado no município de Alegre, no estado do Espírito Santo, Brasil. As Tilápias possuíam peso médio de 800 ± 200 g, e foram divididas em dois lotes, cada um contendo dez animais. Estes foram submetidos à termonarcorese, na relação 1:1 (gelo: peixe), colocados em caixas isotérmicas com gelo em flocos e imediatamente transportados para o Setor de Inspeção de Produtos de Origem Animal do Laboratório de Morfologia e Patologia Animal, na Universidade Estadual do Norte Fluminense-Darcy Ribeiro. No laboratório, os animais foram lavados em água clorada a 5 ppm, pesados, e colocados em bandejas de polipropileno com prévia desinfecção e sob gelo em flocos fabricado com água potável, na proporção 2:1 (gelo:peixe).

As análises microbiológicas e de pH foram feitas em quadruplicata ($n=4$) a cada dois ou três dias, totalizando 12 dias de análises, sendo estes: dias zero; dois; quatro; sete; nove; 11; 14; 16; 18; 21; 23; 25.

O procedimento para contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos foi realizado de acordo com a Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003 (BRASIL, 2003).

Para cada análise foram colhidos assepticamente 25 g de músculo com pele e 25 g de músculo sem pele. Para tanto, se procedeu a realização de cortes nas regiões dorsal e caudal, seguido de mistura em 0,1% (w/v) de peptona (Himedia n.º 0001), durante dois minutos em Stomacher (Lab Blender 400, Seward Medical). Diluições em série adequadas foram plaqueadas em Ágar Padrão Contagem (Himedia n.º 0091). A incubação das placas foi feita a 35°C durante 48h e 7°C durante 10 dias, para micro-organismos mesófilos e psicrotróficos, respectivamente. As contagens foram determinadas pelo somatório e média das unidades formadoras de colônia (UFC) utilizando o contador de colônias (Phoenix, Modelo CP600).

As contagens obtidas pelas análises bacteriológicas foram transformadas em valores logaritmos para realização da análise estatística.

Para avaliação histológica, foi coletado em cada dia de análise um fragmento de 1 cm² de tecido da musculatura dorsal, sendo estes fixados em formol tamponado neutro a 10% (PROPHET et al., 1994). Em seguida, foram clivados, armazenados em histossetes plásticos, processados por inclusão em parafina (Processador Automático de Tecidos – LEICA TP1020), incluídos em parafina para serem cortados (Micrótomo Semi-automático – LEICA RM2145) em seções de 5 micras (5µm) e corados pela Hematoxilina e Eosina (HxE). Posteriormente, o material foi observado em microscopia óptica e fotografado. A análise das imagens foi feita com o auxílio de um programa de morfometria digital (Software Image J, versão 1.33). As fotomicrografias obtidas foram documentadas e arquivadas, utilizando máquina fotográfica digital Nikon Coolpix 995, adaptada em microscópio óptico (Olympus BX 41).

A análise sensorial foi conduzida junto a uma equipe de 12 julgadores treinados (SHEWAN et al., 1953), de acordo com os critérios propostos pela Comunidade Europeia (EU) de análise sensorial (HOWGATE et al., 1992) mostrados no quadro 1.

Quadro 1. Escala empregada para avaliação da qualidade de Tilápias mantidas sob gelo.

Atributo	Alta qualidade (E)	Boa Qualidade (A)	Qualidade Razoável (B)	Inaceitável (C)
Pele	Pigmentação muito intensa; muco transparente	Muco leitoso; insignificante perdas de pigmentação	Muco levemente acinzentado; pigmentação sem brilho	Muco amplamente opaco; importante perda de pigmentação
Odor externo	Cheiro característico da espécie	Cheiro fraco	Levemente azedo e pútrido	Azedo e pútrido
Brânquias	Brilantemente vermelho, sem odor; lâminas perfeitamente separadas	Cor rosa, sem odor; lâminas aderidas em grupos	Ligeiramente pálida; leve odor de peixe; lâminas aderidas em grupos	Cinza-amarelada; odor de amônia intensa; lâminas totalmente aderidas
Olhos	Convexos; córnea transparente; pupila brilhante e preta	Convexos - levemente côncavos; córnea levemente opaca; pupila negra e nublada	Plana, córnea opalescente; pupila opaca	Córnea côncava e leitosa; turvo
Consistência	Presença de consistência ou desaparecimento parcial de sintomas de rigor mortis	Firme e elástica; pressão digital desaparece imediatamente	Presença de sinais mecânicos, elasticidade nomeadamente reduzida	Importantes mudanças no formato devido a fatores mecânicos

Fonte: Adaptado de HOWGATE et al. (1992)

Foram estabelecidas quatro categorias: Alta qualidade (E); Boa qualidade (A); Qualidade razoável (B) e Inaceitável (C). O julgamento sensorial das tilápias incluiu os seguintes parâmetros: características da pele, odor externo, brânquias, olhos e consistência. Os resultados obtidos foram tabulados e submetidos à estatística descritiva.

Para a análise do potencial hidrogeniônico (pH) foi utilizado o método do potenciômetro (BRASIL, 1981). Com o auxílio de um bastão de vidro, 50 g da amostra foi homogeneizada com 10 mL de água destilada. A leitura foi realizada com o eletrodo do potenciômetro diretamente na amostra. Os dados foram analisados estatisticamente para obtenção de uma regressão linear.

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com quatro repetições. As análises de variância e de regressão foram realizadas utilizando-se o programa computacional SAEG, versão 9.0 (Universidade Federal de Viçosa, 1997).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A variação do pH do músculo de Tilápia durante 25 dias de armazenamento sob refrigeração foi analisada (Fig. 1). O pH no dia zero foi de 5,98, esse valor é próximo ao relatado por Borges (2005), que encontrou o valor de 5,91. No entanto, é mais baixo do que o relatado por Chytiri et al. (2004), Erkan (2007) e Rodríguez et al. (2004), que encontraram valores de 6,34, 6,39 e 6,25 respectivamente. Variações entre os valores iniciais de pH podem ser devido a fatores como: estação do ano, espécies, dieta, nível de atividade ou estresse durante a captura (OCAÑO-HIGUERA et al., 2009).

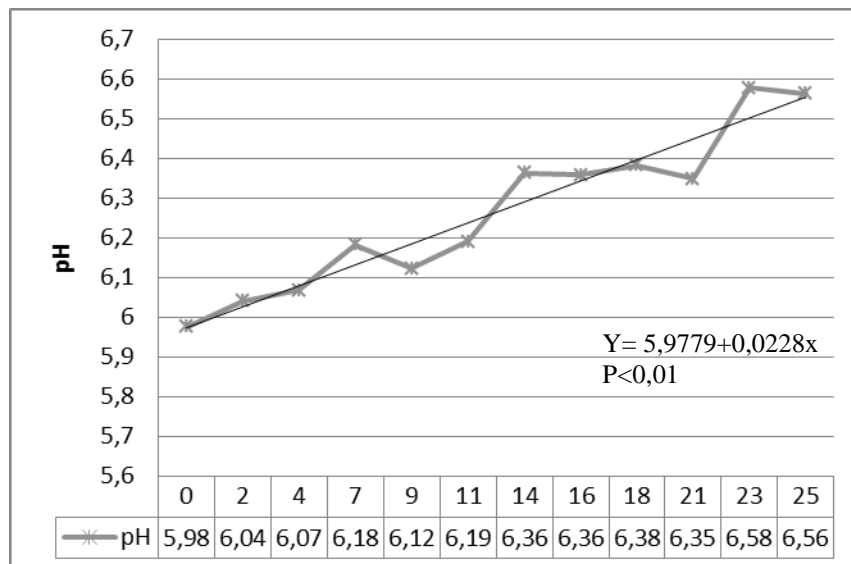


Gráfico 1. Alterações de pH *post-mortem* no músculo de Tilápias (*Oreochromis niloticus*) armazenados em gelo (0°C) durante 25 dias. Os valores são relativos à média de n = 4 para cada dia de amostragem.

No gráfico 1, nota-se a ocorrência de decréscimos nos valores da curva entre os dias sete-nove e 18-21, possivelmente em razão da formação anaeróbica de ácido láctico (LAZARIN et al., 2011), porém, observa-se um aumento linear e significativo ($P < 0,01$), em função dos dias de estocagem segundo a equação: $Y = 5,9779 + 0,0228x$, atingindo o valor acima do limite (6,4) no dia 23. Provavelmente, tal fato se deve ao crescimento bacteriano como resultado da produção de amoníaco e de outras bases voláteis (OCAÑO-HIGUERA et al., 2009; OGAWA; MAIA, 1999).

Segundo o Laboratório Nacional de Referência Animal LANARA (BRASIL, 1981), o limite máximo de aceitação para o pH é de 6,4. Esse valor de acordo com a equação de regressão $Y = 5,9779 + 0,0228x$ foi atingido por volta dos 18 dias de estocagem.

No que concerne à análise microbiológica, os resultados das contagens médias logarítmicas de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e psicrotróficas das amostras de músculo com e sem pele estão expostos na Tab. 1.

Tabela 1: Valores médios das contagens de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas e Bactérias Heterotróficas Aeróbias Psicrotróficas nas amostras de músculo com e sem pele de Tilápias inteiras mantidas sob gelo a 0°C.

