

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**ESCOLA DE VETERINÁRIA**  
**COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO**

**AÇÃO DO ÁCIDO CÍTRICO NA REDUÇÃO DO *OFF-FLAVOR* E NA  
QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE FILÉ DE  
PACAMÃ (*Lophiosilurus alexandri* Steindachner, 1876)**

**SARAH ANTONIETA DE OLIVEIRA VERÍSSIMO**

**BELO HORIZONTE-MG**  
**ESCOLA DE VETERINÁRIA DA UFMG**

**2018**

**Sarah Antonieta de Oliveira Veríssimo**

**AÇÃO DO ÁCIDO CÍTRICO NA REDUÇÃO DO *OFF-FLAVOR* E NA  
QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE FILÉ DE  
PACAMÃ (*Lophiosilurus alexandri* Steindachner, 1876)**

Dissertação apresentada à  
Escola de Veterinária da  
Universidade Federal de Minas  
Gerais –UFMG, como requisito  
para obtenção do grau de Mestre  
em Ciência Animal.

Área de Concentração:  
Tecnologia e Inspeção de  
Produtos de Origem Animal

Orientador: Marcelo Resende de  
Souza

Co-orientadora: Lilian Viana  
Teixeira

**BELO HORIZONTE-MG  
ESCOLA DE VETERINÁRIA DA UFMG**

**2018**

V517a Veríssimo, Sarah Antonieta de Oliveira, 1990-  
Ação do ácido cítrico na redução do *off-flavor post mortem* e na qualidade microbiológica e físico-química de filé de Pacamã ("*Lophiosilurus alexandri*" Steindachner, 1876) / Sarah Antonieta de Oliveira Veríssimo. – 2018.  
55 p. : il.

Orientador: Marcelo Resende de Souza  
Co-orientadora: Lilian Viana Teixeira  
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária  
Inclui bibliografia

I. Pacamã (Peixe) – Teses. 2. Pescado – Qualidade – Teses. 3. Análise sensorial – Teses.  
4. Ácido cítrico – Teses. I. Souza, Marcelo Resende de. II. Teixeira, Lilian Viana.  
III. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. IV. Título.

CDD – 664.94

## FOLHA DE APROVAÇÃO

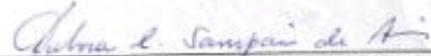
### SARAH ANTONIETA DE OLIVEIRA VERÍSSIMO

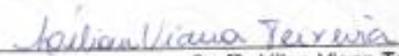
Dissertação submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de MESTRE em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração TECNOLOGIA E INSPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL.

Aprovada em 05 de Fevereiro de 2018, pela banca constituída pelos membros:

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Marcelo Resende de Souza  
Presidente - Orientador

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Bernardo Barroso do Abiahy  
Pós Doutorado - USP

  
\_\_\_\_\_  
Profª. Débora Cristina Sampaio de Assis  
Escola de Veterinária - UFMG

  
\_\_\_\_\_  
Profª. Lillian Viana Teixeira  
Escola de Veterinária - UFMG



## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida e por ter sido meu sustento e conforto nos momentos difíceis dessa caminhada.

Aos meus pais, Ronan e Magali, agradeço pelo amor, dedicação e por me apoiarem incondicionalmente em todas as minhas escolhas. Vocês sempre serão meus maiores exemplos.

À minha querida irmã Camila, que mesmo morando longe se faz tão presente na minha vida. Obrigada por sua amizade, amor e colo.

Ao Leandro, que em pouco tempo se fez tão amoroso e compreensível nessa etapa da minha vida.

A todos meus queridos amigos e familiares, que sempre me incentivam a ir mais longe.

Ao meu orientador Marcelo Resende de Souza, agradeço pelos ensinamentos desde a graduação e pela oportunidade de ter sido sua orientada. Muito obrigada pelo carinho e valiosa ajuda na realização desse trabalho.

À minha co-orientadora Lilian Viana Teixeira, agradeço pela amizade e confiança em todos esses anos juntas. Muito obrigada pelo ombro amigo, conselhos, palavras de carinho, apoio e principalmente por acreditar em mim.

Aos técnicos de laboratório do DTIPOA Maurinha, Marco Antônio e César pela amizade, conhecimento, paciência e preciosa ajuda na execução do experimento.

Aos professores do DTIPOA, por todo conhecimento e amizade.

À Ana Cláudia, Daniele, Ana Carolina e Cláudia por toda amizade nesses anos e também por me auxiliarem na realização do experimento, sem a ajuda de vocês nada disso seria possível. Obrigada pelas palavras amigas e risadas juntas.

À Joana Ribeiro da Glória, agradeço pela ajuda no delineamento estatístico e análise de dados. Muito obrigada pelo carinho e disposição em me ajudar.

À Escola de Veterinária da UFMG, por ter me acolhido desde a graduação e por permitir a concretização desse sonho.

À banca examinadora, pelas sugestões e críticas.

À FAPEMIG pelo apoio financeiro do projeto e à CAPES pela concessão da bolsa.

*"Há um tempo em que é preciso abandonar as roupas usadas, que já têm a forma do nosso corpo, e esquecer os nossos caminhos, que nos levam sempre aos mesmos lugares. É o tempo da travessia: e, se não ousarmos fazê-la, teremos ficado, para sempre, à margem de nós mesmos"*

*Fernando Pessoa*

---

## SUMÁRIO

---

<b>RESUMO</b>	12
<b>ABSTRACT</b>	13
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	14
<b>2. OBJETIVOS</b>	15
2.1 Objetivo geral	15
2.2 Objetivos específicos	15
<b>3. REVISÃO DA LITERATURA</b>	16
3.1 Aquicultura	16
3.2 Pacamã	16
3.3 Composição química e aspectos nutricionais da carne de pescado	18
3.4 Microbiologia do pescado	18
3.5 <i>Off-flavor</i> em pescado	19
3.6 Geosmina e 2-metilisoborneol	21
3.7 Fatores predisponentes para <i>off-flavor</i>	22
3.8 Métodos sensoriais para determinação de <i>off-flavor</i>	23
3.9 Impacto econômico do <i>off-flavor</i>	24
3.10 Controle e métodos de detecção do <i>off-flavor</i> pré-abate	25
3.10.1 Pré-despesca	25
3.10.2 Pós-despesca: depuração	26
3.11 Controle do <i>off-flavor</i> pós-abate	27
3.12 Aditivos alimentares	27
<b>4. MATERIAS E MÉTODOS</b>	28
4.1 Obtenção e preparo das amostras	28
4.2 Tratamentos	29
4.3 Análises microbiológicas	30
4.3.1 Pesquisa de micro-organismos mesófilos aeróbios	30
4.3.2 Pesquisa de micro-organismos psicrotróficos aeróbios	30
4.3.3 Pesquisa de micro-organismos psicrotróficos proteolíticos aeróbios	30
4.3.4 Pesquisa de micro-organismos psicrotróficos lipolíticos aeróbios	30
4.3.5 Pesquisa de NMP de coliformes totais e termotolerantes	31
4.4 Análise de composição química e pH	31
4.4.1 Lipídeos	31
4.4.2 Proteína	32
4.4.3 Mineral fixo	32
4.4.4 Umidade	32
4.4.5 pH	32
4.5 Análise sensorial	32
4.6 Delineamento experimental	33
4.7 Análise estatística dos dados	33
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	34
5.1 Análises microbiológicas	34
5.1.1 Coliformes totais e termotolerantes	34

5.1.2	Microrganismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos, psicrotróficos lipolíticos e psicrotróficos proteolíticos	35
5.2	Composição química e pH	37
5.3	Análise sensorial	39
6.	<b>CONCLUSÃO</b>	41
7.	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	42
8.	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	43
9.	<b>ANEXOS</b>	52

---

### LISTA DE TABELAS

---

Tabela 1	Micro-organismos responsáveis por <i>off-flavor</i> em carne de pescado	20
Tabela 2	Valores mínimos e máximos e medianas das contagens de microrganismos em filés de pacamã tratados com 0%, 2% e 5% de ácido cítrico	35
Tabela 3	Médias, desvios-padrão (DP), e coeficientes de variação (CV) de análises físico-químicas de filés de pacamã <i>in natura</i> tratados com 0%, 2% e 5% de ácido cítrico	37
Tabela 4	Valores mínimos e máximos e medianas das notas atribuídas pelos provadores na análise sensorial de filés de pacamã, tratados com 0%, 2% e 5% de ácido cítrico	39

---

### LISTA DE FIGURAS

---

Figura 1	Pacamã ( <i>Lophiosilurus alexandri</i> )	17
Figura 2	Estrutura química da geosmina e 2-metilisoborneol	21
Figura 3	Tanques de recirculação do Laboratório de Aquacultura (LAQUA)	28
Figura 4	Filés de pacamã	29

---

### LISTA DE ABREVIATURAS

---

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
COEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CV	Coefficiente de variação
DP	Desvio-padrão
DHA	Ácido docosaheptaenóico
EC	<i>Escherichia coli</i>

EPA	Ácido eicosapentaenóico
EUA	Estados Unidos da América
FAPEMIG	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais
FAO	<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>
GEO	Geosmina
ICMS	<i>International Commission on Microbiological Specifications for Foods</i>
ISO	<i>International Organization For Standardization</i>
LAQUA	Laboratório de Aquacultura
mg	Miligramas
MIB	2-metilisborneol
MPA	Ministério da Pesca e Aquicultura
m/v	Massa por volume
NMP	Número Mais Provável
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RIISPOA	Regulamento e Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
SAS	<i>Statistical Analysis System</i>
SPME	<i>Solid-phase Microextraction Technology</i>
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais

---

### LISTA DE ANEXOS

---

Anexo 1	Certificado de Aprovação na Comissão de Ética no Uso de Animais	52
Anexo 2	Certificado de Aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa	53
Anexo 3	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)	54
Anexo 4	Questionário para análise sensorial de filé pacamã	56

## RESUMO

O *off-flavor* é um problema relatado mundialmente na aquicultura e é causado pelo acúmulo de microalgas e cianobactérias na água. Os compostos produzidos por essas levam a alteração de sabor e odor na carne de peixe, trazendo muitos prejuízos para a cadeia produtiva. O objetivo desse trabalho foi avaliar se a adição de ácido cítrico reduz o *off-flavor* no filé de pacamã e também o seu efeito sobre a qualidade microbiológica e físico-química. O delineamento experimental para as análises microbiológicas e físico-químicas foi inteiramente ao acaso, com sete repetições por tratamento, totalizando um número amostral de 21. Para a análise sensorial foi usado delineamento com blocos ao acaso com seis repetições, tendo então, um número amostral de 18. Os três tratamentos foram o controle (0% de ácido cítrico), 2% de ácido cítrico e 5% de ácido cítrico. Sendo assim, os filés de pacamã foram submetidos à análise sensorial, com oito juízes treinados, pesquisas de microrganismos aeróbicos mesófilos, psicrotróficos, psicrotróficos proteolíticos e psicrotróficos lipolíticos, números mais prováveis de coliformes totais e termotolerantes; determinações de pH e dos teores percentuais de lipídeos, proteína, resíduo mineral fixo e umidade. Os dados obtidos na análise sensorial foram comparados utilizando o teste de Friedman, já para as análises microbiológicas foi usado Teste T e para as análises físico-químicas o Tukey, todos com nível de significância de 0,05. Observou-se que a ação do ácido cítrico foi eficaz na redução da percepção sensorial do *off-flavor* no filé de pacamã, devido a diferença estatística em relação ao padrão. O ácido cítrico diminuiu a carga microbiana dos filés e não causou interferência na composição físico-química dos mesmos. Portanto, o ácido cítrico a 2 ou 5% pode ser utilizado para conservação da carne de pacamã, sem interferir no seu sabor com qualidade microbiológica e físico-química, além de modular de forma benéfica a microbiota indesejável.

**Palavras-chave:** Geosmina, 2-metilisorneol, pescado, análise sensorial

## ABSTRACT

The off-flavor is a problem reported worldwide in aquaculture and it's caused by the microalgae and cyanobacteria accumulation in the water. These lead to the change of flavor and smell of the fish meat, bringing many damages to the productive chain. This work aimed to evaluate if the addition of citric acid reduces the off-flavor in the pacamã fillet. The experimental design for the microbiological and physicochemical analyzes was entirely random, with seven replicates per treatment, totaling a sample number of 21. For the sensorial analysis, a randomized block design with six replications was used, having then, a sample number of 18. The three treatments were the control (0% citric acid), 2% citric acid and 5% citric acid. Then, the pacamã fillets were submitted to sensorial analysis, with eight trained judges; studies of mesophilic aerobic, psychrotrophic, proteolytic psychrotrophic and lipolytic psychrotrophic microorganisms, more probable numbers of total and thermotolerant coliforms; and determinations of pH and of percentage contents of lipids, protein, fixed mineral residue, and moisture. In data analysis, for sensorial analysis was used the Friedman's test, then for microbiological analysis was used the T-test and for the physicochemical analysis was used Tukey, all the tests with  $p < 0.05$ . It was observed that the action of citric acid was effective in reducing the sensorial perception of the off-flavor in the pacamã fillet, due to the statistical difference regarding the standard. The citric acid decreased the microbial load of the fillets and did not cause interference in the physicochemical composition of them. Therefore, 2% or 5% citric acid may be used for the conservation of pacamã meat, without interfering with its taste and with the quality and physicochemical, besides modulating in a beneficial way the undesirable microbiota.

Keywords: Geosmin, 2-methylisoborneol, fish, sensory analysis

## 1. INTRODUÇÃO

A preocupação com o consumo de alimentos saudáveis e nutritivos vem crescendo em larga escala no Brasil e no mundo. Por esse motivo, há uma inclinação ao aumento do consumo de peixes, pois esses apresentam proteínas de alto valor biológico, contendo todos os aminoácidos essenciais e com boa digestibilidade. Consequentemente, fica evidente a importância do consumo de peixes na alimentação humana, pois esses possuem muitas das características procuradas pela população (FAO, 2014).

Nesse contexto, para atender a demanda de um mercado consumidor exigente, os produtores vêm se organizando para oferecerem pescado com padrões de qualidade mais rigorosos quanto ao tamanho, sabor, cor e textura (Garcia-Torchelsen *et al.*, 2011). Dentro do processo de produção, a qualidade da água é condição imprescindível para a obtenção de pescado que atenda a essas exigências. A água, em condições inadequadas em relação aos parâmetros de qualidade, além de prejudicar o crescimento, reprodução, sanidade e sobrevivência do pescado, pode interferir nas características sensoriais do mesmo, favorecendo o surgimento de sabores e/ou odores indesejáveis, comprometendo a comercialização e, conseqüentemente, sua aceitação pelos consumidores (Kubitzka, 2003).

Dessa forma, a multiplicação exacerbada das cianobactérias e microalgas presentes nas águas, constituem um dos mais importantes fatores de alteração de sabor e odor nos peixes. Esse acúmulo de algas é chamado eutrofização (Zaitlina e Watson, 2006). Esse fenômeno leva ao *off-flavor*, que se caracteriza pela presença de diferentes aromas e sabores nos peixes designados popularmente como “algas” (por associação), “barro”, “mofo”, entre outros. A intensidade desses odores e sabores depende do tempo, do ciclo de vida das algas e do meio em que estão. As substâncias produzidas por essas algas mais relacionadas ao *off-flavor* são o 2-metilisoborneol (MIB) e a geosmina (GEO), que são absorvidas pelos peixes através do trato gastrointestinal, pele e brânquias e ficam armazenadas principalmente no tecido adiposo. Essas alterações no pescado diminuem a aceitação sensorial do mesmo, gerando sérios problemas para a cadeia produtiva do pescado (Biato, 2005).

Vale ressaltar a crescente busca de peixes nativos que se desenvolvam bem na aquicultura e o pacamã (*Lophiosilurus alexandri*) se destaca nesse contexto (Cordeiro *et al.*, 2016). Além disso, sabe-se que a busca dos piscicultores pelo melhor desempenho produtivo dos peixes, visando uma produção altamente lucrativa, tem acentuado o problema da eutrofização das águas utilizadas nos cultivos e, conseqüentemente, aumentando os prejuízos causados pelo *off-flavor* (Souza, Mathies e Fioravanzo, 2012).

