

Thiago Moreira dos Santos

**Avaliação Bacteriológica e Físico-Química (pH e N-BVT) da Carne de Piramutaba,
Brachyplatistoma vaillantii (Siluriformes, Pimelodidae), Congelada Comercializada
em Belo Horizonte – MG.**

Dissertação apresentada à Escola de
Veterinária da Universidade Federal de Minas
Gerais, como requisito parcial para obtenção
de grau de Mestre em Medicina Veterinária
Área: Tecnologia e Inspeção de Produtos de
Origem Animal
Orientador: Prof. Renaldo Travassos Martins

Belo Horizonte
Escola de Veterinária - UFMG
2006

DEDICATÓRIA

A Deus e a meus pais, Wagner e Sônia, por minha formação humana, repleta de educação, amor e princípios, e pelo apoio, dedicação, paciência e estímulo durante o curso.

AGRADECIMENTOS

À minha família pelo carinho e incentivo durante essa caminhada, sem os quais seria tão difícil seguir com confiança no caminho certo.

À Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, pela formação profissional de primeira qualidade, com consciência humana e social, fundamentais hoje em dia.

Ao Departamento de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal, na pessoa do Prof. Dr. Renaldo Travassos Martins, pela infra-estrutura disponibilizada para a realização deste trabalho.

Ao meu orientador e amigo Prof. Renaldo, pela confiança, disponibilidade, dedicação e incentivo primordiais na realização deste trabalho.

À Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais (CETEC), na pessoa do Sr. Lincoln Cambraia Teixeira, que permitiu a realização do experimento disponibilizando o Laboratório de Físico-química de Alimentos.

Aos professores do DTIPOA-EV pelos ensinamentos técnico-científicos e morais, assim como pela agradável convivência durante todo o curso.

Ao professor João Paulo Amaral Haddad pela orientação no delineamento estatístico do projeto e profissionalismo.

A todos os funcionários e amigos do DTIPOA-EV pelo apoio e companheirismo, especialmente ao Milinho, Fatinha, Maura, Marco Antônio e Valéria. Agradeço também à Andréia por todo o esforço e alegria do dia a dia.

Ao amigo, companheiro, co-autor e colaborador Nelson Éder Martins, pela paciência, apoio, dedicação, profissionalismo, ensinamentos, disponibilidade e amizade essenciais na minha formação.

À Dra. Maria Crisolita Cabral da Silva (FUNED) e toda sua equipe, pela minha recepção em seu laboratório, possibilitando um enorme aprendizado nas técnicas microbiológicas desenvolvidas no projeto.

À minha namorada Luciana e toda sua família, pela confiança, incentivo, carinho e orações, principalmente na reta final. Muito obrigado mesmo.

Aos amigos do Mestrado da Escola de Veterinária, Marcelo Wendling, Patrícia Barros, Paula Garcia, Ingrid Chiarelli, Debora Santiago, Cecília Muller, Ricardo Mazon, Nadia Peres e Héber Brenner. Obrigado pela convivência, momentos de descontração, aprendizado e apoio.

Aos funcionários da EV/UFMG, em especial a Júnia Pacheco e André Almeida, Eliane e Nilda, e Rosilene pelo apoio e profissionalismo. Também ao pessoal do Xérox, Cleyton e Wagner, pelo convívio e presteza com que sempre me atenderam.

Aos amigos de sempre que acompanharam desde o início minhas dificuldades e alegrias, com apoio e companheirismo fundamentais para seguir em frente. Cada um sabe a participação que teve.

Aos estabelecimentos fornecedores da piramutaba analisada, pela recepção, disponibilidade, profissionalismo e apoio para a realização das coletas.

SUMÁRIO

RESUMO	06
1. INTRODUÇÃO	07
2. REVISÃO DE LITERATURA	08
2.1 A pesca no Brasil.....	08
2.2 A pesca da Piramutaba.....	09
2.3 Deterioração do Pescado.....	10
2.4 Bactérias Patogênicas.....	12
3. OBJETIVOS	13
4. HIPÓTESES	13
5. MATERIAL E MÉTODOS	13
5.1 Amostragem.....	13
5.2 Inspeção Visual.....	13
5.3 Análises Bacteriológicas.....	14
5.3.1 Pesquisa de <i>Salmonella</i>	14
5.3.2 Contagem de <i>Staphylococcus aureus</i>	14
5.3.3 Contagem de Microrganismos Aeróbios Psicrotróficos.....	15
5.4 Análises Físico-químicas.....	15
5.4.1 Determinação do pH.....	15
5.4.2 Determinação das Bases Voláteis Totais (BVT).....	16
5.5 Delineamento Experimental.....	16
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
6.1 Inspeção Visual.....	16
6.2 Análises Físico-químicas.....	18
6.2.1 Análises Bacteriológicas.....	20
7. CONCLUSÕES	24
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS	24
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Produção Brasileira de pescado, por Regiões, no ano de 2004.....	09
Tabela 2 - Valores médios de pH e Nitrogênio das Bases Voláteis Totais (N-BVT) da carne de Piramutaba (<i>Brachyplatistoma vaillantii</i>), obtidos entre os distribuidores A e D.....	18
Tabela 3 - Valores de N-BVT, em mg / 100g, encontrados em amostras de Piramutaba (<i>Brachyplatistoma vaillantii</i>), provenientes dos Distribuidores A e D de 10 partidas analisadas.....	19
Tabela 4 - Valores médios de pH encontrados em amostras de Piramutaba (<i>Brachyplatistoma vaillantii</i>), provenientes dos Distribuidores A e D de 10 partidas analisadas.....	20
Tabela 5 - Distribuição da contagem de microrganismos aeróbios psicrotróficos em amostras de Piramutaba (<i>Brachyplatistoma vaillantii</i>), nas 10 partidas analisadas dos distribuidores A e D.....	21
Tabela 6 - Valores das contagens de bactérias heterotróficas aeróbias psicrotróficas e os valores de pH encontrados para a mesma amostra de Piramutaba (<i>Brachyplatistoma vaillantii</i>).....	21

Tabela 7 - Contagem de <i>Staphylococcus aureus</i> e teste da coagulase para as 10 partidas analisadas de Piramutaba (<i>Brachyplatistoma vaillantii</i>).....	23
---	----

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Porcentagem de alterações relacionadas às características sensoriais da carne de Piramutaba (<i>Brachyplatistoma vaillantii</i>), comercializada pelos distribuidores A e D após descongelada.....	16
Gráfico 2 - Porcentagem de alterações relacionadas ao atributo “Pele” da carne de Piramutaba (<i>Brachyplatistoma vaillantii</i>), comercializada pelos distribuidores A e D, após descongelamento.....	17
Gráfico 3 - Porcentagem de alterações relacionadas ao atributo “Evisceração” da carne de Piramutaba (<i>Brachyplatistoma vaillantii</i>), comercializada pelos distribuidores A e D, após descongelamento.....	18

RESUMO

O pescado representa uma das mais importantes fontes protéicas de origem animal para a alimentação humana, com alta digestibilidade, teores satisfatórios em gorduras insaturadas, vitaminas e minerais. Dentre os produtos de origem animal, o pescado é um dos mais susceptíveis ao processo de deterioração, devido às suas características intrínsecas e a rápida ação destrutiva das enzimas presentes nos tecidos e nas vísceras do peixe. O objetivo deste trabalho foi realizar uma inspeção e avaliação da qualidade microbiológica e físico-química da Piramutaba (*Brachyplatistoma vaillantii*) – congelada, eviscerada e sem cabeça –, através de análises oficialmente empregadas pelo Serviço de Inspeção de Produtos de Origem Animal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – SIPA / MAPA. Para isso foram adquiridas 20 amostras dos dois principais distribuidores da região metropolitana de Belo Horizonte – MG. Cada amostra é representada pelo “pool” de três peixes. As características sensoriais observadas foram pele, evisceração, consistência, cor e odor. Os resultados não diferiram estatisticamente entre os distribuidores ($p < 0,05$), apesar de que os atributos Sangue e Brânquias estiveram bem próximos de apresentarem diferenças. Nos testes físico-químicos, as Bases Voláteis Totais (N-BVT) apresentaram diferenças, tendo o distribuidor D maiores valores ($p < 0,05$), mas ambos distribuidores estiveram dentro do limite exigido pela legislação para esse parâmetro. Os valores de pH não diferiram estatisticamente, mas apresentaram-se (90%), em ambos distribuidores, fora dos padrões legais. As análises microbiológicas somente revelaram presença de *Salmonella* e Estafilococos coagulase positiva em amostras do distribuidor A, sendo 10% impróprias para consumo, confirmando sua baixa frequência em pescado.