Dias de estocagem	MÚSCULO			
	SEM PELE		COM PELE	
	Mesófilas (log)	Psicrotróficas (log)	Mesófilas (log)	Psicrotróficas (log)
0	2,5616	2,0408	3,1965	2,7663
2	2,2768	0,6435	2,9957	1,0576
4	1,2143	0,2500	3,0429	1,1296
7	2,3941	1,0805	3,8666	3,4345
9	2,6337	2,0542	4,0472	3,5532
11	3,8202	3,8940	4,3368	4,8924
14	4,4900	4,5891	5,1919	5,4636
16	6,6524	6,4700	7,6412	7,0719
18	6,7129	6,6818	8,2742	7,7784
21	8,2335	8,2464	9,8573	9,8281
23	8,9245	8,7660	9,8456	9,2777
25	9,9254	10,2515	10,9129	11,3356

Como pode ser observado na Tab. 2 as contagens iniciais de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e psicrotróficas no dia zero foram de 2,56 e 2,04 log, para amostras extraídas de tecido muscular sem pele e 3,20 e 2,77 log, respectivamente, para amostras musculares com pele. Esses resultados indicam boas condições higiênicas e de abate dos animais, corroborando com o observado por Borges (2005), que encontrou contagens similares em trabalho realizado com corvinas (*Micropogonias furnieri*), visto que os resultados se distanciam da ordem de 10^4 log UFC/g do limite estabelecido.

Todavia, trabalhando com Dourada, Erkan (2007) encontrou valores iguais a 3,5 e 3,3 log para bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e psicrotróficas, enquanto Papadopoulos et al. (2003) encontraram valores superiores (4,0 log ufc/g)

para robalo (*Dicentrarchus labrax*). Essa variação pode ocorrer por diversos motivos, dentre eles o manejo, a qualidade da água do criatório e a pureza do gelo.

Observa-se no gráfico 2 as curvas de crescimento de micro-organismos nos dois tratamentos empregados ($P < 0,001$).

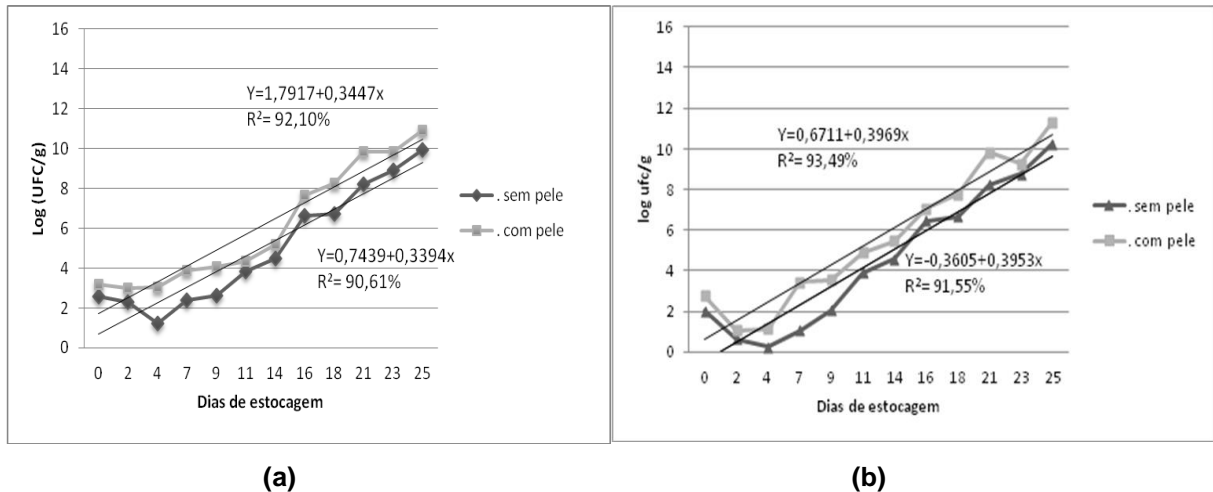


Gráfico 2. Curva de crescimento de Bactérias Heterotróficas Aeróbias: (a) Mesófilas e (b) Psicotróficas em amostras de músculo com e sem pele de Tilápias inteiras mantidas sob gelo a 0°C.

Nota-se o decréscimo em ambas as curvas desde o primeiro dia de estocagem, entretanto a partir do quinto dia a ascensão começa a ser observada. Situação semelhante foi observada por Scherer et al. (2006), Özden et al. (2007) e Erkan (2007). De acordo com Gram e Huss (1996) esse fato ocorre devido à adaptação dos micro-organismos às baixas temperaturas.

Constatou-se também o aumento mais acentuado das contagens de bactérias mesófilas e psicotróficas entre o 14° e 16° dias de armazenamento provavelmente devido ao extravasamento do conteúdo intestinal, visto que nesse caso as contagens podem variar entre 3,00 e 8,00 log (OGAWA; MAIA, 1999). Esse resultado corrobora com as pesquisas de Borges (2005) e Erkan (2007).

A legislação brasileira não prevê limites para contagem em placas de bactérias mesófilas no músculo do peixe fresco, porém a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO 1997) estabelece o limite máximo de 10^7 (7,0 log UFC/grama).

Da mesma forma não impõe um limite para micro-organismos heterotróficos aeróbios psicotróficos, entretanto, sabe-se que contagens elevadas desse grupo de bactérias contribuem para a redução do prazo de validade, em virtude de suas

características proteolíticas e lipolíticas e também em virtude de se desenvolverem a baixas temperaturas (LAZARIN et al., 2011).

Para as contagens de bactérias mesófilas e psicotróficas, as amostras de músculo sem pele apresentaram boa qualidade até o 18º dia de estocagem, visto que, no dia 21 atingiram contagens de 8,23 e 8,24 log, respectivamente (Tab. 1).

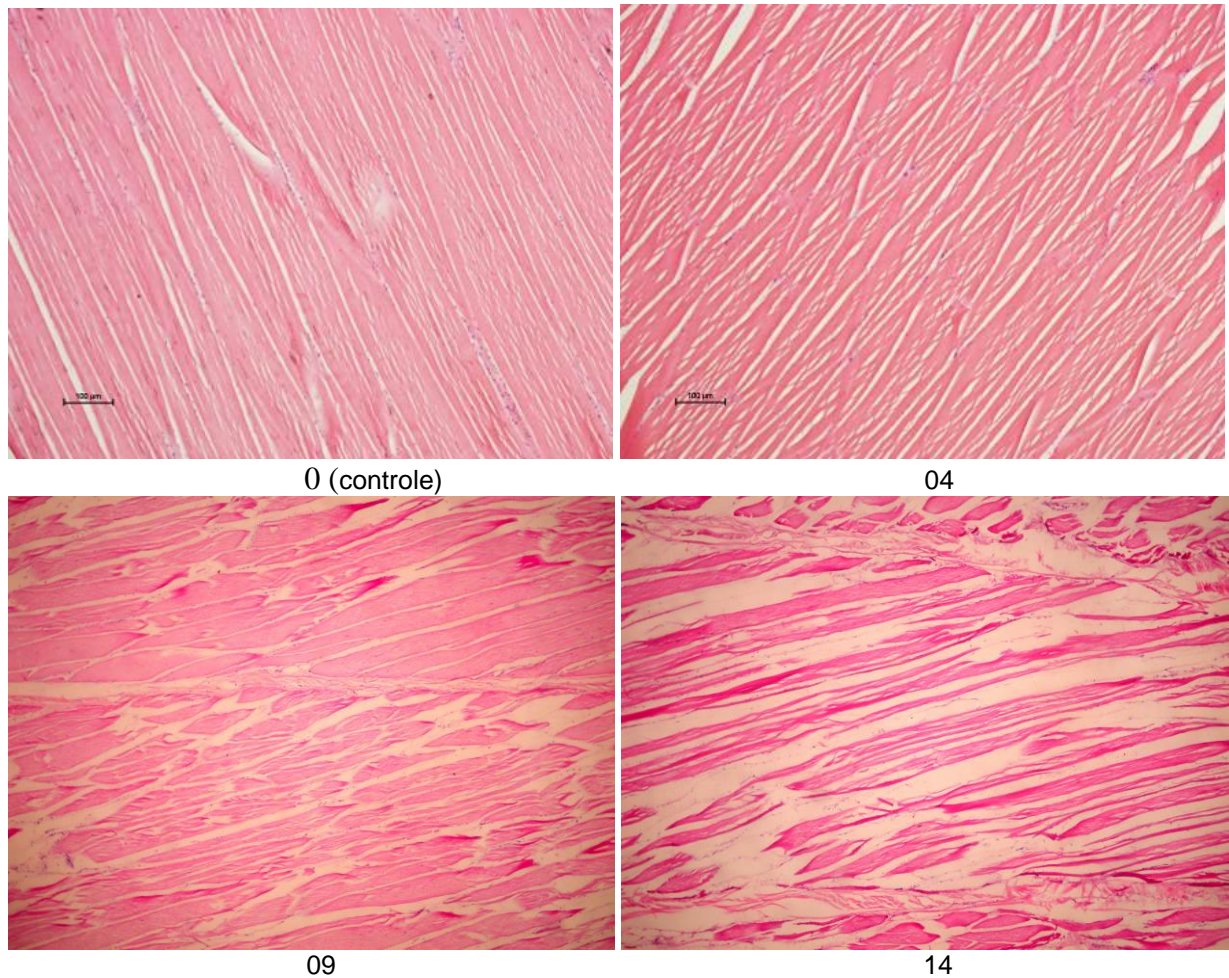
Este prazo foi reduzido para 14 dias em amostras de músculo com pele, visto que estas apresentaram valores de 7,64 e 7,07 log para bactérias mesófilas e psicotróficas aos 16 dias. Resultados similares foram encontrados por Scherer et al. (2006) e Özden et al. (2007) que encontraram valores aceitáveis até o 13º e 11º dia para a carpa-capim (*Ctenopharyngodon idella*) e robalo (*Dicentrarchus labrax*) respectivamente. Todavia, Papadopoulos et al. (2003) e Chytiri et al. (2004) encontraram esse limite no dia 16 e 18 de estocagem para robalo e truta arco-íris, respectivamente.