A maioria dos métodos para a redução do *off-flavor* utilizados hoje em dia é aplicada no pré-abate, como o jejum e a depuração, muitas vezes associados. É possível também o uso de algicidas, filtros biológicos, raios UV, ultrassom, cães farejadores, dentre outras inúmeras técnicas. Mas, em contrapartida, se sabe muito pouco sobre a eliminação da GEO e do MIB pós-abate nos filés dos peixes. Por isso, é de grande importância buscar novos métodos que tenham como objetivo amenizar as perdas por odores e gostos desagradáveis em peixes de água doce.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Investigar se a adição de ácido cítrico ao filé de pacamã interfere ou não na redução de *off-flavor*.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Verificar se a adição de ácido cítrico afeta a microbiota, como coliformes, mesófilos, psicrotróficos, psicrotróficos proteolíticos e psicrotróficos lipolíticos do filé de pacamã.
- Determinar se a adição de ácido cítrico altera o pH e a composição físico-química, como proteína, lipídeos, minerais e umidade do filé de pacamã.
- Investigar se adição de ácido cítrico altera sensorialmente o filé de pacamã analisado por provadores treinados.

### 3. REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 Aquicultura

A prática de cultivar organismos aquáticos é muito tradicional no mundo e já foi encontrada em várias culturas e lugares. Há registros históricos evidenciando a técnica em manuscritos chineses e egípcios datando de séculos remotos. De forma rudimentar, esses sistemas armazenavam exemplares imaturos de diversas espécies de peixes e não demandavam de muitos insumos ou recursos externos. A aquicultura era uma importante fonte alimentar para essas populações (Oliveira, 2009).

Sabe-se que o pescado, como alimento, se destaca pela qualidade e quantidade de aminoácidos essenciais, além da presença de vitaminas, minerais e ácidos graxos essenciais e poliinsaturados (Sartori e Amancio, 2012). Sendo assim, a aquicultura ascendeu, tornando o pescado a maior *commodity* do mundo, principalmente, devido à demanda desse ter sofrido um significativo incremento nas últimas décadas, em função da busca dos consumidores por alimentos mais saudáveis e por ser uma produção de melhor custo-benefício, podendo inclusive ser uma atividade secundária e na agricultura familiar (Sidonio *et al.*, 2012). Além disso, a tendência é que a demanda por produtos à base de pescado, oriundos da aquicultura, deve aumentar nas próximas décadas, seja por questões de escassez de extrativismo, saúde, socioeconômicas ou religiosas.

Nesse contexto, o Brasil possui 13,7% da água doce superficial do planeta (Tundisi, 2003), clima favorável e é um dos maiores produtores de grãos, o que o torna um país com características adequadas para o desenvolvimento da aquicultura. Ainda assim, o brasileiro consome pouco pescado, estima-se que, em 2015, o consumo de pescado per capita brasileiro foi de 9,5 kg/hab/ano (Peixe BR, 2017) sendo que o consumo recomendado pela *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO) é de 12 kg/ano (FAO, 2012).

Nos últimos 50 anos, a produção mundial de pescado cresceu a uma taxa média anual de 3,2%, superando o incremento populacional de 1,6%. O consumo de pescado per capita também aumentou de 9,9 kg por ano na década de 1960 para 19,2 kg por ano em 2012 (FAO, 2014). Dessa forma, sabendo-se do grande potencial para a produção de pescado no Brasil, foi criado o Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA), em 2009, período em que a aquicultura brasileira alavancou. Esse ministério foi extinto em 2015, por questões políticas. O setor aquícola apresentou crescimento mesmo diante do cenário de crise econômica em que o país vive. A atividade movimentou R\$ 4,3 bilhões e gerou 1 milhão de empregos diretos e indiretos em 2016, segundo registros do relatório do Anuário Brasileiro de Piscicultura de 2016, da Associação Brasileira de Piscicultura (Peixe BR, 2017).

#### 3.2 Pacamã (*Lophiosilurus alexandri*)

O pacamã (figura 1) pertencente à Classe Actinopterygii, Ordem Siluriformes e à família Pimelodidae. Ele foi descrito como uma espécie de hábitos sedentários, noturna, que vive principalmente em regiões de fundo de pedras ou areia e tem preferência por ambientes morosos (Travassos, 1959).

Sabe-se que é uma espécie nativa de água doce, endêmica no Rio São Francisco, carnívora e com grande capacidade de uso na aquicultura (Meurer *et al.*, 2010; Souza *et al.*, 2014). A bacia desse rio é a terceira maior da América do Sul e apresenta em torno de 2.830 km de extensão, alongando-se por vários estados brasileiros, tais como: Minas Gerais, Bahia, Pernambuco, Alagoas e Sergipe (Godinho e Godinho, 2003). O pacamã é um tipo de bagre, assim como o *catfish* (*Ictalurus punctatus*), peixe altamente comercial nos EUA.

Sendo assim, a relevância comercial dessa espécie na região sub-média do rio São Francisco é alta devido ao interesse na carne por ser de coloração branca, textura macia, saborosa, ter bom rendimento de filé e ausência de espinhos intramusculares (Luz *et al.*, 2011). Devido ao seu alto valor de mercado, a crescente pesca esportiva e o represamento de rios, o pacamã está na lista de peixes ameaçados de extinção (BioBrasil, 2014).

A reprodução dessa espécie ocorre naturalmente ou de forma induzida com a utilização de hormônios, de forma parcelada, em tanques com o fundo recoberto de areia, com os reprodutores formando ninho (Santos *et al.*, 2013). Uma vez que o pacamã é um peixe carnívoro, em sua reprodução ocorre alta taxa de perda larvária devido ao canibalismo. Contudo, estudos mais recentes demonstraram que sua procriação pode ser realizada satisfatoriamente em condições controladas (Costa *et al.*, 2015) e sua larvicultura e condicionamento alimentar já estão sendo realizados com sucesso (Cordeiro *et al.*, 2016).

A dieta do pacamã é de difícil formulação, mas, Souza *et al.* (2013) observaram que níveis médios de proteína bruta de 36,2% e inclusão de até 15% de carboidrato (Figueiredo *et al.*, 2015) promoveram aumentos consideráveis nos índices de taxa de crescimento, conversão alimentar e ganho de peso para juvenis dessa espécie.



Figura 1: Pacamã (*Lophiosilurus alexandri*). Fonte: Arquivo pessoal.

### 3.3 Composição química e aspectos nutricionais da carne do pescado

Na década de 1970 foram publicados estudos que demonstraram que populações de esquimós apresentavam baixa incidência de doenças cardiovasculares e de câncer, mesmo consumindo altos índices de gordura de peixe. Posteriormente, mais relatos experimentais confirmaram os efeitos benéficos da carne de peixe e mostraram que outras populações que comiam maior quantidade desse produto de origem animal apresentavam menor incidência de doenças cardiovasculares do que populações com menor ingestão desse alimento (Bang e Dyerberg, 1972; Bang, Dyerberg e Hjerne, 1976). Ogawa e Maia (1999) citaram que a carne do peixe pode conter aproximadamente 20% de proteína, 60 a 85% de umidade, 1 a 2% de mineral fixo, 0,3 a 1% de carboidrato e 0,6 a 36% de lipídeos, esse último é o componente que mais pode variar entre as espécies de peixe.

Os peixes têm em sua composição água, lipídeos e proteínas, cujas quantidades variam entre as espécies. A fração lipídica oscila muito ao longo do ciclo de vida de uma mesma espécie, podendo chegar a valores mínimos durante a ovulação, por exemplo. Em relação ao carboidrato, a presença desses nos músculos dos peixes é baixa, geralmente menor que 0,5%. No final de vida, essa fração torna-se fonte de ribose livre, que é um componente essencial do ATP (trifosfato de adenosina), após autólise *post mortem* (Sartori e Amancio, 2012).

O pescado é uma grande fonte proteica, pois considerando a variação entre espécies, o teor de proteína oscila de 15% a 25%. Esse apresenta todos os aminoácidos essenciais, com elevado teor de lisina. A digestibilidade da carne de pescado é acima de 95% e, conforme a espécie, é maior que das carnes em geral e do leite. Sabe-se que o pescado também é uma excelente fonte de vitaminas do complexo B e também A e D, no caso de sardinha, salmão e cavala, que são considerados mais gordurosos (FAO, 2005).

Em relação aos minerais, a carne de pescado é conhecida por conter teores nutricionalmente adequados de cálcio e de fósforo, mas também possui cobre, ferro e selênio, além de iodo, em peixes de água salgada. Em peixes de criação, a quantidade de minerais e vitaminas correspondem aos valores disponibilizados na alimentação (Sartori e Amancio, 2012).

Como alimento de reserva lipídica, o pescado é extremamente importante, pois possui cadeias de ácidos graxos poli-insaturados da série ômega, que é de extrema importância para a saúde humana. Tanto os ácidos graxos ômega 3 e 6 são precursores dos ácidos eicosanóides (prostaglandinas, tromboxanas e leucotrienos) e precisam ser fornecidos pela dieta, pois não são produzidos pelo organismo humano. O ácido graxo alfa-linolênico é precursor dos ácidos eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA), os quais além do funcionamento do sistema nervoso e reprodutivo, também são apontados como protetores cardiovasculares (Çelik, Diler e Kuçikgulmez, 2005).

### 3.4 Microbiologia do pescado

A microbiota do pescado é uma representação sanitária da água em que o animal vive. Os microrganismos presentes nos peixes são encontrados no limo superficial, nas brânquias e no intestino, sendo que o tecido muscular desse animal vivo saudável deve ser estéril. Os baixos índices de contaminantes são comumente associados a águas limpas e os índices mais elevados a águas poluídas (Morita, 2005).

Nesse contexto, após a retirada do pescado da água, ocorrem diversos fenômenos naturais que levam a sua deterioração. Esse fato irá ocorrer independentemente da forma como o pescado é manuseado, mas pode ser retardado se forem adotadas práticas adequadas de manipulação (Galvão, 2010). Após a morte do peixe, deixam de atuar os mecanismos de defesa contra a invasão microbiana. Então, ocorre a penetração dos microrganismos nos músculos através dos tecidos vasculares das brânquias, ao longo da veia caudal, através dos poros da pele, na região lateral e, finalmente, pela via intestinal. Enzimas proteolíticas e lipolíticas, de origem endógena ou bacteriana, têm um papel importante na deterioração do pescado (Viegas e Souza, 2004).

Os microrganismos mesófilos conseguem se multiplicar entre 10°C e 45°C, sendo a temperatura ideal por volta de 30°C, sabe-se que esse grupo é de grande importância, uma vez que se trata da grande maioria das contaminações dos produtos de origem animal. Já os microrganismos psicotróficos se multiplicam em temperaturas menores, abaixo de 7°C, embora a temperatura ótima seja de 20°C a 30°C. Os dois grupos de enzimas mais importantes produzidas por essas últimas são as proteases e as lipases, sendo os psicotróficos proteolíticos e lipolíticos os produtores dessas, respectivamente (Oliveira *et al.*, 2012).

Uma vez que os tecidos musculares são constituídos basicamente de proteínas, a autólise é a quebra dessas devido à ação das enzimas proteolíticas (Beirão, Teixeira e Meinert, 2000). Há também a ação de enzimas lipolíticas, que é uma das mais importantes causas de deterioração dos alimentos, levando também a liberação de compostos responsáveis pelo *off-flavor*. Esses tipos de reação diminuem o tempo de vida e o valor nutritivo dos alimentos (Shimokomaki e Olivio, 2006).

Após o *rigor mortis* e a autólise, a decomposição da carne do pescado é causada apenas por ação enzimática de origem bacteriana e, para isso, é necessário que esses microrganismos tenham acesso a elementos nutritivos e condições favoráveis como oxigênio, temperatura e umidade para proliferarem. Dentre as principais bactérias que contribuem para deterioração do pescado estão: *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp. e *Micrococcus* spp. Além dessas, podem ser encontrados os coliformes, geralmente associados à origem e manipulação do pescado (Oetterer, 2002).

Sabe-se que a vida de prateleira de um alimento não deve se estender até os microrganismos mesófilos e psicotróficos alcançarem 10<sup>7</sup> UFC/g, pois, a partir disso, o produto não possui mais condições higiênico-sanitárias adequadas ao consumo humano (ICMFS, 1986). Condições de obtenção, manipulação e estocagem adequadas podem prolongar a comercialização e consumo desse produto.

### **3.5. *Off-flavor* em pescado**

O *off-flavor* é a presença de sabores e/ou odores indesejáveis na água e no filé do peixe. É provável que a primeira vez que esse fenômeno foi citado na literatura tenha sido em um encontro da *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (Iredale e Rigby, 1972). Na década de 1970 já se estimava que a causa desse problema era a proliferação de cianobactérias e actinomicetos em água doce. Com o passar dos anos e a intensificação da produção e do uso da água, as dificuldades com o *off-flavor* só foram aumentando e gerando alto impacto comercial (Vallod *et al.*, 2007).

Nesse contexto, já foram relatados problemas com sabores e odores indesejados em carne de pescado em vários países. Robin *et al.* (2006) relataram essa adversidade com trutas (*Salmo trutta*)

na França, Guttman e Rijn (2008) descreveram a presença de *off-flavor* em cultivos de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em tanques-rede, fato que não é considerado comum, visto que esse problema acontece com mais frequência em tanques de recirculação.

De certo, os compostos com baixa toxicidade para humanos e animais, são aqueles mais relatados como causadores de *off-flavor* na cadeia produtiva de pescado. A definição de sabores e odores é uma percepção individual, resultando em explicações diferentes para uma mesma sensação. Devido a isso, é importante padronizar que, na maioria das vezes, que se menciona *off-flavor* na aquicultura é para se referir a presença de geosmina (GEO) e 2-metilisoborneol (MIB) (Tucker, 2000).

Essas duas substâncias são produzidas por elevadas populações de cianobactérias e actinomicetos (Tabela 1), causada pela eutrofização da água, sendo então absorvidas por difusão através das brânquias, pele e trato gastrointestinal e depositadas, principalmente, no tecido adiposo do peixe. Os principais gêneros de cianobactérias são: *Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Planktothrix* e *Oscillatoria*. Em relação aos actinomicetos, salienta-se: *Actinoplanes*, *Micromonospora*, *Rhodococcus*, *Streptomyces*, *Thermoactinomyces* e *Nodularia* (Biato, 2005).

Tabela 1: Tipos de micro-organismos responsáveis por *off-flavor* em carne de pescado

Tipo de organismo	País	Gênero	Metabólitos de <i>off-flavor</i>	Referências
Cianobactérias	EUA	<i>Oscillatoria</i>	MIB	Olson, Weirich e Grimm, 2001; Tucker, 2000; Schrader <i>et al.</i> , 1988; Van der Ploeg e Tucker, 1993; Martin <i>et al.</i> , 1987 e Lovell, 1983.
	Noruega		GEO	Berglind <i>et al.</i> , 1983; utkilen e Froeshaug, 1992.
	EUA e Japão		MIB	Hoson, 1992; Negoro, Ando e Ichkawa, 1988 e Izaguirre, 1983.
	Japão		GEO e MIB	Matsumoto e Tsuchiya, 1988.
	EUA		MIB	Bafford <i>et al.</i> , Schrader e Blevinset, 1993.
	Tailândia e EUA	<i>Anabaena</i>	GEO	Wu, Ma e Chou, 1991; Van der Ploeg, Tucker e Boyd, 1992; Lelana, 1987; Lovell <i>et al.</i> , 1986.
	Japão		GEO	Tsuchiya e Matsumoto, 1988; Aoyama <i>et al.</i> , 1991.
	EUA e Austrália		GEO	Bowmer <i>et al.</i> , 1992; Rosen, Meleod e Simpson, 1992.
	Europa	<i>Aphanizomenon</i>	GEO	Juttner, Hoeflacher e Wurster, 1986.
	Actinomicetos	EUA	<i>Streptomyces</i>	GEO e MIB
EUA			MIB	Sugiura <i>et al.</i> , 1994.
Japão, EUA, Grã-Bretanha			GEO	Schrader e Blevins, 1993; Wood, Williams e White, 1985; Dionigi e Champagne, 1995.
EUA				Lind e Katzif, 1988.
Japão			GEO e MIB	Tsuchiya, Matsumoto e Okamoto, 1978.

