UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
Departamento de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal

Adriane Damasceno

Qualidade (sensorial, microbiológica, físico-química e parasitológica) de salmão (*Salmo salar*, Linnaeus, 1778) resfriado, comercializado em Belo Horizonte – MG.

Dissertação apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para Obtenção do grau de mestre em Ciência Animal.
Área: Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal.
Orientador: Wagner Luiz Moreira dos Santos.

Belo Horizonte
Escola de veterinária – UFMG
2009

D155q Damasceno, Adriane, 1962 –

Qualidade (sensorial, microbiológica, físico-química e parasitológica) de salmão (*Salmo salar*, Linnaeus, 1778) resfriado, comercializado em Belo Horizonte – MG / Adriane Damasceno – 2009.

48 p. : il.

Orientador: Wagner Luiz Moreira dos Santos

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária

Inclui bibliografia

1.Pescados – Qualidade – Teses. 2. Pescados – Inspeção – Teses. 3. Pescados – Microbiologia – Teses. 4. Peixes como alimento – Teses. I. Santos, Wagner Luiz Moreira dos. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 664.9

DEDICATÓRIA

A meus queridos filhos, Felipe e Ana Beatriz, por serem a razão do meu viver e ao meu grande amor, Maurício.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, ao doador da vida, Deus, por ter me concedido saúde, força e perseverança para trilhar e vencer esta etapa de minha vida.

A meus pais (*in memorian*), Laerte Damasceno e Ormezinda Ferreira Damasceno, os quais são responsáveis pela minha existência e padrões éticos e morais.

À minha família pelo apoio, força, incentivo e carinho em toda a minha caminhada. Em especial ao meu querido esposo, Maurício, sem o qual nada disso seria possível.

À Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, por minha formação e pelo apoio neste projeto.

À gerência de Vigilância Sanitária, nas pessoas de Mara Conradi e Celeste de Souza Rodrigues, por acreditarem e abraçarem o Programa de Monitoramento da Qualidade do Salmão, como parte integrante das atividades da VISA, estabelecendo uma parceria com a UFMG.

Ao Laboratório de Bromatologia da Prefeitura Municipal de Belo Horizonte, pelo apoio total ao projeto, em especial ao gerente Luiz Antônio Valente, a quem eu devo muita gratidão, bem como a toda a equipe técnica do laboratório.

À minha grande e querida amiga Mônica, pelo incentivo, pela ajuda em todos os sentidos e por me jogar para cima nos momentos em que tudo parecia desmoronar.

Ao meu amigo e companheiro, Marcelo Ferraz, por ter me ajudado desde o início, sempre com presteza e boa vontade.

Ao meu orientador, prof. Renaldo Travassos Martins, pela dedicação, disponibilidade, confiança e presteza com os quais sempre se apresentou, permitindo que este trabalho fosse realizado.

Ao prof. Wagner, por ter sido o primeiro a abrir as portas para mim, com incentivos e criando oportunidades para que eu ingressasse no mestrado.

Aos professores do DTIPOA-EV, por traçarem nosso perfil técnico-científico, principalmente ao professor Marcelo Resende de Souza, o qual contribuiu não só tecnicamente, mas com toda a sua bagagem cultural e total disponibilidade.

Ao Prof. Marcos Xavier, pela orientação no delineamento estatístico.

Ao funcionário Marco Antônio, pela sua educação, dedicação, boa vontade em ensinar e paciência.

Ao estagiário do Prof. Wagner, o Felipe, pelo apoio, boa vontade, pontualidade, discrição. Sinceramente... sem você, eu não conseguiria nem começar.

A todos os meus amigos, que direta ou indiretamente participaram de minhas alegrias e tristezas, durante toda esta caminhada tão importante para mim.

Entregue o teu caminho ao Senhor, confie nele e Ele tudo fará. Salmo 37:05

SUMÁRIO

SUMÁRIO....8
LISTA DE TABELAS....8
LISTA DE FIGURAS....9
LISTA DE ANEXOS....9
RESUMO....10
1. INTRODUÇÃO....11
2. REVISÃO DE LITERATURA....12
2.1. Importância do salmão....12
2.3. Microrganismos patogênicos....14
2.3.1. Microrganismos pesquisados....15
2.4. Processo de deterioração do pescado....16
2.5. Aminas biogênicas....17
2.6. Métodos para avaliar a qualidade de pescados....19
2.7. A importância do frio na conservação do pescado....21
3. OBJETIVOS....22
4. MATERIAL E MÉTODOS....22
4.1. Escolha e coleta das amostras....22
4.2. Inspeção sensorial....23
4.3. Preparo das amostras....23
4.4. Análises microbiológicas....24
4.5. Pesquisa de parasitos....26
4.6. Avaliação físico-química....26
4.7. Delineamento Experimental....27
5.1. Inspeção Visual....27
5.2. Análises Físico-Químicas....33
5.3. Análises Microbiológicas....37
5.4. Pesquisa de Parasitos....38
6. CONCLUSÕES....39
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS....39
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS....40
9. ANEXOS....47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição do comércio varejista no município de Belo Horizonte, no ano de 2008, de acordo com as regionais administrativas....23
Tabela 2 – Valores médios de pH, Bases Voláteis Totais (BVT) e Trimetilamina (TMA) da carne de salmão (Salmo salar) resfriada, obtida no comércio varejista do município de Belo Horizonte, em 2008....33
Tabela 4 – Valores dos coeficientes de variação entre as variáveis analisadas....36

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Frequências das características sensoriais normais (SIM) e alteradas (NÃO), da carne de salmão (*Salmo salar*) resfriada, coletada em Belo Horizonte, 2008.....28

Figura 2: Intensidade da variação do corpo (transparência, brilho), na inspeção sensorial do salmão (*Salmo salar*) resfriado – Belo Horizonte, 2008.....29

Figura 3: Intensidade da variação dos olhos (transparência, espaço que ocupa na órbita), na inspeção sensorial do salmão (*Salmo salar*) resfriado – Belo Horizonte, 2008.....30

Figura 4: Intensidade da variação do aspecto das guelras (umidade, cor e brilho), na inspeção sensorial do salmão (*Salmo salar*) resfriado – Belo Horizonte, 2008.....30

Figura 5: Intensidade da variação do odor das guelras, na inspeção sensorial do salmão (*Salmo salar*) resfriado – Belo Horizonte, 2008.....31

Figura 6: Intensidade da variação das características das escamas (brilho e aderência à pele), na inspeção sensorial do salmão (*Salmo salar*) resfriado – Belo Horizonte, 2008.....31

Figura 7: Intensidade da variação das nadadeiras (resistência aos movimentos provocados), à inspeção sensorial do salmão (*Salmo salar*) resfriado – Belo Horizonte, 2008.....32

Figura 8: Intensidade da variação da carne (firmeza, elasticidade e cor), à inspeção sensorial do salmão (*Salmo salar*) resfriado – Belo Horizonte, 2008.....32

Figura 9: Intensidade da variação do cheiro da carne (especificidade à espécie), à inspeção sensorial do salmão (*Salmo salar*) resfriado – Belo Horizonte, 2008.....33

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: Roteiro de vistoria aplicado nos comércios varejistas, no momento da coleta do salmão (Salmo salar).....47

RESUMO

Este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a qualidade da carne do salmão (*Salmo salar*), obtida do peixe resfriado e eviscerado, tendo em vista o aumento do consumo de pratos elaborados com o referido peixe cru. Foi realizada a inspeção sensorial, análises microbiológicas (*Salmonella* spp. e *Staphylococcus* coagulase positivo), análises físico-químicas (pH, Bases Voláteis Totais e Trimetilamina) e análises parasitológicas do peixe, nas condições descritas. Inicialmente, fez-se um levantamento de todos os locais que comercializavam o salmão resfriado, na cidade de Belo Horizonte, no período de setembro a dezembro de 2008, com um total de 13 estabelecimentos. Os peixes foram coletados em todos eles, sendo que em cada local foram coletados 3 peixes, num total de 39 amostras. Nestes pontos de venda, os peixes foram submetidos à inspeção sensorial e, logo em seguida, transportados sob refrigeração para os laboratórios, a fim de serem realizadas as análises propostas. As características sensoriais observadas foram: corpo, olhos, guelras, escamas, nadadeiras, carne e cheiro, sendo que os olhos e as guelras foram os caracteres que mais apresentaram alterações (46,2%), seguidos do odor, das nadadeiras e da carne (30,8%). As análises microbiológicas não revelaram presença de *Salmonella* spp. em 25 g. Quanto às análises para o *Staphylococcus* coagulase positivo, resultaram em valores inferiores a $1,0 \times 10^2$ UFC/g. O pH variou de 6,28 a 6,60 (média de 6,42). As bases voláteis totais (BVT) variaram de 14,89 a 22,87mgN/100g (média de 18,12) e a trimetilamina (TMA) variou de 1,06 a 3,72mgN/100g (média de 1,74). Quanto à análise parasitológica, não foram observados parasitas em nenhuma amostra. Os resultados desta pesquisa indicam que a carne de salmão obtida do peixe resfriado encontra-se em boas condições higiênico-sanitárias.

Palavras-chave: qualidade de Salmão, pescado, microbiologia, bioquímica

ABSTRACT

This study was conducted to evaluate the quality of meat from the salmon (*Salmo salar*), the fish from cold and gutted in order to increase the consumption of foods made with the raw fish.

It was performed sensory inspection, beyond microbiological analysis (*Salmonella* and coagulase positive *Staphylococcus*), physical-chemical analysis (pH, total volatile bases and trimethylamine) and parasitologic analysis of the fish under the conditions described. Initially there was a survey of all establishments that sold the salmon cold, in the city of Belo Horizonte, in the period September to December of 2008, with a total of 13 establishments. The fish was collected in all of them, and in each location were collected 3 fish, a total of 39 samples. In these points of sale, the fish were subjected to sensory inspection, and then, transported under refrigeration to the laboratory to be carried out the proposed analysis. The sensory characteristics observed were: body, eyes, gills, odor, scales, fins, meat and smell. The eyes and the gills were the characters that showed more changes (46,2%), followed by the smell, fins and meat (30,8%). The microbiological analysis showed no presence of *Salmonella* in 25 g. The analysis for the coagulase positive *Staphylococcus*, resulting in values less than 1,0 x 10^2 CFU. The pH ranged from 6,28 to 6,60 (mean 6,42). The total volatile bases (TVB) ranged from 14,89 to 22,87mgN/100g (average 18,12) and trimethylamine (TMA) ranged from 1,06 to 3,72mgN/100g (mean 1,74). No parasites were observed in this study. The results of this experiment indicate that the salmon from the cold fish is in good hygienic and sanitary conditions.

Key Words: quality of salmon, fish, microbiology, biochemistry

1. INTRODUÇÃO

Segundo o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), pescado é definido, genericamente, como sendo peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios, quelônios e mamíferos de água doce ou salgada, usados na alimentação humana. O pescado, em natureza, pode ser "fresco" - quando dado ao consumo, sem ter sofrido qualquer processo de conservação, a não ser a ação do gelo. Pode ser "resfriado", quando devidamente acondicionado em gelo e mantido em temperatura entre 0 a -2ºC, mantendo seus caracteres essenciais inalterados, obtido de espécimes saudáveis e de qualidade adequada ao consumo humano. Deve apresentar as seguintes características: superfície do corpo limpa, com relativo brilho metálico; olhos transparentes, brilhantes e salientes, ocupando completamente as órbitas; guelras róseas ou vermelhas, úmidas e brilhantes com odor natural, próprio e suave; ventre roliço, firme, não deixando impressão duradoura à pressão dos dedos; escamas brilhantes, bem aderentes à pele e nadadeiras apresentando certa resistência aos movimentos provocados; carne firme, consistência elástica, de cor própria à espécie; vísceras íntegras, perfeitamente diferenciadas; ânus fechado, cheiro específico. Pode ainda ser "congelado", quando tratado por processos adequados de congelamento, em temperatura não superior a – 25ºC (Brasil, 1997ab).

A carne de peixe é recomendada como fonte de proteínas de alto valor biológico, além de ter baixo nível de colesterol e alto teor de ácidos graxos insaturados. Como possui quantidade mínima de tecido conjuntivo, o pescado é de alta digestibilidade, além de ser conhecido como possuidor da maior fonte de lipídeos do tipo ômega-3. Nos peixes com teores de gordura acima de 15%, são encontrados níveis elevados de vitamina A e D na musculatura. Possuem vitaminas do complexo B, porém, quanto à vitamina B1, apesar da carne conter quantidades apreciáveis, não é possível aproveitá-la, exceto em peixes muito frescos, pois ela se converte rapidamente em pirimidina e em tiazol. Possuem teores satisfatórios de mineirais como cálcio (fosfato tricálcio, carbonato de cálcio), fósforo, ferro e iodo

(peixes marinhos). Em diversas partes do mundo, o pescado faz parte da dieta alimentar e representa, em alguns países, a principal fonte de proteínas de origem animal. Entretanto, na atualidade, seu consumo ainda está associado a problemas de saúde, principalmente devido a deficientes práticas de manuseio. Este fato se agrava pelo aumento do hábito de consumo do peixe cru (Lederle, 1991, citado por Germano et al., 1998; Germano, 1993; Huss, 1997; Oetterer, 2007).

Embora seja considerado um dos alimentos mais ricos em nutrientes, o pescado tem algumas características bioquímicas, tais como maior conteúdo de água, maior quantidade de ácidos graxos insaturados e catepsinas, mais rápida degradação do ATP, menor quantidade de tecido conjuntivo e menor acidez da carne, que o fazem um dos alimentos mais perecíveis encontrados na natureza (Leitão, 1988), podendo ocasionar surtos de toxinfecções alimentares. A Organização Panamericana de Saúde – OPAS – define risco como sendo uma função da probabilidade de ocorrência de agravo à saúde e a magnitude deste, resultante de um perigo presente num alimento. Perigos, segundo o MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e do Abastecimento, são causas potenciais de danos inaceitáveis, que possam tornar o alimento impróprio ao consumo e afetar a saúde do consumidor, ocasionando a perda da qualidade e da integridade econômica dos produtos. Estes perigos, quando presentes, causam as doenças transmitidas por alimentos – DTA. Segundo a Resolução-RDC ANVISA nº12/01, a DTA é causada pela ingestão de alimento contaminado por agentes infecciosos específicos, ou pela ingestão da toxina por eles formada. (Brasil, 2001). Por esta alta susceptibilidade ao processo de deterioração, torna-se fundamental a obtenção do pescado sob condições higiênico-sanitárias satisfatórias, adotando-se as Boas Práticas de Fabricação e Produção (BPF), bem como a Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), além da conservação do produto em baixas temperaturas.