Os resultados dos exames histológicos da Tilápia são mostrados na Fig. 1. Observa-se que no dia zero as fibras musculares das amostras demonstraram formas uniformes e regulares, condizentes com o grau máximo de frescor (grupo controle).

No quarto dia de armazenamento sob o gelo, algumas estrias desapareceram, havendo diminuição da largura das fibras e leve aumento do espaço intersticial.

Nota-se ausência de estriações aos nove dias, sendo observada desorganização acentuada do tecido, traduzida como aumento do espaço intersticial e ruptura das fibras. Estas mesmas alterações foram observadas por Caballero et al. (2009), após sete dias de armazenamento em douradas (*Sparus aurata*).

Aos 14 dias, observa-se a completa perda de integridade, sendo difícil reconhecer as fibras a partir desse período.



Fonte: LMPA/UENF (2012)

Figura 1. Fotomicrografias de tecido muscular de Tilápias mantidas sob o gelo. Cortes longitudinais (HE), em aumento de 10x . O número abaixo das figuras indica o tempo de estocagem em dias.

De acordo com Caballero et al. (2009), os processos de degradação *post-mortem* que ocorrem no músculo dos peixes gradualmente alteram o estado inicial de frescor. A degradação dos tecidos é acompanhada por uma drástica proteólise miofibrilar produzida como consequência da ativação de enzimas proteolíticas. Com base nos dados da presente pesquisa, infere-se que a qualidade do tecido muscular foi mantida até os nove dias de estocagem sob gelo, uma vez que este correspondeu ao período que antecedeu o rompimento das fibras.

Considerando o resultado das análises sensoriais (quadro 2), observa-se que a aparência do globo ocular foi o principal fator negativo relacionado à perda de qualidade no lote.

Quadro 2. Aceitabilidade sensorial da Tilápia mantida sob gelo em diferentes períodos de estocagem.

Atributo	Dias de estocagem								
	0	2	4	7	9	11	14	16	18
Pele	E	E	A	B	B	B	B	C	C
Odor	E	E	E	A	A	B	B	C	C
Brânquias	E	E	E	A	A	A	B	C	C
Olhos	E	E	A	B	B	C	C	C	C
Consistência	E	E	A	A	B	B	C	C	C
Classificação	E	E	A	A	B	B	B	C	C

Alta qualidade (E), Boa qualidade (A), Qualidade razoável (B) e Inaceitável (C)

Fonte: LMPA/UENF (2012)

As Tilápias mantidas sob refrigeração mantiveram boa aceitabilidade até o sétimo dia de armazenamento. Esses resultados corroboram com os de Özden et al. (2007), Papadopoulos et al. (2003) e Poli et al. (2006).

A partir do 9º dia, aumentaram as qualificações na categoria B (razoável), que foram predominantes até o 14º dia de estocagem. Todavia, a maior queda de qualidade foi observada a partir do 16º dia, quando as Tilápias deixaram de ser consideradas aceitáveis para consumo em todos os atributos analisados (categoria C). Resultados similares foram encontrados por Papadopoulos et al. (2003) e Chytiri et al. (2004), que encontraram valores inaceitáveis aos 16 e 18 dias, respectivamente. Porém, valores distintos foram encontrados nos trabalhos de Erkan (2007) com dourada e Özden et al. (2007), que com robalo encontravam limite de aceitabilidade de 13 e 33 dias, respectivamente. Essa disparidade de resultados pode ser devido a fatores, como origem geográfica e a interação de outros fatores (GRAM; HUSS, 1996).

Para retardar os processos degradativos, é necessário que se mantenha o peixe em temperatura de 0º desde sua captura (GHALY et. al, 2010). Dessa forma, evita-se a ocorrência de uma série de reações autolíticas e microbianas, que originam produtos com sabores e odores desagradáveis determinando sua rejeição (ALMAS, 1981).

É importante ressaltar, a necessidade da realização de pesquisas que envolvam a associação entre os métodos de análise sensorial, físico-químico e microbiológico, para conhecer o ponto de rejeição do alimento. Entretanto, de acordo com Gram e Huss, (1996) após conhecer esses aspectos, deve-se identificar a bactéria deterioradora.

Estudos complementares são necessários, no sentido de identificar as principais espécies de bactérias que degradam peixes da espécie *Oreochromis niloticus*. O desenvolvimento de modelos experimentais em que o prazo de validade deste tipo de peixe, conservado em gelo, seja previsto, pode contribuir para o aumento de sua comercialização. Seja no âmbito interestadual ou internacional.

CONCLUSÕES

Tendo em vista os resultados dos métodos analíticos empregados considera-se como prazo de validade o intervalo de 14 dias para tilápias (*Oreochromis niloticus*), inteiras armazenadas sob gelo;

A avaliação histológica é um preditor da qualidade de Tilápias, visto que esta mostra sinais de degradação anterior aos demais métodos analíticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMAS, K.A. 1981. *Chemistry and microbiology of fish and fish processing*. Department of Biochemistry Norwegian Institute of Technology. University of Trondheim. 123pp.

ASSURANCE of seafood quality: FAO, Roma, 1997. 174p. (Fisheries technical paper 334).

BORGES, A. *Qualidade da corvina (Micropogonias furnieri) eviscerada e inteira estocadas em diferentes períodos à temperatura de 0°C*. 2005. 81f. Dissertação (Mestrado em medicina veterinária) – Faculdade de veterinária. Universidade Federal Fluminense.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Laboratório Nacional de Referência Animal. *Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes*. Brasília: Ministério da Agricultura, 1981. v.2, cap.11. (Pescado Fresco).

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 62 de 26 de agosto de 2003, que oficializa os métodos analíticos para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. *Diário Oficial da União*. Brasília, DF, 2003.

CABALLERO, M. J; BETANCOR, M; ESCRIG, J. C; et al. *Post mortem changes produced in the muscle of sea bream (Sparus aurata) during ice storage*. *Rev. Aquaculture*, 291: 210–216, 2009.

CHYTIRI, S; CHOULIARA, I; SAVVAIDIS, I. N; et.al. *Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout*. *Food Microbiology*, v.21, p. 157–165, 2004.

GHALY, A. E; DAVE, D; BUDGE, S; BROOKS, M. S. *Fish spoilage mechanisms and preservation techniques: Review*. *Am. J. Applied Sci.*, v. 7, p. 846-864, 2010.

GRAM, L. e DALGAARD, P. *Fish spoilage bacteria – problems and solutions*. *Environmental biotechnology*. v.13, p.262–266, 2002.

GRAM, L. e HUSS, H.H. *Microbiological spoilage of fish and fish products*. *Int. J. Food Microbiol.*, v.33, p.121-137, 1996.

ERKAN, N. Sensory, chemical, and microbiological attributes of Sea Bream (*Sparus aurata*): effect of washing and ice storage. *International Journal of Food Properties*, v.10, p. 421–434, 2007.

HOWGATE, P., JOHNSTON, A., WHITTLE, K.J. (Eds.). *Multilingual Guide to EC Freshness Grades for Fishery Products*. Aberdeen, Marine Laboratory, Scottish Office of Agriculture, Environment and Fisheries Department. 1992

IBAMA. *Estatística de pesca 2010*. Brasil. Grandes regiões e unidades da federação. Brasília: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis: 2010. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br>>. Acessado em: 28 abr. 2012.

LANZARIN, M.; ALMEIDA FILHO, E. S.; RITTER, D. O. et al. Ocorrência de *Aeromonas* sp. e microrganismos psicrotóxicos e estimativa do prazo de validade comercial de filé de pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*) mantidos sob refrigeração. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.63, n.6, p.1541-1546, 2011.

MARENGONI, N. G. Produção de tilápia do nilo *Oreochromis niloticus* (linhagem chitralada), cultivada em tanques-rede, sob diferentes densidades de estocagem. *Archivos de zootecnia*, v. 55, n. 210, p. 127-138, 2006.

OCAÑO-HIGUERA V.M.; MARQUEZ-RÍOS, E.; CANIZALES-DÁVILA, M., et al. Postmortem changes in cazon fish muscle stored on ice. *Food Chemistry*, v.116, p.933–938, 2009.

OGAWA, M., MAIA, E.L. *Manual de pesca: Ciência e Tecnologia do Pescado*. São Paulo: Varela, 1999. 430p.

ÓLAFSDBTTIR, G.; MARTINSDBTTIR, E.; OEHLENSCHBGER, J. Methods to evaluate fish freshness in research and Industry. *Trends in Food Science & Technology*. v. 81, p. 258-265, 1997.

ÖZDEN, O.; INUGUR, M.; ERKAN, N. Effect of different dose gamma radiation and refrigeration on the chemical and sensory properties and microbiological status of aqua cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Radiation Physics and Chemistry*, v.76, p.1169–1178, 2007.

PAPADOPOULOS, V.; CHOULIARA, I.; BADEKA, A. et al. Effect of gutting on microbiological, chemical, and sensory properties of aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice. *Food Microbiology*, v.20, p.411–420, 2003.

PEREDA, A.O.; RODRÍGUEZ, M.I.C.; ÁLVAREZ, L.F. et al. *Tecnologia de alimentos: alimentos de origem animal*. Porto Alegre: Artmed, v.2, 2005. 279p.

POLI, B. M.; MESSINI, A.; PARISI, G.; et al. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets packed under modified atmosphere/air or prepared from whole fish stored in ice. *International Journal of Food Science and Technology*, 41: 444–454, 2006.

PROPHET, E.B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J.B. et al. (Eds.). *AFIP laboratory methods in histotechnology*. Washington: American Registry of Pathology, 1994. 274p.