Fonte: Modificada de Robin *et al.* (2006). Legenda: GEO = Geosmina e MIB = 2-metilisoborneol.

Ainda que seja possível observar que as cianobactérias são as principais causadoras de *off-flavor* em carne de pescado, não se pode subestimar a presença dos actinomicetos, uma vez que esses são capazes de produzir a GEO e MIB ao mesmo tempo, além de outros compostos causadores de odores de menor impacto comercial (Watson e Ridal, 2004). Em tanques de produção de sistemas intensivos de criação de peixes na China, as microalgas *Melosira* sp. e *Cyclotella* sp. foram as principais responsáveis de *off-flavor* (Xu *et al.*, 2010).

Sabe-se que os peixes também podem adquirir *off-flavor* pela ingestão de cianobactérias contendo reservas de MIB e GEO, mas a principal rota de absorção é o transporte passivo dos compostos presentes na água. O principal sítio de absorção são as brânquias, devido a sua estrutura e função, aumenta-se a difusão entre sangue e água. Essas substâncias são inicialmente transportadas para os tecidos de maior suprimento sanguíneo e, depois, redistribuídas pelos tecidos ricos em gordura (Tucker, 2000).

### 3.6 Geosmina (GEO) e 2-metilisoborneol (MIB)

A Geosmina ( $C_{12}H_{22}O$ ) e o 2-metilisoborneol ( $C_{11}H_{20}O$ ) (figura 2) são álcoois terciários bicíclicos, considerados compostos terpenóides semivoláteis com forte odor e sabor na água e nos peixes (Guttman e Rijn, 2008). A GEO confere à carne de pescado um sabor de barro ou odor de terra molhada, enquanto o MIB provoca odor de mofo, mesmo em pequenas quantidades, sendo dificilmente diferenciados entre si (Pimenta e Gesto, 2011).

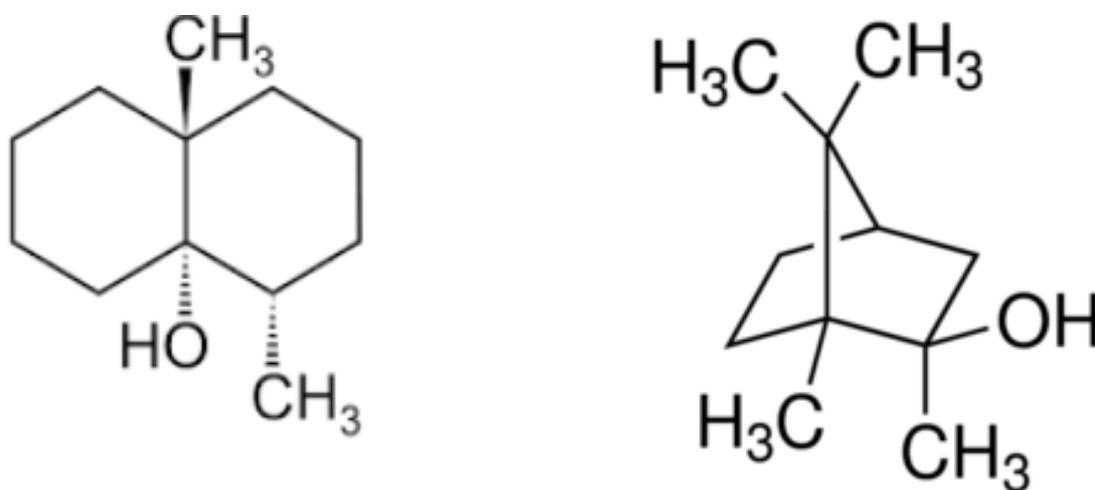


Figura 2: Estrutura química da geosmina e 2-metilisoborneol respectivamente.

Contudo, mesmo com a presença dessas substâncias na carne do pescado, até o dado momento, não existem relatos de intoxicação em animais e humanos, pois a dose tóxica é muito superior à dose letal para os peixes. Mas, todos os gêneros de microrganismos produtores de GEO e MIB possuem espécies produtoras de toxinas, que são altamente prejudiciais à saúde, sendo então a GEO e MIB indicadores (Falconer *et al.*, 1999). As toxinas produzidas por cianobactérias são

separadas de acordo com o seu modo de ação, que são: neurotoxinas, dermatotoxinas e hepatotoxinas (Moreno *et al.*, 2005).

Nesse contexto, a toxina mais encontrada nas águas ao redor do mundo é a microcistina, produzida por *Microcystis aeruginosa* e também pelo gênero *Anabaena*. Essa é resistente a altas temperaturas, mantendo então, sua toxicidade mesmo após a fervura (Sanchez *et al.*, 2007). Em 1996, no estado de Pernambuco ocorreu a morte de pessoas pela presença de cianotoxinas na água de diálise. Esse acontecimento foi de grande importância para ocorrer a regulamentação da presença dessas toxinas em água de uso humano e também na gestão em mananciais (Cybis *et al.*, 2006).

Sabe-se que a produção da geosmina e do 2-metilisborneol acontece por vias metabólicas comuns: a do ácido mevalônico e da deoxixilulose (Wanke *et al.*, 2001). O gene responsável pela produção da GEO em *Streptomyces coelicolor* é o mesmo usado na produção de ácido mevalônico, mostrando uma alta correlação entre essas duas substâncias (Gust, 2003). Pesquisas nessa área demonstraram que em ambientes favoráveis, as células de uma colônia de cianobactérias se sincronizam para produzir essas substâncias, indo de encontro ao que se achava anteriormente, que GEO e MIB eram apenas consequências secundárias de rotas metabólicas (Lazdunski, Ventre e Sturgis, 2004).

Sabe-se também que algum fator externo atua na produção de GEO e MIB, e isso foi comprovado por Gust (2003), uma vez que em condições ideais, as cianobactérias desenvolvidas em laboratórios perdem os genes responsáveis pela produção dessas substâncias.

### **3.7 Fatores predisponentes para *off-flavor***

Em corpos d'água doce existem actinomicetos, cianobactérias e fungos, mas em baixa concentração, uma vez que os organismos predominantes são as algas verdes. Sendo assim, na produção de peixes encontram-se algumas causas para a proliferação excessiva desses organismos. Um dos grandes causadores de *off-flavor* nos peixes é a eutrofização da água, que se dá, principalmente, pela elevada taxa alimentar que irá causar uma relação desbalanceada entre nitrogênio e fósforo (Robin *et al.*, 2006). A ração que não é aproveitada é convertida em amônia, fosfato, gás carbônico e outras substâncias que causam impacto no equilíbrio do sistema de criação (Baccarin e Camargo, 2005).

Sendo assim, um aspecto extremamente complexo na aquicultura é a conservação da qualidade da água em condições para criação de peixes e outros organismos aquáticos, pois isso exige um monitoramento constante e efetivo desse sistema. Essa qualidade está relacionada com a origem da água, espécies cultivadas, manejo, quantidade e composição do alimento fornecido. A água que entra no sistema tem suas características químicas e físicas influenciadas pelo aporte de matéria orgânica e nutrientes. Desse modo, percebe-se que a concentração elevada de amônia nos corpos d'água pode provocar muitas alterações nesses sistemas, entre elas, grandes variações de pH, que é causador de elevadas taxas de mortalidade nos peixes (Mercante *et al.*, 2007)

Normalmente, um sistema pode ser considerado eutrófico quando possui proliferação massiva de cianobactérias e diminuição do oxigênio disponível. Essas florações são vistas como um grande crescimento na superfície da água, sendo altamente resistentes as alterações ambientais. Isso ocorre porque, muitas vezes, o produtor utiliza a capacidade máxima de suporte em viveiros e

tanques de criação de organismos aquáticos (Sipaúba-Tavares e Braga, 2007). Com a intensificação desses sistemas, há uma tendência de se reduzir os espaços cultivados e de aumentar a dependência do uso de rações, além da inevitabilidade da renovação e aeração da água para manutenção da sua qualidade (Kubitza, 2003).

E, também, para agravar mais ainda a produção de microrganismos causadores de *off-flavor*, sabe-se que longos períodos com altas temperaturas e pouca chuva e vento são fatores predisponentes para tal (Turchini *et al.*, 2007). Altas densidades de animais na produção, baixa renovação da água, uso indevido de inseticidas que eliminam os predadores naturais das cianobactérias, como os microcrustáceos, são outros exemplos desses fatores (Yu e Souza, 2007).

### 3.8 Métodos sensoriais para determinação de *off-flavor*

A análise sensorial para detectar *off-flavor* em pescado é realizada, normalmente, com um painel de provadores, que é constituído por pessoas treinadas profissionalmente, mas também o teste sensorial pode ocorrer com consumidores comuns, com a seleção daqueles mais sensíveis. Essas duas maneiras permitem a realização dos testes com segurança, uma vez que a grande maioria dos consumidores são menos sensíveis do que o júri selecionado (Howgate, 2004).

Dessa forma, as técnicas usadas para avaliações sensoriais de carne de pescado variam de acordo com os provadores, pois cada um tem sua preferência. Alguns selecionam a musculatura próxima a cauda, enquanto outros usam a musculatura próxima as vísceras. Para isso, Lloyd e Grimm (2004) utilizaram pedaços de filé de peixe que foram aquecidos, os quais foram submetidos à análise olfatória para uma detecção mais grosseira de odores. Vale ressaltar que a sensibilidade humana para GEO e MIB é muito variável. Em relação à primeira se aceita que o limiar de detecção seja em torno de 0,02 mg/L na água e de 6 mg/kg na truta. Para o MIB, o limiar de detecção para humanos é em torno de 0,04 mg/L na água e de 0,6 mg/kg em peixes (Tucker, 2000).

Então, é difícil definir exatamente um valor limiar para esses compostos, considerando a complexidade que envolve a análise sensorial (Robin *et al.*, 2006). Alguns fatores como temperatura da água, peso do peixe e concentração lipídica na carne devem ser levados em consideração. Mais recentemente, na Austrália, foi constatado em perca-gigante (*Lates calcarifer*), peixe comum nesse país, que existe uma alta relação entre *off-flavor* e o nível de lipídeos no filé de pescado (Percival, Drabsch e Glencross, 2008).

Com a finalidade de realizar a análise sensorial, a técnica que é mais usada é a lavagem da amostra e o seu cozimento, após isso, a amostra é submetida à análise olfatória e provada pelos julgadores. Se o peixe é considerado aceitável, a população do tanque em questão é provisoriamente aprovada para a compra, e o abate é agendado. Ainda assim, outra amostra é provada antes do abate e se o *off-flavor* for detectado, o abate é cancelado. Atualmente, os resultados da análise sensorial podem ser confrontados com análises mais modernas, que irão confirmar ou não a presença de compostos voláteis na carne do filé de peixe (Souza, Mathies e Fioravanzo, 2012).

Nesse contexto, a análise sensorial tem inúmeros pontos que precisam ser mais bem estudados e redefinidos. Gautier, Boyd e Lovell (2002) concluíram que 30 exemplares de peixes são suficientes para se analisar toda a variância do tanque de cultivo. Entretanto, na prática, os processadores de peixes tentam garantir a qualidade sensorial submetendo apenas uma amostra à análise, uma semana antes da despesca (Tucker, 2000).

Embora os sentidos humanos consigam detectar a presença de GEO e MIB, mesmo em baixas concentrações, sabe-se que o poder de detecção humano é saturado rapidamente, tendo perda da sensibilidade e acarretando erros experimentais. Em contrapartida, as análises instrumentais usadas para detectar os compostos causadores de *off-flavor* em grandes amostragens possuem alto custo dos aparelhos e reagentes, além da necessidade de profissionais treinados para realizar as análises.

### 3.9 Impacto econômico do *off-flavor*

Sabe-se que a presença de gosto e odores desagradáveis em peixes é o motivo de uma grande redução no consumo de pescado (Vallo *et al.*, 2007). O *off-flavor*, juntamente com manejos inadequados, são as principais causas de grande prejuízo em países com aquicultura avançada, como EUA e França (Biato, 2005). Com a presença mundial de um mercado consumidor cada vez mais atuante e exigente, o *off-flavor* se tornará o maior problema de produção, acarretando grandes prejuízos em qualquer país do mundo (Robin *et al.*, 2006). Nos EUA, calcula-se que a GEO e o MIB são responsáveis por diminuir as vendas do *catfish* em 30%, devido à rejeição do consumidor pelo peixe com odor e sabor desagradável (Zimba *et al.*, 2012).

Inclusive, na produção do *catfish*, foi estimado um prejuízo de 50 milhões de dólares anuais e nesse cálculo foram contabilizados a perda por *off-flavor*, a mortalidade dos peixes, o atraso na despesca, a redução da produtividade, entre outros problemas derivados da qualidade inadequada da água (Kubitza, 2003). Em outro estudo nos EUA, os autores observaram que os prejuízos por *off-flavor* variaram de 3% a 16% dos custos da produção de pescado e isso representava de 10 a 60 milhões de dólares/ano (Engle, Pounds e Ploeg, 1995). Todos esses relatos não levam em conta a venda do pescado com o sabor desagradável, pois a maioria das medidas de controle de *off-flavor* são pré-abate (Pimenta e Gesto, 2011).

Além disso, Zimba *et al.* (2012) perceberam que nos países europeus em torno de 20% dos produtores tiveram problemas na produção causados por *off-flavor*, principalmente no verão. Há estudos com truta arco-íris, tilápias, camarões, salmões, lagostas e esturjões. Outro grande impacto econômico causado pelo *off-flavor* é o fato de os piscicultores americanos contratarem técnicos especializados para detectar gostos desagradáveis nos peixes em cada criadouro, e uma vez reprovados, todos os peixes são dados como não aceitáveis para a venda até que seja solucionado esse problema. Esse método atrasa o abate e o cronograma de fornecimento para comercialização. Peixes com *off-flavor*, normalmente, são encaminhados para depuração, causando mais atraso nas vendas e no retorno financeiro dessa produção (Souza, Mathies e Fioravanzo, 2012).

No Brasil, a indústria de produção e beneficiamento de pescado não possui programas de monitoramento para saber qual é o verdadeiro valor perdido devido ao *off-flavor*. Por isso, não há estudos brasileiros na literatura com esse objetivo.

### 3.10 Controle e métodos de detecção do *off-flavor* pré-abate

#### 3.10.1 Pré-despesca

Existem várias medidas que podem ser utilizadas pré-abate visando a diminuição da liberação da GEO e MIB e também a redução desses compostos no filé.

Uma dessas técnicas é o uso de algicidas, que são compostos como sais de cobre e ferro, acetato de fentina, endotal, quinoclamina, cloretos, brometos de alquilbenzilamônio, hipocloreto de cálcio, hipoclorito de sódio e diclorofena. Dentre esses já citados, os mais usados nos EUA, durante os meses quentes, são os derivados de cobre, e sua forma de atuação é inibindo a fotossíntese e a divisão celular das microalgas (Pimenta e Gesto, 2011). O grande problema do uso de algicidas é sua toxicidade para outros microrganismos do meio aquático. Outra adversidade do uso dessas substâncias é a grande liberação de GEO e MIB na água logo após o uso, devido à ruptura das membranas celulares e extravasamento do conteúdo celular, levando a preocupação com o acúmulo desses na carne de pescado.

Outra alternativa encontrada pelos produtores de *catfish* nos EUA é a separação de dois a três animais de cada lote que são abatidos e a carne é submetida à análise sensorial feita por provadores treinados. Caso todos os peixes testados sejam dados como aceitos, o lote estará apto para ser abatido. Se alguma amostra for reprovada, o lote é demarcado e retido e todo esse protocolo é repetido até que o *off-flavor* seja eliminado (Dionigi e Bett, 1998). Sabe-se ainda que em algumas produções, com o objetivo de acelerar o processo, os animais são mudados de tanque, porém, devido ao estresse, pode ocorrer perda de peixes aumentando ainda mais o custo da produção. Além de tudo isso, quando os peixes chegam na unidade de beneficiamento, um outro animal do lote é abatido e a carne é novamente submetida à análise sensorial feita por provadores treinados e, se o sabor for reprovado, os peixes são devolvidos aos produtores.