A alta perecibilidade do pescado, muitas vezes está associada ao acondicionamento e à exposição inadequados, principalmente em relação à temperatura e à evolução da microbiota presente. Estes fatores estão diretamente ligados à deteriora do pescado e aos danos à saúde, associados ao consumo de alimentos contaminados, bem como aos custos relacionados aos tratamentos médico-hospitalares. Estes fatos se agravam, uma vez que a espécie em questão, *Salmo salar* (salmão), tem tido crescimento de mercado, além de compor pratos tradicionais, sem sofrer qualquer tipo de tratamento térmico, como nos "sushis" e nos "sashimis". Portanto, este trabalho tem como objetivo avaliar a qualidade sensorial, microbiológica, físico-química e parasitológica da carne de salmão, obtida do peixe eviscerado e resfriado, comercializada em Belo Horizonte.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Importância do salmão

O salmão (*Salmo salar*) é originário das águas geladas do Atlântico Norte e do Pacífico Sul. Ele nasce nas cabeceiras dos rios e, depois de um ano, parte para o oceano para se alimentar. Na época do acasalamento, retorna ao lugar onde nasceu para se reproduzir (Salmão...2007). Entretanto, grande parte do salmão que chega à nossa mesa, não cresce livremente no mar, conforme determina a natureza. Devido ao crescimento significativo do comércio desse produto, há algum tempo, o salmão é produzido em viveiros, em

grandes fazendas de criação. Ali os produtores tentam imitar o ciclo natural de vida do salmão: depositam as ovas em rios de água doce e, depois de um tempo do nascimento, transportam os peixes para o mar, em criadouros devidamente cercados. É utilizada tecnologia de ponta, para que se obtenha um excelente produto, em tempo recorde, para atender à crescente demanda (Rodrigues, 2007). Segundo o Instituto de Economia Agrícola (Quase...2009), em 1980, apenas 9% dos peixes consumidos no mundo vinham da aquicultura. Hoje, o índice é de 43%. Esse percentual equivale a 45,5 milhões de toneladas de peixes de cativeiro por ano, que totalizam cerca de US$63 bilhões (aproximadamente R$ 134 bilhões).

A popularização da cozinha japonesa (a partir de 1980) fez o consumo de salmão no Brasil aumentar. Em 1990, com a entrada do salmão, oriundo do Chile, houve um crescimento de mercado para este peixe. Em 1996**,** o Brasil tornou-se o terceiro maior importador de salmão do Chile, devido ao enorme crescimento de consumo com o Plano Real, alcançando 120%, apenas no primeiro quadrimestre deste ano. Em 2006, as importações brasileiras de salmão, alcançaram 12 mil toneladas. (Salmão...2007; Paulo Filho e Siqueira, 2008). Segundo o Yearbook... (2001), o salmão é cultivado mundialmente e sua contribuição para a produção da aquicultura mundial foi 2,39%. Noruega, Chile e Reino Unido são os três principais produtores de salmão.

O salmão do atlântico (*Salmo salar*) é um importante produto com perspectivas nutricionais e econômicas. A vida útil máxima para comercialização do salmão fresco é cerca de 20 dias. Esta vida de prateleira é suficiente para distribuir o salmão dentro de mercados próximos às indústrias, porém para mercados distantes, necessita-se incremento do frio ou mais fatores conservantes (Sveinsdottir et al., 2002; Sivertsvik et al., 2003).

2.2. Infestações parasitárias

O avanço tecnológico pelo qual a aquicultura experimentou, nos últimos vinte anos, tem levado ao desenvolvimento simultâneo de processos patológicos, causados principalmente por agentes infecciosos e parasitários, os quais ocasionam grandes perdas econômicas na produção industrial. Isto é bastante evidente na salmonicultura, onde nota-se que a aparição destes sintomas tem levado a grandes perdas econômicas e a transtornos ecológicos irreversíveis. Por outro lado, o controle destes processos patológicos leva à utilização de antimicrobianos, aumentando os custos e levando à resistência microbiana. Dentre estes processos parasitários, há um destaque para a difilobotríase, por tratar-se de uma infecção zoonótica, de grande impacto em saúde pública, sendo provocada por cestódeos do gênero *Diphyllobothrium,* mais conhecida como tênia do peixe, adquirida pelo consumo de peixe cru ou mal cozido. Sob este aspecto, há uma recomendação do MAPA, exigindo que os exportadores informem no rótulo do produto, a necessidade de congelamento, antes do consumo. Em relação aos agentes infecciosos, destacam-se as bactérias e os vírus. No primeiro grupo, ocorrem patologias tais como a doença da boca vermelha, causada pela bactéria *Yersinia ruckeri*, a furunculose, tendo seu agente etiológico a *Aeromonas salmonicidauma* e a doença bacteriana renal, causada pela *Renibacterium salmoninarum*. No segundo grupo, ocorrem a necrose hematopoiética infecciosa e a doença de salmonídeos, causada por Herpesvírus (Barja e Estevez, 1988, citado por Ortega et al., 1997; Pavanelli et al., 1998; Emmel et. al., 2006).

A investigação dos parasitos de salmonídeos tem importância por seu eventual risco zoonótico, efeito patógeno e

impacto nas atividades de comercialização de peixes e turismo (Torres, 1990).

Segundo Bowers et al. (2000), há vários endoparasitos e ectoparasitos de importância econômica e sanitária em pescado. O piolho do mar, *Lepeophtheirus salmonis***,** é um ectoparasito típico do salmão, *Salmo salar*, capaz de causar vários danos físicos externos, principalmente devido às condições dos criatórios industriais, onde os peixes são mantidos em altas concentrações em pequenas áreas, fato este que aumenta o stress, facilitando a infestação do ectoparasito.

Torres et. al., em 1989, com o objetivo de conhecer a epidemiologia da difilobotríase no rio Valdívia, no Chile, e devido à repercução desta doença em saúde pública e o seu possível impacto econômico na salmonicultura no sul daquele país, realizaram uma investigação, com o objetivo de determinar a prevalência da infecção humana/animais domésticos, bem como a prevalência e a intensidade da infecção em distintas espécies de peixes para *Diphyllobothrium spp*.. Os resultados mostraram prevalência de 1,2% em indivíduos, de 5,3% e 9,8% em cães das regiões de Riñihue e Malihue, respectivamente. A prevalência ou intensidade média das infecções nos peixes, variou nos diferentes locais estudados. Como medida de controle nos pontos de difilobotríase, nas áreas estudadas, sugeriu-se a melhoria das condições de saneamento básico, educação sanitária e tratamento das pessoas infectadas.
Em estudo realizado por Torres, 1990, foi feita uma investigação sobre helmintos parasitos de peixes, de águas continentais do sul do Chile, no mês de julho de 1989, onde se examinaram microscopicamente várias regiões do corpo e se registraram pela primeira vez, a presença de plerocercóides de *Diphyllobothrium dendriticum*, larvas de *Contracaecum* spp.. e adultos de *Camallanus* spp.

Torres et. al., em 1995, estudaram a prevalência e aspectos patológicos da difilobotríase em salmões de retorno, tendo como prevalência 70% de infecção por *Diphyllobothrium* spp., encontrando-se 21 peixes parasitados.

2.3. Microrganismos patogênicos

O pescado pode ser veiculador de vários microrganismos patogênicos para o homem, a maior parte deles, pela contaminação ambiental (lançamentos dos esgotos nas águas de reservatórios, lagos, rios e mar) e/ou manipulação inadequada. Estes fatores levam à transmissão de enfermidades entéricas. Os gêneros bacterianos potencialmente patogênicos que se destacam são: *Shigella* spp., *Clostridium* spp.*, Leptospira* spp., *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Mycobacterium* spp., *Erysipelothix* spp., *Francisella* spp., *Yersinia* spp., *Vibrio* spp. e *Aeromonas* spp. (Tietjen e Fung, 1995; Germano et al., 1998).

A microbiota inicial dos peixes é muito diversificada, geralmente dominada por bactérias psicrotróficas, Gram-negativo e halofílicas. Os peixes capturados em áreas tropicais, normalmente, apresentam uma carga microbiana discretamente mais elevada. Durante a armazenagem, parte dessa microbiota contribui para o processo de deterioração. Dentre os agentes potencialmente patogênicos, relacionados ao consumo de carnes de peixes, estão a *Salmonella* spp. e o *Staphylococcus aureus*. Ambos são decorrentes de fatores externos ao pescado, além de contaminação da água por esgotos. Inúmeros outros agentes bacterianos podem, ainda, contaminar o pescado e causar riscos à saúde. Assim, cepas psicrotróficas de *Bacillus cereus* produzem enterotoxinas nos preparados de peixe, sobretudo em pH superior a 6,0, acarretando surtos caracterizados por

diarréia (Germano et al., 1993, Barros, 2003).

O conhecimento da distribuição de *Salmonella* spp., no meio ambiente e nos alimentos, tem despertado o interesse dos microbiologistas, já que permite apreciar mais objetivamente, a origem e a magnitude dos riscos, associados com o consumo de alimentos expostos à contaminação fecal. Este conhecimento leva a ações preventivas e corretivas, tanto por parte de agências governamentais, como da indústria de alimentos (Escartín e Vitela, 1996).

Outro microrganismo importante é a *Morganella morganii*, que integra 0,1 a 1% de toda a microbiota superficial de pescado. A contaminação, principalmente por esta bactéria, pode levar à formação de histamina, por descarboxilação da histidina, em peixes de carne vermelha como o atum, a cavalinha e o arenque. A ingestão destes pescados nestas condições, pode resultar em intoxicação com sintomas nervosos, devido à estimulação vagal, a partir da ingestão de 10mg de histamina/100g de peixe (Germano et al., 1993, Germano et al., 1998).

O *Clostridium perfringens* tipo C pode causar enterite necrótica. *Clostridium* spp. sulfito redutores, *Klebsyela* spp., *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Yersinia enterocolítica, Escherichia coli, Pseudomonas* spp., *Aeromonas* spp., *Alcaligenes* spp., *Flavobacterium* spp., enterococos e coliformes fecais podem ser encontrados nos peixes frescos ou congelados, nos frutos do mar e nos produtos industrializados. A maioria destes microrganismos está relacionada com a qualidade da água, principalmente do gelo utilizado na conservação, e/ou com os procedimentos pós-captura (Germano et al., 1993, Germano et al., 1998).

2.3.1. Microrganismos pesquisados

De acordo com a Resolução - RDC ANVISA nº 12/01, os padrões microbiológicos para a carne de peixe "in natura" refrigerada são *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* coagulase positivo. Sendo que para *Salmonella* spp. tem-se para um n = 5 amostras e m = M = ausência em 25g de produto. Para *Staphylococcus* coagulase positivo, tem-se para n = 5 amostras, c = 2, m = $5x10^2$ UFC/g e M = 10^3 UFC/g. Sendo que m apresenta a contagem esperada e M representa a contagem máxima aceitável. Apenas 2 amostras (c = 2) podem apresentar valores acima de m e abaixo de M. Valores acima de M rejeitam o lote. (Brasil, 2001).

O gênero *Salmonella* spp. pertence à família *Enterobacteriaceae*, com mais de 2.500 sorotipos, apresentando-se como bastonetes curtos, Gram negativo, fermentadores, não esporulados, de metabolismo aeróbio ou anaeróbio facultativo, móveis e relacionados bioquímica e sorologicamente, em sua maioria. Crescem à temperatura de 5 a 45ºC, sendo a faixa ideal de 35 a 37ºC. O pH ideal está em torno de 7,0, sendo que valores acima de 9,0 e inferiores a 4,0 destroem a bactéria. Não toleram bem o sal, sendo eliminadas de ambientes com teores acima de 9%. Cerca de 150 sorotipos são comprovadamente patogênicos. Habitam o trato gastrointestinal de animais domésticos, selvagens e do homem, sendo que muitos indivíduos podem ser portadores sãos. O período de incubação para gastroenterites por salmonelas é de 6-36 horas, sendo os principais sintomas septicemia, febre, cefaléia, emese e diarréia (Carvalho, 2001; Jay, 2002; Wikipédia... 2009).

De acordo com a Resolução - RDC ANVISA nº 12/2001, a enumeração de *Staphylococcus* coagulase positivo tem por objetivo substituir a determinação de *Staphylococcus aureus*. O gênero *Staphylococcus* pertence à família

Micrococcaecae, sendo dividido em 36 espécies, com destaque para *Staphylococcus aureus, Staphylococcus intermedius, Staphylococcus hycus e Staphylococcus epidermidis*. As principais características do gênero *Staphylococcus* spp. são: cocos Gram positivo, imóveis, agrupados aos pares ou em cachos irregulares, oxidase negativo e catalase positivo. Crescem à temperatura de 10 a 45ºC, sendo ótimo o limite de 35 a 37ºC. Valores de pH entre 4,5 e 4,8 são ideais para o crescimento. Necessitam de aminoácidos como fonte de nitrogênio e entre as vitaminas do grupo B, são indispensáveis a tiamina e o ácido nicotínico. São anaeróbios facultativos, sendo que a maioria das estirpes crescem bem em altas concentrações de NaCl, podendo atingir até 20%, além de tolerarem níveis elevados de certos compostos tóxicos. Produzem as enzimas coagulase e termonuclease. A crescente presença de *Staphylococcus aureus* em alimentos apresenta um risco pontencial à saúde pública, pois muitas linhagens de *S. aureus*, produzem enterotoxinas, que causam intoxicações alimentares, quando ingeridas. Além disso, alimentos sujeitos à contaminação, pós-processamento, com tipos de enterotoxina de *S. aureus,* representam perigo significante, devido à ausência de organismos competidores, os quais normalmente restringem o crescimento de *S. aureus* e consequentemente, a produção de enterotoxinas. Os sintomas mais comuns são vômito e diarréia, os quais ocorrem de 2 a 6 horas após a ingestão da toxina (Frazier e Westhoff, 1988; APHA, 2001; Jay, 2002). Edivaldo Filho et al. (2004) avaliaram a qualidade microbiológica da carne de bacalhau, do tipo saithe (*Pollacius virens*), quanto à pesquisa de *Salmonella* spp., obtendo como resultado, 6,6% de positividade para este patógeno, colocando-o fora dos padrões da legislação brasileira, portanto impróprios ao consumo. Já quanto à contagem de *Staphylococcus aureus*, das 30 amostras analisadas, apenas duas (6,6%) apresentaram-se contaminadas por este microrganismo, porém, em contagens inferiores ao máximo permitido pela legislação brasileira.

2.4. Processo de deterioração do pescado

Logo após a morte, o pescado, como qualquer outro animal, sofre uma série de alterações físicas, químicas e microbiológicas, cujo estágio final é a sua completa deterioração. Esta alta perecibilidade do pescado é explicada por sua grande susceptibilidade às alterações provocadas por enzimas autolíticas e pela ação de microrganismos. O peixe passa por três fases, desde a sua captura, até a putrefação: pré -*rigor mortis, rigor mortis e* pós*-rigor mortis*. Na primeira fase (pré-*rigor*), os músculos do pescado são flácidos, ocorre a glicólise anaeróbica, a qual se manifesta pela formação de ácido lático e, consequentemente, abaixamento do pH do músculo. Além disso, ocorre a degradação do ATP por desfosforilação e desaminação, levando à fusão irreversível da actina e da miosina (sarcômeros contraídos), estabelecendo, assim, o *rigor mortis*. O esforço que o peixe realiza para libertar-se da rede, do anzol, da lança e de outros métodos de captura, consome parte de suas reservas energéticas, esgotando as substâncias necessárias para a contração muscular. A glicogenólise, que se produz simultaneamente com a queda do pH, é pequena nos peixes, atingindo pH 6,2 e, raras vezes, 5,4. Esta condição desencadeia o rompimento das paredes dos lisossomas, liberando as enzimas neles contidos, iniciando-se, então, a hidrólise de proteínas e gorduras no tecido muscular, o que se constitui no fenômeno da autólise, a qual gera substratos para a ação bacteriana, ou seja, aminoácidos e outras substâncias nitrogenadas não-protéicas presentes no músculo, como o óxido de trimetilamina, uréia e histidina. A duração do *rigor mortis* depende da espécie, de fatores fisiológicos,

do grau de exaustão, do tamanho do peixe, das condições de captura e, principalmente, da temperatura, sendo esta, um fator decisivo para a conservação do pescado. Decorrido certo tempo, o animal ingressa no pós-*rigor,* os músculos amolecem, em consequência das proteólises nos miofilamentos e no estroma, tem-se o desdobramento da adenosina-trifosfato (ATP) e formação de amônia (além de outros compostos voláteis), com notável aumento de bactérias e de suas enzimas, cujas atividades são predominantemente proteolíticas e lipolíticas (Nascimento e Novaes, 1984; Beraquet e Lindo, 1985; Sanches, 1989; Huss, 1997; Carvalho, 2000; Barros, 2003).