Palavras-chave: Piramutaba, Qualidade, Bacteriologia, Físico-química, Características sensoriais

ABSTRACTS

The fish represents one of the most important sources of protein of animal origin for human nourishment. It has high digestibility, satisfactory levels of unsaturated fat, vitamins and minerals. Among of the animal origin products, the fish is one of the most susceptible to the spoilage process, due to intrinsic characteristics and quickly destructive action of enzymes in tissues and viscera of fish. The objective of this paper was to accomplish an inspection and make a microbiological and physic-chemical quality evaluation of Piramutaba (*Brachyplatistoma vaillantii*) – frozen, eviscerated and without head –, through official methodology used by the Animal Origin Products Inspection Service of the Cattle Agriculture and Provisioning Ministry – SIPA/MAPA. To do so were acquired 20 samples of the two main distributors of Belo Horizonte – MG Metropolitan area. Each sample is represented by a pool of three fishes. The sensory characteristics watched were skin, eviscerated, texture, color and odor. The results do not differed statistically between the distributors ($P < 0,05$), although the Blood and Gills were close to be different. In physic-chemical tests, the Total Volatile Basic Nitrogen (TVB-N) was different and the D distributor has had the higher values although all of them were considered inside those required by law. The pH values do not differed statistically between them, but they were outside the law requirements. The microbiological analysis revealed presence of *Salmonella* and coagulate positive Staphylococci only in distributor A, where 10% of the samples were positive, confirming the low incidence of these pathogens in fish.

Keywords: Piramutaba, Quality, Bacteriology, Physic-chemical, Sensorial characteristics

1 - INTRODUÇÃO

Entende-se por Pescado tudo aquilo que pode ser retirado de águas oceânicas ou interiores e que possa servir para alimentar o homem ou os animais. É um termo genérico, envolvendo peixes, crustáceos, moluscos, algas, etc. (Barros, 2003). O Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) define: peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios, quelônios e mamíferos de água doce ou salgada, usados na alimentação humana (Brasil, 1997).

O pescado representa uma das mais importantes fontes protéicas de origem animal para a alimentação humana, com alta digestibilidade, teores satisfatórios em gorduras insaturadas, vitaminas e minerais. Em muitos países, principalmente da Europa e da Ásia, é a proteína de origem animal mais consumida (Leitão, 1984; Germano et al., 1998).

O consumo anual brasileiro de pescado é, em média, 8,0kg *per capita*. Entre as justificativas para o baixo consumo está a comercialização em locais inadequados, o suprimento irregular, a suspeita de más condições higiênicas do produto e o elevado custo do produto no mercado (Andrade, 1989). O consumo *per capita* anual de peixe na grande Belo Horizonte é de 4 kg, e no interior do Estado apenas 200g (Piscicultura, 2000). Estes mesmos dados mostram que a riqueza hídrica de Minas Gerais não tem sido devidamente aproveitada para a piscicultura. A prática constante e indiscriminada da pesca juntamente com o desmatamento das margens e poluição das águas têm sido apontados como causas da redução do potencial do Estado em piscicultura.

A Piramutaba situa-se entre os peixes mais consumidos na região metropolitana de Belo Horizonte, devido ao seu suave sabor, preço acessível e grande aceitação, principalmente

em bares da cidade, por possuir somente a espinha central, sendo assim de fácil consumo. Ela é conhecida popularmente como “cascudo”, que nada mais é que a Piramutaba de menor tamanho e desprovida da pele. Nacionalmente ela é conhecida por ser o peixe de água doce mais pescado do país, sendo encontrada na região Norte nos rios Amazonas e Solimões, sendo mais pescada no estado do Pará.

Dentre os produtos de origem animal, o pescado é um dos mais susceptíveis ao processo de deterioração, devido a suas características intrínsecas como pH próximo à neutralidade, elevada atividade de água nos tecidos, alto teor de nutrientes facilmente utilizáveis pelos microrganismos, acentuado teor de fosfolipídios e rápida ação destrutiva das enzimas presentes nos tecidos e nas vísceras do peixe (Bressan e Perez, 2000).

A microbiota natural do pescado apresenta características peculiares e é influenciada pela natureza do ambiente aquático, onde a temperatura é um dos fatores seletivos. O muco que recobre a superfície externa do peixe e brânquias, contém bactérias dos gêneros *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Bacillus*, *Clostridium* e *Escherichia* (Germano et.al., 1993) Estes e outros microrganismos, como os patogênicos, podem estar presentes no pescado principalmente devido à sua extensa cadeia produtiva – beneficiamento, conservação, distribuição, transporte, armazenamento – até alcançar o consumidor final, comprometendo a qualidade do produto disponível.

Sendo assim, os serviços oficiais de inspeção sanitária são extremamente importantes para garantir a qualidade e a inocuidade dos produtos de origem animal para o consumo humano, desempenhando relevante papel no contexto econômico e de saúde pública no

Brasil (São Clemente, 1993). O Serviço de Inspeção Federal (SIF) realiza esse controle nas indústrias brasileiras credenciadas para exportação de seus produtos, e exige a implantação de um plano de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), como um dos pré-requisitos para essa exportação. Esse plano surgiu devido aos tempos atuais de economia e mercados globalizados, onde há a necessidade de elevar a competitividade das empresas, mediante o aperfeiçoamento dos processos produtivos, redução dos custos de produção e melhoria da qualidade e segurança dos produtos (Sebrae, 2000 citado por Rapini, 2004).

No processo de transformação do músculo em carne, o desenvolvimento do *rigor-mortis* é acompanhado pela degradação do adenosina-trifosfato (ATP) e produção de ácido láctico durante a glicólise anaeróbica, com concomitante queda do pH. Essa degradação facilita a invasão e o desenvolvimento bacteriano, promovendo o amolecimento da carne, produzindo mudanças indesejáveis de textura. O desenvolvimento bacteriano é um dos principais fatores que levam a deterioração dos pescados. A grande maioria das bactérias apresenta atividades proteolíticas e lipolíticas, contribuindo para a desintegração dos tecidos, levando a uma série de reações bioquímicas indesejáveis com subsequente formação e acúmulo de substâncias de odor desagradável, repugnantes e tóxicas (Carvalho, 2000).

Na avaliação do frescor ou da qualidade do pescado, vários testes ou métodos são utilizados, os quais poderiam ser assim caracterizados de acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA):

- Testes sensoriais, baseados no exame externo do pescado envolvendo aspectos como brilho e

transparência dos olhos, aparência da pele, coloração da carne, aroma, grau de amolecimento dos tecidos e observação das vísceras (Brasil, 1997);

- Testes físico-químicos em que se procuram quantificar a formação de compostos de degradação, resultantes do desenvolvimento bacteriano ou de processos autolíticos e oxidativos, 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 (Métodos, 1981);
- Exames microbiológicos, baseado no fato de que o processo de deterioração do pescado decorre muitas vezes do desenvolvimento bacteriano superficial, tornando necessárias a efetivação de contagens microbianas e a adoção de limites máximos de contaminação como uma maneira de distinguir pescados de boa ou má qualidade.

Baseado nesses aspectos, o objetivo deste trabalho foi realizar uma avaliação da qualidade bacteriológica e físico-química da Piramutaba (*Brachyplatistoma vaillantii*), comercializada na região Metropolitana de Belo Horizonte, considerada um dos peixes de maior consumo, por meio de análises oficialmente empregadas pelo Serviço de Inspeção de Pescado e Derivados (SEPES) – Serviço de Inspeção de Produtos de Origem Animal (SIPA) / MAPA.

2 – REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A Pesca no Brasil

A pesca situa-se entre as quatro maiores fontes de proteína animal para o consumo humano no Brasil. As últimas estimativas

indicam que esta atividade é responsável pela geração de 800 mil empregos diretos, sem falar no fato de que o parque industrial é composto por cerca de 300 empresas relacionadas à captura e ao processamento. Contudo deve considerar-se também, o aspecto da geração de empregos e fonte de alimentos para um contingente de brasileiros que vivem no litoral do país e áreas ribeirinhas – onde, na verdade, a atividade absorve mão-de-obra de pouca ou nenhuma qualificação, chegando a ser, em alguns casos, a única oportunidade de emprego para certos grupos de indivíduos –. Esses fatos demonstram a importância dessa atividade nos aspectos econômicos, sociais e culturais da sociedade brasileira (Perspectivas, 2002).

No Brasil coexistem quatro tipos básicos de pesca: 1) pesca amadora; 2) pesca de subsistência; 3) pesca artesanal ou de pequena escala e 4) pesca empresarial/industrial. A pesca amadora apresenta características de lazer, desporto ou turismo, sendo que o produto não pode ser comercializado e/ou industrializado. Já a de subsistência não tem por finalidade a comercialização, e sim a obtenção do alimento, sendo praticada com técnicas rudimentares. A pesca artesanal associa as

capturas de objetivo comercial e para a obtenção de alimento para as famílias dos participantes. Pode também ser alternativa sazonal dos participantes, variando entre a agricultura e a pesca, sendo parte de um processo de trabalho baseado na unidade familiar ou grupo de vizinhança. E por último, a pesca empresarial/industrial baseia-se na atuação de empresas que possuem sua própria frota de barcos e contratando a mão-de-obra especializada podendo englobar as fases de captura, beneficiamento e comercialização (Perspectivas, 2002).

A produção brasileira de pescado, para o ano de 2004, foi de 1.015.914 toneladas. Deste total, 746.216,5 toneladas advêm da pesca extrativa, sendo que os recursos continentais representam 32,97%. A pesca artesanal teria sido responsável por 49,0% da produção total, enquanto a pesca empresarial (industrial) por 23,7% e a aquicultura por 26,5%. A Tabela 1 indica as principais regiões do Brasil produtoras de pescado. Destaque para a Região Norte, onde o Pará (153.806,0 t) e o Amazonas (64.470,5t) são os maiores estados produtores (Estatística, 2004).