Ademais, outra técnica descrita por Shelby (2004) foi o uso de cães para farejarem e detectarem os compostos causadores de *off-flavor* na água de criação de peixes. Esse método se mostrou efetivo na detecção de GEO e MIB, mas o custo da compra e treinamento dos animais, assim como o transporte da água até o centro de pesquisa faz com que muitos aquicultores não utilizem esse método.

Outra medida que tem como função diminuir o *off-flavor* é realizar a oxidação por ozônio, que elimina a presença de GEO e MIB, uma vez que essa ação confere polaridade a essas substâncias, acrescentando a elas pressão de vapor (Park et al., 2007). Num outro estudo realizado nos EUA, em Mississippi, os autores sugeriram o uso de peixes planctófagos para serem cultivados juntamente com *catfish*. Esse policultivo tem como objetivo o controle das microalgas na água e, assim, reduzir a produção de GEO e MIB. Nesse trabalho foi usado o peixe *threadfin shad* (*Dorosoma petenense*) e teve bons resultados na época de calor; porém, no frio esse peixe não resistiu, ocorrendo sua completa mortalidade e, como consequência, houve aumento da matéria orgânica e *off-flavor* dos tanques de criação (Mischke et al., 2012)

Em contraponto às medidas citadas anteriormente, existem métodos físicos que costumam ser bem menos dispendiosos e que podem ser aplicados em criações de peixes e também nas companhias fornecedoras de água potável. A filtração é a passagem da água através de um material filtrante que pode ser, por exemplo, carvão ativado, e tem como objetivo, dentre outras coisas, adsorver as moléculas de GEO e MIB sob sua superfície (Aiub, 2006). O uso de raios UV tem como objetivo eliminar os organismos responsáveis pelo *off-flavor*, pois esses geram erros

genéticos de pareamento de DNA e de transcrição, além de produzirem radicais livres. E, por último, usa-se o ultrassom com o objetivo de se agitar as partículas, provendo a energia necessária para romper ou desativar compostos orgânicos. Esse método é muito eficaz, pois elimina substâncias odoríferas mesmo se essas estiverem em baixas concentrações (Song, 2007).

Devido à grande preocupação com os resíduos gerados pela aquicultura, cresce o uso de filtros biológicos, que usam microrganismos para remover a amônia. O filtro biológico já é conhecido há mais de dois séculos e é um dos componentes do sistema de produção de recirculação, diminuindo a quantidade de matéria orgânica e, conseqüentemente, o aparecimento de cianobactérias e actinomicetos, produtores de GEO e MIB (Guttman e Rijn, 2008).

### 3.10.2 Pós-despesca: depuração

A GEO e a MIB são acumuladas no tecido gorduroso dos peixes de forma rápida quando essas substâncias estão em altas quantidades na água. Sendo assim, sabe-se que a eliminação desses compostos do filé se dá por difusão passiva, ocorrendo então a degradação desses. Levando em conta essas condições, uma das técnicas muito utilizadas e de baixo custo é a depuração, que se fundamenta em fazer com que dias antes do abate, os peixes permaneçam em tanques de alvenaria em sistema de água corrente, limpa, aerada e em regime de restrição alimentar.

Sabe-se que a quantidade de dias de depuração irá depender da temperatura da água, atividade fisiológica, espécie, massa corporal e quantidade de tecido gorduroso de cada peixe. Devido a isso, é muito difícil definir uma quantidade ideal de dias para a realização desse método. Por exemplo, para alguns tipos de carpa, esse tempo pode chegar a até 20 dias (Robertson *et al.*, 2005). De acordo com Kubitzka (2003), a tilápia é uma das espécies que demandam menor tempo de depuração, devido ao baixo acúmulo de gordura no seu filé, sendo que esse tempo pode ser estendido a uma semana em temperaturas mais baixas. Mas, períodos muito longos de depuração e restrição alimentar podem trazer problemas imunológicos e infecções secundárias para os peixes. A técnica de depuração é um método simples que pode trazer grandes benefícios para a produção na aquicultura, mas não impede prejuízos com a baixa eficiência alimentar, mortalidade dos peixes, atraso no cronograma de abate, entre outros (Biato, 2005).

Segundo Pimenta e Gesto (2011), durante o processo de depuração, algumas amostras de peixes são direcionadas para a avaliação sensorial antes da liberação do lote para o abate. Os métodos de avaliação sensorial consistem na remoção, após o abate, da porção caudal do filé conjuntamente com a pele, pois é nesta porção que geralmente há maior acúmulo de gordura e, conseqüentemente, dos compostos causadores de *off-flavor*. Quando já é percebido o odor desagradável, a amostra é descartada, se não, essa é aquecida para volatilizar GEO e MIB, caso existam. Se ainda assim não for detectado o odor de *off-flavor*, as amostras seguem para degustação dos avaliadores treinados e, se aprovado, o lote terá a permissão para o abate, se não, a recomendação é que o processo de depuração continue. Este é um método eficiente para a redução do tempo de depuração e até mesmo para evitar a despesca prematura de alguns lotes.

Para finalizar, vale ressaltar que a adoção de boas práticas de produção é essencial para evitar problemas com *off-flavor*. Então, como critério de manejo é indicado adotar o controle da temperatura, podendo-se usar uma cobertura física, como lonas ou redes, para bloquear a entrada de luz solar. Outro método importante é a mensuração de parâmetros de qualidade, como pH,

turbidez, temperatura e oxigênio dissolvido. Também, deve-se observar se está tendo sobras de ração no horário da alimentação dos peixes, pois isso irá aumentar a eutrofização da água.

### **3.11 Controle do *off-flavor* pós-abate**

Como visto anteriormente, a maioria dos métodos usados no controle de *off-flavor* são os pré-abate, mas há alguns estudos mostrando tratamentos de sucesso no pós-abate, como uma forma de alternativa para se diminuir os prejuízos causados pelo *off-flavor* devido a rejeição dos consumidores.

Primeiramente, pode-se citar a defumação como forma de mascarar o *off-flavor*, pois essa operação fundamenta-se na destilação destrutiva da madeira que, pelo calor, desprende compostos voláteis. Estudos na Dinamarca em trutas arco-íris mostraram que essa tecnologia diminui a percepção sensorial da presença de GEO e MIB nos filés, proveniente ao acúmulo dos compostos da fumaça da madeira na carne (Zimba et al., 2012). A defumação aplicada a espécies de menor valor de mercado pode aumentar sua qualidade, devido às características de sabor, aroma e cor proporcionadas ao produto com esse processo (Souza, 2003). Porém, a defumação não é efetiva quando a concentração de GEO e/ou MIB é muito alta, geralmente em peixes provenientes de sistemas de recirculação de água.

Dentre outros estudos (Brown et al., 2012; Liu et al., 2016), um método que se destacou foi a ação do ácido cítrico em baixas concentrações em filés de *catfish* para reduzir o *off-flavor*, realizado nos Estados Unidos. Esse ácido atua nos compostos produzidos pelas algas desidratando seus álcoois terciários. O resultado foi comprovado com análise sensorial e espectrometria de massa por Forrester et al., (2002)

### **3.12 Aditivos alimentares**

Aditivo alimentar é um ingrediente que será adicionado ao alimento com o propósito de alterar as características físicas, químicas biológicas ou sensoriais do produto. A Lei nº 9782, de 26 de janeiro de 1999 (Brasil, 1999) encarrega a Agência Nacional de Vigilância Sanitária de controlar aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia de fabricação.

Sabe-se da necessidade de controlar o uso dessas substâncias, uma vez que essas podem trazer riscos para os consumidores, em especial os alérgicos, por isso, informações de qual tipo de aditivo foi usado devem obrigatoriamente estar no rótulo. O ácido cítrico está na categoria de acidulante, juntamente com o ácido láctico e tartárico, que tem como função aumentar a acidez e/ou conferir um sabor mais ácido ao produto (Salinas, 2002).

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Obtenção e preparo das amostras

Foram utilizados no experimento 27 peixes da espécie pacamã (*Lophiosilurus alexandri*), com peso entre 400 e 500 gramas, criados em tanques de recirculação no Laboratório de Aquacultura da UFMG (figura 3).



Figura 3: Tanques de recirculação do LAQUA. Fonte: Arquivo pessoal.

Os peixes foram retirados do tanque com puçá e colocados em baldes com água do próprio tanque, e esses recipientes foram parcialmente tampados com o intuito de diminuir o estresse dos peixes. Em seguida, os animais foram encaminhados para o Laboratório de Processamento, localizado no próprio LAQUA, para a realização da eutanásia. A realização do experimento foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA-UFMG (protocolo CEUA nº 282/ 2017) (anexo 1).

Para isso, cada peixe foi retirado individualmente, novamente usando o puçá, sendo contido com uma toalha para a realização da concussão (atordoamento) com martelo na depressão localizada entre os olhos do pacamã e, em seguida, foi realizada a decapitação com uma faca afiada (Brasil, 2013).

As vísceras foram eliminadas, manualmente, utilizando de um corte na região abdominal, desde a cauda até a cabeça, onde esta também foi removida com um corte em forma de “V” (aproveitamento da porção muscular). Os peixes foram, então, lavados com água destilada, para

retirada de vestígios de sangue e vísceras, e, posteriormente, filetados (figura 4) e pesados. Cada peixe foi armazenado em saco plástico estéril, etiquetado e refrigerado sob temperatura de  $6^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$  até a realização dos tratamentos, que foi no mesmo dia.



Figura 4: Filés de pacamã. Fonte: Arquivo pessoal.

#### 4.2 Tratamentos

Os três tratamentos realizados foram o controle (0% de ácido cítrico), 2% de ácido cítrico e 5% de ácido cítrico. Em um saco plástico estéril foi adicionado o filé do peixe e acrescida a solução de ácido cítrico (Ácido cítrico Anidro Para Análise – *American Chemical Society, Synth* – Diadema, São Paulo, Brasil), previamente preparada com água estéril destilada. A mistura foi homogeneizada sob agitação no “Stomacher” por 10 minutos (adaptado de Forrester *et al*, 2002). Após isso, as amostras ficaram armazenadas por 2 horas.

### **4.3 Análises microbiológicas**

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal da Escola de Veterinária da UFMG.

Todas as amostras de filé de pacamã foram pesadas e 25g foram transferidas para recipientes contendo 225 mL de solução salina peptonada 0,1%, correspondendo à diluição  $10^{-1}$ . O material foi homogeneizado por aproximadamente 60 segundos em “Stomacher”.

#### **4.3.1 Pesquisa de micro-organismos mesófilos aeróbios**

A partir das diluições preparadas até  $10^{-3}$ , 1mL de cada uma foi utilizado para inóculo em ágar PCA (*Acumedia*, Baltimore, Estados Unidos), utilizando a técnica *pour-plate*. As placas foram incubadas a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por 48 horas. Em seguida, foi feita a contagem das unidades formadoras de colônia (UFC) e o resultado foi multiplicado pelo inverso da diluição. Então, foram obtidas as médias dos resultados de cada amostra, considerando as diferentes diluições, sendo os resultados expressos em UFC/g (Morton, 2001).

#### **4.3.2 Pesquisa de micro-organismos psicotróficos aeróbios**

A partir das diluições preparadas até  $10^{-3}$ , 1mL de cada uma foi utilizado para inóculo em ágar PCA (*Acumedia*, Baltimore, Estados Unidos), utilizando a técnica *pour-plate*. As placas foram incubadas a  $7^\circ \pm 1^\circ\text{C}$  por 7 a 10 dias. Em seguida, foi feita a contagem das unidades formadoras de colônia (UFC) e o resultado foi multiplicado pelo inverso da diluição. Então, foram obtidas as médias dos resultados de cada amostra, considerando as diferentes diluições, sendo os resultados expressos em UFC/g (Brasil, 1993).

#### **4.3.3 Pesquisa de micro-organismos psicotróficos proteolíticos aeróbios**

A partir das diluições preparadas até  $10^{-3}$ , 1mL de cada uma foi utilizado para inóculo em ágar PCA (*Acumedia*, Baltimore, Estados Unidos), adicionado de leite em pó desnatado, reconstituído a 10% (m/v) e esterilizado, utilizando a técnica *pour-plate*. Em seguida, as placas foram incubadas a  $7^\circ \pm 1^\circ\text{C}$  por 7 a 10 dias. Para leitura das placas, foi adicionado ácido acético 10% por 1 minuto e, em seguida, foi feita a contagem das unidades formadoras de colônia (UFC), considerando apenas aquelas que apresentaram um halo transparente, e o resultado foi multiplicado pelo inverso da diluição. Então, foram obtidas as médias dos resultados de cada amostra, considerando as diferentes diluições, sendo os resultados expressos em UFC/g (Brasil, 1993).

#### **4.3.4 Pesquisa de micro-organismos psicotróficos lipolíticos aeróbios**

A partir das diluições preparadas até  $10^{-3}$ , 1mL de cada uma foi utilizado para inóculo em ágar Tributirina (*Himedia*, Mumbai, Índia), adicionado de 1% (v/v) de azeite de oliva extra virgem, utilizando a técnica *pour-plate*. Em seguida, as placas foram incubadas a  $7^\circ \pm 1^\circ\text{C}$  por 7 a 10 dias.

Para leitura das placas, foi adicionado ácido acético 10% por 1 minuto e, em seguida, foi feita a contagem das unidades formadoras de colônia (UFC), considerando apenas aquelas que apresentaram um halo transparente, e o resultado foi multiplicado pelo inverso da diluição. Então, foram obtidas as médias dos resultados de cada amostra, considerando as diferentes diluições, sendo os resultados expressos em UFC/g (Brasil, 1993).

#### **4.3.5 Pesquisa de NMP de coliformes totais e termotolerantes**

Para a prova presuntiva de coliformes totais foi inoculado 1 mL da diluição inicial até  $10^{-3}$ , cada diluição foi em séries de três tubos de caldo lauril sulfato de sódio (*Himedia*, Mumbai, Índia) e em seguida, os tubos foram incubados a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por 24 a 48 horas. Foi considerado positivo o tubo com formação de gás nos tubos de Durham ou efervescência quando agitado gentilmente.

Para a prova confirmativa de coliformes totais foi necessário transferir alíquotas de cada tubo positivo de caldo lauril sulfato de sódio obtido na prova presuntiva para tubos contendo caldo verde brilhante bile 2% lactose (*Himedia*, Mumbai, Índia). Os tubos foram incubados a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por 24 a 48 horas. Foi considerado positivo o tubo que indicou formação de gás nos tubos de Durham ou efervescência quando agitado gentilmente. E, para a prova de coliformes termotolerantes, foi necessário transferir alíquotas de cada tubo positivo de caldo lauril sulfato de sódio, obtido na prova presuntiva, para tubos contendo caldo *Escherichia coli* (EC) (*Himedia*, Mumbai, Índia). Então, os tubos foram incubados a  $45 \pm 0,2^\circ\text{C}$ , por 24 a 48 horas em banho-maria com circulação de água. O resultado foi expresso em número mais provável (NMP) a partir da combinação de números correspondentes aos tubos que apresentaram resultado positivo em cada um dos testes confirmativos, utilizando a tabela de McCrady (Hitchins *et al*, 2001).

### **4.4 Análises de composição química e pH**

As análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Físico-Química do Departamento de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal, com exceção da análise de lipídeos, que foi realizada no Laboratório de Nutrição do Departamento de Zootecnia da Escola de Veterinária da UFMG.

#### **4.4.1 Lipídeos**

Foram pesados 5g da amostra de filé de pacamã que foram colocados na estufa a  $105^\circ\text{C}$  durante 2 horas. Em seguida, a amostra foi transferida para um cartucho de extração com auxílio de um bastão de vidro e uma porção de algodão desengordurado. Então, a amostra foi coberta e colocada no extrator de Soxhlet acoplado ao balão e, logo após a fração lipídica foi extraída com um solvente por um período de 8 horas. O balão foi desacoplado do extrator e o cartucho retirado com a amostra e, assim, foi recuperado o solvente. Em seguida, foi colocado o solvente em banho-maria a  $65^\circ\text{C}$ , que secou na estufa a  $105^\circ\text{C}$  por 1 hora. Então, o material foi esfriado em dessecador e pesado e essa operação foi repetida até o peso se tornar constante. As análises foram feitas em triplicata (Brasil, 2011).