RAMSEYER, R. Finfish focus: Tilapia. *Rev. SeaFood Business*. p. 22-26, 2005.

RODRÍGUEZ, Ó.; LOSADA, V.; AUBOURG, S. P.; et. al. Enhanced shelf-life of chilled European hake (*Merluccius merluccius*) stored in slurry ice as determined by sensory analysis and assessment of microbiological activity. *Food Research International*, v.37, p.749–757, 2004.

SCHERER, R.; AUGUSTI, P. R.; BOCHI, V. C.; et al. Chemical and microbiological quality of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) slaughtered by different methods. *Food Chemistry*, v. 99, p. 136–142, 2006.

SHEWAN, J. M.; MACINTOSH, R. G.; TUCKER, C. G.; et. al. The development of a numerical scoring system for the sensory assessment of the spoilage of wet white fish stored in ice. *J. Sci. Food Agric.*, v.4, n.6, p.283-298, 1953.

SOUZA, M. L. R., MARANHÃO, T. C. F. Rendimento de carcaça, filé e subprodutos da filetagem da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L), em função do peso corporal. *Acta Scientiarum*, v. 23, n. 4, p. 897-901, 2001.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. *SAEG - Sistema de análises estatísticas e genéticas: Versão 9.0*. Viçosa, MG: UFV, 1997. 150p.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos dados coletados na presente pesquisa, é possível inferir que a indicação do prazo de validade nos alimentos é útil para garantir características comerciais como: cor, sabor, textura e principalmente a segurança no sentido de evitar a transmissão das DTAs, entretanto, não significa que o consumo, imediatamente após o final do prazo, implique em agravos à saúde do consumidor.

Para alguns alimentos como o leite e o próprio pescado a margem de segurança após o prazo pode não ser tão grande, devido ao elevado teor de água e lipídeos em sua composição, mas as alterações no odor e sabor são importantes indicadores da multiplicação de micro-organismos. Devido a esse fato, é necessária a associação entre os resultados de diferentes métodos analíticos.

Outro dado importante a ser considerado é que mesmo dentro do prazo de validade, um alimento pode estar mais propenso a deterioração, se for submetido a más condições de manipulação ou conservação deficiente. Um exemplo disso, é a situação em que o consumidor avalia a consistência da musculatura pressionando os dedos sobre o pescado no ato da compra. Sabe-se que as mãos são capazes de veicular agentes microbianos capazes de ocasionar agravos a saúde (ZANDONADI et al., 2007). Também é sabido que temperaturas de conservação inadequadas para o pescado são comuns de serem observadas no comércio varejista (LIMA, 2011).

Após a sobreposição das curvas de crescimento de bactérias em amostras conservadas a 4°C e no gelo (gráfico 1 a e b), fica evidente o efeito negativo que o gelo exerce sob a multiplicação microbiana ($p < 0,001$), visto que durante todo o período de estudo, as curvas de crescimento das bactérias contidas em amostras conservadas a 0°C, se mantiveram abaixo das curvas observadas para as bactérias presentes nas amostras refrigeradas a 4°C.

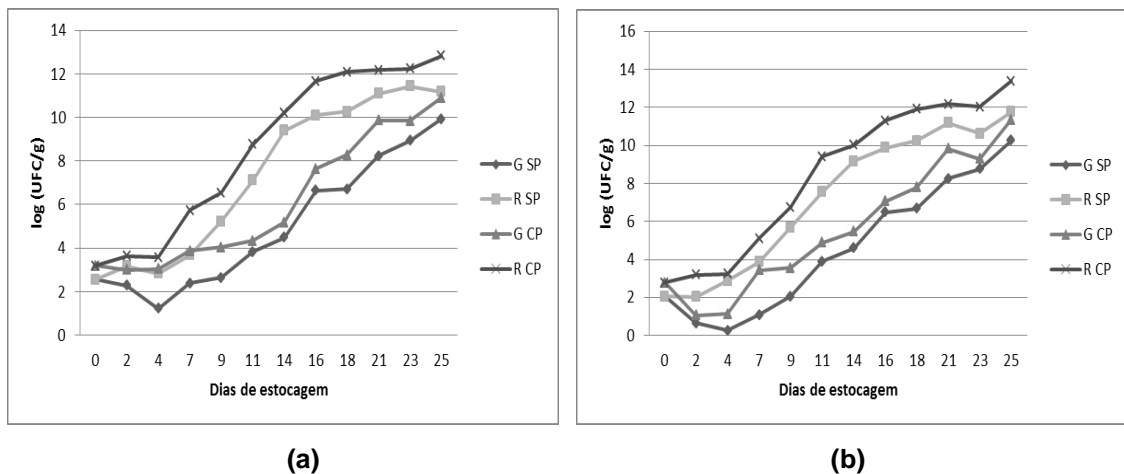


Gráfico 1. Curva de crescimento de Bactérias Heterotróficas Aeróbias: (a) Mesófilas e (b) Psicrotróficas de amostras de músculo com e sem pele de Tilápias inteiras. Tratamentos: GSP- gelo sem pele, RSP- resfriado sem pele, GCP- gelo com pele, RCP- resfriado com pele.

O resultado da análise de regressão (Tab. 2) confirma o exposto anteriormente, uma vez que as equações mostram diferenças nos valores de coeficiente angular, entre as amostras conservadas a 0°C e as refrigeradas a 4°C, ou seja, o prazo de validade é aumentado com o uso de gelo.

Tabela 2. Regressão de crescimento de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas e Bactérias Heterotróficas Aeróbias Psicrotróficas de Tilápias mantidas sob refrigeração e sob gelo.

BACTÉRIAS		MÉTODO DE PRESERVAÇÃO	
		Resfriado	Gelo
Mesófilos	Sem pele	$Y=2,0994+0,4190x$	$Y=0,7439+0,3394x$
	Com pele	$Y=3,0315+0,4417x$	$Y=1,7417+0,3447x$
Psicrotróficos	Sem pele	$Y=1,7881+0,4363x$	$Y=0,3605+0,3953x$
	Com pele	$Y=2,6361+0,4639x$	$Y=0,6711+0,3969x$

$R^2 >90\%$

Enfatiza-se, que a opção por utilizar a faixa de temperatura entre 0 e 4°C se deve a afirmação de Chang, Shiau e Pan (1998), que após estudarem as alterações microbiológicas em peixes da espécie *Lateolabrax japonicus*, salientaram que o crescimento de micro-organismos ocorre mais rapidamente durante o armazenamento a 5°C.

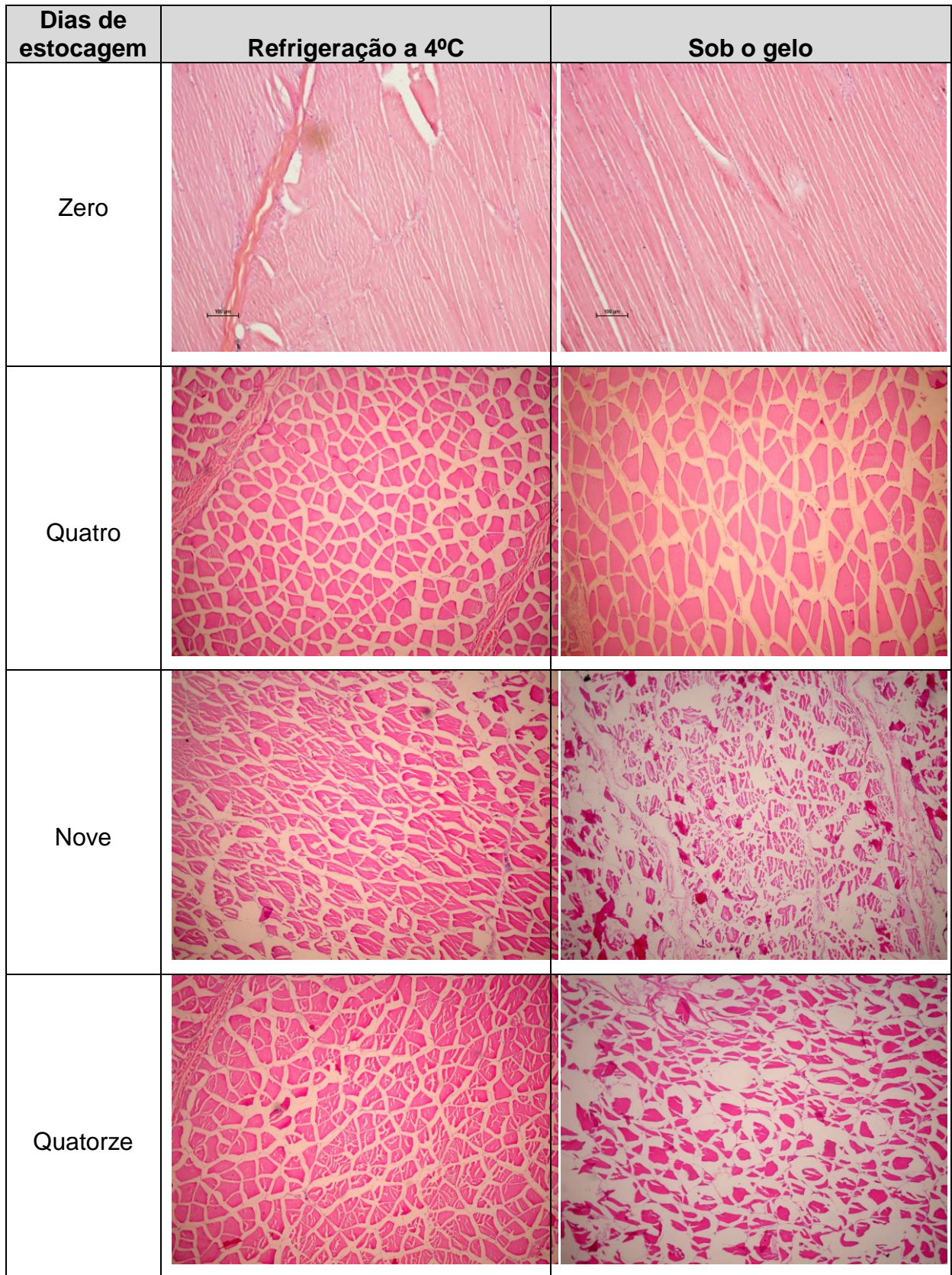
Salienta-se também, que o procedimento de retirada da pele foi embasado na hipótese de que sua presença contribui para a degradação do alimento, diminuindo assim, o seu prazo de validade. Gram e Huss (1996) afirmaram que a pele constitui uma barreira física que impede a penetração e multiplicação de agentes microbianos capazes de promover a deterioração da carne. Entretanto, para garantir a inocuidade do alimento Erkan (2007) cita que a lavagem do pescado, destinado a comercialização *in natura*, em água corrente, é importante para reduzir a carga de micro-organismos da microbiota natural do animal, presentes nas superfícies das escamas ou provenientes do meio.