Tabela 1 – Produção Brasileira de pescado, por Regiões, no ano de 2004.

<i>REGIÕES</i>	<i>PRODUÇÃO (TON.)</i>	<i>PORCENTAGEM</i>
Norte	252.361,0	24,84
Nordeste	323.269,5	31,82
Sul	234.564,0	23,08
Sudeste	161.437,5	15,89
Centro-Oeste	44.282,0	4,35
TOTAL	1.015.914,0	100%

FONTE: ESTATÍSTICA, 2004

2.2 – A pesca da Piramutaba

A Piramutaba (*Brachyplatistoma vaillantii*) é um peixe de água doce, da Ordem dos Siluriformes, Família Pimelodidae, espécie

demersal, sendo capturada ao longo da calha do rio Solimões/Amazonas e mais largamente distribuída no período chuvoso. É muito bem aceita devido ao seu sabor agradável e de bom rendimento industrial, sendo destinada

tanto para consumo interno, quanto para exportação. Em 100g de Piramutaba, têm-se 88 Kcal, 18,8g de proteína, 0,9g de lipídios, 0,45g de cálcio e 0,18g de fósforo (Franco, 1999).

A Piramutaba é a única espécie de água doce pescada em escala industrial. Sua captura é realizada por cerca de 60 barcos, pertencentes a seis empresas de pesca, que utilizam o arrasto de parelha (Pinheiro e Frédou, 2004). Com o objetivo de controlar sua pesca, a Instrução Normativa nº 6 do Ministério do Meio Ambiente de 07 de junho de 2004 determina o período de defeso de dois meses e meio para a espécie, de 15 de setembro a 30 de novembro, além de determinar a quantidade de embarcações, tipo de pesca e rede utilizadas (Brasil, 2004).

De acordo com Barthem (2003) a Piramutaba é encontrada, principalmente, na foz Amazônica, no baixo Amazonas e na baía de Marajó. A Piramutaba começou a ser pescada pela frota industrial em 1971, os desembarques atingiram um ápice de 22.468 t em 1977, diminuindo paulatinamente para um mínimo de 6.299 t em 1992. Segundo Ogawa & Maia (1999) houve redução da frota piramutabeira em virtude da sobrepesca, queda do mercado internacional e incentivos à pesca do camarão, além das já citadas ações governamentais para o controle de sua pesca. Os últimos dados disponíveis apontam uma fase de recuperação do recurso, representado pelos dados de 2003 e 2004 com 19.968 t e 22.547 t respectivamente.

2.3 – Deterioração do Pescado

Pescado fresco é o produto obtido de espécimes saudáveis e de qualidade adequada ao consumo humano, convenientemente processado e conservado somente pelo resfriamento a uma temperatura próxima a do ponto de fusão do gelo (Brasil, 1997a). O

peixe fresco deve apresentar as seguintes características: escamas brilhantes bem aderentes à pele e nadadeiras com certa resistência aos movimentos; carne firme e de consistência elástica; coloração própria à espécie; vísceras íntegras perfeitamente diferenciadas; musculatura da parede abdominal não deve apresentar autólise; odor específico, lembrando o de plantas marinhas; superfície do corpo limpa, com relativo brilho metálico; olhos transparentes, brilhantes e salientes, ocupando completamente as órbitas; brânquias róseas ou vermelhas, úmidas e brilhantes; ventre roliço e firme, não deixando impressão duradoura à pressão dos dedos; e ânus fechado (Brasil, 1997b).

A qualidade do pescado deve ser entendida como um conjunto de propriedades, características e atributos, que atenda às exigências do mercado e do consumidor, mesmo que inconscientemente neste último (Barros, 2003). Assim a qualidade de um pescado deve abordar desde sua composição intrínseca e grau de deterioração, passando pelas etapas de elaboração, armazenamento, distribuição e venda, até as propriedades sensoriais que irão fazer com que o consumidor tenha o prazer de comer um peixe de boa qualidade.

Essa qualidade pode estar comprometida já no momento de sua captura, devido ao método utilizado e, também, ao manejo inadequado a bordo. Aliás, esses dois fatores são de fundamental importância para a futura conservação do pescado. O primeiro por ter uma grande influência com relação ao intervalo de tempo necessário para que o *rigor mortis* se instale e o segundo por evitar e/ou retardar alterações autolíticas e microbianas do pescado.

Como o pescado é uma das matérias primas alimentares mais perecíveis devido às suas características – pouco tecido conjuntivo,

alta atividade de água, elevado teor de gorduras insaturadas e de nutrientes disponíveis – há que se tomarem certos cuidados relativos à sua manipulação, abrangendo toda a cadeia produtiva. Segundo Barros (2003), o peixe passa por três fases desde a sua captura até a putrefação: *pré-rigor mortis*, *rigor mortis* e *pós-rigor mortis*. O *pré-rigor* caracteriza-se pela glicólise anaeróbica, que se caracteriza pela formação de ácido láctico e conseqüente abaixamento do pH do músculo. Além disso, ocorre degradação do ATP por desfosforilação e desaminação levando a fusão da actina e da miosina, o complexo acto-miosina, estabelecendo assim o rigor mortis. O valor final do pH do músculo em peixes de carne vermelha cai para valores em torno de 5,6 a 5,8, e em peixes de carne branca e pelágicos o limite inferior chega a 6,0-6,2.

Segundo Ogawa & Maia (1999), há grande diferença entre as diversas espécies de peixes no que se refere à quantidade de glicogênio muscular. As condições de captura, partes do corpo (maior tendência de aumento do conteúdo no sentido da cabeça para a cauda) e se o peixe é migrante ou demersal (onde há influência da relação locomoção/conteúdo glicogênio).

O *rigor mortis* ocorre após a decomposição do ATP, produzindo-se ADP (adenosina difosfato), acompanhada da desfosforilação de creatina-fosfato (CP) cujo fósforo inorgânico é utilizado para a regeneração do ATP. Quando não há mais CP disponível, essa degradação do ATP ocorre de forma irreversível. Esse gasto do ATP ocasiona o enrijecimento muscular devido à formação do complexo actina-miosina. Outra característica dessa fase é a desoxigenação da hemoglobina, evidenciada pelo escurecimento das brânquias e aglutinação das franjas branquiais (Barros, 2003).

Com o objetivo de aumentar o tempo de instalação do *rigor mortis*, vários métodos são empregados no momento da despesca e do abate para garantir um maior prazo de vida comercial. Dentre esses métodos valem salientar as práticas higiênico-sanitárias da embarcação pesqueira, água e gelo de boa qualidade e suficientes para todos os processos sanitários a bordo, isolamento térmico adequado dos porões, método adequado para a captura da espécie desejada, evisceração imediata e retirada da cabeça e guelras a bordo, lavagem com água clorada (50 ppm) e a estocagem em gelo até a chegada ao porto (Vieira et. al, 2003).

Diversos autores (Vieira et. al, 2003, Guimarães, 2000, Ogawa & Maia, 1999 e Mayer & Ward, 1991) destacam a importância da refrigeração e do congelamento no incremento do período de vida útil dos pescados, permitindo que produtos frescos – de elevada qualidade sensorial – estejam disponíveis em locais distantes dos de captura. Além disso, sabe-se que fatores como produção de histamina, principalmente em peixes da família Scombridae – cavala, bonito, atum – e Lutjanidae – guaiúba e pargo – e o aparecimento de “black spot” (mancha negra) em camarões são inibidos pela rápida adoção do frio logo após a captura, aumentando a qualidade higiênico-sanitária e tecnológica desse pescado.

O *pós-rigor* caracteriza-se pela decomposição de aminoácidos, ocorrendo o desdobramento do ATP e formação de amônia a partir da uréia. Essa reação é chamada de autólise, e deve-se a ação de proteases próprias do músculo (catepsinas e calpaínas) e a ação de exopeptidases de origem microbiana, devido principalmente ao fato de o abaixamento do pH nos pescados não ser suficiente para inibir o desenvolvimento de microrganismos proteolíticos (Barros, 2003, Beato, 2002 e

Ogawa & Maia, 1999). Dentre estes se destacam *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, e *Bacillus*. Dessas reações, a amônia é a base volátil mais representativa, sendo mensurada pela análise do N-BVT. Dessa forma constitui-se no índice químico utilizado para estimar o grau de frescor da maioria das espécies de pescado, sendo o limite estabelecido de 30mgN/100g de pescado. Esse valor é adotado pelos órgãos oficiais de inspeção de países como Alemanha, Argentina, Austrália e Brasil (Beraquet & Lindo, 1985).

2.4 – Bactérias Patogênicas

Além dos deterioradores, o pescado pode constituir importante veiculador de microrganismos patogênicos ao ser humano, responsáveis por diversas enfermidades. Sabe-se também que a contaminação por manipulação e processamento inadequados ou mesmo utilização de equipamentos e utensílios contaminados são fatores importantes para a presença dessas bactérias no pescado (Muratori, 2000).

Dentre os agentes potencialmente patogênicos, associados ao consumo de carne de peixe, estão a *Salmonella* e o *Staphylococcus aureus*. Ambos são decorrentes de fatores externos ao pescado, provenientes também da contaminação das águas das bacias pesqueiras pelas descargas de efluentes de esgotos (Germano et al., 1993).

O gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae*, apresenta-se como bastonetes curtos, Gram negativo, fermentadores, não esporulados, na maioria móvel por flagelos peritríquios (exceto *S. gallinarum* e *S. pullorum*), de metabolismo aeróbio ou facultativamente anaeróbio. A temperatura ideal situa-se na faixa de 35 a 37 °C, sendo a mínima de 5 °C e a máxima de 47 °C. O pH ótimo para seu

desenvolvimento fica próximo de 7,0 e valores superiores a 9,0 e inferiores a 4,0 são bactericidas e, com relação à concentração de sal, não toleram concentrações superiores a 9% (Jay, 2002).

Alguns autores têm relatado a importância da *Salmonella* nas Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), especificamente nos pescados. Vieira (2003) cita autores relatando que no Japão, onde é muito comum pratos a base de frutos do mar crus, 70% das DTA que ocorrem nos meses de verão originam-se de produtos da pesca. Mohamed Hatha & Lakshmanaperumaisamy (1997) encontraram *Salmonella* em 14,25% das amostras de peixes e 17,39% nas de crustáceos em mercados de peixes em Coimbatore, Sul da Índia.

O *Staphylococcus aureus* pertence à família *Micrococcaceae*, sendo cocos Gram positivo, imóveis, oxidase negativo e catalase positivo, utilizando uma variedade de carboidratos para obtenção de energia. Seu crescimento ocorre sob condições de aerobiose e são também anaeróbios facultativos. O gênero é mesófilo típico, com uma temperatura ótima de crescimento de 35 °C, podendo crescer também entre 7 e 48 °C (Jay, 2002).

Com relação à resistência térmica, os *Staphylococcus aureus* são inativados em temperaturas superiores a 60 °C por 3 minutos, e a estocagem sob temperaturas muito baixas por períodos de tempo prolongados pode reduzir o número de microrganismos viáveis. É capaz de crescer bem em concentrações de 7-10% de NaCl, existindo cepas que se desenvolvem em até 20%. Seu pH ótimo encontra-se entre 6 e 7, mas ele consegue se reproduzir na faixa de 4,0 a 9,8 (Jay, 2002).

No Brasil trabalhos indicam a presença desse patógeno em pescados. Ayulo et al (1994) isolaram *S. aureus* em pescados na região

Sul, principalmente em mexilhões e carne de caranguejo. Vieira et al (1998) isolaram *Staphylococcus aureus* em camarões frescos na feira livre de pescado do Mucuripe, Fortaleza – CE.

A legislação brasileira estabelece os padrões microbiológicos vigentes para cada tipo de alimento. No caso da *Salmonella*, o padrão para pescados crus congelados é de ausência em 25 g do produto. Para o Estafilococos coagulase positiva, em um plano de três classes o limite “m”, que separa o lote aceitável do de qualidade intermediária, é de 5×10^2 , e o limite “M”, que separa o lote de qualidade intermediária aceitável do inaceitável, é de 10^3 (Brasil, 2001).

3 – OBJETIVOS:

Diante do exposto o presente estudo objetivou:

- Avaliar o perfil da qualidade higiênico-sanitária da piramutaba.
- Avaliar o nível de conservação da piramutaba através de análises físico-químicas como pH e Nitrogênio Básico Volátil Total.
- Avaliar o efeito da microbiota psicrotrófica na deterioração da piramutaba.
- Avaliar se há presença de *Salmonella spp* e Estafilococos coagulase positiva na carne de Piramutaba congelada.

4 – HIPÓTESES:

- A microbiota psicrotrófica pode interferir diretamente na qualidade do pescado, através dos processos de deterioração.
- A carne de Piramutaba congelada comercializada em Belo Horizonte poderia conter microrganismos patogênicos e ter seu estado de frescor alterado.

5 – MATERIAL E MÉTODOS:

5.1 – Amostragem

Foram coletadas um total de 20 amostras de Piramutaba, com pele, eviscerada, sem cabeça, congelada e conservada a -18°C provenientes de dois distribuidores da região Metropolitana de Belo Horizonte – MG, no período de junho a novembro de 2005. Devido às características de fornecimento irregular de outros distribuidores é que se optou por utilizar somente dois estabelecimentos. Essas amostras foram acondicionadas em caixa isotérmicas e, transportadas imediatamente ao Laboratório de Bactérias Lácticas no Departamento de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal / DTIPOA, da Escola de Veterinária da UFMG.

Estas amostras foram mantidas congeladas até o momento de sua utilização, quando então foram descongeladas sob refrigeração, a temperatura aproximadamente de 8°C por, no máximo, 18 horas (Brasil, 2003). As análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Físico-química de Alimentos da Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais (CETEC).

As amostras foram devidamente identificadas quanto ao distribuidor (A e D), fornecedor e número da partida. Ao todo foram adquiridos 60 peixes, provenientes de 10 partidas distintas por distribuidor, sendo três peixes por partida de cada distribuidor. A unidade amostral é representada pelo “pool” desses três peixes de cada partida. Sendo assim, antes de cada análise, realizou-se a retirada da mesma quantidade de cada peixe para determinado procedimento, em saco tipo “stomacher” esterilizado, procedendo-se a sua homogeneização e, a partir daí, obteve-se a unidade amostral.

5.2 – Inspeção Visual

O pescado descongelado foi submetido a uma inspeção onde foram avaliadas, macroscopicamente, as características sensoriais para peixes frescos resfriado e congelado. Os atributos julgados nesta avaliação foram a aparência da pele, evisceração, cor, odor e consistência da carne, sendo considerados normais ou alterados de acordo com as características próprias à espécie, respeitando-se as normas de inspeção utilizadas pelo 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).

5.3 – Análises Bacteriológicas

Foram retiradas assepticamente amostras de 25g de cada um dos três peixes por partida e colocadas em sacos tipo “stomacher”, homogeneizando-as, obtendo-se assim um “pool” da amostra. A partir deste, retirou-se 25g para a realização de cada análise microbiológica. Essa amostra era composta por superfícies externas (pele e nadadeiras) e por musculatura. A pesquisa de *Salmonella* sp, a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva e a pesquisa de microrganismos psicrófilos seguiram a metodologia recomendada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil, 2003 e Métodos, 1981).

5.3.1 – Pesquisa de *Salmonella* spp

Aos sacos tipo “stomacher” contendo 25g da amostra, adicionou-se 225mL de água peptonada tamponada a 1% e procedeu-se à homogeneização em equipamento tipo Stomacher®, por 60 segundos, em velocidade média. A seguir, foram transferidas para frascos esterilizados e incubadas a temperatura de $36 \pm 1^\circ\text{C}$ / 20

horas. Esta etapa é caracterizada como a fase de Pré-enriquecimento.

Para o enriquecimento seletivo foram retiradas alíquotas de 1,0 mL dos frascos de pré-enriquecimento e colocados em tubos de ensaio contendo 10,0 mL de caldo selenito-cistina e alíquotas de 0,1mL para tubos contendo 10,0 mL caldo Rappaport-Vassiliadis. Essas amostras foram incubadas, em banho maria, à temperatura de $41 \pm 0,5^\circ\text{C}$, por 24 horas.

Após a incubação procedeu-se a técnica de isolamento repicando sobre a superfície previamente seca de placas contendo meios sólidos seletivos, estriando de forma a se obter colônias isoladas. Os meios utilizados foram: o Ágar Verde Brilhante vermelho de fenol lactose sacarose (BPLS) e o Agar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD). De cada tubo do enriquecimento seletivo obtiveram-se duas placas para isolamento (uma para cada ágar utilizado). Todas as placas foram incubadas invertidas, a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 18 a 24 horas.

Na etapa de seleção foram selecionadas colônias típicas ou suspeitas de serem *Salmonella* spp. nos diferentes meios sólidos. Essas colônias foram utilizadas para triagem bioquímica, empregando-se o meio Ágar Rugai modificado, em tubos, (Pessoa & Silva, 1972) e incubando-os à temperatura 37°C / 24 horas. Consideraram-se *Salmonella* as bactérias que apresentavam os seguintes resultados bioquímicos nesta prova: indol, triptofano desaminase, uréia e sacarose negativos, assim como lisina, glicose com gás, H_2S e motilidade positivos. A etapa seguinte foi a confirmação sorológica por meio de antissoros polivalentes “O”.

5.3.2 – Contagem de *Staphylococcus aureus*

Tomou-se 25g da amostra em saco tipo “stomacher”, ao qual se adicionou 225 mL de

solução salina peptonada 0,1% homogeneizando-as em equipamento tipo Stomacher® por 60 segundos, obtendo-se assim a diluição 10^{-1} (solução inicial). Dessa solução foram feitas diluições seriadas até 10^{-4} , baseadas nos limites legais previstos pelo Ministério da Saúde (Brasil, 2001).

Feitas as diluições, seguiu-se a etapa da inoculação, sobre a superfície seca do Ágar Baird-Parker, de 0,1 mL de cada diluição selecionada. Utilizando a alça de Drigalski ou bastão do tipo “hockey”, espalhou-se o inóculo cuidadosamente por toda a superfície do meio, até sua completa absorção. Após esse procedimento, incubaram-se as placas invertidas a $36\pm 1^\circ\text{C}$ por 48 horas.