#### 4.4.2 Proteína

Foi pesado 1g da amostra de filé de pacamã, que foi transferida para um tubo de Kjeldahl e, em seguida, foi adicionado 5g de mistura catalítica e 20 mL de ácido sulfúrico. Então, essa mistura foi aquecida em bloco digestor por 1 hora, mantendo a temperatura de 100°C e elevando a temperatura gradativamente até atingir entre 400 e 410°C, quando, então, o líquido se tornou límpido e transparente, de tonalidade azul-esverdeada. A amostra foi retirada do aquecimento, na qual se adicionou 50 mL de água e, em seguida, se acoplou ao destilador um erlenmeyer contendo 25 mL de solução de ácido bórico a 4% com cinco ou cinco gotas de solução de indicador misto. O tubo de Kjeldahl contendo a amostra digerida foi adaptado ao destilador e foi adicionado à solução de hidróxido de sódio a 50% até que a mesma se tornou negra (cerca de 40 mL). Então, se procedeu à destilação por tempo suficiente para que toda a amônia fosse destilada. A solução receptora foi mantida fria durante a destilação e, em seguida, titulada com solução de ácido sulfúrico 0,05 mol/L até a viragem do indicador. A proteína total foi obtida pela multiplicação da % de nitrogênio total por 6,38. As análises foram feitas em triplicata (AOAC, 2010).

#### 4.4.3 Mineral fixo

Primeiramente, se aqueceu o cadinho de porcelana em forno mufla entre 530 e 550°C durante 30 minutos. Depois, o cadinho foi esfriado em dessecador e pesado. Em seguida, foram pesados 2g da amostra de filé de pacamã homogeneizada e esse conjunto foi levado ao forno mufla entre 530°C e 550°C até a carbonização completa e se obtivessem cinzas claras (cerca de 4 horas). Quando não houve o clareamento das cinzas, foram adicionadas 2 a 3 gotas de água. O material foi seco em estufa a 105°C ± 2°C e levado ao forno mufla até clareamento das cinzas. O conjunto foi esfriado em dessecador e pesado. As análises foram feitas em triplicata (Brasil, 2011).

#### 4.4.4 Umidade

Primeiramente, foi colocado o cadinho em estufa a 105°C durante 1 hora e, em seguida, foi esfriado em dessecador e pesado. Após isso, foram pesados 5g da amostra de filé de pacamã homogeneizada e levado à estufa por 3 horas, esfriado em dessecador e pesado. Em seguida, o conjunto foi levado a estufa por mais 1 hora, esfriado em dessecador e pesado novamente. Essa operação foi repetida até que se obteve massa constante. As análises serão feitas em triplicatas (Brasil, 2011).

#### 4.4.5 pH

Após a realização dos tratamentos foram determinados os valores de pH em triplicata para cada peixe, sendo utilizado o dorso do filé. O equipamento utilizado foi um pHmetro de bancada, no qual a amostra é dissolvida em água (Brasil, 2011). O modelo do pHmetro foi o *Microprocessor Ph Meter, Hanna Instruments, Woonsocket, Rhode Island, EUA*.

#### 4.5 Análise sensorial

A análise sensorial para detecção de *off-flavor* foi realizada por um painel de juízes treinados (CAAE de nº 0144.0.203.000-11), como foi descrito na metodologia para Avaliações Sensoriais Gerais de Comidas, da ISO 13301 (*International Organization For Standardization, 2002*).

Então, a análise sensorial (CAAE de nº 77748417.0.0000.5149) (anexo 2) dos filés de pacamã aconteceu no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal da UFMG.

Foram utilizados oito juízes treinados (Pedrero e Pangborn, 1989; Anzaldúa-Morales, 1994) para a realização do teste de comparação múltipla. Eles ficaram em cabines individuais, e cada um provou e analisou seis blocos de peixes, cada um com três amostras (uma de cada tratamento) para serem comparadas com o padrão (*off-flavor*), totalizando 24 amostras analisadas por juiz. As amostras de filé de pacamã foram cozidas no vapor sem adição de tempero e o padrão do tamanho da amostra foi de 2 cm<sup>3</sup>. Os juízes receberam um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (anexo 3) e também um questionário com uma escala hedônica com as notas 1 (nenhuma diferença do padrão), 2 (regular diferença do padrão) e 3 (extrema diferença do padrão), opção de agradável/ desagradável e espaço para observações (anexo 4).

#### **4.6 Delineamento experimental**

O delineamento das análises físico-químicas e microbiológicas foi inteiramente ao acaso, no qual cada um dos três tratamentos teve sete repetições (filés de pacamã) e o número amostral foi de 21 unidades experimentais. O delineamento da análise sensorial foi em blocos ao acaso, no qual o filé de pacamã foi o bloco (seis), sendo que todos eles foram submetidos aos três tratamentos, totalizando o número amostral de 18. Essa estratégia foi utilizada uma vez que não tínhamos material suficiente para fazer todas as análises com apenas um delineamento, além desse último método diminuir o erro experimental (Sampaio, 2002).

#### **4.7 Análise estatística de dados**

Para as análises físico-químicas e microbiológicas foi avaliado se as distribuições das respostas eram normais, utilizando o teste de homocedastidade (Shapiro Wilk) e de normalidade (Bartlett). Todas as respostas das análises físico-químicas se comportaram como variáveis com distribuição normal e, desta forma, tiveram suas médias comparadas por análise de variância, em modelo estatístico inteiramente ao acaso, utilizando teste de Tukey, a um nível de significância ( $\alpha$ ) de 0,05. Todas as análises microbiológicas não apresentaram distribuição normal, conseqüentemente, seus resultados foram submetidos à transformação logarítmica (dados +1) para serem comparados pelo teste T, também a um nível de significância ( $\alpha$ ) de 0,05. Para a análise sensorial, as respostas foram submetidas ao teste não paramétrico de Friedman com significância ( $\alpha$ ) de 0,05 (Sampaio, 2002). O programa de estatística usado foi o *Statistical Analysis System* (SAS), Cary, Carolina do Norte, EUA, versão 9.0, 2004.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Análises microbiológicas

#### 5.1.1 Coliformes totais e termotolerantes

As análises para coliformes totais dos três tratamentos, utilizando o caldo lauril sulfato e sendo confirmado com o caldo verde brilhante, indicaram resultado  $< 3,0$  NMP/g, que é o menor valor que pode ser encontrado nessa técnica. Para análise de coliformes termotolerantes, no qual, se usou o caldo EC, também foram obtidos valores  $< 3,0$  NMP/g. Devido a todos os valores terem sido iguais, não se realizou análise estatística dos dados. Apenas três tubos do caldo lauril, na diluição  $10^{-1}$ , apresentaram resultado que indicou a necessidade de realização das provas confirmativas com caldo verde brilhante e EC. No entanto, não houve turvação dos meios ou formação de gás na confirmação.

Esses resultados demonstraram a segurança sanitária do sistema de recirculação de água adotado no LAQUA para produção de pacamãs. Em relação às etapas de abate e processamento, percebeu-se que essas foram realizadas baseando-se em normas de Boas Práticas de Fabricação (BPF). Todos esses procedimentos foram adotados a fim de garantir a qualidade higiênico-sanitária e a conformidade dos alimentos com a legislação sanitária. Na Resolução-RDC nº 12/01 da ANVISA (Brasil, 2001), que normatiza os limites microbiológicos aceitáveis para inspeção sanitária de pescado fresco e refrigerado, não há especificação de padrões para coliformes totais; porém, para coliformes termotolerantes, o limite estabelecido é de  $10^2$  UFC/g. Esse último grupo de microrganismos é de grande importância, pois são indicadores de contaminantes que podem ser altamente patogênicos, como algumas linhagens de *E. coli* (Cunha e Silva, 2006).

Esses microrganismos são importantes indicadores higiênico-sanitários e a presença deles em alimentos indica inadequada produção, manipulação ou armazenamento dos alimentos (Franco e Landgraf, 2008). Devido ao crescimento de ações poluidoras e contaminadoras do ambiente, o reuso da água em sistemas de recirculação se torna preocupante, pois pode ser veículo de contaminação do pescado por microrganismos possivelmente patogênicos para o ser humano. Por isso, e visando a sanidade desse sistema, esses compreendem filtros físicos e biológicos para evitarem a contaminação da água e, conseqüentemente, dos peixes (Koneman *et al.*, 2001; Pádua, 2003).

Mas, diferentemente desses resultados, há muitos relatos de contaminação em filés de peixe por coliformes totais ou termotolerantes na literatura. Vieira *et al.* (2000) analisaram 60 amostras de filés de peixes de tilápias coletados ao longo da cadeia de processamento de um frigorífico na Paraíba e os valores encontrados de coliformes totais variavam de 3,0 a 2400 NMP/g. Costa, Vieira e Albuquerque (2009), ao isolarem 50 culturas positivas para coliformes em amostras de tilápias, identificaram 74% como *E. coli*, confirmando a contaminação por material fecal. Em 2012, ao analisarem filés de peixe-serra (*Scomberomerus brasiliensis*) conservados no gelo, 48,33% das amostras tiveram seus resultados para coliformes totais entre 3 e 1100 NMP/g. É válido ressaltar que o gelo utilizado na conservação do pescado deve ser produzido a partir de água potável e possuir boa procedência, pois apesar de o gelo não ser um meio ótimo para o crescimento bacteriano, sabe-se que ele pode ser uma fonte de contaminação (Ferreira *et al.*, 2014).

Outra grande preocupação relacionada à presença de coliformes em carne de pescado é o aumento de consumo de peixe cru e a alta manipulação desses, podendo ser um grave problema de saúde pública. Santos *et al.* (2012) encontraram 80% das amostras de *sushi* fora do padrão exigido para coliformes termotolerantes, em Aracaju, Sergipe. Resultados semelhantes foram observados em Macéio, Alagoas, pois Pereira (2008) identificou a presença de coliformes termotolerantes em 90% das 30 amostras de *sushi* analisadas, indicando condições higiênico-sanitárias insatisfatórias. Em outros países, Taiwan (Fang *et al.*, 2003) e Alemanha (Atanassova, Reich e Klein, 2008), também foram demonstrados problemas com contaminação de coliformes termotolerantes em *sushis* frescos.

### 5.1.2 Microrganismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos, psicrotróficos lipolíticos e psicrotróficos proteolíticos

A tabela 2 apresenta os resultados das análises microbiológicas da carne de pacamã submetida aos três tratamentos com e sem ácido cítrico.

Tabela 2: Valores mínimos e máximos e medianas das contagens de microrganismos em filés de pacamã tratados com 0%, 2% e 5% de ácido cítrico

Parâmetro microbiológico	Tratamentos								
	0% de ácido cítrico			2% de ácido cítrico			5% de ácido cítrico		
	Mínimo	Máximo	Mediana	Mínimo	Máximo	Mediana	Mínimo	Máximo	Mediana
Mesófilos (UFC/g)	3,0x10 <sup>2</sup>	7,3x10 <sup>2</sup>	4,1x10 <sup>2b</sup>	0	1,4x10 <sup>2</sup>	9,0x10 <sup>1a</sup>	0	3,0x10 <sup>0</sup>	2,0x10 <sup>0a</sup>
Psicrotróficos (UFC/g)	4,6x10 <sup>2</sup>	3,0x10 <sup>3</sup>	3,6x10 <sup>2b</sup>	3,0x10 <sup>0</sup>	6,9x10 <sup>1</sup>	2,7x10 <sup>1a</sup>	0	5,6x10 <sup>1</sup>	2,1x10 <sup>1a</sup>
Psicrotróficos lipolíticos (UFC/g)	1,2x10 <sup>2</sup>	5,4x10 <sup>2</sup>	3,6x10 <sup>2b</sup>	3,0x10 <sup>0</sup>	8,5x10 <sup>1</sup>	2,1x10 <sup>1a</sup>	3x10 <sup>0</sup>	4,3x10 <sup>1</sup>	3,3x10 <sup>1a</sup>
Psicrotróficos proteolíticos (UFC/g)	4,4x10 <sup>2</sup>	8,5x10 <sup>2</sup>	5,7x10 <sup>2b</sup>	0	3,3x10 <sup>1</sup>	3,0x10 <sup>0a</sup>	0	3,6x10 <sup>1</sup>	1,0x10 <sup>1a</sup>

Medianas seguidas por letras distintas na mesma linha se diferem pelo Teste T ( $p \leq 0,05$ ).

Os resultados demonstraram que a contagem microbiana das amostras do tratamento controle (0% de ácido cítrico) foi significativamente maior ao ser comparada com os valores registrados nas amostras dos tratamentos com 2% e 5% de ácido cítrico, que foram iguais entre si. Isso evidenciou que o ácido cítrico teve um papel supressor no crescimento de microrganismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos, psicrotróficos lipolíticos e psicrotróficos proteolíticos.

Sabe-se que o pH é um fator intrínseco que modula o crescimento bacteriano. Ao acidificar o meio, tratamentos com 2 e 5% de ácido cítrico, o valor desse parâmetro foi reduzido. O pH ótimo para o crescimento da maioria das bactérias é entre 6,5 e 7,5, devendo-se levar em consideração que bactérias deteriorantes e patogênicas possuem uma faixa mais estreita. Devido a diminuição do pH do meio, ocorrem mudanças metabólicas nos microrganismos envolvidos, como maior gasto de energia para manter o pH intracelular, desnaturação de proteínas, alteração de enzimas responsáveis por atividades vitais da célula, e tudo isso corrobora para uma menor velocidade de crescimento microbiano (Forsythe, 2013).

Como um dos resultados desse experimento, teve-se que o ácido cítrico foi um fator antimicrobiano. Há vários métodos sendo utilizados com o objetivo de reduzir a carga microbiana do pescado. Eles podem ter princípios químicos ou físicos, tais como: cloro, ultrassom e ozônio (Oliveira *et al.*, 2008). Nesse contexto, Campos *et al.* (2005) investigaram a eficiência do armazenamento de sardinha (*Sardina pilchardus*) por meio do uso de gelo fluido ozonizado, de gelo fluido e de gelo em escamas. Como resultado, os autores observaram que as sardinhas armazenadas em gelo fluido ozonizado apresentaram uma contagem mais baixa de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos, anaeróbios, coliformes, microrganismos lipolíticos e proteolíticos no músculo da sardinha, assim como, na contagem superficial de mesófilos e psicrotróficos na pele da mesma, quando comparados com outros tratamentos. Campos *et al.* (2006) investigaram a eficiência do ozônio no armazenamento do linguado (*Psetta maxima*) e observaram que a redução da carga microbiana causada pela ação do ozônio dobrou a vida de prateleira do pescado.

Tomita *et al.* (2015) estudaram a eficácia do ozônio na água de processamento da pescada goeta (*Cynoscion jamaicensis*) e demonstraram redução de microrganismos mesófilos após a lavagem com água ozonizada a 2 ppm. Blogoslawski e Stewart (2011) estudaram a conservação do salmão (*Salmo salar*) em água do mar ozonizada. O salmão que foi conservado em gelo comum apresentou sinais de degradação no quarto dia, em contraposição, o salmão preservado no gelo ozonizado manteve-se fresco durante oito dias.

Todas as contagens realizadas nas análises microbiológicas foram baixas, inclusive no tratamento controle, sendo a maior contagem  $7,3 \times 10^2$  UFC/g para mesófilos no tratamento de 0% de ácido cítrico. A *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF) recomenda que as populações de microrganismos mesófilos e psicrotróficos em peixes destinados ao consumo humano não devem ser superiores a  $10^7$  UFC/g, sendo que em contagens até  $10^5$  UFC/g, as amostras são consideradas de boa qualidade e de  $10^6$  UFC/g, como de qualidade aceitável (ICMSF, 1986). Portanto, a qualidade microbiológica dos filés frescos de pacamã seria classificada como em ótimo estado para o consumo. Apesar de a legislação brasileira (Brasil, 2001) não possuir padrões para inspeção de carne de pescado, no que se refere a limites de contagens de micro-organismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos, tais análises foram realizadas para avaliar a ação do ácido cítrico sobre as mesmas.