Alterações no sabor e no odor dos alimentos podem ser produzidas pela ação de enzimas de microrganismos proteolíticos. Alguns psicrotróficos deteriorantes são fortemente proteolíticos, causando alterações indesejáveis em produtos cárneos, laticínios e pescado. Em alguns alimentos, o número de proteolíticos pode projetar o tempo de vida do produto estocado sob refrigeração e avaliar o processamento tecnológico. Espécies proteolíticas são comuns entre os gêneros *Bacillus, Clostridium, Pseudomonas e Proteus*. O nível de bactérias proteolíticas e/ou a proporção, em termos da microbiota total, pode ser útil para indicar a qualidade de alguns tipos de alimentos (Brasil, 1993).

As gorduras dos alimentos são susceptíveis à hidrólise e à oxidação, o que pode ser causado por bactérias, bolores e leveduras, como também por processos químicos. A deterioração hidrolítica e oxidativa das gorduras do alimento leva a alterações do odor do mesmo e diminuição da qualidade, até a deterioração. A temperatura e a umidade, durante o armazenamento, podem proporcionar condições de desenvolvimento de microrganismos lipolíticos. Os gêneros *Pseudomonas* spp.*, Alcaligenes* spp. *e Staphylococcus* spp. possuem espécies lipolíticas. As lipases são relativamente ativas em baixa atividade de água, embora o aumento nas condições de atividade de água aumente a ação enzimática. As lipases são enzimas exocelulares, podendo atuar na gordura do alimento, mesmo após a destruição da célula microbiana, por processos tecnológicos (Brasil, 1993).

Em temperatura de refrigeração (em torno de 5ºC), pode ser observada a atuação das bactérias *Shewanella putrefaciens*, as *Aeromonas* spp. e outras, enquanto em temperaturas da faixa mesofílica (20 a 30ºC), *Aeromonas* spp. e, principalmente, *A. hidrophyla* participam mais ativamente do processo de deteriora. Os gêneros *Flavobacterium* spp. e *Micrococcus* spp. também participam do processo (Barros, 2003).

A deterioração ocorre pela ação de enzimas presentes no próprio pescado e à menor acidez da carne, que favorece o desenvolvimento microbiano. A vida útil do pescado é determinada pela intensidade da ação enzimática e pela quantidade de microrganismos presentes na carne. Portanto, é importante aplicar as boas práticas de manipulação e fabricação, da manutenção de baixas temperaturas logo após a captura ou despesca, bem como evitar as flutuações da temperatura de estocagem e atentar para a temperatura em que o produto é mantido no varejo, bem como no transporte pelo consumidor (Beato, 2002; Simões e Lopes, 2005).

2.5. Aminas biogênicas

Segundo Halász et al. (1994), aminas biogênicas são bases orgânicas de baixo peso molecular, que podem ser formadas e degradadas como consequência do processo metabólico normal de animais, plantas e microrganismos. Estas substâncias possuem atividade biológica e, muitas delas participam de importantes processos fisiológicos, tais como, controle das

funções dos ácidos nucléicos, divisão celular, síntese protéica, estabilização de membranas (putrescina, espermidina e espermina); funções no sistema nervoso (catecolaminas); controle da pressão sanguínea (histamina, tiramina e 2-feniletilamina) e mediador primário do sistema de respostas alérgicas (histamina).

A via mais importante de formação das aminas biogênicas é através da descarboxilação de aminoácidos livres, por enzimas da microbiota bacteriana contaminante ou adicionada (produtos fermentados), mas existem outras vias, como aminação de aldeídos, a decomposição de fosfolípides ou a decomposição térmica de aminoácidos. Como a contaminação microbiana é acompanhada de aumento na produção de enzimas descarboxilantes, a presença de aminas biogênicas pode ser um bom indicador da qualidade do alimento (Rice et al., 1975; Rice e Koehler, 1976; Halász et al., 1994; Brandão, 1996; Vale, 1996).

O processo de fermentação de peixes requer a formação abundante de aminas biogênicas, isto é, a disponibilidade de aminoácidos livres, a presença de microrganismos descarboxilase-positivo, seguido de condições de crescimento bacteriano, síntese e atividade descarboxilase. A formação de aminas biogênicas é causada, principalmente, por atividade microbiana, sendo que o aumento nos seus níveis, em peixes, está associado com o aumento da deteriora. A preocupação maior está relacionada às propriedades tóxicas das aminas biogênicas. A histamina é a amina mais estudada e responsável pela maioria de surtos de toxinfecções alimentares (limite legal de 100 mg de histamina/kg de alimento). Provoca intoxicações de natureza alérgica, quando do consumo de peixes de carne vermelha (atum, sardinha, bonito, cavalinha, etc.), as quais têm sido, historicamente, referenciadas como intoxicações por peixes escombróides, devido à sua frequente associação com o consumo deste tipo de peixe deteriorado, associado ao alto nível de histidina livre (como resultado da descarboxilação da L-histidina, por bactérias) em seu tecido muscular, sendo que os altos níveis de histamina são, frequentemente, encontrados em amostras de peixes envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (Rice and Koehler, 1976; Arnold e Brown, 1978; Gilbert et al., 1980; Halász et al., 1994; Barros, 2003).

Bactérias como *Morganella morganii, Hafnia alvei, Photobacterium phosphorium,* entre outras, são produtores da histidina – descarboxilase. Posteriormente, estas aminas são decompostas em NH_3 , CO_2 e H_2O, como consequência da ação da aminoxidases de origem bacteriana (Ogawa e Maia , 1999).

A formação de aminas biogênicas pelas bactérias é influenciada pela temperatura de armazenamento do alimento. Arnold e Brown (1978) mencionaram que as descarboxilases de origem bacteriana são mais ativas à temperatura abaixo de 30ºC e sem atuação acima de 40ºC. Abaixo de 0ºC, a formação de histamina é desprezível. Ababouch et al. (1991) verificaram que a produção de histamina por *Morganella morganii* e *Proteus* spp. em sardinhas (*Sardina pilchardus*) foi mais evidente a 25ºC do que a 35ºC. Quanto ao pH, a atividade máxima é tida como tal em valores abaixo de 7,0, provavelmente na faixa entre 5,5 e 6,5. A atividade histidina-descarboxilase e formação de histamina por bactérias foi mais evidente em pH 5,0 do que em pH 6,0 ou 7,0.

Outras alterações importantes das substâncias nitrogenadas não protéicas são a redução do óxido de trimetilamina a trimetilamina, e a degradação da uréia e aminoácios em amônia. A redução do óxido de trimetilamina (TMA), por ação da

OTMA-redutase, resulta da ação de bactérias como *Flavobacterium* spp. e *Aeromonas* spp.. Igualmente importante é a formação de aminas, indol, escatol, etil e metil mercaptanas e gás sulfídrico, a partir de aminoácidos, sendo os mais importantes para se avaliar o grau de frescor, as aminas como dimetilamina (DMA), trimetilamina (TMA) e amônia, o que em conjunto denominam-se bases voláteis totais (BVT). A ocorrência e o acúmulo dessas bases voláteis, de compostos sulfurosos, alcoóis voláteis aromáticos (fenol, cresol) e de compostos heterocíclicos (indol e escatol), são responsáveis pelo odor ofensivo de peixe deteriorado (Beraquet e Lindo, 1985; Barros, 2003).

Três mudanças podem ser mensuradas em um substrato quando o TMAO é reduzido a TMA: o potencial de oxi-redução diminui, o pH e a condutividade elétrica aumentam. Tais mudanças são causadas pela atividade metabólica da flora bacteriana e pode, portanto, ser a estimação mais verdadeira do atual potencial deteriorante da população bacteriana, em uma dada amostra, do que a contagem de colônias. Uma vez que a redução de TMAO para TMA é a principal causa de deterioração em peixes marinhos, vários métodos para monitoramento de deterioração bacteriana são baseados nesta reação. O tempo gasto numa amostra de peixe, para reduzir uma quantidade de TMAO é inversamente proporcional ao número de bactérias deteriorantes. A duração máxima para a análise é de aproximadamente 25-30 h, dependendo da temperatura de incubação e do número de bactérias deteriorantes (Gram, 1992).

2.6. Métodos para avaliar a qualidade de pescados

Após a morte do peixe, as transformações iniciais de certos compostos, sofridas antes que se instalem mudanças organolépticas acentuadas, com sinais de deteriora, podem constituir índices úteis na avaliação objetiva da qualidade do produto. Vários compostos são utilizados na avaliação bioquímica do frescor do pescado, sendo que os mais utilizados são: hipoxantina (Hx), bases voláteis totais (BVT), trimetilamina (TMA), rancidez oxidativa e formação de malonaldeído. Denomina-se bases voláteis totais o conjunto das bases nitrogenadas como a TMA, a DMA, a amônia, a monometilamina, a putrescina, a cadaveriana, a espermidina, normalmente presentes em pescado que deteriora. Essas bases se constituem numa mistura onde predominam a amônia, a dimetilamina a a trimetilamina, todas contendo nitrogênio, por isso o resultado é expresso em mg de nitrogênio por 100g de músculo. A principal responsável pela mudança nos valores de BVT durante a estocagem do pescado no gelo é a TMA. Vários países como Brasil, Alemanha, Argentina e Austrália adotaram este parâmetro como critério de frescor. Porém a utilização deste parâmetro para peixes de água doce é questionado, pois estes não possuem ou possuem em quantidade mínima, o óxido de trimetilamina, o qual por ação microbiana, origina a trimetilamina (Mendes e Lajolo, 1975**;** Kuaye, 1982; Beraquet e Lindo, 1985; Loughran e Diamond, 2000; Ruiz-Capillas e Moral, 2001).

Segundo Jesus et al. (2001), o nitrogênio das Bases Voláteis Totais (BVT) tem sido utilizado para estimar objetivamente a qualidade do pescado (grau de frescor), esperando que, à medida que as contagens microbianas sejam mais elevadas, seus valores aumentem, ultrapassando o limite estabelecido pelo MAPA - 30mgN/100g/ carne (Brasil, 1997a).

De acordo com o MAPA, existem vários testes ou métodos para avaliação do frescor e da qualidade dos pescados:

a) Sensoriais, observando o pescado externamente, analisando fatores externos, como brilho, transparência, coloração, odor, textura, consistência (Brasil, 1977b).

b) Físico-químicos, em que se quantifica a formação de compostos de degradação (desenvolvimento bacteriano ou de processos oxidativos), tais como determinação do pH, pesquisa de amônia – NH_3, pesquisa de gás sulfídrico – H_2S, nitrogênio das bases voláteis totais – N-BVT, trimetilamina – TMA, ranço oxidativo (Brasil,1981).
c) Microbiológicos, sendo que a deterioração ocorre muitas vezes pelo desenvolvimento bacteriano superficial, sendo necessário quantificar esta carga microbiana, com adoção dos limites máximos de contaminação, a fim de se distinguir os pescados de boa e de má qualidade.

O Comitê do Codex sobre Pescados e Derivados considera o conteúdo de trimetilamina (TMA), presente na musculatura do peixe, como um indicador da qualidade de frescor para espécies de peixes marinhos. A TMA é formada a partir do óxido de trimetilamina (OTMA), substância presente, naturalmente em peixes de água salgada, sendo influenciada por fatores, tais como o habitat, a estação, o estado de nutrição, a maturidade e a idade do peixe, sendo que seu conteúdo varia entre e dentre as espécies. A quantidade de TMA formada no músculo do peixe, durante o processo de decomposição, está relacionada à quantidade de OTMA presente. Isto leva a uma dificuldade em se fixar limites para conteúdo de TMA (Antonacopoulos, 1971). Entretanto, Dyer, 1945; Castell et.al., 1974; Mendes, 1974, citados por Oliveira e Sales, 1988, citam como valores normais para TMA, aqueles que estão na faixa de 12 a 44mgN/100g de carne.

Antonacopoulos, 1971, descreve um método de estimação simultânea do N-OTMA e do N-TMA, e o classifica como mais seguro para avaliar o frescor, em comparação com a dosagem do N-TMA isoladamente. Considera ainda, que é essencial um segundo método objetivo para determinar o frescor, o qual deve confirmar os resultados sensoriais e de TMA ou ambos, especialmente em pescado com baixo conteúdo de N-OTMA, uma vez que o valor de TMA representa somente um produto de decomposição de peixes marinhos, sendo dependente da quantidade de OTMA presente, além de que, algumas espécies possuem pequena quantidade desta substância. Em tais casos, pode não haver uma relação exata entre o valor de TMA e o grau de frescor. Para isto, recomenda-se estimar o Nitrogênio Básico Volátil Total (N-BVT), o qual inclui o N-TMA, fornecendo um resultado satisfatório, no controle da qualidade destes alimentos.

Fagan et al., em 2003, fizeram um estudo sobre os efeitos de diferentes métodos de processamento do salmão (congelado-resfriado, fresco, congelado e resfriado), onde observaram vários parâmetros, entre eles as bases voláteis totais (BVT) e a trimetilamina (TMA). Como resultado obtiveram valores em mgN/100g para BVT de 20,2; 17,0; 14,8 e 22,7, respectivamente. Já para TMA, os valores encontrados foram 4,10; 2,10; 1,70 e 6,0, respectivamente. Estes dados confirmam a importância destes dois índices como medidores da qualidade do salmão, visto que a estocagem congelada foi a que apresentou os menores valores, seguida do peixe fresco, do congelado-resfriado e do resfriado, sendo este último o método que apresentou os maiores valores. O mesmo aconteceu em estudo realizado por Oliveira e Sales (1988), quando mediram as alterações de frescor do pargo, *Lutjanus purpureus*, durante as fases de pré e pós-processamento na indústria, em intervalos de 1,5,10,15 e 20 dias, quando constataram que o Nitrogênio da Bases Voláteis Totais (N-BVT) do pescado refrigerado após 15 dias foi da ordem de 23,9mgN/100g de BVT, enquanto no congelado, situou-se na faixa de 19,6mgN/100g. O valor das Bases Voláteis Totais, embora alto, ainda se

manteve abaixo do limite legal (30mgN/100g de carne). Já para a trimetilamina (TMA), no pescado refrigerado e congelado, tiveram uma progressão 1,21mgN/100g e 0,3mgN/100g, respectivamente, durante os 20 dias de duração dos ensaios. Notaram ainda, que o maior valor atingido após 20 dias de armazenagem foi de 8,7mgN/100g de TMA para o primeiro e de 3,3mgN/100g para o segundo.

Segundo Lima (1971), existem quatro atributos principais para se avaliar a qualidade comestível de pescados, a saber: a aparência, o odor, a textura e o sabor, verificados em todas as etapas de obtenção/distribuição do produto. Esta qualidade pode ser comprometida já no momento da captura, se o método e o manejo utilizados a bordo, forem inadequados. O método de captura deve evitar condições excessivas de stress ao peixe, para que haja maior tempo de instalação do *rigor mortis*, enquanto o manejo deve utilizar o frio o mais rápido possível, a fim de se evitar e/ou retardar as alterações (Santos, 2006).