As placas que continham entre 20 e 200 colônias foram selecionadas para a contagem das colônias típicas (T) e atípicas (A), as quais foram anotadas separadamente. Selecionou-se então quatro colônias de cada tipo (típicas e atípicas), sendo semeadas em tubos contendo caldo Brain Heart Infusion (BHI) e incubados à temperatura de $36\pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas, para a etapa de confirmação.

Terminada a incubação, foi realizada a prova da coagulase. Transferiu-se 0,3 mL de cada tubo de cultivo em BHI para tubos estéreis contendo 0,3 mL de plasma de coelho, e incubados a $36\pm 1^\circ\text{C}$ por seis horas. Os critérios adotados para verificar a presença de coágulos foram os seguintes (Brasil, 2003):

- Reação Negativa: não formação de coágulo
- Reação 1+ : coágulo pequeno e desorganizado
- Reação 2+ : coágulo pequeno e organizado
- Reação 3+ : coágulo grande e organizado
- Reação 4+ : coagulação de todo o conteúdo do tubo, que não se

desprenderá quando o tubo for invertido.

Portanto, quando as reações foram do tipo 3+ e 4+ a prova foi considerada positiva para *Staphylococcus aureus*. Quando a reação de coagulação foi negativa, considerou-se a prova negativa para *Staphylococcus aureus*. E, finalmente, quando a reação foi duvidosa (reações 1+ e 2+) procedeu-se à repicagem do mesmo caldo de cultura para um tubo contendo caldo BHI e incubando-os a $36\pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas, para a realização dos testes complementares, como a prova da oxidase e coloração pelo Gram.

5.3.3 - Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Psicotróficas

Pesou-se assepticamente 25g da amostra, sendo transferida para sacos tipo “stomacher” onde se adicionou 225ml de água peptonada 0,1%. Homogeneizou-se em equipamento tipo Stomacher® por 60 segundos, obtendo-se assim a diluição 10^{-1} . Após estes procedimentos realizou-se a diluição seriada, retirando 1ml da solução 10^{-1} e passando para tubos contendo 10ml de água peptonada 0,1%, obtendo-se assim a diluição 10^{-2} e assim sucessivamente até a diluição desejada de 10^{-4} .

Após a diluição seriada procedeu-se à transferência de 0,1ml das diluições selecionadas (10^{-1} a 10^{-4}) distribuindo-as em placas de petri contendo PCA (Plate Count Agar), e com a superfície seca. As placas foram incubadas invertidas a $7-10^\circ\text{C}$ durante 7-10 dias, quando foi realizada a leitura.

5.4 - Análises Físico-químicas

5.4.1 - Determinação do pH

Aferiu-se o potenciômetro em solução tampão pH 7 e pH 4 a 25°C . A leitura foi realizada diretamente em aproximadamente

50g de amostra previamente triturada a 25°C (Métodos, 1981).

5.4.2 - Determinação das Bases Voláteis Totais (BVT)

Uma porção de 10g da amostra triturada e homogeneizada foi transferida para um balão de destilação de Kjeldahl juntamente com 2g de óxido de magnésio e 20ml de água destilada. Logo após aqueceu-se a amostra até ebulição, procedendo-se a destilação por 10 minutos. O destilado foi coletado em frasco Erlenmeyer de 125ml contendo 25ml da solução de ácido bórico 4% com duas gotas de indicador misto de Tashiro. A amônia e aminas voláteis foram tituladas com solução de ácido clorídrico 0,01N (Brasil, 1981).

O cálculo realizado foi o seguinte:

Nitrogênio básico volátil: em mg de N/100g de pescado.

$$\text{mg de N/100g} = \frac{V \times N \times FC \times 14 \times 100}{P}$$

Onde:

V = Volume da solução de ácido clorídrico 0,01N gastos na titulação;

N = Normalidade da solução de ácido clorídrico;

FC = Fator de correção da solução de ácido clorídrico 0,01N;

P = Peso da amostra em gramas.

5.5 - Delineamento Experimental

A análise estatística foi não paramétrica, pois já que se trata de um caráter qualitativo, ainda que muitas vezes assumam valores quantitativos, representa na realidade uma resposta de natureza categórica. O delineamento experimental utilizado foi o Teste de Mann-Whitney, devido se tratar de uma resposta com distribuição não normal, duas amostragens independentes entre si e ser de natureza ordinária.

6- RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 - Inspeção Visual

Com relação às características sensoriais do pescado foram observadas alterações na aparência da pele, cor, odor, evisceração e consistência da carne. A porcentagem de alterações em relação aos atributos e distribuidores pode ser melhor visualizada no gráfico 1.

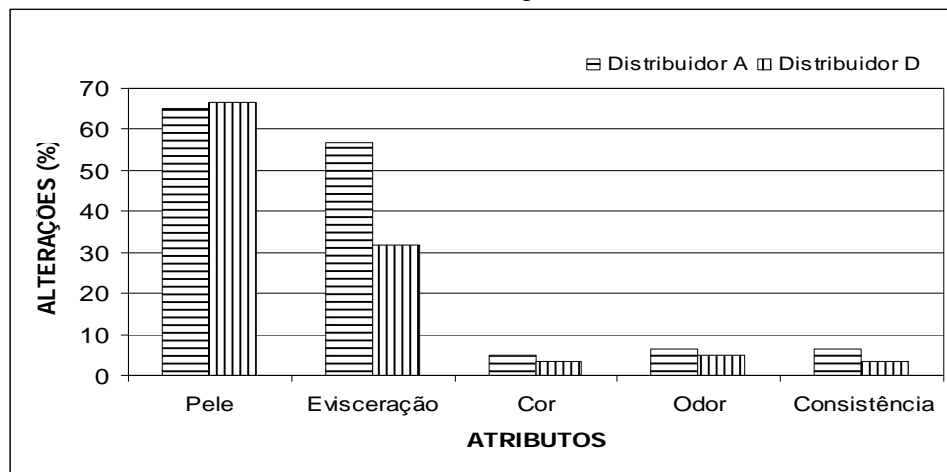


GRÁFICO 1 – Porcentagem de alterações relacionadas às características sensoriais da carne de Piramutaba (*Brachyplatistoma vaillantii*), comercializada pelos distribuidores A e D após descongelada.

Pode verificar-se que o maior número de alterações encontradas foi na pele, correspondendo a 65% e 66,6% das amostras para os distribuidores A e D, respectivamente. As alterações de maior interesse, em ordem decrescente foram queimadura (pele escura), escoriações,

dessecação e hematomas (Graf.2). Esses resultados são semelhantes aos encontrados por Beato (2002), diferindo somente na ordem de importância, e podem representar condições inadequadas de captura, processamento e conservação do pescado.

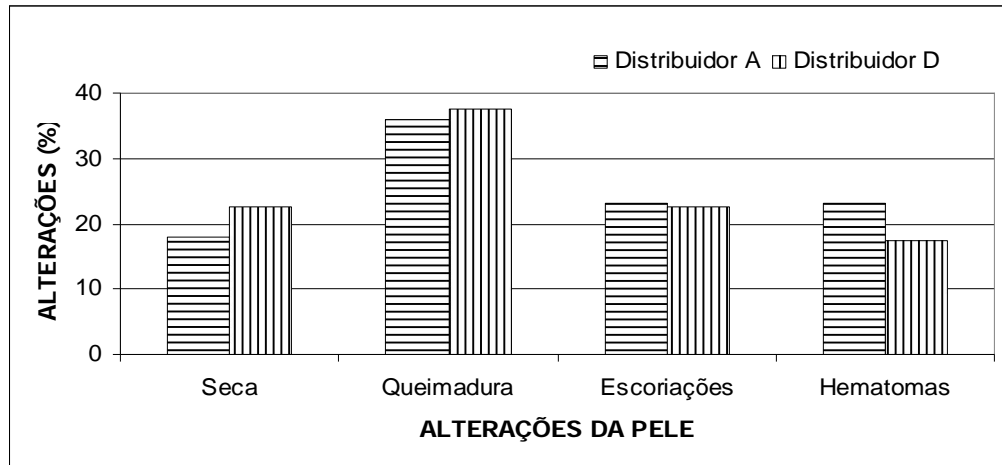


Gráfico 2 – Porcentagem de alterações relacionadas ao atributo “Pele” da carne de Piramutaba (*Brachyplatistoma vaillantii*), comercializada pelos distribuidores A e D, após descongelamento.

As alterações devido ao processo de evisceração inadequada (presença de sangue coagulado, partes de vísceras, guelras e contaminação devido à ruptura de vísceras) foram as mais encontradas após o atributo pele. Os peixes do distribuidor A apresentaram 56,6%, enquanto que os do D apresentaram 31,6% de alterações. Diferentemente de Beato (2002), cujos defeitos devido a falhas na evisceração foram superiores aos encontrados no presente estudo. Isso pode ser devido a uma mudança de atitude nos processos de evisceração, uma vez que os fornecedores eram os mesmos de

Beato (2002), e, que seguramente foram orientados sobre este aspecto.

Analisando detalhadamente o atributo “Pele” percebe-se uma maior frequência, em ambos distribuidores, da alteração “Queimadura” (Graf. 2). Isso ocorre provavelmente devido ao efeito da armazenagem sob congelamento originando as conhecidas queimaduras pelo frio. Dentre os defeitos de “Evisceração” o distribuidor A apresentou mais alterações de “Presença de sangue coagulado” e, o distribuidor D, apresentou mais alterações de “Partes de Vísceras” (Graf. 3).