Os resultados desse trabalho vão de encontro aos achados da maioria dos estudos microbiológicos realizados com pescado fresco, refrigerado e congelado, e isso se deve ao fato de esses alimentos se deteriorarem muito rápido devido a suas características intrínsecas e também por possuírem pele, brânquias e intestino, que são fontes de contaminação, tão próximas aos filés. Desse modo, Soares *et al.* (2011) analisaram 50 amostras de filés de peixes comercializados em uma cidade de São Paulo e os resultados máximos obtidos para contagem de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos foram, respectivamente,  $1 \times 10^9$  UFC/g e  $1,2 \times 10^9$  UFC/g. Na análise de filé de

tilápia, ao longo do processamento, a contagem de psicotróficos variou de  $4,3 \times 10^6$  UFC/g para o filé após a retirada da pele a  $2,6 \times 10^7$  UFC/g para o filé embalado (Bartolomeu *et al.*, 2011).

Os resultados das contagens de micro-organismos aeróbios psicotróficos lipolíticos e proteolíticos foram muito baixos e sabe-se que contagens altas desses microrganismos deteriorantes afetam a vida de prateleira do pescado, principalmente, por realizarem atividades proteolíticas e lipolíticas, e pela capacidade de crescimento e multiplicação em temperaturas de refrigeração (Lanzarin *et al.*, 2011). A microbiota psicotrófica do pescado é representada principalmente por *Pseudomonas* spp., *Alteromonas* spp., *Shewanella putrefasciens*, *Acinetobacter* spp. e *Moraxella* spp. (Forsythe, 2013).

Peixoto *et al* (2013) isolaram *Pseudomonas aeruginosa* da curimba, um peixe presente em vários rios brasileiros e, além disso, foi realizado o antibiograma pelo método disco-difusão e verificou-se que essa amostra era resistente a duas das oito drogas testadas. Boulares *et al.* (2013) isolaram bactérias psicotróficas, Gram-negativo, em 80 amostras de 12 frutos do mar. As bactérias mais isoladas foram: *Pseudomonas fluorescens*, *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas putida* e *Photobacterium damsela*. Foram testadas as atividades lipolíticas e proteolíticas desses microrganismos e essas tiveram altas taxas, demonstrando o poder de deterioração dessas bactérias.

## 5.2 Composição química e pH

A tabela 3 apresenta os resultados das análises de composição química e pH da carne de pacamã submetida aos três tratamentos com e sem ácido cítrico.

Tabela 3. Médias, desvios-padrão (DP), e coeficientes de variação (CV) de análises físico-químicas de filés de pacamã *in natura* tratados com 0%, 2% e 5% de ácido cítrico

Parâmetro físico-químico	Tratamentos					
	0% de ácido cítrico		2% de ácido cítrico		5% de ácido cítrico	
	Média± DP	CV	Média± DP	CV	Média± DP	CV
<b>Proteína (%)</b>	16,07±0,67	4,1	16,62±1,14	6,83	16,89±1,35	7,99
<b>Gordura (%)</b>	1,82±0,43	17,9	1,51±0,38	15,8	1,99±0,27	11,23
<b>Mineral fixo (%)</b>	1,34±0,17	13,04	1,30±0,30	22,91	1,50±0,35	23,49
<b>Umidade (%)</b>	79,77±0,82	1,0	80,25±0,76	0,94	79,74±0,35	0,43
<b>pH</b>	6,50±0,07c	1,09	5,28±0,15b	2,81	4,54±0,09a	1,97

Médias seguidas por letras distintas na mesma linha se diferem pelo Teste de Tuckey ( $p \leq 0,05$ ).

Pode-se perceber que a ação do ácido cítrico não interferiu na composição química dos filés de pacamã, uma vez que não houve diferença estatística entre os tratamentos. Em relação ao pH, houve diferença entre todos os tratamentos, uma vez que a concentração de ácido cítrico aumentou e acidificou o meio devido a liberação de  $H^+$ , reduzindo o pH.

O pH do peixe vivo situa-se entre 7,0 e 7,2. Após a morte, o glicogênio é convertido em ácido láctico que, ao se acumular no músculo, reduz o pH para 6,2 a 6,5 no peixe recém abatido. Em relação ao pH da carne de pacamã, a média encontrada no grupo controle foi de 6,5, com desvio-padrão e um coeficiente de variação muito baixos, demonstrando que as respostas variaram pouco entre si. Esse valor pode ser justificado pelo fato de que os peixes foram criados em tanques de recirculação, o que permitiu uma rápida captura, não havendo grande esforço. Portanto, as reservas de glicogênio foram preservadas (Soares e Gonçalves, 2012).

Hernández *et al.* (2009) observaram valores de pH entre 6,44 e 6,71 para corvina (*Argyrosomus regius*) estocadas em gelo. Odoli (2009) encontrou valores entre 6,5 e 6,7 em tilápias do Nilo conservadas a 1°C. Pela nova legislação vigente (Brasil, 2017), o Regulamento de Inspeção Industrial Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), todos esses valores obtidos estão de acordo com a nova norma, ou seja, inferior a 7. Siqueira (2001), em estudos desenvolvidos também em tilápia, observou que desde o primeiro dia de estocagem os valores médios de pH encontravam-se fora dos limites.

Há poucos relatos na literatura sobre a composição química do filé de pacamã. Iwamoto (2015) descreveu a composição do peixe nativo e do peixe criado em cativeiro. Os valores médios relatados pelo autor, de teores percentuais de proteína, gordura, mineral fixo e umidade foram respectivamente 17,18%, 1,40%, 1,02% e 80,64%, para carnes de peixes de cativeiro. Valores próximos foram encontrados no presente estudo (tabela 3). Essa mesma autora descreveu o perfil de ácidos graxos desse peixe, demonstrando que aqueles que estão presentes em maior quantidade são o ácido palmítico (C16:0) e ácido oléico (C18:1). Ramos Filho *et al.* (2008) também observaram que esses dois ácidos graxos foram os mais encontrados em carne de peixes nativos brasileiros, tais como o pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*), cachara (*Pseudoplatystoma fasciatum*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e dourado (*Salminus maxillosus*).

A composição química da carne da tilápia, peixe de aquicultura de água doce mais popular no Brasil, se assemelha com os resultados encontrados para pacamã. Yanar, Celic e Akamca (2006) encontraram valores de 76,87% de umidade, 18,23% de proteína, 1,09% de mineral fixo e 2,64% de lipídeos. Simões *et al.* (2007) encontraram valores similares a esses também em tilápias.

Em relação à composição química da carne de outras espécies de peixes nativos brasileiros, pode-se citar a piramutaba (*Branchyplatystoma vaillant*), endêmica nos rios Amazonas e Pará, que tem 80,30% de umidade, 18,47% de proteína, 1,01% de cinzas e 0,43% de lipídeos. Outros exemplos são a dourada (*Sparus aurata*) e a gurijuba (*Arius luniscutis*), também presente nesses rios, que possuem valores semelhantes àqueles verificados na carne da piramutaba (Bentes *et al.*, 2009).

### 5.3 Análise Sensorial

Após análise de dados das respostas dos juízes nos questionários, obtiveram-se os resultados da análise sensorial dos filés de pacamã, cozidos no vapor, após passarem pelos três tratamentos (tabela 4).

Tabela 4. Valores mínimos e máximos e medianas das notas atribuídas pelos provadores na análise sensorial de filés de pacamã, tratados com 0%, 2% e 5% de ácido cítrico

Tratamento	Mínimo	Máximo	Mediana
0% de ácido cítrico	1	2	1a
2% de ácido cítrico	1	3	2b
5% de ácido cítrico	2	3	3c

**Medianas seguidas por letras distintas na mesma coluna se diferem pelo Teste de Friedman ( $p \leq 0,05$ ).**

Dessa forma, pode-se observar que houve diferença estatística entre os três tratamentos, no qual o controle (0% de ácido cítrico) teve como mediana a nota 1 (nenhuma diferença do padrão), o tratamento com 2% de ácido cítrico teve a nota 2 (regular diferença do padrão) como mediana e o tratamento com 5% de ácido cítrico obteve nota mediana 3 (extrema diferença do padrão). Essa análise foi feita em blocos ao acaso, pois uma vez que o mesmo filé de peixe foi submetido aos três tratamentos e provado pelo mesmo juiz, se diminui o erro experimental.

No questionário que os provadores receberam era possível destacar se a diferença entre o padrão era agradável ou desagradável. No tratamento com 5% de ácido cítrico, todos os juízes marcaram que a diferença era agradável. Era esperado também que os provadores realizassem observações que achassem pertinentes e quatro dos oito desses escreveram que as amostras do tratamento controle estavam com gosto e odor muito forte de “barro”, demonstrando como a ausência do ácido cítrico manteve a amostra com altas concentrações de GEO e MIB. Nenhum dos provadores relatou sentir gosto de ácido cítrico e isso, provavelmente, se deve ao fato de o paladar humano já estar adaptado a essa substância, além de os tratamentos terem sido realizados com baixas concentrações. O alimento com a presença mais forte dessa substância e que é consumido em maior quantidade é o limão. Brighenti *et al.* (2011) relataram que dentre os limões comerciais no Brasil, a concentração de ácido cítrico variou de 5,40% a 8,73%.

Nesse experimento, o efeito de apresentação foi levado em consideração para melhorar a capacidade de detecção na diferença de sabor, uma vez que as amostras foram apresentadas fora da ordem dos tratamentos e com números aleatórios.

Nesse contexto, o fato de os provadores observarem uma grande diferença das amostras dos tratamentos com ácido cítrico a 2% e 5% em relação ao padrão se deve a circunstância de que esse ácido produz uma reação orgânica de eliminação, que é a desidratação dos álcoois terciários presentes na estrutura da GEO e do MIB, alterando a fórmula química desses, uma vez que perdem seu grupo hidroxila. Esses tipos de reações originam dois compostos, um orgânico e a água, que é inorgânico (Forrester *et al.*, 2002). O experimento sensorial foi baseado nas pesquisas dos últimos autores citados e as diferenças entre um e outro é que esses optaram pelas concentrações de ácido cítrico de 0%, 0,5% e 2%, uma vez que eles utilizaram vácuo ao realizarem os

tratamentos, o que intensifica a ação do ácido cítrico nos filés de peixe. Além disso, o outro experimento foi realizado com *catfish*, que é um tipo de bagre, assim como o pacamã.

Brown *et al.* (2012) relataram que, ao submeterem filés de *catfish* a uma mudança de pH, ocorreu a redução das substâncias que causam *off-flavor* nos peixes. Essa mudança foi realizada com ácido fosfórico ( $H_3PO_4$ ) para que o pH fosse reduzido até 2,5. Como resultado, após a análise sensorial, se percebeu que esse método melhorou a aceitabilidade do produto que perderia mercado por estar com gosto e aroma fortes de GEO e MIB.

Recentemente, Liu *et al.* (2016) executaram, na China, vários tratamentos químicos em filés de *catfish* para reduzir o *off-flavor*. Foram realizadas análise sensorial e espectrometria de massa, e como resultado, a combinação de polifenóis de chás (obtidos em uma empresa de aditivos alimentares, com pureza de 85%) e ácido acético ( $CH_3COOH$ ) reduziram mais significativamente as concentrações de GEO e MIB. Um dos outros tratamentos foi a associação de ácido cítrico com os polifenóis de chás, que também ocasionaram uma redução do GEO e MIB, mas o tratamento mencionado primeiramente teve um melhor desempenho. Os autores explicam que a redução do *off-flavor* nesse experimento também é dada pela desidratação dos álcoois terciários por essas substâncias.

## 6. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que a ação do ácido cítrico é eficaz na redução da percepção sensorial de *off-flavor* em filés de pacamã. Essa substância não interferiu na composição química dos filés de peixe, mas influenciou de maneira benéfica na redução da carga microbiana dos mesmos.

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Devido a presença de um mercado consumidor cada vez mais exigente, o *off-flavor* é responsável por grandes perdas econômicas na cadeia de produção de peixes de água doce em todo mundo. Esse trabalho corroborou com uma técnica que reduz os gostos desagradáveis em filés de pacamã analisado pelo método da análise sensorial. Seriam necessários estudos complementares para que se possa quantificar as reduções dos valores de GEO e de MIB.

O ácido cítrico se mostrou muito eficiente na diminuição da carga microbiana dos filés, podendo prolongar a vida de prateleira desse peixe devido à menor taxa de deterioração. Um próximo trabalho com objetivo de avaliar a interferência desse ácido em filés de peixes refrigerados e congelados ao longo do tempo poderia trazer melhores respostas sobre a ação dessa substância na microbiota do pacamã.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIUB, J. A. Fitotratamento de efluente de aquacultura com *Azolla filiculoides*. *Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Agronomia*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2006.

ANZALDÚA-MORALES, A. La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. *Acribia*. Zagora, p.198, 1994.

AOAC International. *Official Methods of Analysis of AOAC International, Official Method 981.10*. Gaithersburg, ed. 18, 2010.

ATANASSOVA, V.; REICH, F.; KLEIN, G. Microbiological quality of sushi from sushi bars and retailers. *Journal of Food Protection*, v. 71, p. 860-864, 2008.

BACCARIN, A.E. e CAMARGO, A.F.M. Characterization and evaluation of the feed management on the effluents of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) culture. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, Curitiba, v. 48 n. 1, p. 81-90, 2005.

BANG, H. O.; DYERBERG, J.; HJORNE, N. The composition of food consumed by Greenland Eskimos. *Acta Medica Scandinavica*, v. 1, n. 200, p. 69-73, 1976.

BANG, H. O.; DYERBERG, J.; Plasma lipids and lipoproteins in Greenlandic West-coast Eskimos. *Acta Medica Scandinavica*, v. 1, n. 92, p. 85-94, 1972.

BARTOLOMEU, D. A. F. S.; DALLABONA, B. R.; MACEDO, R. E.; KIRSCHNIK, P. G. Contaminação microbiológica durante as etapas de processamento de filé de tilápia (*Oreochromis niloticus*). *Archives of Veterinary Science*, v.16, n.1, p.21-30, 2011.

BEIRÃO, L. H.; TEIXEIRA, E.; MEINERT, E. M. Processamento e industrialização de moluscos. *ITAL*, Campinas, p. 38-84, 2000.

BENTES, A. S.; SOUZA, A. L.; MENDONÇA, X. M. F. D.; SIMÕES. Caracterização física e química e perfil lipídico de três espécies de peixes Amazônicos. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, v. 3, n. 2, p. 97-108, 2009.

BIATO, D. O. Detecção e controle do off flavor em Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), por meio de depuração e defumação. *Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba*, 120p, 2005.

BIOBRASIL. Efetividade das ações de conservação de peixes ameaçadas de extinção. *Biodiversidade Brasileira*. 2014.

BLOGOSLAWSKI, W. J. e STEWART, M. E. Some Ozone Applications in Seafood. *Ozone: Science & Engineering: The Journal of the International Ozone Association*, v.33, n.5, p.368-373, 2011.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial da União*, Brasília, 02 de janeiro de 2001.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Lei nº 9.782 de 26 de janeiro de 1999. Sistema Nacional de Vigilância Sanitária. *Diário Oficial da União*, Brasília, 26 de janeiro de 1999.

BRASIL. Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento. Decreto nº 9013 de 29 de março de 2017. Secretaria de Defesa Agropecuária (DISPOA). *Diário Oficial da União*, Brasília, 29 de março de 2017.

BRASIL. Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento. Instrução Normativa nº 25, de 03 de junho de 2011. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico Químicos para Controle de Pescado e Seus Derivados. *Diário Oficial da União*, Brasília, 03 de junho de 2011.

BRASIL. Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária (DISPOA). Portaria nº 101, de 11 de agosto de 1993. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes. *Diário Oficial da União*, Brasília, 11 de agosto de 1993.

BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Conselho Nacional de Controle de Experimentação (CONCEA). Diretrizes da prática de eutanásia do CONCEA. *Diário Oficial da União*, Brasília, 2013.