Nesse aspecto, o Governo Federal, por meio da Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca da Presidência da República (BRASIL, 2007) elaborou uma cartilha dirigida aos profissionais que atuam na manipulação e comercialização do alimento, para que sejam adotados os princípios necessários ao manuseio correto dos alimentos de origem pesqueira, indicando para a lavagem a concentração de cloro em 5 ppm (5 mg de cloro por 1 litro de água).

Na presente pesquisa, além da lavagem, procedeu-se a retirada da pele, tendo-se constatado para todas as amostras a hipótese de que a pele contribui significativamente ($p < 0,001$) para a diminuição do prazo de validade. Essa afirmação é comprovada pelas contagens de bactérias das amostras com pele, cujos resultados são sempre superiores ao observado nas amostras refrigeradas sem pele (Fig. 1 a e b).

Os resultados deste trabalho também corroboram com os de (SANTOS, 2011), que após a realização de uma pesquisa com atum (*Thunus atlanticus*), sugeriu a estocagem desse peixe sob refrigeração sem a pele como medida para aumentar a segurança no consumo desse alimento, em função da influência da culinária nipônica no Brasil.

No que diz respeito às alterações microscópicas, os resultados são mostrados na Fig. 1.



Fonte: LMPA/UENF (2012)

Figura 1. Fotomicrografias de tecido muscular de Tilápias mantidas em condições de refrigeração e sob gelo. Cortes longitudinais corados em HE (controle) e transversal (quatro, nove e quatorze), em aumento de 10x.

Observa-se que no dia zero, as fibras musculares estavam uniformes condizentes com o grau máximo de frescor (grupo controle).

No quarto dia de armazenamento em refrigeração, houve diminuição da largura das fibras e leve aumento do espaço intersticial, entretanto, para as amostras mantidas sob gelo esses sinais ficaram mais pronunciados, tendo-se observado ainda leve fragmentação das fibras musculares.

Aos nove dias em refrigeração aumentaram os espaços intersticiais e o número de fibras fragmentadas, porém, essas alterações eram mais visíveis nas amostras conservadas sob o gelo. Era de se esperar que ocorresse o contrário, todavia, é possível que tal fato tenha ocorrido devido a variações de temperatura ocorridas no equipamento ao longo do experimento. Ghaly et al. (2010) explicaram que o ponto de congelamento do peixe se inicia a -1°C , e que o congelamento lento resulta na formação de grande cristais de água que danificam as membranas celulares causando desnaturação de proteínas. Sabe-se que esse processo promove a exudação de água para o meio intersticial e provavelmente ocorreu neste experimento.

Optou-se na presente pesquisa pela conservação das amostras sob o gelo dentro do equipamento de refrigeração, a fim de evitar a renovação constante do gelo, mas em um determinado momento, constatou-se que a temperatura mínima registrada no interior do equipamento foi de -4°C , portanto, compatível com o que fora salientado por Ghaly et al. (2010).

Ao final de 14 dias, a fragmentação das fibras musculares foi constatada para ambos os tratamentos, com completa perda de sua integridade, sendo difícil reconhecê-las a partir desse período.

No que concerne aos resultados da variação de pH, nota-se no gráfico 2, que o período necessário para que os peixes refrigerados a 4°C atinjam o limiar de aceitabilidade para consumo (6,4), foi menor em comparação aos armazenados a 0°C , já que para estes tratamentos foram observados intervalos de 16 e 21 dias respectivamente.

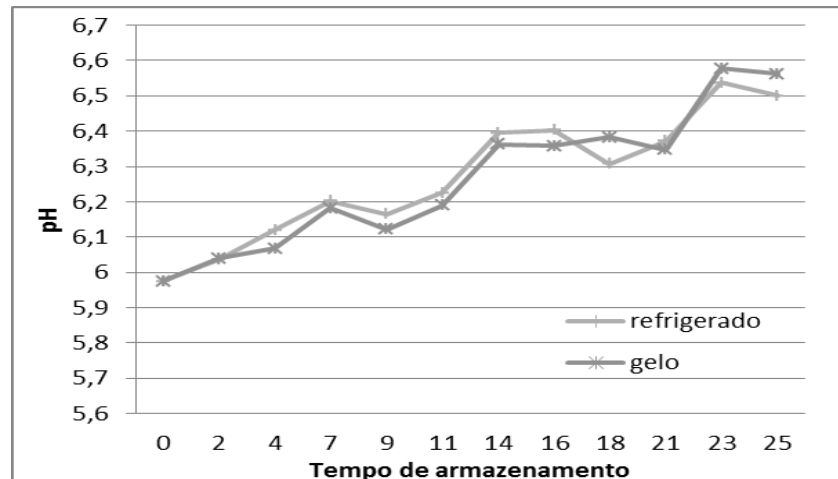


Gráfico 2. Alterações de pH *post-mortem* no músculo de Tilápias (*Oreochromis niloticus*) armazenados sob refrigeração (4°C) e gelo durante 25 dias. Os valores são relativos à média de n = 4 para cada dia de amostragem.

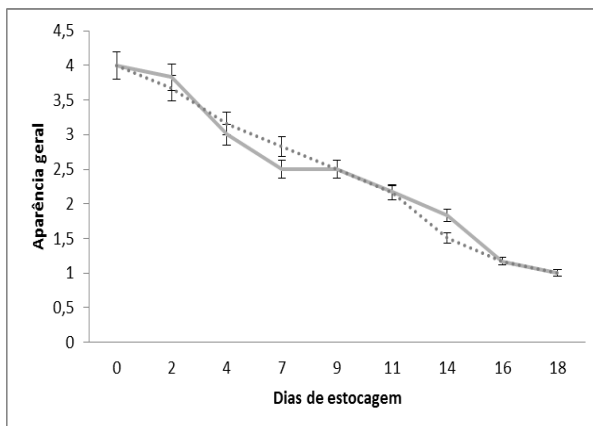
É praticamente unânime a preocupação do consumidor com a qualidade do produto, o que faz com que a procura por pescado fresco seja superior ao congelado. No primeiro caso, o indivíduo pode se atentar para características sensoriais que o produto fresco evidencia. Em contrapartida, para produtos congelados os critérios de julgamento no momento da compra são diferentes. Muitas vezes, por não conhecer esses critérios, o consumidor confia nas informações contidas nos rótulos, que em algumas situações estão sujeitas à fraude (RODAS et al., 2001; SOUZA-KRULISKI et al., 2010).

Sabe-se que em geral, o preço do pescado fresco é superior ao dos peixes congelados. Considerando esse aspecto, entende-se porque muitos comerciantes procuram vender o pescado como fresco por períodos prolongados, ainda que suas características sensoriais não sejam compatíveis com essa realidade. Na tentativa de “prolongar” o prazo de validade, o comerciante faz uso de fraudes como: adicionar corantes às guelras; adicionar antibióticos a produtos marinhos, com objetivo de diminuir a microbiota e aumentar o prazo de conservação; dividir em postas os peixes que começam a apresentar alterações de suas características normais, dificultando a investigação pelo comprador; congelar produtos em início de deterioração, para posterior comercialização com o objetivo de mascarar o cheiro e sua textura (PRATA; FUKUDA, 2001; KOLICHESKI, 2009), bem como usar desinfetantes e água oxigenada para melhorar a aparência do peixe (KOLICHESKI, 2009).

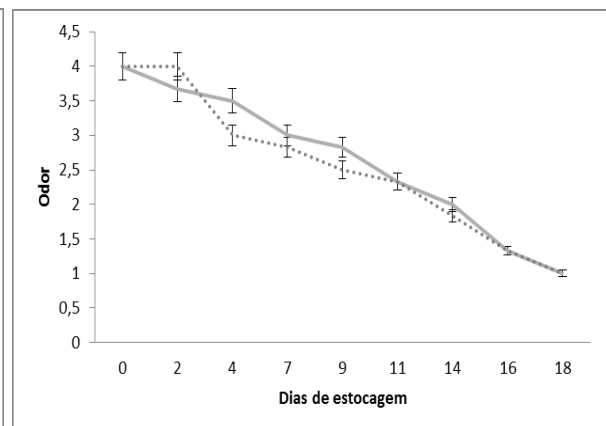
É importante salientar, que a compra de pescado nas circunstâncias anteriormente citadas são exceções. Fato mais comum é o peixe ser congelado quando está na iminência de se deteriorar. Nesse caso, o comerciante entende que ganha tempo para comercializar um produto com “maior” valor comercial.