2.7. A importância do frio na conservação do pescado

Estocagem do pescado pelo frio é um método de preservação que aumenta o tempo de estocagem, permitindo o acondicionamento sob condições mais controladas, e produtos de elevada qualidade sensorial, disponíveis para o consumo, em lugares muito distantes das áreas de captura e fora da estação de pesca. O ideal é que não existissem diferenças sensoriais entre peixe fresco e peixe congelado após o descongelamento. Se as condições forem apropriadas, o pescado pode ser estocado por vários meses sem apresentar mudanças em sua qualidade (Santos-Yap, 1995). Entretanto, o frio pode afetar a qualidade de uma variedade de alimentos, como carne bovina, suína, de aves e peixes. Este fenômeno de deterioração da qualidade durante a estocagem sob o frio é mais pronunciada em pescados, com deterioração de textura, flavor, e cor (Sequeira-Munoz et al., 2005).

A conservação inicial do pescado está associada com a redução da temperatura da carne. Quanto mais baixa a temperatura em que é mantido o pescado, menor é a velocidade na instalação do *rigor mortis*. Nessa fase, a ação deterioradora das bactérias é dificultada enquanto o *rigor mortis* não terminar. Quanto menor o tempo entre a captura do pescado e o resfriamento ou o congelamento, maior é a manutenção dos parâmetros de qualidade dos peixes ou dos produtos elaborados a partir dessa matéria-prima. Dessa forma, a refrigeração faz com que a deterioração causada por bactérias seja adiada (Bressan e Perez, 2001).

O uso do gelo é o método mais antigo para a conservação do pescado e, ainda hoje, é o mais utilizado. Sua função vai além de conservar o produto, uma vez que lava a superfície e mantém a mesma hidratada. Para isso, é importante que se tenha um sistema de drenagem eficiente. A água utilizada na fabricação do gelo deve ser potável. Segundo Scherer (2004), o gelo utilizado para conservação de alimentos pode ser uma importante fonte de contaminação, sendo que, se submetido à cloração, torna-se efetivo na redução da contagem de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos na carne, ampliando em torno de três dias a vida de prateleira A recomendação de gelo para a região tropical, é de duas partes, para uma parte de peixe, em sistemas de monocamadas. O gelo deve ser triturado para não causar injúrias nos produtos. Porém deve ficar claro que o gelo não restitui a qualidade perdida após a captura. Segundo Bressan e Perez (2001), para resfriar e manter o peixe em condições de resfriamento são necessárias quantidades

suficientes de gelo para reduzir a temperatura de pescado a 0 e -2ºC e manter o mesmo nessa faixa, resultando em atraso das alterações enzimáticas e bacterianas. A quantidade de gelo necessária para manter o peixe resfriado depende da temperatura e do tempo de armazenamento, podendo variar de 50 a 100% do peso do peixe.

Sivertsvik et al. (2003) realizaram um estudo comparativo sobre a qualidade de filés de salmão submetidos a três diferentes modos de estocagem: atmosfera modificada (CO_2:N_2 60:40), temperatura de super resfriamento (-2ºC) e temperatura de resfriamento (+4ºC). Eles concluíram que tanto a atmosfera modificada, quanto o super resfriamento, estendem a vida útil de filés de salmão e, quando combinados, um efeito sinérgico foi observado, talvez causado pelo aumento da dissolução do CO_2 à temperatura super resfriada. Esta combinação resultou em um produto com alta qualidade em 24 dias de estocagem, com inibição quase total do crescimento bacteriano. A vida de prateleira foi aumentada em pelo menos 2,5 vezes, em comparação ao tradicional resfriamento do salmão em atmosfera modificada e, pelo menos, 3,5 vezes a estocagem resfriada exposta ao ar. Em outro estudo realizado por Gallart-Jornet et al. (2006), foram comparados três diferentes métodos de estocagem para filés de salmão utilizando o frio, a saber: estocagem super resfriada (-1 a -4º), estocagem com gelo (0 a 4ºC) e estocagem congelada (-18 a -40ºC). Eles observaram que há diferenças nas alterações físicas e bioquímicas. O super-resfriamento parece ser o melhor método para estocar material cru, antes da salga, atenuando a degradação da qualidade bioquímica, que acontece facilmente sob estocagem resfriada, sendo que o grau de desnaturação protéica e os danos estruturais são menores do que na estocagem congelada. Entretanto, uma estocagem prolongada, nestas condições, tem efeitos negativos sobre as propriedades da textura. Para prolongar o tempo da estocagem super resfriada e para evitar prejuízos mecânicos, torna-se necessário controlar o processo de super resfriamento e as condições de estocagem, minimizando as flutuações de temperatura.

Segundo Beraquet e Lindo, 1985, se o pescado for armazenado sob refrigeração, a atividade das bactérias é retardada durante alguns dias e, nesse período, há predomínio do processo autolítico. Entretanto, se o pescado for estocado a altas temperaturas, a decomposição bacteriana prevalecerá.

3. OBJETIVOS

- Avaliar as Boas Práticas de Produção e Fabricação (BPF) do salmão, junto ao comércio varejista de Belo Horizonte.
- Avaliar a qualidade higiênico-sanitária da carne do salmão.
- Avaliar o estado de conservação do salmão, através das análises físico-químicas (pH, Bases Voláteis Totais e Trimetilamina).
- Avaliar a presença de *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* coagulase positivo na carne de salmão resfriada.
- Avaliar a presença de parasitos na carne de salmão, com especial atenção para o *Diphylobotrium* spp.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Escolha e coleta das amostras

Foi feito um levantamento, juntamente com a Vigilância Sanitária da Prefeitura Municipal de Belo Horizonte, dentro das nove (9) regionais existentes, do número de estabelecimentos varejistas que comercializavam o salmão eviscerado e resfriado. Este levantamento demonstrou,

no momento, a existência de 13 estabelecimentos (Tabela 1).

Tabela 1 - Distribuição do comércio varejista no município de Belo Horizonte, no ano de 2008, de acordo com as regionais administrativas.

De posse destes dados, 100% dos estabelecimentos foram amostrados, coletando-se três (3) peixes em cada local.

As amostras foram coletadas nos meses de setembro a dezembro de 2008, sendo que no momento da coleta, foi aplicado um roteiro de vistoria, com questões voltadas ao estabelecimento, que abrangia os seguintes itens: equipamentos/manutenção, organização/limpeza, pessoal e produtos (Anexo1).

4.2. Inspeção sensorial

A inspeção sensorial foi realizada por Fiscal Sanitário – Médico Veterinário, no local da coleta (Anexo 2), submetendo-se os peixes a uma avaliação macroscópica, julgando-se as características sensoriais para peixes frescos: aparência da pele (brilho, transparência), condição dos olhos (transparência, brilho, saliência), guelras (cor, cheiro, umidade), escamas (aderência e brilho), nadadeiras (resistência), carne (coloração, odor, textura e consistência). Cada característica foi considerada como SIM ou NÃO, com três pontuações (+, ++ e +++), tendo como parâmetros os atributos próprios à espécie e as normas de inspeção do Serviço de Inspeção de Produtos de Origem Animal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Serviço de Inspeção de Pescado e Derivados – SEPES/MAPA, Métodos (1981) e Brasil (1997a,b).

As amostras de peixes foram devidamente embaladas em sacos plásticos estéreis, lacradas e enviadas sob refrigeração até ao Laboratório de Bromatologia da Prefeitura Municipal de Belo Horizonte, para as análises microbiológicas. A porção amostral foi retirada, sob condições assépticas, preservando-se a integridade dos peixes, os quais foram novamente embalados, lacrados, e enviados, sob refrigeração, aos Laboratórios do Departamento de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal da Escola de Veterinária da UFMG, sob refrigeração, para as análises parasitológicas e físico-químicas.

4.3. Preparo das amostras

Ao chegarem ao Laboratório de Bromatologia – GERSA - Centro-Sul – PBH, as amostras foram recebidas, e as temperaturas internas das caixas de transporte foram aferidas, tolerando-se até 10ºC, conforme metodologia do laboratório. As amostras foram identificadas e submetidas à nova inspeção, a fim de se verificar as condições gerais dos invólucros, de modo a atestar a integridade dos seus conteúdos. Logo em seguida, as amostras foram encaminhadas à capela fixa

e manuseadas de acordo com o Procedimento Operacional Padrão – POP Mb03 do Laboratório de Bromatologia da PBH, o qual tem por objetivo, padronizar a preparação, pesagem e diluição das amostras de alimentos e água para análises microbiológicas.

Realizou-se a desinfecção da parede externa das embalagens com álcool a 70%. Todos os utensílios utilizados para o processamento das amostras estavam estéreis. Os invólucros foram retirados assepticamente, verificando-se as características sensoriais e a possível presença de contaminantes ou sujidades macroscópicas. Em seguida procedeu-se à pesagem das amostras em alíquotas de 25g, adicionou-se 225 ml do diluente (água peptonada tamponada a 0,1% estéril) em sacos plásticos estéreis. Procedeu-se à homogeneização da porção de ensaio em Stomacher por 1 minuto a 1000rpm, obtendo-se desta forma a primeira diluição (10^{-1}). A partir da diluição 10^{-1}, pipetou-se assepticamente 10ml para um frasco contendo 90ml de água peptonada tamponada a 0,1% estéril ou 1ml para 9 ml, obtendo-se a segunda diluição (10^{-2}). Procedeu-se da mesma forma para preparar as demais diluições (Brasil, 1981; Siqueira, 1995; Brasil, 2001; APHA, 2001; Brasil, 2003).

4.4. Análises microbiológicas

Os parâmetros analíticos, segundo a Resolução RDC 12/2001, para pescado refrigerado, foram a pesquisa de *Salmonella* spp. e a contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo. As análises foram realizadas de modo asséptico no interior da capela de procedimentos de análise, fazendo-se uso de chama e seguindo-se os Procedimentos Operacionais Padrão do Laboratório de Bromatologia – GERSA Centro-Sul - PBH, os quais seguem a metodologia descrita no Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (APHA, 2001).

4.4.1. Pesquisa de *Salmonella* spp.

A determinação da *Salmonella* spp**.** foi feita de acordo com o POP MB 14 do Laboratório de Bromatologia da PBH. A partir da diluição 10^{-1}, incubou-se à temperatura de 35-37ºC por 24 horas. Esta fase é caracterizada como pré-enriquecimento geral. Foi utilizado como diluente água peptonada tamponada 0,1%.

Após a incubação (24 hs), pipetou-se 1ml para tubo contendo 10 ml de caldo selenito-cistina , 1 ml para tubo contendo 10 ml de caldo tetrationato (previamente adicionado de 0,2 ml de solução de lugol, no momento do plantio) e 1 ml para tubo contendo 10 ml de caldo Rappaport modificado. As amostras foram homogeneizadas e incubadas a 35-37ºC por 24 horas (caldo selenito-cistina) e a 43ºC (caldo Tetrationato e Rappaport). Um dos caldos foi escolhido e fez-se o controle positivo paralelamente. Esta fase é caracterizada como enriquecimento seletivo.

Após a incubação, procedeu-se à técnica de isolamento, onde a partir de cada tubo, semeou-se em estrias, com alças de platina, em placas de Petri, contendo meios sólidos. Os meios utilizados foram: o Ágar Entérico de Hectoen (HE) e o Ágar *Salmonella Shigella* (SS). As placas foram incubadas invertidas, a 35-37ºC por 24 horas. Foram observadas as colônias típicas, com as seguintes características:
HE – cor esverdeada, com ou sem centro negro ou totalmente negras e brilhantes.
SS – incolores, tendendo ao amarelo, excepcionalmente com centro negro.

Após a observação das características morfológicas, selecionou-se de cada placa, duas ou mais consideradas típicas, semeou-se em paralelo, a partir da mesma colônia, tubos contendo TSI e LIA. A inoculação foi

feita em profundidade e estrias na superfície inclinada. Inoculou-se a cepa de *Salmonella* spp. para o controle positivo. Foi feito também o controle negativo. Logo em seguida, os tubos foram incubados a 35-37ºC por 24 horas. Esta fase corresponde à triagem das colônias. No meio TSI, as salmonelas, quando em crescimento, apresentam a base ácida (amarela) com produção de H_2S e gás (podem também não apresentar produção de H_2S) e o ápice é alcalino (vermelho). No meio LIA, a maioria das salmonelas crescem modificando a coloração do meio (violeta) para púrpura e produzem H_2S.

A partir das culturas apresentando reações típicas em ágar TSI e/ou LIA, inoculou-se em tubos de IAL e incubou-se por 18 horas a 35-37ºC. Fez-se o mesmo com o controle positivo e o negativo. Os resultados bioquímicos procurados nesta prova foram: lisina, glicose com gás, H_2S e motilidade positivos, bem como triptofano desaminase, uréia, sacarose e indol, negativos. No presente estudo, não ocorreram as referidas reações bioquímicas, logo, não houve a necessidade de confirmação sorológica com o antissoro polivalente "O" (Siqueira, 1995; Brasil, 2001, APHA, 2001).

4.4.2. Contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo

A determinação de *Staphylococcus* coagulase positivo foi feita de acordo com o POP MB 09 do Laboratório de Bromatologia – GERSA- Centro-Sul – PBH (Siqueira, 1995; Brasil, 2001; APHA, 2001).

Inoculação das Placas

Foram realizadas diluições décimas com água peptonada tamponada 0,1%. Inoculou-se 0,1 ml da diluição 10^{-1} na superfície da placa contendo Ágar Baird-Parker. Espalhou-se uniformemente o inóculo sobre a superfície do meio, até completa absorção, com o auxílio de alça Drigalski, esterilizada. Adotou-se o mesmo procedimento com as demais diluições. As placas foram mantidas, durante 15 minutos, na posição normal e, posteriormente, incubadas em posição invertida, a 35-37ºC por 48 horas.

Leitura das Placas

As placas que continham entre 20 e 200 colônias foram selecionadas para a contagem das colônias típicas (T), as quais possuem coloração negro brilhante, forma arredondada, convexa, com bordas regulares, circundadas por um halo branco opaco e um outro externo, maior transparente, contrastando com o meio e colônias atípicas (A), cujas características são coloração cinzenta ou negro brilhante desprovidas de halos ou apresentando apenas um.

Prova de esterilidade do meio BHI e dos tubos

Adicionou-se 0,5 ml do caldo Brain Heart Infusion (BHI) nos tubos a serem utilizados e os incubou a 35-37ºC por 24 horas, a fim de se verificar a esterilidade dos tubos e do meio. As colônias típicas e atípicas foram repicadas e adicionadas nos tubos contendo 0,5mL do caldo Brain Heart Infusion (BHI), seguindo-se a incubação a 35-37ºC por 24 horas, para a etapa de confirmação.

Prova da coagulase

A cada tubo utilizado na etapa anterior, foi adicionado 0,5 ml de plasma de coelho com EDTA, diluído na proporção de 1ml de plasma de coelho em pó para 3ml de solução. Os tubos foram incubados por um período de 6 horas. Paralelamente foi feito um tubo controle positivo para *S. aureus* e um tubo controle negativo.

Após este período, observou-se a formação de coágulo, conforme critérios abaixo:

- Reação negativa: ausência de coágulo
- Reação 1+: coágulo pequeno e desorganizado
- Reação 2+: coágulo pequeno e organizado
- Reação 3+: coágulo grande e organizado
- Reação 4+: coágulo de todo conteúdo do tubo, que não se desprende quando o tubo é invertido (Brasil, 2003).