BRIGHENTI, D. M.; CARVALHO, C. F.; BRIGHENTI, S. M. C.; CARVALHO, S. M. Inversão da sacarose utilizando ácido cítrico e suco de limão para preparo de dieta energética de *Apis mellifera Linnaeus*, 1758. *Ciência e Agrotecnologia*. Lavras, v. 35, n. 2, p. 297-304, 2011.

BROWN, T. M.; CERRUTO-NOYA, C. A.; SCHRADER, K. K.; KLEINHOLZ, C. W.; DEWITT, C. A. M. Evaluation of a Modified pH-Shift Process to Reduce 2-Methylisoborneol and Geosmin in Spiked Catfish and Produce a Consumer Acceptable Fried Catfish Nugget-Like Product. *Journal of Food Science*, v. 77, n. 10, 2012.

BOULARES, M., MANKAI, M. AOUADHI, C., OLFA, B. M.; HASSOUNA, M. Characterisation and identification of spoilage psychotrophic Gram-negative bacteria originating from Tunisian fresh fish. *Annals Microbiology*, v. 63, p. 733-744, 2013.

CAMPOS, C.A.; LOSADA, V.; RODRIGUEZ, O.; AUBOURG, S.P. e BARROS-VELAZQUEZ, J. Effects of storage in ozonized slurry ice on the sensory and microbial quality of sardine. *International Journal of Food Microbiology*, v. 103, n. 3, p. 121-130, 2005.

CAMPOS, C.A.; LOSADA, V.; RODRIGUEZ, O.; AUBOURG, S.P. e BARROS-VELAZQUEZ, J. Evaluation of ozone-slurry ice combined refrigeration system for the storage of farmed turbot (*Psetta maxima*). *Food Chemistry*, v. 97, n. 2, p. 223-230, 2006.

ÇELIK, M.; DILER, A.; KÜÇÜKGÜLMEZ, A. A comparison of the proximate compositions and fatty acid of zander (*Sander lucioperca*) from two different regions and climatic conditions. *Food Chemistry*, Champaign, v. 92, n. 4, p. 637-641, 2005.

CORDEIRO, N. I. S., COSTA, D. C., SILVA, W.S., TAKATA, R., MIRANDA – FILHO, K. C., LUZ, R. K. High stocking density during larviculture and effect of size and diet on production of juvenile *Lophiosilurus alexandri* Steindachner, 1876 (Siluriformes: pseudopimelodidae). *Journal of Applied Ichthyology*. V.32, p.61-66, 2016.

- COSTA, D.C.C.; SILVA, W. S.; MELILLO-FILHO, R., FILHO, K.M.C.; SANTOS, J.C.E.S.; LUZ, R.K. Capture, adaptation and artificial control of reproduction of *Lophiosilurus alexandri*: a carnivorous freshwater species. *Animal Reproduction Science*, v.159, 148-154p, 2015.
- COSTA, R.A.; VIEIRA, G.H.F.; ALBUQUERQUE, I.A. Enterobactérias em pescado oriundo da Lagoa da Fazenda, Sobral, CE. *Revista Higiene Alimentar*, v.23, p.102-105, 2009.
- CUNHA, M. A. e SILVA, M. R. e. Métodos de detecção de micro-organismos indicadores. *Saúde e Ambiente em Revista*, Duque de Caxias, v.1, n.1, p.09-13, 2006.
- CYBIS, L. F.; BENDATI, M. M.; MAIZONAVE, C. R. M.; WERNER, V. R.; DOMINGUES, C. D. Manual para estudo de cianobactérias planctônicas em mananciais de abastecimento público: caso da represa Lomba do Sabão e Lago Guaíba. ABES. Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Rio de Janeiro, p. 64, 2006.
- DIONIGI, C. P.; BETT, K. Variation in channel catfish *Ictalurus punctatus* flavor quality and its quality control implications. *Journal of the World Aquaculture Society*, Baton Rouge, v. 29, n. 2, p. 140-154, 1998.
- ENGLE, C. R.; POUNDS, E. L.; PLOEG, M. The cost of off-flavor. *Journal of the World Aquaculture Society*, Baton Rouge, v. 26, p. 297-306, 1995.
- FALCONER, L. F.; BARTRAM, J.; CHORUS, I.; KUIPER-GOODMAN, T. H.; BURCH, M.; CODD, G. Toxic cianobactérias in water: a guide to their public health- consequences, monitoring and management. London, cap. 5, p. 155-178, 1999.
- FANG, T.J.; WEI, Q.K.; LIAO, C.W.; HUNG, M.J.; WANG, T.H. Microbiological quality of 18 degrees C ready-to-eat food products sold in Taiwan. *International Journal of Food Microbiology*, v.80, p. 241-250, 2003.
- FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. *Fisheries and Aquaculture topics. Chemical elements of fish. Topics Fact Sheets. Fisheries and Aquaculture Department*. Roma, 2005.
- FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. *The State of World Fisheries and Aquaculture: Opportunities and Challenges*. Roma, 2014.
- FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. *The State of World Fisheries and Aquaculture*. Roma, 2012.
- FERREIRA, E. M.; LOPES, I. S.; PEREIRA, D.M.; RORIGUES, L. C. R. Qualidade microbiológica do peixe serra (*Scomberomerus brasiliensis*) e do gelo utilizado na sua conservação. *Arquivo do Instituto Biológico*, São Paulo, v.81, n.1, p. 49-54, 2014.
- FIGUEIREDO, R.A.C.R.; SOUZA, R.C.; BEZERRA, K.S.; CAMPECHE, D.F.B.; CAMPOS, R.M.L.; SOUZA, A.M.; MELO, J.F.B. Relação proteína: carboidrato no desempenho e metabolismo de juvenis de pacamã (*Lophiosilurus alexandri*). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 66, p.1567-1576, 2015.
- FRANCO, B. D. G. M. e LANDGRAF, M. *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo: Atheneu. P. 305, 2008.

FORRESTER, P. N.; PRINYAWIWATKUL, J. S.; GODBER; PLHAK, L. C. Treatment of catfish fillets with citric acid causes reduction of 2-Methylisoborneol, but not musty flavor. *Journal of Food Science*. Chicago, v.67, n.7, p. 2615-2618, 2002.

FORSYTHE, S.J. *Microbiologia da segurança dos alimentos*. Porto Alegre: Artmed, ed. 2, p. 607, 2013.

GALVÃO, J.A. Boas práticas de fabricação: da despesca ao beneficiamento do Pescado, 2010. Disponível em: <[http://www.simcope.com.br/II\\_Simcope/pdf/oficina\\_juliana\\_galvao.pdf](http://www.simcope.com.br/II_Simcope/pdf/oficina_juliana_galvao.pdf)>. Acesso em 2 de dezembro de 2017.

GARCIA-TORCHELSEN, L.; JACOB-LOPES, E.; QUEIRO, M. I. Avaliação funcional de bases proteicas desidratadas de anchoita (*Engraulis anchoita*). *Brazilian Journal of Food Technology*. Campinas, v. 14, n. 4, p. 283-293, 2011.

GAUTIER, D.; BOYD, C. E.; LOVELL, R. T. Sampling channel catfish ponds for pre-harvest off-flavor detection. *Aquaculture Engineering*, Amsterdam, v. 26, n. 3, p. 205-213, 2002.

GRIMM, C. C.; LLOYD, S. W.; ZIMBA, P. V. Instrumental versus sensory detection of off-flavors in farm-raised channel catfish. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 236, n. 2, p. 309-319, 2004.

GODINHO, H.P.; GODINHO, A.L. Breve visão do rio São Francisco. *Águas, peixes e pescadores do rio São Francisco das Minas Gerais*. Belo Horizonte, p.15-24, 2003.

GUST, B. PCR targeted *Streptomyces* gene replacement identifies a protein domain needed for biosynthesis of the sesquiterpene soil odor geosmin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Washington, v. 100, n. 4, p. 1541-1546, 2003.

GUTTMAN, L.; RIJN, J. V. Identification of conditions underlying production of geosmina and 2-methylisoborneol in a recirculating system. *Aquaculture*. Amsterdam, v. 279, n. 3, p. 85-91, 2008.

HITCHINS, A.D.; FENG, P.; WATKINS W.D.; RIPPEY S.R.; CHANDLER L.A. *Escherichia coli* and the Coliform bacteria. In: *Bacteriological Analytical Manual Online*. 2001. Disponível em: <[www.cfsan.fda.gov](http://www.cfsan.fda.gov)>. Acessado em 20 de julho de 2017.

HERNÁNDEZ, M.D.; LÓPEZ, M.B.; ÁLVAREZ, A.; FERRANDINI, E. GARCIA, G. B.; GARRIDO, M. D. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage. *Food Chemistry*, v.114, N. 1, p.237-245, 2009.

HOWGATE, P. Tainting of farmed fish by geosmina and 2-methyl-isoborneol: a review of sensory aspects and of uptake/depuration. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 234, n. 2, p. 155-181, 2004.

ICMSF - International Commission on Microbiological Specifications for Foods. *Microorganisms in Foods 2*. Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications. Londres, ed. 2, 1986.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 13301: Sensory analysis—methodology—general guidance for measuring odour, flavour and taste detection

thresholds by a three-alternative forced-choice (3-AFC) procedure., *International Organization for Standardization*. Geneva, Switzerland, 2002.

IREDALE, D. G.; RIGBY, D. Effect of smock processing on muddy odor and taste in rainbow trout (*Salmo gairdner*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, Toronto, v. 29, n. 9, p. 65-66, 1972.

IWAMOTO, A. A. Pacamã (*Lophiosilurus alexandri*): Características sensoriais, químicas e agregação de valor. *Dissertação (Mestrado em Aquicultura)*, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, p. 44, 2015.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA W. M.; SCHRECKENBERGER, P. C.; WIN, J. R. W. C. *Diagnóstico microbiológico*. Brasil, Editora MEDSI, ed. 5, p. 201, 2001.

KUBITZA, F. Qualidade da água no cultivo de peixes e camarões. *Degaspari*, Jundiaí, p.229, 2003.

LANZARIN, M.; ALMEIDA FILHO, E. S.; RITTE, D. O; MELLO, C. A.; CORRÊA, G. S. S.; IGNÁCIO, C. M. S. Ocorrência de *Aeromonas* sp. e microrganismos psicrotróficos e estimativa do prazo de validade comercial de filé de pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*) mantidos sob refrigeração. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.63, n.6, p.1541-1546, 2011.

LAZDUNSKI, A. M.; VENTRE, I.; STURGIS, J. N. Regulatory circuits and communication in gram-negative bacteria. *Nature Review Microbiology*. London, v. 2, n. 7, p. 581-592, 2004.

LIU, S.; COURTWRIGHT, C.; WANG, Y.; HANSON, T. R. Chemical treatments reduce off-flavor in farm-raised channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Journal of Food Processing and Preservation*, v. 41, 2016.

LLOYD, S. W.; GRIMM, C. C. Analysis of 2-Methylisoborneol and Geosmin in Catfish by Microwave Distillation-Solid-Phase Microextraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Davis, v. 47, n. 1, p. 164-169, 2004.

LUZ, R.K.; PEDREIRA, M.M.; TEIXEIRA, E.A. Effect of water flow rate and feed training on “pacamã” (Siluriforme: Pseudopimelodidae) juvenile production. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 63, n. 4, p. 973-979, 2011.

MERCANTE, C.T.J.; MARTINS, Y.K.; CARMO, C.F.; OSTI, J.S.; MAINARDES PINTO, C.S.R.; TUCCI, A. Qualidade de água em viveiro de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*): caracterização diurna de variáveis físicas, químicas e biológicas. *Bioikos*, Campinas, v. 21, n. 2, p. 79-88, 2007.

MEURER, F., OLIVEIRA, S. T. L., SANTOS, L. D., OLIVEIRA, J. S. COLPINI, L. M. S. Níveis de oferta de pós-larvas de tilápia do Nilo para alevinos de pacamã (*Lophiosilurus alexandri*). *Veterinária Brasileira e Ciência Agrária*. Recife, v.5, n.1, p. 111-116, 2010.

MISCHKE, C. C.; TUCKER, C. S.; LI, M. H. Channel catfish polyculture with fathead minnows or threadfin shad: effects on pond plankton communities and catfish fillet flavor, color, and fatty acid composition. *Journal of the World Aquaculture Society*, Baton Rouge, v. 43, n. 2, p. 208-217, 2012.

- MORENO, I., REPETTO, G., CARBAL, E., GAGO, A., CARMEAN A. M. Cyanobacteria and microcystins occurrence in the Guadiana River. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*.v. 85 n.7, p. 461-74, 2005.
- MORITA, M. Avaliação da qualidade sanitária e ocorrência de *Aeromonas* spp. em lagoas de pesque-pague da Região Metropolitana de São Paulo. *Dissertação de Mestrado- Faculdade de Saúde Pública, USP- São Paulo*, 2005.
- MORTON, R.D. Aerobic Plate Count.In: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, Washington DC. *American Public Health Association*. Frances Pouch Downes e Keith, ed. 4, p.63-67, 2001.
- ODOLI, C. O. Optimal storage conditions for fresh Farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) filets.. *Thesis (Masters in Science)* – University of Iceland, Iceland, 2009.
- OETTERER, M. Da piscicultura à comercialização - Técnicas de beneficiamento do pescado de água doce. *Série Produtor Rural*. n.7, p. 30, 2002.
- OGAWA, M. e MAIA, E. L. *Manual de Pesca, Ciência e Tecnologia do Pescado*. São Paulo, Varela, v. 1, p.453, 1999.
- OLIVEIRA, N.M.S., OLIVEIRA, W.R., NASCIMENTO, L.C., SILVA, J.M.S.F., VICENTE, E., FIORINI, J. e BRESSAN, M.C. Avaliação físico-química de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*) submetidos à sanitização. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 28, n. 1, p. 83-89, 2008.
- OLIVEIRA, R. C. O panorama da aquicultura no Brasil: a prática com foco na sustentabilidade. *Revinter - Revista Intertox da Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade*. São Paulo, v. 2, n. 1, 2009.
- PÁDUA, H. B. Informações sobre os Coliformes totais/ fecais e alguns outros organismos indicadores, em sistemas aquáticos, p. 20, 2003. Disponível em: <[www.pescar.com.br/helcias](http://www.pescar.com.br/helcias)>. Acesso em 30 de agosto de 2017.
- PARK, G.; YU, M.; KIM, E.; KIM, H. Comparison between ozone and ferrate in oxidizing geosmin and 2-MIB in water. *Water Science and Technology*, London, v. 55, n. 5, p. 117-25, 2007.
- PEDRERO F., D. L; PANGBORN, R. M. Evaluación sensorial de los alimentos: métodos analíticos. México DF, Alhambra Mexicana, p.251, 1989.
- PEIXE BR, 2017. Associação Brasileira de Piscicultura. Disponível em: <<http://www.peixebr.com.br/?s=consumo+per+capita+de+peixe>>. Acessado dia 15 de dezembro de 2017.
- PEIXOTO, P. G.; OLIVEIRA, R. V.; SILVA, B. B.; PELLI, C. T. B. S. A. Isolamento de *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae* e *Prochilodus lineatus* em sistema fechado. *Cesumar*, v. 15, n. 2, p. 189-191, 2013.
- PERCIVAL, S.; DRABSCH, P.; GLENCROSS, B. Determining factors affecting muddy-flavor taint in farmed barramundi, *Lates calcarifer*. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 28, n. 4, p. 136-143, 2008.

PEREIRA, W.D. Avaliação microbiológica de sushis e sashimis comercializados na cidade de Maceió-AL. *Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Alagoas*, Maceió, p.99, 2008.

PIMENTA, M. E. S. G.; GESTO, M. C. Tecnologia de pós colheita em peixes. Lavras: UFLA/FAEPE, 2011.

RAMOS FILHO, M. M.; RAMOS, M. I. L.; HIANE, P. A.; SOUZA, E., M., T. Perfil lipídico de quatro espécies de peixes da região pantaneira do Mato Grosso do Sul. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 28, n. 2, p. 361-365, 2008.

ROBERTSON, R. F.; JAUNCEY, K.; BEVRIDGE, M. C. M.; LAWTON, L. A. Depuration rates and the sensory threshold concentration of geosmin responsible for earthy-musty taint in rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*. *Aquaculture*. Amsterdam, v. 245, n. 1, p. 89-99, 2005.