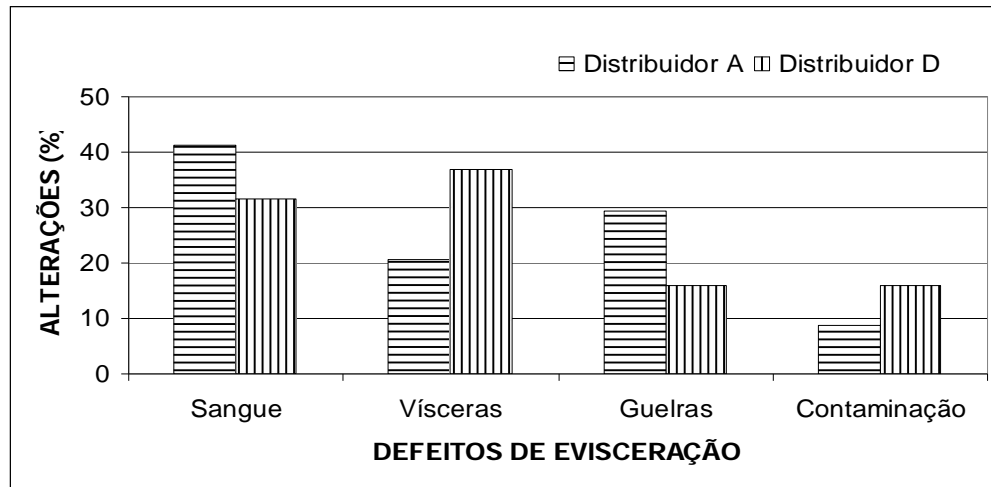


Gráfico 3 – Porcentagem de alterações relacionadas ao atributo “Evisceração” da carne de Piramutaba (*Brachyplatistoma vaillantii*), comercializada pelos distribuidores A e D, após descongelamento.

Com relação aos atributos odor, cor e consistência da carne, essas apresentaram poucas alterações. O pescado comercializado no distribuidor D apresentou somente 6,6% de desvios para os quesitos odor e consistência, enquanto que o distribuidor A apresentou 5,0% e 3,3% respectivamente. Alterações da cor estiveram pouco presentes em ambos, sendo que os valores foram de 5,0% e 3,3% para os distribuidores A e D. Essas ocorrências podem estar diretamente relacionadas ao processo de conservação inadequados, tais como estocagem prolongada, abusos ou variações na temperatura, dentre outros.

Todos os atributos analisados foram submetidos a análise estatística não paramétrica de Mann-Whitney, onde não houve diferença, significativa entre os distribuidores, em um intervalo de confiança de 95%. No entanto cabe ressaltar que os parâmetros Sangue e Brânquias – ambos na evisceração – estiveram bem próximos de apresentarem diferença entre fornecedores.

5.2 – Análises Físico-Químicas

Os dados obtidos pelas análises físico-químicas do pescado estão indicados na Tabela 2

Tabela 2 – Valores médios de pH e Nitrogênio das Bases Voláteis Totais (N-BVT) da carne de Piramutaba (*Brachyplatistoma vaillantii*), obtidos entre os distribuidores A e D.

Distribuidor	Parâmetros Físico-Químicos	
	pH	N-BVT (mg/100g)
A	6.8 ^a	2.8 ^a
D	6.8 ^a	4.2 ^b

* Médias seguidas de letras distintas diferem entre si (P<0,05)

Em relação ao Nitrogênio das Bases Voláteis Totais (N-BVT) observou-se uma diferença

entre os produtos dos distribuidores, tendo os do distribuidor D maiores valores para este parâmetro ($p < 0,05$).

Os valores encontrados variaram de 1,94 a 9,15 mg de nitrogênio por 100g de pescado (Tabela 3). A legislação em vigor considera um limite máximo de 30 mg de N/100g (Brasil, 1997a). Sendo assim, todos os pescados atenderam a esta determinação legal. Beato (2002) encontrou valores

superiores de N-BVT para o mesmo pescado analisado, ao contrário do que foi encontrado. Isso pode ser devido ao estado de frescor, quando da coleta das amostras, a uma melhora nas condições de armazenamento no entreposto e nos fornecedores analisados ou mesmo a uma maior demanda do pescado sendo rapidamente escoado do entreposto para os fornecedores, resultando em um produto de melhor qualidade.

Tabela 3 – Valores de N-BVT, em mg / 100g, encontrados em amostras de Piramutaba (*Brachyplatistoma vaillantii*), provenientes dos Distribuidores A e D de 10 partidas analisadas.

Partida	Distribuidor A	Distribuidor D
1	2,77	9,15
2	1,94	2,77
3	2,77	3,88
4	2,91	4,43
5	2,43	5,14
6	4,43	5,14
7	2,15	2,50
8	2,43	2,28
9	3,15	3,00
10	2,57	3,71

Loughran (2000) sugere que o índice N-BVT fica prejudicado como medida precisa de frescor, devido ao fato de englobar os três componentes das aminas voláteis em tecidos de peixe (Trimetilamina, Dimetilamina e Amônia) e somente mostrar crescimento inicial a partir de 12 dias ou mais em gelo. Sendo assim, seria bem utilizado para indicar deterioração microbiológica se os níveis estiverem elevados. Ainda segundo este pesquisador, os níveis de N-BVT seriam recomendados como parâmetros na indústria pesqueira e não como índice proibitivo para o consumo humano, de pescado “in natura”.

A Comissão Européia através da Diretiva da EU Nº 95/149/EEC, de Março de 1995, especificou que o N-BVT será utilizado se a avaliação sensorial indicar dúvidas sobre o frescor de diferentes espécies de peixes (EU, 1995). Com isso, diferentes níveis foram estabelecidos baseados nas diferenças entre as espécies de pescados. Verificou-se também uma grande variação nesse índice para diferentes produtos à base de pescado em estado sensorial insatisfatório – de 10 a 20 mg em camarões cozidos, salgados e embalados em atmosfera modificada até 30 a 40 mg em fatias de salmão defumado embaladas a vácuo –, como em estado satisfatório (75 mg em arenque salgado).

Segundo Ogawa & Maia (1999), o teor de N-BVT em peixes em excelente estado de frescor atinge 5 a 10 mg/100g de carne; peixes com frescor razoável podem atingir até 15 a 25 mg/100g de carne. No início da putrefação, este teor pode se situar entre 30 a 40 mg/100g e, quando bastante deteriorado, tal conteúdo deve encontrar-se acima de 50 mg/100g. Sendo assim, todos os pescados analisados neste trabalho poderiam classificar-se como de excelente estado de frescor. Procedimentos higiênico-sanitários – como evisceração, retirada da cabeça e brânquias, lavagem do pescado com água do mar adicionada de 50 ppm de cloro e correta higienização do convés e porões – e conservação do pescado a bordo (gelo de ótima qualidade microbiológica em barcos não dotados de câmaras frigoríficas), quando bem aplicados, podem garantir esse ótimo

estágio de frescor da Piramutaba, retardando a instalação do *rigor mortis* quanto mais baixa for a temperatura de estocagem.

Quanto aos resultados de pH, pode notar-se que não houve diferença significativa entre os dois distribuidores ($p < 0,05$). A grande maioria dos valores de pH encontrados (Tabela 4) não atenderia a legislação citada, pois ela estabelece que o pH da carne interna deva ser inferior a 6,5 nos peixes. De acordo com Ogawa & Maia (1999), a determinação de pH não é um índice seguro do estado de frescor ou do início de deterioração. Seu uso é geralmente restrito, por variar de amostra para amostra e por ocorrerem flutuações durante o período de estocagem. No entanto, Love (1992), considera o pH do músculo do pescado de grande importância tecnológica, por ser o principal fator relacionado com a textura do músculo cozido.

Tabela 4 – Valores de pH encontrados em amostras de Piramutaba (*Brachyplatistoma vaillantii*), provenientes dos Distribuidores A e D de 10 partidas analisadas.

Partida	Distribuidor A	Distribuidor D
1	6,3	6,4
2	7,3	6,7
3	6,7	6,8
4	6,9	6,8
5	6,7	6,8
6	6,9	6,7
7	6,9	7,4
8	6,8	6,8
9	6,7	6,8
10	6,8	6,8

5.3 – Análises Bacteriológicas

Na contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicrófilas a maioria dos resultados encontrados (95%) variaram de 10^4 a 10^6 por g de pescado (Tabela 5). Esses resultados confirmam os de Lima dos Santos (1983), que investigou quantitativa e qualitativamente a microbiologia da Piramutaba congelada, analisando amostras

de tecido das brânquias, conteúdo intestinal e superfície da pele. Bal'a et al. (2000) acharam contagens variando de 10^3 a 10^7 em filés frescos de bagre-de-canal (channel catfish), variando devido ao período de estocagem sob refrigeração. A importância dessa análise, apesar da legislação atual não estabelecer valores limítrofes, baseia-se na reconhecida capacidade de alguns microrganismos deteriorarem o pescado através de processos proteolíticos, mesmo a

temperaturas de congelamento, reduzindo sua vida de prateleira. Broek et al. (1984) explicam que encontraram elevadas contagens de psicrófilos em filés de peixes na Holanda – 59% entre 10^6 e 10^7 – devido à

flora natural de seu habitat e que, junto com os microrganismos adquiridos por contato com superfícies contaminadas, eles formam a microbiota deteriorativa natural do pescado.