Em virtude disso, ressalta-se a importância da realização de estudos que envolvam a utilização de métodos sensoriais. O desenvolvimento de protocolos de análise direcionados para as principais espécies consumidas no Brasil é útil para o treinamento de indivíduos, cuja atividade profissional tenha relação com a manipulação dessa matéria prima. Também é importante para a orientação da população, visto que esta ao reconhecer atributos desejáveis na matéria prima, fica menos susceptível a surtos de DTAs.

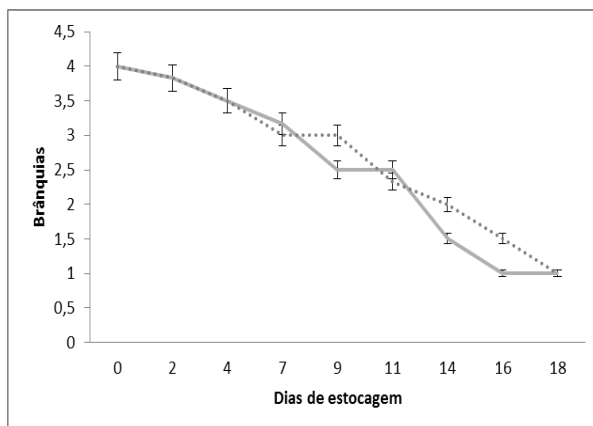
Na Fig. 2 é mostrado o resultado das análises sensoriais realizadas por equipe treinada. As declividades das curvas evidenciam a redução da qualidade no decorrer dos dias de estocagem.



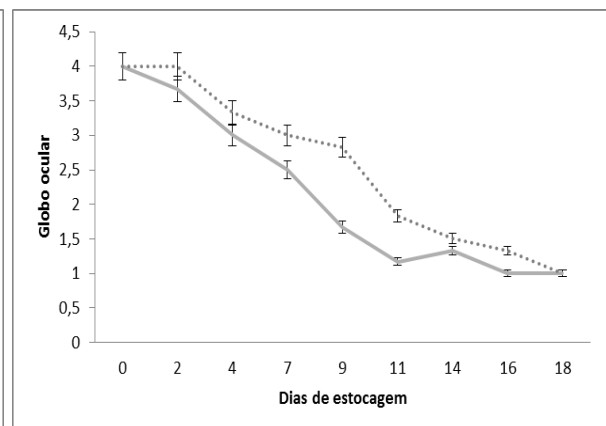
(a)



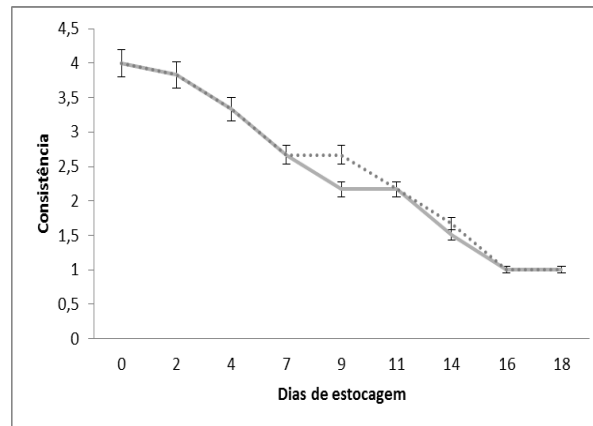
(b)



(c)



(d)



(e)

Figura 2. Mudanças na aparência geral (a), odor (b), brânquias (c), globo ocular (d) e consistência (e) de Tilápias mantidas sob refrigeração (---) e gelo (—). Os pontos representam as médias para cada dia, e valores \pm de erro padrão. 4-3,5: alta qualidade (E); < 3,5 - 2,5 boa qualidade (A); < 2,5 - 1,5 baixa qualidade (B); < 1,5 impróprio para o consumo humano (C)

A aparência das brânquias e do globo ocular foram os principais fatores negativos relacionados à perda de qualidade, relacionadas às amostras armazenadas em gelo e sob refrigeração.

Para a equipe de julgadores a opacidade nos olhos, em amostras conservadas sob o gelo, foi observada logo no segundo dia de estocagem. Tal fato não foi observado para as amostras refrigeradas a 4^o C.

Apesar da constatação de frescor pela proeminência do globo ocular em ambos os tratamentos, era de se esperar que mudanças de coloração surgissem mais rapidamente nos olhos dos peixes conservados a 4^o C, tendo em vista ser essa a maior temperatura testada. O gelo causou lesões sobre o globo ocular, encurtando sua qualidade por torná-lo opaco mais rapidamente, que o grupo tratado sob refrigeração.

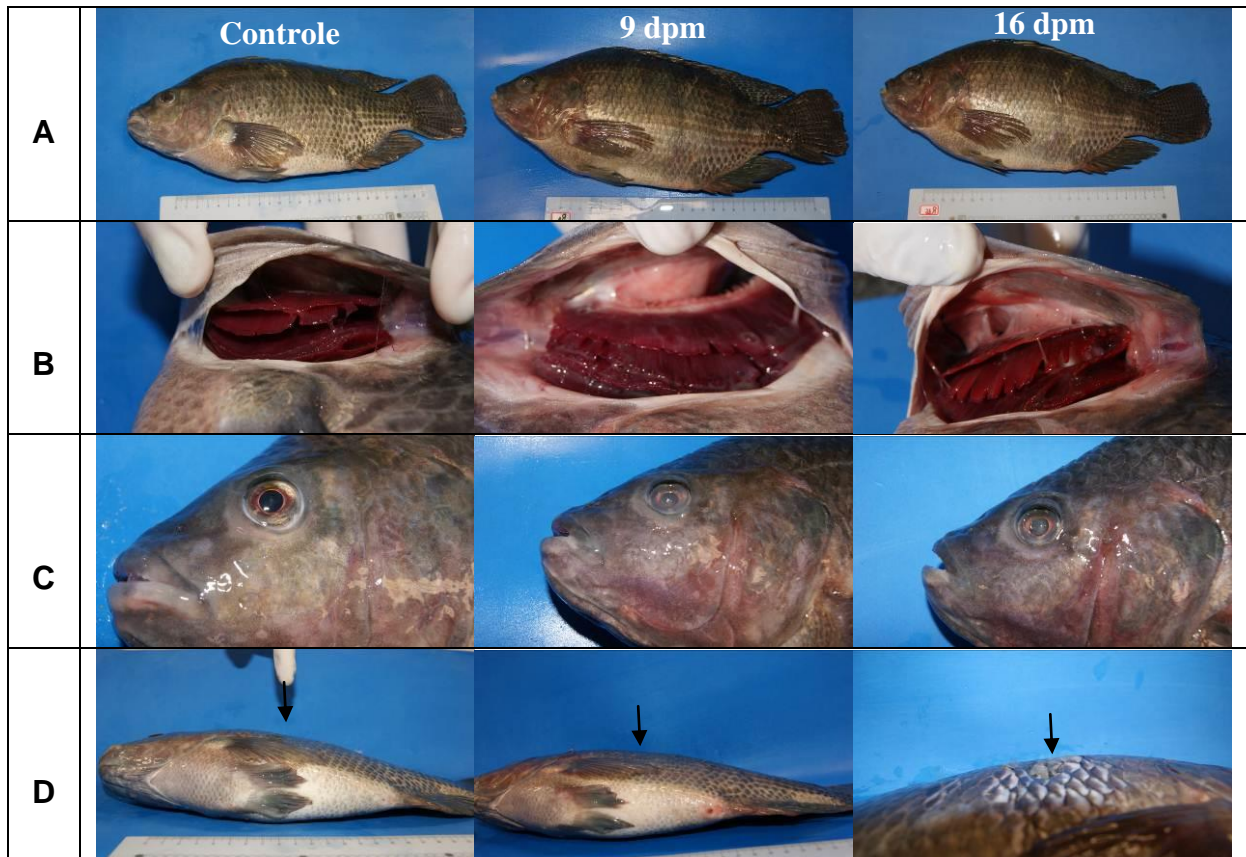
A aparência das brânquias foi outro atributo de alta relevância. No estado máximo de frescor estas devem se apresentar com coloração vermelha brilhante, muco transparente, sem odor, com lâminas perfeitamente separadas. No caso de fraudes referentes a coloração das brânquias com corantes (KOLICHESKI, 2009), os aspectos a serem analisados se referem a observação do muco e junção das lâminas.

Não se observaram diferenças entre os parâmetros aparência geral, odor e consistência, indicando que esses parâmetros em isolados constituem uma avaliação subjetiva.

Com base nesse resultado, sugere-se que a avaliação sensorial seja um critério pouco seguro, visto que, para indivíduos não treinados a verificação de um parâmetro sensorial, apenas poderia levar a classificação da amostra como inadequada para o consumo. Segundo a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação, o método sensorial é subjetivo (FAO, 2002).

No Brasil, os parâmetros sensoriais do pescado fresco estão descritos no Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (BRASIL, 1997a), entretanto, o RIISPOA trata de critérios de avaliação de ordem geral que não abrange espécies específicas.