O resultado é expresso em Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de *Staphylococcus* coagulase positivo por g ou ml da amostra.

O cálculo é feito através da fórmula:

$$\frac{C1 \times C2 \times FD \times AL}{C3}$$

Sendo:
C1 = Colônias contadas
C2 = Colônias confirmadas
FD = Fator de Diluição
AL = Alíquota
C3 = Colônias pescadas

4.5. Pesquisa de parasitos

Foi feita a inspeção macroscópica dos exemplares, inclusive das cavidades oral e opercular, das brânquias e nadadeiras com auxílio de lupa e pinças, a fim de se verificar a presença de parasitos (Pavanelli et al., 1998). Procedeu-se à retirada das cabeças e da pele dos peixes e logo em seguida, a secção do corpo ao meio, no sentido longitudinal, seguindo-se a filetagem dos mesmos (espessura aproximada de 0,5 cm) e exame em mesa iluminada (*candle table*), com ênfase na pesquisa de *Diphylobotrium* spp. na musculatura.

4.6. Avaliação físico-química

4.6.1. Determinação do pH

A determinação do valor de pH foi realizada, conforme a metodologia proposta na Instrução Normativa Nº 20 (Brasil, 1999). Foram tomadas porções variadas da musculatura de várias regiões do peixe (sem pele), num total de 50 g, as quais foram trituradas, em processador de alimentos, adicionadas de 20 ml de água, recentemente fervida e posteriormente resfriada, até obter-se uma pasta homogênea. O potenciômetro foi aferido com solução tampão pH 7,0 e pH 4,0 a 25ºC. A leitura foi realizada diretamente, em aproximadamente 50g da amostra preparada.

4.6.2. Determinação de Bases Voláteis Totais e Trimetilamina

Foram determinadas pelo método de destilação das bases voláteis por arraste de vapor. Uma amostra de 100 g de salmão foi pesada, triturada, adicionada de 300 ml de ácido tricloroacético a 5 % e homogeneizada. Logo em seguida, foi filtrada, a fim de se obter um extrato límpido. Foi pipetado 5 ml deste filtrado para o tubo Kjeldahl e adicionado 5 ml de NaOH 2 M. Procedeu-se à destilação, recebendo o destilado em Erlenmeyer, contendo 5 ml de solução de ácido clorídrico 0,01N. O indicador foi adicionado e coletado cerca de 15 ml do destilado. Em seguida, titulou-se o excesso de ácido com solução de hidróxido de sódio 0,01N até coloração rósea pálido. Adicionou-se 1 ml de formaldeído para cada 10 ml de líquido no Erlenmeyer, titulando-se o ácido liberado com solução de hidróxido de sódio 0,01N até o mesmo ponto final. Os cálculos foram realizados, utilizando-se as fórmulas próprias de bases voláteis totais e trimetilamina (Brasil,1981).

$$BVT\ (mg/100g) = \frac{14(300 + A) \times V}{Va' \times P}$$

$$TMA(mg/100g) = \frac{14\,(300 + A) \times V'}{Va' \times P}$$

Onde:

V= volume de ácido consumido, indicado pela 1ª titulação (diferença entre o volume inicial do ácido e o da base gasto na 1ª titulação).

V'= volume de ácido liberado, indicado pela 2ª titulação (diferença entre o volume inicial do ácido e o da base gasto).

A= conteúdo de água na amostra expressa como mg/100g.

Va' = volume da alíquota.

P= Peso da amostra em gramas.

Na maioria dos casos, pode-se afirmar que o conteúdo de água no músculo do peixe é de 80%. A expressão 300 + A torna-se 380 quando são tomadas exatamente 100g de peixe.

4.7. Delineamento Experimental

Realizou-se uma análise estatística descritiva, onde a amostragem alcançou 100% dos estabelecimentos que comercializavam salmão eviscerado e resfriado, no ano de 2008, no município de Belo Horizonte, de acordo com listagem da VISA-BH. Por tratar-se de uma variável de alta diversidade, foram coletados 3 peixes/estabelecimento (réplicas), utilizando-se a média destes valores, a fim de minimizar eventuais distorções. Não houve estudos de comparação de médias por testes estatísticos, por não haver tratamentos neste estudo.

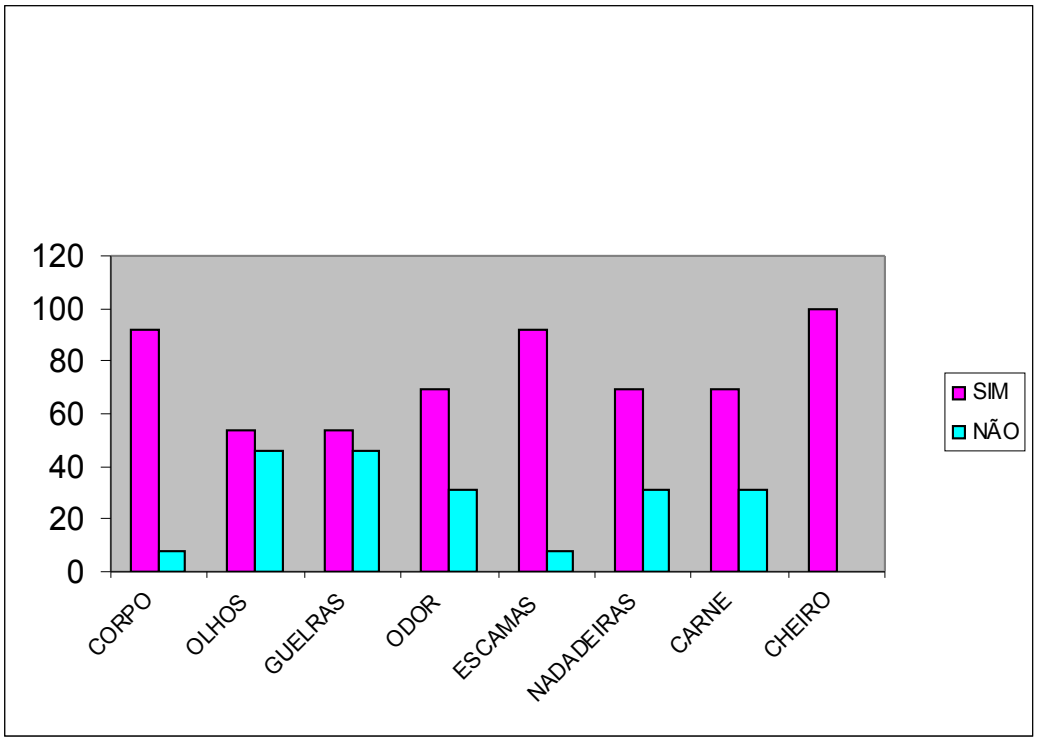
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Inspeção Visual

As características sensoriais observadas neste estudo foram superfície do corpo, brilho, olhos, aspecto e odor das guelras, características das escamas e nadadeiras, consistência e cor da carne e cheiro específico da espécie, a partir de um roteiro (anexo 2), criado para este trabalho, onde os caracteres foram classificados como SIM (normais) ou NÃO (alterados), conforme demonstrado na figura 1. Além disso, cada caracter (SIM ou NÃO), foi caracterizado com valores de 1+, 2+ e 3+, a fim de se classificar o grau, ou a intensidade da normalidade ou da alteração, sendo que 1+ é a menor intensidade e 3+ a maior intensidade, já que os fatores são bastante subjetivos.

Através da figura 1, observa-se que o maior número de alterações ocorreu nos atributos olhos e guelras, correspondendo a 46,2% das amostras analisadas. Em segundo lugar, viu-se que as características carne, nadadeiras e odor das guelras tiveram alterações de 30,8%. Em relação aos atributos superfície do corpo e escamas, esses apresentaram poucas alterações, com valores de 7,7%, enquanto o atributo cheiro específico da espécie apresentou 100% de normalidade.

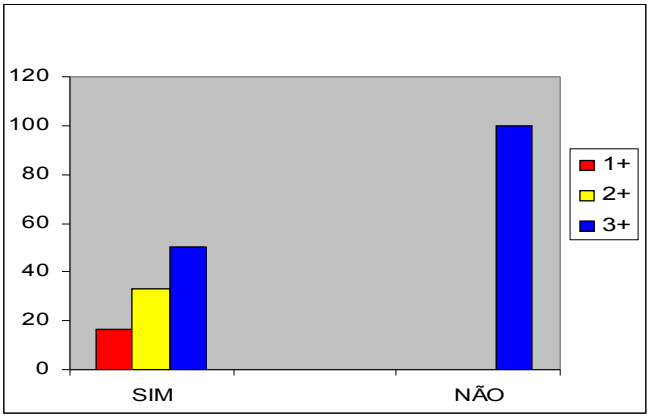
Figura 1: Frequências das características sensoriais normais (SIM) e alteradas (NÃO), da carne de salmão (*Salmo salar*) resfriada, coletada em Belo Horizonte, 2008.



Ruiz Capillas e Moral (2001) obtiveram resultados semelhantes ao presente estudo, quando pesquisaram a correlação entre atributos sensoriais e índices de qualidade bioquímica, em merluza (*Merluccius merluccius L.*). Os resultados da inspeção sensorial revelaram que o parâmetro que menos variou foi a aparência do corpo. Já os atributos cor das guelras, odor e aspecto dos olhos, a partir do 12º dia se mostraram alterados.

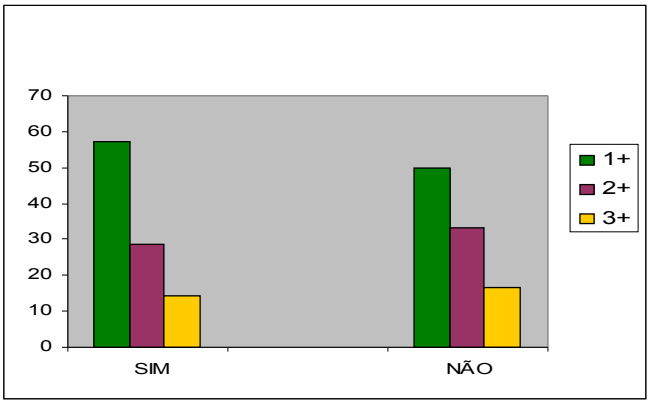
Através da figura 2, nota-se que a maioria dos peixes analisados (36) apresentou a caracterização do corpo como normal (SIM), sendo os valores encontrados 16,7% (6), 33.3% (12) e 50% (18), com intensidades 1+, 2+ e 3+, respectivamente. Para a caracterização alterada (NÃO), nota-se que 100% dos peixes analisados (3), apresentaram o grau de intensidade 3+, ou seja, estavam com um grau máximo de alteração da superfície do corpo, porém apenas 3 peixes se apresentaram alterados para esta característica.

Figura 2: Intensidade da variação do corpo (transparência, brilho), na inspeção sensorial do salmão (*Salmo salar*) resfriado – Belo Horizonte, 2008.



A avaliação da intensidade dos olhos (figura 3) mostrou que dentre os 21 peixes que apresentaram características normais (SIM), os valores foram 57,2% (12), 28,6% (6) e 14,2% (3), com intensidade de 1+, 2+ e 3+, respectivamente, enquanto para as amostras alteradas (NÃO), cujo total foram 18 peixes, os valores foram 50% (9), 33,3% (6) e 16,7% (3), com intensidade de 1+, 2+ e 3+, respectivamente. Os olhos, juntamente com o aspecto das guelras, foram as duas características que mais variaram (46,2%), demonstrando a importância destas observações, para se avaliar o grau de frescor dos peixes.

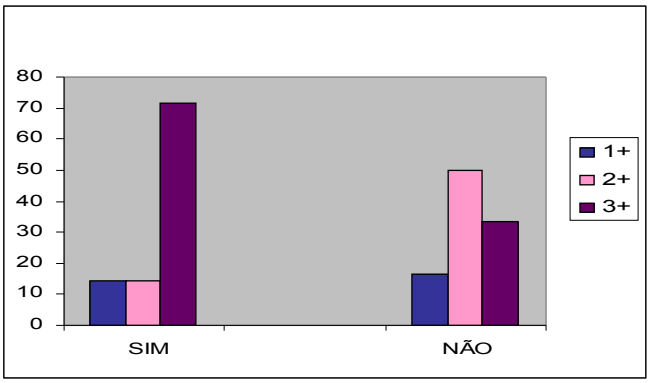
Figura 3: Intensidade da variação dos olhos (transparência, espaço que ocupa na órbita), na inspeção sensorial do salmão (*Salmo salar*) resfriado – Belo Horizonte, 2008.



A figura 4 mostra os graus de intensidade para a característica aspecto das guelras, com valores de 14,3% (3), 14,3% (3) e 71,7% (15), para peixes com aspectos normais (SIM), com intensidades de 1+, 2+ e 3+, respectivamente, num total de 21

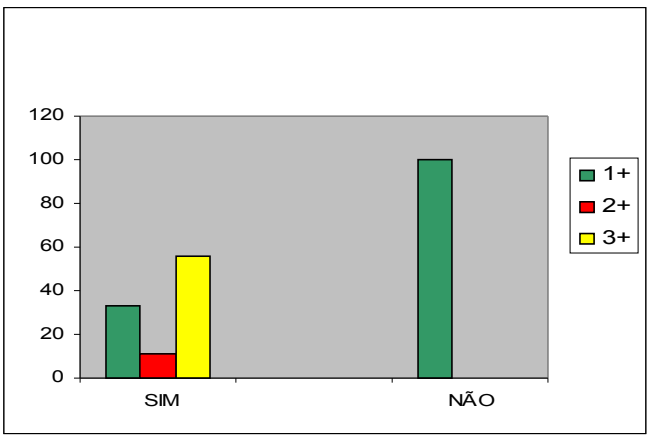
peixes. Já para peixes com aspectos alterados (NÃO), valores de 16,7% (3), 50% (9) e 33,3% (6), com intensidades de 1+, 2+ e 3+, respectivamente, totalizando 18 peixes.

Figura 4: Intensidade da variação do aspecto das guelras (umidade, cor e brilho), na inspeção sensorial do salmão (*Salmo salar*) resfriado – Belo Horizonte, 2008.



A figura 5 mostra a intensidade da variação do odor das guelras, onde os 27 peixes que se mostraram como normais (SIM) para esta característica, os valores encontrados foram 33,33% (9), 11,1% (3) e 55,5% (15), com intensidade de 1+, 2+ e 3+, respectivamente. Já para os peixes que se mostraram alterados para esta característica, total de 12 peixes, 100% apresentou intensidade de 1+, demonstrando que a alteração do odor das guelras era num grau leve, talvez o início de um processo de deteriora.

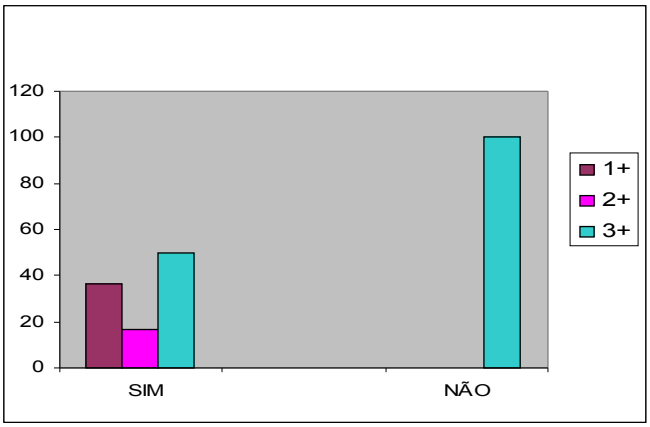
Figura 5: Intensidade da variação do odor das guelras, na inspeção sensorial do salmão (*Salmo salar*) resfriado – Belo Horizonte, 2008.