Tabela 5 – Distribuição da contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicrotróficas em amostras de Piramutaba (*Brachyplatistoma vaillantii*), nas 10 partidas analisadas dos distribuidores A e D.

UFC/g	Distribuidor A	Distribuidor D
$< 10^4$	1	0
$10^4 - 10^5$	3	1
$10^5 - 10^6$	4	6
$> 10^6$	2	3

Apesar de algumas amostras apresentarem contagens mais elevadas que outras, elas não diferiram estatisticamente ($P < 0,05$), dificultando um paralelo com as análises físico-químicas e avaliação sensorial das mesmas. Essas últimas também se comportaram dentro do intervalo de confiança esperado para o teste, estando, portanto iguais estatisticamente.

No entanto, através da Tabela 6, percebe-se que a maioria dos valores das contagens de bactérias aeróbias psicrotróficas

correspondeu a elevados valores de pH, apesar de não mostrarem tal elevação no teste do N-BVT, observando-se interferência direta da elevada contagem no pH da carne. Os resultados da presença de vísceras obtidos na análise sensorial, assim como a elevada contagem ilustrada na tabela 5, podem justificar o nível mais elevado de bases voláteis encontrado nos peixes do distribuidor D, devido principalmente à ação enzimática das bactérias presentes nas vísceras quando ocorrem os processos deteriorativos do pescado.

Tabela 6 – Valores das contagens de bactérias heterotróficas aeróbias psicrotróficas e os valores de pH encontrados para a mesma amostra de Piramutaba (*Brachyplatistoma vaillantii*).

Distribuidor A		Distribuidor D	
UFC/g	pH	UFC/g	pH
$2,1 \times 10^5$	6.3	$2,0 \times 10^4$	6.4
$1,7 \times 10^6$	7.3	$2,5 \times 10^6$	6.7
$3,0 \times 10^3$	6.7	$2,5 \times 10^6$	6.8
$2,5 \times 10^6$	6.9	$1,7 \times 10^5$	6.8
$2,1 \times 10^4$	6.7	$2,7 \times 10^5$	6.8
$1,9 \times 10^5$	6.9	$6,6 \times 10^5$	6.7
$1,3 \times 10^5$	6.9	$2,0 \times 10^6$	7.4
$1,1 \times 10^5$	6.8	$1,8 \times 10^5$	6.8
$4,0 \times 10^4$	6.7	$1,8 \times 10^5$	6.8
$5,0 \times 10^4$	6.8	$4,8 \times 10^5$	6.8

Para as análises de *Salmonella* spp somente o fornecedor A apresentou presença em 25g, onde uma amostra (10%) teve o resultado positivo na sorologia. As demais, apesar de separadas nos tubos de Rugai modificado quando suspeitas na leitura, não reagiram à sorologia. Esse resultado pode indicar alguma falha no processamento desse pescado antes de ser exposto ao consumidor, como falhas na evisceração, contaminação de equipamentos e utensílios usados no entreposto, contaminação cruzada ou mesmo higienização mal feita na evisceração. Sabe-se também que a microbiota dos pescados é influenciada pelo meio no qual vivem, variando se marinho ou de água doce. No caso da Piramutaba, por ser um peixe de origem fluvial, a presença de enterobactérias pode ser maior como consequência da poluição fecal dos mananciais aquáticos (Leitão, 1988).

A legislação brasileira vigente (Brasil, 2001) não admite a presença de *Salmonella* spp em 25g de amostra de alimento, que é considerado um agente causador de doença ao homem ou aos animais. Sendo assim, uma amostra (10%), do fornecedor A, foi considerada imprópria para o consumo humano, por apresentar *Salmonella* spp em 25g de pescado, colocando em risco a saúde do consumidor. Esses resultados se assemelham com os encontrados por Vieira et. al (2000), que isolou *Salmonella* spp em 8,3% do total de 60 amostras em quatro dos cinco grupos analisados – peixes recém capturados, peixes retirados da mesa de filetagem, filés congelados no frigorífico e filés congelados no posto de venda – . Analisando um produto com uma maior manipulação devido a seu processamento industrial, Franco e Oliveira (1984) isolaram *Salmonella* spp em 12% das amostras de carne de siri supergeladas, comercializadas desfiadas e embaladas em sacos plásticos.

No entanto vários autores não conseguiram isolar a *Salmonella* spp, mostrando a baixa ocorrência desse patógeno em pescado. Broek et al. (1984) avaliaram a qualidade microbiológica de filés frescos de peixes de origem marinha, onde não foi detectada a presença de *Salmonella* spp nas 217 amostras. El-Sherbeeney et al. (1985) analisaram diversos tipos de comida comercializadas nas ruas por vendedores no Egito onde, apesar do grande potencial de ocorrer contaminação cruzada, não conseguiram isolar *Salmonella* nos alimentos analisados, dentre eles peixes e frutos do mar. Adesiyun (1993) avaliou a prevalência de cinco patógenos em carnes e frutos do mar em Trinidad. Dentre os patógenos analisados a *Salmonella* spp foi também estudada e não esteve presente em nenhuma das 61 amostras de peixes e das 41 de camarão.

Apesar de não ser o objetivo do trabalho, traçou-se um perfil bacteriológico através das amostras separadas como suspeitas quanto das não suspeitas para análise no tubo de Rugai modificado, usado como meio de triagem bioquímica para pesquisa de *Salmonella* spp, pois assim, através da tabela de interpretação e leitura do mesmo, pôde-se chegar pelo menos ao gênero da bactéria ali presente. Das 40 colônias das placas de petri separadas para análise bioquímica, 10 (25%) tiveram a leitura confirmada para *Pseudomonas*, seis (15%) para *Klebsiella* sacarose negativo e cinco (12,5%) para *Shigella* indol positivo. As demais variaram entre *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia* e *Shigella* indol negativo e oito tubos com leitura indefinida, que foram separados para a sorologia de *Salmonella* e tiveram resultado negativo. Esse resultado confirma os de Lima dos Santos (1979) onde o gênero *Pseudomonas* foi o predominante nas amostras de pele, brânquias e conteúdo intestinal de Piramutaba.

Com relação à contagem de *Staphylococcus aureus* nota-se que a maioria das amostras (75%) ficou com padrões entre 10^2 e 10^3 (tabela 7). Dentre todas as amostras somente duas do distribuidor A é que apresentaram reação positiva para a prova da coagulase, sendo que as contagens foram de $2,0 \times 10^2$ e $3,0 \times 10^3$. Analisando-se os padrões da legislação brasileira para contagem de

Estafilococos coagulase positiva, percebe-se que somente uma amostra do fornecedor A (10%) estaria inaceitável para o consumo humano, pois ultrapassou o limite “M” estabelecido em 10^3 . A outra amostra, com resultado coagulase positivo, situou-se abaixo do limite “m” fixado em 5×10^2 , portanto aceitável para o consumo (Brasil, 2001).

Tabela 7 – Contagem de *Staphylococcus aureus* e teste da coagulase para as 10 partidas analisadas de Piramutaba (*Brachyplatistoma vaillantii*).

Partida	Distribuidor A	Coagulase	Distribuidor D	Coagulase
1	$4,5 \times 10^2$	-	$4,0 \times 10^2$	-
2	$1,4 \times 10^3$	-	$1,2 \times 10^5$	-
3	$4,0 \times 10^1$	-	$4,0 \times 10^4$	-
4	$2,0 \times 10^2$	+	$1,8 \times 10^3$	-
5	$5,0 \times 10^3$	-	$1,4 \times 10^3$	-
6	$1,2 \times 10^3$	-	$4,1 \times 10^2$	-
7	$3,0 \times 10^3$	-	$9,0 \times 10^1$	-
8	$4,0 \times 10^3$	-	$1,0 \times 10^2$	-
9	$6,0 \times 10^2$	-	$5,0 \times 10^1$	-
10	$3,0 \times 10^3$	+	$1,0 \times 10^2$	-

Resultados semelhantes obtiveram Vieira et al. (1998), que analisaram 30 amostras de camarão fresco de 3 diferentes bancadas em uma feira livre de pescado em Fortaleza (CE), onde 10% mostraram-se também impróprias para o consumo. Ayulo et al. (1994) isolaram *S. aureus* em 20% das amostras de peixes e frutos do mar analisados na região sul do Brasil, sendo 60% em mexilhões e 20% em carne de caranguejo.

A presença do *Staphylococcus aureus* pode indicar falha no processamento e manuseio impróprios do pescado, por ser uma bactéria presente nas fossas nasais, garganta, cabelo e pele do ser humano. Broek et al. (1984) confirmam essa fonte de contaminação, mas encontraram contagens mais baixas em filés de peixes (78% abaixo de 10^2). El-Sherbeeney et al. (1985) encontraram 41% de amostras

positivas para *S. aureus* sendo 58% delas com contagens acima de 10^3 , isso analisando alimentos prontos e vendidos nas ruas no Egito, corroborando a contaminação na elaboração e manuseio impróprios. Além disso, sabe-se que algumas se desenvolvem lentamente em temperaturas baixas, e muitas são resistentes a temperaturas de congelamento, a maioria sobrevivendo por 20 dias a -20°C (Ogawa & Maia, 1999 e Vieira, 2003).