ROBIN, J.; CRAVEDI, J. P.; HILLENWECK, A.; DESHAYES, C.; VALLOD, D. Off flavor characterization and origin in French trout farming. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 260, n. 3, p. 128-138, 2006.

SAMPAIO, I.B.M. Estatística Aplicada à Experimentação Animal. Belo Horizonte: *Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia*, ed. 2, 265p, 2002.

SANCHES, S.M.; VIEIRA, E. M.; PRADO; E.L.; BENETTI, F.; TAKAYANAGUI, A. M. M. Estudo da presença da toxina microscistina - LR em água utilizada em clínica de hemodiálise e validação de um método analítico. *Eclética Química*, v. 32, n. 4, p. 43-8, 2007.

SANTOS, A. A.; SIMÕES, G. T. N.; CRUZ, M. M.; FERREIRA, N. S. S.; LIMA, R. T. C.; TUNON, G. I. L. Avaliação da qualidade microbiológica de sushi comercializado em restaurantes de Aracaju, Sergipe. *Scientia plena*, v. 8, n. 3, 2012.

SANTOS, H. B.; SAMPAIO, E. V.; ARANTES, F. P.; SATO, Y. Induced spawning and reproductive variables of the catfish (*Lophiosilurus alexandri*) Steindachner, 1876 (Siluriformes: Pseudopimelodidae). *Neotropical ichthyology*. v.11, p.607-614, 2013.

SARTORI, A. G. O.; AMANCIO, R.D. Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil. *Segurança Alimentar e Nutricional*, Campinas, vol.19, n.2, p. 83-93. 2012.

SOARES, K. M. P.; GONÇALVES, A. A. Aplicação do método do índice de qualidade (MIQ) para o estudo da vida útil de filés de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) sem pele, armazenados em gelo. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina. v. 33, n. 6, p. 2289- 2300, 2012.

SOARES, V. M.; PEREIRA, J. G.; IZIDORO, T. B.; MARTINS, O. A.; PINTO, J. P. A. N.; BIONDIA, G. F. Qualidade Microbiológica de Filés de Peixe Congelados Distribuídos na Cidade de Botucatu – SP. *Unopar Científica – Ciências biológicas e da saúde*, v. 12, n. 2, 2011.

SHELBY, R. A. Training dogs to smell off- flavor in catfish. Washington: USDA, 2004. Disponível em: <<http://www.ars.usda.gov/is/ar/archive/apr04/dogs0404.pdf>>. Acesso em: 20 de novembro de 2017.

- SHIMOKOMAKI, M. e OLIVO, R. Suplementação de vitamina e melhora a qualidade de carnes e derivados. *Atualidades em ciência e tecnologia de carnes*. São Paulo: Varela, cap. 11, p. 115-121, 2006.
- SIDONIO, L.; CAVALCANTI, I.; CAPANEMA, L.; MORCH, R.; MAGALHÃES, G.; LIMA, J.; BURNS, V.; ALVES JÚNIOR, A. J.; MUNGIOLI, R. *Panorama da aquíicultura no Brasil: desafios e oportunidades*. BNDES Setorial, v.35, p.421-463. 2012.
- SIMÕES, M. R.; RIBEIRO, C. F. A.; RIBEIRO, S. C. A.; PARK, K. J.; MURR, F. E. X. Composição físico-química, microbiológica e rendimento do filé de tilápia tailandesa (*Oreochromis niloticus*). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 27, n.3, p. 608-613, 2007.
- SIQUEIRA, A. A. C. Z. Efeito da irradiação e refrigeração na qualidade e no valor nutritivo da tilápia (*Oreochromis niloticus*). *Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)*, Universidade de São Paulo, Piracicaba, p. 154, 2001.
- SIPAÚBA-TAVARES, L.H. e BRAGA, F.M. de S. The feeding activity of *Colossoma macropomum* larvae (tambaqui) in fish ponds with water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) fertilizer. *Brazilian Journal of Biology*, São Carlos, v. 67, n. 3, p. 459-466, 2007.
- SONG, W. Ultrasonically induced degradation of 2-methylisoborneol and geosmin. *Water Research*, Lyngby, v. 41, n. 12, p. 2672-2678, 2007.
- SOUZA, M.G.; COSTA, M.M.; SEABRA, A.G.; BALEN, R.E.; MEURER, F. Alimento vivo e inerte para alevinos de pacamã. *Revista Agrarian*, v. 7, p.360-364, 2014.
- SOUZA, M. G.; SEABRA, A. G. L.; SILVA, L. C.R.; SANTOS, L.D.; BALEN, R. E.; MEURER, F. Exigência de proteína bruta para juvenis de pacamã. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v.14, p. 362-370, 2013.
- SOUZA, M.L.R. Processamento do filé da tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*): Aspectos tecnológicos, composição centesimal, rendimento, vida útil do filé defumado e testes de resistência da pele curtida. *Tese (Doutorado no Centro de Aquíicultura)*, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”. Jaboticabal, p. 166, 2003.
- SOUZA, S. M. G.; MATHIES, V. D.; FIORAVANZO, R. F. Off-flavor por geosmina e 2-metilisoborneol na aquíicultura. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*. v. 33, n. 2, p. 835-846, 2012.
- TRAVASSOS, H. Nótula sobre o pacamã, *Lophiosilurus alexandri* Steindachner, 1876. Atas Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro, v.4, n.3, p.1-2, 1959.
- TOMITA, R. Y.; FURLAN, E. F.; NEIVA, C. R. P.; NETO, M. J. L.; MACHADO, T. H. Utilização do ozônio como agente sanitizante no processamento do pescado. In: 16ª Reunión de la Red Panamericana de Inspección, Control de Calidad y Tecnología de productos Pesqueros - IV Simpósio de Controle de Qualidade do pescado (SIMCOPE), p. 1-14, 2010.
- TUCKER, S. Off-flavor problems in aquaculture. *Reviews in Fisheries Science*. Philadelphia, v. 8, n. 1, p. 45-88, 2000.

- TUNDISI, J. G. *Água no século XXI: enfrentando a escassez*. São Carlos: Rima, 248p. 2003.
- TURCHINI, G. M.; MORETT, V. M.; MENTASI, T.; ORBAN, E.; VALFRÈ, F. Effects of dietary lipid source on fillet chemical composition, flavour volatile compounds and sensory characteristics in the freshwater fish tench. *Food Chemistry*, v. 102, n. 3, p. 1144-1155, 2007.
- VALLOD, D.; CRAVEDY, J. P.; HILLENWECK, A.; ROBIN, J. Analysis off the off-flavor risk in carp production in ponds in Dombes and Forez. *Aquaculture Internacional*. Dordrecht, v. 15, n. 4, p. 287-298, 2007.
- VIÉGAS, E. M. M. e SOUZA, M. L. R. Pré-processamento e conservação do pescado produzido em piscicultura. Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. São Paulo, p. 405-481, 2004.
- VIEIRA, K.V.M; MAIA, D.C.C.; JANEIRO, D.I.; VIEIRA, R.H.S.F.; CEBALLOS, B.S.O. Influência das condições higiênico-sanitárias no processo de beneficiamento de tilápias (*Oreochromis niloticus*) em filé congelados. *Revista Higiene Alimentar*, v. 14, n. 74, p. 37-40, 2000.
- WANKE, M.; SKORUPINSKA-TUDEK, K.; SWIEZEWSKA, E. Isoprenoid biosynthesis via 1-deoxyD-xylulose 5-phosphate/2-C-methyl- D-erytritol 4-phosphate (DOXP/MEP) pathway. *Acta Biochimica Polonica*, Warsaw, v. 48, n. 3, p. 663-672, 2001.
- WATSON, S. B.; RIDAL, J. Periphyton: a primary source of widespread and severe taste and odour. *Water Science and Technology*, Oxford, v. 49, n. 9, p. 33-39, 2004.
- XU, L.; XIONG, B.; PAN, Y.; WANG, J.; CAO, H.; ZHAO, W. Relationship between concentrations of odorous compounds and biomass of phytoplankton and actinomycetes in freshwater ponds of Beijing, China. *Aquaculture Internacional*, Dordrecht, v. 18, n. 2, p. 245-254, 2010.
- YANAR Y.; CELIK, M.; AKAMCA, E. Effects of brine concentration on shelf-life of hot-smoked tilapia (*Oreochromis niloticus*) stored at 4 °C. *Food Chemistry*, v. 97, n. 2 p. 244-247, 2006.
- YU, F. G.; SOUZA, S. M. G de. Off flavor em aquicultura. *Trabalho (Graduação em Farmácia) – Faculdade de Farmácia*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2007.
- ZAITLINA, B.; WATSON, S. Actinomycetes in relation to taste and odour in drinking water: myths, tenets and truths. *Water Research*. New York, v. 40, n. 6, p. 1741-1753, 2006.
- ZIMBA, P. V. et al. Evaluation of geosmin and 2- methylisoborneol off- flavor in smoked rainbow trout fillets using instrumental and sensorial analysis. *Aquaculture Research*, Oxford, v. 43, p. 149-153, 2012.

## 9. ANEXOS

### Anexo 1: Certificado de Aprovação na Comissão de Ética no Uso de Animais



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

CEUA  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

#### CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "Ação do ácido cítrico na redução do off-flavor post mortem de filés de pacamã (*Lophiosilurus alexandri*)", protocolo do CEUA: 282/2017 sob a responsabilidade de Lilian Viana Teixeira que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899 de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS, em reunião de 24/10/2017.

Vigência da Autorização	23/10/2017 a 22/10/2022
Finalidade	Pesquisa
*Espécie/linhagem	Peixe / pacamã
Nº de animais	7
Peso/Idade	400g / 1(anos)
Sexo	indiferente
Origem	Aquacultura do Laboratório de Aquacultura da UFMG
*Espécie/linhagem	Peixe / pacamã
Nº de animais	7
Peso/Idade	400g / 1(anos)
Sexo	indiferente
Origem	Aquacultura do Laboratório de Aquacultura da UFMG
*Espécie/linhagem	Peixe / pacamã
Nº de animais	7
Peso/Idade	400g / 1(anos)
Sexo	indiferente
Origem	Aquacultura do Laboratório de Aquacultura da UFMG
*Espécie/linhagem	Peixe / pacamã
Nº de animais	7
Peso/Idade	400g / 1(anos)
Sexo	indiferente
Origem	Aquacultura do Laboratório de Aquacultura da UFMG

#### Considerações posteriores:

24/10/2017	Aprovado na reunião do dia 23/10/2017. Validade: 23/10/2017 à 22/10/2022
------------	--

Belo Horizonte, 15/12/2017.

Atenciosamente,

Sistema Solicite CEUA UFMG

**Anexo 2:** Certificado de Aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa



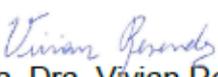
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP**

**Projeto: CAAE 77748417.0.0000.5149**

**Interessado(a): Profa. Lilian Viana Teixeira  
Departamento de Tecnologia e Inspeção Animal  
Escola de Veterinária - UFMG**

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 25 de outubro de 2017, o projeto de pesquisa intitulado “**Ação do ácido cítrico na redução do off-flavor post mortem de filés de pacamã (*Lophosilurus alexandri*)**” bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto através da Plataforma Brasil.

  
Profa. Dra. Vivian Resende  
Coordenadora do COEP-UFMG

**Anexo 3:** Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

**Título da Pesquisa:** Ação do ácido cítrico na redução do off-flavor post mortem de filés de pacamã (*Lophiosilurus alexandri*)

**Nome dos Pesquisadores Envolvidos:** Lilian Viana Teixeira e Sarah Antonieta de Oliveira Veríssimo

O senhor (a) está sendo convidado (a) a participar desta pesquisa, que tem como finalidade avaliar o grau de diferença de amostras de peixe pacamã quando comparadas com uma amostra padrão, utilizando uma escala sensorial de pontos.

Essa pesquisa contará com pessoas maiores de 18 anos que tenham o hábito de consumir peixe, sendo que o sexo e a idade não são fatores que interferem nessa pesquisa. O senhor (a) tem a liberdade de se recusar a participar dessa pesquisa, agora ou durante a mesma.

O senhor (a) irá avaliar as amostras de peixes, feitas no vapor, produzidas nessa pesquisa por meio de formulários próprios. A participação nesta pesquisa não traz complicações legais, pois os produtos passaram por análises microbiológicas antes da análise sensorial que garantem a sua segurança ao consumir o produto, não havendo risco à saúde do provador.

Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme Resolução nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. Caso tenha alergia e/ou intolerância a produtos derivados de pescado, não recomendamos a sua participação.

Todas as informações coletadas nesse estudo são confidenciais e somente os pesquisadores terão acesso aos dados e os mesmos serão divulgados de forma conjunta, sem citar o nome de nenhum participante.

Ao participar desta pesquisa, o senhor (a) não terá benefício direto, mas esperamos que este estudo traga informações importantes sobre a tecnologia e o controle de qualidade de pescado, de forma que os pesquisadores se comprometem a divulgar o conhecimento obtido com os resultados dessa pesquisa. O senhor (a) não terá nenhum tipo de despesa para participar dessa pesquisa.

Contamos com uma equipe de colaboradores especializada nesse tipo de pesquisa e esperamos que a sua experiência seja a mais confortável e breve possível. Garantimos que estamos fazendo de tudo para minimizar qualquer desconforto ou inconveniência durante a sua participação.

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre e esclarecida para participar desta pesquisa. Portanto preencha, por favor, os itens que se seguem:

Confirmando que recebi cópia deste termo de consentimento, e autorizo a execução do trabalho de pesquisa e a divulgação dos dados obtidos neste estudo ao assinar o presente documento.

Obs: Não assine esse termo se ainda tiver qualquer dúvida a respeito do que foi explicado acima.

#### Consentimento Livre e Esclarecido

Tendo em vista os itens acima apresentados, eu, de forma livre e esclarecida, manifesto meu consentimento em participar da pesquisa:

---

Nome do Participante da Pesquisa

---

Assinatura do Participante da Pesquisa

---

Assinatura do Pesquisador Principal: Lilian Viana Teixeira

Em caso de dúvidas quanto aos procedimentos envolvidos na pesquisa, sinta-se à vontade para entrar em contato com o pesquisador principal: Lilian Viana Teixeira (lilian@vet.ufmg.br – 031 3409-2143)

Em caso de dúvidas quanto aos aspectos éticos envolvidos na pesquisa, sinta-se à vontade para entrar em contato com o COEP: Cômite de Ética em Pesquisa - Av. Antônio Carlos, 6627 – Unidade Administrativa II – 2º andar – Sala 2005 – Campus Pampulha – Belo Horizonte – MG – Brasil – CEP: 31270-901 – Tel: (31) 3409-4592 - Email: [coep@prpg.ufmg.br](mailto:coep@prpg.ufmg.br)

**Anexo 4:** Questionário para análise sensorial de filé de pacamã

Nome: \_\_\_\_\_

Você está recebendo 6 blocos de 4 amostras de filé de pacamã, totalizando 24 amostras. Para cada bloco, terá uma amostra codificada como P (padrão). Compare o sabor de cada amostra com o padrão e avalie segundo os seguintes critérios e notas:

1= nenhuma diferença do padrão

2= regular diferença do padrão

3=extrema diferença do padrão

À frente da nota que você der para a amostra, por favor, indique se a diferença observada foi agradável ou desagradável. Nas observações, por favor, faça algum comentário (se necessário) que você ache que seja pertinente para o presente estudo.

<b>Código da amostra</b>	<b>Nota</b>	<b>Agradável</b>	<b>Desagradável</b>
<b>Bloco 1 – P1</b>			
349		( )	( )
153		( )	( )
785		( )	( )
<b>Bloco 2 – P2</b>			
498		( )	( )
965		( )	( )
273		( )	( )
<b>Bloco 3 – P3</b>			
475		( )	( )
904		( )	( )
378		( )	( )
<b>Bloco 4 – P4</b>			
698		( )	( )
149		( )	( )
463		( )	( )
<b>Bloco 5 – P5</b>			
751		( )	( )
404		( )	( )
289		( )	( )
<b>Bloco 6 – P6</b>			
327		( )	( )
174		( )	( )
241		( )	( )

**Observações:**