São descritas as sequências de alterações sensoriais observadas para as amostras refrigeradas a 4°C na prancha 1: (a) observa-se no espécime controle, contornos regulares e pele com muco transparente e brilhoso. Com 9 dias após a morte (dpm), nota-se manchas avermelhadas na região opercular. O brilho é perdido progressivamente, de modo que no 16 dpm a Tilápia apresentava muco opaco e perdas de pigmentação. Em (b), nota-se zero lâminas branquiais perfeitamente separadas, com muco transparente e brilhoso. No nono dia, observou-se o aumento da aderência das lâminas e no 16 dpm, a Tilápia apresenta lâminas totalmente aderidas com mudanças significativas na coloração. A linha (c) mostra a progressão das alterações no globo ocular. Nota-se no dia zero, os olhos com a córnea transparente, convexos, pupila brilhante e preta. No dia 9, a córnea convexa e opalescente. No dia 16, observou-se córnea côncava e pupila turva, comprovando a queda da qualidade. Em (d) é mostrada a elasticidade muscular. No primeiro dia, o tecido permanece firme e elástico, retornando imediatamente a posição inicial. Do dia 16, observam-se importantes mudanças no formato devido à compressão mecânica.

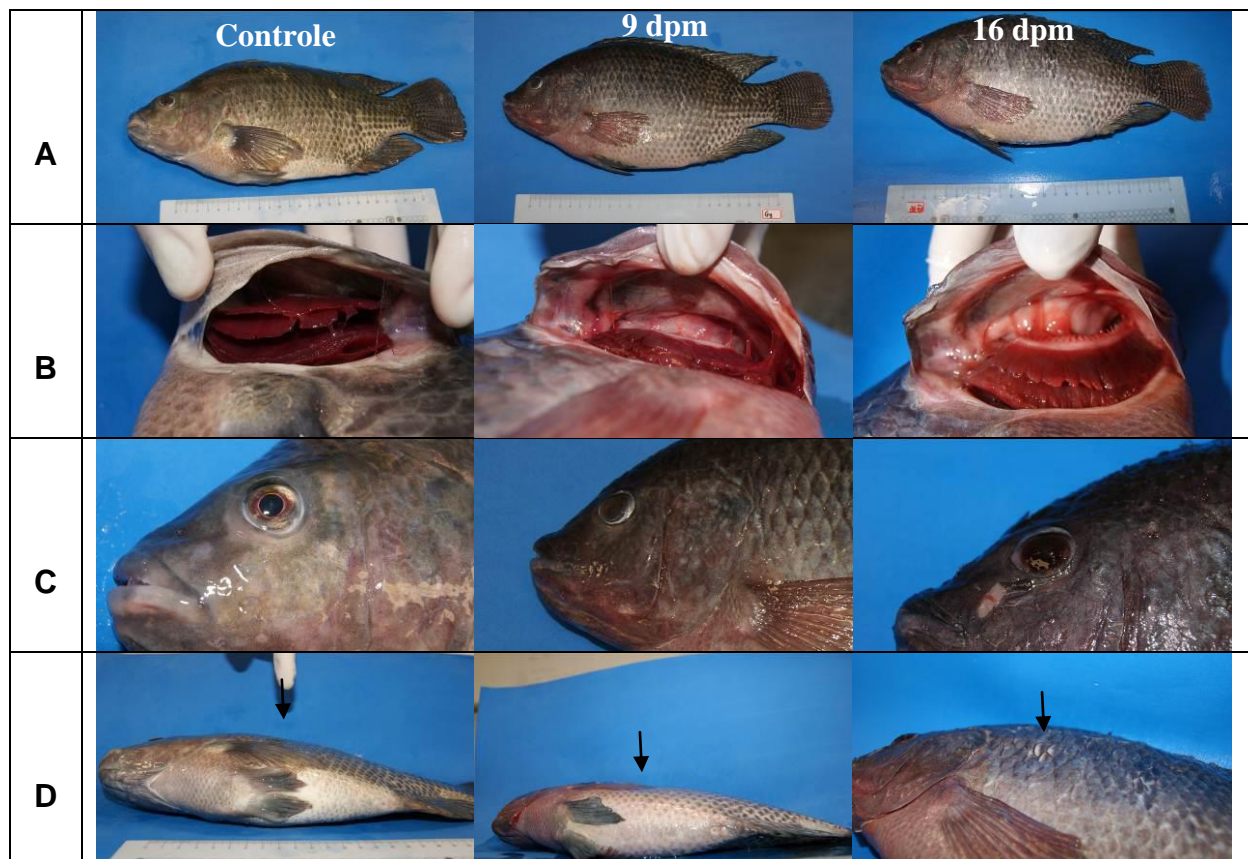


Fonte: LMPA/UENF (2012)

Prancha 1. Aparência da Tilápia-do-nilo em 0, 9 e 16 dias de armazenamento sob refrigeração a 4°C. dpm – dias após a morte. (a) Progressão das alterações na aparência geral. (b) Alterações nas brânquias. (c) Progressão das alterações sensoriais no globo ocular. (d) Elasticidade muscular após compressão digital.

Para Tilápias submetidas ao tratamento com gelo as progressões são evidenciadas na Prancha 2, onde nota-se em (a) a progressão das alterações na aparência geral. No controle observam-se contornos regulares e pele com muco transparente e brilhoso. No nono dia, nota-se a presença de manchas avermelhadas e diminuição do brilho. No 16 dpm, observa-se irregularidade nas escamas, muco opaco e importantes perdas de pigmentação. Em (b), observam-se alterações nas brânquias. Inicialmente, observam-se lâminas perfeitamente separadas, com muco transparente e brilhoso, o opérculo oferece resistência a sua abertura. Do dia 9, algumas lâminas encontravam-se aderidas, o muco estava sanguinolento. No 16 dpm, a Tilápia apresentava lâminas totalmente aderidas com mudanças significativas na coloração. Na linha (c) é mostrada a progressão das alterações sensoriais no globo ocular. Observa-se grupo controle os olhos com a córnea transparente, convexos, pupila brilhante e preta. Aos 9 dias após a morte, a córnea se mostra opalescente e a pupila opaca. No dia 16, a pupila mostra-se turva e humor

aquoso sanguinolento. Em (d) a elasticidade muscular é amostrada após compressão digital. As setas indicam os locais da compressão. No dia zero, o tecido estava firme e elástico, e o sinal da pressão digital empregada desaparece rapidamente. Do dia 16 em diante, a pressão desaparece lentamente.



Fonte: LMPA/UENF (2012)

Prancha 2. Aparência da Tilápia-do-nilo em 0, 9 e 16 dias de armazenamento sob gelo a 0°C. dpm – dias após a morte. . (a) Progressão das alterações na aparência geral. (b) Alterações nas brânquias. (c) Progressão das alterações sensoriais no globo ocular. (d) Elasticidade muscular após compressão digital.

Para a realização dessas análises foi considerado o sistema de classificação da Comunidade Européia EC, visto que este método foi o mais encontrado em literatura relacionada ao prazo de validade de peixes mantidos sob refrigeração e gelo (ERKAN, 2007; OZDEN et al., 2007; PAPADOPOULOS et al., 2003; POLI et al., 2006; RODRIGUEZ et al., 2004; TALIADOUROU et al., 2003) .

Os prazos de validade determinados nos dois capítulos deste trabalho seguem reunidos no quadro 1.

Quadro 1. Qualidade de acordo com o método analítico empregado na escala de tempo (dias) para Tilápias mantidas sob refrigeração (R) e gelo (G).

MÉTODO ANALÍTICO	DIAS DE ESTOCAGEM								
	0	2	4	7	9	11	14	16	18
Microbiológico	RG	RG	RG	RG	RG	G	G	-	-
Histológico	RG	RG	RG	RG	RG	-	-	-	-
Sensorial	RG	RG	RG	RG	RG	RG	G	-	-
pH	RG	RG	RG	RG	RG	RG	G	G	G

É importante salientar, que as diferenças em relação aos prazos de validade identificados pelos demais autores citados na presente revisão são em virtude das diferenças bioquímicas e fisiológicas, existentes entre as espécies, e das diferentes temperaturas empregadas nas diferentes pesquisas. Para minimizar esses efeitos é necessário padronizar os estudos da sequência de deterioração mediante o monitoramento de variáveis como tempo e temperatura. Também, é conveniente empregar técnicas variadas para aferir o máximo de indicadores de degradação a fim de estimar com segurança o prazo de validade

Além dos métodos analíticos empregados nesta pesquisa, também podem ser destacados como exemplo a determinação de bases voláteis totais (BVT), que mede o teor de trimetilamina (TMA) + dimetilamina (DMA) + amônia + outros compostos nitrogenados básicos associados à deterioração de frutos do mar. Outros testes tem como princípio a medição separada da TMA, DMA, catabólitos nucleotídeo ou aminas biogênicas (BA) (FAO, 2002).

Outro dado a ser considerado é que não se observa na legislação vigente a obrigatoriedade de comercialização do peixe fresco a intervalos de tempo específicos. Também não foi observada a existência de normas que obriguem os estabelecimentos a informar no balcão de venda a procedência, data do abate ou o histórico das temperaturas de armazenamento do peixe fresco, desde o momento da pesca. Na cartilha do pescado fresco, constatou-se apenas a recomendação de que o peixe fresco seja comercializado em um intervalo máximo de 48hs (Brasil, 2007).

Conhecendo o prazo de validade das diferentes espécies, os comerciantes saberão determinar o intervalo de tempo que o peixe poderá ser comercializado como fresco, de forma a atender os consumidores que preferem esta apresentação comercial, e ao mesmo tempo diminuir as chances de difusão de Doenças

Transmissíveis por Alimentos. Além disso, a estimativa desses intervalos é importante para se estabelecer um melhor monitoramento, por parte dos serviços de vigilância sanitária.

Em cada região predomina a venda de peixes de determinadas espécies, cada uma com seu prazo de validade específico. A venda destes, tomando por base o prazo de validade das espécies, que se deterioram mais rapidamente, configuraria um fator adicional de proteção para o consumidor, bem como uma estratégia de marketing para os comerciantes que desejem aumentar sua margem de lucro.