As escamas, assim como a superfície do corpo, foram características que sofreram pouca alteração (figura 6), mostrando que apenas 3 dos 39 peixes analisados (7,7%) se apresentaram anormais para esta

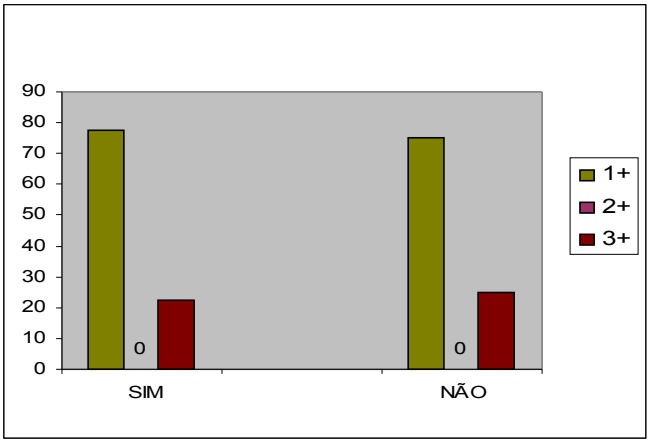
característica, com intensidade de 3+, ou seja, grau máximo à avaliação. Já os 36 peixes tidos como normais, apresentaram 33,3% (12), 16,7% (6) e 50% (18), com intensidade 1+, 2+ e 3+, respectivamente.

Figura 6: Intensidade da variação das características das escamas (brilho e aderência à pele), na inspeção sensorial do salmão (*Salmo salar*) resfriado – Belo Horizonte, 2008.



As nadadeiras tiveram intensidade de 1+ e 3+, apenas, tanto para normalidade, quanto para alteração, com valores de 77,8% (21) e 22,22% (6) para peixes normais (SIM), e valores de 75% (9) e 25% (3), para peixes alterados, onde 27 peixes estavam com nadadeiras dentro da normalidade e 12 peixes com nadadeiras alteradas.

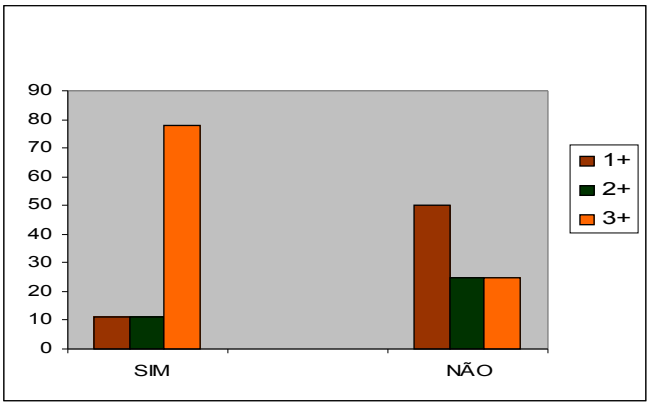
Figura 7: Intensidade da variação das nadadeiras (resistência aos movimentos provocados), à inspeção sensorial do salmão (*Salmo salar*) resfriado – Belo Horizonte, 2008.



A figura 8 mostra a intensidade da variação das características da carne, mostrando que entre aqueles peixes que se apresentaram como normais – SIM (27), 11,1% (3), 11,1% (3) e 77,8% (21), apresentaram graus

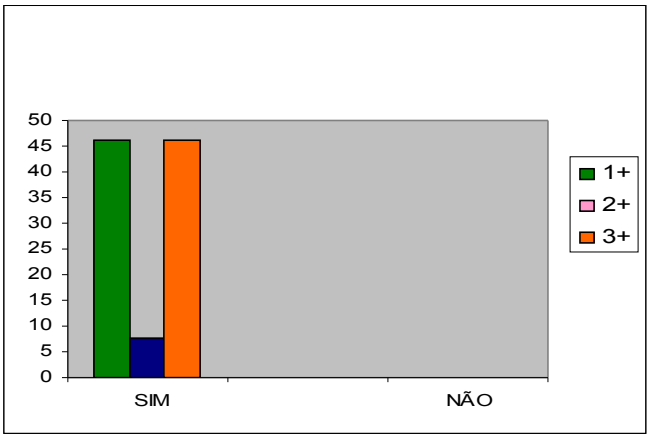
1+, 2+ e 3+, respectivamente, enquanto para as características alteradas – NÃO (12), os valores foram 50% (6), 25% (3) e 25% (3) para os graus 1+, 2+ e 3+, respectivamente.

Figura 8: Intensidade da variação da carne (firmeza, elasticidade e cor), à inspeção sensorial do salmão (*Salmo salar*) resfriado – Belo Horizonte, 2008.



A figura 9 mostra que 100% (39) dos peixes analisados apresentaram o cheiro específico da espécie, porém com valores diferenciados de acordo com a intensidade, a saber 46,2% (18), 7,7% (3) e 46,2% (18) com graus 1+, 2+ e 3+, respectivamente. Ou seja, todos os peixes analisados apresentavam o cheiro específico da espécie *Salmo salar*, porém em três diferentes graus. Este dado foi significativo, uma vez que condiz com os resultados das BVT, pois sendo estas as grandes responsáveis pelo odor ofensivo de pescado deteriorado, e estando as mesmas dentro da normalidade, o odor do peixe não sofreu alteração, mantendo-se normal à espécie.

Figura 9: Intensidade da variação do cheiro da carne (especificidade à espécie), à inspeção sensorial do salmão (*Salmo salar*) resfriado – Belo Horizonte, 2008.



Entre as 39 amostras analisadas, 15% (6), apresentaram as características sensoriais alteradas, com aspecto repugnante, portanto, aos olhos humanos, impróprias ao consumo. Entretanto, ao serem analisadas, verificou-se que o valor de BVT e de TMA encontravam-se dentro dos limites legais e recomendados, com valores médios de 16,22mgN/100g de carne e 1,59mgN/100g de carne, respectivamente.

5.2. Análises Físico-Químicas

Os resultados das análises físico-químicas realizadas neste estudo, estão descritas na tabelas 2 e 3.

Tabela 2 – Valores médios de pH, Bases Voláteis Totais (BVT) e Trimetilamina (TMA) da carne de salmão (*Salmo salar*) resfriada, obtida no comércio varejista do município de Belo Horizonte, em 2008.

Variável	N	Média	Mediana	DP	Mínimo	Máximo	CV
PH	39	6,42	6,41	0,08	6,28	6,60	1,26
BVT	39	18,12	17,55	1,93	14,89	22,87	10,67
TMA	39	1,74	1,59	0,70	1,06	3,72	40,25

BVT=Bases Voláteis Totais; TMA=Trimetilamina;
N= número de amostras; DP=Desvio Padrão;
CV= Coeficiente de Variação
BVT e TMA: resultados em mgN/100g da amostra

Tabela 3 – Valores médios de pH, Bases Voláteis Totais (BVT) e Trimetilamina (TMA) da carne de salmão (*Salmo salar*) resfriada, por estabelecimento varejista, nos quais as amostras foram coletadas - Belo Horizonte, 2008.

5.2.1. pH

O valor do pH nas amostras analisadas variou de 6,28 a 6,60, com um valor médio de 6,42 e coeficiente de variação muito pequeno, mostrando pouca variabilidade entre as amostras (Tabela 2), sendo que os peixes com melhores características sensoriais, obtidos no comércio H (Tabela 3), foram os que apresentaram o menor valor de pH (média 6,3). Os piores peixes sensorialmente, obtidos nos comércios E e K (Tabela 3), também apresentaram o maior valor médio de pH (6,44 e 6,48, respectivamente). De acordo com a legislação, o limite do pH da carne interna deve ser inferior a 6,5 (Brasil, 1997a). Das 39 amostras analisadas, 17,95% (7), ultrapassaram este valor, porém com uma variação mínima, já que o valor máximo foi de 6,6. Estas amostras encontravam-se mal acondicionadas, com temperaturas mais elevadas que as demais (em torno de 6ºC), características sensoriais bastante alteradas, sendo que três (3), estavam com data de validade expirada. Soares e Germano (2005) obtiveram valores semelhantes, ao medirem o pH de salmão "in natura", a saber, 5,74 a 6,39. Escatin e Vitela (1996) analisaram amostras de pescado e encontraram valores divergentes, oscilando entre 3,8 e 5,2 (mediana de 4,55). O mesmo aconteceu em estudo realizado por Jesus et. al., em 2001, no qual analisaram o valor do pH de diferentes "minced fish" estocados a -18±1ºC e -36±1ºC e viram que houve pouca variação ao longo dos 150 dias de estocagem, ficando entre 6,50 e 7,07. Vemos ainda que, Oliveira e Sales, 1988, fizeram a verificação do pH do pargo, *Lutjanus purpureius*, para pescado refrigerado e congelado, em 1, 5, 10,15 e 20 dias de armazenamento, obtendo valores médios para o refrigerado na faixa de 7,9 no 20º dia de estocagem a 0ºC, enquanto no congelado este valor decresceu um pouco para 7,7 em virtude do tratamento. Santos, 2006, analisando 10 partidas de carne congelada de piramutaba (*Brachyplatistoma vaillanti*), verificou que 9 amostras apresentaram valor de pH acima de 6,5. Entretanto, Ogawa e Maia (1999) consideram que o valor de pH não é um índice seguro para avaliar frescor ou início de deteriora, enquanto Love (1992) considera o pH do músculo do pescado como um fator de grande importância tecnológica, pois é o principal fator relacionado com a textura do músculo cozido, fator este que reflete principalmente na textura e no "gaping", fenômeno de ruptura que ocorre nos filés congelados, prejudicando sua qualidade para a comercialização ou o processamento. Já o presente estudo considerou a determinação do valor do pH como um importante índice para avaliação do frescor e características sensoriais, pelo fato do mesmo ter apresentado proporcionalidade direta com as características sensoriais e com o valor das BVT.

5.2.2. Bases Voláteis Totais (BVT) e Trimetilamina (TMA)

O valor médio das BVT, foi de 18,12mg N/100g de carne (tabela 2), com um coeficiente de variação de 10%, aproximadamente, tendo como valores mínimos e máximos, 14,8 e 22,87mg N/100g, respectivamente. A legislação considera como limite máximo tolerável, o valor de 30mgN/100g (Brasil, 1977a). Logo, todos os peixes analisados encontram-se abaixo deste valor e, portanto, em condições de consumo. Estes resultados conferem com os achados por Beato, 2002, ao estudar a carne de piramutaba (*Brachyplatistoma vaillanti*), encontrando valores médios de 15,5 a 16,6mgN/100g. Resultados semelhantes também obtiveram Jesus et. al. (2001), ao estudarem a estabilidade química e microbiológica de "minced fish" de peixes amazônicos, durante o congelamento, encontrando valores do nitrogênio das bases voláteis totais (N-BVT), em torno de 23,3mgN/100g. Já Santos, 2006, estudando a piramutaba, encontrou valores bem

menores para BVT, que variaram de 1,94 a 9,15mgN/100g de peixe, fato este a que o autor atribuiu às melhores condições higiênico-sanitárias empregadas na obtenção do peixe.

Ogawa e Maia (1999), classificaram o estado de frescor de acordo com o teor de N-BVT da seguinte maneira: peixes com excelente estado de frescor o teor de N-BVT atinge 5 a 10mg/100g de carne, peixes com frescor razoável atingem até 15 a 25 mg/100g de carne, peixes em início de putrefação, o teor pode variar de 30 a 40 mg/100g e em estado avançado de deteriora, o teor deve ser acima de 50mg/100g. Sob esta ótica, o presente estudo encontrou todos os peixes em estado razoável.

Quanto à trimetilamina, o valor médio foi de 1,74mgN/100g de carne (Tabela 2). O coeficiente de variação foi 40%, mostrando grande variabilidades, entre as amostras, com valores entre 1,06 a 3,72mg N/100g de carne. Entretanto, 5 amostras, no universo de 39, tiveram valores distantes da média, enquanto somente 2, destas amostras, tiveram valores discrepantes (Tabela 3), mostrando assim uniformidade entre os valores. Resultados semelhantes obtiveram Oliveira e Sales, 1988, quando estudaram as alterações de frescor do pargo (*Lutjanus purpureus*), durante as fases de pré e pós-processamento na indústria, obtendo para os dias 1,5, 10, 15 e 20, valores médios de 3,35; 3,70; 3,80; 4,10 e 4,15mgN/100g de amostra, respectivamente. Gruger (1972), trabalhando com salmão (*Oncorhynchus kisutch*), congelados a -28ºC, identificou, através de cromatografia gasosa e espectrofotofluorometria, vários compostos, entre eles, a TMA, observando que mesmo em peixes frescos, esta amina estava presente, em valores de 3,6 a 6,6mgN/100g da amostra.

Morga (1975), avaliando o índice de frescor da pescada-foguete (*Macrodon ancylodon*), conservada em gelo por 12 dias, fazendo uma relação entre a TMA e a avaliação sensorial de frescor, encontrou os seguintes valores: pescado aceitável, valores de TMA de 1,92 a 3,58mgN/100g de músculo; pescado na faixa crítica, valores de TMA de 2,66 a 3,78mgN/100g e pescado inaceitável, onde os valores oscilavam de 2,66 a 6,12mgN/100g de carne. Comparando estes dados com o presente estudo, nota-se que os valores encontrados para TMA classificam o salmão no estágio aceitável.

No presente estudo, não houve correlação direta das BVT, com os caracteres sensoriais, tendo em vista que peixes com características sensoriais indesejáveis possuíam valores normais para BVT, sendo às vezes até melhores que peixes com características sensoriais desejáveis. Alguns peixes, cujas características sensoriais foram as melhores deste estudo, coletados no estabelecimento H (Tabela 3), apresentaram valores para BVT e TMA em mgN/100g de carne de 18,97 e 1,59, respectivamente, enquanto em peixes alterados sensorialmente, coletados no estabelecimento K (Tabela 3), os valores para BVT foram ligeiramente maiores, porém dentro do limite legal, e os valores para TMA foram iguais, a saber, 21,27 e 1,59, respectivamente. Se houvesse existido correlação direta e positiva entre estas características, os melhores peixes sensorialmente, teriam que ter valores de BVT e TMA, os correspondentes a 14,89 e 1,06mg N/100g de carne, respectivamente. O mesmo aconteceria para os piores peixes sensorialmente, os quais deveriam ter valores de BVT e TMA, os correspondentes a 22,87 e 3,72mg N/100g de carne, respectivamente. Resultados semelhantes obtiveram Scherer et al. (2004), quando estudaram o efeito do gelo clorado sobre parâmetros químicos e microbiológicos da carne de carpa capim (*Ctenopharyngodon*

idella), encontrando valores para BVT que não ultrapassaram o limite de 30mgN/100g de carne, preconizado pela legislação brasileira, mesmo quando os peixes já estavam microbiologicamente deteriorados. Isto mostra que as BVT não devem ser as únicas responsáveis pelo cheiro do peixe, apesar de acompanharem o avanço da deterioração e serem úteis como indicadores (Mendes e Lajolo, 1975)

Mendes e Lajolo (1975), ao avaliarem várias espécies de peixes, quanto ao teor de BVT, TMA e características sensoriais, verificaram que não existiu relação fixa entre os valores percentuais de BVT ou TMA, com as 4 classes organolépticas a que submetera os peixes, reforçando os achados deste estudo, onde menores valores de BVT podem corresponder a piores características sensoriais, ou o contrário.