Especificamente neste estudo, nas peixarias em questão, não se constatou uma intensa manipulação da Piramutaba até pelo fato de vir limpa e descabeçada diretamente da origem, por isso esperava-se no máximo uma baixa frequência como foi o ocorrido. Essa contaminação pode ser atribuída a algum funcionário que seja disseminador de *Staphylococcus aureus* e, devido a maus

hábitos de higiene pessoal e/ou no trabalho, possa ter introduzido no pescado o patógeno em questão na indústria de origem e antes do congelamento, justificando sua presença depois de descongelado.

Com relação às enterotoxinas não foi o objetivo realizar uma pesquisa das mesmas nesses isolados, apesar das contagens não estarem nos padrões reconhecidamente capazes de causar toxinfecção alimentar (Jay, 2002).

7 – CONCLUSÕES

Diante do exposto neste trabalho pode concluir-se que:

1. A qualidade higiênico-sanitária da carne de Piramutaba (*Brachyplatistoma vaillantii*), através da inspeção visual foi satisfatória.
2. As análises físico-químicas não se mostraram eficientes para determinar o estágio de frescor da piramutaba, principalmente o N-BVT.
3. A microbiota psicrotrófica da piramutaba congelada interfere nos mecanismos de deterioração.
4. Uma partida/lote do fornecedor A mostrou-se imprópria para o consumo humano por apresentar *Salmonella* spp.
5. Uma partida/lote do fornecedor A mostrou-se imprópria para o consumo humano por apresentar Estafilococos coagulase positiva acima dos padrões legais vigentes.
6. Os dois fornecedores não apresentaram diferença, estatisticamente significativa, na qualidade higiênico-sanitária da carne de piramutaba congelada.

8 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Baseando-se nos resultados obtidos pelas bases voláteis totais, a metodologia brasileira

utilizada deveria levar em consideração as diferenças entre os diversos tipos de pescado, assim como estabelecer métodos mais atuais para sua determinação, pois sem essa devida revisão o teste de N-BVT fica comprometido para a correta avaliação do estado de frescor em pescado.

Pesquisas de enterotoxinas na Piramutaba devem ser realizadas no intuito de determinar se os *Staphylococcus* isolados, tanto coagulase positivo quanto negativo, são realmente produtores dessas toxinas, capazes de causar graves intoxicações alimentares em humanos.

9 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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.
- ANDRADE, M.O. Fish overview in Brazil. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.23, n.3/4, p.169-178, 1989.
- AYULO, A.M.R.; MACHADO, R.A.; SCUSSEL, V.M. Enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in fish and seafood from the southern region of Brazil. *International Journal of Food Microbiology*, v. 24, n. 1-2 p. 171-178. 1994.
- BAL'A, M.F.A.; PODOLAK, R.; MARSHALL, D.L. Microbial and color quality of fillets obtained from steam-pasteurized deheaded and eviscerated whole catfish. *Food Microbiology*, v. 17, p. 625-631. 2000.

BARROS, G.C. Perda de qualidade do pescado, deteriora e putrefação. *Revista CFMV*, ano 9, n.30, Set/Dez., 2003.

BARTHEM, R.B. *A Pesca e os recursos pesqueiros na Amazônia Brasileira*. Disponível em: <http://ns.rc.unesp.br/ib/ecologia/ptrere/textos_arquivos/Barthem2004.pdf>. Acessado em 01/02/2006.

BEATO, P.G. *Características Organolépticas e Físico-química da carne de Piramutaba, Brachyplatistoma vaillanti (Siluriformes, Pimelodidae), congelada comercializada em Belo Horizonte - MG*. 2002. 31p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte.

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

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Portaria nº 185 de 13/05/1997. *Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco (Inteiro e Eviscerado)*. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 1997a.

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 Saúde. Resolução RDC nº12 de 02/01/2001. *Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos*. Brasília: Ministério da Saúde, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 62 de 26/08/2003.

Oficializa os Métodos Analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2003.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Instrução Normativa MMA nº 6, de 07/07/2004. *Estabelece o período de defeso para a pesca de arrasto de Piramutaba (Brachyplatistoma vaillanti), limita a frota pesqueira que opera na captura de Piramutaba e outroagres (ordem Siluriforme) na Foz dos Rios Amazonas e Pará e dá outras providências*. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2004. 2 paginas.

BRESSAN, M.C.; PEREZ, J.R.O. *Tecnologia de Carnes e Pescados* – Lavras: UFLA/FAEPE. 2000. 225p. (Curso de Pós-Graduação “Lato Sensu” Especialização a 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, M.R.B. Composição e deterioração de pescados. In: SEMANA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AGROPECUÁRIA, 2000, Jaboticabal. *Anais...* Jaboticabal: 2000. p.176.

ELEMENTOS de apoio para o sistema APPCC. 2.ed. Brasília: SENAI/DN, 2000. 361p. (Série Qualidade e Segurança Alimentar).

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

ESTATÍSTICA da Pesca 2004 – Brasil Grandes Regiões e Unidades da Federação. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente, IBAMA 2005. Disponível em: http://200.198.202.145/seap/pdf/cogesi/boletim_2004.pdf. Acesso em: 17/02/2006.

EU Diretiva 95/149/EEC. Disponível em: <http://europa.eu.int/comm/fisheries/doc_et_publ/factsheets/legal_texts/sani_en.htm>. Acesso em: 23 de fevereiro de 2006.

FRANCO, G. *Tabela de composição química dos alimentos*. 9.ed. São Paulo: Atheneu, 1999, p.144.

FRANCO, R.M.; OLIVEIRA, L.A.T. de. Ocorrência de microrganismos da família enterobacteriaceae em carne de siri supergelada. *Higiene Alimentar*, v. 3, n. 3/4, 1984.

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.

GUIMARÃES, J.L. Conservação pelo frio – refrigeração e congelamento de pescado. In: SEMANA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AGROPECUÁRIA, 2000, Jaboticabal. *Anais...* Jaboticabal: 2000. p. 176.

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

LEITÃO, M.F.F. Deterioração microbiana do pescado e sua importância em saúde pública. *Higiene Alimentar*, v.3, n.3/4, p.143-151, 1984.

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. 1988. Anais... São Paulo: Loyola, 1988. p.40-58.

LIMA DOS SANTOS, C.A.M.; GARBUTT, J. Investigações preliminares sobre a microbiologia da Piramutaba (*Brachyplatistoma vaillantii*) congelada. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.20, n.2, p. 79-100, 1979.

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

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

MAYER, B.K.; WARD, K.R. Microbiology of finfish and finfish processing. In: WARD, D.R.; HACKNEY, C.R. *Microbiology of marine food products*. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991. Cap. 1, p.1-17.

MÉTODOS Analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físico-químicos. Brasília: LANARA, 1981.

MOHAMED HATHA, A.A.; LAKSHMANAPERUMALSAMY, P. Prevalence of *Salmonella* in fish and crustaceans from markets in Coimbatore, South India. *Food Microbiology*, v. 14, p. 11-116, 1997.

MURATORI, M.C.S. *Consórcio suíno peixe: riscos ambiental e sanitário*.

Proposta alternativa para descontaminação. 2000. 71f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte.

OGAWA, N.B.P.; MAIA, E.L. *Manual de Pesca: ciência e tecnologia do pescado.* São Paulo: Livraria Varela, 1999. v.1, 430p.

PERSPECTIVAS do Meio Ambiente no Brasil. Brasília: IBAMA / GEO Brasil, 2002. 442 p.

PESSOA, G.V.A.; SILVA, E.A.M.; Meios de Rugai e lisina-motilidade combinados em um só tubo para a identificação presuntiva de enterobactérias. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, 32: 97-100, 1972.

PINHEIRO, L.A.; FRÉDOU, F.L. Caracterização geral da pesca industrial desembarcada no estado do Pará. *Revista Científica da UFPA*. Vol. 4, abril 2004.

PISCICULTURA no Estado de Minas Gerais. Agridata. Disponível em: <<http://www.agridata.mg.gov.br/potencia>>. Acesso em: 14 de setembro de 2004.

RAPINI, L.S. *Efeito da implantação das boas práticas de fabricação (BPF) na qualidade de queijos de leite de cabra.* 2004. 93f. Dissertação (Mestrado em

Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte.

ROSSONI, E.M.M. Controle microbiológico de pescado e produtos de pescado. In: SEMINÁRIO SOBRE CONTROLE DE QUALIDADE NA INDÚSTRIA DE PESCADO. 1988. Anais... São Paulo: Loyola, 1988. p.63-67.

SÃO CLEMENTE, S.C. Inspeção sanitária do pescado. *Higiene Alimentar*, v.7, n.28, p.7, 1993.

VIEIRA, R.H.S.F.; RODRIGUES, D.P.; BARRETO, N.S.E. *et al. Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática.* São Paulo: Livraria Varela, 2003.

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

VIEIRA, R.H.S. dos F.; TAVARES, L.A.; GAMBAR, R.C. *et al. S. aureus* em camarão fresco e superfícies de bancadas da feira livre de pescado do Mucuripe, Fortaleza, CE. – Registro de pontos críticos e medidas de controle. *Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 12, n. 55, p. 47-50. 1998.