Estudos que envolvam a utilização de técnicas complementares são necessários para a determinação com segurança do prazo de validade de Tilápias estocadas a 0°C e 4°C. A determinação de limites críticos para os compostos químicos produzidos durante o armazenamento em temperaturas específicas, contribuirão para a garantia de inocuidade dessa matéria prima, que possui elevado valor comercial, sendo a espécie *Oreochromis niloticos* a oitava mais consumida do Brasil (IBAMA, 2010).

6. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos no presente estudo, o prazo de validade de Tilápias (*Oreochromis niloticus*) é de nove dias, quando armazenados em condições de refrigeração a 4°C, e de 14 dias sob o gelo.

A avaliação histológica é um preditor da qualidade de Tilápias, visto que esta mostra sinais de degradação anterior aos demais métodos analíticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, C.L; CARVALHO, F.L.N; GUERRA, C.G; ARAÚJO, W.M.C. Comercialização de pescado no Distrito Federal: Avaliação das condições. *Rev. Higiene Alimentar*, 16: 102-103, 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. *Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal* aprovado pelo decreto N° 30.691, de 29/03/52, alterado pelos Decretos n° 1.255 de 25/06/62, 1.236 de 02/09/94, 1.812 de 08/02/96 e n° 2.244 de 04/06/97. Brasília, DF, p. 103, 1997a.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Portaria N° 185 de 13/05/97. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco (inteiro e eviscerado). *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 19 maio 1997b.

BRASIL. Presidência da República. Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca. Pescado fresco, 2007 24p. Disponível em: http://www.mpa.gov.br/mpa/seap/jonathan/cartilha_do_pescado_meg%20FINALIZA DA.pdf. Acesso em 05/03/2013

CHANG, K. L. B; SHIAU, J. C. C; PAN, B. S. Biochemical, Microbiological, and Sensory Changes of Sea Bass (*Lateolabrax japonicus*) under Partial Freezing and Refrigerated Storage. *J. Agric. Food Chem.* 46: 682-686, 1998.

ERKAN, N. Sensory, chemical, and microbiological attributes of Sea Bream (*Sparus aurata*): effect of washing and ice storage. *International Journal of Food Properties*, v.10, p. 421–434, 2007.

ESPÉCIES Mais Cultivadas no Brasil: MAPA, Brasil, 2011. [online]. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/index.php/aquiculturampa/informacoes/especies-cultivadas>> Acessado em: 20 fev. 2013.

FAO. Global Production. *Fishery Statistical Collections*. FIGIS Data Collection. In: FAO Fisheries and Aquaculture Department [online]. Rome. 2002. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/topic/1521/en>. Acessado em: 20 nov. 2012.

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2010. Office of Knowledge Exchange, Research and Extension, Rome, Italy, 2010. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/013/i1820e/i1820e01.pdf>. Acessado em: 10 nov. 2012.

FRAZIER, W.C. e WESTHOFF D.C. *Microbiología de los alimentos*. Zaragoza (Espanha): Acribia, 2000. 681p.

GHALY, A. E; DAVE, D; BUDGE, S; BROOKS, M. S. Fish spoilage mechanisms and preservation techniques: Review. *Am. J. Applied Sci.*, v. 7, p. 846-864, 2010.

GAVA, Altanir Jaime. *Princípios de tecnologia de alimentos*. São Paulo: Nobel, 284p, 2002.

GRAM, L. e DALGAARD, P. Fish spoilage bacteria – problems and solutions. *Environmental biotechnology*. v.13, p.262–266, 2002.

GRAM, L. e HUSS, H.H. Microbiological spoilage of fish and fish products. *Int. J. Food Microbiol.*, v.33, p.121-137, 1996.

HEIN, G; BRIANESE, R. H. *Modelo emater de produção de tilápia*. Toledo – PR Novembro, 2004. Disponível em:

http://www.emater.pr.gov.br/arquivos/File/Comunicacao/Premio_Extensao_Rural/1_Premio_2005/ModeloEmaterProd_Tilapia.pdf. Acessado em: 23 mai. 2012.

IBAMA. *Estatística de pesca 2004*. Brasil. Grandes regiões e unidades da federação. Brasília: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis: 2005. Disponível em:

<http://www.ibama.gov.br/documentos-recursos-pesqueiros/estatistica-pesqueira>. Acessado em: 12 mai. 2012.

IBAMA. *Estatística de pesca 2007*. Brasil. Grandes regiões e unidades da federação. Brasília: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis: 2007. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/documentos-recursos-pesqueiros/estatistica-pesqueira>. Acessado em: 20 fev. 2013.

IBAMA. *Estatística de pesca 2010*. Brasil. Grandes regiões e unidades da federação. Brasília: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis: 2010. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br>>. Acessado em: 28 abr. 2012.

KOLICHESKI, M.. FRAUDES EM ALIMENTOS. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, América do Norte, 12, mai. 2009. Disponível em:<http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs-2.2.4/index.php/alimentos/article/view/14191/9547>. Acessado em: 05 Mar. 2013.

LIMA, C. M. F. Monitoramento das temperaturas em equipamentos de refrigeração em supermercados da cidade de Maceió, AL. *Higiene Alimentar*. v. 25, n. 94/95, p. 35-39, 2011.

MEURER, F; HAYASHI, C; BARBERO, L. M; SANTOS, L. D; BOMBARDELLI, R. A; COLPINI, L. M. S. Farelo de soja na alimentação de tilápias-do-nilo durante o período de reversão sexual. *R. Bras. Zootec.*, v.37, n.5, p.791-794, 2008.

NYCHAS, G. J. E; SKANDAMIS, P. N; TASSOU, C. C; KOUTSOUMANIS, K. P. Meat spoilage during distribution. *Meat Science*, v. 78, p. 77–89, 2008.

OGAWA, M., MAIA, E.L. Manual de pesca: Ciência e Tecnologia do Pescado. São Paulo: Varela, 1999. 430p.

ÖZDEN, O.; INUGUR, M.; ERKAN, N. Effect of different dose gamma radiation and refrigeration on the chemical and sensory properties and microbiological status of aqua cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Radiation Physics and Chemistry*, v.76, p.1169–1178, 2007.

PAPADOPOULOS, V.; CHOULIARA, I.; BADEKA, A. et al. Effect of gutting on microbiological, chemical, and sensory properties of aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice. *Food Microbiology*, v.20, p.411–420, 2003.

PEREDA, A.O., RODRÍGUEZ, M.I.C., ÁLVAREZ, L.F., SANZ, M.L.G., MINGUILLÓN, G.D.G.F., PERALES, L.H., CORTECERO M.D.S. *Tecnologia de alimentos: alimentos de origem animal*. Porto Alegre: Artmed, v.2, 279p, 2005a.

PEREDA, A.O., RODRÍGUEZ, M.I.C., ÁLVAREZ, L.F., SANZ, M.L.G., MINGUILLÓN, G.D.G.F., PERALES, L.H., CORTECERO M.D.S. *Tecnologia de alimentos: componentes dos alimentos e processos*. Porto Alegre: Artmed, v.1, 294p, 2005b.

POLI, B. M; MESSINI, A; PARISI, G; et al. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets packed under modified atmosphere/air or prepared from whole fish stored in ice. *International Journal of Food Science and Technology*, 41: 444–454, 2006.

PRATA, L. F., FUKUDA, R. T. Fundamentos de higiene e inspeção de carnes. Jaboticabal: FUNEP, 2001. 349 p.

RESENDE, A., OLIVEIRA, Y.S., SOUZA, J.R. Análise microbiológica de sushis e sashimis comercializados em restaurantes de Brasília no período de 2001 a 2004. *Rev. Higiene Alimentar*, v.23, n.174/175, 2009.

RODAS, M. A.B., RODRIGUES, R. M. M. S., SAKUMA, H., TAVARES, L. Z., SGARBI, C. R., & LOPES, W. C.C.. Caracterização físico-química, histológica e viabilidade de bactérias lácticas em iogurtes com frutas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 21, n. 3, p. 304-309, 2001.

RODRÍGUEZ, Ó.; LOSADA, V.; AUBOURG, S. P.; BARROS-VELÁZQUEZ, J. Enhanced shelf-life of chilled European hake (*Merluccius merluccius*) stored in slurry ice as determined by sensory analysis and assessment of microbiological activity. *Food Research International*, v.37, p.749–757, 2004.

RUITER, Adriaan. (coord.) *El pescado y los productos derivados de la pesca*. Zaragoza (Espanha): Acribia, 416p, 1999.

SANTOS, A. P. B. *Índices químicos, sensoriais e microbiológicos para avaliação de frescor em pescada amarela (Cynoscion acoupa) armazenada em gelo*. 2011. 95f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. Universidade de São Paulo.

SOUZA-KRULISKI, C. R., DUCATTI, C., FILHO, W. G. V., ORSI, R. O., SILVA, E. T. Estudo de adulteração em méis brasileiros através de razão isotópica do carbono. *Ciênc. agrotec.*, Lavras, v. 34, n. 2, 2010.

SOUZA, M. L. R. Comparação de Seis Métodos de Filetagem, em Relação ao Rendimento de Filé e de Subprodutos do Processamento da Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.3, p.1076-1084, 2002.

TALIADOUROU, D.; PAPADOPOULOS, V.; DOMVRIDOU, E. et al. Microbiological, chemical and sensory changes of whole and filleted Mediterranean aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice. *J Sci Food Agric*, v.83, p.1373–1379, 2003.

ZANDONADI, R. P., BOTELHO, R. B. A., SÁVIO, K. E. O., AKUTSU, R. C., & ARAÚJO, W. M. C. Atitudes de risco do consumidor em restaurantes de auto-serviço. *Revista de Nutrição*. v. 20, p. 19-26, 2007.