Observou-se ainda, neste estudo, que apesar de não ter havido uma correlação direta entre o aumento de BVT e as alterações sensoriais, houve uma tendência de aumento das primeiras, quando o número de alterações sensoriais era maior. Estes resultados se assemelham aos encontrados por Beato, 2006, quando estudou as características sensoriais da carne de piramutaba (*Brachyplatistoma vaillanti*).

Em março de 1995, a Comissão Européia, através da Diretiva da EU nº 15/149/EEC definiu que a medição do N-BVT deverá ser utilizada, somente se a avaliação sensorial deixar dúvidas sobre o estado de frescor de diferentes espécies de peixe. Para tanto, diferentes níveis foram estabelecidos para diferentes espécies (Fixing...1995). O valor do N-BVT para a espécie *Salmo salar* foi fixado em 35mgN/100g de peixe. Já para trimetilamina, foi definido pela Comissão Européia, através da Diretiva da EU nº 91/493/EEC o limite de 12mg/100g para TMA-N (Laying...1991, citado por Ruiz-Capillas e Moral, 2001). Também sobre estes parâmetros, os peixes avaliados, neste estudo, mantiveram-se dentro dos limites legais.

Mendes e Lajolo (1975), estudando várias espécies de peixes eviscerados e não eviscerados, perceberam que nos primeiros, o processo de deteriora acontece mais lentamente, tendo como consequência, menores valores absolutos de BVT ou TMA, sendo às vezes até a metade daqueles valores, para peixes com vísceras. Este dado justifica os valores para BVT e TMA encontrados no salmão resfriado e eviscerado, analisados neste estudo, uma vez que os peixes são eviscerados em sua origem.

Os dados obtidos para correlação, entre as análises físico-químicas realizadas, estão indicados na tabela 4. Ocorre correlação positiva e estatisticamente significativa, apenas entre Bases Voláteis Totais e Trimetilamina (0,007). Este dado é esperado, uma vez que a Trimetilamina é uma base volátil. Entretanto, Ruiz-Capillas e Moral, 2001, avaliaram a correlação entre os índices bioquímicos de frescor (pH, BVT, TMA) de merluza (*Merluccius merluccius L.*), tendo como resultado, correlação moderada entre estes índices. Segundo os mesmos autores, a boa correlação entre TMA e BVT significa que na prática, pode-se utilizar apenas um destes dois índices, para se economizar tempo.

Tabela 4 – Valores dos coeficientes de variação entre as variáveis analisadas

	PH	**BVT**	**TMA**
PH	1	0,21	0,001

		(P=0,188)	
	0,21		
BVT	(P=0,188)	1	0,42 (p=0,007)
	0,01	0,42	
TMA	(P=0,957)	(p=0,007)	1

BVT=Bases Voláteis Totais; TMA=Trimetilamina
P= valor p para nível de significância de 5% e confiança de 95%

5.3. Análises Microbiológicas

No presente estudo, das 39 amostras analisadas, nenhuma delas se apresentou positiva para *Salmonella* spp.. Este dado é interessante, uma vez que condiz com os resultados das análises físico-químicas realizadas, sugerindo que o processamento do produto foi adequado, bem como não houve contaminação cruzada e que as Boas Práticas de Produção e Fabricação foram seguidas, tanto nos procedimentos de obtenção do produto, como nos estabelecimentos varejistas. Semelhantes resultados foram citados por alguns autores em suas amostras analisadas, tais como El-Sherbeeny et al. (1985), analisando as propriedades microbiológicas de alimentos prontos para o consumo, entre eles peixes, junto a vendedores ambulantes, no Egito, apesar do grande risco, devido às precárias condições higiênico-sanitárias, não encontraram *Salmonella* spp.. Broek et al (1984), ao analisarem 242 amostras de peixes prontos para a venda, não encontraram *Salmonella* spp. em nenhuma amostra. Entretanto, estes resultados diferem dos descritos por Escatín e Vitela (1996), os quais analisaram amostras de pescado (ceviche) em Guadalajara, México e observaram que 16% das amostras analisadas foram positivas para *Salmonella* spp.. Diferem também dos resultados encontrados por Santos (2006), o qual analisou amostras de carne de piramutaba (*Brachyplatistoma vaillanti*) em dois fornecedores, encontrando 10% de positividade para *Salmonella* spp. em um deles. Adesiyun (1993), analisando vários patógenos, dentre eles a *Salmonella* spp., encontrou 2 amostras positivas num total de 480 amostras processadas. Vimos também que Vieira et. al (2000), isolaram *Salmonella* spp. em 8,3% em um total de 60 amostras.

Em relação à contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo, viu-se que das 39 amostras analisadas neste estudo, nenhuma apresentou positividade para este grupo de microrganismo. Este resultado atesta a adequação do pescado comercializado, nos estabelecimentos pesquisados, frente aos limites estabelecidos em lei, para este grupo bacteriano. O salmão "in natura", tal como fora analisado, é um produto que não sofre muita manipulação, uma vez que o mesmo vem eviscerado e limpo do local de origem.

Resultados divergentes, tiveram Menezes et al., 2006, os quais investigaram a presença de *Staphylococcus* spp., em 20 pares de "sushis" e "sashimis", obtendo 3 amostras acima do limite estabelecido pela legislação. Concluíram que os manipuladores destes produtos, de ambos os restaurantes, onde as amostras foram coletadas, necessitavam de treinamento e noções de higiene para o preparo dos pratos, uma vez que a presença deste gênero bacteriano pode indicar falhas no processamento. Segundo Broek et al. (1984), *S. aureus* não é um habitante natural do mar ou dos peixes, entretanto, a presença de alta contagem desta bactéria em peixes é o resultado de contaminação originária da pele e trato respiratório,

seguido por proliferação, devido à estocagem à temperatura ambiente.

5.4. Pesquisa de Parasitos

Especial atenção foi dada, neste estudo, aos parasitos do gênero *Diphyllobothrium* spp., dado o seu caráter zoonótico no Brasil, por terem ocorrido casos na cidade de São Paulo (Perdigão, 2005). Entretanto, a pesquisa foi direcionada para a observação de quaisquer outras espécies de parasitos, nos salmões.

Das 39 amostras de peixes analisadas, não foi encontrado nenhum parasito. Supõe-se que medidas profiláticas tenham sido empregadas nos criatórios, tais como uso de antiparasitários, controles biológicos, controle da superpopulação e controle de outras condições de stress.

De março de 2004 a maio de 2005 foram registrados, pelo Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE) do Estado de São Paulo, 45 casos de difilobotríase. A investigação epidemiológica concluiu que o surto foi devido ao consumo de salmão cru. No entanto, amostras de salmão foram coletadas aleatoriamente no comércio, não tendo sido encontradas larvas de *Diphyllobothrium* spp., sugerindo que apenas um lote de peixes estava contaminado (Perdigão, 2005).

Apesar de não ter sido o objetivo do presente estudo, foi aplicado um "check list" (anexo 1), nos 13 estabelecimentos onde foram realizadas as coletas dos salmões, o qual abordava o estado de conservação e manutenção do estabelecimento; organização e limpeza dos equipamentos e área física; a condição de higiene dos manipuladores e produto (origem, número do lote, data da produção e do exportador, dizeres da rotulagem, validade, presença de sujidades, aspectos sensoriais, TºC de exposição, potabilidade, quantidade e escoamento do gelo e contaminação cruzada). Os resultados à aplicação deste roteiro estão descritos na tabela 5.

Tabela 5: Porcentagens e números absolutos dos estabelecimentos que apresentaram irregularidades, nos respectivos itens avaliados, no momento da coleta do salmão (*Salmo salar*) resfriado e eviscerado – Belo Horizonte, 2008.

IRREGULARIDADES	(%)	NÚMERO
ÁREA/EQUIPAMENTOS	23	03
ORGANIZAÇÃO E LIMPEZA	7,7	01
PESSOAL	54	07
ORIGEM DO PRODUTO	23	03
PRODUTOS ALTERADOS	23	03
TºC CONS/EXPOSIÇÃO	61,5	08
CONTAMINAÇÃO CRUZADA	7,7	01
DATA DE VALIDADE	7,7	01
QUANTIDADE DE GELO	92	12

As irregularidades encontradas, em relação aos equipamentos, foram a ausência de termômetros e planilhas, para o monitoramento dos equipamentos e produtos. Em relação à área física, foram observados pisos e paredes em mal estado de conservação, enquanto para o pessoal, notou-se alguns manipuladores com as unhas grandes. Entretanto, os estabelecimentos apresentaram o maior número de irregularidades no item produto,

fato este negativo, pois mostra que o comerciante se preocupa mais com o "marketing" e economia de custos, do que com a qualidade higiênico-sanitária dos produtos. Paula, em 2006, fez um estudo que teve como objetivo caracterizar o perfil higiênico-sanitário dos açougues do Município de Belo Horizonte, analisando o roteiro de vistoria utilizado pela Vigilância Sanitária, o qual abordava os mesmos itens do roteiro utilizado neste trabalho. Em alguns locais, os resultados encontrados se assemelham ao presente estudo. Isto aconteceu em açougues localizados em zonas com melhor poder aquisitivo, onde o consumidor tem maior padrão de exigência, concomitante com a ação dos órgãos fiscalizadores. O mesmo acontece com os estabelecimentos que comercializam o salmão, visto que este produto tem seu comércio concentrado em áreas, onde a população possui maior poder aquisitivo.

6. CONCLUSÕES

- A inspeção sensorial do pescado mostrou-se mais representativa da qualidade do salmão do que as análises físico-químicas, uma vez que estas não fizeram grandes distinções entre peixes de boa e má qualidade.

- Os resultados deste experimento demonstraram que a carne de salmão (*Salmo salar*), obtida do peixe eviscerado e resfriado, nas condições em que foram analisadas, não representam risco potencial à saúde do consumidor, por não apresentarem contaminação pelos microrganismos patogênicos, definidos como padrão para pescado fresco, a saber, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* cogulase positivo.

- As análises físico-químicas realizadas revelaram que 7 amostras estavam com o pH acima do limite legal. Já para as bases voláteis totais (BVT) e trimetilamina (TMA), os valores médios obtidos estavam dentro dos limites legais (BVT) e recomendados (TMA).

- A determinação do valor da trimetilamina, por si só, não é um bom indicativo da qualidade / frescor em salmões, pois tanto peixes sensorialmente excelentes, quanto em outros já em deterioração, os valores eram próximos e não ultrapassaram o limite legal.

- Existe uma tendência de aumento no valor de BVT, quando as características sensoriais estão alteradas, porém, o limite estipulado pela legislação de 30mg de N/100g de pescado é elevado para o pescado estudado e não serve como índice de qualidade.

- As análises parasitológicas não revelaram a presença de parasitos.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- De acordo com os resultados obtidos nas análises físico-químicas, vê-se a necessidade de reavaliação dos limites para BVT, pois o tanto o limite definido para salmão (35mgN/100g de carne), como o limite definido para pescados (30mg N/100g carne) são valores altos e precisam ser revisados. Quanto ao valor limite de trimetilamina, é preciso ter definições de acordo com as espécies, a fim de se caracterizar corretamente o estado de frescor do pescado.

- A inspeção do pescado, ao nível do comércio varejista, deve continuar se baseando nas características sensoriais, tendo em vista que foi o método que melhor definiu a qualidade do salmão.

- Após concluirmos sobre a qualidade do salmão "in natura", sugerimos estudos posteriores que avaliem os alimentos processados com esta carne e ingeridos crus, tais como os "sushis" e os "sashimis".

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABABOUCH, L.; AFILAL, M. E.; BENABDELJELIL, H. et al. Quantitative changes in bacteria, amino acids and biogenic amines in sardine (*Sardina pilchardus*) stored at ambient temperature (25-28 degrees C) and in ice**.** *International Journal of Food Science and Technology,* v. 26, n.3, p.297-306, 1991.

ADESIYUN, A. A. Prevalence of Listeria *spp., Campylobacter spp., Salmonella spp*., *Yersinia spp*. and toxigenic *Escherichia coli* on meat and seafoods in Trinidad. *Food Microbiology*, v. 10, n.5, p. 395-403, 1993.

ANTONACOPOULOS, N. Simultaneous Estimation of Trimethylamine Oxide and Trimethylamine Nitrogen, and Estimation of Total Volatile Basic Nitrogen for testing the freshness of marine fish. In:Technical Aspects of Fish Quality Control. Rome (Italy): FAO Fish, Rep., 1971. p.270-278.

ARNOLD, S. H.; BROWN, W. D. Histamine toxicity from fish products. *Advances in Food Research,* v.24, p.113-154, 1978.

BARJA, J. L.; ESTEVES, A. Patologia em acuicultura (CAICYT). Madrid: Espinosa-Labarta, 1988. p. 485-493.

BARROS, G. C. Perda da qualidade do pescado, deteriora e putrefação**.** *Revista do CRMV,* v.9, n.30, p.59-64, 2003.

BEATO, P. G. *Características organolépticas e físico-químicas da carne de Piramutaba, Brachyplatistoma vaillanti (Siluriformes, Pimelodidae), congelada comercializada em Belo Horizonte – MG.* 2002. 31f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

BERAQUET, N. J.; LINDO, M. M. K. Transformações bioquímicas, *post mortem* em pescado. *Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos*, v. 22, n.2, p.169-192, 1985.

BOWERS, J. M.; MUSTAFA, D. J.; SPEARE, G. A. et al. The physiological response of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., to a single experimental challenge with sea lice, *Lepeophtheirus salmonis***.** *Journal of Fish Diseases***,** v. 23, n.3, p. 165-172, 2000.

BRANDÃO, A. L. G. *Potencial de formação de aminas biogênicas em peixes de psicultura*. 1996.65 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001. *Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos*, 2001. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 10 de janeiro de 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Portaria n. 001, de 07/10/1981. Aprova Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físico-químicos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 13 de outubro de 1981. Seção 1, p.19.381.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria da Defesa Agropecuária. Portaria n. 101, de onze de agosto de 1993. Aprova e oficializa métodos analíticos para o controle de produtos de origem animal e seus

derivados. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*. Brasília, DF, de 17 de agosto de 1993. Seção1, p. 11937.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Portaria n. 185, de treze de maio de 1997. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco (Inteiro e Eviscerado). Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 19 de maio de 1997a. Seção 1, p. 10282.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Inspeção de Pescado e Derivados**.** *In: Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal.* Brasília: Ministério da Agricultura. 1997b. 241p.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa n.20. de 21 de julho de 1999. Oficializa os Métodos Analíticos Físico-Químicos, para Controle de Produtos Cárneos e seus Ingredientes - Sal e Salmoura. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 27 de julho de 1999. Seção 1, p. 10.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Inspeção de Produto Animal. Instrução Normativa n. 62 de 26 de agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*. Brasília, DF, 18 de setembro de 2003. Seção 1, p. 14. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/contarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2851>. Acessado em 26/09/2007.

BRESSAN, M. C.; PEREZ, J. R. O. *Tecnologia de Carnes e Pescados* - Lavras: UFLA/ FAEPE. 2001. 225f. (Curso de Pós-Graduação "Lato Sensu" Especialização à Distância. Processamento e Controle de Qualidade em Carne, Leite, Ovos e Pescado).

BROEK van den, M. J. M.; MOSSEL, D. A. A.; MOL, H. Microbiological quality of retail fresh fish fillets in The Netherlands. *International Journal of Food Microbiology*, v.1, n.2, p. 53-61, 1984.

CARVALHO, E. P. Microbiologia de Alimentos - Lavras: UFLA/FAEPE. 2001.128f. (Curso de Pós-Graduação "Lato Sensu" Especialização à Distância. Processamento e Controle de Qualidade em Carne, Leite, Ovos e Pescado).

CARVALHO, M. R. B. Composição e deterioração de pescados. In: SEMANA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AGROPECUÁRIA, 2000, Jaboticabal. *Anais*...Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP – Campos de Jaboticabal/SP, 2000 p. 176.

CASTELL, C. H.; SMITH, B.; DYER, W. J. Simultaneous measurements of Trimethylamine and Dimethylamine in Fish, and Their Use for Estimating Quality of Frozen-Stored Gadoid Fillets. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, v. 31, n.4, p.383-389, 1974.

COMPENDIUM of methods for the microbiological examination of foods. 4.ed. Washington: APHA, 2001. 676p.

DYER, W. J. Amines in fish muscle. I. Calorimetric determinations of trimethylamine as a pecrat salt. *Fisheries Research Board of Canada*, v.6, n. 5, p. 351-358, 1945.

EDIVALDO FILHO, S. A.; SIGARINI, C. O. ; VALENTE, A. M. et al. Presença de microrganismos indicadores de condições higiênicas, e de patógenos em bacalhau saithe (*Pollacius virens*) salgado seco,

comercializado no município de Niterói, Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 11, n. 3, p. 171-173, 2004.

EL-SHERBEENY, M. R.; SADDICK, M. F.; BRYAN, F. L. Microbiological profiles of foods serve by street vendors in Egypt. *International Journal of Food Microbillogy*, v.2, n.6, p.355-364, 1985.

EMMEL, V. E.; INAMINE, E.; SECCHI,C. et al. *Diphyllobothrium latum*: relato de caso no Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.39, n.1, p. 82-84, 2006.

ESCATÍN, E. F.; VITELA, M. R. T. Contaminación Del ceviche de pescado por Salmonella em Guadalajara, Jalisco, México. *Boletin de la Oficina Sanitária Panamericana,* v. 120, n. 3, p. 198-203, 1996.

FAGAN, J. D.; GORMLEY, T. R.; MHUIRCHEARTTAIGH, M. U. Effect of freeze-chilling, in comparison with fresh, chilling and freezing, on some quality parameters of raw whiting, mackerel and salmon portions. *Lebensmittel – wissenschaft & Technologie*, v. 36, p.647-655, 2003.

FIXING the total volatile basic nitrogen (TVB-N) limit values for certain categories of fishery products and specifyind the analysis methods to be used. EU diretiva 95/149/EEC. Comission dicision of 8 march 1995. Disponível em: <http://europa.eu.int/comm/fisheries/doc_et_publ/factsheets/legal_texts/sani_en.htm>. Acesso em: 10/02/2008.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D.C. *Food microbiology*. 4 ed. New York: Mc Graw-Hill, 1988. 494p.

GALLART-JORNET, L.; RUSTAD, T.; BARAT, J. M.; et al. Effect of superchilled storage on the freshness and salting behaviour of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets. *Food Chemistry*, v.103, n.1, p.1268-1281, 2006.

GERMANO, P. M. L.; OLIVEIRA, J. C. F.; GERMANO, M. I. S. O pescado como causa de toxinfecções bacterianas. *Higiene Alimentar*, v.7, n.28, p.40-45, 1993.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S.; OLIVEIRA, C. A. F. Aspectos da qualidade do pescado de relevância em saúde pública. *Higiene Alimentar*, v.12, n.53, p.30-37, 1998.

GILBERT, R. J.; HOBBS, G.; MURRAY, C. K et al. Scombrotoxic fish poisoning: features of the first 50 incidents to be reported in Britain (1976-1979). *British Medical Journal***,** v**.** 281, n.1, p. 71-76, 1980.

GRAM, L. Evaliation of the bacteriological quality of seafood. *International Journal of Food Microbiology.* V. 16, n.1, p. 25-39, 1992.

GRUGER, J. E. H. Chromatographic analyses of volatile amines in marine fish. J*ournal of Agricultural and Food Chemistry,* v.20, n.4, p.781-785, 1972.

HALÁSZ, A.; BARÁTH, A.; SIMON-SARKADI, L.; et al. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends Food Science & Technology*, v. 5, n.2, p. 42-49, 1994.

HUSS, H. H. *Garantia da qualidade dos produtos da pesca.* FDO. 1977.176P. (Documento Técnico sobre pesca n. 344).

JAY, J. M. *Modern food microbiology*. 4. ed. Zaragoza: Acribia 2002. 615 p.

JESUS, R. S.; LESSI, E.; TENUTA, A. F. Estabilidade química e microbiológica de "minced fish" de peixes amazônicos

durante o congelamento. *Ciência e Tecnologia Alimentar,* v. 21, n.1, p.144-148, 2001.

KUAYE, A. Y. *Comparação dos métodos para determinação das bases nitrogenadas voláteis (BNV) em pescado: Parâmetros críticos e modificações*. 1982. 98f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola da Universidade Estadual de Campinas.

LAYING down the health conditions for the production and the placing on the market of fishery produsts. EU diretiva 91/493/EEC. Consil Directive of 22 july 1991. Disponível em: <http://www.eugbc.net/files/52_129_430378_com.3-concildirective91-493-eec-pdf-> Acessado em: 14/04/2009.

LEITÃO, M. F. F. Microbiologia e deterioração do pescado fresco e refrigerado de origem fluvial ou marinha. In: SEMINÁRIO SOBRE CONTROLE DE QUALIDADE NA INDÚSTRIA DE PESCADO. n. 25, 1988, São Paulo. ANAIS... São Paulo: Loyola, 1988, p. 40-58.

LEDERLE, J. *Enciclopédia Moderna de Higiene Alimentar*. São Paulo, Manole Dois, 1991.

LIMA, D. C. Bioquímica do frescor do peixe. *Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos,* n.28, p.75-86, 1971.

LOUGHRAN, M.; DIAMOND, D. Monitoring of volatile bases in fish sample headspace using na acidochromic dye. *Food Chemistry*, v. 69, n. 1, p. 97-103, 2000.

LOVE, R. M. Biochemical dynamics and the quality of fresh and frozen fish. In: HALL, G. M. (Ed). *Fish processing technology*. Glasgow: Blackie Academic & Professional, 1992, p.1-31.

MENDES, M. H. M. *Evolução das bases voláteis totais e da trimetilamina em pescados e o seu uso como indicador de qualidade*.1974.62f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.

MENDES, M. H. M.; LAJOLO, F. M. Evolução das bases voláteis totais e da trimetilamina em pescados e o seu uso como indicador da qualidade. *Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo*, v. 13, n.2, p. 303-322, 1975.

MENEZES, F. G. R.; SILVA, C. M.; CARVALHO, F. C. T.; et al. *Salmonella* e *Staphylococcus* coagulase positiva em sushis e sashimis comercializados na cidade de Fortaleza, Ceará. Disponível em: <FTP://ftp.sp.gov.br/ftppesca/llsimcope/402.pdf.> Acessado em: 29/03/09.

MORGA, A. A. *Avaliação do índice de frescor da pescada-foguete (Macrodon ancylodon), conservada em gelo.* 1975. 80f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas.

NASCIMENTO, L.; NOVAES, C. L. P. Princípios gerais de processamento do pescado. *Informe Agropecuário*, v.10, n.110, p.45-48, 1984.

OETTERER, M. Tecnologia do pescado. Disponível em: <http://esalq.usp.br/departamentos/lan/pdf/tecnologia%20do%20pescado.pdf.> Acessado em 15/04/2007.

OGAWA, M. S.; MAIA, E. L. Manual de Pesca: c*iência e tecnologia do pescado*, São Paulo: Livraria Varela, 1999. v.1, 430p.

OLIVEIRA, J. C.; SALES, R. O. Estudo das Alterações de frescor do pargo, *Lutjanus purpureus* Poey (1867), durante as fases de pré e pós-processamento na indústria. *Ciência Agronômica,* v.19, n.1, p. 153-160, 1988.

ORTEGA, C.; MUZQUIZ, J. L.; DE BLAS, I. et al. Fatores de riesgo em la sanidad de la salmonicultura del noreste de Espana. *Medicina Veterinária*, v. 5, n.5, p. 295-303, 1997.

PAULA, D. T. *Relações entre localização geográfica, perfil sócio-econômico e as condições higiênico-sanitárias dos açougues no município de Belo Horizonte*. 2006. 56 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

PAULO FILHO, S.; SIQUEIRA, S. H. G. Panorama da Pesca Marítima no mundo e no Brasil [200-]. Disponível em: <http://www.bnds.gov.br/conhecimento/bnset/rspesca.pdf >. Acessado em: 10/02/2009.

PAVANELLI, G. C.; EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M. *Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento.* Maringá: Nupelia, 1998, 264p.

PERDIGÃO, D. Envenenamento alimentar: os riscos estão em toda parte. *Cultura Secular*. Disponível em: <http://www.secular.com.br/revista/0503/envenamento.html>. Acessado em: 14/03/2009.

QUASE metade dos peixes consumidos no mundo são de cativeiro. IEA. Disponível em: <http://www.eia.sp.gov.br/out/vertexto.php?codtexto=7210>. Acessado em: 10/02/2009.

RICE, S.; EITENMILLER, R.R.; KOEHLER, P.E. Histamine and tyramine content of meat products. *Journal of Milk and Food Technology*, v. 38, p.256-258, 1975.

RICE, S.; KOEHLER, P.E. Tyrosine and histidine descarboxylase activities of *Pediococcus cerevisiae* and *Lactobacillus* species and the production of tyramine in fermented sausages. *Journal of Milk and Food Technology*, v. 39, n.3, p. 166-169, 1976.

RODRIGUES, C. Blog da autora. Disponível em: <http://celiarodrigues-prisma.blogspot.com/2007/06/salmo.html>. Acessado em: 10/02/2009.

RUIZ-CAPILLAS, C.; MORAL, A. Correlation between biochemical and sensory quality índices in hake stored in ice. *Food Research International*, v. 34, n. 5, p. 441-447, 2001.

SALMÃO made in Brazil. Ita Fish, 2007. Disponível em: <http://www.itafish.com.br/noticia.asp?codigo=280&cod_menu=39>. Acessado em: 27/09/2007.

SANCHEZ, L. *Pescado: matéria-prima e processamento*. Campinas: Fundação Cargil, 1989.61p.

SANTOS, T.M. *Avaliação bacteriológica e físico-química (PH e N-BVT) da carne congelada de piramutaba, Brachyplatistoma vaillanti (Siluriformes, Pimelodidae), comercializada em Belo Horizonte- MG*. 2006.27f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

SANTOS-YAP, E. M. Fish as food. In: JEREMIAH, L. E.(Ed). *Freezing effects on food* . New York*:* Marcel Dekker, 1995 p.109-133.

SCHERER, R.; DANIEL, A. P.; AUGUSTI, P. R. et al. Efeito do gelo clorado sobre parâmetros quívicos e microbiológicos da carne de carpa capim *(Ctenopharyngodon idella). Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 24, n.4, P. 680-684, 2004.

SEQUEIRA-MUNOZ, A; CHEVALIER, D.; SIMPSON, B. K. et al. Effect of pressure-shift freezing versus air-blast freezing of carp (*Cyprinus carpio*) fillets; a storage study. *Journal of Food Biochemistry***,** v. 29, n.5, p. 504-516, 2005.

SIMÕES, A. C.; LOPES, R. G. Pescado: alimento saudável, porém facilmente perecível. 2005. Disponível em: <http://pesca.sp.gov.br/noticia.php?id-not=234>. Acessado em 15/04/2007.

SIQUEIRA, R. S. *Manual de Microbiologia de Alimentos*; Brasília, DF: EMBRAPA. SPI, 1995. p. 39-42.

SIVERTSVIk, J. T.; ROSNES, J. T.; KLEIBERG, G. H. Effect of modified atmosphere packaging and superchilled storage on the microbial and sensory quality of atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets. *Journal of Food Science*, v. 68, n.4, p.1467-1472, 2003.

SOARES, C. M.; GERMANO, P. M. L. Características microbiológicas e físico-químicas do salmão (*Salmo salar*) utilizado em sashimis*. Higiene Alimentar*, v. 19, n. 135, 2005.

SVEINSDOTTIR, K.; MARTINSDOTTIR, E.; HYLDIG, G. et al. Application of Quality Index Method (QIM) scheme in shelf-life study of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of Food Science***,** v. 67, n.4, p.1570-1579, 2002.

TIETJEN, M.; FUNG, D. Y. C. *Salmonella* and food safety. *Critical Reviews in Microbiology*, v. 21, n.1, p. 53-83, 1995.

TORRES, P. Primeiros registros de endohelmintos parasitos em El salmón coho, *Oncorhynchus Kisutch* (Walbaum), introducido em Chile. *Archivos de Medicina Veterinária,* v. 22, n.1, p. 105-107. 1990.

TORRES, P.; CUBILLOS, V.; AEDO, E. et al. Prevalência y aspectos patológicos de La difilobotriasis em salmones de retorno, *Oncorhynchus kisutch*, de Coyhaique, XI Región de Chile, *Archivos de Medicina Veterinária*, v. 27, n.1, p. 107-114, 1995.

TORRES, P.; FRANJOLA, R.; PÉREZ, J. et al. Epidemiologia de la difilobotriasis en La cuenca del rio Valdivia, Chile. *Revista de Saúde Pública*, v. 23, n.1, 1989. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttex&pid=S0034-89101989000100007&Ing=en > Acessado em: 31/01/2009.

VALE, S. R. *Aminas biogênicas em queijos*: metodologia analítica e teores. 1996.72f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

VIEIRA, D. V. M.; MAIA, D. C. C.; JANEBRO, D. I. et al. Influência das condições higiênico-sanitárias no processo de beneficiamento de tilápias (*Oreochromis niloticus*) em filés congelados. *Higiene Alimentar,* v. 14, n. 74, p. 37-40, 2000.

WIKIPÉDIA a enciclopédia livre. Disponível em: <http://pt.wikipedia.org/wiki/salmonella >. Acessado em: 06/04/2009.

YEARBOOK of fishery statistcs. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2001. Disponível em: <www.fao.org/fishery/statistics/programme

/publications/all/en > Acessado em:
27/01/2009.

9. ANEXOS

Anexo 1: Roteiro de vistoria aplicado nos comércios varejistas, no momento da coleta do salmão (*Salmo salar*).

Características		+	++	+++
1 – Superfície do corpo limpa, brilho metálico?	( )sim( )não			
2 – Olhos transparentes, brilhantes e salientes, ocupando toda a órbita?	( )sim( )não			
3 – Guelras róseas ou vermelhas, úmidas e brilhantes?	( )sim( )não			
4 – Odor guelras (próprio,suave, natural)?	( )sim( )não			
5 – Escamas brilhantes, bem aderidas à pele?	( )sim( )não			
6 – Nadadeiras apresentam certa resistência aos movimentos provocados?	( )sim( )não			
7 – Carne firme, elástica, de cor própria à espécie?	( )sim( )não			
8 – Cheiro específico?	( )sim( )não			

Anexo 2. Características sensoriais e intensidades (1+, 2+ e 3+), na inspeção sensorial.